

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

На правах рукописи

Волченко Дарья Александровна

**МЕЖКЛЕТОЧНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ
В ОВОСОМАТИЧЕСКОМ ГИСТИОНЕ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ
ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ КИСТ ЯИЧНИКОВ
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-КЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

03.03.04 – гистология, цитология, клеточная биология

14.01.01 – акушерство и гинекология

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор

Логвинов Сергей Валентинович;

доктор медицинских наук, профессор

Тихоновская Ольга Анатольевна

Томск 2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	10
1.1. Основы фолликулогенеза и овариальный резерв	10
1.2. Механизмы формирования функциональных кист яичников	14
1.3. Роль факторов межклеточного взаимодействия в фолликулогенезе	17
1.3.1. Роль костного морфогенетического белка 15 в фолликулогенезе	19
1.3.2. Роль белка щелевого контакта коннексина 37 в фолликулогенезе	20
1.3.3. Роль фактора роста эндотелия сосудов в фолликулогенезе	24
1.4. Морфологические изменения яичников при моделировании функциональных кист у экспериментальных животных	31
1.5. Эпидемиология и клиническая картина функциональных кист яичников...	33
1.6. Современная тактика ведения пациенток с функциональными кистами яичников	35
Резюме	37
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	40
2.1. Экспериментальная часть	40
2.2. Клиническая часть	42
2.3. Статистическая обработка и анализ данных	46
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.	
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	48
3.1. Общая характеристика экспериментальных животных	48
3.2. Морфологические изменения яичников крыс при введении фолликулостимулирующего гормона	50
3.3. Морфологические изменения яичников крыс с экспериментальными функциональными кистами при введении бевацизумаба	57
3.4. Морфоколичественное исследование яичников крыс при моделировании экспериментальных функциональных кист и введении бевацизумаба	60

3.5. Результаты иммуногистохимического исследования	64
ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.	
КЛИНИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ	70
4.1. Клинико-лабораторная характеристика пациенток с оперированными яичниками	70
4.2. Характеристика программ вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток с бесплодием и приобретенной патологией яичников	86
4.3. Морфологическое исследование операционного материала	89
4.4. Результаты иммуногистохимического исследования операционного материала	90
ГЛАВА 5. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ	95
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	102
ВЫВОДЫ	103
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	104
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	105
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	106

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования

Функциональные кисты яичников (ФКЯ) занимают одно из ведущих мест в структуре гинекологических заболеваний (45–55%) у женщин репродуктивного возраста [Меджидова К.К. и др., 2014; Сорокина И.В. и др., 2015; Гасымова Д.М., Рухляда Н.Н., 2017]. Формирование кист обусловлено циклическими изменениями в яичниках, что объясняет транзиторный характер их существования [Боровая Т.Г. и др., 2010; Антропова Н.В., Богатова И.К., 2014; Сорокина И.В. и др., 2015]. Изменения в структуре яичников приводят к ановуляторным циклам и бесплодию [Кадесникова Ю.А. и др., 2010; Рыбалка А.Н., Егорова Я.А., 2011; Сафронова Д.А., 2011; Coric M. et al., 2013; Li S.Z. et al., 2013; Рудакова Е.Б. и др., 2014; Макарчук О.М., Матвийкив Н.И., 2015; Шаповал О.С., Резниченко Г.И., 2015]. Патогенез кистообразования изучается с позиции изменения экспрессии факторов местной паракринной регуляции. Внутрияичниковые регуляторные механизмы играют ключевую роль в течении фолликулогенеза, так как они опосредуют и модулируют действие центральных и многих других механизмов регуляции [Wissing M.L. et al., 2004; Erickson G. et al., 2000; Боярский К.Ю., Гайдуков С.Н., 2010; Зенкина В.Г. и др., 2012].

Представители семейства трансформирующего фактора роста (ингибины, активины, антимюллеров гормон (АМГ), костный морфогенетический белок) играют центральную роль во многих процессах, регулирующих развитие фолликулов и созревание овоцитов [Diaz F.J. et al., 2007; Richard S., Baltz J.M., 2014]. На начальных этапах формирования функциональных кист яичников возникает патологическая пролиферация фолликулярного эпителия, что закономерно вызывает повышение экспрессии сосудисто-эндотелиального фактора роста. Данный фактор формирует стабильный кровоток в сосудах яичника [Зенкина В.Г. и др., 2012], повышает проницаемость стенки микрососудов антрального фолликула [Tamanini C., De Ambrogio M., 2004;

Боярский К.Ю., Гайдуков С.Н., 2010] с последующей аккумуляцией фолликулярной жидкости [Lam P.M., Haines C., 2005; Тепляшина Е.А., 2011; Masoumi-Moghaddam S. et al., 2012], ингибированием апоптоза [Chen H. et al., 2004; Greenaway J., Gentry P.A., 2005; Тепляшина Е.А., 2011].

В настоящее время остается актуальным поиск новых патогенетически обоснованных способов коррекции функциональных кист яичников [Киргизова О.Ю., Москалева А.Ю., 2009; Зенкина В.Г. и др., 2012]. Существующие методы лечения, как медикаментозные, так и хирургические, часто оказываются неэффективными, сопровождаются высоким риском рецидивирования. Оперативное лечение является фактором, снижающим овариальный резерв и фертильность [Hatchisuga T., Kawarabayashi T., 2002; Somigliana E. et al., 2006; Зулумян Т.Н. и др., 2010; Гаспаров А.С., 2011; Coric M. et al., 2013; Гасымова Д.М., Рухляда Н.Н., 2014]. В последние годы активно изучается роль фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) в фолликулогенезе. Экспериментально установлено, что введение ингибитора VEGF в начале фолликулярной фазы подавляет васкуляризацию текальных клеток и рост фолликулов [Wulff C. et al., 2002; Zimmermann R.C. et al., 2003; Fraser H.M. et al., 2005; Taylor P.D. et al., 2007].

Степень разработанности проблемы

С. Wulff и соавт. (2002), С. Tamanini и М. De Ambrogі (2004), P.D. Taylor и соавт. (2007) изучали влияние введения ингибитора VEGF на яичники у самок интактных экспериментальных животных. В литературе описана экспрессия паракринных факторов овосоматического взаимодействия в процессе фолликулогенеза [Weestergaad L. et al. 2004; Diaz F.J. et al. 2007; Erickson G. et al. 2000; Боярский К.Ю., Гайдуков С.Н., 2010; Зенкина В.Г. и др., 2012; Richard S., Baltz J.M., 2014].

Однако до сих пор не исследованы эффекты ингибитора VEGF при моделировании экспериментальных функциональных кист. Отсутствуют в литературе данные об изменении экспрессии факторов фолликулогенеза при моделировании функциональных кист яичников и их коррекции.

Овариальный резерв у женщин, перенесших операции на яичниках, изучали Т. Hatchisuga и Т. Kawarabayashi (2002), Е. Somigliana и соавт. (2003, 2006). До сих пор не изучена экспрессия факторов паракринной регуляции, в частности VEGF, при различном клиническом течении функциональных кист яичников.

Цель исследования: установить структурно-функциональные изменения в овосоматическом гистионе и определить роль факторов паракринной регуляции межклеточных взаимодействий при формировании функциональных кист яичников и при их коррекции.

Задачи исследования:

1. Изучить морфологические изменения яичников при формировании функциональных кист яичников и при лечении ингибитором эндотелиального фактора роста сосудов на экспериментальной модели.

2. Иммуногистохимически изучить факторы взаимодействия овоцита и клеток гранулезы (костный морфогенетический белок 15, белок щелевого контакта коннексина-37), фактор ангиогенеза (фактор роста эндотелия сосудов) на модели функциональных кист яичников и при их коррекции.

3. Изучить экспрессию фактора роста эндотелия сосудов при различном клиническом течении функциональных кист яичников.

4. Провести ретроспективный анализ клинических, сывороточных и ультразвуковых показателей овариального резерва, протоколов вспомогательных репродуктивных технологий у пациенток с бесплодием и различным клиническим течением функциональных кист яичников после оперативного лечения.

Научная новизна

Впервые в эксперименте с помощью иммуногистохимической методики изучена экспрессия факторов паракринной регуляции при формировании и коррекции функциональных кист яичников (BMP15, Cx37, VEGF) и установлено снижение экспрессии факторов овосоматического взаимодействия и усиление

экспрессии VEGF при формировании функциональных кист яичников. Получены новые экспериментальные данные о динамике морфоколичественных изменений структурных элементов яичников при коррекции экспериментальных функциональных кист яичников ингибитором VEGF. Выявлено усиление экспрессии VEGF у пациенток при наличии разрыва и кровоизлияния в стенку функциональной кисты.

Теоретическая и практическая значимость

Полученные результаты расширяют фундаментальные знания о патогенезе функциональных кист яичников и роли фактора роста эндотелия сосудов в хронической ановуляции. Полученные данные о влиянии оперативного лечения функциональных кист яичников на функцию яичников позволяют детализировать группы риска по снижению овариального резерва и фертильности.

Результаты исследования используются в учебном процессе лечебного и педиатрического факультетов Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, г. Томск) на кафедре гистологии, эмбриологии и цитологии в разделе «Женская половая система», на кафедре акушерства и гинекологии в разделах «Нейроэндокринные синдромы в гинекологии» и «Репродуктология».

Методология и методы исследования

В экспериментальной части работы проведено моделирование функциональных кист яичников на крысах. Для оценки состояния яичников использовались общегистологические, морфоколичественные и иммуногистохимические методы исследования.

В клинической части работы проведено ретроспективное и проспективное исследование. Анализ результатов проводили на персональном компьютере с использованием программы IBM SPSS Statistics, v.22.0 (США).

Положения, выносимые на защиту

1. Введение бевацизумаба в дозе 0,25 мг/кг массы тела снижает экспрессию фактора роста эндотелия сосудов и ускоряет регресс функциональных кист яичников на экспериментальной модели. При этом уменьшение количества растущих фолликулов, усиление процессов атрезии и снижение экспрессии факторов овосоматического взаимодействия (BMP 15, Cx 37) в фолликулах обратимы и носят кратковременный характер.

2. Усиление экспрессии VEGF является патогенетическим фактором формирования осложненного течения функциональных кист яичников, сопровождающегося выраженным снижением показателей овариального резерва, степень которого коррелирует с количеством инвазивных вмешательств на яичниках и наличием сопутствующих воспалительных процессов в органах малого таза.

Степень достоверности и апробация

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

Материалы диссертации представлены на XIV Международной научно-практической конференции European Research (Пенза, 2018), VIII съезде Научного Медицинского общества анатомов, гистологов и эмбриологов (Воронеж, 2019).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 9 печатных работ, из них 7 – в рецензируемых журналах, включенных ВАК в перечень периодических изданий, рекомендуемых к публикации основных результатов диссертационных исследований на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Объем и структура диссертации

Материалы диссертации изложены на 130 страницах машинописного текста, содержат 15 таблиц, 25 рисунков. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, результатов собственных исследований (экспериментальной и клинической части), обсуждения результатов, заключения, выводов и практических рекомендаций. Список литературы включает 225 источников, в том числе 105 работы отечественных авторов и 120 – зарубежных.

Личное участие автора

Автор самостоятельно проанализировала данные литературы по теме диссертации, участвовала в сборе и обработке экспериментального и клинического материала, представленного в диссертационном исследовании, а также в статистической обработке полученных данных и подготовке научных публикаций.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Основы фолликулогенеза и овариальный резерв

Под овариальным резервом понимают не только количество примордиальных и растущих фолликулов, но и функциональное состояние яичников, возможность развития в них здоровых фолликулов с полноценной яйцеклеткой и адекватного ответа на овариальную стимуляцию [Боярский К.Ю. и др., 2009].

Процессы созревания, селекции и атрезии фолликулов, объединяемые термином «фолликулогенез», протекают под влиянием центральных и местных регуляторов [Mc.Gee E., Hsueh A., 2000]. Изучена пятиуровневая нейрогуморальная регуляция женской половой системы. Ее основными структурами являются: неокортекс, гипоталамус, гипофиз, яичники и надпочечники. Данная система отличается отлаженным механизмом взаимодействия всех составных частей.

Гормональная секреция в женской половой системе подчинена воздействию положительной и отрицательной обратной связи [Burns K.H. et al., 2001; Marelli V.E., 2014]. Нейроны аркуатного (дугообразного) ядра преоптической области гипоталамуса продуцируют биологически активные нейротрансмиттеры и обеспечивают связь между нервной и эндокринной системами. Принцип положительной обратной связи обеспечивается влиянием увеличивающейся по мере роста фолликула концентрации эстрадиола на KND γ -нейроны аркуатного ядра преоптической области гипоталамуса [Cook S. et al., 2002]. Эстрадиол запускает цепь реакций через синтез кисспептина, усиление секреции релизинг-гормона, что обеспечивает пиковые концентрации лютеинизирующего (ЛГ) и фолликулостимулирующего гормонов (ФСГ) [Danilovich N. et al., 2000; Layman L.C., McDonough P.G., 2000; Diamanti-Kandarakis E., Dunaif A., 2012]. Большинство фолликулов, вступивших в стадию роста, подвергаются атрезии на различных этапах фолликулогенеза.

Физиологический процесс выхода зрелого овоцита из фолликула носит название овуляции. Формирование желтого тела на месте разорвавшегося фолликула начинается с того, что гранулезные клетки подвергаются процессу лютеинизации, переходя от синтеза эстрадиола к синтезу прогестерона. Механизм отрицательной обратной связи заключается в снижении концентрации ЛГ вследствие воздействия повышенной концентрации гормона лютеоцитов желтого тела – прогестерона на рецепторы KND γ -нейронов гипоталамуса [Прилепская В.Н., Бостанджян Л.Л., 2009; Петров И.А. и др., 2011; Радзинский В.Е., 2015].

Другим важным, но менее изученным механизмом является местная (паракринная) регуляция функций яичников [Albertini D.F., Combelles S.M., 2001]. В последние десятилетия интерес исследователей прикован к подробному изучению строения и регуляторного потенциала различных белковых структур, получивших название факторов паракринной регуляции [Erickson G. et al., 2000; Erickson G., Shimasaki S., 2001]. Появляется все больше данных о их влиянии на процессы фолликулогенеза и секрецию яичниковых гормонов. Нокаут-мутации, ассоциированные с отсутствием или снижением выработки того или иного фактора у самок экспериментальных животных, приводят к нарушению фолликулогенеза и бесплодию. Экспрессия факторов паракринной регуляции в яичниках подвергается циклическим изменениям. В патогенезе многих патологических состояний существенную роль играют нарушения местных регуляторных механизмов.

В процессе созревания от инициации роста до овуляции фолликулы проходят три фазы развития: гормон-независимую, гормон-чувствительную и гормон-зависимую [Боярский К.Ю. и др., 2009]. Первая фаза протекает под влиянием факторов микроокружения овоцита – местной паракринной регуляции, при этом происходит рост фолликула до стадии вторичного. Вторая фаза, характеризующаяся формированием антральной полости, продолжается до достижения фолликулом диаметра 1–2 мм. Третья фаза объединяет процессы селекции доминантного фолликула из преобладающих, достигших размеров

2 мм. Гормон-зависимую фазу роста фолликулов и процесс овуляции регулируют гонадотропные гормоны [Christensen A. et al., 2012].

Наиболее изучены эффекты, оказываемые на фолликулогенез гонадотропными гормонами, синтезируемыми под воздействием пульсовой секреции гонадолиберинов гипоталамуса. Фолликулостимулирующий гормон, активируя действие ароматазы фолликулоцитов, ускоряет превращение эстрадиола из тестостерона клеток теки. Снижение концентрации эстрадиола в фолликулярной жидкости является признаком атретических изменений в фолликуле [Tripathy S. et al., 2016]. В антральной жидкости доминантного фолликула определяется высокая концентрация эстрадиола [Carpintero N.L. et al., 2014]. Андрогены, синтезируемые тека-клетками, принимают участие в регуляции роста фолликула на доантральной стадии фолликулогенеза. Усиление секреции андрогенов текальной оболочкой фолликула приводит к яичниковой гиперандрогемии и нарушает процессы пролиферации гранулезных эпителиоцитов, приводя к атрезии [Yang M.Y., Fortune J. E., 2006; Sen A., Hammes S.R., 2010; Chen M.J. et al., 2015]. Таким образом, в образовании зрелого преовуляторного фолликула принимают участие настоящие концентрации ФСГ и эстрадиола [Боярский К.Ю., Гайдуков С.Н., 2010].

Повышение концентрации эстрадиола в полости доминантного фолликула запускает механизм положительной обратной связи и усиление секреции ЛГ гонадотропными клетками аденогипофиза. Высокая концентрации ЛГ воздействует на муральные клетки фолликулярного эпителия, где находится большое количество рецепторов. Происходящие в стенке доминантного фолликула изменения приводят к разрыву стенки, состоящей из клеток гранулезы, базальной мембраны, клеток внутренней и внешней теки, коллагеновых волокон межклеточного матрикса и белочной оболочки, поверхностных эпителиоцитов. Разрыву стенки предшествует усиление синтеза простагландинов, фермента ADAMTS-1. Кроме того, изменения затрагивают также и сосуды, окружающие фолликул. Таким образом, завершается процесс овуляции и формирования полноценного желтого тела. Пик концентрации ЛГ

сопряжен по времени с процессами, происходящими в овоците, итогом которых становится возобновление мейоза. Параллельно происходит расширение и обособление кумулюс-овоцитарного комплекса (КОК), состоящего из овоцита и окружающих его клеток кумулюса, под влиянием эндотелиальных факторов роста (амфирегулина, эпирегулина, бетацеллюлина). Формирование КОК является важнейшим условием, при котором возможны овуляция, продвижение женской половой клетки по маточной трубе и процесс оплодотворения яйцеклетки сперматозоидом.

Таким образом, овуляторный пик концентрации ЛГ совпадает по времени с тремя важными процессами, происходящими в зрелом фолликуле: запуском каскада биохимических реакций, приводящих к разрыву стенки фолликула, отрывом КОК от стенки фолликула и возобновлением мейоза в овоците [Боярский К.Ю., Кахиани Е.И., 2018].

Важную роль в передаче сигналов и запуске изменений, приводящих к выходу зрелого овоцита из яичника в момент овуляции, играют щелевые контакты [Matzuk M.M. et al., 2002, 2012]. Тесные контакты между овоцитом и окружающими его гранулезными клетками обеспечивает передачу сигналов и двустороннюю связь между женской половой клеткой и соматическими клетками окружения [Monniaux D. 2002]. В образовании щелевого контакта принимают участие клетки кумулюса и оволемма. Мембранные протеины образуют структуру коннексонов, прямое соединение которых формирует внутриклеточные каналы. Примером взаимодействия овоцита и кумулюсных клеток является возобновление мейоза (переход от стадии G2 к стадии M) в овоците после его извлечения из КОК или разрыва межклеточных контактов, при этом отмечается изменение концентрации циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) и протеинкиназы A в овоците.

Описанная многоступенчатая модель, объединяющая центральные и паракринные механизмы регуляции функций женской половой системы, обеспечивает регулярный менструально-овариальный цикл, важнейшим этапом которого является овуляция. Овуляторной менструальный цикл является основой

репродуктивного потенциала, а нарушения гормональной регуляции данного процесса на любом из уровней приводят к ановуляторным циклам и являются одной из причин бесплодия у женщин.

1.2 Механизмы формирования функциональных кист яичников

К функциональным кистам яичников относятся фолликулярные кисты и кисты желтых тел [Волкова О.В., 1983; Де Черни А.Х., Натан Л., 2009; Боровая Т.Г. и др., 2010; Тумилович Л.Г., Геворкян М.А., 2010]. Механизм формирования фолликулярных кист связан с отсутствием овуляции [Kozub M.I., Grishchenko V.I., 2009; Kuivasaari-Pirinen P., Anttila M., 2011].

Лютеиновая киста яичника формируется при двухфазном менструальном цикле из не подвергшегося регрессии желтого тела, в котором вследствие нарушения кровообращения происходит накопление жидкости серозного или геморрагического характера [Barbuscia M. et al., 2010; Ульрих Е.А. и др., 2012]. Считается, что образование кисты желтого тела вызвано гормональным дисбалансом и нарушением кровообращения и лимфооттока в тканях яичника [Pru J.K., Tilly J.L., 2001; Бурлев В.А. и др., 2003; Кулинич С.И. и др., 2006; Abduljabbar H.S. et al., 2015].

Нарушение взаимоотношений в системе гипоталамус – гипофиз – яичники является важнейшим звеном патогенеза формирования кистозных образований яичников [Бурлев В.А. и др., 1998; Zhang F.P. et al., 2001; Николаева И.Н., 2006; Назаренко Т.А., Краснопольская К.В., 2013]. Наличие функциональных кист считается проявлением нарушения стероидосинтетической функции яичников и ановуляции [Кулаков В.И. и др., 2005]. Уровень половых стероидов при ретенционных кистах не отличается от такового у здоровых женщин, однако имеет место нарушение соотношения ФСГ и ЛГ [Манухин И.Б. и др., 2006].

Анализ гормональных нарушений показывает, что менструальный цикл при фолликулярных кистах характеризуется недостатком второй волны ЛГ, хотя имеет место увеличенная концентрация эстрадиола в плазме. С другой стороны,

относительно высокий уровень пульсативной секреции ЛГ вызывает продолжение роста доминантного фолликула. Такие характеристики ЛГ являются следствием функциональной неправильной обратной связи регуляции эстрадиолом секреции ЛГ [Inki P. et al., 2002; Robbe D. et al., 2002; Андреева Е.Н. и др., 2005; Todoroki J., Kaneko H., 2006; Robinson R.S. et al., 2008; Grimes D.A. et al., 2009; Меджидова К.К. и др., 2014].

Регуляция функции яичников осуществляется ауто-, пара- и эндокринно. На рост и дифференцировку клеток яичников большое влияние оказывают белки семейства трансформирующих факторов роста TGF-В: TGF-В1, активины, ингибины, ростовые дифференцировочные факторы, АМГ, а также факторы некроза опухолей α и β [Dunaif A., 2012]. Внутряичниковые регуляторные механизмы играют ключевую роль в течении фолликулогенеза [Erickson G. et al., 2000; Weestergaad L. et al., 2004; Боярский К.Ю., Гайдуков С.Н., 2010; Зенкина В.Г. и др., 2012].

Формирование кистозных образований яичников может быть проявлением естественных возрастных изменений гормонального фона: у девочек в пубертатном периоде, у женщин – в климактерическом [Йен С.С.К., Джаффе Р.Б., 1998; Jermy K. et al., 2001]. В пубертатном периоде частой причиной формирования функциональных кист являются нарушения процессов созревания центральных структур репродуктивной системы, формирования циклической секреции релизинг-гормонов, овуляторных циклов. Повышать продукцию гонадотропинов, усиливая гонадотропную стимуляцию яичников, способна также супрафизиологическая концентрация инсулина [Манухин И.Б. и др., 2006; Манухин И.Б., Геворкян М.А., 2011].

Повышение концентраций ФСГ, ЛГ, прогестерона и синтеза простагландинов, снижение уровня эстрадиола запускают механизм дегенеративных изменений в стенке преовулярного фолликула. В фолликулярной жидкости повышается концентрация прогестерона, секретлируемого гранулезными клетками под влиянием пикового уровня ЛГ. В отсутствие координированного действия различных элементов гормональной

регуляции доминантный фолликул не подвергается овуляции, и овоцит, окруженный кумулюсными клетками, погибает. Непроовулировавший фолликул либо подвергается регрессу, либо превращается в фолликулярную кисту. Процессы регресса такого образования могут занимать несколько месяцев, при этом сохраняется риск разрыва кисты. Стенка кистозно-измененного фолликула (клетки гранулезы и теки) подвергается изменениям, подобным процессу лютеинизации при формировании желтого тела. При этом эндокриноциты начинают секретировать прогестерон, однако его концентрация существенно снижена. Клиническими проявлениями описанных изменений являются ановуляторные циклы и олигоменорея у пациенток с функциональными кистами яичников. Повышение концентрации прогестерона в полости кистозного образования, усиление секреции простагландинов приводят к дегенеративным изменениям стенки кисты, что завершает цепь патологических изменений. По мере повышения давления жидкости на стенку кисты клетки гранулезы погибают, замещаясь волокнами соединительной ткани. Нарушение целостности стенки кисты вследствие дегенеративно-дистрофических процессов и действия протеолитических ферментов приводит к опорожнению кисты.

Не менее важной причиной хронической ановуляции и формирования функциональных кист яичников являются воспалительные процессы в органах малого таза. Статистический анализ показал частое сочетание воспалительных процессов в придатках с кистозными образованиями яичников [Андреева Е.Н. и др., 2005; Фофонова И.Ю., 2009]. У пациенток с доброкачественными опухолями яичников воспалительные процессы в придатках отмечались реже, чем у больных с опухолевидными образованиями яичников.

Механизм ановуляции и развития функциональных кист при воспалении придатков связан с изменениями гормонсинтезирующих структур яичника, приводящими к снижению активности ферментов стероидного синтеза в корковом веществе яичников. Воспалительный процесс запускает цепь патологических изменений в гипоталамо-гипофизарно-яичниковой регуляторной

системе. Снижение синтеза стероидных гормонов эндокриноцитами яичника по механизму отрицательной обратной связи сопровождается повышением уровня гонадотропинов, что исключает возможность выброса овуляторной пиковой концентрации ФСГ и ЛГ [Андреева Е.Н. и др., 2005].

1.3 Роль факторов межклеточного взаимодействия в фолликулогенезе

Накапливается все больше данных, свидетельствующих о роли факторов паракриной регуляции созревания фолликулов в генезе различных патологических состояний яичников [Зенкина В.Г. и др., 2012; Sanches F., Smitz J., 2012; Серов В.Н. и др., 2015]. Однако до сих пор не установлена роль костного морфогенетического белка 15 (bone morphogenetic protein, BMP15), белка целевого контакта коннексина-37 (Cx37) и фактора роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor, VEGF) в возникновении функциональных кист яичника.

Фолликулогенез представляет собой сложный процесс, включающий эндокринные, а также экстра- и интраовариальные паракриные взаимодействия, призванные установить наиболее подходящую среду для развития овоцитов. В этой среде кумулюсные клетки играют решающую роль в развитии овоцитов.

Семейство TGF-beta 1 относится к суперсемейству трансформирующего фактора роста, которое включает в себя ингибины, активины, АМГ, BMP [Knight P.G., Glister C., 2003; Fadeel B., Orrenius S., 2005]. Представители данного семейства играют центральную роль во многих процессах, регулирующих развитие фолликулов и созревание овоцитов [Калугина А.С. и др., 2009]. TGF-beta может вызывать апоптоз, активируя какой-либо из двух сигнальных путей: SMAD или DAXX. Сигнал BMP передается через SMAD1 и SMAD5, в то время как TGF-beta и активины действуют через SMAD2 или SMAD3 [Новиков В.С., 1996; Копнин Б.П., 2000; Cataldo N.A. et al., 2000; Дубровина С.О., 2006; Кондратьева П.Г. и др., 2009].

На этапе образования полости, заполненной фолликулярной жидкостью, фолликулоциты разделяются на два анатомически и функционально различающихся типа клеток. Клетки кумулюса непосредственно окружают яйцеклетку, формируя комплекс овоцит–кумулюс, в то время как муральные фолликулоциты располагаются в стенке фолликула, не контактируя с яйцеклеткой.

Овогенез – это комплексный процесс, регулируемый множеством интра- и экстраовариальных факторов. В первичных овоцитах синтез и аккумуляция РНК и белков в процессе овогенеза необходимы для роста и созревания овоцита. Взаимодействие между овоцитом и окружающими его клетками гранулезы жизненно необходимы и для развития овоцита, и для дифференцировки клеток гранулезы. Овоцит зависит от дифференцированных клеток гранулезы, обеспечивающих его питательными веществами и регуляторными сигналами, необходимыми для поддержки созревания ядра и цитоплазмы овоцита. В настоящее время на животных моделях получены многочисленные доказательства необходимости кумулюсно-овоцитарного взаимодействия в процессе овогенеза и созревания овоцита.

В последние десятилетия значительный прогресс был достигнут в расшифровке факторов, регулирующих рост и развитие овоцита и фолликулов, посредством изучения роли большого количества белков, выявляемых в процессе овогенеза, особенно в ранние его стадии. Прогресс в базовых аспектах изучения овоцита был достигнут на молекулярном уровне. Более того, культивирование клеток гранулезы и ко-культивирование овоцита с гранулезными клетками стало общепринятой моделью для изучения взаимодействия между овоцитом и окружающими его соматическими клетками и доказательства способности овоцита регулировать функции гранулезных клеток.

Рост и развитие фолликулов в преантральной стадии опосредовано локальными интраовариальными паракринными факторами, продуцируемыми овоцитом, гранулезными клетками и текой [Боярский К.Ю., Гайдуков С.Н., 2010]. Примерно со стадии вторичного фолликула (число слоев гранулезы при

этом может достигать 8) начинается так называемая гормонально-чувствительная фаза роста фолликулов. Антральная стадия развития фолликула начинается с формирования полости и дифференцировки гранулезных клеток в клетки кумулюса и муральные. Действие гонадотропинов в яичниках опосредуется присутствием и активацией в них рецепторов ЛГ и ФСГ.

1.3.1 Роль костного морфогенетического белка 15 в фолликулогенезе

Существует большое количество доказательств, подтверждающих концепцию центральной роли яйцеклетки в регуляции роста и развития фолликула [Elvin J.A. et al., 1999; Diaz F.J. et al., 2007]. В. Falck в 1959 г. впервые продемонстрировал в своем исследовании, что интактные преовуляторные фолликулы кролика не подвергаются лютеинизации при пересадке в переднюю камеру глаза, в отличие от пересадки только стенки фолликула или зернистых клеток без овоцита, которые подвергаются морфологической лютеинизации [Falck В., 1959]. Таким образом, овоцит ингибировал лютеинизацию других фолликулярных клеток.

В 1970 г. А. Nalbandov и соавт. впервые выдвинули гипотезу о том, что яйцеклетка обладает потенциалом, направленным на предотвращение преждевременной лютеинизации фолликулов. Удаление овоцита вызывало спонтанную лютеинизацию зернистых клеток и тека-клеток и повышало секрецию прогестерона на уровне производства желтых тел. Эти исследования доказывали, что яйцеклетка принимает участие в управлении процессом лютеинизации фолликула, возможно, за счет секреции ингибитора лютеинизации [Nalbandov А. et al., 1970].

Несколько десятилетий спустя было установлено, что полученный из яичника представитель суперсемейства TGF- β играет важную роль в подавлении производства прогестерона клетками гранулезы. Первоначальная работа показала, что два производимые текой костных морфогенетических белка (например, BMP-4 и BMP-7) ингибируют ФСГ-зависимую продукцию прогестерона, стимулируя ФСГ-зависимую продукцию эстрадиола в зернистых клетках крыс в

экспериментах *in vitro*. Этот вывод согласуется со стероидогенезом в естественных условиях в течение фолликулярной фазы менструального цикла.

После идентификации системы BMP в яичнике, значительный прогресс был достигнут в понимании молекулярных механизмов того, как факторы овоцитов регулируют функцию зернистых клеток во время роста фолликула и овуляции [Galloway S.M. et al., 2000; Shimasaki S. et al., 2003, 2004; Di-Pasqual E. et al., 2004; Su Y.Q. et al., 2004; McNatty K.P. et al., 2005; Di-Pasqual E. et al., 2006; Dixit H. et al., 2006; Laissue P. et al., 2006; Gilchrist R.B. et al., 2008; Sadeu J.C. et al., 2008; Shahed A., Young K.A., 2013; Li Y. et al., 2014].

Другие представители TGF- β надсемейства (например, продуцируемые овоцитом BMP-15 и BMP-6) также ингибируют ФСГ-зависимую продукцию прогестерона без изменения продукции эстрадиола в зернистых клетках крыс [Otsuka F., 2000, 2011; Yan S. et al., 2001; Moore R.K. et al., 2003, 2005; Orisaka M. et al., 2006; Wang N.G. et al., 2014]. Таким образом, было доказано, что долгожданные продуцируемые овоцитом ингибиторы лютеинизации наиболее вероятно являются членами семейства BMP.

Мутации гена *BMP-15* могут быть причиной короткого периода повышенной плодовитости, что приводит к увеличению вероятности появления дизиготных близнецов и (или) быстрого исчерпывания резерва яичников, ведущей к преждевременной их недостаточности.

1.3.2 Роль белка щелевого контакта коннексина 37 в фолликулогенезе

Большинство факторов роста, оказывающих влияние на рост и созревание овоцита, выделяются соматическими клетками яичников [Храмова Ю.В. и др., 2015]. Тесный метаболический контакт между яйцеклеткой и соматическими клетками окружения (фолликулоцитами и клетками теки), согласованные процессы взаимного влияния обеспечивают процессы фолликулогенеза, овуляции, оплодотворения и развития зародыша [Hussein T.S. et al., 2005; Gershon E., 2008; Su Y.Q. et al., 2009; Conti M., 2010; Haouzi D. et al., 2012; Chang R.J., Cook-Andersen H., 2013; Ganesan S., Keating A.F., 2014].

Щелевые контакты соединяют клетки фолликула с овоцитом. Разрушение связи между овоцитом и окружающими его гранулезными клетками является одним из сигналов к запуску изменений, приводящих к выходу зрелого овоцита из яичника при овуляции.

Кумулюсные клетки осуществляют многие свои функции за счет клеточных взаимодействий через щелевые контакты между собой и с оволеммой. Олигомеразные мембранные протеины (коннексины) образуют структуру коннексонов, прямое соединение двух коннексонов формирует внутриклеточные каналы. Благодаря щелевым контактам от кумулюса к яйцеклетке проводятся различные молекулы [Gittens J.E., Kidder G.M., 2005].

Овоцит нуждается в окружении, которое сможет удерживать его в профазе мейоза I до получения сигнала об увеличении концентрации лютеинизирующего гормона. Доминантный фолликул окружен слоем текальных клеток и базальной мембраной. Под ними находится слой гранулезных клеток, заполненная фолликулярной жидкостью антральная полость и овоцит. Среди клеток гранулезы различают муральные и кумулюсные клетки в зависимости от их расположения к базальной мембране, полости фолликула и овоциту. Муральные клетки формируют слой, лежащий под базальной мембраной и окружающий полость фолликула. Кумулюсные клетки располагаются непосредственно вокруг овоцита и окружены антральной жидкостью за исключением клеток яйценосного бугорка, которые соединяют муральные и кумулюсные клетки.

В последние годы был достигнут значимый прогресс в изучении взаимодействия овоцита и клеток гранулезы и их взаимном влиянии друг на друга. По данным S. Richard и J.M. Baltz (2014), медиаторами данного процесса служат не только паракринные сигналы, но и структурные белки щелевых контактов.

Иммунофлюоресцентный анализ выявил, что в яичниках мышей Cx-37 определяется на поверхности овоцита и между кумулюсными клетками вокруг блестящей зоны. Введения коннексин-подобного белка в полость антрального фолликула не приводит к возобновлению мейоза овоцита. Исследователи

предполагают, что это связано с расположением Сх-37 непосредственно на поверхности овоцита. При этом инъекция коннексин-подобного пептида ближе к поверхности овоцита и блестящей зоне приводит к связыванию пептида с рецептором.

Взаимодействие между овоцитом и клетками кумулюса необходимо для созревания ядра и цитоплазмы женской половой клетки, которые определяют ее способность поддерживать ранний эмбриогенез. Овоцит в свою очередь влияет на пролиферацию клеток гранулезы и их дифференцировку, а также регулирует метаболическую активность кумулюсных клеток (обмен аминокислот, гликолиз и синтез холестерина).

Овоциты задерживаются на стадии профазы первого мейоза до стадии овуляции. Этот процесс поддерживается гранулезными клетками кумулюса, окружающими женскую половую клетку. Исследования последних лет продемонстрировали, что продукция регулирующих факторов кумулюсными клетками зависит от уровня фермента гуанилатциклазы. Активация данного фермента осуществляется под влиянием Natriuretic Peptide Precursor C (NPPC). Регуляторные белки достигают поверхности овоцита через щелевые контакты, которые соединяют клетки гранулезы кумулюса друг с другом и овоцитом.

Исследования КОК показали, что введение коннексин-подобного пептида изменяет пространственную структуру в щелевых контактах, препятствует транспорту факторов местной регуляции и нарушает процесс созревания овоцита в КОК и изолированных антральных фолликулах *in vitro*. Коннексин-подобный белок нарушает NPPC – опосредованный регуляторный механизм, приводя к возобновлению мейоза только в случае инъекции в перивителлиновое пространство вблизи поверхности овоцита в КОК. Данные исследования подтверждают локализацию Сх-37 на поверхности овоцита в отличие от других белков щелевых контактов, в частности Сх-43, расположенных преимущественно на поверхности кумулюсных клеток. Фертильность у женщин зависит от поддержания овоцита в фолликуле в профазе мейоза I до начала процесса овуляции, который запускает дальнейшее созревание овоцита.

