

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

*На правах рукописи*

**ЛИПОВ ДАНИЛ СЕРГЕЕВИЧ**

**РОЛЬ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ -1, -9, -19 И АПОПТОЗА В  
НАРУШЕНИИ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ ПРИ  
ЭКСТРАГЕНИТАЛЬНЫХ ВОСПАЛИТЕЛЬНО-ДЕСТРУКТИВНЫХ  
ПРОЦЕССАХ (КЛИНИКО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

3.3.3. Патологическая физиология

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

**Рогова Людмила Николаевна**

Волгоград – 2023

**СОДЕРЖАНИЕ**

<b>ВВЕДЕНИЕ</b>	<b>5</b>
<b>ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b>	<b>14</b>
1.1 Современные представления о структурно-функциональных особенностях женской репродуктивной системы в норме и патологии	14
1.3 Влияние экстрагенитальных заболеваний на функции женской репродуктивной системы	19
1.4 Особенности маточного и овариального кровотока и их роль в функционировании женской репродуктивной системы в норме и патологии	21
1.5 Влияние гранулезных клеток на репродуктивную функцию у женщин	26
1.6 Матриксные металлопротеиназы -1,-9,-19, тканевые ингибиторы и их роль в репродуктивной системе у женщин	32
<b>ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b>	<b>39</b>
2.1 Объект и предмет исследования	39
2.2. Методы исследования	45
2.2.1. Метод моделирования пневмонии	45
2.2.2. Метод моделирования перитонита	45
2.2.3. Оценка современных методов измерения скорости кровотока в маточной артерии	45
2.2.4. Гистологические методы оценки ткани матки и яичников	48
2.2.5. Оценка современных методов исследования матриксных металлопротеиназ в органах репродуктивной системы у женщин	48
2.2.6. Оценка современных методов изучения уровня апоптоза в гранулезных клетках	50
2.3. Методы статистической обработки данных	52
<b>ГЛАВА 3 ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАГЕНИТАЛЬНОГО ВОСПАЛЕНИЯ НА УРОВЕНЬ АПОПТОЗА ГРАНУЛЕЗНЫХ КЛЕТОК, КОЛИЧЕСТВО ЗРЕЛЫХ ООЦИТОВ И ОПЛОДОТВОРЁННЫХ</b>	<b>54</b>

## **ЯЙЦЕКЛЕТОК У ЖЕНЩИН С БЕСПЛОДИЕМ, ПРОХОДИВШИХ ЛЕЧЕНИЕ МЕТОДАМИ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ**

3.1 Распространенность хронической экстрагенитальной патологии воспалительного генеза у женщин с бесплодием **54**

3.2 Уровень апоптоза гранулезных клеток у женщин с бесплодием и хронической экстрагенитальной патологией дыхательной и пищеварительной систем в анамнезе **57**

3.3 Резюме **63**

## **ГЛАВА 4 ПАРАМЕТРЫ РЕГИОНАЛЬНОЙ РЕАКТИВНОСТИ В ТКАНЯХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ОРГАНОВ НА УРОВЕНЬ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ И ГЕОДИНАМИКИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ** **64**

4.1 Морфологические изменения в тканях матки у крыс при моделировании экспериментального перитонита и экспериментальной пневмонии **64**

4.2 Морфологические изменения и морфометрические показатели в тканях яичника у крыс при моделировании экспериментального перитонита и экспериментальной пневмонии **67**

4.3 Особенности экспрессии матриксных металлопротеиназ -1, -9, -19 в тканях матки на фоне экспериментального перитонита и экспериментальной пневмонии **73**

4.4 Особенности экспрессии матриксных металлопротеиназ -1, -9, -19 в тканях яичников на фоне экспериментального перитонита и экспериментальной пневмонии **79**

4.5 Линейная скорость кровотока и функциональная активность NO-синтаз в маточной артерии у крыс на фоне экспериментального перитонита и экспериментальной пневмонии **85**

## **ГЛАВА 5 ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ** **88**

<b>ВЫВОДЫ</b>	<b>105</b>
<b>ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ</b>	<b>107</b>
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ</b>	<b>108</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ</b>	<b>109</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ</b>	<b>135</b>

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

Проблема бесплодия является одной из наиболее серьезных медицинских и социальных проблем современного общества. Несмотря на множество исследований и разработок в области медицины и репродуктивного здоровья, эта проблема остается актуальной и до конца неразрешенной для многих пар по всему миру. Данные Всемирной организации здравоохранения свидетельствуют о том, что от 50 до 80 миллионов пар сталкиваются с нарушением репродуктивной функции на глобальном уровне (Всемирная организация здравоохранения, 2021).

В России ситуация не менее острая. Согласно последним исследованиям, проблемы с фертильностью затрагивают до 25% пар в стране (Оразов М.Р., 2021; Путило А.О., 2020; Годовалов А.П., 2019). Это означает, что каждая четвертая пара может столкнуться с трудностями в достижении беременности или успешном рождении ребенка.

Исследования в области репродуктивной медицины продолжаются, и ученые прикладывают усилия для поиска новых методов диагностики и лечения бесплодия. Однако, понимание этиологии и патогенеза этой болезни остаются сложными задачами. Научные исследования показывают, что причины бесплодия могут быть многофакторными и включать в себя генетические дефекты, окружающие и психологические факторы, а также образ жизни (Inhorn, M.C, 2015). Таким образом, борьба с бесплодием требует комплексного подхода и дальнейших исследований в этой области.

На сегодняшний день исследователи активно занимаются изучением связи между хронической экстрагенитальной патологией воспалительного характера и бесплодием. Установлено, что экстрагенитальные заболевания могут оказывать значительное воздействие на женскую репродуктивную систему, вызывая нарушения фертильности (Chih H.J, 2021).

Среди такой экстрагенитальной патологии выделяют сахарный диабет, патологии щитовидной железы, дисфункцию иммунной системы и аутоиммунные

процессы, а также гипоталамо-гипофизарно-яичниковую дисрегуляцию. Эти состояния могут негативно влиять на функцию матки, яичников и процесс созревания ооцитов (Heber MF, 2021).

Исследования в области репродукции человека продолжаются, и их результаты помогают разрабатывать более эффективные методы диагностики и лечения женского бесплодия. Понимание взаимосвязи между экстрагенитальными заболеваниями и репродуктивными нарушениями способствует разработке персонализированных подходов к лечению этого заболевания.

### **Степень ее разработанности**

Нарушение процессов созревания ооцитов большинство исследователей на современном этапе определяют как ключевую причину женского бесплодия (King ML, 2017). Одну из важных функций в оогенезе играет взаимодействие ооцита с соматическими клетками – гранулезными клетками, окружающими его (Sutton-McDowall M.L., 2010). Эти клетки создают микроокружение, необходимое для нормального развития яйцеклеток, и вырабатывают разнообразные факторы роста и сигнальные молекулы, необходимые для нормального роста и дифференцировки фолликула (Sutton-McDowall M.L., 2010; Hsueh A.J., 2015). Понимание молекулярных взаимодействий между гранулезными клетками и ооцитами открывает новые перспективы для разработки методов лечения и поддержки женщин с бесплодием, связанным с нарушениями в процессе созревания ооцитов. Это позволяет разрабатывать более точные и персонализированные подходы к лечению данной патологии.

В ряде исследований как отечественных, так и зарубежных ученых, осуществлялась количественная и качественная оценка апоптоза в гранулезных клетках, а также его влияние на процессы созревания ооцитов, однако, единого мнения о влиянии данного процесса на оогенез на сегодняшний день нет. Одни исследователи считают, что ингибирование апоптоза в этих клетках способствует росту фолликулов и улучшению качества яйцеклеток (El-Hayek S., 2018). Другие

– показывают, что избирательный апоптоз гранулезных клеток во время созревания ооцитов все же необходим для успешной овуляции (Li Y., 2019). Также установлено, что апоптоз регулируется сложным взаимодействием сигнальных путей, включая систему Fas/FasL и семейство белков Bcl-2 (Li Y., 2019). Многие эксперты полагают, что исследования механизмов, лежащих в основе апоптоза в гранулезных клетках, необходимы для разработки целенаправленных методов лечения бесплодия и других расстройств репродуктивной функции (Sun C., 2010). Тем не менее, следует отметить, что основные объекты исследований составляли клетки животных (крупный рогатый скот, свиньи), в то время как человеческие образцы использовались лишь в единичных случаях. Стоит также отметить, что в исследованиях практически не изучалось влияние экстрагенитальной патологии на уровень апоптоза гранулезных клеток, что имеет под собой ценный ресурс для дальнейшей работы.

Другой причиной бесплодия является нарушение функционирования компонентов межклеточного матрикса (ММ), что может существенно повлиять на имплантацию эмбриона и развитие плаценты (Pundir J, 2017). ММ представляет собой сложную трехмерную структуру, состоящую из белков, гликопротеинов и гликозаминогликанов, которые обеспечивают механическую поддержку и регулируют множество биологических процессов в организме.

Особую значимость в этом контексте приобретают матриксные металлопротеиназы (ММП) – ферменты, играющие ключевую роль во многих биологических процессах, таких как разрушение компонентов межклеточного матрикса, регулирование клеточной миграции и пролиферации. ММП представляют собой семейство белков, включающее множество различных членов. Они способны разрушать компоненты ММ, такие как коллаген и фибронектин, что позволяет клеткам мигрировать и проникать через межклеточный матрикс.

Анализ доступных литературных данных показывает, что экспрессия отдельных членов семейства матриксных металлопротеиназ, а именно ММП-1, -9 и -19, в тканях матки и яичников играет существенную роль в разнообразных

физиологических и патологических процессах. Эти белки принимают участие в регуляции имплантации и развитии эмбриона, а также в ремоделировании эндометрия в менструальном цикле и фолликулогенезе. Более того, дисбаланс экспрессии и активности данных ММП может способствовать развитию эндометриоза, воспалению матки, содействовать прогрессии новообразований и повлиять на нарушения репродуктивной функции (Куама СМ, 2019). При этом, воздействие экстрагенитальной патологии воспалительного характера на показатели экспрессии матриксных металлопротеиназ в тканях матки и яичников до сих пор остается недостаточно исследованным.

### **Цель исследования**

Для установления новых патогенетических механизмов нарушения репродуктивной функции у женщин определить активность матриксных металлопротеиназ -1, -9, -19 в матке и яичниках и интенсивность апоптоза гранулезных клеток при экстрагенитальных воспалительно-деструктивных процессах.

### **Задачи исследования:**

1. Оценить интенсивность апоптоза гранулезных клеток у женщин, имеющих в анамнезе экстрагенитальные воспалительно-деструктивные процессы в дыхательной и пищеварительной системах.

2. Изучить изменения структурно-функциональных показателей развития фолликулов в яичниках у крыс при моделировании экстрагенитальных воспалительно-деструктивных процессов в брюшной полости и дыхательной системе.