Овоцит и клетки гранулезы соединены двунаправленными связями. В то время как овоцит способствует пролиферации и дифференцировке гранулезных клеток, последние поддерживают половую клетку в профазе первого мейоза. В данном взаимодействии важную роль играют факторы паракринной регуляции. Нокаут-мутации в гене *Cx-37* приводят к ановуляции и инфертильности. Введение ингибитора белка щелевого контакта приводит к разрушению связи между овоцитом и кумулюсными клетками и инициирует возобновление мейоза, приводя к преждевременному созреванию овоцита. Остановку мейоза поддерживает высокая концентрация АМГ. Высокий внутриклеточный уровень АМГ поддерживается специфическими фосфодиэстеразами в овоците, ингибируются факторами кумулюсных клеток. Исследования последних лет продемонстрировали, что NPPC продуцируется муральными гранулезными клетками, затем путем диффузии проникает в антральную жидкость и связывается с рецепторами, находящимися на поверхности кумулюсных клеток, активируя фермент гуанилатциклазу. Экспрессия гуанилатциклазы зависит от концентрации эстрадиола. Регуляторный белок передается через щелевые контакты между кумулюсными клетками и достигает поверхности овоцита. Добавление NPPC и эстрадиола в культуру КОК и изолированных антральных фолликулов *in vitro* поддерживает овоцит в стадии профазы первого мейоза на четыре часа дольше, чем в интактных фолликулах.

Примером взаимодействия овоцита и кумулюсных клеток является возобновление мейоза (переход от стадии G2 к стадии M) в овоците после его извлечения из КОК или разрыва межклеточных контактов, при этом отмечается изменение концентрации цАМФ и протеинкиназы A в овоците.

Коннексин 37 имеет важное значение в период базального фолликулярного роста, на всех этапах фолликулогенеза представлен в яйцеклетке. У мышей *Cx-37* экспрессируется кумулюсно-овоцитарным комплексом и обнаруживается между кумулюсными клетками, на чрезоболочечных выпячиваниях кумулюсных клеток, обеспечивающих их связь с *zona pellucida*, на микроворсинках либо

плазматической мембране овоцита. Коннексин 37 синтезируется как овоцитом, так и гранулезными клетками. Число щелевых контактов, окружающих овоцит, увеличивается от стадии 2 до стадии 6 параллельно с ростом фолликула и яйцеклетки, достигая максимума в преантральных фолликулах [Richard S., Baltz J.M., 2014].

В яичниках мышей, лишенных коннексина 37 вследствие делеции синтезирующего гена, рост и развитие фолликулов протекают без изменений до стадии поздних преантральных фолликулов. В отсутствие Cx-37 развитие фолликулов останавливается на этапе перехода из преантральной стадии в антральную, в результате большинство фолликулов остаются на первичной стадии, обнаруживается лишь несколько мелких антральных фолликулов. Более того, овуляция не происходит, несмотря на формирование многочисленных желтых тел [Teilmann S.C., 2005].

Следует подчеркнуть, что овоциты мышей в экспериментальных моделях (дефицит Cx-37) не способны к мейозу, что свидетельствует о необходимости взаимодействия между кумулюсными клетками для достижения овоцитом мейотической компетентности [Yang Y. et al., 2015].

Таким образом, описанные коннексин-дефицитные экспериментальные модели демонстрируют важнейшую роль щелевых контактов в фолликулогенезе. Известны многочисленные модели и гипотезы, объясняющие, каким образом и в какой степени кумулюсные клетки обеспечивают повышение концентрации внутриклеточного цАМФ, необходимое для сохранения задержки мейоза даже после достижения овоцитом мейотической компетентности.

1.3.3 Роль фактора роста эндотелия сосудов в фолликулогенезе

Известно, что процесс неоангиогенеза регулируется действием сосудисто-эндотелиального фактора роста, обеспечивающего формирование стабильного кровотока в сосудах репродуктивной системы женщины [Geva E., Jaffe R., 2000; Bruno J. et al., 2009; Хохлова С.В., 2010; Кузнецова И.В., 2011; Ходжаева З.С.,

Мусиенко Е.В., 2011; Masoumi-Moghaddam S. et al., 2012, 2015; Куртукова М.О. и др. 2015; Тепляшина Е.А. и др., 2015 Тырсина Е.Г., Никулицкий С.И., 2015].

Яичники – это органы эндокринной системы, которые подвергаются циклическим изменениям в соответствии с процессами фолликулогенеза и сопровождающего его ангиогенеза. Ингибирование VEGF-A в начале фолликулярной фазы подавляет не только васкуляризацию в текальной оболочке, но и в целом фолликулогенез у экспериментальных животных. Блокада рецепторов 2-го типа VEGF (VEGFR2) препятствует гонадотропин-зависимому росту и развитию фолликулов. Более того, ингибирование VEGF-A или VEGFR2 у экспериментальных животных в фолликулярной фазе овариального цикла блокирует эндокринные изменения, ассоциированные с ростом фолликулов и овуляцией. VEGF-C является фактором, регулирующим образование лимфатических сосудов. Его действие сопряжено с рецептором VEGFR3. VEGF-C также может связываться VEGFR2, кроме того, эндотелиоциты в развивающихся кровеносных сосудах могут экспрессировать VEGFR3. Экспрессия VEGF-C и VEGFR3 в растущих фолликулах и их способность модулировать сосудистую проницаемость менее изучены. Их роль в развитии фолликулов еще предстоит изучить.

В дополнение к своей про-ангиогенной роли VEGF играет роль в повышении сосудистой проницаемости. Секреция жидкости в полость антрального фолликула в конце фолликулярной фазы играет ключевую роль в перивуляторных изменениях яичника. Есть основания полагать, что VEGF препятствует апоптозу в клетках гранулезы. Ингибирование VEGF во время селекции фолликулов может приводить к нарушению фолликулогенеза вследствие снижения ангиогенеза.

Изучение эффектов ингибиторов ангиогенеза может открыть новые пути в лечении заболеваний репродуктивной системы, характеризующихся патологическим ангиогенезом, воспалением и увеличением сосудистой проницаемости. Например, синдром поликистозных яичников (СПКЯ) характеризуется формированием множественных фолликулярных кист. При этом

наблюдаются гиперпластические изменения в текальной оболочке, сопровождаемые усилением васкуляризации. Клетки гранулезы секретируют повышенные уровни VEGF, что усиливает стромальный кровоток. Для изучения эндокринных эффектов ингибирования VEGF исследователи вводили препарат в середине фолликулярной фазы цикла, так как в это время размер фолликулов и концентрация эстрадиола у интактных животных наиболее близки наблюдаемым у пациенток с СПКЯ. При этом отсутствует прогрессивный рост концентрации эстрадиола, который характеризует вторую часть фолликулярной фазы. Исследователи предполагают, что ингибирование VEGF вызывает атрезию в рекрутированных фолликулах на антральной стадии развития. Введение препарата при СПКЯ может вызывать атрезию антральных фолликулов и снижать сосудистую проницаемость. Эффект введения ингибитора VEGF при СПКЯ сопоставим с эффектом, достигаемым при каутеризации яичников. В имеющихся исследованиях изучение влияния ингибитора на процесс селекции фолликулов ограничено мониторингом эндокринных эффектов. Следовательно, необходимо изучить эффект препарата на уровне морфологических и иммуногистохимических изменений.

В исследовании, проведенном P.D. Taylor и соавт. в 2007 г., изучались эффекты ингибитора VEGF на процессы роста, развития и селекции фолликулов, яичникового ангиогенеза и атрезии. Обезьянкам-игрункам вводился ингибитор VEGF на 5-е сутки фолликулярной фазы овариально-менструального цикла (основная группа эксперимента). Срезы яичников животных основной группы были исследованы на 10-е и 15-е сутки, яичники интактных животных оценивались на 5-е (селекция фолликулов), 10-е (перивуляторные изменения) и 15-е (лютеиновая фаза цикла) сутки эксперимента. На 10-е сутки яичники 4 из 5 интактных животных содержали доминантные фолликулы, в одном из них происходила овуляция. Яичники основной группы на 10-е сутки эксперимента также содержали крупные фолликулы, но ингибирование VEGF подавляло пролиферацию эндотелиальных клеток, приводя к редукции текальной васкуляризации и снижению сывороточной концентрации эстрадиола в

сравнении с группой контроля. На 15-е сутки эксперимента яичники животных группы контроля содержали желтые тела в стадии расцвета, в то время как яичники 4 из 5 животных основной группы содержали крупные антральные фолликулы, достигающие размеров преовуляторных фолликулов, а в одном случае регистрировались мелкие аваскуляризированные желтые тела. Описанные фолликулы характеризовались ограниченной васкуляризацией, активацией каспазы-3, подобные морфологические изменения свидетельствовали о высоком риске формирования нефункциональных ретенционных образований. Таким образом, VEGF необходим для сосудистой поддержки фолликулов, вступивших в фазу роста, а также адекватного процесса овуляции и функционирования желтого тела.

Введение ингибитора VEGF в раннюю фолликулярную фазу блокировало процессы пролиферации текальных эндотелиоцитов, васкуляризацию и формирование полости в фолликулах. Перечисленные эффекты приводили к снижению количества или полному отсутствию крупных антральных фолликулов. Затем были изучены эффекты VEGF на поздние стадии фолликулярного развития, процесс ангиогенеза, пролиферацию клеток гранулезы и секрецию жидкости в полость антрального фолликула. Результаты продемонстрировали, что ингибитор VEGF блокирует процессы ангиогенеза, препятствует формированию доминантного фолликула и инициирует процессы атрезии в фолликулах на стадии селекции. При этом выход жидкости из сосудистого русла в полость фолликула мог продолжаться и усиливал атретические изменения в фолликулах. Хотя фолликулы имели достаточный размер, они не могли подвергнуться процессу овуляции, что демонстрировало важные морфологические и функциональные изменения. В яичниках только одного животного основной группы регистрировалась овуляция. В результате ановуляторных циклов нарушался процесс формирования желтых тел, их размер уменьшался, отсутствие пролиферации эндотелиоцитов приводило к нарушению микроциркуляции и снижению концентрации прогестерона. Ингибирование VEGF сопровождалось специфическими изменениями пролиферации

фолликулоцитов растущих фолликулов. В текальной оболочке нарушались процессы пролиферации не только эндотелиоцитов, но и паренхиматозных клеток. Как следствие в фолликулах животных основной группы толщина теки была меньше, чем в фолликулах контрольной группы на одинаковых стадиях развития. Также определялась супрессия пролиферации клеток гранулезы в третичных фолликулах. В крупных антральных фолликулах интактных животных пролиферация клеток гранулезы была выше, чем в основной группе. Данные изменения сохранялись до десятых суток эксперимента, что обусловлено началом преовуляторного периода. Наблюдаемые эффекты в виде снижения пролиферации фолликулоцитов текальной оболочки и клеток гранулезы, вероятно являются вторичными по отношению к снижению васкуляризации текальной оболочки и сосудистой проницаемости. Это может приводить к снижению диффузии макромолекул гонадотропинов и других протеинов в полость растущие фолликулы. Снижение пролиферации клеток гранулезы при введении ингибитора также может быть результатом аутокринного антиапоптотического эффекта VEGF. Все перечисленное выше приводит к снижению плазменной концентрации эстрадиола в сравнение с таковым в группе контроля. Недостаточный уровень половых стероидов делает невозможным вступление доминантного фолликула в стадию овуляции. Иммуногистохимическое исследование уровня каспазы-3 демонстрирует усиление экспрессии данной протеазы в клетках гранулезы в яичниках экспериментальных животных, что свидетельствует об атретических изменениях в антральных фолликулах. Введение антагониста гонадотропин-рилизинг-фактора в период селекции фолликулов также приводит к атретическим изменениям в фолликулах и повышению уровня жидкости в антральной полости. Пассивное накопление жидкости и увеличение объема полости фолликула при этом не сопровождается устойчивой пролиферацией эндотелиоцитов кровеносных сосудов, клеток теки и гранулезы, усилением секреции VEGF или гонадотропинов.

Механизмы, регулирующие развитие фолликулов, до настоящего момента остаются малоизученными. Диаметр фолликула при накоплении жидкости в

антральную стадию увеличивается в 50 раз быстрее, чем в процессе преантрального развития. VEGF продемонстрировал антиапоптотический эффект фактора роста в различных тканях в условиях *in vitro* и *in vivo*.

VEGF является главным медиатором сосудистой проницаемости в тканях яичника, ингибирование VEGFR2 приводит к снижению выраженности изменений у экспериментальных животных с моделью синдрома поликистозных яичников. Блокада VEGF в лютеиновую фазу фолликулогенеза снижает плазменную концентрацию прогестерона также за счет снижения проницаемости сосудов.

Аквапорины экспрессируются в ткани яичника, играя важную роль в поступлении межклеточной жидкости и внутрисосудистой жидкости в полость антрального фолликула. Доступные научные данные не утверждают регулируемую роль VEGF в экспрессии аквапоринов в яичнике. Механизм накопления жидкости в доминантном фолликуле еще предстоит изучить.

Применение антагонистов VEGF после селекции фолликулов снижает пролиферацию эндотелиоцитов, что приводит к снижению текальной васкуляризации, ановуляции и формированию нефункциональных ретенционных образований. Хотя фолликулы продолжают накапливать жидкость и достигают необходимых размеров, они не овулируют и подвергаются процессам атрезии.

Рост сосудов и васкуляризация играют важнейшую роль в росте доминантного фолликула. Секреция и эффекты ангиогенных факторов роста связаны с этапами роста и селекции доминантного фолликула [Neufeld G. et al., 1999]. Установлено, что гемодинамические процессы в яичниках зависят от уровня гормональной стимуляции. Доказана ангиогенная стимуляция эстрадиола [Yang J. et al., 2014]. Рецепторы VEGF теки и эпителия антральных фолликулов ответственны за повышение проницаемости микрососудов и могут способствовать накоплению фолликулярной жидкости в кистозных фолликулах [Карапетян В.Л. и др., 2010]. Дополнительные сосуды также могут формироваться в месте разорвавшегося фолликула [Shimizu T. et al., 2002; Chen H. et al., 2004; Decio A. et al., 2014; Bhaskari J. et al., 2015; Yang Y. et al., 2015].

Механизм действия VEGF был подробно описан H.F. Dvorak и соавт. в 1992 г. и дополнен в 1996 г: VEGF индуцирует формирование фенестраций в кровеносных сосудах и образование везикуловакуолярных органелл и каналов, через которые осуществляется экстравазация. Это приводит к образованию фибрин-содержащего внесосудистого геля, «матрицы», которая поддерживает рост эндотелиальных клеток [Dvorak H.F., 1992].

В преовуляторном фолликуле сосуды теки проникают в подлежащий слой клеток гранулезы. После разрыва стенки и выхода КОК из полости фолликула продолжают процессы ангиогенеза. Формирование желтого тела путем лютеинизации эндокриноцитов стенки проовулировавшего фолликула, синтез прогестерона лютеоцитами требуют сосудистой поддержки – образуется густая сеть капилляров, кровь из которых оттекает в многочисленные вены.

Вне патологии функциями VEGF являются: поддержание гомеостаза эндотелиального барьера, регуляция сосудистой проницаемости для воды и макромолекул, сосудистого тонуса, трансэндотелиальной миграции клеток. Кроме того, VEGF обладает васкулопротективными свойствами.

Большинство вступивших в стадию роста фолликулов подвергаются атрезии на различных этапах фолликулогенеза. К моменту полового созревания в яичниках девочки насчитывается около 300 тыс. фолликулов, в то время как при рождении их количество достигало 1–2 млн. У современных женщин за репродуктивный период происходит 400–500 овуляторных циклов. При этом ежемесячно в рост вступают 30–40 яйцеклеток [Erickson G., Shimasaki S., 2001].

VEGF является ингибитором апоптоза, в клетках доминантного фолликула уровень его мРНК повышен по сравнению с подвергающимися апоптозу преантральными фолликулами.

VEGF опосредует рост сосудов и васкуляризацию, играет важнейшую роль в процессах роста и селекции доминантного фолликула [Chen H. et al., 2004]. Повышение проницаемости микрососудов стенки доминантного фолликула приводит к накоплению фолликулярной жидкости, что является важным аспектом патогенеза ретенционных кист яичников.

1.4 Морфологические изменения яичников при моделировании функциональных кист у экспериментальных животных

Моделирование функциональных кист яичников у экспериментальных животных позволяет изучить морфофункциональные изменения, патогенез формирования и механизмы регресса кист, а также исследовать новые способы фармакологической и хирургической коррекции данного патологического состояния. При этом исследователи стремятся разработать метод индукции функциональных кист, которой был бы наиболее близок к патогенезу формирования ретенционных образований яичников в организме человека. Известны следующие способы моделирования поликистозных яичников: воздействие сильными раздражителями, овариоэктомия, введение стероидных гормонов, а также хорионического гонадотропина на фоне гиперинсулинемии [Лазарев Н.И. и др., 1976; Иваненко О.Г., 1988; Bogovich K., 1991].

Механизм формирования кист яичников у самок экспериментальных животных при круглосуточном электрическом освещении основан на функциональных изменениях гипоталамуса. Отсутствие циклической регуляции гипофизарных гонадотропоцитов приводит к нарушениям овариально-менструального цикла и ановуляции. Формирование функциональных кист яичников обнаруживается на 2–3-й месяц после начала воздействия.

Овариоэктомия приводит к снижению концентрации эстрадиола в крови самок экспериментальных животных, при этом по механизму отрицательной обратной связи повышаются синтез и секреция гонадотропинов. Отсутствие овуляторного пика секреции ЛГ усиливает процессы атрезии фолликулов, лютеинизации текальных клеток и ановуляции. Кисты яичников обнаруживаются через 4–12 месяцев [Convery M. et al., 1990].

Основными методиками с введением стероидных гормонов являются неонатальная андрогенизация (введение новорожденным крысятам-самкам тестостерона пропионата) и экзогенная эстрогенизация (введение половозрелым

крысам эстрадиола валерата) [Brawer J.R. et al., 1986; Jones H.M. et al., 1987; Bogovich K., 1997; Lee J.C., 2003; Tsikouras T. et al., 2007; Tyndall V. et al., 2012; Tehrani F.R., 2014]. При использовании данных методов кисты яичников формируются в срок до 3 месяцев.

Способ моделирования поликистозных яичников, основанный на введении хорионического гонадотропина и инсулина в течение 22 дней, был предложен К. Bogovich и соавт. в 1999 г.

При гистологическом исследовании яичников после использования вышеперечисленных методик визуализируются различные виды функциональных кист: фолликулярные, лютеиновые и простые.

Способ моделирования поликистозных яичников, основанный на введении суперовуляторной дозы хорионического гонадотропина и инсулина в течение 7 дней, был предложен С.В. Логвиновым и О.А. Тихоновской в 2007 г. При этом поликистозные изменения в яичниках выявляются уже на 10-е сутки эксперимента. Авторы методики выделяют следующие механизмы кистообразования. Введение ХГЧ (аналога ЛГ) на фоне гиперинсулинемии вызывает преждевременную лютеинизацию тека-клеток первичных и вторичных фолликулов и в меньшей степени действует на гранулезные клетки. Гиперплазия тека-клеток приводит к высокой секреции андрогенов, которые в свою очередь ингибируют ароматазу гранулезных клеток и синтез в них эстрадиола. Тем самым снижается митогенный эффект гранулезных клеток и чувствительность растущих фолликулов к ФСГ (паракринный фактор фолликулогенеза). Нарушение овосоматических взаимоотношений приводит к дегенерации овоцитов.

Среди недостатков данного метода следует отметить необходимость наличия гиперинсулинемии, образование наряду с фолликулярными лютеиновых кист и появление множества атретических фолликулов. Заслуживает внимания мнение исследователей о том, что в формировании фолликулярных кист яичников у женщин имеет значение кратковременная монотонная гиперстимуляция фолликулостимулирующим гормоном.

1.5 Эпидемиология и клиническая картина функциональных кист яичников

Актуальность исследования роли межклеточных взаимодействий овосоматического гистиона в механизмах формирования функциональных кист яичников определяется высокой частотой встречаемости данной патологии. Ретенционные кисты яичников часто приводят к хронической ановуляции и бесплодию, что оказывает существенное влияние на репродуктивную функцию женщин [Бухарина И.Ю., 2003; Vanholder T., Opsomer G., 2006; Антропова Н.В., Богатова И.К., 2014; Farghaly S.A., 2014].

По данным различных исследований, частота встречаемости кистозных образований яичников достигает 7,8% в группе пациенток репродуктивного возраста и 2,5–18,0% у больных в постменопаузе [Бохман Я.В., 1989; Бурлев В.А. и др., 2000; Боярский К.Ю., Гайдуков С.Н., 2010]. Большинство образований яичников являются доброкачественными и составляют 70–80%, из них 34% – это опухолевидные процессы, основное место в структуре которых занимают функциональные кисты яичников [Бекманн Ч.Р, 2004].

Клиническая значимость функциональных кист яичников подчеркивается их распространенностью, преимущественно, у женщин детородного возраста (55,2% случаев) [Бурлев В.А. и др., 2000; Боярский К.Ю., Гайдуков С.Н., 2010], нарушением менструальной, секреторной и репродуктивной функций [Гаспаров А.С., 2011; Гаспаров А.С. и др., 2013, 2014; Гасимова Д.М., Рухляда Н.Н., 2014; Сибирская Е.В. и др., 2015].

Функциональные кисты яичников встречаются у лиц женского пола в различных возрастных группах – от периода новорожденности до периода менопаузы [Боярский К.Ю., 2002, 2006]. Большинство таких кист самостоятельно исчезают в течение 60 дней без проведения лечения [Серов В.Н., Кудрявцева Л.И., 1999].

Симптомами кист яичников больших размеров могут быть: тазовые боли колющего характера, диспареуния и аномальное маточное кровотечение, связанное с нарушениями овуляции [Бодяжина В.И., 1969; Вишневская Е.Е.,

1994; Егорова Я.А., 2011]. Олигоменорея преобладает у пациенток с фолликулярными кистами, является следствием удлинения фолликулярной фазы в результате персистенции фолликула, часто осложняется бесплодием [Кадесникова Ю.А. и др., 2010]. По мнению Ч. Бекманна (2004), В.Н. Серова и соавт. (2015), нарушения менструального цикла различного типа могут являться результатом как несостоявшейся последующей овуляции, так и избыточного количества выработанного внутри фолликула эстрадиола. При отсутствии овуляции чрезмерная эстрогенная насыщенность организма (относительная или абсолютная гиперэстрогения) гиперстимулирует эндометрий и вызывает аномальные кровотечения.

Кисты желтого тела характеризуются высокой эндокринной активностью и часто продуцируют избыток стероидов, особенно прогестерона [Тихоновская О.А. и др., 2006]. Они могут вызвать кровотечение различной интенсивности – от незначительного до опасного для жизни и требующего немедленного оперативного вмешательства. Постоянно существующая киста желтого тела может вызывать локальную болезненность, аменорею или задержку менструации, что напоминает клиническую картину внематочной беременности. Киста желтого тела может сопровождаться перекрутом или разрывом яичника (симптом – острая боль), а также вызывать кровотечение в брюшную полость. В этом случае для остановки кровотечения требуется проведение лапароскопии или лапаротомии. При отсутствии осложнений показана симптоматическая терапия. Кисты желтого тела обычно исчезают через 1–2 месяца у пациенток с сохраненным менструальным циклом.

В случае наличия функциональных кист яичников, при выполнении бимануального исследования обнаруживаются односторонние болезненные подвижные кистозные либо солидные образования придатков [Ефименко Ю.В., 2004].

Яичниковая недостаточность – частое осложнение функциональных кист яичников [Кудрявцева Л.И. и др., 2003].

Актуальность исследования патогенеза функциональных кист яичников определяют высокая распространенность данной патологии среди женщин репродуктивного возраста, вероятность осложненного клинического течения, требующего экстренной госпитализации и оперативного вмешательства. Ановуляция и инфертильность, являющиеся прямым патогенетическим следствием наличия у женщины данного заболевания, подчеркивают необходимость досконального изучения этиологии и патогенеза кистозных образований яичников и поиска новых патогенетически обоснованных методов лечения и профилактики рецидивов возникновения функциональных кист яичников.

1.6 Современная тактика ведения пациенток с функциональными кистами яичников

До настоящего времени патогенез функциональных кист яичников окончательно не установлен [Каримов З.Д. и др., 2012; Антропова Н.В., Богатова И.К., 2014]. Однако в последние годы значительно расширились представления о механизмах фолликулогенеза и овуляции, нарушение которых является причиной образования данного патологического состояния. Наиболее частыми причинами накопления фолликулярной жидкости в кистозно-атрезирующем фолликуле считаются гипоталамо-гипофизарная дисфункция и воспалительный процесс [Хмельницкий О.К., 1994; Дубровина С.О., 2004; Вовк И.Б., Петербургская В.Ф., 2007].

Функциональные кисты яичников наиболее часто встречаются у пациенток репродуктивного возраста. В структуре оперативных вмешательств, проводимых в гинекологическом стационаре, доля операций по поводу кист яичников достигает 30%. Вызывает тревогу как увеличение частоты опухолевидных образований в структуре гинекологической патологии, так и нежелательная хирургическая агрессия с последующим патологическим снижением или потерей овариального резерва, и, следовательно, снижение фертильности и неудачные попытки

применения вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). С одной стороны, это можно объяснить стремлением не пропустить серьезные опухоли яичников, особенно у женщин позднего репродуктивного периода либо в периоде менопаузального перехода [Троик Е.Б., Шерстнов М.Ю., 2008]. С другой стороны, вероятность осложненного клинического течения кист яичников, при котором не исключены терминальные состояния (геморрагический, болевой шок), заставляет врача выбирать оперативную тактику [Белоглазова С.Е., 1999; Кудрявцева Л.И. и др., 2003; Баженова Л.Г., 2007].

При бессимптомном течении функциональных кист яичников показано динамическое ультразвуковое исследование (УЗИ) в течение 3 месяцев, которое позволяет оценить динамику изменений размеров кист [Хачкурузов С.Г., 1999; Мардонова С.М. и др., 2004; Дубровина С.О., 2005; Озерская И.А., 2005; Серебренникова К.Г., 2010]. Высокий процент кист, благодаря функциональному характеру возникновения, подвергается регрессу без проведения лечения. При этом сохраняется риск рецидива [Манухин И.Б. и др., 2006; Кузнецова Е.П., Серебренникова К.Г., 2010; Окороков А.О., 2010; Kim J.H. et al., 2014].

Низкая эффективность консервативного лечения пациенток с кистами яичников часто отмечается в клинической практике. По данным различных исследований, регресс функциональных кист при симптоматическом течении не превышает 50–55% случаев, при этом сохраняется риск осложненного течения и оперативного лечения [Серебренникова К.Г., Кузнецова Е.П., 2002, 2011; Кустаров В.Н., Попова С.С., 2004; Тагиева А.В., 2004; Савельева Г.М. и др., 2006; Киргизова О.Ю., Москалева А.Ю., 2009; Стулова С.В. и др., 2014]. Регрессу при использовании консервативных методов лечения лучше подвергаются кисты желтых тел [Кулаков В.И. и др., 2005].

В настоящее время в лечении кистозных образований яичников четко просматривается тенденция к рациональному ограничению хирургических вмешательств на яичниках и замене их патогенетически обоснованной медикаментозной терапией [Яценко В.Ю., Матыцина Л.А., 2003; Зулумян Т.Н. и др., 2010; Ярмолинская М.И., Денисова В.М., 2013]. Показаниями к

хирургическому лечению являются: симптомы осложненного клинического течения, недостаточный эффект от консервативного лечения, рецидивы кист яичников, хронический болевой синдром, сочетание с бесплодием, размеры образования более 7 см, дифференциальный диагноз с истинными опухолями или персистенция кисты более 2–3 менструальных циклов, даже при отсутствии клинических симптомов из-за высокого риска перекрута или разрыва [Краснопольский В.И. и др., 1999].

Эндоскопическая хирургия дает возможность удалить образование, сохранив при этом яичник, и минимизировать осложнения оперативного вмешательства [MacKenna A. et al., 2000; Кулинич С.И. и др., 2006; Li S.Z. et al., 2013; Никогосян С.О. и др., 2017]. Установлено, что даже однократно выполненное оперативное вмешательство в органосохраняющем объеме сопровождается в дальнейшем снижением функции яичников, вероятно, являющимся следствием вынужденной агрессии на яичниковую ткань, например, при длительной коагуляции с гемостатической целью [Гатаулина Р.Г., 2003; Назаренко Т.А., 2015, 2016; Гасимова Д.М., Рухляда Н.Н., 2017].

Низкая эффективность консервативного лечения пациенток с функциональными кистами яичников, частое сочетание с бесплодием, повреждение здоровой яичниковой ткани при оперативном лечении с уменьшением овариального резерва требуют поиска и разработки в эксперименте на животных новых патогенетически обоснованных методов коррекции данной патологии.

Резюме

При формировании функциональных кист яичников нарушается взаимодействие факторов центрального и паракринного регулирования. В патогенезе функциональных кист яичников на ранних стадиях имеет место усиление пролиферации клеток гранулезы, отсутствие овуляции с последующей гибелью овоцита, усиление продукции фолликулярной жидкости.

Известно, что факторы паракринной регуляции межклеточных взаимодействий потенцируют действие центральных механизмов регуляции функции яичников. Экспрессия данных факторов в течении фолликулогенеза изменяется циклически [Зенкина В.Г., 2016].

Двусторонние коммуникационные связи между яйцеклеткой и соматическими клетками фолликула необходимы для взаимной регуляции процессов. Одним из центральных факторов, синтезируемых овоцитом, является Vmp15 [Inagaki K., Shimasaki S., 2010]. С помощью данного фактора овоцит регулирует пролиферацию и развитие окружающих его фолликулоцитов. Vmp15 действует непосредственно на клетки гранулезы, стимулируя в них митоз в ФСГ-независимый период фолликулогенеза. Экспрессия белка Vmp15 и мРНК этого фактора наиболее выражена в овоцитах преантральных фолликулов. Кроме того, данный белок подавляет экспрессию мРНК рецепторов ФСГ в клетках гранулезы и подавляет ФСГ-индуцированный стероидогенез, препятствуя преждевременной лютеинизации.

В свою очередь, фолликулоциты кумулюса оказывают регулирующее действие на рост и созревание овоцита за счет межклеточных взаимодействий через щелевые контакты, одним из структурных компонентов которых является Cx37. В преантральных фолликулах роль данного фактора заключается в задержке вступления овоцита в мейоз до достижения мейотической компетентности [Richard S., Baltz J.M., 2014].

Существующие методы лечения, как медикаментозные, так и хирургические, часто оказываются неэффективными, сопровождаются высоким риском рецидивирования [Гасымова Д.М., Рухляда Н.Н., 2014]. Таким образом, представляется актуальным поиск новых методов коррекции функциональных кист яичников. Доклинические стадии исследования проводятся на экспериментальных моделях.

Экспрессия VEGF при физиологическом фолликулогенезе и при кистообразовании изучалась многими исследователями. Доказано, что данный фактор формирует стабильный кровоток в сосудах яичника [Зенкина В.Г. и др.,

2012], повышает проницаемость стенки микрососудов антрального фолликула [Tamanini C., De Ambrogio M., 2004; Боярский К.Ю., Гайдуков С.Н., 2010] с последующей аккумуляцией фолликулярной жидкости [Lam P.M., Haines C., 2005; Тепляшина Е.А., 2011; Masoumi Moghaddam S. et al., 2012], ингибированием апоптоза [Chen H. et al., 2004; Greenaway J., Gentry P.A., 2005; Тепляшина Е.А., 2011]. Вместе с тем, в литературе отсутствуют сведения о влиянии ингибитора VEGF на экспериментальные функциональные кисты яичников, а также эффективности подобного метода коррекции. Также не изучено изменение экспрессии данного фактора в разные сутки моделирования функциональных кист яичников.

Таким образом, заслуживает внимания изучение экспрессии факторов овосоматического взаимодействия и ангиогенеза, задействованных в основных аспектах формирования функциональных кист яичников, на экспериментальном и клиническом материале. На основании полученных результатов появится возможность исследовать новые патогенетические методы коррекции функциональных кист яичников и определить их эффективность.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Экспериментальная часть

Эксперимент выполнен на кафедре гистологии, эмбриологии и цитологии (заведующий – профессор С.В. Логвинов), на базе лаборатории биологических моделей (заведующий – доцент В.В. Иванов) Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России, г. Томск). На проведение исследования получено разрешение этического комитета ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России №4356 от 30.11.2015.

Для эксперимента использовали половозрелых беспородных белых крыс-самок массой тела 180–220 г. У данного вида животных овариально-менструальный цикл протекает по закономерностям, близким к таковым у женщин, к тому же в отличие от других животных у них происходит спонтанная овуляция [Лазарев Н.И. и др., 1976].

Моделирование фолликулярных кист яичников заключалось во введении суперовуляторной дозы ФСГ (1,5 МЕ) (производитель – «Индустрия Фармасьютика Сероно С.п.А.», Индустриальная зона Модugno, 1-70123 Бари, Италия). Препарат вводили ежедневно в течение 7 дней в первой половине дня до 12.00 при помощи шприц-ручки внутримышечно в ягодичную область, исключая ранение магистральных сосудов и нервных пучков. Животным основной группы вводили бевацизумаб (ингибитор сосудисто-эндотелиального фактора роста) в дозе 0,25 мг/кг массы тела. Указанный препарат вводили в первой половине дня до 12.00. Подбор доз осуществляли эмпирическим путем с учетом видовых особенностей экспериментальных животных и известных эффектов препаратов на яичники.

Экспериментальных животных содержали в стандартных условиях на базе лаборатории биологических моделей ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России. В

каждую клетку были помещены 5 крыс. Животные находились при дозированном освещении (12 : 12 часов, свет в дневные часы) с контролируемым температурным режимом, на брикетном питании (гранулированный корм ПК-120-3, зерно пшеницы и овса) с добавлением овощей и творога, имели свободный доступ к воде и пище. Ежедневно всех животных осматривали, оценивали их общее состояние, внешний вид, поведение, пищевую возбудимость и двигательную активность, измеряли массу тела и проводили кольпоцитологическое исследование для диагностики фазы эстрального цикла и эстрогенной насыщенности организма.

Проведены две серии экспериментов на 60 животных. Основная группа (n = 25) – крысы с моделью функциональных кист яичников и последующим введением бевацизумаба. Группа сравнения (n = 35) – животные с моделью функциональных кист яичников.

С целью изучения физиологических процессов исследовали яичники интактных крыс (группа контроля, n = 20).

Опытных животных выводили из эксперимента на 7, 15, 30, 60-е сутки путем декапитации под эфирным наркозом в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР №755 от 12.08.1987) и Федеральным законом Российской Федерации «О защите животных от жестокого обращения» от 21.03.2008.

При аутопсии визуально оценивали состояние органов брюшной полости животных: наличие и характер выпота, состояние брюшины, измеряли размеры и объем яичников, отмечали характер структуры коркового слоя, наличие фолликулов, кистозных образований, кровоизлияний.

Для оценки морфологических изменений аутопсийного экспериментального материала (объект исследования – яичники крыс) был использован комплекс гистологических и гистохимических методик. Яичники фиксировали в жидкости Карнуа и 10%-м нейтральном формалине с последующей проводкой и заливкой в парафин. Депарафинизированные срезы толщиной 5–6 мкм окрашивали

гематоксилином и эозином, а также гематоксилином-пикрофуксином по Ван Гизону для выявления соединительной ткани.

Для иммуногистохимического исследования материал фиксировали в 10%-м нейтральном забуференном формалине (pH 7,4–7,6) в течение 24 часов при комнатной температуре, затем заливали в парафин. На депарафинизированные срезы наносили блокирующий реагент (Peroxidase-Blocking Solution, Dako, Дания), после чего проводили высокотемпературную обработку срезов в СВЧ в соответствующем буферном растворе (в зависимости от протокола окрашивания к каждому конкретному антителу). На остывшие срезы раскапывали следующие антитела: VEGF, Cx37, BMP15. Инкубацию проводили в течение ночи при температуре +4°C. Для выявления окрашивания на срезы наносили раствор диаминобензидина (DAKO REAL tm EnVision™ Detection System, Дания), ядра докрашивали гематоксилином Майера.