3. Исследовать механизмы изменения маточного кровотока при моделировании экстрагенитальных воспалительно-деструктивных процессов в брюшной полости и дыхательной системе на крысах путем проведения функциональных проб с ацетилхолином и L-NAME.



4. Определить показатели активности матриксных металлопротеиназ -1, -9, -19 в тканях матки и яичников у крыс на фоне экстрагенитальных воспалительно-деструктивных процессов в брюшной полости и дыхательной системе.

### **Научная новизна**

Впервые описаны структурно-функциональные изменения тканей яичников и матки при экспериментальном моделировании экстрагенитальных воспалительно-деструктивных процессов в брюшной полости и дыхательной системе.

Установлено, что экстрагенитальные воспалительно-деструктивные процессы, снижают число зрелых ооцитов у пациенток в яичниках и повышают интенсивность апоптоза в гранулезных клетках.

Определены механизмы нарушения маточного кровотока при экстрагенитальных воспалительно-деструктивных процессах в брюшной полости и дыхательной системе на фоне введения ацетилхолина и L-NAME.

Впервые определена активность матриксных металлопротеиназ -1, -9 и -19 в тканях матки, корковом и мозговом веществе яичников на фоне экстрагенитальных воспалительно-деструктивных процессов в брюшной полости и дыхательной системе.

Установлены предикторы нарушения репродуктивной функции у женщин с экстрагенитальной воспалительной патологией дыхательной и пищеварительной систем в анамнезе.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Установлена роль экстрагенитальных воспалительно-деструктивных процессов в брюшной полости и дыхательной системе в нарушении репродуктивной функции у женщин.

Показано, что экстрагенитальная патология воспалительного генеза дыхательной и пищеварительной систем приводит к повышению уровня апоптоза

в гранулезных клетках, что влияет на процессы оогенеза и негативно сказывается на фертильности у женщин.

Установлено, что экстрагенитальные воспалительные процессы влияют на активность ММП -1, -9, 19 в различных слоях матки, при этом как увеличение, так и уменьшение активности этих ферментов может нарушать процессы ремоделирования матрикса, и в свою очередь отражаться на репродуктивной функции.

Выяснение роли матриксных металлопротеиназ и апоптоза гранулезных клеток в нарушении репродуктивной функции создают новые подходы в разработке целевых терапевтических стратегий, направленных на предотвращение или устранение этих нарушений.

Полученные результаты играют важную роль в оптимизации клинической практики, предоставляя новые знания о молекулярных механизмах, которые могут быть целевыми для диагностики и лечения пациентов с экстрагенитальными воспалительно-деструктивными процессами.

### **Методология и методы исследования**

Диссертационное исследование проведено с соблюдением принципов доказательной медицины. Используются клинические, гистологические, иммуногистохимические, функциональные и статистические методы анализа, а также метод моделирования патологии на животных. Объект экспериментальной части исследования – крысы-самки линии Wistar на которых моделировали перитонит (Дзюбенко Н.Ю., 1999) и пневмонию (Рогова Л.Н. с соавт., 2020) с последующим гистологическим и иммуногистохимическим исследованием органов репродуктивной системы, а также оценкой гемодинамики в маточной артерии на фоне вышеописанной патологии с проведением фармакологической проб для определения роли NO-синтаз в изменении регионального кровотока. Клинический блок исследований включал оценку уровня апоптоза гранулезных клеток, полученных у женщин, проходивших лечение бесплодия методами вспомогательных репродуктивных технологий, в анамнезе которых была

хроническая экстрагенитальная патология дыхательной и пищеварительной системы воспалительной природы.

### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Экстрагенитальная патология воспалительного генеза дыхательной и пищеварительной систем в анамнезе пациенток приводит к повышению уровня апоптоза в гранулезных клетках, что влияет на процессы оогенеза и негативно сказывается на фертильности у женщин.

2. Экспериментальный перитонит и экспериментальная пневмония влияют на активность ММП -1, -9, 19 в различных слоях матки и яичника, при этом как увеличение, так и уменьшение активности этих ферментов может нарушать процессы ремоделирования матрикса, и в свою очередь отражаться на репродуктивной функции.

3. Экспериментальный перитонит и экспериментальная пневмония приводят к достоверному уменьшению линейной скорости маточного кровотока и компенсаторному усилению активности NO-синтазы, которой недостаточно для купирования вазоконстрикции.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Степень достоверности полученных данных обусловлена корректной постановкой экспериментов с учётом наличия необходимых контрольных групп, а также использованию достаточного объема наблюдений. В ходе исследования широко применены современные методы исследований, что в совокупности с адекватными методами статистической оценки полученных данных обеспечивают высокую степень точности и доверия к результатам.

Основные положения исследования доложены и обсуждены на: конференции «Фундаментальные медицинские и биологические науки» в рамках II Дальневосточного медицинского конгресса (Хабаровск, 2021); 80-й и 81-й Международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины»

(Волгоград, 2022, 2023); Международном медицинском форуме «Вузовская наука. Инновации» (Москва, 2022; 2023) I научно-практической конференции с международным участием «Привентивная медицина как основа качественного и здорового долголетия» (Оренбург, 2023).

Диссертационная работа апробирована на расширенном заседании кафедры патофизиологии, клинической патофизиологии, кафедры патологической анатомии, кафедры акушерства и гинекологии Института НМФО, кафедры анатомии, кафедры нормальной физиологии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России

### **Публикации**

Всего по материалам диссертационного исследования опубликовано 11 научных работ, из которых 5 – в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий или входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук и издания, приравненные к ним, в том числе получено 1 свидетельство государственной регистрации баз данных, охраняемых авторским правом.

### **Личный вклад автора в исследование**

Автором самостоятельно проведены анализ литературных данных по теме исследование, моделирование экспериментального перитонита и экспериментальной пневмонии у крыс, забор материала, патоморфологическое исследование, эксперименты по изучению гемодинамики у крыс, статистическая обработка полученных результатов экспериментального и клинического блоков исследования. В соавторстве подготовлены публикации и заявки на государственную регистрацию баз данных, охраняемых авторским правом.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 142 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, двух глав собственных данных, обсуждения полученных результатов исследования, выводов, списка литературы и приложения. Библиографический указатель включает 201 работ (137 отечественных и 64 иностранных). Работа иллюстрирована 17 рисунками и 7 таблицами.

## ГЛАВА 1

### ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

#### 1.1 Современные представления о структурно-функциональных особенностях женской репродуктивной системы в норме и патологии

Женская репродуктивная система – сложная система органов, которая отвечает за воспроизведение потомства. Система состоит из наружных и внутренних половых органов, которые включают в себя яичники, фаллопиевы трубы, матку и влагалище. Эти органы контролируются балансом гормонов, макро- и микроэлементов и играют решающую роль в процессе размножения (Bulun, 2018).

Яичники – парный женский репродуктивный органы, ответственный за производство яйцеклеток и выработку таких гормонов, как эстроген и прогестерон (Baird, 2019). Это миндалевидные органы, расположенные по обе стороны от матки. Каждый яичник состоит из коркового и мозгового вещества (Обухова Ю.Д., 2010). Кора содержит фолликулы, которые представляют собой структуры, содержащие незрелые ооциты. Мозговое вещество содержит кровеносные и лимфатические сосуды, соединительную ткань. Яичник окружен слоем ткани – капсулой (Arey, 2020).

Яичники отвечают за выработку женских гамет (яйцеклеток) в процессе оогенеза, который начинается во время внутриутробного развития плода и продолжается до менопаузы (Артымук Н.В., 2017). Во время каждого менструального цикла ряд фолликулов стимулируется к росту и созреванию фолликулостимулирующим гормоном (ФСГ), вырабатываемым гипофизом (Подзолкова Н.М., 2014).

Один фолликул в конечном итоге становится доминирующим и продолжает созревать до тех пор, пока не лопнет, высвобождая зрелую яйцеклетку в фаллопиеву трубу. Этот процесс называется овуляцией и вызывается всплеском лютеинизирующего гормона (ЛГ), вырабатываемого гипофизом (Коротких И.Н.,

2015). Если яйцеклетка будет оплодотворена сперматозоидом в фаллопиевой трубе, она имплантируется в матку и разовьется в плод. Если яйцеклетка не будет оплодотворена, она распадется и будет поглощена организмом (Arey, 2020).

Яичники также вырабатывают гормоны эстроген и прогестерон, которые регулируют менструальный цикл и играют решающую роль во время беременности (Пизова М.В., 2021). Эстроген, в частности, отвечает за развитие вторичных половых признаков, а также помогает поддерживать толщину слизистой оболочки матки (Baird, 2019). Прогестерон вырабатывается желтым телом, которое образуется из фолликула после овуляции. Этот гормон помогает подготовить матку к имплантации оплодотворенной яйцеклетки и сохранить беременность (Baird, 2019).

Фаллопиевы трубы (маточные трубы) – женские репродуктивные органы, ответственные за транспортировку яйцеклетки из яичника в матку (Yanushpolsky, 2020). Каждая труба имеет длину примерно 10-12 см и состоит из четырех частей: воронки, ампулы, перешейка и интерстициального (маточного) сегмента (Акетаева, 2016). Воронка – это отверстие рядом с яичником, через которое в фаллопиеву трубу попадает яйцеклетка после овуляции (Lei, 2021). Ампула – средняя часть трубы, где обычно происходит оплодотворение (Lei, 2021). Перешеек – самая узкая часть трубы, расположенная близко к матке (Акетаева, 2016). Интерстициальный (маточный) сегмент – часть трубы, которая проходит через стенку матки (Lei, 2021). Стенки маточных труб состоят из четырех слоев: наружной серозной оболочки, подсерозной оболочки, слоя гладкой мускулатуры и внутреннего слоя мерцательных эпителиальных клеток (Акетаева, 2016).

Фаллопиевы трубы отвечают за транспортировку яйцеклетки из яичника в матку и обеспечивают среду для оплодотворения. После овуляции яйцеклетка захватывается фимбриями, которые представляют собой пальцевидные выступы на конце маточной трубы (Yanushpolsky, 2020). Затем реснички эпителиальных клеток фаллопиевой трубы создают ток, который перемещает яйцеклетку по

направлению к матке. Передвижение яйцеклетки по фаллопиевой трубе занимает примерно 3-4 дня (Lei, 2021).

Оплодотворение обычно происходит в ампуле фаллопиевой трубы, где сперматозоид встречается с яйцеклеткой. Реснички в фаллопиевой трубе помогают продвигать сперматозоид к яйцеклетке, а стенки трубы выделяют питательные вещества и жидкости, которые питают сперматозоид и развивающийся эмбрион (Yanushpolsky, 2020).