Полученные препараты просматривали под микроскопом «Биолам ЛОМО». Цифровые фотографии получали при помощи микроскопа AXIOSTAR APLAN (Carl Zeiss Inc., Германия) с блоком фотодокументирования на основе цветного цифрового фотоаппарата Canon G10 (Canon Inc., Япония), обрабатывали в графическом редакторе AxioVision Rel. 4.8 (Carl Zeiss GmbH, Германия). Для оценки морфологических изменений в яичниках проводили морфометрию в соответствии с рекомендациями Г.Г. Автандилова (1990). Подсчет удельного объема примордиальных и растущих фолликулов, атретических фолликулов и тел, желтых тел проводили на серийных срезах через каждые 150–200 мкм с использованием окулярной измерительной сетки, содержащей 25 точек. Подсчитывали среднее содержание структурных элементов в срезе яичника.

2.2 Клиническая часть

Проведено ретроспективное контролируемое сравнительное исследование с изучением историй болезней 137 женщин репродуктивного возраста, находившихся на лечении в отделении репродуктивных технологий (заведующая

– канд. мед. наук, доцент Ж.Ф. Гайфулина) гинекологической клиники (заведующий – канд. мед. наук, доцент В.Н. Ткачёв) ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (ректор – д-р мед. наук, профессор О.С. Кобякова) в 2012–2016 гг. На проведение исследования было получено разрешение этического комитета ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России №4357 от 30.11.2015. Для оптимизации исследования и снижения вероятности систематической ошибки, связанной с отбором, использовались критерии включения / исключения.

Критерии включения в исследование:

- 1) наличие кистозных образований яичников в анамнезе;
- 2) хирургическая агрессия на яичники в анамнезе: резекция, цистэктомия, электрокоагуляция, термокаутеризация, параовариоцистэктомия, овариолизис, дреллинг, пункция кист при кульдоцентезе;
- 3) бесплодие (комбинированное, сочетанное);
- 4) репродуктивный возраст (18-45 лет);
- 5) наличие информированного согласия пациентки на участие в исследовании.

Критерии исключения из исследования:

- 1) несоответствие критериям включения;
- 2) истинные доброкачественные опухоли яичников;
- 3) врожденная гиперплазия коры надпочечников;
- 4) прием глюкокортикоидов;
- 5) предраковые и злокачественные заболевания органов репродуктивной системы;
- 6) умеренные и тяжелые формы генитального эндометриоза согласно классификации Американского общества репродуктивной медицины (ASRM \geq III, 1996);
- 7) соматическая патология в стадии субкомпенсации и декомпенсации;
- 8) заболевания щитовидной железы, не скорректированные медикаментозно;
- 9) системные и аутоиммунные заболевания;

10) отказ пациентки от участия в исследовании.

Клинический диагноз «бесплодие» устанавливался в соответствии с терминологией Международного комитета по исследованию вспомогательных репродуктивных технологий (ICMART) и Всемирной организации здравоохранения. После соотнесения с критериями включения / исключения в исследование были включены истории болезни 137 пациенток. Для выявления бедного ответа использовались Болонские критерии, достигнутые на Европейском обществе репродукции человека и эмбриологии (ESHRE, 2011):

1) наличие факторов риска снижения овариального резерва, таких как эндометриодные кисты яичников, оперативные вмешательства на яичниках в анамнезе, а также старший репродуктивный возраст (40 лет и старше);

2) бедный ответ яичников на контролируемую индукцию овуляции в анамнезе, о котором свидетельствовал факт получения в предшествующих программах ЭКО менее 3 овоциткумулюсных комплексов при ежедневной дозе рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона (рФСГ) не менее 150 МЕ;

3) изменение маркеров овариального резерва на 2–3-й день менструального цикла: уменьшение фолликулярного антрального счета (ФАС) менее 7; снижение концентрации АМГ в крови менее 1,1 нг/мл.

Основную группу составили 53 пациентки (38,6%), у которых имелись, как минимум, два из трех критериев потенциально бедного ответа. Основная группа была разделена на подгруппы: IA – раннего репродуктивного возраста (18–34 года), IB – позднего репродуктивного возраста (35–45 лет).

В группу сравнения (II группа) вошли 84 женщины (61,4%) с потенциально хорошим ответом на контролируемую индукцию овуляции. Пациентки данной группы также были разделены на подгруппы согласно возрастному критерию: IIA – ранний репродуктивный возраст (18–34 года), IIB – поздний репродуктивный возраст (35–45 лет).

Контрольная группа была сформирована из 15 условно здоровых женщин, обратившихся на консультацию по поводу планирования беременности и не имеющих в анамнезе операций на органах малого таза (Z31.6 согласно МКБ-10). Объект исследования представлен в Таблице 1.

Таблица 1 – Объект исследования

Параметр	Группа				
	Основная (бедный ответ)		Сравнения (хороший ответ)		Контрольная (условно здоровые женщины)
	І А	І Б	ІІ А	ІІ Б	
Возраст, лет	18–34	35–45	18–34	35–45	18–34
Численность, абс. (%)	25 (18,2)	28 (20,4)	62 (45,3)	22 (16,1)	15

Диагностический алгоритм включал клиническое обследование с учетом жалоб, анамнеза развития и особенностей клинического течения заболевания, данных соматического и гинекологического статуса, стандартных лабораторных исследований, микробиологических анализов влагалищного секрета и цервикальной слизи (бактериоскопия, ПЦР-диагностика), мазков на онкоцитологию с экзо- и эндоцервикса. С целью оценки гормонального статуса и анализа овариального резерва у пациенток определяли содержание в крови эстрадиола, ФСГ, ЛГ, соотношения ЛГ/ФСГ, тестостерона, кортизола, прогестерона, пролактина, соматотропного гормона, дегидроэпиандростерон-сульфата (DHEA-S), АМГ, ингибина В, тиреотропного гормона (ТТГ), трийодтиронина (Т3), свободного тироксина (Т4 св.), антител к тиреопероксидазе (АТ к ТПО), антител к тиреоглобулину (АТ ТГ).

Исследование концентраций гормонов выполнялось на 2–3-й день менструального цикла за месяц до проведения контролируемой индукции овуляции. Также оценивались показатели УЗИ органов малого таза: размеры матки и яичников, состояние миометрия, эндометрия и фолликулярного аппарата яичников. Для оценки овариального резерва определяли объем яичников, число антральных фолликулов на 3–4-й день менструального цикла. Гинекологическая патология устанавливалась по клинико-анамнестическим данным, протоколам гистероскопии и лапароскопии, заключениям гистологического исследования

операционного материала (яичников, эндометрия). Тяжесть спаечного процесса оценивалась по классификации J. Hulka и соавт. (1985) и Американского общества фертильности (AFS) [Hulka J.F, Reich H., 1985]. Для определения проходимости маточных труб пациенткам выполнялась хромогидротубация.

Для оценки характеристик программ ВРТ проводился анализ индивидуальных карт пациенток, протоколов индукции суперовуляции, трансвагинальной пункции фолликулов, культивирования овоцитов и эмбрионов, переноса свежих эмбрионов в полость матки. Учитывались следующие показатели: общая доза гонадотропинов в цикле, стартовая доза гонадотропинов, количество пунктируемых фолликулов, количество и качество полученных овоцитов, количество и качество эмбрионов на 3-и и 5-е сутки культивирования, количество клинических беременностей, количество беременностей, закончившихся родами.

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

2.3 Статистическая обработка и анализ данных

Статистическую обработку полученных данных выполняли на персональном компьютере с использованием программы SPSS Statistics v.22.0 (США).

Данные анализировали методами описательной (дескриптивной) статистики. Перед выбором статистических критериев проверку на соответствие выборок нормальному закону распределения проводили с помощью критериев Колмогорова–Смирнова и Шапиро–Уилка.

В случае нормального распределения данные оценивали с учетом среднего арифметического M и стандартного квадратичного отклонения σ , для оценки статистической значимости различий использовали параметрический метод (t-критерий Стьюдента).

При распределении значений показателей, не соответствующих нормальному, данные представлены в виде медианы Me и 25-го и 75-го перцентилей ($Q1$ и $Q3$ соответственно); для оценки статистической значимости различий применяли непараметрический метод (U-критерий Манна-Уитни). При уровне значимости $p \leq 0,05$ различия считали статистически значимыми. При уровне $p > 0,05$ различия считали не обоснованными. Анализ качественных независимых данных проводили с использованием критерия χ^2 Пирсона или точного критерия Фишера (при ожидаемой частоте значения менее 5).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

3.1 Общая характеристика экспериментальных животных

В процессе эксперимента двигательная активность, возбудимость и пищевое поведение экспериментальных животных не отличались от таковых в группе контроля. При аутопсии визуально оценивали состояние органов брюшной полости: наличие и характер выпота, состояние брюшины. Измеряли размеры и объем яичников, отмечали характер структуры коркового слоя, наличие фолликулов, кистозных образований, кровоизлияний. Яичники интактных животных при аутопсии имели размеры 5–6 мм (Рисунок 1, А), характеризовались наличием небольшого количества зрелых фолликулов.

При введении рФСГ в течение 7-и суток двигательная активность и пищевая возбудимость крыс не были изменены, по поведению они не отличались от животных контрольной группы. При вскрытии брюшной полости крыс отмечались увеличение яичников до 8–9 мм, выраженный крупнокистозный рисунок коркового слоя, многочисленные фолликулы, кисты, содержащие прозрачный секрет, в части кист имели место кровоизлияния (Рисунок 1, Б). Диаметр кист составлял от 0,7 до 2,5 мм и более. Обращали на себя внимание резкое полнокровие сосудов (при незначительном механическом воздействии на яичники возникало кровотечение), гиперемия и утолщение маточных рогов (Рисунок 2).

Яичники свободно лежали в брюшной полости. В одних случаях они были темно окрашены, в других имели белесоватый оттенок. На 15-е сутки после введения гормонов описываемая картина сохранялась. Яичники имели прежние размеры и цвет, были бугристы (Рисунок 1, В). Экссудата, спаечного процесса в брюшной полости не было. Во многих фолликулах визуализировались кровоизлияния. Сохранялись гиперемия и утолщение маточных рогов. На 30-е и 60-е сутки эксперимента яичники несколько уменьшались в размере, но сохраняли бугристую поверхность, чаще имели белесоватый оттенок. Менее часто выявлялись фолликулы, кисты. В части фолликулов имелись кровоизлияния. Кроме того, наблюдались гиперемия и утолщение маточных рогов.

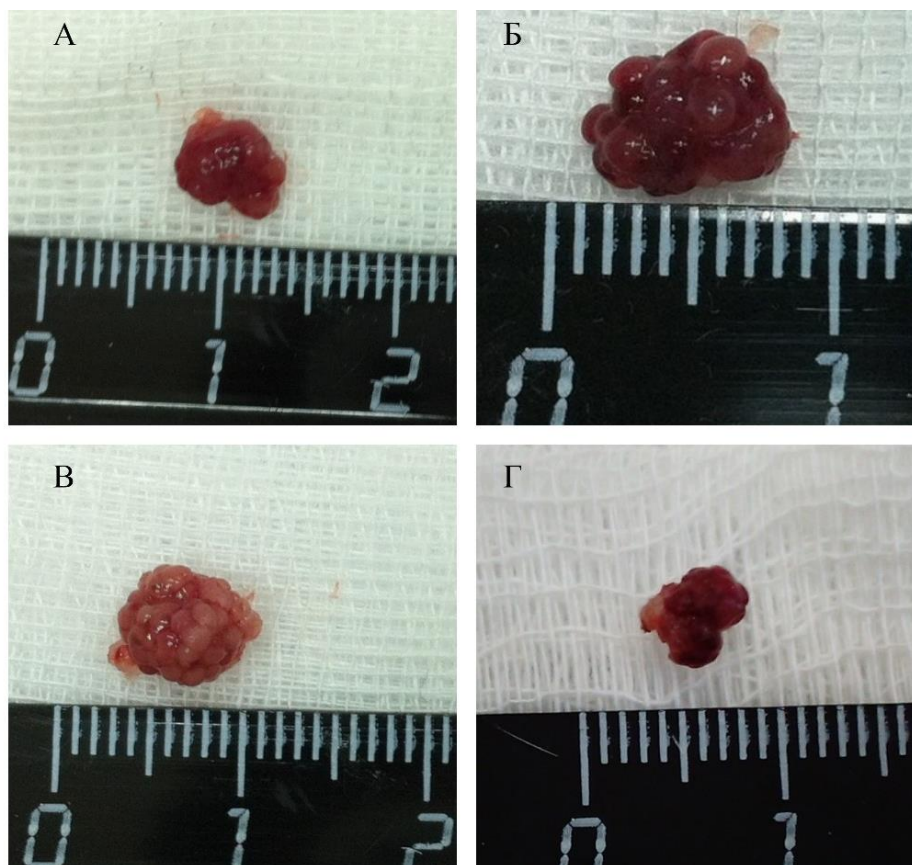


Рисунок 1 – Макропрепараты яичников экспериментальных животных:
 А – интактный яичник; Б – яичник крысы группы сравнения на 7-е сутки после введения рФСГ; В – яичник крысы группы сравнения на 15-е сутки после введения рФСГ; Г – яичник крысы основной группы на 15-е сутки



Рисунок 2 – Макропрепараты маточных рогов крыс на 7-е сутки эксперимента:
 а – гиперемия и утолщение маточного рога после введения рФСГ, б – маточный рог интактного животного

Введение бевацизумаба животным с экспериментальными функциональными кистами вызывало уменьшение размеров яичников. На 15-е сутки эксперимента при аутопсии крыс основной группы размер яичников уменьшался до 6 мм, отмечались исчезновение характерной бугристости и белесоватый оттенок поверхности (Рисунок 1, Г). Иногда выявлялось локальное истончение белочной оболочки. На 30-е сутки размеры яичников животных основной группы не отличались от таковых в группе контроля. На 60-е сутки эксперимента кистозные полости в яичниках не обнаруживались. Не отмечалось гиперемии и утолщения маточных рогов.

3.2 Морфологические изменения яичников крыс при введении фолликулостимулирующего гормона

При гистологическом исследовании яичников на 7-е сутки введения ФСГ выявлялись однокамерные кисты диаметром 0,7–2,5 мм, с гладкой блестящей поверхностью, тонкими стенками, содержащие прозрачный секрет, реже секрет коричневого цвета (кровоизлияние). Количество кист в срезе составляло 6,0 (4,0–8,0). Стенка кист на этой стадии была выстлана уплощенными гранулезными клетками (Рисунок 3).

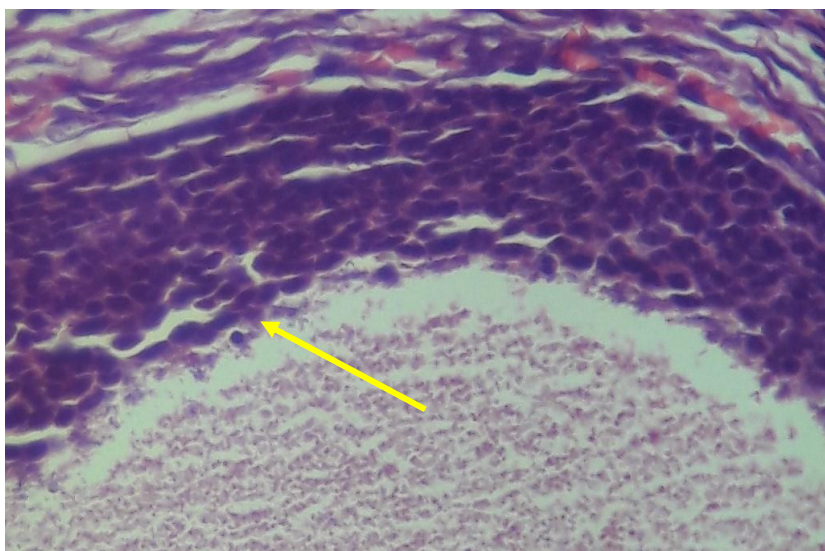


Рисунок 3 – Стенка фолликулярной кисты на 7-е сутки введения рФСГ. Стрелка указывает на дисконкомплексацию фолликулярного эпителия. Микропрепарат.

Окраска гематоксилином и эозином. Ув. × 400

Наблюдались признаки атрофии, дегенерации или распада гранулезы. Обращало на себя внимание резкое полнокровие сосудов (Рисунок 4).

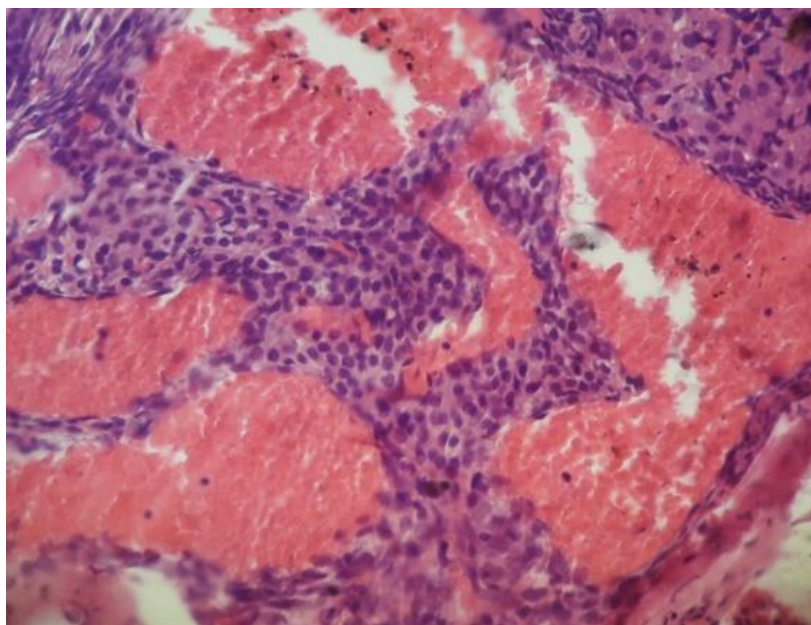


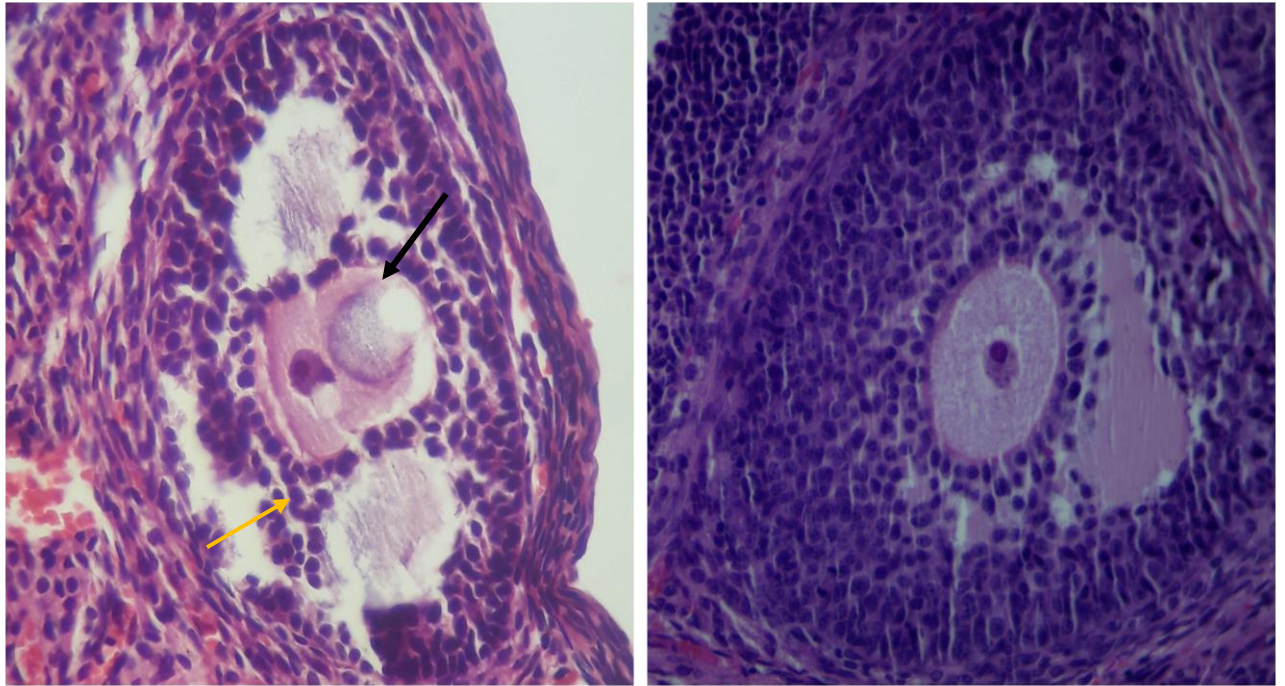
Рисунок 4 – Полнокровие сосудов на 7-е сутки введения рФСГ. Микропрепарат.
Окраска гематоксилином и эозином. Ув. × 400

Обнаруживались вторичные фолликулы с очаговым отеком цитоплазмы овоцита, явлениями дисконфлексии фолликулярного эпителия (Рисунок 5).

В яичниках животных наблюдались единичные желтые тела (Рисунок 6).

На 15-е сутки визуализировались ретенционные полости диаметром 1,1–2,5 мм (Рисунок 7). В полостях определялось гомогенное эозинофильное содержимое. Овоциты в кистозных полостях не обнаруживались.

В большинстве кист наблюдались дисконфлексия, кариопикноз и кариорексис в клетках фолликулярного эпителия. Стенки кистозных полостей истончались, замещались соединительно-тканными прослойками (Рисунок 8).



а

б

Рисунок 5 – Вторичные фолликулы в яичниках крыс на 7-е сутки эксперимента: *а* – группа сравнения): вакуолизация и отечность овоцита (черная стрелка), дисконплексація фолликулярного епітелія (жовта стрелка); *б* – вторичний фолликул в яичнику інтактного тваринного. Мікропрепарати.

Окраска гематоксилином и эозином. Ув. × 400

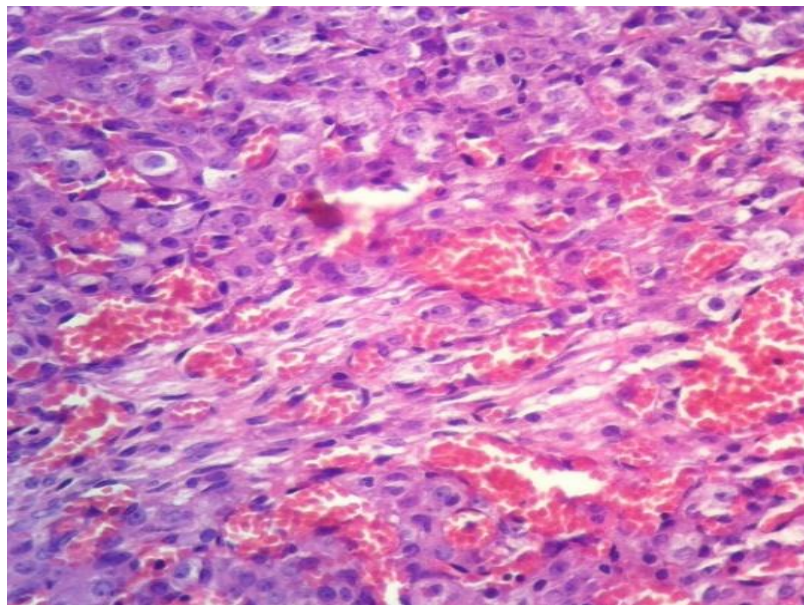
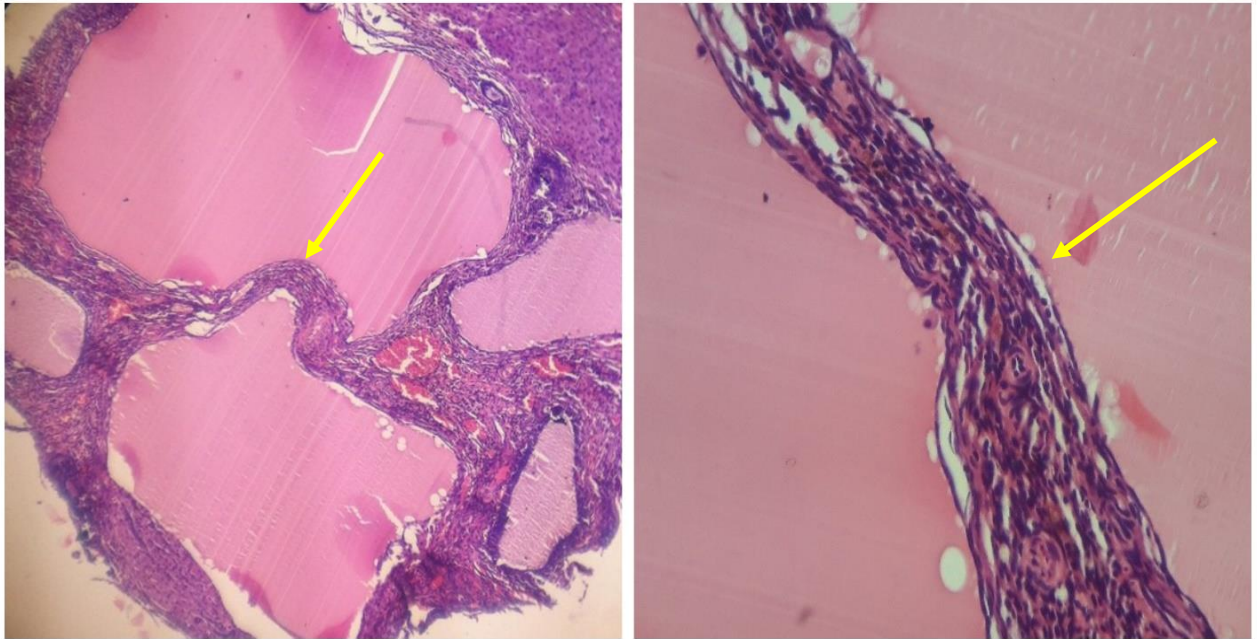


Рисунок 6 – Желтое тело в яичнике крысы группы сравнения на 7-е сутки введения рФСГ. Микропрепарат. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. × 400



a

б

Рисунок 7 – Ретенционные полости в яичнике крысы группы сравнения, 15-е сутки эксперимента. Стрелка указывает на волокна соединительной ткани.

Микропрепарат. Окраска гематоксилином и эозином.

a – ув. $\times 200$; *б* – стенка двух соседствующих ретенционных полостей, ув. $\times 400$

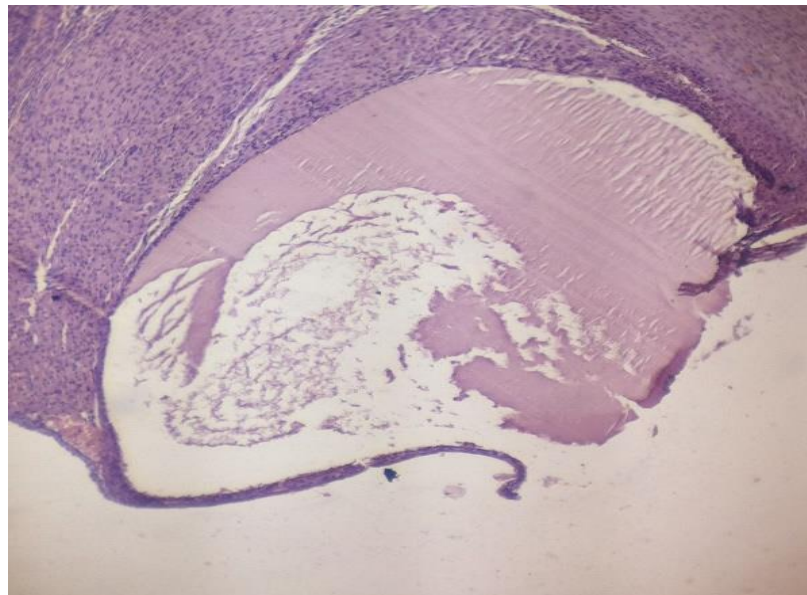


Рисунок 8 – Ретенционная полость в яичнике крысы группы сравнения, 15-е сутки эксперимента. Микропрепарат. Окраска гематоксилином и эозином.

Ув. $\times 200$

Встречались разрывы ретенционных полостей. Увеличивалось количество атретических фолликулов и тел (Рисунок 9). Обнаруживались вторичные фолликулы с очаговым отеком цитоплазмы овоцита, выраженными явлениями дисконфлексии фолликулярного эпителия. Визуализировались неизменные фолликулы, вступающие в стадию роста, примордиальные фолликулы. Овоциты в таких фолликулах были дегенеративно изменены либо подвергнуты гомогенизации и распаду. Встречались единичные желтые тела.

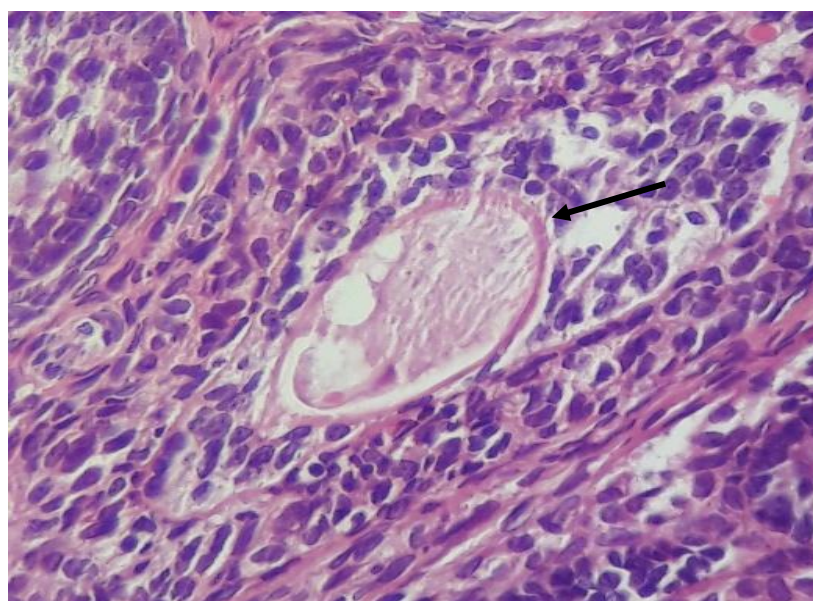


Рисунок 9 – Блестящая оболочка в атретическом фолликуле яичника крысы группы сравнения на 15-е сутки эксперимента (черная стрелка). Микропрепарат. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 400$

Начиная с 15-х суток эксперимента отмечалось усиление процессов коллагенообразования. Коллагеновые волокна формировали пучки в строме, в окружении кист и сосудов (Рисунок 10). В отдельных случаях белочная оболочка была локально истончена. Поверхностный эпителий имел очаговые дефекты.

На 30- и 60-е сутки эксперимента яичники незначительно уменьшались в размере до 6–7 мм, но сохраняли бугристость, чаще имели белесоватый оттенок. Больших кистозных полостей не отмечалось. Выявлялись ретенционные образования на стадии регресса, размер которых, как правило, не превышал

1 мм. В растущих фолликулах отмечались деструктивные изменения эпителиоцитов зернистого слоя (Рисунок 11).

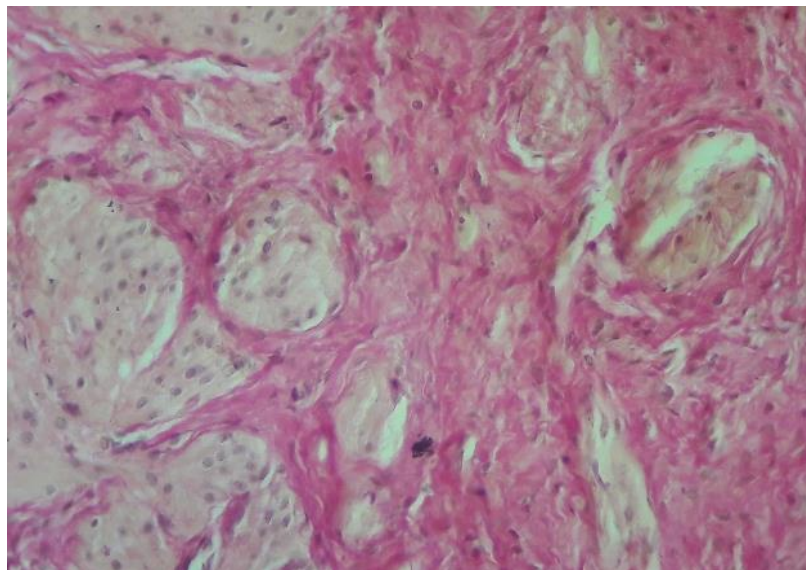


Рисунок 10 – Коллагеновые волокна в корковом веществе яичника крысы группы сравнения на 15-е сутки эксперимента. Микропрепарат. Окраска по Ван-Гизону.

Ув. $\times 400$

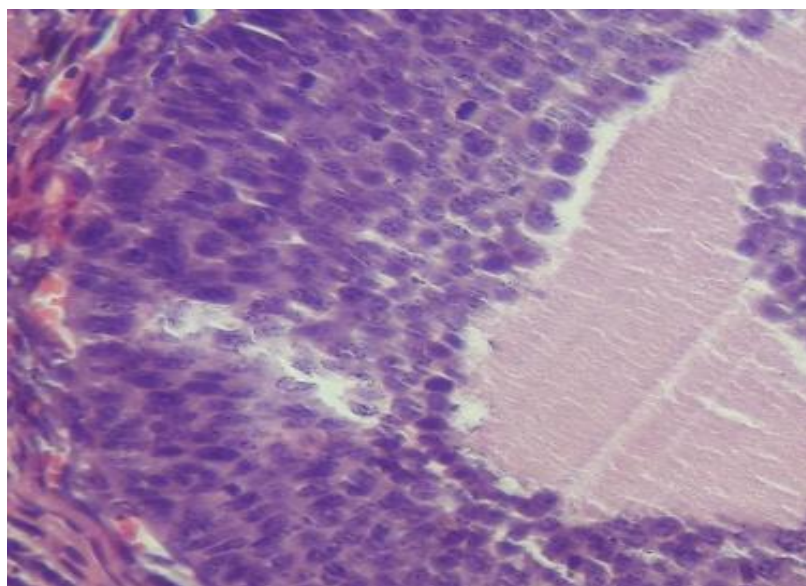


Рисунок 11 – Дискомплексація фолликулярного епітелія, каріорексис в фолликулярних клітках вторичного фолликула яичника крысы группы сравнения на 30-е сутки эксперимента. Микропрепарат. Окраска гематоксилином

и эозином. Ув. $\times 400$

Овоциты также характеризовались различной степени выраженности нарушениями: локальным отеком цитоплазмы, повышенной конденсацией хроматина, деформацией ядерной оболочки (Рисунок 12). Патологические изменения в примордиальных фолликулах не регистрировались во все сроки эксперимента. Визуализировались первичные фолликулы с сохраненным овоцитом (Рисунок 13).

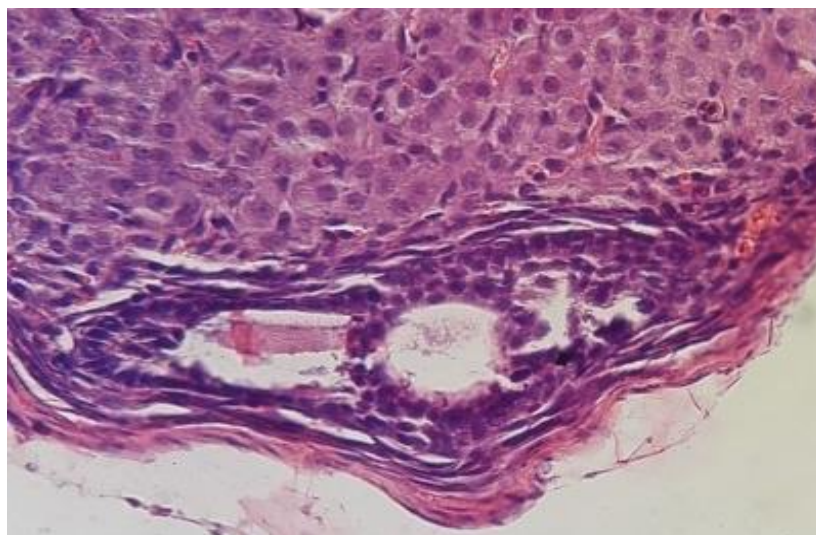


Рисунок 12 – Атретический фолликул яичника крысы группы сравнения на 30-е сутки эксперимента. Микропрепарат. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 400$

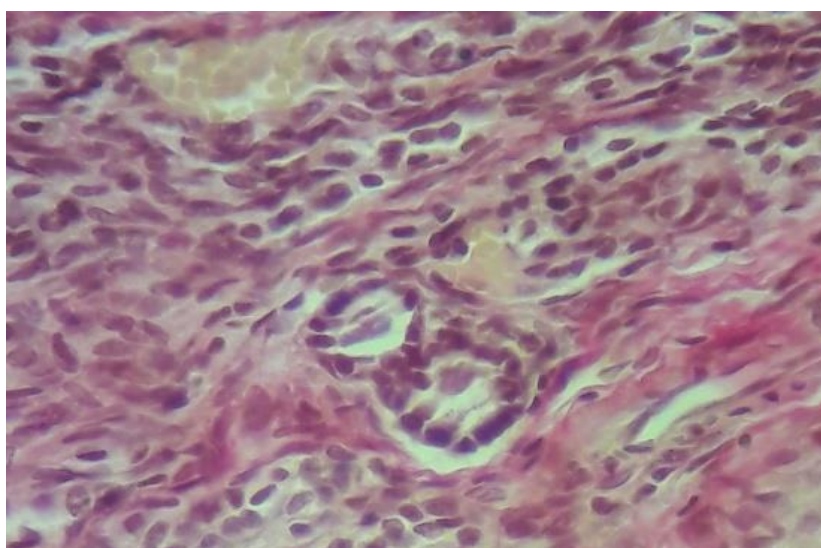


Рисунок 13 – Неизмененные первичные фолликулы в яичнике крысы группы сравнения на 30-е сутки эксперимента. Микропрепарат. Окраска по Ван-Гизону. Ув. $\times 1000$

Таким образом, при введении ФСГ чаще визуализировались фолликулярными кисты, сформировавшимися в результате персистенции фолликула, реже наблюдались кисты желтых тел. На 15-е сутки эксперимента кисты диаметром 1,1–2,5 мм визуализировались во всех полях зрения, капсула кист была истончена, представлена одним слоем плоских клеток и волокнами соединительной ткани. К 30-м суткам яичники несколько уменьшались в размере до 0,6–0,7 см, но сохраняли бугристость за счет ретенционных образований на стадии регресса, размеры которых, как правило, не превышали 1 мм. По мере увеличения срока эксперимента уменьшалось количество кистозных образований, однако они обнаруживались вплоть до 60-х суток. Во все сроки эксперимента обнаруживались фолликулы с признаками атрезии, овоциты в которых были дегенеративно изменены в виде отека цитоплазмы, снижения ее сродства к красителю и гомогенизации вплоть до полного разрушения клетки. Фолликулярные эпителиоциты имели признаки деструкции в виде дисконфлексии, изменения формы, кариопикноза и кариорексиса. После введения ФСГ на 7-е и 15-е сутки эксперимента выявлялись нарушения гемодинамики в виде гиперемии и полнокровия сосудов мозгового вещества и в стенках кист.

3.3 Морфологические изменения яичников крыс с экспериментальными функциональными кистами при введении бевацизумаба

При гистологическом исследовании яичников животных основной группы на 15-е сутки эксперимента выявлялись однокамерные кисты диаметром 0,6–1,5 мм, с тонкими стенками, содержащие прозрачный секрет. Количество кист в срезе составляло 2,0 (1,0–3,0). Стенка функциональных кист была выстлана уплощенными гранулезными клетками, в которых наблюдались признаки атрофии, дегенерации или распада гранулезы (Рисунок 14). В яичниках животных наблюдались единичные желтые тела. Патологические изменения в примордиальных и первичных фолликулах не регистрировались во все сроки эксперимента. Редко обнаруживались

вторичные и третичные фолликулы с признаками атрезии, овоциты в которых были дегенеративно изменены в виде отека цитоплазмы, снижения ее сродства к красителю и гомогенизацией вплоть до полного разрушения клетки. Фолликулярные эпителиоциты в таких фолликулах имели признаки деструкции в виде дисконфлексии, изменения формы, кариопикноза и кариорексиса.

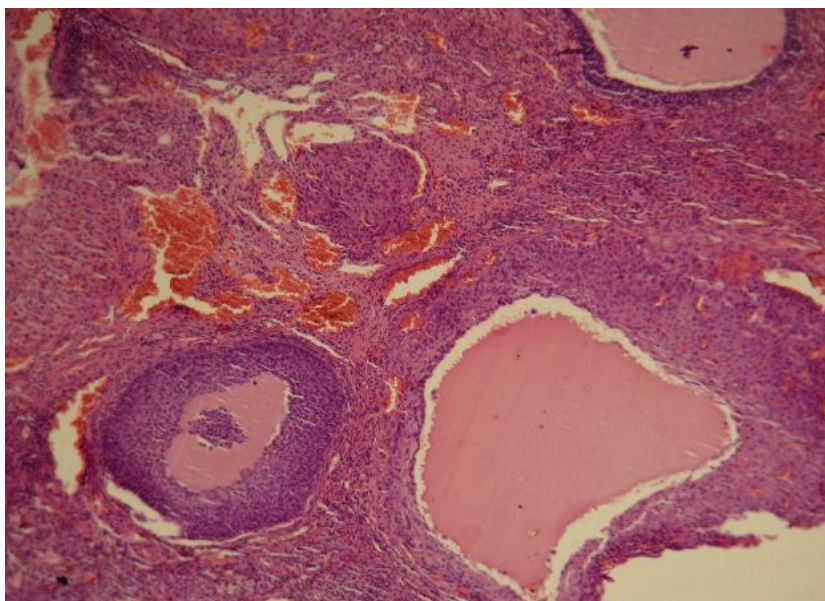


Рисунок 14 – Функциональная киста в стадии регресса в яичнике крысы основной группы. 15-е сутки эксперимента. Микропрепарат. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 200$

На 30-е сутки эксперимента в яичниках животных основной группы больших кистозных полостей не отмечалось. Выявлялись единичные ретенционные образования на стадии регресса, размер которых, как правило, не превышал 1 мм. Стенка кист была представлена соединительной тканью. Реже встречались атретические фолликулы. Обнаруживались неизменные растущие фолликулы (Рисунки 15, 16) и желтые тела.

На 60-е сутки эксперимента функциональные кисты в яичниках животных основной группы не обнаруживались.

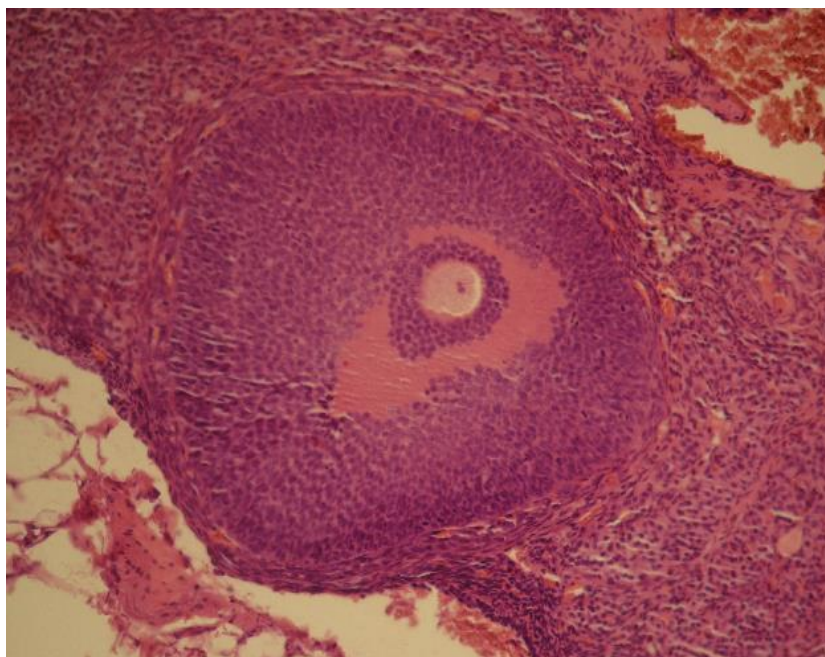


Рисунок 15 – Неизмененный третичный фолликул в яичнике крысы основной группы на 30-е сутки эксперимента. Микропрепарат. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 400$

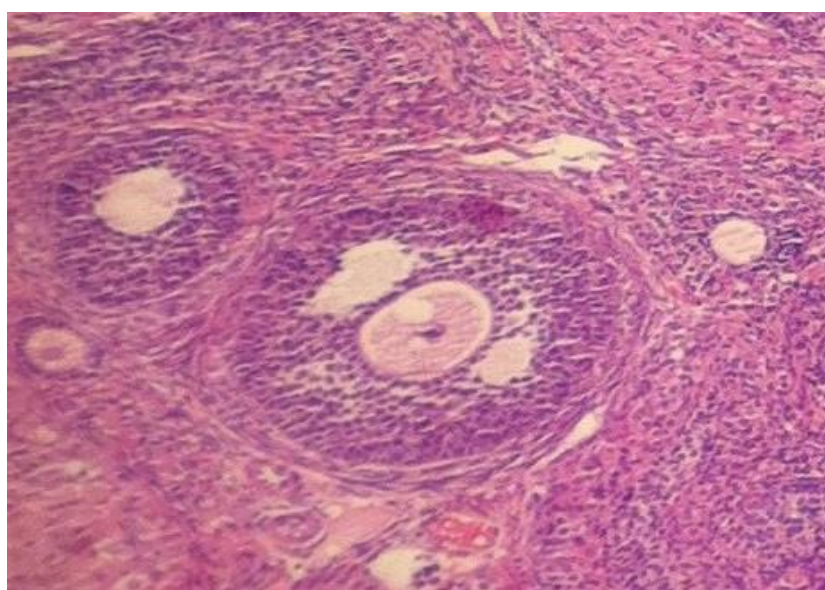


Рисунок 16 – Вторичные фолликулы в яичнике крысы основной группы на 30-е сутки эксперимента. Микропрепарат. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 400$

Таким образом, гистологическая картина срезов яичников животных с экспериментальными функциональными кистами, которым вводился

бевацизумаб, отличалась от таковой в группе сравнения. Уже на 15-е сутки эксперимента при аутопсии обнаруживалось уменьшение размеров яичников, исчезновение характерной бугристости, белесоватый оттенок поверхности. Иногда отмечалось локальное истончение белочной оболочки. На 60-е сутки эксперимента кистозные полости в яичниках не обнаруживались.

3.4 Морфоколичественное исследование яичников крыс при моделировании экспериментальных функциональных кист и введении бевацизумаба

Содержание генеративных элементов в срезах яичников крыс основной группы, групп сравнения и контроля представлено на Рисунке 17.

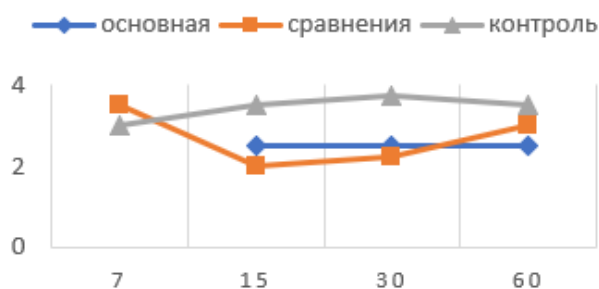
Количество примордиальных фолликулов в срезах яичников животных основной группы и группы сравнения во все сроки эксперимента статистически значимо не отличалось от такового в контроле ($p \leq 0,05$).

Количество кист в срезе было максимальным на 7-е сутки введения ФСГ ($p < 0,001$), затем снижалось до 60-х суток. В яичниках животных основной группы количество функциональных кист во все сроки эксперимента было ниже, чем в группе сравнения, на 60-е сутки приближалось к значениям интактного контроля.

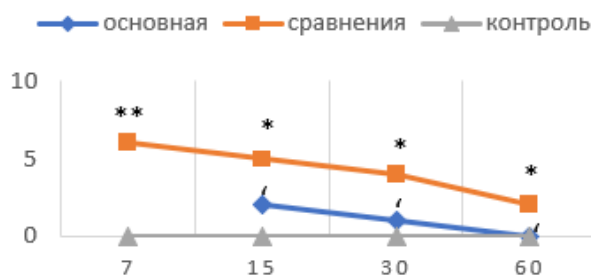
На 15-е и 30-е сутки эксперимента количество растущих фолликулов в яичниках крыс основной группы было сопоставимо с таковым в группе сравнения. К 60-м суткам количество растущих фолликулов в яичниках животных основной группы увеличивалось, демонстрируя статистически значимые отличия от группы сравнения (см. Рисунок 17).

Количество атретических фолликулов в яичниках животных основной группы на 15-е сутки увеличивалось, демонстрируя отличия от группы контроля, данные изменения сохранялись до 30-х суток.

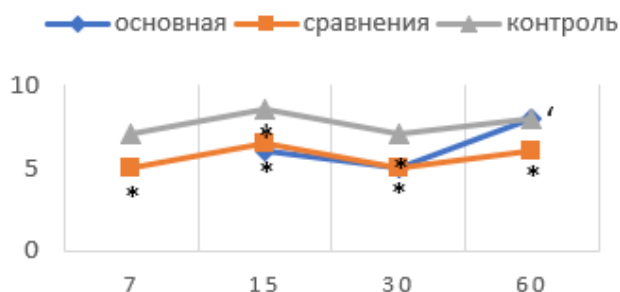
ПРИМОРДИАЛЬНЫЕ ФОЛЛИКУЛЫ



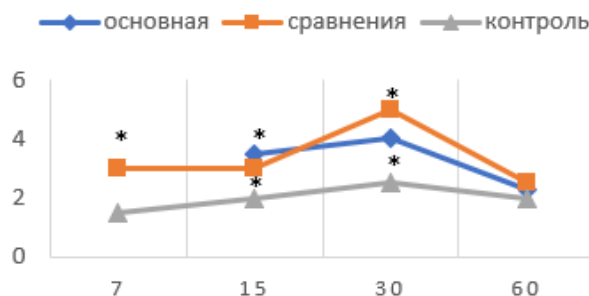
ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ КИСТЫ



РАСТУЩИЕ ФОЛЛИКУЛЫ



АТРЕТИЧЕСКИЕ ФОЛЛИКУЛЫ И ТЕЛА



ЖЕЛТЫЕ ТЕЛА

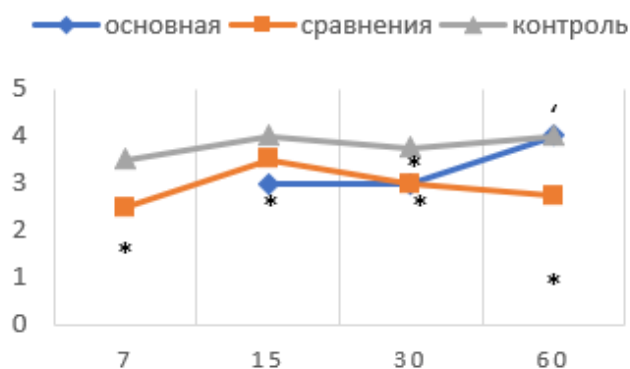


Рисунок 17 – Динамика количества генеративных элементов в срезах яичников белых крыс в различные сроки эксперимента: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,001$ при сравнении с группой контроля; ' – $p < 0,05$; " – $p < 0,001$ при сравнении с группой сравнения

Значения удельного объема структурных элементов представлены в Таблице 2.

Таблица 2 – Удельный объем (%) структурных компонентов яичников белых крыс в различные сроки эксперимента после введения ФСГ и бевацизумаба ($Me (Q1-Q3)$)

	I группа (n = 25)			II группа (n = 35)				Контроль (n = 20)
	Срок исследования, сутки							
	15	30	60	7	15	30	60	
РФ	12,5 (10,1–16,4)*	10,8 (7,2–12,5)*	16,3 (10,5–19,8) ^	8,1 (6,2–16,8)*	13,1 (11,5–14,2)*	10,1 (8,1–14,5)*	12,2 (9,8–20,9)*	16,4 (7,3–27,9)
ЖТ	15,2 (9,8–19,1)*	18,3 (11,8–20,2)*	25,1 (15,1–29,6) ^	14,4 (12,8–25,1)*	17,4 (15,5–21,2)*	21,4 (18,1–26,8)*	17,3 (6,4–10,5)*	28,7 (24,7–29,6)
АФ	4,1 (2,5–6,1)*	5,1 (3,5–6,3)*	2,4 (1,2–4,4)	3,6 (2,9–4,1)*	3,9 (2,6–4,9)*	4,5 (2,8–6,7)*	5,2 (3,3–5,9)*	2,3 (1,4–4,8)
К	12,1 (4,5–16,7)^	6,1 (0–8,8)^	0^	30,3 (20,9–56,7)**	20,4 (18,5–39,6)**	17,6 (8,9–19,2)*	11,1 (10,1–15,3)*	0
С	8,1 (5,7–13,6)^	6,9 (4,8–11,1)	6,2 (3,6–7,8)	10,3 (9,3–17,8)*	11,2 (10,3–16,7)*	9,1 (6,9–12,1)	8,3 (5,7–10,2)	8,3 (3,9–11,7)
ИТ	43,7 (34,8–51,5)	47,6 (36,3–54,2)	45,1 (30,8–62,3)	30,1 (36,4–50,2)	30,5 (28,1–46,8)	33,2 (39,2–44,8)	40,7 (31,2–53,1)	40,1 (35,7–63,4)
КВ	4,3 (2,2–7,8)	5,2 (3,4–7,4)	4,9 (1,5–8,2)	3,2 (3,0–8,6)	3,5 (2,7–7,3)	4,1 (3,3–8,9)	5,2 (7,4–9,7)	4,2 (2,5–6,7)

Примечание. Удельный объем (%) структурных компонентов яичников белых крыс в различные сроки эксперимента. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,001$ при сравнении с группой контроля; ^ – $p < 0,05$; ^^ – $p < 0,001$ при сравнении с группой сравнения. АФ – атретические фолликулы и тела; ЖТ – желтые тела; ИТ – интерстициальная ткань; К – кисты; КВ – коллагеновые волокна; ПФ – примордиальные фолликулы; РФ – растущие фолликулы; С – сосуды.

Во все сроки эксперимента удельный объем кист в яичниках крыс группы сравнения был выше такового в контроле, наибольшее значение наблюдалось на 7-е сутки ($p < 0,001$). На 60-е сутки эксперимента удельный объем кист снижался, однако по-прежнему выявлялись статистически значимые различия с группой контроля ($p = 0,038$). Удельный объем функциональных кист у животных основной группы статистически значимо отличался от такового

у крыс группы сравнения, начиная с 15-х суток эксперимента, к 60-м суткам кистозные полости в яичниках не выявлялись.

С 7-х суток у крыс группы сравнения отмечалось статистически значимое увеличение удельного объема атретических тел и фолликулов ($p = 0,012$), данные изменения фиксировались до 60-х суток эксперимента. При введении бевацизумаба также усиливались процессы атрезии в яичниках животных основной группы в ранние сроки эксперимента, однако на 60-е сутки удельный объем атретических тел и фолликулов не отличался от такового в группе контроля.

Количество желтых тел уменьшалось в ходе эксперимента и в основной группе, и в группе сравнения, статистически значимые различия были выявлены с 7-х суток, наиболее значимые изменения были зафиксированы на 7-е и 15-е сутки. На 7-е и 15-е сутки эксперимента в группе сравнения регистрировалось статистически значимое увеличение удельного объема кровеносных сосудов ($p = 0,021$, $p = 0,046$), начиная с 30-х суток отличий в сравнении с группой контроля не выявлено ($p = 0,945$). У животных основной группы значимых отличий удельного объема кровеносных сосудов от интактного контроля не выявлялось.

Подсчет удельной площади коллагеновых волокон показал, что во все сроки эксперимента содержание коллагеновых волокон в яичниках животных исследуемой и контрольной групп не отличалось ($p = 0,351$, $p = 0,945$).

Таким образом, введение бевацизумаба животным с экспериментальными функциональными кистами вызывало уменьшение количества и удельного объема кист. Количество и удельный объем кист в яичниках крыс основной группы во все сроки эксперимента были меньше, чем в группе сравнения. На 60-е сутки эксперимента кистозные полости в яичниках крыс основной группы не обнаруживались. Количество и удельный объем растущих и атретических фолликулов, а также желтых тел, не отличались от показателей группы сравнения в аналогичные сроки эксперимента, а к 60-м суткам были сопоставимы с показателями в группе интактного контроля. Введение

бевацизумаба вызывало снижение васкуляризации теки фолликулов и желтых тел и приближение удельного объема сосудов к значениям контрольной группы на 15-е сутки.

3.5 Результаты иммуногистохимического исследования

С применением методики иммуногистохимического анализа в яичниках дифференцированы маркеры взаимодействия овоцита и клеток гранулезы (ВМР15, Сх-37), а также фактор ангиогенеза VEGF. Экспрессия изучаемых факторов при моделировании ФКЯ оказывалась типичной (Рисунок 18). Для оценки степени экспрессии и ее изменения у животных сравниваемых групп применялась методика H-score.

Экспрессия ВМР 15 выявлялась в виде цитоплазматического окрашивания овоцитов, фолликулоцитов яйценосного бугорка, тека-клеток, стромальных клеток коркового вещества, лютеоцитов желтого тела, поверхностных эпителиоцитов. В овоцитах примордиальных (ПФ) и первичных фолликулов (ПРФ), а также в овоцитах растущих фолликулов с начальными признаками атрезии, в которых половая клетка была сохранна, интенсивность экспрессии оказалась наиболее выраженной, в овоцитах вторичных (ВРФ) и третичных фолликулов (ТРФ) – наименее выраженной. Фолликулярный эпителий окрашивался менее интенсивно, экспрессия усиливалась соответственно стадии развития фолликулов. На 7-е сутки введения ФСГ увеличивалась интенсивность иммуноокраски овоцитов всех типов фолликулов (Рисунок 18, а, б). Фолликулярный эпителий окрашивался менее интенсивно, экспрессия усиливалась соответственно стадии развития фолликулов. Интенсивность окраски эпителиоцитов яйценосного бугорка и париетальных эпителиоцитов гранулезы у крыс экспериментальной группы незначительно повышалась только в ранние сроки (7-е сутки) в ПФ и фолликулах, только вступивших в рост, в ВРФ и ТРФ изменений не обнаруживалось. К 15-м суткам экспрессия ВМР 15 снижалась во всех типах фолликулов, а к 30-м соответствовала таковой в контроле (Рисунок 19).

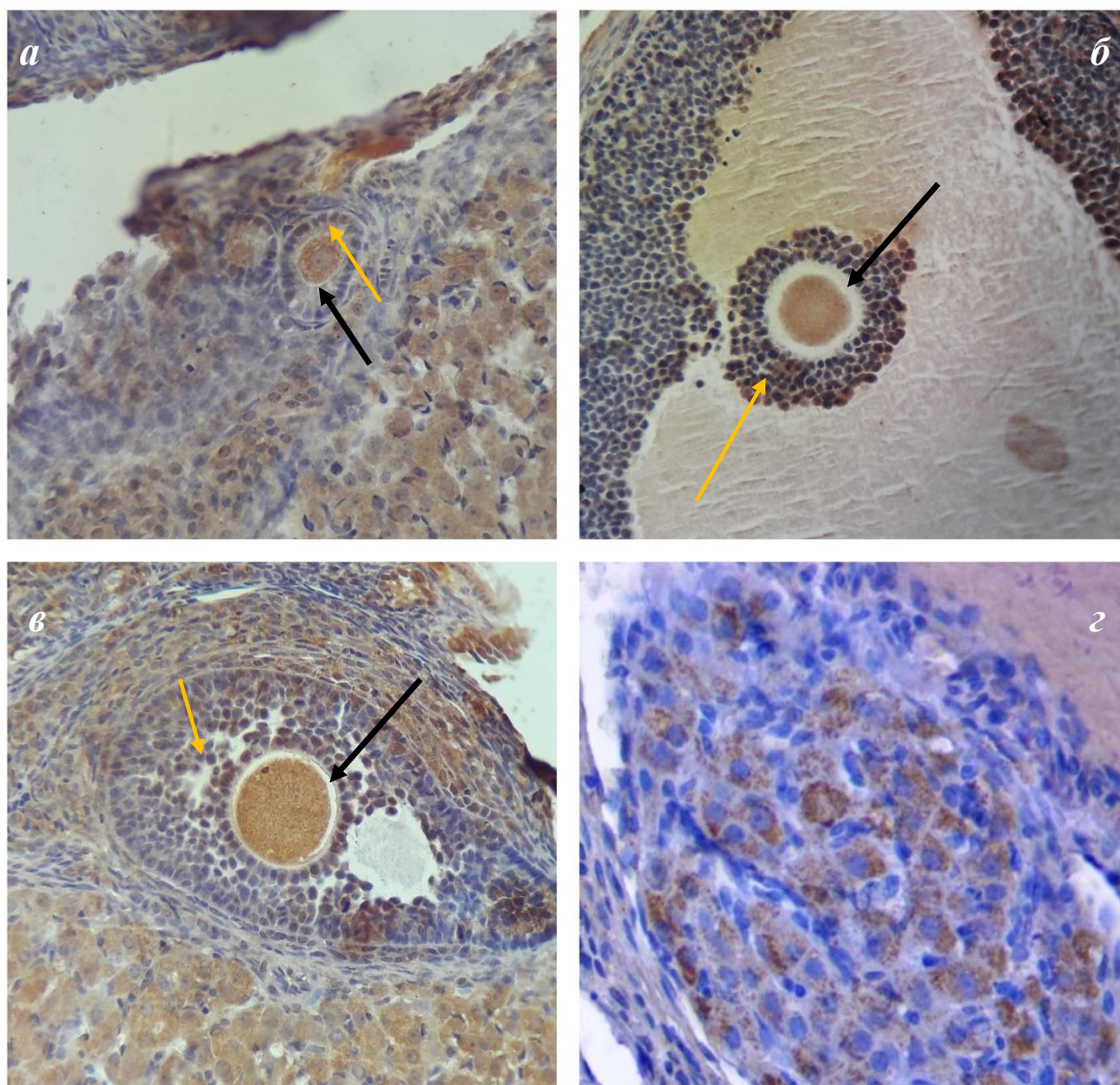


Рисунок 18 – Экспрессия BMP 15, Сх 37, VEGF у животных группы сравнения на 7-е сутки эксперимента: *а* – экспрессия BMP 15 в первичном фолликуле; *б* – экспрессия BMP 15 в третичном фолликуле; *в* – экспрессия Сх 37 во вторичном фолликуле; *г* – экспрессия VEGF в стенке фолликулярной кисты. Черные стрелки указывают на овоциты, желтые – на фолликулоциты. Окраска DAB, докраска гематоксилином. Ув. $\times 400$

В основной группе на 15-е сутки эксперимента экспрессия BMP 15 в овоцитах всех типов растущих фолликулов снижалась, не демонстрируя отличий от группы контроля. К 30-м суткам усиление экспрессии в фолликулоцитах сохранялось только в ПФ и ПРФ, в то время как в ВРФ и ТРФ значения соответствовали таковым в группе контроля (Рисунок 19).

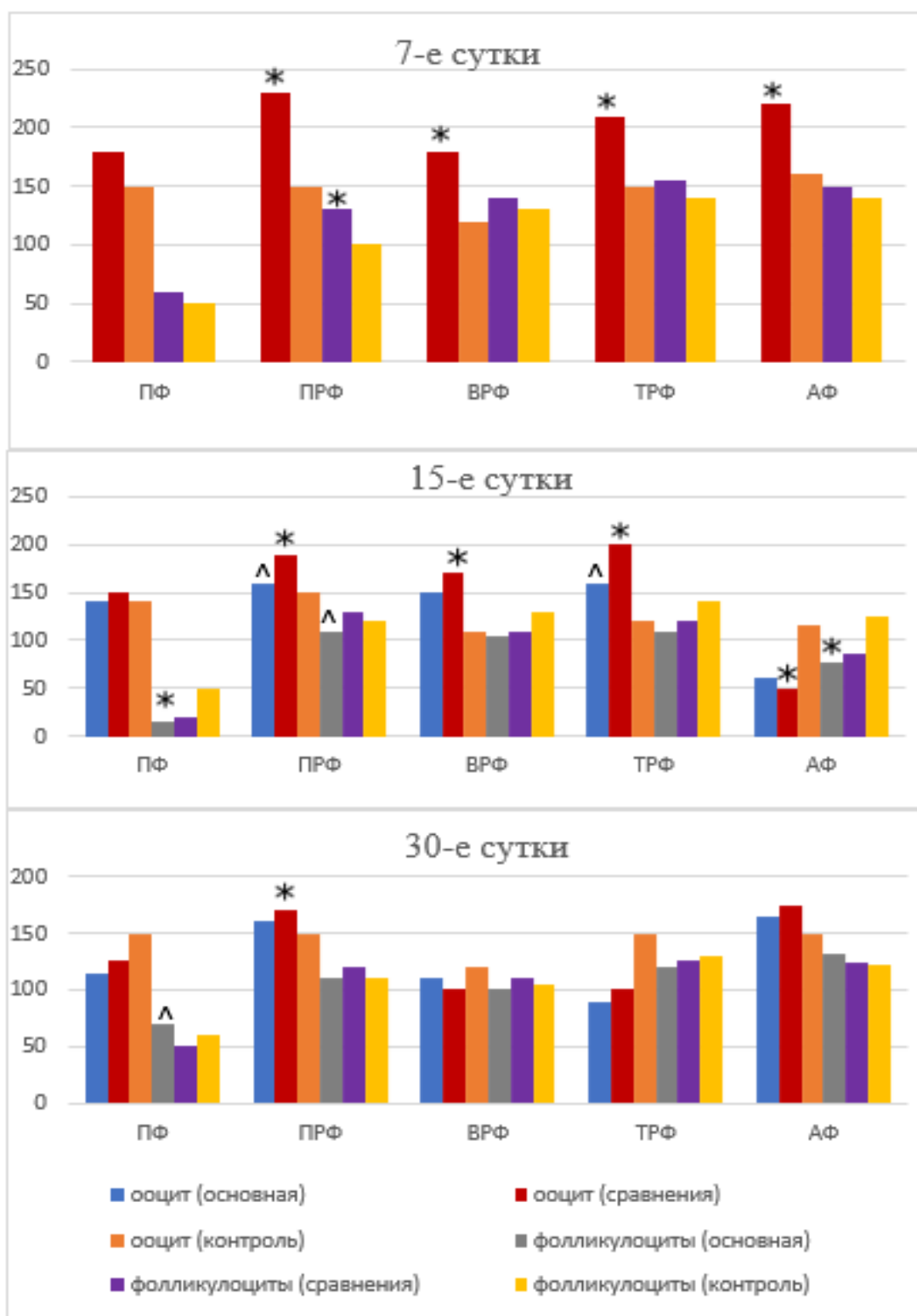


Рисунок 19 – Экспрессия VMP 15 в овоцитах и фолликулярном эпителии различных типов фолликулов (H-score, M). Здесь и на Рисунках 20 и 21: ПФ – примордиальные фолликулы, ПРФ – первичные фолликулы, ВРФ – вторичные фолликулы, ТРФ – третичные и зрелые фолликулы, АФ – атретические фолликулы и тела, * – значимые отличия от контроля тестом Манна-Уитни ($p \leq 0,05$), ^ – значимые отличия от группы сравнения тестом Манна-Уитни ($p \leq 0,05$).

Экспрессия Сх-37 была выявлена в овоцитах, *zona pellucida*, висцеральных фолликулоцитах, клетках кумулюса, отдельных лютеоцитах и эндотелиоцитах сосудов яичников крыс. Овоциты окрашивались более интенсивно, чем клетки фолликулярного эпителия (см. Рисунок 18, в). Слабое и умеренное иммунопозитивное окрашивание наблюдалось на поверхности овоцитов (мембранное) ПФ и границе с клетками гранулезы.

Динамика изменения интенсивности окраски овоцитов и фолликулоцитов соответствовала стадии развития фолликулов. Иммунопозитивная реакция волнообразно нарастала соответственно стадии роста и развития фолликулов, достигала максимума в конце преантральной стадии (см. Рисунок 18, в), аналогичная динамика иммунной окраски отмечалась в фолликулярном эпителии. Фолликулы антральной и преовуляторной стадии (ВРФ и ТРФ) окрашивались диффузно, что связано с неравномерной иммунолокализацией маркера в фолликулоцитах, снижением экспрессии фактора в овоците. При наличии признаков атрезии слабое и умеренное иммунное окрашивание определялось в клетках гранулезы. Экспрессия Сх 37 оказывалась выраженной в АФ с гипертрофией теки, в начальных этапах атрезии в овоцитах при его сохранности.

При моделировании ФКЯ с помощью введения ФСГ отмечалась волнообразная динамика окрашивания овоцитов, аналогичная контролю, более выраженная в овоцитах ВРФ и ТРФ на 7-е сутки эксперимента. Фолликулярный эпителий ПРФ окрашивался слабее, чем в контрольной группе. В период с 15-х по 30-е сутки эксперимента экспрессия белка щелевого взаимодействия в овоцитах не отличалась от таковой в контроле, однако снижение иммунной окраски в фолликулоцитах отмечалось до 30-х суток эксперимента (Рисунок 20).

В яичниках животных основной группы экспрессия Сх 37 не отличалась от таковой в контрольной группе. К 15-м суткам эксперимента интенсивность иммуноокраски в овоцитах усиливалась, демонстрируя значимые отличия от группы сравнения. В фолликулоцитах наблюдалось усиление экспрессии

маркера, эффект прослеживался также на 30-е сутки эксперимента (Рисунок 20).

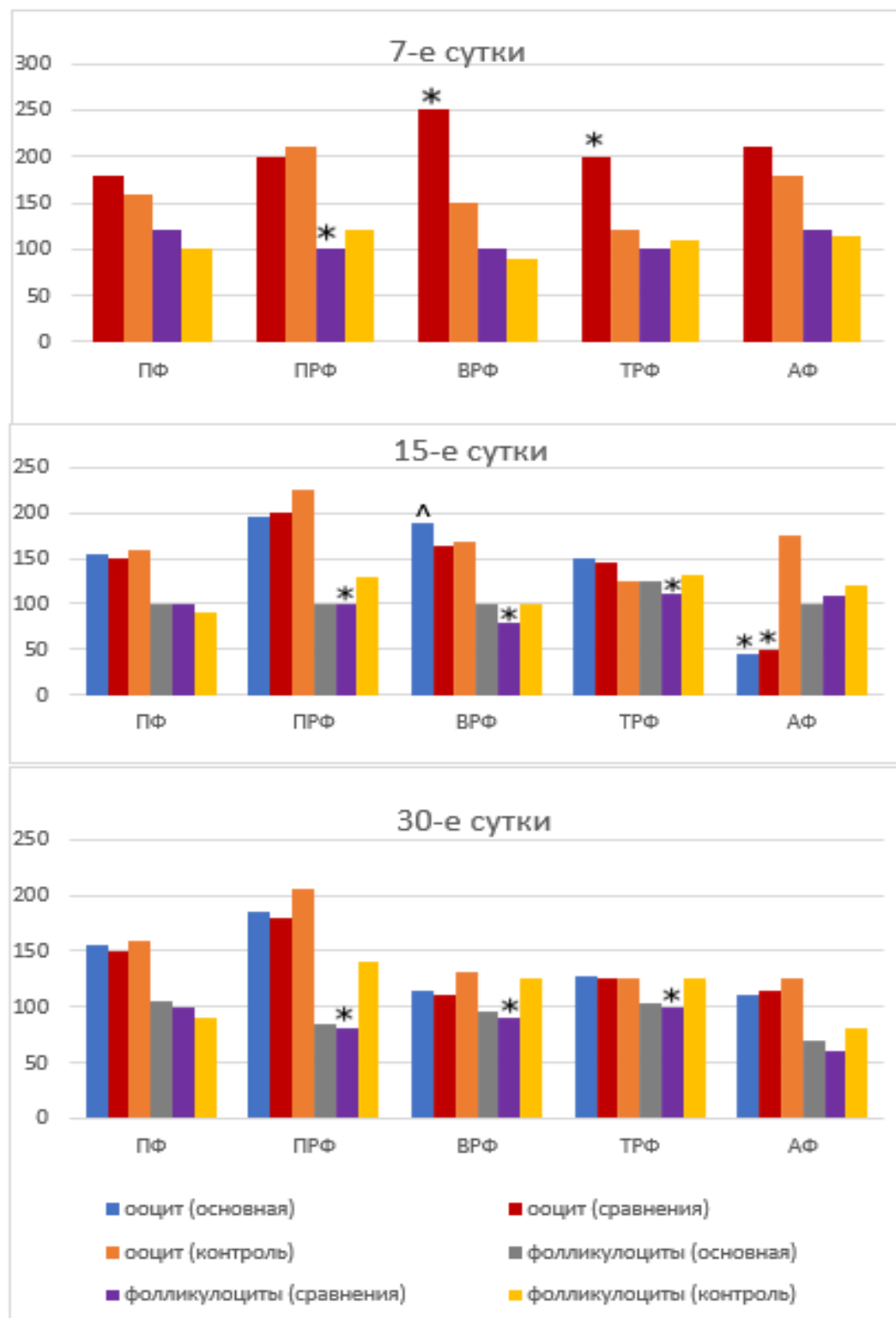


Рисунок 20 – Экспрессия Cx 37 в овоцитах и фолликулярном эпителии различных типов фолликулов (H-score, M)

Экспрессия VEGF проявлялась в виде коричневого окрашивания цитоплазматической мембраны, цитоплазмы фолликулоцитов и клеток эндотелия. Выявлена высокая частота положительной экспрессии VEGF в эндокриноцитах функциональных кист яичников (см. Рисунок 18, з). Иммунопозитивное окрашивание слабой и умеренной интенсивности наблюдалось на поверхности овоцитов (мембранное) и лютеоцитах желтого тела. На 7-е сутки моделирования ФКЯ экспрессия фактора была максимально выраженной в фолликулоцитах растущих фолликулов, с 15-х суток экспрессия VEGF не отличалась от таковой в контрольной группе (Рисунок 21). Экспрессия маркера в эндотелиоцитах на 30-е сутки также не отличалась таковой в контроле.