Матка – это полый грушевидный мышечный орган, предназначенный для поддержки роста и развития плода во время беременности, расположенный в малом тазу между мочевым пузырем и прямой кишкой у женщин (Laganà et al., 2020). Она делится на три части: шейку, тело и дно. Шейка матки – это нижняя часть, которая переходит во влагалище. Тело – верхняя часть матки, которая содержит полость, в которой развивается плод во время беременности (Giles & de Mello, 2020). Дно – верхняя часть, выступающая выше линии входа в матку маточных труб.

Матка состоит из трех оболочек: наружной серозной – периметрий, средней мышечной – миометрий, который состоит из гладкой мускулатуры, и внутреннего слоя слизистой оболочки, называемого эндометрием (Кузнецова Н.А., 2008).

Матка играет важную роль в процессе размножения. Во время менструального цикла, как было сказано ранее, эндометрий претерпевает циклические изменения в ответ на гормональные сигналы, поступающие от гипофиза и яичников (Захаров В.В., 2012). Если происходит оплодотворение, оплодотворенная яйцеклетка имплантируется в эндометрий и начинает развиваться в плод. Затем матка обеспечивает защитную среду для его развития во время беременности, а во время родов миометрий сокращается, помогая изгнать плод (Миньков И.Б., 2013). Матка также участвует в регуляции менструального цикла: сокращение миометрия во время менструации помогает



удалить ткань эндометрия, которая накопилась в течение предыдущего цикла (Laganà et al., 2020).

Влагалище – это мышечная трубка, которая соединяет шейку матки с наружными половыми органами (Wu et al., 2021). Строение влагалища у женщин имеет свои особенности, которые обусловлены его функциями. Оно состоит из трех слоев: внешнего, среднего и внутреннего. Внешний – представлен кожей, средний слой состоит из гладкой мускулатуры, которая позволяет контролировать размер и форму влагалища, внутренний слой – слизистая оболочка, которая обеспечивает смазку и защиту влагалища (Леонтьева Н.Н., 2009).

Влагалище играет важнейшую роль в сексуальном и репродуктивном здоровье женщины. Поддержание pH в нем на уровне 3,8-4,5 позволяет подавлять рост болезнетворных бактерий и способствовать росту полезной микрофлоры (Wu et al., 2021). Влагалище также участвует в процессе родов: при расширении шейки матки влагалище растягивается, чтобы обеспечить прохождение плода. При этом эластичность стенок влагалища позволяет значительно растягиваться без разрыва, а гладкая мускулатура сокращается, помогая процессу родов (Kutteh et al., 2020).

Таким образом, женская репродуктивная система – это сложная система, которая регулируется гормонами и контролируется нервной системой, и ее нормальное функционирование имеет решающее значение для здоровья и благополучия человека (Ramezani Tehrani et al., 2018). Если какая-либо часть данной системы не функционирует должным образом, это может привести к репродуктивным проблемам, таким как бесплодие, нарушения менструального цикла и осложнения беременности.

От нарушений репродуктивной функции страдает значительная часть женского населения (Иванова Т.А., 2016). Исследователи считают наиболее серьезной проблемой общественного здравоохранения, затрагивающей до 15% супружеских пар репродуктивного возраста во всем мире, проблему бесплодия (Larsen et al., 2013).

Бесплодие определяется как неспособность зачать ребенка после 12 месяцев регулярного незащищенного полового акта (Larsen et al., 2013). Женские факторы способствуют примерно 40% случаев этой патологии, при этом на долю мужских и комбинированных факторов приходится остальная часть (Boivin et al., 2007). Распространенность бесплодия варьируется в зависимости от региона и этнической принадлежности, причем более высокие показатели отмечаются в странах с низким и средним уровнем дохода (Larsen et al., 2013).

Женское бесплодие может иметь различные причины, включая гормональный дисбаланс, нарушения овуляции, аномалии развития труб и матки, а также возрастные факторы (Dumesic et al., 2015).

Одним из частых видов бесплодия является ановуляторное, которое связано с нарушением процесса созревания и развития яйцеклетки (Гаджиева А.А., 2019). Оно может быть вызвано различными факторами, включая гиперпролактинемию, поликистоз яичников и другие гормональные нарушения (Гаджиева А.А., 2019). Однако, не только нарушения гормонального фона могут приводить к бесплодию, так нарушения иммунной системы могут привести к отторжению эмбриона и, следовательно, к проблемам с вынашиванием беременности (Меладзе Г.Д., 2018).

Другой причиной бесплодия может быть нарушение анатомических параметров женских половых органов. Например, аномалии матки могут привести к нарушениям имплантации эмбриона и развитию плаценты (Pundir J et al., 2017). Также данная патология может препятствовать правильному развитию эмбриона, что может привести к его выкидышу в ранние сроки беременности или к мертворождению (Gupta S et al., 2018). Кроме того, аномалии матки могут привести к искривлению или блокированию маточных труб, что препятствует прохождению сперматозоидов и оплодотворению.

К проблемам с фертильностью могут привести и аномалии строения яичников (Бакина А.А., 2017). Так одной из распространенных аномалий, которая

может вызывать бесплодие, является синдром поликистозных яичников (СПКЯ). Это состояние характеризуется наличием множества маленьких кист на яичниках, а также нарушением гормонального баланса, что приводит к ановуляции и бесплодию (Teede H. J. Et al., 2018).

Важным фактором, который может влиять на женское бесплодие, является возраст. С возрастом женщины сталкиваются со снижением фертильности, связанным с уменьшением количества яйцеклеток и нарушением их качества (Саакянц Г.И., 2017). Кроме того, возраст может повлиять на функцию эндометрия и на наличие генетических дефектов в яйцеклетках, что также может привести к бесплодию (Tarin J.J. et al., 2000).

Бесплодие может оказывать значительное влияние на психическое и физическое здоровье женщин, а также на их социальное и экономическое благополучие. Женщины с бесплодием могут испытывать тревогу, депрессию и стигматизацию, а также могут сталкиваться с социальной изоляцией и дискриминацией (Dyer et al., 2016).

Лечение женского бесплодия зависит от основной причины и может включать медицинские и хирургические вмешательства, изменение образа жизни и вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ). Гормональная терапия часто используется для лечения таких состояний, как СПКЯ и эндометриоз, в то время как хирургические вмешательства могут потребоваться для коррекции аномалий развития фаллопиевых труб и матки (Voivin et al., 2007). Такие методы, как экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО) и внутриматочная инсеминация (ВМС), все чаще используются для преодоления бесплодия и в последние годы стали более доступными.

## **1.2 Влияние экстрагенитальных заболеваний на функции женской репродуктивной системы**

Экстрагенитальная патология может оказывать значительное влияние на женскую репродуктивную систему, приводя к нарушениям фертильности

(Чернуха Е.А., 2017). Такие заболевания, как сахарный диабет, аутоиммунные процессы, заболевания щитовидной железы, дисфункция иммунной и гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системы, могут негативно влиять на функцию матки, яичников и процесс созревания ооцитов (Sharma and Aggarwal, 2019).

Сердечно-сосудистые заболевания, в частности гипертония и атеросклероз, могут приводить к нарушению кровоснабжения яичников, что в свою очередь может приводить к нарушению процесса овуляции и возникновению бесплодия (Новикова Е.Б., 2018).

Сахарный диабет, одно из распространенных эндокринологических заболеваний, может приводить к развитию нарушений в работе органов репродуктивной системы. Это связано с тем, что при этом заболевании происходит нарушение обмена веществ, которое негативно влияют на функцию яичников и процесс овуляции (Бондаренко Е.А., 2019).

Патология щитовидной железы, приводящая к дисбалансу тиреоидных гормонов, может повлиять на овуляцию и нарушить менструальный цикл, и потенциально может привести к ановуляции (Joffe and Key, 2016). Это связано с тем, что щитовидная железа играет важную роль в регуляции обмена веществ, который, в свою очередь, влияет на работу органов репродуктивной системы (Горячева Л.И., 2019).

Ожирение – это еще одно экстрагенитальное заболевание, которое потенциально может влиять на женскую репродуктивную функцию. Избыток жировой ткани может привести к резистентности к инсулину, гиперандрогении и нарушению менструального цикла (Chavarro et al., 2017).

Токсины окружающей среды, включая тяжелые металлы, пестициды и химические вещества также могут влиять на женскую фертильность. Воздействие этих токсинов связано с повышенным риском бесплодия, выкидыша и неблагоприятных исходов беременности (Buck Louis et al., 2013).

Аутоиммунные заболевания также могут влиять на нормальное функционирование женской репродуктивной системы (Alijotas-Reig et al., 2018). Системная красная волчанка, ревматоидный артрит, антифосфолипидный синдром, могут приводить к нарушению функции яичников и процессу овуляции. Это связано с тем, что при аутоиммунных заболеваниях организм начинает вырабатывать аутоантитела, которые способны атаковать свои собственные клетки и ткани, в том числе и клетки яичников (Камышева Т.В., 2018).

Кроме того, хроническое воспаление, связанное с экстрагенитальными заболеваниями, такими как воспалительные заболевания кишечника, пародонтоз, может негативно влиять на женскую фертильность, нарушая овуляцию и имплантацию (Sharma and Aggarwal, 2019). Это связано с тем, что при воспалительных заболеваниях происходит нарушение кровообращения и повреждение тканей, что может привести к образованию спаек и рубцов на яичниках, матке и других органах репродуктивной системы (Козлова Е.А., 2018).

### **1.3 Особенности маточного и овариального кровотока и их роль в функционировании женской репродуктивной системе в норме и патологии**

Матка и яичники кровоснабжаются через артерии, которые проходят через тазовую полость. Главной артерией, которая обеспечивает кровоснабжение матки, является маточная артерия. Она идет от внутренней подвздошной артерии и располагается вдоль боковой стенки матки (Хаджимамонов Р.А., 2018).

Яичники получают кровоснабжение от яичниковых артерий, которые также идут от внутренней подвздошной артерии. Яичниковые артерии проходят через широкую связку матки и ветвятся, обеспечивая кровоток в яичниках (Хаджимамонов Р.А., 2018).

Изменения маточного и овариального кровотока могут оказывать влияние на репродуктивную функцию женщин. При этом, обеспечение достаточного кровотока к матке зависит от многих факторов, включая уровень гормонов, наличие воспалительных процессов и т.д. (Шестакова И.Г., 2016).

Одним из основных факторов, влияющих на маточный кровоток, является гормональный фон женщины. Эстрогены, продуцируемые яичниками, оказывают сосудорасширяющее действие на кровеносные сосуды матки и яичников. Это происходит благодаря увеличению продукции оксида азота II (NO) (Купетова Е.В., 2017). Механизм воздействия NO на сосудистый тонус заключается в его способности расслаблять гладкую мускулатуру сосудистых стенок. В матке оксид азота синтезируется эндотелиальными клетками интимы сосудов, а также нервными окончаниями и миометрием (Рахматуллина И.И., 2015).