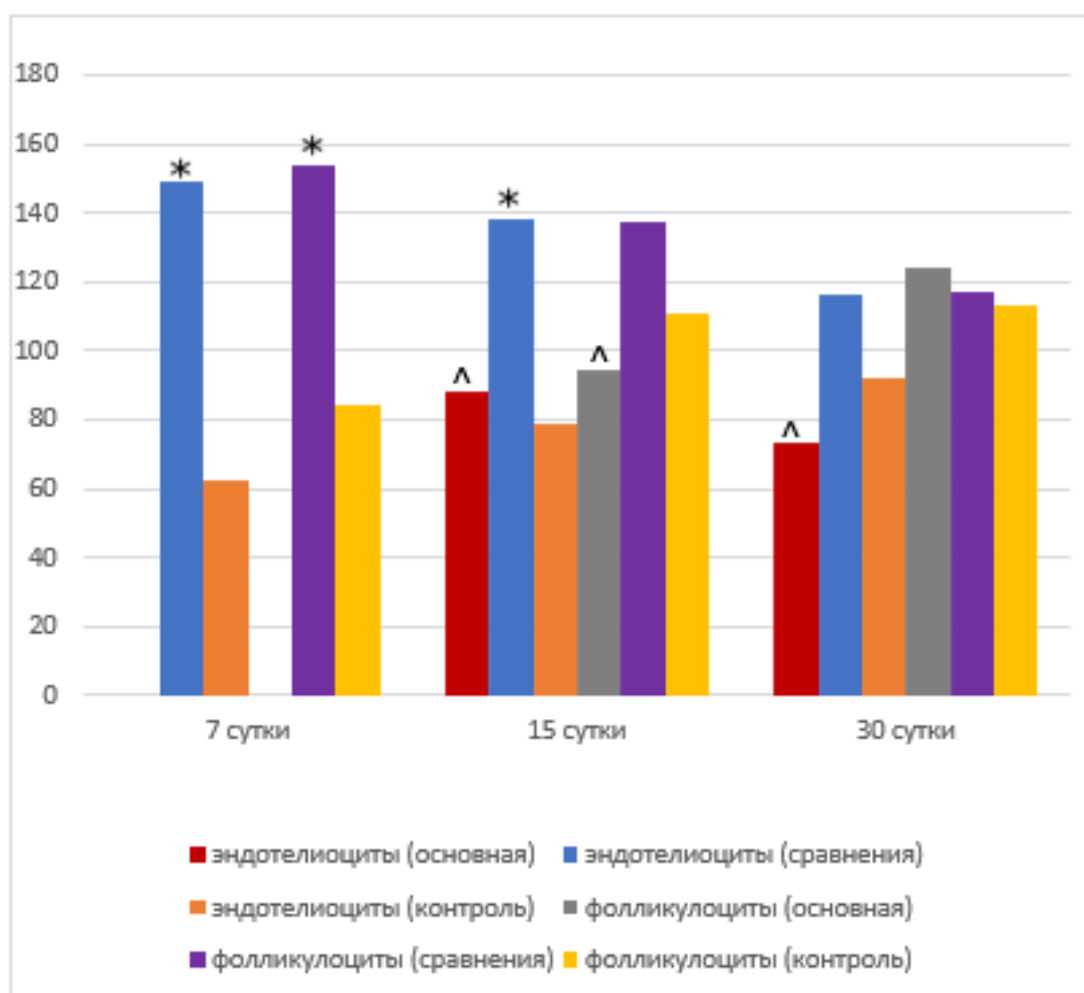


Рисунок 21 – Экспрессия VEGF в эндотелиоцитах и фолликулоцитах (H-score, M)

ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.

КЛИНИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

4.1 Клинико-лабораторная характеристика пациенток с оперированными яичниками

Согласно цели и задачам исследования проведен ретроспективный анализ историй болезни 137 женщин (объем выборки после сопоставления с критериями включения / исключения). Пациентки с потенциально бедным ответом составили основную группу исследования (I) (n=53, 38,7%). Группа сравнения была сформирована из 84 женщин (61,3%) с хорошим ответом на контролируемую индукцию овуляции.

Средний возраст пациенток раннего репродуктивного возраста составил ($30,2 \pm 3,0$) года, в группе пациенток позднего репродуктивного возраста – ($37,0 \pm 2,5$) года, статистический анализ не выявил различий между пациентками основной группы и группы сравнения в каждой возрастной категории.

Обращает на себя внимание высокая частота встречаемости нейрообменно-эндокринных нарушений (Таблица 3). Избыточная масса тела выявлена у 32,8% пациенток, ожирение 1-й степени – у 10,2%, дефицит массы тела – у 8%. У каждой третьей пациентки была выявлена патология щитовидной железы в виде диффузного узлового зоба, хронического аутоиммунного тиреоидита, йод-дефицитного состояния и гипотиреоза. Чаще патология щитовидной железы встречалась в основной группе пациенток старшего репродуктивного возраста. В группе пациенток младше 35 лет хронический аутоиммунный тиреоидит чаще встречался у представительниц основной группы. У 24 (17,5%) пациенток наблюдалась гиперпролактинемия, у 6 – аденопатия гипофиза (4,4%). Нейроциркуляторная дистония была выявлена у 15 пациенток в возрасте младше 35 лет.

Таблица 3 – Сопутствующая соматическая патология в различные возрастные периоды

Сопутствующая соматическая патология	I. А (n=25)	II. А (n=62)	IA–IIА <i>p</i>	I. Б (n=28)	II. Б (n=22)	IB–IIБ <i>p</i>	IA–IB <i>p</i>	IIА–IIБ <i>p</i>
Средний возраст, лет	31±2,2	29,8±3,3	0,68	38,6±2,9	36,5±1,6	0,097	0,000	0,000
Патология щитовидной железы	11 (44%)	29 (46,8%)	$\chi^2=0,055$ <i>p=0,815</i>	18 (64,3%)	7 (31,8%)	$\chi^2=5,195$ <i>p=0,023</i>	$\chi^2=2,194$ <i>p=0,139</i>	$\chi^2=1,483$ <i>p=0,224</i>
Диффузный узловой зоб	7 (28%)	21 (33,9%)	$\chi^2=0,281$ <i>p=0,596</i>	13 (46,4%)	6 (27,3%)	$\chi^2=1,919$ <i>p=0,166</i>	$\chi^2=1,909$ <i>p=0,168</i>	$\chi^2=0,324$ <i>p=0,57</i>
Йод-дефицитное состояние	7 (28%)	14 (22,6%)	$\chi^2=0,286$ <i>p=0,593</i>	6 (21,4%)	3 (13,6%)	$\chi^2=0,507$ <i>p=0,477</i>	$\chi^2=0,308$ <i>p=0,579</i>	$\chi^2=0,805$ <i>p=0,37</i>
Гипотиреоз	7 (28%)	11 (17,7%)	$\chi^2=1,143$ <i>p=0,286</i>	5 (18,5%)	3 (13,6%)	$\chi^2=0,163$ <i>p=0,687</i>	$\chi^2=0,776$ <i>p=0,379</i>	$\chi^2=0,197$ <i>p=0,658</i>
Хронический аутоиммунный тиреоидит	4 (16%)	2 (3,2%)	$\chi^2=0,528$ <i>p=0,034</i>	6 (21,4%)	1 (4,5%)	$\chi^2=2,917$ <i>p=0,088</i>	$\chi^2=0,254$ <i>p=0,615</i>	$\chi^2=0,082$ <i>p=0,775</i>
Избыточная масса тела	9 (36%)	18 (29%)	$\chi^2=0,404$ <i>p=0,525</i>	12 (42,9%)	6 (27,3%)	$\chi^2=1,299$ <i>p=0,255</i>	$\chi^2=0,26$ <i>p=0,611</i>	$\chi^2=0,025$ <i>p=0,876</i>
Дефицит массы тела	4 (16%)	6 (9,7%)	$\chi^2=0,7$ <i>p=0,403</i>	1 (3,6%)	0	$\chi^2=0,802$ <i>p=0,371</i>	$\chi^2=2,388$ <i>p=0,123</i>	$\chi^2=2,293$ <i>p=0,13</i>
Ожирение 1-й степени	2 (8%)	8 (12,9%)	$\chi^2=0,421$ <i>p=0,517</i>	1 (3,6%)	3 (13,6%)	$\chi^2=1,696$ <i>p=0,193</i>	$\chi^2=0,485$ <i>p=0,487</i>	$\chi^2=0,008$ <i>p=0,931</i>
Анемия	7 (28%)	13 (20,9%)	$\chi^2=0,498$ <i>p=0,481</i>	7 (25%)	2 (9,1%)	$\chi^2=2,113$ <i>p=0,147</i>	$\chi^2=0,061$ <i>p=0,805</i>	$\chi^2=1,562$ <i>p=0,212</i>

Средний возраст менархе составил 13,0 (12,0–14,5) года (Таблица 4). Продолжительность менструального цикла не выходила за пределы 24–38 дней у

123 (89,8%) пациенток и составляла в среднем 29 (27–30) дней. Продолжительность менструального кровотечения составляла в среднем 5 (3–6) дней.

Таблица 4 – Показатели менструальной функции у пациенток основной группы и группы сравнения

Показатель	I. А (n=25)	II. А (n=62)	IA–IIА <i>p</i>	I. Б (n=28)	II. Б (n=22)	IB–IIB <i>p</i>	IA–IB <i>p</i>	IIА–IIB <i>p</i>
Возраст менархе, лет	13 (12-14,5)	13 (12-14)	0,29	13 (12–14)	13 (12–14)	0,56	0,58	0,79
Длительность менструального цикла, дней	30 (28-30)	29 (28-30)	0,4	29 (28–30)	28 (27–29)	0,17	0,49	0,15
Длительность менструации, дней	5 (4-5)	5 (4-6)	0,32	4 (3–5)	5 (4–5)	0,50	0,69	0,54
Нормальный менструальный цикл (24-38 дней)	17 (68%)	58 (93,5%)	$\chi^2=9,78$ $p=0,002$	27 (96,4%)	21 (95,4%)	$\chi^2=0,03$ $p=0,862$	$\chi^2=7,572$ $p=0,006$	$\chi^2=0,1$ $p=0,746$
Нормальная длительность менструального кровотечения (3–8 дней)	25 (100%)	62 (100%)	–	28 (100%)	22 (100%)	–	–	–

Аномальные маточные кровотечения (АМК) наблюдались у каждой третьей пациентки в виде обильных маточных кровотечений (ОМК) и межменструальных маточных кровотечений (ММК). У половины пациенток была отмечена дисменорея, реже встречалась олигоменорея (продолжительность

менструального цикла более 38 дней). АМК в виде ММК, а также олигоменорея статистически значимо чаще встречались в основной группе. ММК и дисменорея статистически значимо чаще встречались у женщин раннего репродуктивного возраста. Статистический анализ не выявил значимых различий в частоте встречаемости ОМК в группах (Таблица 5).

Таблица 5 – Нарушения менструальной функции у пациенток основной группы и группы сравнения

Показатель	I. А (n=25)	II. А (n=62)	IA-IIA <i>p</i>	I. Б (n=28)	II. Б (n=22)	IB-IIБ <i>p</i>	IA-IB <i>p</i>	IIA-IIБ <i>p</i>
АМК	10 (40%)	14 (22,5%)	$\chi^2=2,706$ <i>p=0,1</i>	1 (3,7%)	4 (17,4%)	$\chi^2=2,585$ <i>p=0,108</i>	$\chi^2=2,918$ <i>p=0,088</i>	$\chi^2=0,271$ <i>p=0,603</i>
ОМК	5 (20%)	11 (17,7%)	$\chi^2=0,061$ <i>p=0,806</i>	1 (3,7%)	4 (17,4%)	$\chi^2=2,585$ <i>p=0,108</i>	$\chi^2=3,377$ <i>p=0,067</i>	$\chi^2=0,001$ <i>p=0,97</i>
ММК	5 (20%)	3 (4,8%)	$\chi^2=4,905$ <i>p=0,027</i>	0	0	-	$\chi^2=5,974$ <i>p=0,015</i>	$\chi^2=1,154$ <i>p=0,283</i>
Олигоме- норея	3° (12%)	1 (1,6%)	$\chi^2=4,382$ <i>p=0,037</i>	1 (3,7%)	1 (4,3%)	$\chi^2=0,013$ <i>p=0,908</i>	$\chi^2=1,258$ <i>p=0,262</i>	$\chi^2=0,546$ <i>p=0,46</i>
Дисменорея	14 (56%)	33 (53,2%)	$\chi^2=0,055$ <i>p=0,815</i>	5 (18,5%)	9 (39,1%)	$\chi^2=2,617$ <i>p=0,106</i>	$\chi^2=7,865$ <i>p=0,006</i>	$\chi^2=1,333$ <i>p=0,249</i>

Примечание. ° – $p < 0,05$ при сравнении с другой возрастной группой;

*- статистически значимые различия между основной группой и группой сравнения.

Основной жалобой пациенток было отсутствие беременности при регулярной половой жизни без контрацепции. Длительность infertility составила в среднем 6,0 (1,5–15,0) лет и статистически значимо не различалась в исследуемых группах ($p = 0,386$). Первичное бесплодие было выявлено в 65 случаях (47,4%), вторичное – в 72 (52,5%). Пациентки с вторичным бесплодием имели в анамнезе до 3 беременностей. Комбинированное бесплодие было выявлено у 112 женщин, частота встречаемости не различалась в исследуемых группах.

Роды в анамнезе были у 20 (14,6%) пациенток: 19 женщин (13,9%) имели в анамнезе одни роды, 1 (0,73%) – двое родов. У представительниц основной группы было меньше беременностей и родов. Артифициальный аборт в анамнезе отмечен у 27 (19,7%) пациенток. Спонтанные аборты были зафиксированы у 31 женщины (22,6%), чаще в основной группе позднего репродуктивного возраста. Внематочную беременность имели в анамнезе 26 женщин (18,9%). Акушерский анамнез женщин в исследуемых группах представлен в Таблице 6.

Таблица 6 – Количество и исходы беременностей у пациенток основной группы и группы сравнения

Показатель	I. А (n=25)	II. А (n=62)	IA–IIA <i>p</i>	I. Б (n=28)	II. Б (n=22)	IB–IIB <i>p</i>	IA–IB <i>p</i>	IIA–IIB <i>p</i>
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Бесплодие 1	13 (52%)	31 (50%)	$\chi^2=0,029$ <i>p</i> =0,866	11 (39,3%)	9 (40,9%)	$\chi^2=0,014$ <i>p</i> =0,908	$\chi^2=0,862$ <i>p</i> =0,354	$\chi^2=0,538$ <i>p</i> =0,464
Бесплодие 2	12 (48%)	31 (50%)	$\chi^2=0,029$ <i>p</i> =0,866	17 (60,7%)	13 (59,1%)	$\chi^2=0,014$ <i>p</i> =0,908	$\chi^2=0,862$ <i>p</i> =0,354	$\chi^2=0,538$ <i>p</i> =0,464
Количество беременностей	12 (48%)	31 (50%)	$\chi^2=0,029$ <i>p</i> =0,866	17 (60,7%)	13 (59,1%)	$\chi^2=0,014$ <i>p</i> =0,908	$\chi^2=0,862$ <i>p</i> =0,354	$\chi^2=0,538$ <i>p</i> =0,464
1	8 (32%)	10 (16,1%)	$\chi^2=2,735$ <i>p</i> =0,099	5 (17,9%)	8 (36,4%)	$\chi^2=2,193$ <i>p</i> =0,139	$\chi^2=1,427$ <i>p</i> =0,233	$\chi^2=3,949$ <i>p</i>=0,047
2 и более	4 (16%)	21 (33,9%)	$\chi^2=2,779$ <i>p</i> =0,096	12 (42,9%)	6 (27,3%)	$\chi^2=1,299$ <i>p</i> =0,255	$\chi^2=4,52$ <i>p</i>=0,034	$\chi^2=0,324$ <i>p</i> =0,57
Количество родов	1 (4%)	5 (8,1%)	$\chi^2=0,458$ <i>p</i> =0,499	9 (32,1%)	5 (22,7%)	$\chi^2=0,542$ <i>p</i> =0,462	$\chi^2=6,833$ <i>p</i>=0,009	$\chi^2=3,329$ <i>p</i> =0,069
1	1 (4%)	5 (8,1%)	$\chi^2=0,458$ <i>p</i> =0,499	8 (28,6%)	5 (22,7%)	$\chi^2=0,219$ <i>p</i> =0,641	$\chi^2=5,656$ <i>p</i> =0,018	$\chi^2=3,329$ <i>p</i> =0,069
2 и более	0	0	–	1 (3,6%)	0	$\chi^2=0,802$ <i>p</i> =0,371	$\chi^2=0,91$ <i>p</i> =0,341	-

Окончание Таблицы 6

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Количество артифи- циальных абортов	4 (16%)	13 (20,9%)	$\chi^2=0,28$ $p=0,597$	5 (17,9%)	5 (22,7%)	$\chi^2=0,183$ $p=0,67$	$\chi^2=0,032$ $p=0,858$	$\chi^2=0,03$ $p=0,863$
1	3 (12%)	8 (12,9%)	$\chi^2=0,013$ $p=0,909$	2 (7,1%)	4 (18,2%)	$\chi^2=1,422$ $p=0,234$	$\chi^2=0,365$ $p=0,546$	$\chi^2=0,37$ $p=0,544$
2 и более	1 (4%)	5 (8,1%)	$\chi^2=0,458$ $p=0,499$	3 (10,7%)	1 (4,5%)	$\chi^2=0,637$ $p=0,425$	$\chi^2=0,853$ $p=0,356$	$\chi^2=0,303$ $p=0,582$
Количество спонтанных абортов	7 (28%)	10 (16,1%)	$\chi^2=1,597$ $p=0,207$	11 (39,3%)	3 (13,6%)	$\chi^2=4,02$ $p=0,045$	$\chi^2=0,75$ $p=0,387$	$\chi^2=0,007$ $p=0,782$
1	7 (28%)	8 (12,9%)	$\chi^2=2,846$ $p=0,092$	5 (17,9%)	3 (13,6%)	$\chi^2=0,16$ $3p=0,68$ 7	$\chi^2=0,77$ $6p=0,37$ 9	$\chi^2=0,008$ $p=0,931$
2 и более	0	2 (3,2%)	$\chi^2=0,825$ $p=0,364$	6 (21,4%)	0	$\chi^2=5,357$ $p=0,021$	$\chi^2=6,041$ $p=0,014$	$\chi^2=0,727$ $p=0,394$
Количество внематочных беремен- ностей	6 (24%)	11 (17,7%)	$\chi^2=0,444$ $p=0,506$	4 (14,3%)	5 (22,7%)	$\chi^2=0,595$ $p=0,441$	$\chi^2=0,814$ $p=0,367$	$\chi^2=0,262$ $p=0,609$
1	4 (16%)	9 (14,5%)	$\chi^2=0,031$ $p=0,861$	2 (7,1%)	4 (18,2%)	$\chi^2=1,422$ $p=0,234$	$\chi^2=1,032$ $p=0,31$	$\chi^2=0,167$ $p=0,683$
2 и более	2 (8%)	2 (3,2%)	$\chi^2=0,926$ $p=0,336$	2 (7,1%)	1 (4,5%)	$\chi^2=0,147$ $p=0,702$	$\chi^2=0,014$ $p=0,907$	$\chi^2=0,082$ $p=0,775$

Примечание. ° $-p < 0,05$ при сравнении с другой возрастной группой;

*- статистически значимые различия между основной группой и группой сравнения.

Показаниями для проведения оперативного лечения пациенток являлись: разрыв кисты, внутрибрюшное кровотечение, болевой синдром различной степени выраженности, наличие объемных образований диаметром более 5 см, сохраняющиеся в течение 2–3 менструальных циклов, бесплодие, подозрение на

истинную опухоль или эндометриоз. Осложненное течение ФКЯ наблюдалось у 44 (32,1%) женщин, чаще в основной группе (IA–IIA $p < 0,001$; IB–IIB $p = 0,003$).

Операции лапароскопическим доступом были выполнены у 132 (96,4%) пациенток, лапаротомическим – у 5 (3,6%). В 76 (55,6%) случаев определялись фолликулярные кисты, в 61 (44,4%) – кисты желтых тел. Параовариальные кисты были обнаружены у 6 (4,4%) пациенток.

Цистэктомия была выполнена 90 пациенткам (65,7%), адгезиолизис – 75 (54,7%), резекция яичника – 41 (29,9%), сальпингоовариолизис – 39 (28,5%), электрокоагуляция – 22 (16,1%), биопсия яичника – 14 (10,2%), пункция кисты – 13 (9,5%), эндотермокаутеризация – 8 (5,8%), параовариоцистэктомия – 8 (5,8%), дреллинг – 6 (4,4%) (Таблица 7). Операции на маточных трубах в анамнезе имели место у 67 (48,9%) пациенток, миомэктомия – у 16 (11,7%). Восемь пациенток (5,8%) перенесли аппендэктомию. Симультантно с операциями на яичниках всем пациенткам проводилась хромогидротубация, гистероскопия с отдельным диагностическим выскабливанием полости матки и цервикального канала. Диатермоэлектроэксцизия шейки матки была выполнена 21 пациентке (15,3%). С момента операции в среднем прошло 4,5 (1,0–13,5) года.

Интерес представляет группа из 15 пациенток, перенесших повторные операции на яичниках. Девять женщин перенесли два оперативных вмешательства по поводу рецидивирующих кист яичников, семь из них были в обоих случаях прооперированы с использованием лапароскопического доступа, две пациентки перенесли лапаротомию. Шесть пациенток перенесли три повторных оперативных вмешательства, половине данных пациенток была проведена лапаротомия, в остальных случаях – лапароскопия. У пациенток данной группы наблюдалось статистически значимое укорочение менструального цикла ($p = 0,034$), чаще встречались ОМК ($p = 0,041$), диагностировался спаечный процесс органов малого таза ($\chi^2 = 4,83$; $p = 0,028$), в частности IV степень выраженности спаечного процесса ($\chi^2 = 4,95$; $p = 0,027$).

В основной группе пациенткам чаще выполнялись повторные операции на органах малого таза. Была исследована группа из 65 пациенток, перенесших повторные оперативные вмешательства на органах малого таза. Далее приведена характеристика этих пациенток (основная группа, 65 женщин) и сравнение с пациентками, перенесшими одно оперативное вмешательство на органах малого таза (группа сравнения, 72 женщины). Статистический анализ выявил у данных пациенток статистически значимое увеличение длительности менструального кровотечения ($p = 0,028$), чаще встречались ММК ($\chi^2 = 5,467$ $p = 0,02$). Для пациенток было характерно статистически значимое повышение концентрации ФСГ ($p = 0,024$); 48 женщин перенесли два оперативных вмешательства на органах малого таза, 15 пациенток – 3, две пациентки – 4 операции. Пять пациенток перенесли лапаротомию, остальным проводилась лапароскопия. У восьми пациенток основной группы первым оперативным вмешательством являлась аппендэктомия ($\chi^2 = 9,411$; $p = 0,003$). У 36 женщин оперативное вмешательство на маточных трубах было связано с хроническим сальпингитом и нарушением проходимости маточных труб. Операции на маточных трубах по поводу внематочных беременностей перенесла 31 пациентка. Чаще наблюдалось осложненное течение ФКЯ ($\chi^2 = 7,6$; $p = 0,006$). У представительниц основной группы статистически значимо чаще диагностировался спаечный процесс органов малого таза ($\chi^2 = 4,83$; $p = 0,012$), в частности IV степень выраженности спаечного процесса ($\chi^2 = 10,67$; $p = 0,002$), а также киста желтого тела ($\chi^2 = 8,706$; $p = 0,004$). Кроме того, статистически значимо чаще проводились адгезиолизис ($\chi^2 = 14,62$; $p < 0,001$), резекция яичника ($\chi^2 = 4,296$; $p = 0,039$), операции на маточных трубах ($\chi^2 = 20,21$; $p < 0,001$), а именно сальпинготомия и келифэктомия ($\chi^2 = 20,07$; $p < 0,001$), сальпингоэктомия ($\chi^2 = 17,27$; $p < 0,001$) (Таблица 7).

Таблица 7 – Структура оперативных вмешательств у пациенток основной группы и группы сравнения

Вид оперативного вмешательства	I. А (n=25)	II. А (n=62)	IA-IIA <i>p</i>	I. Б (n=28)	II. Б (n=22)	IB-IIБ <i>p</i>	IA-IB <i>p</i>	IIA-IIБ <i>p</i>
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Цистэктомия	20 (80%)	39 (62,9%)	$\chi^2=2,386$ $p=0,123$	17 (60,7%)	14 (63,6%)	$\chi^2=0,045$ $p=0,833$	$\chi^2=2,331$ $p=0,127$	$\chi^2=0,004$ $p=0,952$
Повторные операции на органах малого таза	19 (76%)	28 (45,2%)	$\chi^2=6,822$ $p=0,01$	23 (82,1%)	4 (18,2%)	$\chi^2=20,29$ $p < 0,001$	$\chi^2=0,303$ $p=0,582$	$\chi^2=5,012$ $p=0,026$
Адгезиолизис	16 (64%)	27 (43,5%)	$\chi^2=2,981$ $p=0,085$	10 (35,7%)	12 (54,5%)	$\chi^2=1,773$ $p=0,184$	$\chi^2=4,228$ $p=0,04$	$\chi^2=0,79$ $p=0,375$
Резекция яичника	7 (28%)	21 (33,9%)	$\chi^2=0,281$ $p=0,596$	10 (35,7%)	3 (13,6%)	$\chi^2=3,121$ $p=0,078$	$\chi^2=0,361$ $p=0,549$	$\chi^2=3,258$ $p=0,072$
Операции на трубах	16 (64%)	25 (40,3%)	$\chi^2=4,008$ $p=0,046$	13 (46,4%)	13 (59,1%)	$\chi^2=0,791$ $p=0,374$	$\chi^2=1,64$ $p=0,2$	$\chi^2=2,309$ $p=0,129$
Сальпингостомия, келифэктомия	6 (24%)	8 (12,9%)	$\chi^2=1,625$ $p=0,203$	0	2 (9,1%)	$\chi^2=2,652$ $p=0,104$	$\chi^2=7,578$ $p=0,006$	$\chi^2=0,225$ $p=0,636$
Сальпингостомия	5 (20%)	14 (22,6%)	$\chi^2=0,07$ $p=0,793$	9 (32,1%)	8 (36,4%)	$\chi^2=0,098$ $p=0,755$	$\chi^2=1,002$ $p=0,317$	$\chi^2=0,01$ $p=0,92$
Сальпингэктомия	5 (20%)	3 (4,8%)	$\chi^2=4,905$ $p=0,027$	4 (14,3%)	3 (13,6%)	$\chi^2=0,004$ $p=0,948$	$\chi^2=0,306$ $p=0,581$	$\chi^2=1,895$ $p=0,169$
Эндоэлекрокоагуляция	6 (24%)	9 (14,5%)	$\chi^2=1,123$ $p=0,29$	4 (14,3%)	3 (13,6%)	$\chi^2=0,004$ $p=0,948$	$\chi^2=0,814$ $p=0,367$	$\chi^2=0,01$ $p=0,92$
Термокаутеризация	5 (20%)	2 (3,2%)	$\chi^2=6,776$ $p=0,01$	0	1 (4,5%)	$\chi^2=1,299$ $p=0,255$	$\chi^2=6,183$ $p=0,013$	$\chi^2=0,082$ $p=0,775$

Окончание Таблицы 7

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Повторная операция на яичниках	4 (16%)	6 (9,7%)	$\chi^2=0,7$ $p=0,403$	2 (7,1%)	3 (13,6%)	$\chi^2=0,577$ $p=0,448$	$\chi^2=1,032$ $p=0,31$	$\chi^2=0,266$ $p=0,606$
Пункция кисты	4 (16%)	4 (6,5%)	$\chi^2=1,945$ $p=0,164$	3 (10,7%)	2 (9,1%)	$\chi^2=0,036$ $p=0,85$	$\chi^2=0,322$ $p=0,571$	$\chi^2=0,171$ $p=0,68$
Биопсия яичника	3 (12%)	4 (6,5%)	$\chi^2=0,741$ $p=0,39$	3 (10,7%)	4 (18,2%)	$\chi^2=0,571$ $p=0,451$	$\chi^2=0,022$ $p=0,883$	$\chi^2=2,593$ $p=0,108$
Аппендэктомия	3 (12%)	2 (3,2%)	$\chi^2=2,532$ $p=0,112$	0	3 (13,6%)	$\chi^2=4,062$ $p=0,044$	$\chi^2=3,562$ $p=0,06$	$\chi^2=3,144$ $p=0,077$
Параовариоцистэктомия	2 (8%)	4 (6,5%)	$\chi^2=0,067$ $p=0,797$	0	2 (9,1%)	$\chi^2=2,652$ $p=0,104$	$\chi^2=2,328$ $p=0,128$	$\chi^2=0,171$ $p=0,68$
Дриллинг	1 (4%)	4 (6,5%)	$\chi^2=0,067$ $p=0,797$	0	1 (4,5%)	$\chi^2=1,299$ $p=0,255$	$\chi^2=1,142$ $p=0,286$	$\chi^2=0,105$ $p=0,746$
Удаление паратубарной кисты	1 (4%)	2 (3,2%)	$\chi^2=0,032$ $p=0,858$	0	1 (4,5%)	$\chi^2=1,299$ $p=0,255$	$\chi^2=1,142$ $p=0,286$	$\chi^2=0,082$ $p=0,775$
Миомэктомия	0	6 (9,7%)	$\chi^2=2,599$ $p=0,107$	7 (25%)	3 (13,6%)	$\chi^2=0,994$ $p=0,319$	$\chi^2=7,201$ $p=0,008$	$\chi^2=0,266$ $p=0,606$

Примечание. ° $-p < 0,05$ при сравнении с другой возрастной группой;

*- статистически значимые различия между основной группой и группой сравнения.

Показатели ПЦР-диагностики и ИФА представлены в Таблице 8. Серологически методом ИФА наиболее часто определялись антитела (IgG) к вирусу краснухи, цитомегаловирусу, к вирусу простого герпеса 1-го и 2-го типов и к токсоплазме. У трех пациенток ранее был диагностирован сифилис.

Обращала на себя внимание высокая частота сопутствующей гинекологической патологии, выявленной при УЗИ, лапароскопии и гистероскопии, которая составила 60,6% (83 случая) (Таблица 9).

При проведении лечебно-диагностической лапароскопии у 92 (67,1%) пациенток был выявлен хронический сальпингит, у 6 (4,4%) пациенток диагностирована параовариальная киста (Таблица 9).

Таблица 8 – Серологические показатели инфекционного статуса пациенток с бесплодием с приобретенной патологией яичников

Показатель	I. А (n=25)	II. А (n=62)	IA-IIA <i>p</i>	I. Б (n=28)	II. Б (n=22)	IB-IIБ <i>p</i>	IA-IB <i>p</i>	IIA-IIБ <i>p</i>
IgG к ЦМВ	12 (48%)	39 (58%)	$\chi^2=1,631$ <i>p=0,202</i>	12 (42,9%)	7 (31,8%)	$\chi^2=0,637$ <i>p=0,425</i>	$\chi^2=0,141$ <i>p=0,708</i>	$\chi^2=6,334$ <i>p=0,012</i>
IgG к вирусу простого герпеса 1 и 2	5° (20%)	9 (14,5%)	$\chi^2=0,397$ <i>p=0,529</i>	7 (25%)	5 (22,7%)	$\chi^2=0,035$ <i>p=0,852</i>	$\chi^2=0,189$ <i>p=0,665</i>	$\chi^2=0,788$ <i>p=0,375</i>
IgG к <i>Chlamydia trachomatis</i>	3° (12%)	9 (14,5%)	$\chi^2=0,095$ <i>p=0,759</i>	5 (17,9%)	1 (4,5%)	$\chi^2=2,067$ <i>p=0,151</i>	$\chi^2=0,354$ <i>p=0,553</i>	$\chi^2=1,539$ <i>p=0,215</i>
IgG к <i>Mycoplasma hominis</i>	0	1° (1,6%)	$\chi^2=0,408$ <i>p=0,524</i>	1 (3,6%)	1 (4,5%)	$\chi^2=0,03$ <i>p=0,862</i>	$\chi^2=0,91$ <i>p=0,341</i>	$\chi^2=0,601$ <i>p=0,439</i>

Примечание. ° – *p* < 0,05 при сравнении с другой возрастной группой;

*- статистически значимые различия между основной группой и группой сравнения.

Таблица 9 – Патология репродуктивной системы у пациенток основной группы и группы сравнения

Нозология	I. А (n=25)	II. А (n=62)	IA-IIA <i>p</i>	I. Б (n=28)	II. Б (n=22)	IB-IIБ <i>p</i>	IA-IB <i>p</i>	IIA-IIБ <i>p</i>
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Хронический сальпингит	16 (64%)	34 (54,8%)	$\chi^2=0,612$ <i>p=0,435</i>	11 (39,3%)	17 (77,3%)	$\chi^2=7,215$ <i>p=0,008</i>	$\chi^2=3,228$ <i>p=0,073</i>	$\chi^2=3,426$ <i>p=0,065</i>
Спаечный процесс малого таза	16 (64%)	29 (46,8%)	$\chi^2=2,117$ <i>p=0,146</i>	14 (50%)	14 (63,6%)	$\chi^2=0,93$ <i>p=0,335</i>	$\chi^2=1,054$ <i>p=0,305</i>	$\chi^2=1,848$ <i>p=0,175</i>
I степени	6 (24%)	12 (19,3%)	$\chi^2=0,234$ <i>p=0,629</i>	3 (10,7%)	5 (22,7%)	$\chi^2=1,323$ <i>p=0,251</i>	$\chi^2=1,654$ <i>p=0,199</i>	$\chi^2=0,114$ <i>p=0,736</i>
II степени	5 (20%)	11 (17,7%)	$\chi^2=0,061$ <i>p=0,806</i>	2 (7,1%)	4 (18,2%)	$\chi^2=1,422$ <i>p=0,234</i>	$\chi^2=1,905$ <i>p=0,168</i>	$\chi^2=0,002$ <i>p=0,964</i>

Окончание Таблицы 9

1	2	3	4	5	6	7	8	9
III степени	2 (8%)	3 (4,8%)	$\chi^2=0,329$ $p=0,567$	7 (25%)	3 (13,6%)	$\chi^2=0,994$ $p=0,319$	$\chi^2=2,70$ $p=0,1$	$\chi^2=1,895$ $p=0,169$
IV степени	3 (12%)	1 (1,6%)	$\chi^2=4,382$ $p=0,037$	3 (10,7%)	2 (9,1%)	$\chi^2=0,036$ $p=0,85$	$\chi^2=0,022$ $p=0,883$	$\chi^2=2,637$ $p=0,105$
Эндометриоз легкой степени	14 (56%)	35 (56,5%)	$\chi^2=0,001$ $p=0,97$	11 (39,3%)	7 (31,8%)	$\chi^2=0,298$ $p=0,586$	$\chi^2=1,481$ $p=0,224$	$\chi^2=3,941$ $p=0,048$
Киста желтого тела	14 (56%)	27 (43,5%)	$\chi^2=1,109$ $p=0,293$	11 (39,3%)	10 (45,5%)	$\chi^2=0,192$ $p=0,661$	$\chi^2=1,481$ $p=0,224$	$\chi^2=0,024$ $p=0,878$
Фолликулярная киста	13 (52%)	38 (61,3%)	$\chi^2=0,634$ $p=0,426$	16 (57,1%)	13 (59,1%)	$\chi^2=0,019$ $p=0,89$	$\chi^2=0,141$ $p=0,708$	$\chi^2=0,033$ $p=0,856$
Хронический эндометрит	9 (36%)	22 (35,5%)	$\chi^2=0,002$ $p=0,964$	13 (46,4%)	10 (45,5%)	$\chi^2=0,005$ $p=0,946$	$\chi^2=0,592$ $p=0,442$	$\chi^2=0,685$ $p=0,409$
Хронический эндоцервицит	4 (16%)	11 (17,7%)	$\chi^2=0,038$ $p=0,846$	5 (17,8%)	6 (27,3%)	$\chi^2=0,636$ $p=0,425$	$\chi^2=0,032$ $p=0,858$	$\chi^2=0,914$ $p=0,34$
Гиперплазия без атипии и полипы	3 (12%)	17 (27,4%)	$\chi^2=2,393$ $p=0,122$	9 (32,1%)	7 (31,8%)	$\chi^2=0,001$ $p=0,981$	$\chi^2=3,06$ $p=0,081$	$\chi^2=0,154$ $p=0,695$
Параовариальная киста	2 (8%)	4 (6,5%)	$\chi^2=0,067$ $p=0,797$	0	2 (9,1%)	$\chi^2=2,652$ $p=0,104$	$\chi^2=2,328$ $p=0,128$	$\chi^2=0,171$ $p=0,68$
Порок развития матки	2 (8%)	3 (4,8%)	$\chi^2=0,329$ $p=0,567$	1 (3,6%)	1 (4,6%)	$\chi^2=0,03$ $p=0,862$	$\chi^2=0,485$ $p=0,487$	$\chi^2=0,003$ $p=0,956$
Миома матки	1 (4%)	16 (25,8%)	$\chi^2=5,389$ $p=0,021$	11 (39,3%)	10 (45,5%)	$\chi^2=0,192$ $p=0,661$	$\chi^2=9,389$ $p=0,003$	$\chi^2=2,933$ $p=0,087$
Фиброзно-кистозная болезнь	15 (60%)	25 (40,3%)	$\chi^2=2,777$ $p=0,096$	20 (71,4%)	11 (50%)	$\chi^2=2,401$ $p=0,122$	$\chi^2=0,769$ $p=0,381$	$\chi^2=0,621$ $p=0,431$

Примечание. ° - $p < 0,05$ при сравнении с другой возрастной группой; * – статистически значимые различия между основной группой и группой сравнения.

Миома матки обнаружена при УЗИ и лечебно-диагностической лапароскопии у 20 (14,6%) пациенток. Во всех случаях она была представлена субсерозными и интрамуральными узлами малых размеров диаметром до 2 см с бессимптомным клиническим течением. У 7 (5,1%) пациенток был выявлен порок развития в виде седловидной матки. Хронический эндометрит был гистологически подтвержден в 57 случаях (41,6%). У 21 (15,3%) женщины была выявлена гиперплазия без атипии. Спаечный процесс малого таза и хронический сальпингит чаще диагностировались у пациенток основной группы. В позднем репродуктивном возрасте чаще встречались миома матки, хронический эндометрит, хронический сальпингит, гиперплазия без атипии, спаечный процесс органов малого таза. Фиброзно-кистозная болезнь, подтвержденная УЗИ молочных желез, была выявлена у 67 женщин (48,9%).

В сравнении с контрольной группой отмечались следующие статистически значимые различия: повышение концентрации ФСГ, снижение концентраций прогестерона и тестостерона как в основной, так и в группе сравнения. Отношение показателей ЛГ/ФСГ более 1,5 было выявлено у 11 пациенток, статистический анализ не выявил значимых различий между группами.

У пациенток основной группы было выявлено статистически значимое повышение концентраций ФСГ и снижение АМГ ($p < 0,001$ во всех сравниваемых группах). Концентрация ингибина В статистически значимо отличалась в исследуемых группах только у пациенток раннего репродуктивного возраста ($p = 0,04$) (Таблица 10).

При анализе не обнаружено статистически значимых различий в суммарном объеме яичников в исследуемых группах (Таблица 11). У пациенток основной группы значения ФАС статистически значимо были ниже, чем в группе сравнения ($p < 0,001$).

Таблица 10 – Концентрация половых гормонов и маркеров овариального резерва у пациенток основной группы и группы сравнения (*Me (Q1-Q3)*)

Показатель	I. А (n=25)	II. А (n=62)	IA–IIA <i>p</i>	I. Б (n=28)	II. Б (n=22)	IB–IIB <i>p</i>	III. (n=15)
ФСГ, мМЕ/мл	11,7 (8,02- 17,45)	7,2 (5,6-8,9)	<0,001	11,2 (7,7–15,0)	7,2 (6,5-8,2)	0,001	3,6 (2,1-5,3)
АМГ, нг/мл	0,6 (0,5-0,8)	3,94 (2,08- 5,87)	<0,001	0,79 (0,21- 1,16)	1,98 (1,5-3,33)	<0,001	3,2 (2,8-3,8)
Ингибин В, пг/мл	38,0 (16,3-66,2)	72,7 (41,2-95)	0,04	56,6 (19,4- 99,5)	64,7 (43-91,6)	0,586	126,0 (116,0- 128,0)
Эстрадиол, пмоль/л	89,3 (41,8- 205,2)	101,4 (46,5-190)	0,82	63,8 (87,6- 225,3)	115,5 (50,2- 163,5)	0,022	226,0 (129,0- 285,0)
ЛГ, мМЕ/мл	5,59 (4,1-8,2)	4,9 (3,6-7,4)	0,23	5,5 (3,9-7,1)	4,4 (3,2-5,8)	0,066	3,8 (2,4-4,8)
ЛГ>8	5 (20%)	9 (14,5%)	$\chi^2=0,397$ $p=0,529$	5 (17,8%)	1 (4,5%)	$\chi^2=2,07$ $p=0,151$	–
ЛГ/ФСГ> 1,5	2 (8%)	7 (11,3%)	$\chi^2=0,208$ $p=0,649$	2 (7,1%)	0	$\chi^2=1,64$ $p=0,201$	–
Тестостерон , нмоль/л	0,8 (0,6-3,3)	1,03 (0,8-3,14)	0,18	1,2 (0,79- 3,7)	0,8 (0,3-2,0)	0,102	3,1 (0,8-3,3)
Прогестерон , нмоль/л	10,4 (3,5-21,9)	14,7 (2,8–30,9)	0,54	2,6 (0,97- 11,5)	12,2 (5,8-20,1)	0,198	30,8 (10,6-45,0)
Пролактин, МЕд/л	319,0 (199,0- 374,1)	379,0 (277,6- 535,7)	0,07	336,0 (196,0- 471,9)	401 (312-517)	0,25	–

Примечание. * – $p < 0,05$ – при сравнении с другой возрастной группой; ° – $p < 0,05$; °° – $p < 0,001$ – при сравнении с группой контроля

Таблица 11 – Ультразвуковые показатели овариального резерва у пациенток основной группы и группы сравнения ($Me (Q1-Q3)$)

Показатель	I. А (n=25)	II. А (n=62)	IA-IIA <i>p</i>	I. Б (n=28)	II. Б (n=22)	IB-IIБ <i>p</i>	III. (n=15)
Суммарный объем яичников, см ³	15,7 (9,5-23,2)	18,2 (12,7-24,4)	0,316	13,0 (10,7-23,7)	14 (11,2-16,5)	0,825	13,3 (11,0-16,6)
ФАС	6 (4,25-9,75)	11 (8-19,75)	<0,001	3,5 (2-5,2)	8,5 (7,0-10,0)	<0,001	15,0 (7,0-18,0)

Примечание. ● *- $p < 0,05$ при сравнении с другой возрастной группой; ● ° – $p < 0,05$; °° – $p < 0,001$ при сравнении с группой контроля

Было изучено количество пациенток с экстремальными значениями гормональных и ультразвуковых маркеров овариального резерва в исследуемых группах (Таблица 12). В основной группе количество пациенток с ФСГ более 10 мМЕ/мл, АМГ менее 1,1 нг/мл, ФАС менее 7 было статистически значимо выше, чем в группе сравнения ($p < 0,001$ во всех исследуемых группах). Количество пациенток с объемом яичников менее 8 см³ было больше в основной группе раннего репродуктивного возраста. Статистический анализ не выявил значимых изменений в количестве пациенток с концентрацией ингибина В менее 45 пг/мл в исследуемых группах.

Была изучена клиническая характеристика пациенток с экстремальными значениями гормональных и ультразвуковых маркеров овариального резерва. При оценке гормонального статуса на 2–3-й день менструального цикла у 44 пациенток было выявлено повышение концентрации ФСГ более 10 мМЕ/мл, у 45 пациенток концентрация АМГ составляла менее 1,1 нг/мл, у 21 пациентки содержание ингибина В не превышало 45 пг/мл. При проведении УЗИ органов малого таза обнаружено, что у 47 пациенток базальное число антральных фолликулов диаметром 10 мм было менее 7, у 6 пациенток суммарный объем обоих яичников составлял менее 8 см³.

Таблица 12 – Количество пациенток с экстремальными значениями показателей овариального резерва

Показатель	I. А (n=25)	II. А (n=62)	IA-IIA <i>p</i>	I. Б (n=28)	II. Б (n=22)	IB-IIБ <i>p</i>	IA-IB <i>p</i>	IIA-IIБ <i>p</i>
ФСГ >10 мМЕ/мл	14 (56%)	10 (16,1%)	$\chi^2=14,18$ $p<0,001$	17 (60,7%)	3 (13,6%)	$\chi^2=11,37$ $p<0,001$	$\chi^2=0,121$ $p=0,729$	$\chi^2=0,077$ $p=0,782$
АМГ <1,1 нг/мл	21 (84%)	2 (3,2%)	$\chi^2=59,77$ $p<0,001$	20 (71,4%)	2 (9,1%)	$\chi^2=19,43$ $p<0,001$	$\chi^2=1,192$ $p=0,275$	$\chi^2=1,232$ $p=0,268$
Ингибин В <45 пг/мл	5 (20%)	8 (12,9%)	$\chi^2=0,706$ $p=0,401$	5 (17,8%)	3 (13,6%)	$\chi^2=0,163$ $p=0,687$	$\chi^2=0,04$ $p=0,843$	$\chi^2=0,008$ $p=0,931$
Объем яичников <8 см ³	3 (12%)	1 (1,6%)	$\chi^2=4,382$ $p=0,037$	1 (3,6%)	1 (4,5%)	$\chi^2=0,03$ $p=0,862$	$\chi^2=1,345$ $p=0,247$	$\chi^2=0,601$ $p=0,439$
ФАС<7	13 (52%)	8 (12,9%)	$\chi^2=14,87$ $p<0,001$	21 (75%)	4 (18,2%)	$\chi^2=15,9$ $p<0,001$	$\chi^2=3,038$ $p=0,082$	$\chi^2=0,37$ $p=0,544$

Примечание. ° – $p < 0,05$ при сравнении с другой возрастной группой; * – статистически значимые различия между основной группой и группой сравнения.

В группе пациенток с концентрацией ФСГ более 10 мМЕ/мл статистически значимо чаще выявлялась патология щитовидной железы ($\chi^2 = 8,862$; $p = 0,003$) в виде диффузного узлового зоба ($\chi^2 = 7,687$; $p = 0,006$), хронического аутоиммунного тиреоидита ($\chi^2 = 5,703$; $p = 0,017$), йод-дефицитного состояния ($\chi^2 = 7,931$; $p = 0,005$). Реже диагностировалась анемия ($\chi^2 = 7,998$; $p = 0,005$) и гиперпролактинемия ($\chi^2 = 4,121$; $p = 0,043$), а также ожирение 1 степени ($\chi^2 = 4,461$; $p = 0,035$). В анамнезе чаще присутствовали повторные операции на органах малого таза, операции на маточных трубах (сальпингоэктомии) ($\chi^2 = 5,567$; $p = 0,019$). Чаще диагностировался хронический сальпингит ($\chi^2 = 9,949$; $p = 0,002$), IV степень выраженности спаечного процесса органов малого таза ($\chi^2 = 5,274$; $p = 0,022$).

У пациенток с концентрацией АМГ менее 1,1 нг/мл реже диагностировалась анемия ($\chi^2 = 8,444$; $p = 0,004$), чаще в анамнезе спонтанные аборт ($\chi^2 = 6,397$; $p = 0,012$). Чаще диагностировалась IV степень выраженности спаечного процесса органов малого таза ($\chi^2 = 4,995$; $p = 0,026$), хронический сальпингит ($\chi^2 = 5,023$; $p = 0,026$), фиброзно-кистозная болезнь ($\chi^2 = 4,274$; $p = 0,039$).

У пациенток с экстремальными значениями ингибина В (менее 45 пг/мл) чаще диагностировалась IV степень выраженности спаечного процесса органов малого таза ($\chi^2 = 6,292$; $p = 0,013$). В анамнезе чаще присутствовала аппендэктомия ($\chi^2 = 7,869$; $p = 0,006$).

У пациенток с базальным числом антральных фолликулов диаметром 10 мм менее 7 реже наступала беременность ($\chi^2 = 4,753$; $p = 0,03$). Чаще диагностировался хронический сальпингит ($\chi^2 = 7,287$; $p = 0,007$).

4.2 Характеристика программ репродуктивных технологий у пациенток с бесплодием и приобретенной патологией яичников

В Таблице 13 представлены показатели циклов ВРТ в основной группе и группе сравнения. Общая доза гонадотропинов среди пациенток раннего репродуктивного возраста была выше в основной группе.

У пациенток основной группы наблюдалось снижение количества пунктированных фолликулов и количества полученных овоцитов, в отличие от группы сравнения. Статистический анализ продемонстрировал, что пациентки основной группы имели сниженную чувствительность яичников. Бедный ответ яичников на стимуляцию достоверно чаще наблюдался у пациенток основной группы, что обусловлено дизайном исследования. У пациенток раннего репродуктивного возраста бедный ответ наблюдался в 28,7% случаев, в группе пациенток позднего репродуктивного возраста – в 56%. Чрезмерный ответ проявлялся ростом более 20 фолликулов без синдрома гиперстимуляции яичников, и был выявлен у 10 пациенток молодого репродуктивного возраста группы сравнения.

Таблица 13 – Показатели цикла ВРТ у пациенток основной группы и группы сравнения

Показатель	I. А (n=25)	II. А (n=62)	IA–IIA <i>p</i>	I. Б (n=28)	II. Б (n=22)	IB–IIB <i>p</i>
Общая доза гонадотропинов, МЕ	1200 (900-1800)	900 (662,5-1200)	0,007	1162 (703-1575)	1200 (900-1575)	0,731
Количество пунктируемых фолликулов, <i>Me (Q5-Q95)</i>	5 (3-7)	11 (7-16,25)	<0,001	3 (1-4)	9 (5-12)	<0,001
Чувствительность яичников к стимуляции	0,003 (0,002-0,006)	0,013 (0,007-0,02)	<0,001	0,002 (0,001-0,003)	0,008 (0,004-0,01)	<0,001
Бедный ответ, абс. (%)	11 (44%)	6 (9,7%)	$\chi^2=13,35$ <i>p</i><0,001	18 (64,3%)	1 (4,5%)	$\chi^2=18,66$ <i>p</i><0,001
Чрезмерный ответ, абс (%.)	0	10 (16,1%)	$\chi^2=4,556$ <i>p</i>=0,033	0	0	-
Количество овоцитов, <i>Me (Q5-Q95)</i>	4 (2-4,5)	6 (4-9,75)	0,001	2 (1-3)	7 (4-8,5)	<0,001
Количество овоцитов в МП, <i>Me (Q5-Q95)</i>	3 (1-3)	3,5 (2-7)	0,014	1 (1-2)	5 (3-6,5)	<0,001
Количество оплодотворенных овоцитов на количество овоцитов в МП	59/63 (93%)	173/263 (66%)		40/50 (80%)	70/101 (69%)	
Количество эмбрионов на 3-и сутки, <i>Me (Q5-Q95)</i>	2 (1-3)	2 (1-4)	0,728	1 (0-2)	3 (1-4)	0,009
Эмбрионы хорошего качества на 3-и сутки, <i>Me (Q5-Q95)</i>	2 (1-3)	2 (1-4)	0,7	1 (0-2)	3 (1-3,5)	0,01
Количество эмбрионов на 5-е сутки, <i>Me (Q5-Q95)</i>	0 (0-2)	0 (0-3)	0,486	0 (0-1)	1 (0-3,5)	0,028
Эмбрионы хорошего качества на 5-е сутки, <i>Me (Q5-Q95)</i>	0 (0-1,5)	1 (0-2)	0,539	0	1 (0-2)	0,02

Количество и качество эмбрионов на 3-и и 5-е сутки в группе пациенток старше 35 лет было статистически значимо ниже, чем в группе сравнения. В группе пациенток раннего репродуктивного возраста не выявлено статистически значимых различий в основной группе и группе сравнения.

В основной группе пациенток доля перенесенных эмбрионов ($\chi^2 = 8,7$; $p = 0,009$ IA-IB) и доля беременностей ($\chi^2 = 15$; $p = 0,003$ IA-IB) в программах ВРТ была значимо ниже у женщин основной группы после 35 лет. Доля беременностей на начатый цикл в позднем репродуктивном возрасте составила в основной группе – 50%, в группе сравнения – 73% ($p = 0,002$). В позднем репродуктивном возрасте в основной группе доля переноса эмбрионов была ниже, чем в группе сравнения ($p = 0,002$). Перенос эмбрионов был отменен в связи с отсутствием оплодотворения у 10 (18,9%) пациенток основной группы и у 13 (15,5%) пациенток группы сравнения.

Таблица 14 – Показатели эффективности программ ВРТ у пациенток основной группы и группы сравнения

Показатель	I. А (n=25)	II. А (n=62)	I. Б (n=28)	II. Б (n=22)
Перенос эмбрионов на начатый цикл	21/25 (84%)	51/62 (82%)	19/28 (68%)	20/22 (90%)
Беременность на начатый цикл	17/25 (68%)	45/62 (73%)	14/28 (50%)	16/22 (73%)
Беременность на перенос эмбрионов	17/21 (81%)	45/51 (88%)	14/19 (74%)	16/20 (80%)
Беременность, закончившаяся родами, на перенос эмбрионов	15/21 (71%)	40/51 (78%)	12/19 (63%)	14/20 (70%)

4.3 Морфологическое исследование операционного материала

В исследование вошли 25 женщин, перенесших оперативное лечение по поводу осложненного течения функциональных кист яичников. Все пациентки были экстренно госпитализированы с диагнозом «разрыв кисты яичника, внутрибрюшное кровотечение». Во всех случаях была проведена лапароскопия, цистэктомия. Возраст пациенток на момент проведения хирургического лечения варьировал от 22 до 36 лет, составляя в среднем $(27,3 \pm 1,8)$ года, пациенток контрольной группы – $(28,1 \pm 1,3)$ года (24–35 лет). Различия по возрасту пациенток двух групп статистически не значимы ($p = 0,25$).

При гистологическом исследовании операционного материала были выявлены кистозные образования яичников, представленные опухолеподобными процессами (кисты желтых тел (Рисунок 22, *а*), фолликулярные кисты (Рисунок 22, *б*), простые кисты). Так, в 7 случаях была выявлена фолликулярная киста, в 5 случаях – киста желтого тела, в 3 случаях отмечено сочетание фолликулярной кисты и кисты желтого тела яичника, в 5 случаях – фолликулярной кисты и простой кисты.

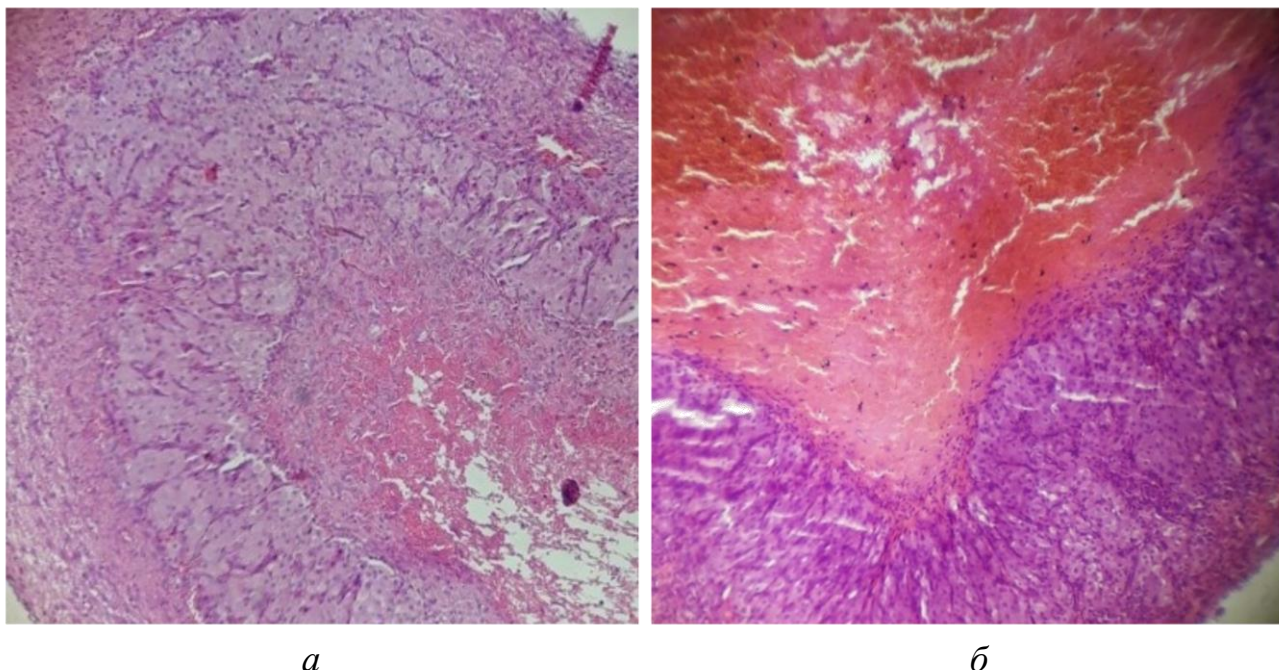


Рисунок 22 – Стенки кисты желтого тела (*а*, ув. $\times 400$) и фолликулярной кисты (*б*, ув. $\times 200$). Окраска гематоксилином и эозином

Следует отметить, что функциональные кисты яичника возникают из его физиологических структур. К формированию фолликулярных кист ведет персистенция непроовулировавшего фолликула, в полости которого накапливается фолликулярная жидкость. Стенки кист содержат гранулезные и тека-клетки. Фолликулярные кисты являются результатом многофакторных причин, среди которых ключевая роль отводится нарушению в системе гипоталамус – гипофиз – яичники, что приводит к десинхронизации активности биохимических факторов, участвующих в интрафолликулярном механизме овуляции, включая простагландины, протеолитические ферменты, окситоцин и релаксин. Образование кист желтого тела вызвано также гормональным дисбалансом и нарушением кровообращения и лимфооттока в тканях яичника. Лютеинизированные гранулезные и тека-клетки располагаются в стенке кисты в виде пластов или отдельных групп. В норме желтое тело обладает самым высоким уровнем васкуляризации в организме человека, этот процесс непосредственно регулируется высокой экспрессией VEGF. Ангиогенная активность находится под контролем многих ростовых факторов.

4.4 Результаты иммуногистохимического исследования операционного материала

Иммуногистохимическое исследование проводилось на операционном материале ткани яичников пациенток, перенесших оперативное вмешательство в объеме цистэктомии по поводу функциональных кист. Белок VEGF – один из основных стимуляторов ангиогенеза – определялся в 24 случаях у пациенток основной группы. Полученные данные объяснимы возрастным физиологическим состоянием пациенток основной группы, пациентки раннего репродуктивного возраста в основной группе составили 96%. Активность сосудистого фактора роста VEGF проявлялась в виде коричневого окрашивания мембраны и цитоплазмы фолликулоцитов, лютеоцитов, тека-клеток (Рисунок 23) и эндотелиальных клеток (Рисунок 24).

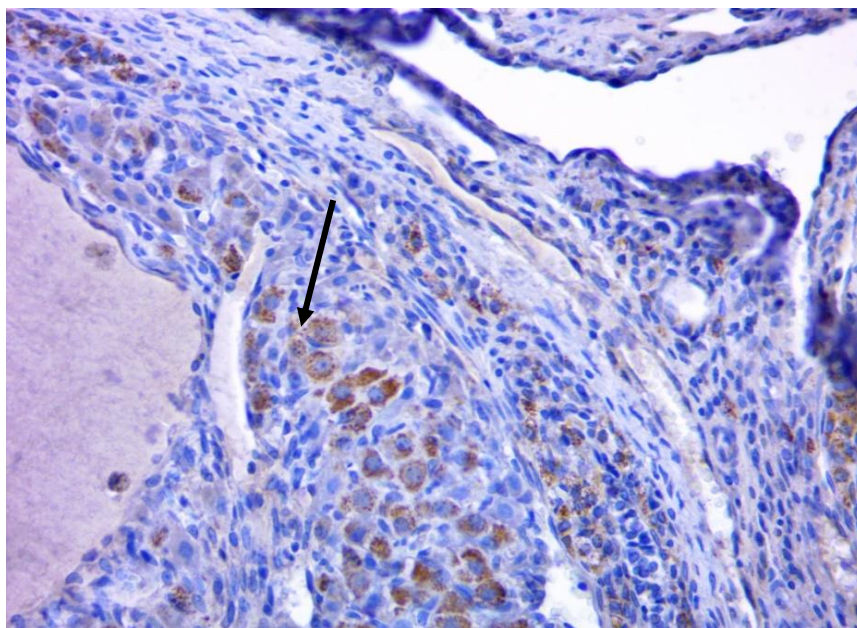


Рисунок 23 – Высокая степень экспрессии VEGF в клетках кисты желтого тела. Микропрепарат. Стрелка указывает на лютеоцит с выраженной экспрессией. Окраска DAB, докраска гематоксилином. Ув. $\times 400$

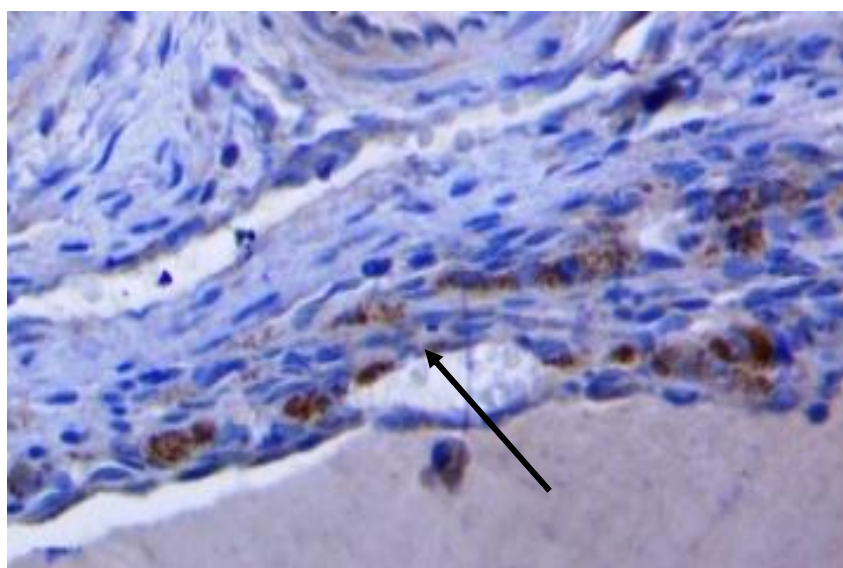


Рисунок 24 – Экспрессия VEGF в эндотелиоцитах (стрелка). Микропрепарат. Окраска DAB, докраска гематоксилином. Ув. $\times 200$

В ткани морфологически неизмененного яичника экспрессия VEGF отсутствовала (Рисунок 25). Выявлена высокая частота положительной экспрессии VEGF в гранулезных, тека- и лютеиновых клетках функциональных

кист яичника: фолликулярных (Рисунок 26) и кист желтого тела (см. Рисунок 23).

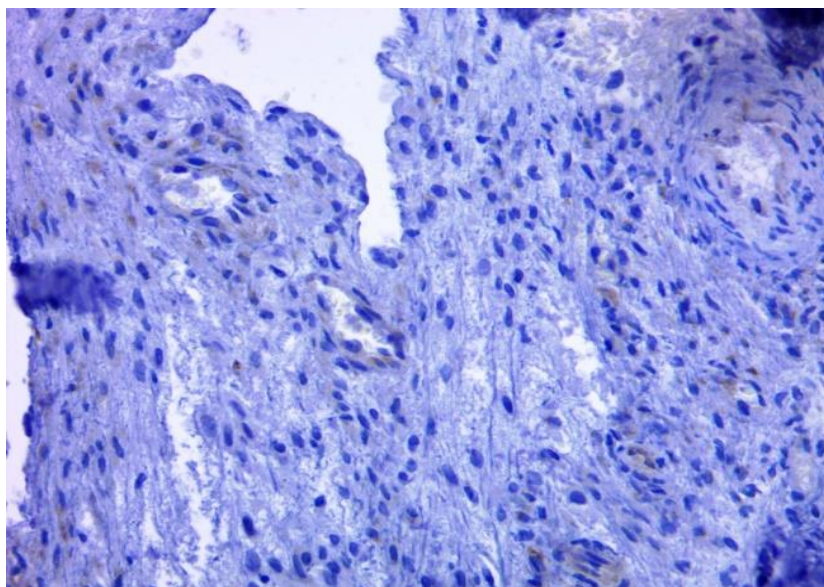


Рисунок 25 – Отсутствие экспрессии VEGF в ткани морфологически неизмененного яичника. Микропрепарат. Окраска: DAB, докраска гематоксилином. Ув. $\times 400$

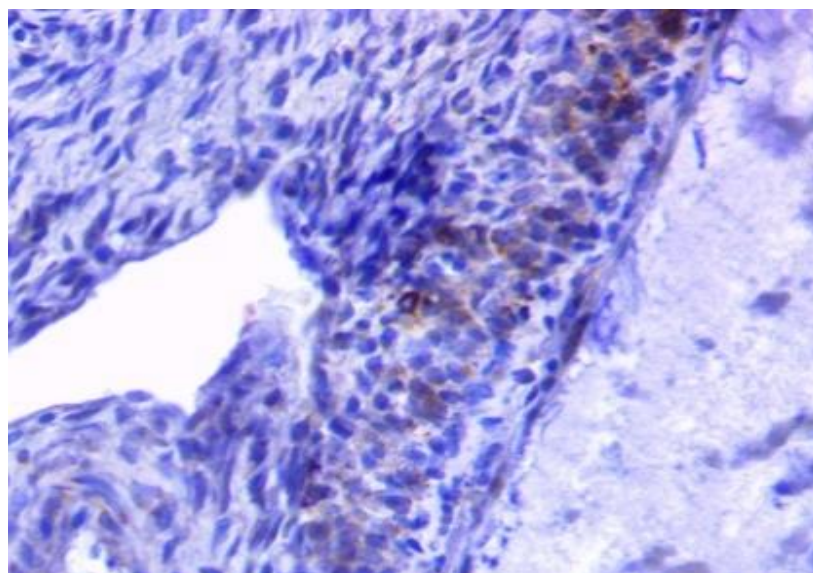


Рисунок 26 – Экспрессия VEGF в клетках фолликулярной кисты. Микропрепарат. Окраска: DAB, докраска гематоксилином. Ув. $\times 400$

Выявлены статистически значимые различия в частоте экспрессии VEGF в стенках функциональных кистах и морфологически неизмененного яичника

($p = 0,001$). Выявлялась статистически значимо более высокая частота экспрессии VEGF в клетках кист желтого тела по сравнению с таковой в фолликулярных кистах ($p = 0,02$).

В Таблице 15 представлены данные о степени выраженности экспрессии VEGF в цитоплазме эндотелиальных клеток. При этом в 60,7% случаев в основной группе содержание белка VEGF было высоким и составляло 80–100%. Иммуногистохимическая реактивность VEGF в эпителиальных клетках была ограничена мембраной и цитоплазмой.

Таблица 15 – Выраженность экспрессии VEGF (*Me; Q1–Q3*)

VEGF статус	Функциональные кисты			Всего	Осложненное течение ФКЯ	Неосложненное течение ФКЯ
	Фолликулярные кисты	Кисты желтых тел	Функциональные кисты без эпителиальной выстилки			
Количество	12 (48%)	8 (32%)	5 (20%)	25 (100%)	18 (72%)	7 (28%)
Выраженность экспрессии VEGF, H-score	49,17 (29,67-57,18)	56,00 (31,25-64,63)	6,00 (0-9,65)		67,00 (42,6-85,38)**	12,86 (0-15,25)
VEGF (+) кисты (%) суммарно	10 (83,3%)	8 (100%)	1 (20%)	19 (76%)	17 (94,4%)	2 (28,6%)
VEGF (-) кист	2 (16,7%)	0 (0%)	4 (80%)	6 (24%)	1 (5,6%)	5 (71,4%)
VEGF (+) кист	2 (16,7%)	1 (12,5%)	1 (20%)	4 (16%)	2 (11,1%)	2 (28,6%)
VEGF (++) кист	5 (41,7%)	2 (25%)	0 (0%)	7 (28%)	7 (38,9%)	0
VEGF (+++) кист	3 (25%)	5 (62,5%)	0 (0%)	8 (32%)	8 (44,4%)	0

Примечание: 1 Me – медиана; Q1 и Q3 – 25- и 75 процентиля, соответственно; ** – $p < 0,001$ в сравнении с неосложненным течением

В среднем содержание VEGF(+)-клеток было примерно одинаковым во всех группах: $(56,9 \pm 4,1)\%$ – фолликулярная киста ($n=15$) и $(68,2 \pm 1,7)\%$ – киста

желтого тела ($n = 8$). Частота выявления показателя составила 66,7 и 87,5% соответственно ($p = 0,03$). Частота выявления и степень экспрессии белка VEGF(+)-клеток не имели связи с размером функциональной кисты. Степень экспрессии белка VEGF заметно повышалась при наличии разрыва и кровоизлиянии в стенку кисты.

VEGF играет важную роль в физиологии нормальных яичников и вносит значительный вклад в рост и развитие функциональных кист яичников, в основном за счет индукции ангиогенеза и повышения проницаемости сосудов [Козырева Е.В., Давидян Л.Ю., 2015]. Кроме того, высказывалось предположение, что VEGF может непосредственно способствовать росту и пролиферации клеток гранулы через аутокринную петлю [Taylor P.D. et al., 2007]. Наши результаты согласуются с опубликованными иммуногистохимическими исследованиями, показавшими повышенную экспрессию VEGF в стенке функциональных кист яичников [Ткаля Ю.Г. и соавт., 2014]. Изменения уровня VEGF-A, sVEGF-R1 и их соотношения свидетельствуют об изменении ангиогенных характеристик ткани и являются важным звеном патогенеза кистообразования в яичниках.

Представленные результаты показали, что у пациенток основной группы экспрессия VEGF отмечена в клетках фолликулярных кист и кист желтого тела яичника, при этом частота экспрессии этих маркеров была высокой. Это указывает на наличие общих факторов риска, гормонального патогенеза гормонозависимых доброкачественных заболеваний яичника. Высокая частота экспрессии VEGF в гранулезных, тека- и лютеиновых клетках функциональных кист яичника отмечена у пациенток репродуктивного периода. Эти данные подтверждают непосредственное участие экспрессии VEGF в гранулезных, тека- и лютеиновых клетках яичника в регуляции овариально-менструального цикла у женщин.

ГЛАВА 5. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

В настоящем исследовании выявлено, что введение ФСГ в суперовуляторной дозе в течение 7 суток экспериментальным белым крысам-самкам приводит к формированию множественных фолликулярных кист.

В проведенном исследовании было выявлено, что в яичниках животных при введении ингибитора VEGF темпы регресса кист более выражены. Количество и удельный объем кист в яичниках крыс основной группы во все сроки эксперимента было меньше, чем в группе сравнения. Уже на 15-е сутки эксперимента при аутопсии обнаруживалось уменьшение размеров яичников, исчезновение характерной бугристости, белесоватый оттенок поверхности. Иногда отмечалось локальное истончение белочной оболочки. В краткосрочном аспекте к 30-м суткам наблюдались только единичные кисты, что свидетельствует о важной роли VEGF в процессе формирования функциональных кист. Пролиферация эндотелиальных клеток предшествует образованию кисты и блокируется введением бевацизумаба, дегенеративные явления в стенке кисты протекают быстрее, компоненты стенки в отсутствие адекватной васкуляризации представлены только небольшим количеством волокон соединительной ткани, вследствие чего ретенционные полости не достигают значительных размеров. Снижение количества и удельного объема растущих фолликулов и желтых тел, усиление процессов атрезии в яичниках животных при введении ингибитора VEGF имеют кратковременный обратимый характер.

На 60-е сутки эксперимента кистозные полости в яичниках не обнаруживались. Количество и удельный объем растущих и атретических фолликулов, а также желтых тел, не отличались от таковых в группе сравнения на аналогичные сутки эксперимента, а к 60-м суткам были сопоставимы с интактными животными. Введение бевацизумаба вызывало снижение васкуляризации теки фолликулов и желтых тел и приближение удельного объема сосудов к значениям контрольной группы на 15-е сутки.