Эндотелиальные клетки маточных артерий синтезируют NO с помощью эндотелиальной NO-синтазы (eNOS). Далее оксид азота II диффундирует в гладкую мускулатуру сосудистых стенок и активирует гуанилатциклазу. Это приводит к образованию циклического гуанозинмонофосфата (сGMP). сGMP в свою очередь, активирует протеинкиназу G (PKG), которая фосфорилирует белки, участвующие в расслаблении гладкой мускулатуры, что приводит к снижению сосудистого тонуса и вазодилатации (Купетова Е.В., 2017).

Кроме того, NO также может влиять на другие факторы, которые регулируют сосудистый тонус матки и яичников, такие как простагландин E<sub>2</sub>, адренергические и холинергические механизмы (Рахматуллина И.И., 2015).

Прогестерон, также продуцируемый яичниками, может оказывать влияние на кровоснабжение матки, увеличивая сосудистый тонус. Это происходит благодаря тому, что прогестерон способствует снижению уровня оксида азота и увеличению уровня эндотелина-1, который сужает кровеносные сосуды (Волков Н.И., 2015).

Эндотелин-1 (ЕТ-1) – это пептидный гормон, который производится эндотелиальными клетками и выполняет множество физиологических функций в организме, включая регуляцию кровообращения (Жданова Л.М., 2017). ЕТ-1 может воздействовать на сосудистый тонус матки и яичников через связь с рецепторами типа А и В, которые экспрессируются на гладких мышцах сосудов.

В результате связывания с рецепторами, ET-1 вызывает вазоконстрикцию, что приводит к уменьшению кровотока в матке и яичниках (Жданова Л.М., 2017).

Исследования показали, что у женщин с эндометриозом и гиперпролактинемией уровень ET-1 в крови и тканях матки и яичников повышен, что может приводить к сужению сосудов и уменьшению кровотока в матке и яичниках, что в свою очередь может привести к нарушению репродуктивной функции у женщин (Жданова Л.М., 2017).

Фолликулостимулирующий гормон (ФСГ) и лутеинизирующий гормон (ЛГ) являются гонадотропинами, которые играют важную роль в регуляции функции яичников и кровоснабжении репродуктивных органов. Механизм влияния ФСГ и ЛГ на кровоснабжение органов связан с их влиянием на синтез эстрогенов и прогестерона, которые в свою очередь участвуют в регуляции тонуса сосудов (Дедух Н.В., 2016).

Адреналин и норадреналин – катехоламины, которые выделяются надпочечниками в ответ на стрессовые ситуации. Они оказывают влияние на многие органы и системы, включая и кровоснабжение репродуктивных органов (Фигурин К.В., 2016). Адреналин может вызывать сужение сосудов яичников и матки, что приводит к снижению их кровоснабжения (Фигурин К.В., 2016). Норадреналин, напротив, способен увеличивать кровоснабжение этих органов за счет расширения сосудов (Фигурин К.В., 2016).

Механизм воздействия катехоламинов на сосудистый тонус репродуктивных органов связан с активацией адренорецепторов на гладких мышечных клетках сосудов. Возбуждение  $\alpha$ -адренорецепторов приводит к активации фосфолипазы С, которая катализирует гидролиз фосфатидил-инозитола и образование инозитол-трифосфата и диацилглицерина. Инозитол-трифосфат вызывает высвобождение кальция из саркоплазматического ретикулума, что приводит к сокращению гладкой мускулатуры сосудистых стенок и сужению просвета сосудов (Макушева О.В., 2010). Возбуждение  $\beta$ -

адренорецепторов приводит к расширению сосудов матки и яичников благодаря увеличению уровня циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) в клетках гладких мышц сосудов (García-Sánchez A. Et al., 2012). Циклический аденозинмонофосфат является вторичным мессенджером, который активирует протеинкиназу А и далее фосфорилирует белки, ответственные за сокращение гладких мышц, такие как миозин-легкая цепь киназы (МЛЦК) и филамент актина. Под воздействием цАМФ фосфорилирование МЛЦК уменьшается, что приводит к расслаблению гладких мышц и расширению сосудов (García-Sánchez A. Et al., 2012).

Исследования также показали, что активация  $\beta$ -адренорецепторов может вызывать увеличение продукции оксида азота в эндотелии сосудов. Этот механизм также способствует расслаблению гладких мышц и расширению сосудов (Moncada S. Et al., 1991). Кроме того, катехоламины могут влиять на выделение гормонов репродуктивной системы, таких как эстрогены и прогестерон, которые в свою очередь также влияют на кровоснабжение органов (Фигурин К.В., 2016).

Важным фактором, который может привести к изменению маточного и овариального кровотока является воспалительный процесс репродуктивных органов (Захарова Е.В., 2019). Он может влиять на тонус сосудов матки и яичников, вызывая их сужение или расширение в зависимости от стадии воспаления и типа воспалительного агента. Воспаление может привести к активации иммунной системы и продукции ряда цитокинов, например, интерлейкин-1 (IL-1), интерлейкин-6 (IL-6), простагландин E2 (PGE2) и фактор некроза опухоли (TNF- $\alpha$ ), которые могут вызвать изменения в сосудистом тонусе (Shynlova, O., 2014).

IL-1, IL-6 и TNF- $\alpha$  могут увеличить продукцию оксида азота II в эндотелиоцитах сосудов матки и яичников, что приводит к расширению сосудов за счет активации гуанилатциклазы и увеличения уровня циклического гуанозинмонофосфата (сGMP) (Tsafiriri A., 1990). Однако, при длительном



воспалении и повышенной продукции свободных радикалов NO может вступать в реакцию с ними, образуя пероксинитрит, что приводит к активации Rho-киназы, увеличению уровня циклического аденозинмонофосфата (сАМФ) и сужению сосудов (Kanashiro, C.A., 2000).

Простагландин E2 синтезируется из арахидоновой кислоты в эндотелиоцитах и других клетках, таких как макрофаги и фибробласты, в ответ на различные стимулы, включая воспаление и травму (Мартин А., 2010). PGE2 оказывает двойственное воздействие на сосудистый тонус: в низких концентрациях он может вызывать вазодилатацию, в то время как в высоких концентрациях он может приводить к вазоконстрикции (Реган С.Л., 2003).

Механизм вазодилатации, вызванной PGE2, связан с его способностью активировать аденилатциклазу в эндотелиальных клетках и стимулировать образование циклического аденозинмонофосфата (циклического АМФ) (Хоффманн Д., 2002). Циклический АМФ, в свою очередь, активирует протеинкиназу А, которая фосфорилирует и активирует специфический калиевый канал в гладких мышцах сосудов. Это приводит к гиперполяризации клетки и снижению уровня свободного кальция в цитозоле, что снижает сосудистый тонус и приводит к вазодилатации.

Однако, в высоких концентрациях PGE2 может приводить к вазоконстрикции. Это связано с его способностью вызывать активацию тромбоксановых рецепторов (ТР), что усиливает сокращение гладкой мышцы сосудов (Реган С.Л., 2003).

Кроме того, воспалительные процессы могут вызывать активацию симпатической нервной системы и повышение уровня катехоламинов, таких как адреналин и норадреналин. Эти вещества могут связываться с  $\alpha$ - и  $\beta$ -адренорецепторами сосудистой стенки матки и яичников, вызывая сужение или расширение сосудов в зависимости от типа рецепторов (Shynlova, O., 2014).

#### 1.4 Влияние гранулезных клеток на репродуктивную функцию у женщин

Одну из ключевых ролей в созревании ооцита играет взаимодействие соматических клеток, окружающих его, включая гранулезные и, так называемые, кумулюсные клетки (Gilchrist et al., 2004). Хотя гранулезные и кумулюсные клетки имеют общее происхождение с гистологической точки зрения, они выполняют различные функции.

Гранулезные клетки – отвечают, в частности, за выработку эстрогена и участвуют в регуляции влияния фолликулостимулирующего гормона, которые необходимы для развития фолликула (Hsueh et al., 2015; Richards and Pangas, 2010). Недавние исследования показали, что гранулезные клетки напрямую влияют на качество яйцеклеток, поскольку они продуцируют ряд факторов роста и других сигнальных молекул, такие как эстроген, прогестерон, ингибин и активин, которые регулируют различные аспекты оогенеза, включая рост фолликула и дифференциацию ооцитов (El-Hayek et al., 2018).

Известно, что эстрогены, в частности, эстрадиол, вырабатываются в гранулезных клетках в ответ на их стимуляцию фолликулостимулирующим гормоном. Он выполняет важную роль в процессе мейоза, способствуя правильному распределению хромосом (Bulun, 2018). Концентрация эстрогенов достигает максимальных значений к моменту овуляции как раз благодаря их синтезу гранулезными клетками. Затем, после овуляции, уровень данных гормонов снижается, гранулезные клетки фолликула дифференцируются в клетки желтого тела и начинают вырабатывать прогестерон (Etuh, F.E., 2017). Этот гормон играет важную роль в поддержании беременности, помогая подготовить эндометрий матки для приема оплодотворенной яйцеклетки и затем поддерживает беременность в течение первых месяцев, пока плацента не сможет самостоятельно вырабатывать достаточное количество гормонов. Если беременность не наступает, то уровень прогестерона снижается, что приводит к обратному развитию желтого тела и началу нового менструального цикла (Knobil, E., 2006).

Ингибин и актин – это два важных белка, которые также вырабатываются гранулезными клетками и участвуют в процессе оогенеза. Ингибин – это гликопротеин, который синтезируется клетками гранулезы внутри фолликула и выделяется в кровоток для регуляции уровня ФСГ в организме по принципу обратной связи (Campbell et al., 2018). Механизм взаимодействия ингибина с ФСГ следующий: при повышенном уровне ингибина в крови он взаимодействует с тканевыми рецепторами, которые расположены на поверхности гипофиза что приводит к уменьшению выделения ФСГ (Shi, J., 2019).

Актин – белок, который является важным компонентом цитоскелета и является необходимым для правильного морфологического развития яйцеклеток. Гранулезные клетки вырабатывают актин во время оогенеза для поддержки морфологических изменений, которые происходят во время роста и дифференциации фолликулов (Motro, 1998). Актин участвует в образовании специализированных структур, таких как микроворсинки, которые помогают яйцеклетке перемещаться внутри фолликула и позже – через фаллопиевы трубы в матку (Alberts et al., 2015).

Другая группа соматических клеток – кумулюсные клетки или клетки яйценосного бугорка, также выполняют значимую роль в процессе оогенеза и поддержке репродуктивной функции у женщин. Они также, как и гранулезные клетки способны синтезировать и выделять эстрогены, которые играют важную роль в развитии и росте фолликула, а также в поддержании гормонального баланса в организме женщины. Помимо этого, данные клетки имеют множество митохондрий, которые производят энергию в виде АТФ, необходимой для обеспечения метаболических потребностей ооцита (Albertini et al., 2001).