Подобные структурные изменения в яичниках наблюдали С. Wulff и соавт. (2002): уменьшение васкуляризации теки растущих фолликулов, снижение сосудистой проницаемости, усиление атрезии фолликулов на 10-е сутки после введения ингибитора VEGF самкам *Callithrix jacchus*. По мнению С. Tamanini и М. De Ambrogi (2004), бевацизумаб, блокируя действие VEGF, нарушает адекватный васкулогенез в желтом теле в стадию рассвета и стероидогенез. Р.Д. Taylor и соавт. (2007) описали супрессию роста и развития фолликулов, подавление овуляции, уменьшение васкуляризации желтых тел и теки, уменьшение пролиферации клеток теки и ее истончение в течение 10 суток после однократной инъекции ингибитора VEGF в дозе 25 мг/кг.

Проведенное исследование впервые установило изменения факторов паракринной регуляции ово-соматического взаимодействия и ангиогенеза при формировании экспериментальных функциональных кист яичников. При моделировании ФКЯ на 7-е сутки введения рФСГ выявлено повышение экспрессии BMP 15 в овоцитах во всех типах растущих фолликулов и Cx 37 в антральных фолликулах. К 15-м суткам опыта экспрессия BMP 15 наиболее выражена в овоцитах растущих фолликулов, появляется в примордиальных, снижается в фолликулах с признаками атрезии, в которых половая клетка была сохранна. В фолликулоцитах первичных фолликулов наблюдается снижение Cx 37, усиление экспрессии BMP 15. На 30-е сутки эксперимента высокая экспрессия BMP 15 сохраняется в овоцитах первичных фолликулов.

BMP 15 играет важную роль в фолликулогенезе, в росте и дифференцировке клеток гранулезы, а также в формировании клеток теки с гонадотропин-независимой стадии фолликулогенеза [Qinglei L., et al., 2008]. Подтверждением является максимальная экспрессия BMP 15 в преантральных фолликулах. Овоцит преантральных фолликулов в яичнике человека синтезирует регуляторные белки GDF-9 и BMP-15, стимулируя рост, деление и созревание фолликулярных эпителиоцитов и защищая клетки фолликула от апоптоза. В исследованиях, проведенных в условиях *in vitro*, митогенное влияние GDF-9 и BMP-15 служило основным фактором формирования многослойных фолликулов, регулирующим

пространственное моделирование слоев гранулезного эпителия со стадии преантральных фолликулов. Экспрессия овоцитом регуляторных белков подчинена овариально-менструальному циклу, динамически изменяется в процессе фолликулогенеза. Выявленное в проведенном исследовании повышение экспрессии фактора в овоцитах растущих фолликулов после введения рФСГ в ранние сроки может носить компенсаторный характер. Усиление экспрессии BMP 15 предотвращает апоптоз клеток гранулезы, что проявляется активацией фолликулярного роста, увеличением растущих фолликулов.

Важную роль в передаче сигналов и запуске изменений, приводящих к развитию первичных фолликулов, активации пролиферации и гипертрофии фолликулоцитов, играют щелевые контакты. Тесная связь между овоцитом и окружающими его гранулезными клетками обеспечивает передачу сигналов и двустороннюю связь между женской половой клеткой и соматическими клетками окружения [Richard S., Baltz J.M., 2013, 2014]. В образовании щелевого контакта принимают участие клетки кумулюса и оволема, синтез протеинов начинается сразу после вступления примордиального фолликула в фазу роста. Мембранные протеины образуют структуру коннексонов, прямое соединение которых формирует внутриклеточные каналы. Примером взаимодействия овоцита и кумулюсных клеток является возобновление мейоза (переход из стадии G2 к стадии M) в овоците после его извлечения из кумулюс-овоцитарного комплекса или разрыва межклеточных контактов, при этом отмечается изменение концентрации циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) и протеинкиназы A в овоците.

В проведенном исследовании было выявлено усиление экспрессии Cx-37 в овоцитах полостных фолликулов на 7-е сутки, что является необходимым условием для нормального течения поздних стадий фолликулогенеза, и характерно для доминантного фолликула до овуляции. Экспрессия протеина в фолликулярном эпителии первичных фолликулов снижается, однако не приводят к нарушению возобновления мейоза в овоците растущего фолликула [Richard S., Baltz J.M., 2014].

На 15-е сутки эксперимента экспрессия BMP 15 в овоцитах всех типов растущих фолликулов наиболее выражена по сравнению с контролем и 7-ми сутками. Следует отметить появление значимо более высокой экспрессии BMP 15 в овоцитах уже со стадии примордиальных фолликулов, что согласуется со вступлением избыточного количества фолликулов в рост. Взаимодействие между овоцитами и фолликулярными эпителиоцитами антральных и предовуляторных фолликулов через щелевые контакты соответствует таковому в контроле.

На 30-е сутки опыта сохраняется высокая экспрессии BMP 15 в первичных фолликулах, что соотносится с завершением цикла фолликулогенеза. По данным литературы, BMP 15 и Cx37 являются протекторами клеток гранулезы не только от апоптоза, но и преждевременной лютеинизации [Erickson G., et al., 2000; Su Y.Q., et al., 2008].

Белок VEGF – один из основных стимуляторов ангиогенеза – играет важную роль в физиологии нормальных яичников и вносит значительный вклад в рост и развитие функциональных кист яичников, в основном за счет индукции ангиогенеза и повышения проницаемости сосудов [Bilotas M., et al., 2010]. Полученные результаты согласуются с опубликованными иммуногистохимическими исследованиями, показавшими повышенную экспрессию VEGF в стенке функциональных кист яичников [Кузнецова И.В., 2011]. Усиление процессов ангиогенеза (повышением экспрессии VEGF) в ранние сроки моделирования функциональных кист связано с усилением пролиферации фолликулоцитов, что является одним из звеньев патогенеза ФКЯ и ответом на стимуляцию фолликулярного эпителия ФСГ.

Хирургическая агрессия при операциях по поводу ФКЯ является одним из факторов риска снижения овариального резерва и критерием потенциально бедного ответа на контролируемую индукцию суперовуляции в ВРТ [Ferrariti A.P. et al., 2011; Назаренко Т.А., Краснопольская К.В., 2013].

Операционная травма яичника приводит последующим клиническим проявления в виде нарушения менструальной функции, снижения овариального

резерва (ОР), инфертильности [Geber S., Ferreira D.P., 2002; Hatchisuga T., Kawarabayashi T., 2002; Somigliana E. et al., 2006; Петров И.А. и др., 2015; Ye X. et al., 2015].

Различные термические энергии, реализованные в тканях яичника, негативно влияют на стероидогенез, о чем свидетельствует повышение концентрации ФСГ в 1-ю фазу менструального цикла. Аномальные маточные кровотечения (АМК) наблюдались у каждой третьей пациентки в виде обильных маточных кровотечений (ОМК) и межменструальных маточных кровотечений (ММК). АМК в виде ММК, олигоменорея чаще встречались в основной группе.

Повторные операции на ОМТ нарушают кровоснабжение и приводят к снижению ОР. В основной группе пациенткам чаще выполнялись повторные операции на органах малого таза. Спаечный процесс малого таза (3-й и 4-й степени) и хронический сальпингит с окклюзией маточных труб чаще диагностировались у пациенток основной группы. Осложненное течение ФКЯ наблюдалось чаще в основной группе ($p < 0,001$). Повторные операции на яичниках также чаще выполнялись пациенткам основной группы.

Следует отметить, что функциональные кисты яичника возникают из его физиологических структур. В патогенезе формирования фолликулярных кист ключевые роли играют персистенция непроовулировавшего фолликула и накопление в его полости фолликулярная жидкость. Стенки кист содержат гранулезные и тека-клетки. Фолликулярные кисты являются результатом многофакторных причин, среди которых ключевая роль отводится нарушению в системе гипоталамус – гипофиз – яичники, что приводит к десинхронизации активности биохимических факторов, участвующих в интрафолликулярном механизме овуляции, включая простагландины, протеолитические ферменты, окситоцин и релаксин. Образование кист желтого тела вызвано также гормональным дисбалансом и нарушением кровообращения и лимфооттока в тканях яичника. Лютеинизированные гранулезные и тека-клетки располагаются в стенке кисты в виде пластов или отдельных групп. В норме желтое тело обладает самым высоким уровнем васкуляризации в организме человека, этот

процесс непосредственно регулируется высокой экспрессией VEGF. Ангиогенная активность находится под контролем многих ростовых факторов.

Белок VEGF – один из основных стимуляторов ангиогенеза – определялся при иммуногистохимическом исследовании в 24 случаях у пациенток основной группы (85,7%). Полученные данные в настоящем исследовании объяснимы возрастным физиологическим состоянием пациенток основной группы, пациентки раннего репродуктивного возраста в основной группе составили 96%. VEGF играет важную роль в физиологии нормальных яичников и вносит значительный вклад в рост и развитие функциональных кист яичников, в основном за счет индукции ангиогенеза и повышения проницаемости сосудов [Lam P.M., Haines C., 2005; Боярский К.Ю., Гайдуков С.Н., 2010; Тепляшина Е.А., 2011; Masoumi Moghaddam S. et al., 2012]. Кроме того, высказывалось предположение, что VEGF может непосредственно способствовать росту и пролиферации клеток гранулезы через аутокринную петлю [Chen H. et al., 2004; Greenaway J., Gentry P.A., 2005; Тепляшина Е.А., 2011]. Полученные в настоящем исследовании результаты согласуются с опубликованными иммуногистохимическими исследованиями, показавшими повышенную экспрессию VEGF в стенке функциональных кист яичников [Tamanini C., De Ambrogi M., 2004; Зенкина В.Г. и др., 2012].

Представленные результаты показали, что у пациенток основной группы экспрессия VEGF отмечена в клетках фолликулярных кист и кист желтого тела яичника, при этом частота экспрессии этого маркера была высокой. Эти данные подтверждают непосредственное участие экспрессии VEGF в гранулезных, тека- и лютеиновых клетках яичника в регуляции овариально-менструального цикла у женщин. Повышение экспрессии VEGF свидетельствует об изменении ангиогенных характеристик ткани и являются важным звеном патогенеза кистообразования в яичниках. Выраженность экспрессии белка VEGF заметно повышалась при наличии разрыва и кровоизлиянии в стенку кисты.

Таким образом, при формировании функциональных кист яичников на ранних сроках имеет место кратковременная избыточная стимуляция

фолликулогенеза гонадотропными гормонами, что нарушает процесс гормональной регуляции овариально-менструального цикла. Изменения центральных механизмов сопровождаются изменениями местной паракринной регуляции фолликулогенеза: усилением экспрессии костного морфогенетического протеина-15 и коннексина-37, активацией процессов ангиогенеза с усилением экспрессии фактора роста эндотелия сосудов в стенке кисты. Введение ингибитора VEGF животным с экспериментальными функциональными кистами, блокируя способность фактора роста эндотелия сосудов связываться с рецепторами эндотелия сосудов, ускоряет регресс функциональных кист яичников.

Среди пациентов, перенесших оперативные вмешательства на яичниках по поводу функциональных кист, важно выделить группы риска по снижению овариального резерва, инфертильности, бедного ответа на стимуляцию в циклах ВРТ. Проведенное исследование продемонстрировало, что для формирования потенциально бедного ответа на стимуляцию с характерными показателями сниженного овариального резерва (повышение концентрации ФСГ, снижение концентрации АМГ и ФАС) значимыми факторами являются: операции на яичниках, повторные хирургические вмешательства не только на яичниках, но и на других органах малого таза (матка, маточные трубы), воспалительные процессы (спаечный процесс, сальпингит). Установлено, что выраженность снижения овариального резерва выше при осложненном клиническом течении ФКЯ. Степень экспрессии белка VEGF повышалась при наличии разрыва и кровоизлиянии в стенку кисты.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ФСГ, воздействуя на фолликулоциты растущих фолликулов, способствует их пролиферации. При моделировании функциональных кист яичников путем введения ФСГ на ранних сроках имеет место избыточная стимуляция фолликулогенеза, сопровождающаяся усилением экспрессии BMP 15 (костного морфогенетического протеина) и Cx 37 (коннексина), активацией процессов ангиогенеза с усилением экспрессии фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) в стенке кисты.

При введении бевацизумаба животным с экспериментальными функциональными кистами яичников наблюдается ускорение регресса кист за счет снижения васкуляризации в стенке кисты, сопровождающегося снижением экспрессии фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) в стенке кисты. Пролиферация эндотелиальных клеток предшествует образованию кисты и блокируется введением бевацизумаба, дегенеративные явления в стенке кисты протекают быстрее, компоненты стенки в отсутствие адекватной васкуляризации представлены только небольшим количеством волокон соединительной ткани, вследствие чего ретенционные полости не достигают значительных размеров. Наблюдаемые эффекты в виде снижения количества растущих фолликулов, усиления процессов атрезии в фолликулах и изменения экспрессии факторов овосоматического взаимодействия (BMP 15, Cx 37) обратимы и имеют кратковременный характер. Представляется актуальным изучение возможности применения ингибиторов VEGF для лечения данной патологии.

Наиболее выраженное снижение овариального резерва наблюдается при осложненном клиническом течении ФКЯ (разрыв, кровоизлияние). Выраженность экспрессии белка VEGF заметно повышалась при наличии разрыва и кровоизлиянии в стенку кисты. Экспрессия VEGF может служить в определенной степени маркером снижения овариального резерва. Степень выраженности снижения овариального резерва зависит от количества инвазивных вмешательств на яичниках, а также от наличия сопутствующих воспалительных процессов органов малого таза в виде спаечного процесса 3 и 4 степени, хронического сальпингита.

ВЫВОДЫ

1. Моделирование экспериментальных функциональных кист яичников у белых крыс путем введения ФСГ в дозе 1,5 МЕ в течение 7 суток вызывает увеличение содержания растущих фолликулов и сопровождается усилением экспрессии костного морфогенетического протеина-15 и коннексина-37, активацией процессов ангиогенеза с усилением экспрессии фактора роста эндотелия сосудов в стенке кисты.

2. Введение бевацизумаба приводит к снижению экспрессии фактора роста эндотелия сосудов в стенке кисты и ускоряет регресс функциональных кист яичников в эксперименте.

3. Выявленное снижение количества растущих фолликулов, усиление процессов атрезии в фолликулах и снижение экспрессии факторов овосоматического взаимодействия при введении бевацизумаба крысам с экспериментальными функциональными кистами имеют кратковременный характер.

4. Степень выраженности снижения овариального резерва у женщин коррелирует с количеством инвазивных вмешательств на яичниках, а также с сопутствующими воспалительными процессами органов малого таза в виде спаечного процесса 3-й и 4-й степени, хронического сальпингита.

5. Гиперэкспрессия белка VEGF наблюдается при наличии разрыва и кровоизлияния в стенку функциональной кисты. Наиболее выраженное снижение овариального резерва наблюдается при осложненном клиническом течении функциональных кист яичников (разрыв, кровоизлияние).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Пациенткам с функциональными кистами яичников, особенно при рецидивирующем течении, нереализованными репродуктивными планами, инвазивными вмешательствами на органах малого таза в анамнезе, целесообразно проводить иммуногистохимическое исследование операционного материала (определение экспрессии VEGF) с целью прогнозирования риска снижения овариального резерва и нарушения фертильности.

2. Пациенткам с рецидивирующими клинически осложненными функциональными кистами яичников показано догравидарное применение гормональной контрацепции.

3. Пациенткам с бесплодием и наличием операций по поводу кист яичников в анамнезе показаны сегментированные циклы ЭКО.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АМГ – антимюллеров гормон
- АМК – аномальные маточные кровотечения
- ВРТ – вспомогательные репродуктивные технологии
- ВРФ – вторичные фолликулы
- КОК – кумулюс-овоцитарный комплекс
- ЛГ – лютеинизирующий гормон
- ММК – межменструальные маточные кровотечения
- ОМК – обильные маточные кровотечения
- ОР – овариальный резерв
- ПР – примордиальные фолликулы
- ПРФ – первичные фолликулы
- рФСГ – рекомбинантный фолликулостимулирующий гормон
- СПКЯ – синдром поликистозных яичников
- ТРФ – третичные фолликулы
- УЗИ – ультразвуковое исследование
- ФАС – фолликулярный антральный счет
- ФКЯ – функциональные кисты яичников
- ФСГ – фолликулостимулирующий гормон
- цАМФ – циклический аденозинмонофосфат
- ВМР 15 – bone morphogenetic protein 15, костный морфогенетический белок 15
- Сх-37 – коннексин 37
- VEGF – vascular endothelial growth factor, фактор роста эндотелия сосудов

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Андреева, Е.Н. Сравнительное изучение показателей углеводного обмена, тестостерона, глобулина, связывающего половые стероиды в сыворотке крови и фолликулярной жидкости у женщин с СПКЯ / Е.Н. Андреева, Е.А. Карпова, Д.А. Деркач и др. // Материалы VII Российского форума «Мать и дитя». – М., 2005. – С. 319-320.
2. Антропова, Н.В. Клинико-anamнестические особенности женщин с бесплодием и фолликулярными кистами яичников / Н.В. Антропова, И.К. Богатова // Вестник Ивановской медицинской академии. – 2014. – №19 (1). – С. 62–63.
3. Баженова, Л.Г. Дифференциальная диагностика опухолей и опухолевидных образований яичников: автореф. ... дис. д-ра мед. наук / Л.Г. Баженова. – М., 2007 – 47 с.
4. Бекманн, Ч.Р. Акушерство и гинекология: учебник для вузов / Ч.Р. Бекманн, Ф. Линг, Б. Баржански. – М.: Медицинская литература, 2004. – 548 с.
5. Белоглазова, С.Е. Современная тактика ведения больных с доброкачественными опухолями и опухолевидными образованиями яичников: автореф. дис. д-ра мед. наук. / С.Е. Белоглазова. – М., 1999. – 41 с.
6. Бодяжина, В.И. Кисты и кистомы яичников / В.И. Бодяжина. – М.: Медицина, 1969. – 190 с.
7. Боровая, Т.Г. Интраовариальные регуляторы фолликулогенеза / Т.Г. Боровая, Н.В. Шевлягина, Л.В. Диденко // Успехи физиологических наук. – 2010. – Том 41 (1). – С. 58–74.
8. Бохман, Я.В. Руководство по онкогинекологии / Я.В. Бохман. – Л.: Ленинград, 1989. – 342 с.
9. Боярский, К.Ю. Фолликулогенез и современная овариальная стимуляция (обзор литературы) / К.Ю. Боярский // Проблемы репродукции. – 2002. – №3. – С. 36–43.

10. Боярский, К.Ю. Молекулярные основы фолликулогенеза / К.Ю. Боярский // Проблемы репродукции. – 2006. – № 4. – С. 26–37.
11. Боярский, К.Ю. Факторы, определяющие овариальный резерв женщины / К.Ю. Боярский, С.Н. Гайдуков, А.С. Чинчаладзе // Журнал акушерства и женских болезней. – 2009 – Т. 58 (2). – С. 65–71.
12. Боярский, К.Ю. Молекулярные основы фолликулогенеза: от стадии больших антральных фолликулов до овуляции / К.Ю. Боярский, С.Н. Гайдуков // Проблемы репродукции. – 2010. – №5. – С. 13–23.
13. Боярский, К.Ю. Молекулярные процессы фолликулогенеза. От овуляции до формирования желтого тела (обзор литературы) / К.Ю. Боярский, Е.И. Кахиани // Проблемы репродукции. – 2018. – №24(2). – С. 9–22.
14. Бурлев, В.А. Факторы роста и их роль в регуляции репродуктивной функции у больных с синдромом поликистозных яичников / В.А. Бурлев, А.С. Гаспаров, Н.С. Аванесян и др. // Проблемы репродукции. – 1998. – №3. – С. 17–25.
15. Бурлев, В.А. Инсулинорезистентность у пациенток с синдромом поликистозных яичников / В.А. Бурлев, Н.С. Аванесян, А.С. Гаспаров и др. // Проблемы репродукции. – 2000. – №2. – С. 5–11.
16. Бурлев, В.А. Гетерогенность гиперинсулинемии и ее роль в патогенезе СПКЯ / В.А. Бурлев, Е.Н. Коноводова, А.С. Гаспаров // Проблемы репродукции. – 2003. – №5. – С. 19–22.
17. Бухарина, И.Ю. Морфофункциональные изменения придатков матки при монополярной коагуляции и их коррекция антиоксидантным комплексом: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.01 / Бухарина Ирина Юрьевна; ГОУ ВПО СибГМУ Минздрава России. – Томск, 2003. –181 с.
18. Вишневская, Е.Е. Справочник по онкогинекологии / Е.Е. Вишневская. – Минск, 1994.
19. Вовк, И.Б. Ретенционные кисты яичников в периоде полового созревания, методы терапии / И.Б. Вовк, В.Ф. Петербургская // Новые технологии в диагностике и терапии гинекологических заболеваний и нарушений полового

развития у девочек: сб. тр. Межрегион, науч.-практ. конф. с междунар. участ. – М., 2005. – С. 249–250.

20. Волкова, О.В. Функциональная морфология женской репродуктивной системы / О.В. Волкова. – М. : Медицина, 1983. – 224 с.

21. Гаспаров, А.С. Эффективность применения аргоноплазменной коагуляции в акушерстве и гинекологии / Российский вестник акушера-гинеколога. – 2011. – Т. 2 (11). – С. 33–36.

22. Гаспаров, А.С. Онкогинекологические аспекты кистозных образований яичников / А.С. Гаспаров, К.И. Жордания, Ю.Г. Паяниди и др. // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2013. – Т. 68 (8). – С. 9–13.

23. Гаспаров, А.С. Клиническое значение овариального резерва в реализации репродуктивной функции / А.С. Гаспаров, Е.Д. Дубинская, Д.С. Титов, Н.В. Лаптева // Акушерство и гинекология. – 2014. – №4. – С. 11–16.

24. Гасымова, Д.М. Состояние репродуктивной системы у женщин после хирургических вмешательств на яичниках / Д.М. Гасымова, Н.Н. Рухляда // Забайкальский медицинский вестник. – 2014. – №3. – С. 117–126.

25. Гасымова, Д.М. Клинико-анамнестические особенности пациенток с осложнениями доброкачественных опухолей и опухолевидных образований яичников / Д.М. Гасымова, Н.Н. Рухляда // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2017. – Том 17 (4) – С. 72–77.

26. Гатаулина, Р.Г. Состояние репродуктивной системы у женщин с доброкачественными опухолями и опухолевидными образованиями яичников: автореф. дис. д-ра мед. наук / Р.Г. Гатаулина. – М., 2003. – 45 с.

27. Де Черни, А.Х. Акушерство и гинекология / А.Х. Де Черни, Лорен Натан. М.: МЕДпресс-информ, 2009. – Т. 2 – 194 с.

28. Дубровина, С.О. Некоторые аспекты этиологии кист яичников / С.О. Дубровина // Рос. Вестник акушерства и гинекол. – 2004. – Том 4 (6). – С. 9–11.

29. Дубровина, С.О. Метод диагностики кист яичников / С. О. Дубровина // Материалы VII Российского форума «Мать и дитя». – М., 2005. – С. 376–377.

30. Дубровина, С.О. Апоптоз в яичниках / С. О. Дубровина // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2006. – №3. – С. 33–37.
31. Егорова, Т.А. Клинические проявления опухолевидных процессов яичников у женщин репродуктивного возраста / Т.А. Егорова // Таврический медико-биологический вестник. — 2011. — Т. 14, № 1 (53). — С. 49–51.
32. Ефименко, Ю.В. Клинико-морфологические сходства и различия параовариальных и фолликулярных кист яичников : автореф. ... дис. канд. мед. наук / Ю.В. Ефименко. – Томск, 2004. – 23 с.
33. Зенкина, В.Г. Современные представления об интраорганный регуляции фолликулогенеза в яичнике / В.Г. Зенкина, О.А. Солодкова, О.Н. Погукай, В.С. Каредина // Современные проблемы науки и образования. – 2012. – №2. Доступно по: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=5739> (ссылка активна на: 28.08.2019).
34. Зенкина, В.Г. Факторы ангиогенеза при развитии физиологических и патологических процессов женской гонады // Бюллетень сибирской медицины. – 2016. – Т. 15, №4. – С. 111–119.
35. Зулумян, Т.Н. Доброкачественные невоспалительные болезни яичников как фактор риска снижения репродуктивного потенциала молодых женщин / Т.Н. Зулумян, М.Б. Хамошина, М.Г. Лебедева, И.А. Чакчурина, Н.Б. Плаксина, А.Г. Погасов // Вестник РУДН, сер. Медицина. Акушерство и гинекология. – 2010. – № 6. – С. 277–286.
36. Иваненко, О.Г. Биологическая активность эстрогенов на репродуктивный тракт самцов и самок крыс // Проблемы эндокринологии. – 1988. – Т. 34, № 4. – С. 72–74.
37. Йен, С.С.К. Менструальный цикл женщины/ В кн.: “Репродуктивная эндокринология”. Под ред. С.С.К. Йена и Р.Б. Джаффе. – М.: Медицина, 1998. – С. 269–300.
38. Кадесникова, Ю.А. Состояние овариального резерва пациенток с функциональными кистами яичников после лапароскопической цистэктомии / Ю.А. Кадесникова, О.А. Тихоновская, И.А. Петров, А.О. Огороков,

С.В. Логвинов // Сибирский медицинский журнал. – 2010. – Том 25 (4–2). – С. 83–85.

39. Калугина, А. . Антимюллеров гормон как основной показатель овариального резерва / А. . Калугина, Б. . Каменецкий, Н. . Корнилов // Журн. акушерства и женских болезней. – 2009. – Т. 18, №5. – С. 134.

40. Карапетян, В.Л. Экспрессия белка сосудистого эндотелиального фактора роста в ткани опухолей у больных раком яичника I–II стадий / В.Л. Карапетян, Е.В. Степанова, А.Ю. Барышников, С.О. Никогосян, В.В. Кузнецов, Т.Ш. Тагибова // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2010. – №3. – С. 73–76.

41. Каримов, З.Д. Стратегия и тактика лечения опухолевидных образований яичников в ургентной гинекологии / З.Д. Каримов, Ф.Т. Исмаилова, М.Т. Хусонходжаева, Ф.М. Азимова // Акушерство и гинекология. – 2012. – № 5. – С. 93–96.

42. Киргизова, О.Ю. Немедикаментозные инновационные технологии в лечении функциональных кист яичников / О.Ю. Киргизова, А.Ю. Москалева // Сибирский медицинский журнал. – 2009. – №7. – С.97–99.

43. Козырева, Е.В. Роль факторов роста в патогенезе бесплодия и невынашивания беременности / Е.В. Козырева, Л.Ю. Давидян // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 4. Доступно по: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=20811> (ссылка активна на: 28.08.2019).

44. Кондратьева, П.Г. Апоптоз в патогенезе наружного генитального эндометриоза / П.Г. Кондратьева, Д.И. Соколов, М.И. Ярмолинская, Д.А. Ниаури, С.А. Сельков // Вестник Санкт-Петербургского государственного университета. – 2009. – № 4. – С. 213–221.

45. Копнин, Б.П. Мишени действия онкогенов и опухолевых супрессоров: ключ к пониманию базовых механизмов канцерогенеза // Биохимия, 65, 2000. – С. 5–53.

46. Краснопольский, В.И. Гнойные воспалительные заболевания придатков матки / В.И. Краснопольский, С.Н. Буянова, Н.А. Щукина. – М. : МЕДпресс, 1999. – С. 33–37.

47. Кудрявцева, Л.И. Современные подходы к диагностике и лечению кистозных образований яичников / Л.И. Кудрявцева, В.В. Дурасов, Т.В. Полякова и др. // Материалы V Российского форума «Мать и дитя». – М., 2003. – С. 371–372.
48. Кузнецова, Е.П. Современные методы диагностики опухолевидных образований и доброкачественных опухолей яичника (научный обзор) / Е.П. Кузнецова, К.Г. Серебренникова // Фундаментальные исследования. – 2010. – №11. – С. 78–83.
49. Кузнецова, И.В. Роль ангиогенеза в патогенезе эндометриоза // Акушерство и гинекология. – 2011. – № 5. – С. 16–22.
50. Кулаков, В.И. Хирургическая лапароскопия в гинекологии / В.И. Кулаков, Л.В. Адамян // Акушерство и гинекология. – 1995. – №5. – С. 3– 6.
51. Кулаков, В.И. Изменения репродуктивной системы и их коррекция у женщин с доброкачественными опухолями и опухолевидными образованиями яичников / В.И. Кулаков, Р.Г. Гатаулина, Г.Т. Сухих. – М.: Триада Х, 2005. – 253 с.
52. Кулинич, С. И. Оценка эффективности лечения функциональных кист яичников / С. И. Кулинич, Л. В. Сутурина, И. Н. Николаева // Материалы VIII Российского форума “Мать и дитя“. – М., 2006. – С. 429–430.
53. Кулинич, С.И. Состояние гуморального звена иммунитета и морфологические изменения в яичниках у пациенток с ретенционными кистами / С.И. Кулинич, И.Н. Николаева, С.С. Голубев, Е.В. Ботунова // Материалы VIII Российского форума «Мать и дитя». – М., 2006. – С. 428.
54. Куртукова, М.О. Факторы, регулирующие ангиогенез / М.О. Куртукова, И.О. Бугаева, А.Н. Иванов // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 5. Доступно по: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=22360> (ссылка активна на: 28.08.2019)
55. Кустаров, В.Н. Альтернативный метод лечения кистозных образований яичников / В.Н. Кустаров, С.С. Попова // Амбулаторная хирургия. – 2004. – Т. 15, № 3. – С. 48–50.

56. Лазарев, Н.И. Экспериментальные модели эндокринных гинекологических заболеваний / Н.И. Лазарев, Е.А. Ирд, И.О. Смирнова // М., 1976. – 117 с.
57. Логвинов, С.В. Морфологические изменения яичников при моделировании функциональных кист гормонального генеза / С.В. Логвинов, О.А. Тихоновская, М.С. Петрова, Ю.В. Петрина, И.А. Петров, А.О. Окорочков // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2007. – № 9. – С. 338–341.
58. Макарчук, О.М. Клинический опыт применения разнообразных подходов к комплексной и превентивной терапии функциональных кист яичников / О. М. Макарчук, Н. И. Матвийкив // Здоровье женщины. – 2015. – 5 (137). – С. 40 – 43.
59. Манухин, И.Б. Клинические лекции по гинекологической эндокринологии / И.Б. Манухин, Л.Г. Тумилович, М. А. Геворкян. – М.: Геотармедиа, 2006.
60. Манухин, И.Б. Механизмы формирования и принципы патогенетической терапии функциональных кист яичников / И.Б. Манухин, М.А. Геворкян // Проблемы репродукции. – 2011. – № 1. – С. 22–27.
61. Манухин, И.Б. Выбор хирургического лечения опухолей яичников на основании исследования молекулярно-биологических факторов / И.Б. Манухин, Н.Е. Кушлинский, М.М. Высоцкий // Материалы VIII Российского форума «Мать и дитя». М., 2006. – С. 451–452.
62. Мардонова, С.М. Роль сонографии в диагностике и выборе тактики лечения при опухолях и опухолевидных образованиях яичников / С.М. Мардонова, М.Х. Курбанова, Э.Х. Хушвахтова // Материалы VI Российского форума «Мать и дитя». – М., 2004. – С. 415–416.
63. Меджидова, К.К. Лечение кист яичника / К.К. Меджидова, Х.Г. Алиева, М.А. Гасанова, Д.Х. Алиева, М.М. Идрисов, Р.Г. Магомедов // Проблемы репродукции. – 2014. – № 5. – С. 35–38.
64. Назаренко, Т.А. «Бедный ответ». Тактика ведения пациенток со сниженной реакцией на стимуляцию гонадотропинами в программах ЭКО /

- Т.А. Назаренко, К.В. Краснопольская. – 2-е изд. – М. : МЕДпресс-информ, 2013. – 80 с.
65. Назаренко, Т.А. Стимуляция функции яичников / Т.А. Назаренко. – М. : Медпресс-информ, 2015. – 288 с.
66. Назаренко, Т.А. ЭКО при гинекологических и эндокринных заболеваниях / Т.А. Назаренко. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2016. – 176 с.
67. Никогосян, С.О. Экстренное и плановое лечение новообразований придатков матки / С.О. Никогосян, В.В. Кузнецов, А. З. Загаштоков // Акушерство и гинекология. – 2017. – № 6. – С. 10–16.
68. Николаева, И.Н. Новые подходы к диагностике и лечению ретенционных кист яичников и возможности восстановления репродуктивной функции: автореф. дис. канд. мед. наук / И.Н. Николаева. – Благовещинск, 2006. – 23 с.
69. Программированная клеточная гибель / под ред. В.С. Новикова. – СПб. : Наука, 1996. – 77 с.
70. Озерская, И.А. Эхография в гинекологии. М.: Медика, 2005. – 292 с.
71. Огороков, А.О. Влияние иммуномодулятора и метаболической терапии на морфофункциональное состояние яичников с функциональными кистами: Автореф. ... дис. канд. мед. наук: 03.03.04; 14.01.01 / Огороков Александр Олегович. – Томск, 2010. – 24 с.
72. Петров, И.А. Репродуктивное здоровье женщин с функциональными кистами яичников и после лапароскопических цистэктомий / А.О. Огороков, Ю.В. Петрина, Ю.А. Кадесникова, М.С. Петрова, О.А. Тихоновская, С.В. Логвинов // Сибирский медицинский журнал (Томск). – 2008. – Т.23, №4(1). – С. 36–38.
73. Петров, И. А. Репродуктивное здоровье женщин с кистами яичников / И. А. Петров, М. С. Петрова, О. А. Тихоновская, С. В. Логвинов // Сибирское медицинское обозрение. – 2011. – Том 67 (№ 1).
74. Петров, И. А. Механизмы вторичной недостаточности яичников при операциях на органах малого таза (экспериментальное исследование / И. А. Петров, О. А. Тихоновская, И. И. Куприянова, А. О. Огороков, С. В. Логвинов,

- М.С. Петрова, Л.А. Агаркова // *Акушерство, гинекология и репродукция*. – 2015. – № 4. – С. 6–17.
75. Прилепская, В.Н. Лечебные аспекты использования внутриматочной левоноргестрел релизинг-системы (обзор литературы) / В.Н. Прилепская, Л.Л. Бостанджян // *Гинекология*. – 2009. – №9 (2). – С. 4–9.
76. Радзинский, В.Е. Овариальный резерв и фертильность: сложности XXI века / В.Е. Радзинский. – М. : StatusPraesens, 2015. – 24 с.
77. Рудакова, Е.Б. Кисты яичников в программах ЭКО и ПЭ в протоколах с АГ-РГ / Е.Б. Рудакова, Т.В. Стрижова, О.Б. Трубникова, Л.Ю. Замаховская // *Проблемы репродукции*. – 2014. – № 3 (4). – С. 20–21.
78. Рыбалка, А.Н. Профилактика и ведение осложненных функциональных кист яичников / А.Н. Рыбалка, Я.А. Егорова // *Медицинские аспекты здоровья женщины*. – 2011. – №1 (40). – С. 11–14.
79. Савельева, Г. М. Опухоли и опухолевидные образования яичников и их клинические проявления / Г.М. Савельева, В.Г. Бреусенко, А.А. Соломатина, О.Ю. Пивоварова // *Российский вестник акушера-гинеколога*. – 2006. – № 5. – С. 63–71.
80. Сафронова, Д.А. Овариальный резерв и репродуктивная функция у пациенток после лапароскопической кистэктомии по поводу доброкачественных опухолей яичников // *Вестник Российского государственного медицинского университета*. – 2011. – № 2. – С. 124–127.
81. Серебренникова, К.Г. Комплексная терапия и реабилитация у женщин с фолликулярными кистами яичников после эндоскопических операций в амбулаторных условиях / К.Г. Серебренникова, Е.П. Кузнецова // *Гинекология*. – 2002. – Т. 4, №4. – С. 174–175.
82. Серебренникова, К.Г. Современные представления об этиологии и патогенезе опухолевидных образований и доброкачественных опухолей яичников / К.Г. Серебренникова, Е.П. Кузнецова // *Саратовский научно-медицинский журнал*. – 2010. – Т. 6, № 3. – С. 552–558.

83. Серебренникова, К.Г. Современная медикаментозная терапия опухолевидных образований и ретенционных кист яичников / К.Г. Серебренникова, Е.П. Кузнецова // *Фундаментальные исследования*. – 2011. – № 5. – С. 218–221.
84. Серов, В.Н. Доброкачественные опухоли и опухолевидные образования яичников / В.Н. Серов, Л.И. Кудрявцева // М.: Триада Х, 1999. – 149 с.
85. Серов, В.Н. Гинекологическая эндокринология / В.Н. Серов, В.Н. Прилепская, Т.В. Овсянникова //– 5-е изд – М.: МЕДпресс-информ, 2015. – 512 с.
86. Сибирская, Е.В. Абдоминальный болевой синдром у девочек при опухолях и опухолевидных образованиях придатков матки / Е. В. Сибирская, Л. В. Адамян, С. П. Яцык, С. Г. Гераськина // *Российский педиатрический журнал*. 2015. – 18 (3). – С. 54–59.
87. Сорокина, И.В. Кистозные образования яичников у женщин: клинические и морфологические особенности / И.В. Сорокина, В.Д. Марковский, И.В. Борзенкова, Е.А. Кулакова, М.С. Мирошниченко, О.Н. Плитень, С.А. Мирошниченко // *Морфология*. – 2015. – №9 (2). – С. 78–84.
88. Стулова, С.В. Особенности тактики ведения больных с функциональными кистами яичников в условиях стационара экстренной медицинской помощи / С.В. Стулова, Л.С. Семушкина, О.В. Семенова, И.В. Гагарина, М.Ю. Асанина, Ю.И. Коновалова // *Теоретические и прикладные аспекты современной науки*. – 2014. – №2. – С. 133–136.
89. Тагиева, А.В. Фитотерапия в гинекологии // *Гинекология*. – 2004. – Т. 6, №5. – С.219-222.
90. Тепляшина, Е.А. Роль эндотелина и сосудисто-эндотелиального фактора роста в процессе фолликулогенеза / Е. А. Тепляшина, Е. А. Пожиленкова., М. В. Екимова и др. // *Рос. Вестн. акушерства и гинекологии*. – 2011. — № 3. – С. 4–8.
91. Тихоновская, О.А. Эпидемиология и этиопатогенез кистозных овариальных образований (обзор литературы) [Текст] / О.А. Тихоновская, М.С.

Петрова, И.А. Петров и др. // Вестник перинатологии, акушерства и гинекологии. – 2006. – Выпуск 13. – С. 521-530.

92. Ткаля, Ю.Г. Особенности гормонального рецепторного статуса, экспрессии VEGF, HER2/neu в серозном раке и функциональных кистах яичника / Ю.Г. Ткаля, Л.И. Воробьева, В.С. Свинцицкий, С.В. Неспрядько и др. // Клиническая онкология. – 2014. – №4 (16).

93. Троиц, Е. Б. Эхографически контролируемая тонкоигольная пункция в диагностике и лечении кистозных образований яичников и малого таза / Е.Б. Троиц, М.Ю. Шерстнов // Вестник Санкт-Петербургского Университета. – Сер. 11. – 2008. – Прил. к вып. 1. – С. 170–183.

94. Тумилович, Л.Г. Справочник гинеколога-эндокринолога / Л.Г. Тумилович, М.А. Геворкян // Практическая медицина. – М. 2010.

95. Тырси́на, Е. Г. Роль регуляторной VEGF/VEGF-R1-системы в опухолевом ангиогенезе (обзор литературы) / Е.Г. Тырси́на, С.И. Никулицкий // Онкогинекология. – 2015. – № 4. – С. 4-12.

96. Ульрих, Е.А. Опухоли яичника (клиника, диагностика и лечение) / Е.А. Ульрих, А.Ф. Урманчеева, Г.Ф. Кутушева. – СПб.: Изд-во Н-Л. – 2012. – С. 90.

97. Фофонова, И.Ю. Современные подходы к диагностике и лечению опухолей и опухолевидных образований яичников у женщин репродуктивного возраста // Журнал Российского общества акушеров-гинекологов. – 2009. – №3. – С. 43–48.

98. Хачкурузов, С.Г. УЗИ в гинекологии. Симптоматика, диагностические трудности и ошибки / С.Г. Хачкурузов; Под ред. С.И. Рискевич. – СПб. : Прима, 1999. – С. 145– 174.

99. Хмельницкий, О.К. Патоморфологическая диагностика гинекологических заболеваний / О. К. Хмельницкий. – СПб. : СОТИС. – 1994. – 408 с.

100. Ходжаева, З.С. Клинико-патогенетическое обоснование исследования секреции ангиогенных факторов в лютеиновую фазу менструального цикла у женщин с повторными ранними потерями беременности в анамнезе / З.С. Ходжаева, Е.В. Мусиенко // Акушерство и гинекология. – 2011. – № 8. – С. 61–65.

101. Хохлова, С.В. Роль ингибиторов сосудистого эндотелиального фактора роста в лечении рака яичников // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2010. – № 3. – С. 35–44.
102. Храмова, Ю. В. Реконструирование соматического окружения овариальных фолликулов в системе *in vitro* / Ю.В. Храмова, Д.А. Никишин, Т.С. Багаева и др. // Research'n Practical Medicine Journal. – 2015. — С. 41–48.
103. Шаповал, О.С. Особенности реализации репродуктивной функции у женщин с доброкачественными опухолеподобными образованиями яичников / О.С. Шаповал, Г. И. Резниченко // Здоровье женщины. – 2015. – 2 (98). – Р. 104–107.
104. Ярмолинская, М.И. Значение генитального эндометриоза в патогенезе бесплодия / М.И. Ярмолинская, В.М. Денисова // Журнал акушерства и женских болезней. – 2013. – LXII (6). – Р. 67–77.
105. Яценко, В.Ю. Тактика ведения девочек с опухолевидными образованиями яичников / В.Ю. Яценко, Л.А. Матыцина // Материалы V Российского форума «Мать и дитя». – М., 2003. – С. 509–510.
106. Abduljabbar, H.S. Review of 244 cases of ovarian cysts / H.S. Abduljabbar, Y.A. Bukhari, E.G. Nachim, G.S. Alshour, A.A. Amer, M.M. Shaikhoon, M. I. Khojah // Saudi Med. J. – 2015. – 36(7). – Р. 834–8.
107. Albertini, D. F. Cellular basis for paracrine regulation of ovarian follicle development / D. F. Albertini, C. M. Combelles // Reproduction. – 2001. – № 121. – Р. 647–653.
108. Barbuscia, M. Etiopathogenetic and clinical considerations of corpus luteum cysts [Article in Italian] / M. Barbuscia, M. De Luca, A. Pacqua // Il Giornale di chirurgia. – 2010. – 31 (3). – Р. 103–107.
109. Bhaskari, J. Investigating the effect of vascular endothelial growth factor polymorphisms in epithelial ovarian cancer: a study of the Indian population / J. Bhaskari, V. Shilpa, B. Rahul, Ch. S. Premalata, V. R. Pallavi, R. Gawari, L. Krishnamoorthy // PLoS One. – 2015. – 10 (7). – Р. 131–190.
110. Bilotas, M. Effect of vascular endothelial growth factor and interleukin-1beta on apoptosis in endometrial cell cultures from patients with endometriosis and

- controls / M. Bilotas, G. Meresman, R. Buquet, C. Sueldo, R.I. Baraño // *J. Reprod. Immunol.* – 2010. – 84 (2). – P. 193–198.
111. Bogovich, K. Induction of ovarian follicular cysts in the pregnant rat by human chorionic gonadotropin // *Biol. Reprod.* – 1991. – № 45. – P. 34–42.
112. Bogovich, K. Changes in the forward and reverse metabolism of aromatizable androgens during the development of large ovarian cysts in the pregnant rat // *Biol. Reprod.* – 1997. – № 57. – P. 148-157.
113. Bogovich, K. Insulin has a biphasic effect on the ability of human chorionic gonadotropin to induce ovarian cysts in the rat / K. Bogovich, J. Clemons, L. Poretsky // *Metabolism.* – 1999. – Vol. 48, № 8. – P. 995–1002.
114. Brawer, J. R. Development of the polycystic ovarian condition in the estradiol-valerate - treated rat / J. R. Brawer, M. Munoz, R. Farookhi // *Biol. Reprod.* – 1986. – Vol. 35. – P. 647–655.
115. Bruno, J. Angiogenic factors and ovarian follicle development / J. Bruno, M. Matos, R. Chaves et al. // *Anim. Reprod.* – 2009. – № 6 (2). – P. 371-379.
116. Burns, K.H. Analysis of ovarian gene expression in follicle-stimulating hormone beta knockout mice / K.H. Burns, C. Yan, T.R. Kumar, M.M. Matzuk // *Endocrinology.* – 2001. – 142. – P. 2742–2751.
117. Carpintero, N.L. Follicular steroid hormones as markers of oocyte quality and oocyte development potential / N.L. Carpintero, O.A. Suárez, C.C. Mangas et al. // *Journal of Human Reproductive Sciences.* – 2014. – Vol. 7, №3. – P. 187.
118. Cataldo, N. A. Immunolocalization of Fas and Fas ligand in the ovaries of women with polycystic ovary syndrome: relationship to apoptosis / N. A. Cataldo, D. A. Dumestik, P. C. Goldsmith, R. B. Jaffe // *Hum. Reprod.* – 2000. – Vol. 15, №9. – P. 1889–1991.
119. Chang, R. J. Disordered follicle development / R. J. Chang, H. Cook-Andersen // *Mol Cell Endocrinol.* – 2013. – 373 (1-2). – P. 51–60.
120. Chen, H. VEGF, VEGFRs expression and activated STATs in ovarian epithelial carcinomas / H. Chen, D. Ye, X. Xie, B. Chen, W. Lu // *Gynecol. Oncol.* – 2004. – 94: 3 – P. 630–635.

121. Chen, M.J. The effect of androgens on ovarian follicle maturation: Dihydrotestosterone suppress FSH-stimulated granulosa cell proliferation by upregulating PPAR γ -dependent PTEN expression / M.J. Chen, C.H. Chou, S.U. Chen et al. // *Scientific Reports*. – 2015. – Vol. 5. – P. 18319–18319.
122. Christensen, A. Hormonal regulation of female reproduction / A. Christensen, G.E. Bentley, R. Cabrera, et al. // *Hormone and metabolic research*. – 2012. – Vol. 44, №08. – P. 587–591.
123. Conti, M. Signaling networks in somatic cells and oocytes activated during ovulation // *Ann. Endocrinol. (Paris)*. – 2010. – № 71. – P. 189–190.
124. Convery, M. Remission of the polycystic ovarian condition (PCO) in the rat following hemiovariectomy / M. Convery, G. F. McCarthy, J. R. Brawer // *Anat. Rec.* – 1990. – Vol. 226, № 3. – P. 328–336.
125. Cook, C. Relationship between serum mullerian-inhibiting substance and other reproductive hormones in untreated women with polycystic syndrome and normal women / C. Cook, Y. Siow, A. Brenner et al. // *Fertil. Steril.* – 2002. – 77 (1) – P. 141–146.
126. Coric M. Electrocoagulation versus suture after laparoscopic stripping of ovarian endometriomas assessed by antral follicle count: preliminary results of randomized clinical trial / M. Coric, D. Barisic, D. Pavicic, M. Karadza, M. Banovic // *Arch. Gynecol. Obstet.* – 2013. – Vol. 283. – P. 373–378.
127. Diamanti-Kandarakis, E. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome revisited: an update on mechanisms and implications / E. Diamanti-Kandarakis, A. Dunaif // *Endocr Rev.* – 2012. – № 33. – P. 981–1030.
128. Danilovich, N. Estrogen deficiency, obesity, and skeletal abnormalities in follicle-stimulating hormone receptor knockout (FORKO) female mice / N. Danilovich, P.S. Babu, W. Xing, M. Gerdes, H. Krishnamurthy, M.R. Sairam // *Endocrinology*. – 2000. – № 141. – P. 4295–4308.
129. Decio, A. Vascular endothelial growth factor C promotes ovarian carcinomaprogression through paracrine and autocrine mechanisms / A. Decio,

G. Taraboletti, V. Patton et al. // *The American Journal of Pathology*. – 2014. – Vol. 184, № 4. P. 1050–1061.

130. Dvorak, H.F. Vascular permeability factor, fibrin, and the pathogenesis of tumor stroma formation / H.F. Dvorak, J.A. Nagy, B. Berse, L.F. Brown, K.T. Yeo, T.K. Yeo, A.M. Dvorak, L. van de Water, T.M. Sioussat, D.R. Senger // *Ann N Y Acad Sci*. – 1992. – № 667. – P. 101–11.

131. Di Pasquale, E. Hypergonadotropic ovarian failure associated with an inherited mutation of human bone morphogenetic protein-15 (BMP15) gene / E. Di Pasquale, P. Beck-Peccoz, L. Persani // *Am J Hum Genet*. – 2004. – № 75. – P. 106–111.

132. Di Pasquale, E. Identification of new variants of human BMP15 gene in a large cohort of women with premature ovarian failure / E. Di Pasquale, R. Rossetti, A. Marozzi, B. Bodega, S. Borgato, L. Cavallo, S. Einaudi, G. Radetti, G. Russo, M. Sacco, M. Wasniewska, T. Cole, P. Beck-Peccoz, L. M. Nelson, L. Persani // *J Clin Endocrinol Metab*. – 2006. – № 91. – P. 1976–1979.

133. Diaz, F. J. Oocytes determine cumulus cell lineage mouse ovarian follicles / F. J. Diaz, K. Wigglesworth, J.J. Eppig // *J. Cell Sci*. – 2007. – Vol. 120 (Pt. 8). – P. 1330-1340.

134. Dixit, H. Missense mutations in the BMP15 gene are associated with ovarian failure / H. Dixit, L. K. Rao, V. Padmalatha, M. Kanakavalli, M. Deenadayal, N. Gupta, B. Chakravarty, L. Singh // *Hum Genet*. – 2006. – № 119. – P. 408–415.

135. Dunaif, A. Polycystic ovary syndrome in 2011: Genes, aging and sleep apnea in polycystic ovary syndrome // *Nat Rev Endocrinol*. – 2012. – 8. – P. 72–4.

136. Elvin, J.A. Paracrine actions of growth differentiation factor-9 in the mammalian ovary / J.A. Elvin, A.T. Clark, P. Wang et al. // *Molecular Endocrinology*. – 1999. – Vol. 13, №6. – P. 1035–1048.

137. Erickson, G. The role of the oocyte in folliculogenesis / G. Erickson, S. Shimasaki, R. K. Moore // *Trends Endocrinol Metab*. – 2000. – № 11. – P. 193–198.

138. Erickson, G. The physiology of folliculogenesis: the role of novel growth factors / G. Erickson, S. Shimasaki // *Fertil Steril*. – 2001. – № 76. – P. 943–949.

139. Fadeel, B. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in human disease / B. Fadeel, S. Orrenius // *J Intern Med.* – 2005. – 258(6). – P. 479-517.
140. Farghaly, S. A. Current diagnosis and management of ovarian cysts // *Clin. Exp. Obstet. Gynecol.* – 2014. – 41(6). – P. 609–12.
141. Falck, B. Site of production of oestrogen in rat ovary as studied in micro-transplants // *Acta Physiol Scand.* – 1959. – № 47. – P. 1–101.
142. Ferraretti, A.P. 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.
143. Fraser, H.M. Single injections of vascular endothelial growth factor trap block ovulation in the macaque and produce a prolonged, dose-related suppression of ovarian function / H.M. Fraser, H. Wilson, J.S. Rudge, S. J. Wiegand // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2005. – № 90. – P. 1114–1122.
144. Galloway, S.M. Mutations in an oocyte-derived growth factor gene (BMP15) cause increased ovulation rate and infertility in a dosage-sensitive manner / S.M. Galloway, K.P. McNatty, L.M. Cambridge, M.P. Laitinen, J.L. Juengel, T.S. Jokiranta, R.J. McLaren, K. Luiro, K.G. Dodds, G.W. Montgomery, A.E. Beattie, G. H. Davis, O. Ritvos // *Nat Genet.* – 2000. – № 25. – P. 279–283.
145. Ganesan, S. Impact of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene exposure on connexin gap junction proteins in cultured rat ovaries / S. Ganesan, A.F. Keating // *Toxicol Appl Pharmacol.* – 2014. – 274 (2). – P. 209–214.
146. Geber, S. Effects of previous ovarian surgery for endometriosis on the outcome of assisted reproduction treatment / S. Geber, D.P. Ferreira // *Hum. Reprod. Biomed.* – 2002. – 5 (2) – p.162-166.
147. Gershon, E. Gap junctions in the ovary: Expression, Localization and function // *Molecular and Cellular Endocrinology.* – 2008. – 282(1-2). – P. 18-25.
148. Geva, E. Role of vascular endothelial growth factor in ovarian physiology and pathology / E. Geva, R. Jaffe // *Fertil. Steril.* – 2000. – №74. – P. 429-438.

149. 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. – №14. – P. 159–177.
150. Gittens, J.E. Differential contributions of connexin 37 and connexin 43 to oogenesis revealed in chimeric reaggregated mouse ovaries / J.E. Gittens, G.M. Kidder // *Journal of Cell Science.* – 2005. – № 118. – P. 5071-5078.
151. Greenaway, J. Thrombospondin and vascular endothelial growth factor are cyclically expressed in an inverse pattern during bovine ovarian follicle development / J. Greenaway, P. A. Gentry // *Biology of Reproduction.* – 2005. – Vol. 72, № 5. – P. 1071-1078.
152. Hatchisuga, T. Histopathological analysis of laparoscopically treated ovarian endometriotic cysts with special reference to loss of follicles / T. Hatchisuga, T. Kawarabayashi // *Hum. Reprod.* - 2002. - 17 (2) - p. 432-435.
153. Haouzi, D. Altered gene expression profile in cumulus cells of mature MII oocytes from patients with polycystic ovary syndrome / D. Haouzi, S. Assou, C. Monzo, C. Vincens, H. Dechaud, S. Humamah // *Human Reproduction.* – 2012. – Vol. 27, №12. – P. 3523–3530.
154. Hatler, T. B. Relationship between endogenous progesterone and follicular dynamics in lactating dairy cows with ovarian follicular cysts / T. B. Hatler, S. H. Hayes, D. A. Laranja et al // *Biol. Reprod.* – 2003. – Vol. 69. – P. 218–223.
155. Hussein, T. S. Oocytes prevent cumulus cell apoptosis by maintaining a morphogenic paracrine gradient of bone morphogenetic proteins / T.S. Hussein, D.A. Froiland, F. Amato, J.G. Thompson, R.B. Gilchrist // *J Cell Sci.* – 2005. – № 118. – P. 5257–5268.
156. Grimes, D.A. Oral contraceptives for functional ovarian cysts / D.A. Grimes, L.B. Jones, L.M. Lopez, K.F. Schulz // *Cochrane Database Syst Rev.* – 2009. – (2). – CD006134.
157. Inagaki, K. Impaired production of BMP-15 and GDF-9 mature proteins derived from proproteins WITH mutations in the proregion / K. Inagaki, S. Shimasaki // *Mol Cell Endocrinol.* – 2010. – № 328. – P. 1–7.

158. Inki, P. Comparison of ovarian cyst formation in women using the levonorgestrel-releasing intrauterine system vs. hysterectomy / P. Inki, R. Hurskainen, P. Palo et al. // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 2002. – Vol. 20, № 4. –P. 381–385.
159. Jermy, K. The characterization of common ovarian cysts in premenopausal women / K. Jermy, C. Luise and T. H. Bourne // *Ultrasound Obstet Gynecol.* – 2001. – № 17. – P. 140–144.
160. Jones, H. M. Systematic studies invalidate the neonatally androgenized rat as a model for polycystic ovary disease / H. M. Jones, M. W. Vemon, M. E. Rush // *Biol. Reprod.* – 1987. –Vol. 36, № 5. – P. 1253–1265.
161. Kim, J. H. Successful conservative management of ruptured ovarian cysts with hemoperitoneum in healthy women / J.H. Kim, S.M. Lee, J.-H. Lee, Y.R. Jo, M.H. Moon, J. Shin et al // *PLoS One.* – 2014. – 9(3). – e91171.
162. Knight, P.G. Local roles of TGF-beta superfamily members in the control of ovarian follicle development / P.G. Knight, C. Glister // *Anim Reprod Sci.* – 2003. – 78. – P. 165–183.
163. Kozub M.I., Grishchenko V.I., editors. Benign tumors and tumor-like formations of ovaries: tutorial. Kharkiv: Oberig; 2009. P. 286.
164. Kuivasaari-Pirinen, P. Ovarian cysts / P. Kuivasaari-Pirinen, M. Anttila // *Duodecim.* – 2011. – 127(17). – P. 1857-63. In Finnish.
165. Laissue, P. Mutations and sequence variants in GDF9 and BMP15 in patients with premature ovarian failure / P. Laissue, S. Christin-Maitre, P. Touraine, F. Kuttenn, O. Ritvos, K. Aittomaki, N. Bourcigaux, L. Jacquesson, P. Bouchard, R. Frydman, D. Dewailly, A. C. Reyss // *Eur J Endocrinol.* – 2006. – № 154. – P. 739–744.
166. Lam, P.M. Vascular endothelial growth factor plays more than an angiogenic role in the female reproductive system / P.M. Lam, C. Haines // *Fertil Steril.* – 2005. – 84(6). – P. 1775-8.
167. Layman, L.C. Mutations of folliclestimulating hormone-beta and its receptor in human and mouse: genotype/phenotype / L.C. Layman, P.G. McDonough // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2000. –№ 161. – P. 9–17.

168. Lee, J.C. The effect of herbal medicine on nerve growth factor in estradiol valerate-induced polycystic ovaries in rats // *The American Journal of Chinese Medicine*. – 2003. – Vol. 31, № 6. – P. 885–895.
169. Li, Y. Increased GDF9 and BMP15 mRNA levels in cumulus granulosa cells correlate with oocyte maturation, fertilization, and embryo quality in humans / Y. Li, R.Q. Li, S.B. Ou, N.F. Zhang, L. Ren, L.N. Wei, Q.X. Zhang, D.Z. Yang // *Reproductive Biology and Endocrinology*. – 2014. – 12:81.
170. Li, C. Z. Impact on ovarian reserve function by different homostasis methods during laparoscopic cystectomy in treatment of ovarian endometrioma / C. Z. Li, D. Y. Wei, F. Wang // *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*. – 2013. – 48 (1). 11–15.
171. Mc.Gee, E. Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles / E. Mc.Gee, A. Hsueh // *Endocrin. Rev.* – 2000. – 21 (2). – P. 200–214.
172. MacKenna, A. Clinical management of functional ovarian cysts: a prospective and randomized study / A. MacKenna, C. Fabres, V. Alam, V. Morales // *Hum Reprod.* – 2000. – № 15. – P. 2567–2569.
173. McNatty, K. P. Bone morphogenetic protein 15 and growth differentiation factor 9 cooperate to regulate granulosa cell function / K. P. McNatty, J. L. Juenge, K. L. Reader, S. Lun, S. Myllymaa, S. B. Lawrence, A. Western, M. F. Meerasahib, D. G. Mottershead, N. P. Groome, O. Ritvos, M. P. Laitinen // *Reproduction*. – 2005. – № 129. – P. 473–480.
174. Marelli, B. E. mRNA expression pattern of gonadotropin receptors in bovine follicular cysts / B.E. Marelli, P.U. Diaz, N.R. Salvetti, F. Rey, H.H. Ortega // *Reprod Biol.* – 2014. – 14 (4). – P. 276–281.
175. Masoumi-Moghaddam, S. Significance of vascular endothelial growth factor in the growth and proliferation of peritoneal ovarian cancer / S. Moghaddam-Masoumi, A. Amini, D.L. Morris, M.H. Pourgholami // *Cancer Metastasis Rev.* – 2012. – 31 (1-2). – P. 143–162.
176. Masoumi-Moghaddam, S. Vascular endothelial growth factor expression correlates with serum CA125 and represents a useful tool in prediction of refractoriness to platinum-based chemotherapy and ascites formation in epithelial

- ovarian cancer / S. Masoumi-Moghaddam, A. Amini, Ai-Qun Wei, G. Robertson, D. L. Morris // *Oncotarget*. – 2015. – Vol. 6, № 29. – P. 28491-28501.
177. Matzuk, M. M. Intercellular communication in the mammalian ovary: oocytes carry the conversation / M. M. Matzuk, K.H. Burns, M. M. Viveiros, J. J. Eppig // *Science*. – 2002. – Vol. 296, Issue 5576. – P. 2178-2180.
178. Matzuk, M. M. Genetics of mammalian reproduction: modeling the end of the germline / M. M. Matzuk, K.H. Burns // *Annu Rev Physiol*. – 2012. – № 74. – P. 503-28.
179. Monniaux, D. Oocyte apoptosis and evolution of ovarian reserve / *Gynecol. Obstet. Fertil*. – 2002. – Vol. 30, № 10. – P. 822–826.
180. Moore, R. K. Molecular basis of bone morphogenetic protein-15 signaling in granulosa cells / R. K. Moore, F. Otsuka, S. Shimasaki // *J Bio Chem*. – 2003. – №78. – P. 304–310.
181. Moore, R. K. Molecular biology and physiological role of the oocyte factor BMP-15 / R. K. Moore, S. Shimasaki // *Mol. Cell Endocrinol*. – 2005. – Vol. 234 (1-2). – P. 67–73.
182. Nalbandov, A.V. In: *Oogenesis*. Biggers J.D., Schuetz A.W., editors. Baltimore, Maryland: University Park Press; 1970. P. 513–522.
183. Neufeld, G. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors / G. Neufeld, T. Cohen, S. Gengrinovitch, Z. Poltorak // *FASEB J*. – 1999. – 13(1). – P. 9–22.
184. Orisaka, M. Growth differentiation factor 9 is antiapoptotic during follicular development from preantral to early antral stage / M. Orisaka, S. Orisaka, J.-Y. Jiang // *Molecular Endocrinology*. – 2006. – 20(10). – P. 2456–2468.
185. Otsuka, F. Bone morphogenetic protein-15. Identification of target cells and biological functions / F. Otsuka, Z. Yao, T. H. Lee, S. Yamamoto, G. F. Erickson, S. Shimasaki // *J. Biol. Chem*. – 2000. – 275 (50). – P. 39523–8.
186. Otsuka, F. Integral Role of GDF-9 and BMP-15 in Ovarian Function / F. Otsuka, K. J. McTavish, S. Shimasaki // *Molecular Reproduction & Development*. – 2011. – № 78. – P. 9–21.

187. Pru, J.K. Programmed cell death in the ovary: insights and future prospects using genetic technologies / J.K. Pru, J.L. Tilly // *Mol. Endocrinol.* – 2001. – Vol. 15, №6. – P. 845–853.
188. Qinglei, L. Revisiting oocyte–somatic cell interactions: in search of novel intrafollicular predictors and regulators of oocyte developmental competence / L. Qinglei, L.J. McKenzie, M.M. Matzuk // *Mol. Hum. Reprod.* – 2008. – Vol. 14 (12). – P. 673-678.
189. Richard, S. Prophase I arrest of mouse oocytes mediated by natriuretic peptide precursor C requires GJA1 (connexin-43) and GJA4 (connexin-37) gap junctions in the antral follicle and cumulus-oocyte complex. / S. Richard, J.M. Baltz // *Biol Reprod.* – 2014. – 90 (6). – P. 137.
190. Richard, S. GAP junction isoforms in GV oocyte arrest / S. Richard, J. M. Baltz // *Biol Reprod.* – 2013. – №5. – P. 451-77.
191. Robbe, D. Le cisti follicolari nella bovina / D. Robbe, M. D'Ottavio, R.L. Sciorsci // *Obiettivi e Documenti Veterinari.* – 2002. – № 6. – P. 1421.
192. Robinson, R.S. A novel physiological culture system that mimics luteal angiogenesis R.S. Robinson, A.J. Hammond, G.E. Mann, M.G. Hunter // *Reproduction.* – 2008. – 135(3). – P. 405–13.
193. Sadeu, J. C. Expression of growth differentiation factor 9, bone morphogenetic protein 15, and anti-Mullerian hormone in cultured mouse primary follicles / J. C. Sadeu, T. Adriaenssens and J. Smitz *Reproduction.* – 2008. – № 136 – P. 195–203.
194. Sanches, F. Molecular control of oogenesis. F. Sanches, J. Smitz. *Biochimica et Biophysica Acta.* – 2012. – № 1822. – P. 1896–1912.
195. Sen, A. Granulosa cell-specific androgen receptors are critical regulators of ovarian development and function / A. Sen, S.R. Hammes // *Molecular Endocrinology.* – 2010. – Vol. 24, №7. – P. 1393–1403.
196. Shahed, A. Anti-Müllerian Hormone (AMH), Inhibin- α , Growth Differentiation Factor 9 (GDF-9), and Bone Morphogenic Protein-15 (BMP-15) mRNA and protein are influenced by photoperiod-induced ovarian regression and recrudescence in Siberian hamster

ovaries / A. Shahed, K. A. Young // *Mol Reprod Dev.* – 2013. – 80 (11). – P. 895 – 907.

197. Shimasaki, S. The role of bone morphogenetic proteins in ovarian function: Review/ S. Shimasaki, R.K. Moore, G.F. Erickson, F. Otsuka // *Reprod Suppl.* – 2003. – № 61. – P. 323–37.

198. Shimasaki, S. The bone morphogenetic protein system in mammalian reproduction / S. Shimasaki, R.K. Moore, F. Otsuka, G.F. Erickson // *Endocr Rev.* – 2004. – № 25. – P. 72–101.

199. Shimizu, T. Changes of messenger RNA expression of angiogenic factors and related receptors during follicular development in gilts / T. Shimizu, J.Y. Jiang, H. Sasada, E. Sato // *Biol Reprod.* – 2002. – 67 (6). – P. 1846–52.

200. Somigliana, E. Does laparoscopic removal of nonendometriotic benign ovarian cysts affect ovarian reserve? / E. Somigliana, G. Ragni, M. Infantino et al. // *Acta Obstetrica Gynecologica Scandinavica.* – 2006. – V. 85. – №1. – P. 74–77.

201. Speroff, L., Glass, R. H., Kase, N. G. *Clinical gynecologic endocrinology and infertility.* 6th ed. Baltimore: Lippincott, Williams & Wilkins. – 1999. – P. 350.

202. Su, Y.Q. Synergistic roles of BMP15 and GDF9 in the development and function of the oocyte–cumulus cell complex in mice: genetic evidence for an oocyte–granulosa cell regulatory loop / Y.Q. Su, X. Wu, M.J. O'Brien, F.L. Pendola, J.N. Denegre, M.M. Matzuk, J.J. Eppig // *Developmental Biology.* – 2004. – № 276. – P. 64–73.

203. Su, Y.Q. Oocyte regulation of metabolic cooperativity between mouse cumulus cells and oocytes: BMP15 and GDF9 control cholesterol biosynthesis in cumulus cells / Y.Q. Su, K. Sugiura, K. Wigglesworth, M.J. O'Brien, J.P. Affourtit, S.A. Pangas et al. // *Development.* – 2008. – № 135 (1). – P. 111–21.

204. Su, Y. Q. Mouse oocyte control of granulosa cell development and function: paracrine regulation of cumulus cell metabolism / Y.Q. Su, K. Sugiura, J.J. Eppig // *Semin Reprod Med.* – 2009. – 27 (1). – P. 32–42.

205. Tamanini, C. Angiogenesis in developing follicle and corpus luteum / C. Tamanini, M. De Ambrogi // *Reprod Domest Anim.* – 2004. – 39(4). – P. 206–216.

206. Taylor, P.D. Effects of inhibition of vascular endothelial growth factor at time of selection on follicular angiogenesis, expansion, development and atresia in the marmoset / P. D. Taylor, H. Wilson, S. G. Hillier, S. J. Wiegand and H. M. Fraser // *Molecular Human Reproduction*. – 2007. – Vol. 13, №10. – P. 729–736.
207. Tehrani, F. R. Introducing a rat model of prenatal androgen-induced polycystic ovary syndrome in adulthood / F. R. Tehrani, M. Noroozadeh, S. Zahediasl, A. Piryaei, F. Azizi // *Exp Physiol*. – 2014. – № 99 (5). – P. 792–801.
208. Teilmann, S. C. Differential expression and localisation of connexin-37 and connexin-43 in follicles of different stages in the 4-week-old mouse ovary // *Mol Cell Endocrinol*. – 2005. – 234 (1-2). – P. 27-35.
209. Todoroki, J. Formation of follicular cysts in cattle and therapeutic effects of controlled internal drug release. J. Todoroki, H. Kaneko / *Journal of reproduction and Development*. – 2006. – Vol. 52, № 1. – P. 1-11.
210. Tripathy, S. Analysis of 17 β -estradiol (E 2) role in the regulation of corpus luteum function in pregnant rats: Involvement of IGFBP5 in the E 2-mediated actions / S. Tripathy, K. Asaithambi, P. Jayaram et al. // *Reproductive Biology and Endocrinology*. – 2016. – V. 14, №1. – P. 19.
211. Tsikouras, T. Contribution of laparoscopy in young women with abdominal pain / T. Tsikouras, V. Liberis, G. Galazios, S. Sarri, A.T. Teichmann // *Clin Exp Obstet Gynecol*. – 2007. – № 34. – P. 168-170.
212. Tyndall, V. Effect of androgen treatment during foetal and/or neonatal life on ovarian function in prepubertal and adult rats / V. Tyndall, M. Broyde, R. Sharpe, M. Welsh, A.J. Drake, A.S. McNeilly // *Reproduction*. – 2012. - Vol.143, № 1. - P. 21-33.
213. Vanholder, T. Aetiology and pathogenesis of cystic ovarian follicles in dairy cattle: a review / T. Vanholder, G. Opsomer // *Reprod. Nutr. Dev*. – 2006. – № 46. – P. 105–119.
214. Veropotvelyan, N.P. Ultrasound prenatal diagnostics and follow-up of ovarian teratoma in the fetus and newborn / N.P. Veropotvelyan, A.O. Bondarenko, T.V. Usenko // *Neonatology, Surgery and Perinatal Medicine*. – 2011. –№1(2). – P. 98-105. Russian.

215. Wang, R.N. Bone Morphogenetic Protein (BMP) signaling in development and human diseases / R.N. Wang, J. Greena, Zh. Wang, Y. Deng // *Genes & Diseases*. – 2014. – Vol. 1, № 1. – P. 87–105.
216. Wissing, M.L. The transcriptome of corona radiata cells from individual MII oocytes that after ICSI developed to embryos selected for transfer: PCOS women compared to healthy women / M.L. Wissing, D. Weestergaad, K. Do Nguyen, K. Belling, T. Host, A. Lis Mikkelsen // *Journal of Ovarian Research* – 2014. – 7 (1). – P. 110.
217. Wulff, C. Prevention of thecal angiogenesis, antral follicular growth, and ovulation in the primate by treatment with vascular endothelial growth factor trap R1R2 / C. Wulff, H. Wilson, S.J. Wiegand, J.S. Rudge, H.M. Fraser // *Endocrinology*. – 2002. – № 143. – P. 2797–2807.
218. Yan, C. Synergistic roles of bone morphogenetic protein 15 and growth differentiation factor 9 in ovarian function / C. Yan, P. Wang, J. DeMayo et al // *Molecular Endocrinology*. – 2001. – 15(6). – P. 854–866.
219. Yang, M.Y. Testosterone stimulates the primary to secondary follicle transition in bovine follicles *in vitro* / M.Y. Yang, J.E. Fortune // *Biology of Reproduction*. – 2006. – V. 75, №6. – P. 924–932.
220. Yang, J. Potent anti-angiogenesis and anti-tumor activity of a novel human anti-VEGF antibody, MIL60 / J. Yang, Q. Wang, Ch. Qiao et al. // *Cellular & Molecular Immunology*. – 2014. – № 11. – P. 285–293.
221. Yang, Y. The Increased Expression of Connexin and VEGF in Mouse Ovarian Tissue Vitrification by Follicle Stimulating Hormone / Y. Yang, J. Chen, H. Wu // *BioMed Research International*. – 2015. – Article ID: 397264, 13 pages.
222. Ye, X. A retrospective analysis of the effect of salpingectomy on serum antiMüllerian hormone level and ovarian reserve / X. Ye, Y. Yang, X. Sun // *American journal of obstetrics and gynecology*. – 2015. – 212(1). – 53.e1-53.e10.
223. Ylä-Herttuala, S. Vascular endothelial growth factors: biology and current status of clinical applications in cardiovascular medicine. / S. Ylä-Herttuala,

T.T. Rissanen, I. Vajanto, J. Hartikainen / J Am Coll Cardiol. – 2007. – 49(10). – P. 1015-26.

224. Zhang, F.P. Normal prenatal but arrested postnatal sexual development of luteinizing hormone receptor knockout (LuRKO) mice / F.P. Zhang, M. Poutanen, J. Wilbertz, I. Huhtaniemi // Mol. Endocrinol. –2001. – № 15. – P. 172–183.

225. Zimmermann, R.C. Vascular endothelial growth factor receptor 2-mediated angiogenesis is essential for gonadotropin-dependent follicle development/ R.C. Zimmermann, T. Hartman, S. Kavic, S.A. Pauli, P. Bohlen, M.V. Sauer, J. Kitajewski // J Clin Invest. – 2003. –№112. – P. 659–669.