Кумулюсные клетки синтезируют и выделяют внутрь фолликула различные питательные вещества, такие как глюкоза, пируват, лактат, аминокислоты и витамины, которые необходимы для обеспечения энергетических потребностей созревающей яйцеклетки (Sugiura et al., 2005). Кроме того, кумулюсные клетки

обеспечивают ооцит газами, такими как кислород и CO<sub>2</sub> необходимыми для аэробного метаболизма (Gilchrist et al., 2008).

Современные исследования сосредоточены на изучении апоптоза гранулезных клеток и его влияние на процессы оогенеза. Апоптоз – это строго регулируемый процесс запрограммированной клеточной гибели, который играет решающую роль в поддержании нормального тканевого гомеостаза (El-Shitany N.A., 2018). В женской репродуктивной системе апоптоз гранулезных клеток является естественным явлением, которое происходит на протяжении всего фолликулогенеза и имеет важное значение для правильного развития яйцеклеток. Однако аберрантный или чрезмерный апоптоз гранулезных клеток может оказывать пагубное воздействие на репродуктивную систему и оогенез (Liu, J., 2019).

На апоптоз гранулезных клеток может влиять несколько факторов, включая гормоны, окислительный стресс и воспаление (El-Shitany et al., 2018). Фолликулостимулирующий гормон и лютеинизирующий гормон являются важнейшими регуляторами выживания гранулезных клеток и апоптоза. ФСГ связывается со своим специфическим рецептором на поверхности гранулезных клеток, который представляет собой рецептор, связанный с G-белком (GPCR) (Richards et al., 2018). При связывании данный рецептор претерпевает конформационные изменения, которые активируют внутриклеточные сигнальные пути (Richards et al., 2018). Одним из таких сигнальных путей является путь циклического аденозинмонофосфата (цАМФ). цАМФ активирует протеинкиназу А (ПКА), которая, в свою очередь, фосфорилирует и активирует белок, связывающий элементы реакции цАМФ (CREB) (Richards et al., 2018). Активированный CREB транслицируется в ядро и регулирует транскрипцию различных генов, участвующих в функционировании гранулезных клеток, включая те, которые регулируют апоптоз (Richards et al., 2018).

ФСГ способствует выживанию гранулезных клеток путем ингибирования апоптоза. Исследования показали, что передача сигналов ФСГ через путь цАМФ

ингибирует экспрессию проапоптотических генов, таких как каспаза-3 и Вах, и повышает экспрессию антиапоптотических генов, таких как Bcl-2 и сурвивин (Richards et al., 2018). ФСГ также регулирует экспрессию инсулиноподобного фактора роста-1 (IGF-1) и интерлейкина-6 (IL-6), которые способствуют выживанию гранулезных клеток (Chen et al., 2019).

ЛГ по аналогии с ФСГ регулирует апоптоз клеток гранулезы в основном в желтом теле. ЛГ связывается со своим рецептором, который представляет собой рецептор, связанный с G-белком (GPCR), экспрессируемый на поверхности гранулезных клеток желтого тела (Fiedler and Devoto, 2018). При связывании рецептор ЛГ претерпевает конформационные изменения, активирует аденилилциклазу, которая превращает АТФ в циклический аденозинмонофосфат (цАМФ). цАМФ активирует протеинкиназу А, которая, в свою очередь, фосфорилирует и активирует различные нижестоящие мишени, включая факторы транскрипции, ионные каналы и ферменты, регулирующие активность про- и антиапоптотических белков (Fiedler and Devoto, 2018). ЛГ повышает экспрессию антиапоптотических белков, таких как Bcl-2, и снижает экспрессию проапоптотических белков, таких как Вах и каспаза-3 (Фидлер и Девото, 2018). ЛГ также регулирует экспрессию инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF-1) и фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), которые способствуют выживанию гранулезных клеток (Devoto et al., 2017).

В нескольких исследованиях изучалось влияние окислительного стресса на апоптоз гранулезных клеток. Окислительный стресс – это состояние, при котором нарушается баланс между выработкой активных форм кислорода (АФК) и системой клеточной антиоксидантной защиты, что приводит к повреждению клеточных компонентов, липиды и белки (Jiang et al., 2020).

В эксперименте обработка гранулезных клеток  $H_2O_2$ , АФК-генерирующим агентом, увеличивала экспрессию проапоптотических белков Вах и каспаза-3, и снижала экспрессию антиапоптотического белка Bcl-2 (Zhang et al., 2017). Исследователи также наблюдали увеличение фрагментации ДНК, отличительного

признака апоптоза, в клетках, обработанных  $H_2O_2$ . Также известно, что воздействие на гранулезные клетки высоких уровней глюкозы, которые могут индуцировать окислительный стресс, приводило к увеличению апоптоза за счет активации каспазы-3 (Yang et al., 2019).

Механизмы, посредством которых окислительный стресс индуцирует апоптоз в гранулезных клетках, до конца не изучены, но было установлено, что в этом процессе задействовано несколько путей. Одним из основных механизмов является активация митохондриального пути, который включает высвобождение цитохрома-С из митохондрий и последующую активацию каспазы-3 (González-Fernández et al., 2021). АФК также могут активировать стрессовый путь эндоплазматического ретикулума (ЭР), что приводит к накоплению неправильно свернутых белков в ЭР и активации реакции неструктурированного белка (unfolded protein response, UPR). UPR может индуцировать апоптоз, при длительном действии или чрезмерной активности стрессового фактора (Li et al., 2019). Кроме того, окислительный стресс может активировать сигнальный путь митоген-активируемой протеинкиназой, который регулирует выживание клеток и апоптоз посредством регуляции про- и антиапоптотических белков, таких как Bcl-2 и BAX (Meng et al., 2021).

Немаловажным фактором, влияющим на апоптоз клеток гранулезы является воспалительный процесс в женских половых органах, который включает в себя активацию различных иммунных клеток, цитокинов и хемокинов, которые могут привести к повреждению тканей и нарушению их функции (Shi et al., 2017). Воспалительные цитокины, такие как фактор некроза опухоли-альфа ( $TNF-\alpha$ ) и интерлейкин-1 бета ( $IL-1\beta$ ), могут индуцировать апоптоз в гранулезных клетках (Li et al., 2017; Shi et al., 2017).

Фактор некроза опухоли-альфа ( $TNF-\alpha$ ) – это провоспалительный цитокин, который индуцирует апоптоз в гранулезных клетках посредством активации сигнального пути ядерного фактора-каппа В ( $NF-\kappa B$ ) (Li, R., 2016).

При взаимодействии TNF- $\alpha$  с рецептором TNF 1 (TNFR1) на поверхности гранулезных клеток происходит рекрутирование внутриклеточных адаптерных белков, таких как TNFR-ассоциированный домен смерти (TRADD) и TNFR-ассоциированный фактор 2 (TRAF2) (Li, R., 2016). Это приводит к активации комплекса ИкВ-киназы (IKK), который, в свою очередь, фосфорилирует и разрушает ингибитор NF- $\kappa$ B (I $\kappa$ B) (Li, R., 2016). Деградация ИкВ обеспечивает транслокацию фактора транскрипции NF- $\kappa$ B из цитоплазмы в ядро, где он может активировать транскрипцию различных генов-мишеней, которые кодируют различные проапоптотические белки, такие как лиганд Fas и Bim, которые в свою очередь приводят к активации каскада каспаз и апоптозу (Li, R., 2016).

В дополнение к пути NF- $\kappa$ B, TNF- $\alpha$  может также активировать путь митоген-активируемой протеинкиназы (MAPK), включая путь c-Jun N-концевой киназы (JNK), который может индуцировать апоптоз в гранулезных клетках посредством ингибирования синтеза антиапоптотических белков Bcl-2 и Bcl-xL (Li, R., 2018).

Интерлейкин-1 бета (IL-1 $\beta$ ) – это провоспалительный цитокин, который способен индуцировать апоптоз в гранулезных клетках. Одним из основных сигнальных путей, активируемых IL-1 $\beta$ , является путь ядерного фактора каппа-B (NF- $\kappa$ B) (Liu et al., 2015). При связывании IL-1 $\beta$  с его специфическим рецептором (IL-1R1) внутриклеточный домен IL-1R1 рекрутирует белок-адаптер MyD88, который, в свою очередь, рекрутирует IL-1R-ассоциированную киназу (IRAK) и фактор 6, ассоциированный с рецептором фактора некроза опухоли (tumor necrosis factor receptor-associated factor 6, TRAF6) (Liu et al., 2015). Этот комплекс активирует комплекс ИкВ-киназы (IKK), который фосфорилирует и разрушает ИкВ, ингибитор NF- $\kappa$ B (Liu et al., 2015). Дальнейший механизм развития апоптоза идентичен воздействию TNF- $\alpha$  на гранулезную клетку.

В дополнение к пути NF- $\kappa$ B, IL-1 $\beta$  может также, как и TNF- $\alpha$ , активировать пути митоген-активируемой протеинкиназы (MAPK), включая пути JNK и p38, которые вовлечены в апоптоз гранулезных клеток (Liu et al., 2015).

Помимо вышеуказанных цитокинов необходимо отметить, что выработка активных форм кислорода (АФК), которая является общим признаком воспаления, также может индуцировать апоптоз в гранулезных клетках по механизму, который уже был описан выше (Li et al., 2017).

Большинство авторов сходятся во мнении, что механизм индукции и реализации апоптоза гранулезных клеток изучен не всесторонне (Liu, C., 2015; Li, R., 2018; Shi, J., 2017). Однако без сомнений этот процесс влияет на женскую репродуктивную систему (Bentov, Y., 2013). Когда происходит чрезмерный апоптоз гранулезных клеток, целостность фолликула яичника может быть нарушена, что приводит к истощению фолликулов и, в конечном счете, к нарушению процессов оогенеза и фолликулогенеза (Li et al., 2017). Это может привести к нарушению развития ооцита, хромосомным аномалиям, снижению потенциала оплодотворения, выкидышам и преждевременной недостаточности яичников (Bentov, Y., 2013).

### **1.5 Матриксные металлопротеиназы -1,-9,-19, тканевые ингибиторы и их роль в репродуктивной системе у женщин**

Матриксные металлопротеиназы (ММП) представляют собой семейство ферментов, участвующих в деградации структурных элементов межклеточного матрикса (ММ). Эти ферменты играют существенную роль в биологических процессах, как физиологических, так и патологических, например, метастазирование опухолей, стимуляция ангиогенеза и реконструкция тканей (Иванова А.П., 2019).

Матриксная металлопротеиназа 1 (ММП-1, внутритканевая коллагеназа) является одним из ключевых ферментов данной группы. Она играет ключевую роль в процессах заживления ран, ангиогенезе и эмбриональном развитии, а также в ряде патологических процессах, например, инвазия рака и метастазирование (Rocks, N., et al., 2018). ММП-1 экспрессируется различными типами клеток, включая фибробласты, эндотелиальные клетки и макрофаги (Mott, J.D., Werb, Z.,



2004). Её экспрессия регулируется различными цитокинами и факторами роста, такими как фактор некроза опухоли-альфа (TNF- $\alpha$ ) и трансформирующий фактор роста-бета (TGF- $\beta$ ) (Barker, H.E., et al., 2012). ММП-1 способна разрушать коллаген типов I, II и III, а также протеогликаны и фибронектин (Liu, S., et al., 2015). Активность этого белка жестко регулируется эндогенными ингибиторами – тканевыми ингибиторами металлопротеиназ (TIMPs) (Murphy, G., Nagase, H., 2011). Извращенная экспрессия и активность ММП-1 была вовлечена в различные патологические процессы, такие как рак, артрит и сердечно-сосудистые заболевания (Huang, W., et al., 2018). Ряд исследователей рассматривают ММП-1 в качестве потенциальной терапевтической мишени для лечения этих заболеваний (Purushothaman, A., et al., 2018).

Матриксная металлопротеиназа-9 (ММП-9, желатиназа-В) является еще одним членом семейства ферментов цинк-зависимой эндопептидазы, которое играет решающую роль в различных физиологических и патологических процессах (Cauwe, B., Opdenakker, G., 2010). Она экспрессируется широким спектром типов клеток, включая нейтрофилы, макрофаги, фибробласты и эндотелиальные клетки (Mott, J.D., Werb, Z., 2004). ММП-9 участвует в деградации коллагена IV типа, ламинина и эластина. (Rocks, N., et al., 2018). Её активность регулируется различными факторами, включая цитокины, факторы роста и межклеточные взаимодействия (Murphy, G., Nagase, H., 2011).

В дополнение к его физиологическим функциям, аберрантная экспрессия и активность ММП-9 были вовлечены в патогенез многих заболеваний, таких как рак, атеросклероз и неврологические расстройства (Huang, W., et al., 2018). В литературе ММП-9, также, как и ММП-1, рассматривается в качестве потенциальной терапевтической мишени для лечения этих заболеваний. Было разработано несколько стратегий ингибирования активности ММП-9, включая использование синтетических ингибиторов и природных соединений (Purushothaman, A., et al., 2018).

Матриксная металлопротеиназа-19 (ММП-19, стромелизин-4) является членом семейства ферментов матриксных металлопротеиназ, которые участвуют в деградации и ремоделировании белков межклеточного матрикса (Nagase, H., et al., 2006). Она экспрессируется в различных тканях и способна разрушать коллаген типов I, II и IV, а также активировать цитокины и факторы роста, например, фактор некроза опухоли- $\alpha$  и трансформирующий фактор роста- $\beta$  (Nagase, H., et al., 2006). Активность ММП-19 регулируется различными цитокинами, факторами роста и другими белками (Murphy, G., Nagase, H., 2011). Чрезмерная и извращенная экспрессия и активность данного белка были вовлечены в патогенез различных заболеваний, таких как рак, артрит и нейродегенеративные расстройства (Xie, Y., et al., 2016).

В последних исследованиях было показано, что три члена семейства ММП, ММП-1, -9 и -19, и их тканевые ингибиторы выполняют важные функции в различных аспектах репродуктивной системы у женщин, включая процессы оогенеза и фолликулогенеза, а также различные патологические процессы (Chen, H., 2017).

Матриксная металлопротеиназа-1 является ключевым игроком в процессе фолликулогенеза и оогенеза в женской репродуктивной системе (Koskimies, P., et al., 2005). ММП-1 экспрессируется гранулезными клетками и отвечает за деградацию базальной мембраны фолликула, что позволяет высвободить зрелые яйцеклетки во время овуляции (Hogg, K., et al., 2018). Также данный белок участвует в регуляции стероидогенеза яичников и ангиогенеза, которые необходимы для роста и созревания фолликула (Koskimies, P., et al., 2005). ММП-1 активирует факторы роста – трансформирующий фактор роста- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) и инсулиноподобный фактор роста-1 (IGF-1), которые играют критическую роль в развитии фолликулов и овуляции (Hogg, K., et al., 2018).

Установлено, что при различных репродуктивных нарушениях, таких как синдром поликистозных яичников (СПКЯ) и преждевременная недостаточность яичников (ПНЯ) изменялась экспрессия и активность ММП-1 (Qin, Y., et al.,

2014). При СПКЯ повышается экспрессия ММП-1, что способствует нарушению роста и развития фолликулов и овуляторной дисфункции (Chen, Y., et al., 2013). При ПНЯ экспрессия ММП-1 снижается, что приводит к чрезмерному росту фолликулов и снижению качества яйцеклеток (Gong, Y., et al., 2015).

Матриксная металлопротеиназа-1 также участвует в ремоделировании межклеточного матрикса в эндометрии во время менструального цикла и имплантации (Demir-Weusten, A. Y., 2005). Активность ММП-1 регулируется эстрогеном и прогестероном (Demir-Weusten, A. Y., et al., 2005). Эстроген усиливает экспрессию ММП-1, в то время как прогестерон – подавляет, что приводит к балансу активности данного белка во время менструального цикла. В пролиферативной фазе менструального цикла повышается экспрессия ММП-1, что способствует пролиферации стромальных клеток эндометрия и ремоделированию внутриклеточного матрикса. На секреторной фазе экспрессия снижается, что способствует подготовки эндометрия к имплантации.

Во время имплантации ММП-1 участвует в деградации ММ в месте имплантации, что способствует проникновению трофобласта в строму эндометрия (Demir-Weusten, A. Y., et al., 2005). Нарушение активности ММП-1 связано с эндометриозом, привычным невынашиванием беременности и преждевременными родами (Wang, Y., et al., 2019). При эндометриозе повышается экспрессия ММП-1, что способствует инвазии клеток эндометрия в окружающие ткани. При повторных выкидышах и преждевременных родах снижение активности ММП-1 приводила к нарушению ремоделирования ММ и снижением восприимчивости эндометрия.

Матриксная металлопротеиназа-9 – фермент, также участвующий в расщеплении компонентов межклеточного матрикса при фолликулогенезе, обеспечивая расширение фолликула и высвобождение яйцеклетки (Rodrigues, P. Et al., 2018). ММП-9 также участвует в отслоении кумулюсных клеток от яйцеклетки во время овуляции, что необходимо для выхода яйцеклетки из фолликула (Rodrigues, P. Et al., 2018). В ряде исследований установлено,

ингибирование активности ММП-9 в кумулюсных клетках приводит к нарушению созревания и оплодотворения яйцеклетки (Bromer, J. G. Et al., 2011).

Более того, нарушение регуляции активности ММП-9 связано с различными репродуктивными патологиями, такими как синдром поликистозных яичников (СПКЯ) и рак яичников (Rodrigues, P. Et al., 2018). При СПКЯ повышенная активность ММП-9 связана с развитием кистозных фолликулов. При раке яичников повышается экспрессия ММП-9, что способствует инвазии опухоли и метастазированию (Rodrigues, P. Et al., 2018).

ММП-9 также экспрессируется в эндометрии во время менструального цикла (Liu, S. Et al., 2019). Было показано, что ММП-9 активируется в поздней пролиферативной фазе и ранней секреторной фазе менструального цикла, что соответствует периоду быстрого роста и дифференцировки эндометрия. Более того, экспрессия ММП-9 снижается во время менструальной фазы, которая характеризуется десквамацией ткани эндометрия (Zhang, J. Et al., 2018).

Нарушение регуляции активности ММП-9 в эндометрии связано с эндометриозом, бесплодием и привычным невынашиванием беременности (Liu, S. Et al., 2019). При эндометриозе повышается экспрессия ММП-9, что способствует инвазии и пролиферации ткани эндометрия за пределами матки (Liu, S. Et al., 2019). При бесплодии снижение экспрессии ММП-9 в эндометрии связано с нарушением имплантации и снижением частоты наступления беременности (Liu, S. Et al., 2019). При повторном выкидыше повышенная активность ММП-9 связана с аномальной плацентацией и повторной потерей беременности (Liu, S. Et al., 2019).

Матриксная металлопротеиназа-19 ещё один член семейства матриксных металлопротеиназ, которые экспрессируется в яичниках и, как предполагается, участвует в процессах фолликулогенеза и оогенеза (Lin, T., 2018).

Известно, что ММП-19 экспрессируется в гранулезных клетках, и обеспечивает необходимую поддержку во время развития ооцита (Lin, T., 2018).

Этот белок участвует в регуляции передачи сигналов фолликулостимулирующего гормона, который, как уже было сказано ранее, играет решающее значение для роста фолликулов и созревания яйцеклеток (Lin, T. Et al., 2018). Рядом исследователей высказано предположение, что ММП-19 участвует в процессе разрыва фолликула при овуляции, так как установлено, что экспрессия матриксной металлопротеиназы-19 повышается в перивуляторный период, который соответствует времени, когда зрелый фолликул разрывается и высвобождает яйцеклетку (Lin, T. Et al., 2018). Более того, ММП-19 вовлечена в регуляцию созревания яйцеклеток. Было показано, что у мышей дефицит данного белка ухудшает оогенез и уменьшает количество жизнеспособных яйцеклеток (Lu, C. Et al., 2017).

ММП-19 также экспрессируется в эндометрии (Liu, X. Et al., 2019). Исследования показали, что она участвует в процессах имплантации эмбриона, активируясь во время окна имплантации, короткого периода в течение менструального цикла, когда эндометрий восприимчив к имплантации эмбриона (Liu, X. Et al., 2019). Также высказано предположение, что ММП-19 участвует в процессе восстановления эндометрия после менструации. В исследовании на мышах было показано, что ММП-19 участвует в выведении апоптотических клеток и последующем процессе восстановления тканей (Kaitu'u-Lino, T. Et al., 2011). Кроме того, аномальная экспрессия или активность матриксной металлопротеиназы-19 была связана с различными заболеваниями эндометрия, такими как эндометриоз и рак эндометрия (Kaitu'u-Lino, T. Et al., 2011).

Тканевые ингибиторы металлопротеиназ (TIMP) являясь эндогенными ингибиторами матриксных металлопротеиназ участвуют в регуляции фолликулогенеза и оогенеза, контролируя протеолитическую активность ММП, необходимую для развития фолликулов и созревания яйцеклеток (Hulboy, D.L. et al., 2001).

TIMP регулирует ремоделирование межклеточного матрикса яичников во время развития фолликулов и вовлечены в созревание яйцеклеток (Soyal, S.M.,

2000). Исследование на мышах показало, что TIMP-1 и TIMP-2 участвуют в возобновлении мейоза ооцитов, что является важным этапом их созревания (Liu, X. Et al., 2021). Также было обнаружено, что TIMP-1 и TIMP-2 ингибируют активность соответствующих металлопротеиназ, тем самым регулируя деградацию компонентов межклеточного матрикса фолликула, что необходимо для нормального созревания яйцеклеток (Soyal, S.M., 2000).

Кроме того, aberrantная экспрессия TIMP была связана с различными репродуктивными нарушениями, такими как синдром поликистозных яичников и рак яичников (Soyal, S.M., 2000). Исследования показали, что повышенная экспрессия TIMP-1 связана с развитием СПКЯ, а снижение экспрессии TIMP-3 было связано с развитием рака яичников (Liu, X., 2021).

Ингибиторы тканевой металлопротеиназы также играют роль в регуляции ремоделирования межклеточного матрикса в эндометрии (Chen, H., 2019). TIMP участвуют в регуляции восприимчивости эндометрия, что является решающим фактором для успешной имплантации эмбриона. Исследование образцов ткани эндометрия показало, что экспрессия TIMP-1 и TIMP-2 значительно повышается в течение периода имплантации, что позволяет предположить, что эти ингибиторы играют роль в регулировании сроков имплантации (Huang, H. Et al., 2020). Кроме того, исследования показали, что TIMP-2 способствует ангиогенезу в эндометрии путем ингибирования MMP-2 и MMP-9, что играет существенную роль в его нормальном функционировании и восстановлении (Zhang, Y., 2020).

Кроме того, нарушение регуляции экспрессии некоторых видов TIMP было связано с несколькими репродуктивными расстройствами, такими как эндометриоз и рак эндометрия. Эндометриоз связан чрезмерной экспрессией TIMP-1, а снижение экспрессии TIMP-3 было связано с развитием рака эндометрия (Yu, L. Et al., 2019).

## ГЛАВА 2

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

#### 2.1. Объект и предмет исследования

Диссертационная работа включала в себя клиническую и экспериментальную части. Экспериментальная часть была выполнена на базе лаборатории кафедры патофизиологии, клинической патофизиологии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России и лаборатории клеточных технологий Научного центра инновационных лекарственных средств с опытно-промышленным производством ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. Клиническая часть была выполнена на базе отделения вспомогательных репродуктивных технологий Многопрофильной Клиники №1 ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России и лаборатории клеточных технологий Научного центра инновационных лекарственных средств с опытно-промышленным производством ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. Исследования были одобрены локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России (справка № 2021/53 от 27.05.2021).

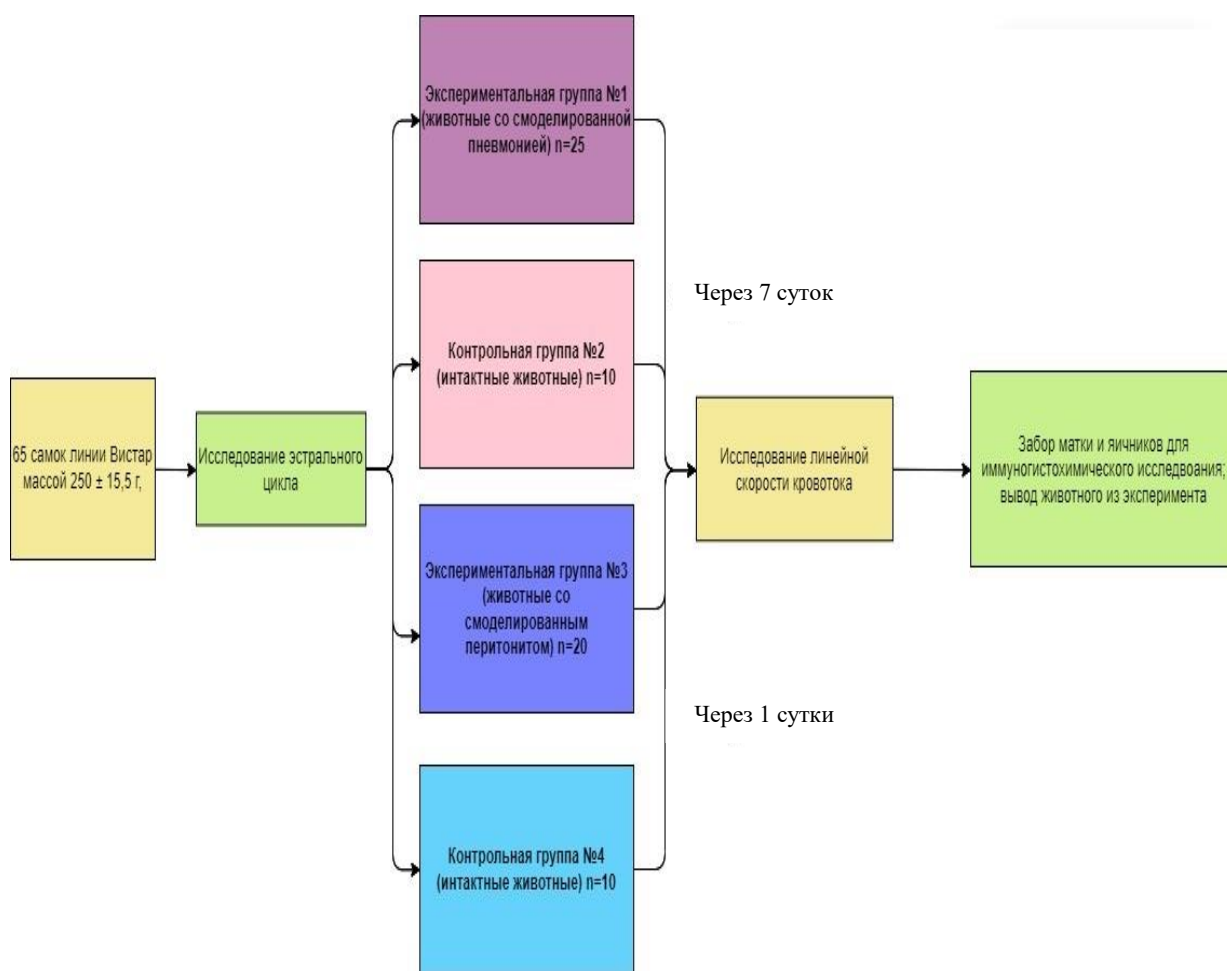
Экспериментальная часть исследования была выполнена на самках крыс линии Вистар (65 особей) массой  $250 \pm 15,5$  г, поделенных на 4 группы, как показано на рисунке 2.1. Животные содержались в стандартных условиях вивария согласно правилам GLP при проведении доклинических исследований в РФ (Приказ Минздрава России от 01.04.2016 №199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики»), с соблюдением требований Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964 г) и этических принципов Европейского научного фонда (ESF).

Все животные в экспериментальных и контрольных группах получали полноценное и сбалансированное питание. Ежедневно в течение 7 суток всем крысам брались влагалищные смывы 0,3 мл физиологического раствора с дальнейшим их окрашиванием 0,5% раствором метиленового синего и

микроскопированием (микроскоп «Биомед», увеличение 200) для определения стадии эстрального цикла. При этом оценивали типы клеток, их количество и морфологию. В стадию проэструса у крыс наблюдалось увеличение количества клеток эпителия с ядром и лейкоцитов, умеренное количество слизи; эструс характеризовался высоким содержанием безъядерных эпителиальных клеток, обилием слизи и отсутствием лейкоцитов; метаэструс характеризовался снижением числа эпителиальных клеток и слизи, появление единичных лейкоцитов; стадия диэструса характеризовалась единичным числом эпителиальных клеток и лейкоцитов, малым содержанием слизи. Последующее исследование у всех крыс осуществлялось в стадию диэструса.

Возраст всех крыс на момент исследования составлял  $12 \pm 1$  месяц. Всех крыс разделили на 4 группы. Формирование групп для проведения эксперимента осуществлялось путем случайного подхода, используя метод «конвертов». В первую экспериментальную группу вошли 25 животных со смоделированной пневмонией путем чрескожного введения в паренхиму легких 0,4 мл дважды профильтрованной через тройной слой стерильной марли взвеси аутокала в физиологическом растворе в разведении 1:10 (Рогова Л.Н., 2021). Вторая группа – контрольная, куда вошли, содержащиеся в виварии наряду с первой группой животных, на которых не моделировали патологию (10 крыс). Третья группа – 20 крыс со смоделированным перитонитом путем интраперитонеального введения 1 мл 7% аутокаловой взвеси в физиологическом растворе с 1 каплей скипидара (Дзюбенко Н.Ю., 1999) Четвертая группа – контрольная, куда вошли, содержащиеся в виварии наряду с третьей группой животных, на которых не моделировали патологию (10 крыс).





**Рисунок 2.1** – Схема экспериментальной части исследования

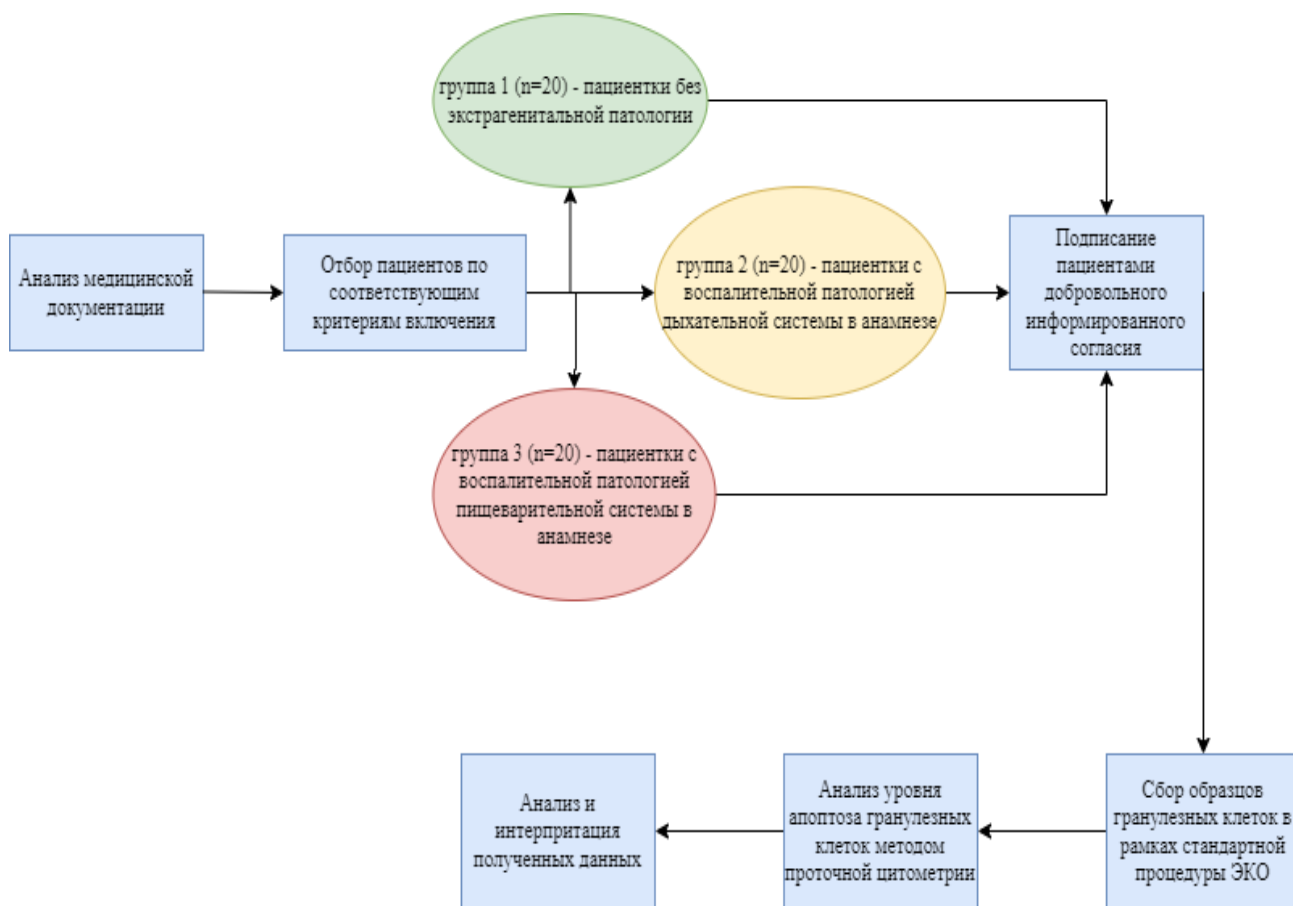
Через 1 сутки в 3 экспериментальной группе и 1 контрольной группе и на через 7 суток в 1 экспериментальной группе и 2 контрольной группе для оценки влияния смоделированной патологии на изменения кровоснабжения органов репродуктивной системы изучали линейную и объемную скорости кровотока в маточной артерии в исходном состоянии и при применении фармакологически активных веществ для определения вазодилатирующей функции эндотелия, согласно схеме на рисунке 2.2. После этого животных выводили из эксперимента, путем введения летальной дозы хлоральгидрата, предварительно осуществив забор матки и яичников для гистологического и иммуногистохимического исследования.

Алгоритм определения скорости кровотока в маточной артерии у животных экспериментальных и контрольных групп по схеме:

1. Наркотизация животного, катетеризация яремной вены.
2. Измерение линейной скорости кровотока в маточной артерии.
3. Введение ацетилхолина через катетеризированную яремную вену.
4. Повторное измерение линейной скорости кровотока в маточной артерии.
5. Введение L-NAME через катетеризированную яремную вену.
6. Очередное измерение линейной скорости кровотока в маточной артерии.

**Рисунок 2.2** – Схема исследования скорости кровотока в маточной артерии

Клиническая часть исследования представляла собой анализ образцов гранулезных клеток 60 пациенток, проходивших лечение бесплодия методами ВРТ в Клинике №1 ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России в период с 2021 по 2022 год.



**Рисунок 2.3.** – Схема клинической части исследования

После анализа первичной медицинской документации в исследование было включено 60 женщин репродуктивного возраста, которые соответствовали следующим критериям включения:

- возраст 20–45 лет;
- наличие в анамнезе подтвержденного хронического воспалительного заболевания пищеварительной системы (гастриты, дуодениты, язвенная болезнь желудка и (или) двенадцатиперстной кишки, панкреатиты) или воспалительного заболевания дыхательной системы (хроническая патология — хронические бронхиты или частая острая патология (более 4 раз в год) — ОРВИ, грипп, бронхит, ларингит, трахеит, пневмония), для контрольной группы отбирались пациентки без экстрагенитальной патологии в анамнезе;
- период предшествующего бесплодия не менее года;
- наличие в анамнезе подтвержденного трубного фактора бесплодия;

- наличие подписанного информированного добровольного согласия пациента на участие в исследовании.

Из исследования исключались женщины, имеющие в анамнезе наследственные, онкологические заболевания, отказавшиеся от подписания добровольного информированного согласия, а также лица из социально незащищенных групп населения.

Для выявления причин бесплодия всем пациенткам проводилось стандартное клинико-лабораторное обследование, а также собиралась подробная информация о наличии экстрагенитальной патологии в анамнезе. Все лечебные циклы, включая стимуляцию овуляции и последующие медицинские процедуры, проводились в строгом соответствии с общепринятыми клиническими рекомендациями и протоколами (Коган И.Ю., 2020).

Образцы гранулезных клеток разделили, как указано на рисунке 2.3, на 3 исследуемые группы: 1 группа (n=20) – гранулезные клетки женщин, не имеющие экстрагенитальную патологию в анамнезе; 2 группа (n=20) – гранулезные клетки женщин, имеющие воспалительные заболевания дыхательной системы в анамнезе (хроническая патология – хронические бронхиты или частая острая патология (более 4 раз в год) – ОРВИ, грипп, бронхиты, ларингиты, трахеиты, пневмония); 3 группа (n=20) – гранулезные клетки женщин, имеющие воспалительные заболевания пищеварительной системы в анамнезе (хронические гастриты, хронические дуодениты, язвенная болезнь желудка и (или) двенадцатиперстной кишки, хронические панкреатиты).

Образцы гранулезных клеток были собраны из фолликулярной жидкости, полученной во время трансвагинальной пункции преовуляторных фолликулов. Клетки помещались в буферный раствор (гепарин 10 МЕ/мл, раствор альбумина человека, рекомбинантный инсулин человека, гентамицина сульфат 10 мкг/мл) и транспортировались в лабораторию для определения уровня апоптоза. Время от

момента забора образцов до проведения анализа в лаборатории не превышало 3 часов.

## **2.2. Методы исследования**

### **2.2.1. Метод моделирования пневмонии**

Животным первой экспериментальной группы моделировали пневмонию путём чрескожного введения в паренхиму лёгких 0,4 мл дважды профильтрованной через тройной слой стерильной марли взвеси аутокала в физиологическом растворе в пропорции 1:10 (Рогова Л.Н. с соавт., 2020). Такая доза патологического материала обеспечивает через 7 суток эксперимента развитие типичной морфологической картины острой пневмонии, которая идентифицировалась путем гистологического исследования образцов легочной ткани, взятых у животных после выведения из эксперимента. Моделирование проводилось в утренние часы натощак под анестезией Рометаром (2-3 мг на 1 кг массы животного).

### **2.2.2. Метод моделирования перитонита**

Животным третьей экспериментальной группы перитонит моделировали путем интраперитонеального введения 1 мл 7% аутокаловой взвеси в физиологическом растворе с 1 каплей скипидара. Данная методика приводит к формированию типичной морфологической картины перитонита спустя 24 часа после моделирования, которая идентифицировалась путем гистологического исследования образцов брюшины, взятых у животных после выведения из эксперимента. Моделирование проводилось в утренние часы натощак под анестезией Рометаром (2-3 мг на 1 кг массы животного).

### **2.2.3. Оценка современных методов измерения скорости кровотока в маточной артерии**

Оценка маточного кровотока имеет большое значение в клинической практике и экспериментальной медицине. В клинике она может использоваться

для диагностики заболеваний, связанных с нарушением кровоснабжения репродуктивных органов, таких как эндометриоз, миома матки, нарушения овуляции и другие. Она также может использоваться для оценки эффективности лечения этих заболеваний.

В экспериментальной медицине оценка кровотока является важным методом исследования, который позволяет изучать влияние различных патологических процессов, лекарственных препаратов и биологически активных веществ, а также методов лечения на кровообращение в репродуктивных органах.

Современные методы оценки маточного и овариального кровотока, по данным научной литературы, включают использование магнитно-резонансной ангиографии (МРА), лазерной доплеровской флоуметрии и доплерографии (Dijkhuizen et al., 2015). Последний метод используется наиболее часто при изучении влияния различных лекарственных препаратов и патологических процессов на органную кровотоки.

Допплерография является методом исследования кровотока, который основан на измерении изменений частоты звука, отраженного от движущихся эритроцитов (Черных Е.А., 2011). Допплерография может быть использована для оценки кровотока как в статических условиях, так и во время динамических процессов, таких как роды (Jung et al., 2020). Именно поэтому мы использовали именно этот метод при изучении изменения скорости маточного кровотока на фоне экспериментальной пневмонии и экспериментального перитонита.

На 2 сутки в 1 экспериментальной группе и 2 контрольной группе и на 8 сутки в 3 экспериментальной группе и 4 контрольной группе изучали линейную скорость кровотока в маточной артерии, согласно схеме, указанной на рисунке 2.2.

Животным, предварительно наркотизированным хлоралгидратом из расчёта 400 мг/кг массы, катетеризировали яремную вену, через которую вводили фармакологически активные вещества для определения сосудорегулирующей

функции эндотелия. В качестве фармакологически активных веществ использовали АХ (ацетилхолин хлорид, 0,01 мг/кг, Acrosorganics, США), стимулирующий локальное высвобождение эндотелием NO, и L-NAME (метилловый эфир L-нитроаргинина, 10 мг/кг, Acrosorganics, США), ингибирующий активность нитрооксидсинтаз. Линейную и объемную скорость кровотока измеряли на маточной артерии у разных особей с помощью высокочастотного ультразвукового доплерографа (Минимакс-Допплер-К, Санкт-Петербург). При доплерометрии использовали датчик с рабочей частотой 25 МГц, рабочую программу Minimax Doppler v.1.7, режим Микроциркуляция.

По результатам эксперимента оценивали реакции маточного кровотока (РМК) на вышеуказанные биологически активные вещества. С этой целью определяли максимальный прирост показателя линейной скорости при введении АХ (РМК (АХ)) и максимальное снижение показателя линейной скорости при введении L-NAME (РМК (L-NAME)) относительно исходных значений показателя гемокциркуляции. Оба показателя рассчитывали по формуле:  $РМК (АХ) = Лсмакс / Лсисх * 100 \%$ , (где Лсмакс – максимальное значение линейной скорости кровотока; Лсисх – исходное значение линейной скорости кровотока).  $РМК (L-NAME) = Лсмин / Лсисх * 100 \%$ , (где Лсмин – минимальное значение линейной скорости кровотока; Лсисх – исходное значение линейной скорости кровотока).

Степень прироста линейной скорости тока крови в маточной артерии при введении АХ в сравнении с последующим снижением скорости на фоне введения L-NAME отражает функциональную активность NO-синтаз (ФАЭ), которая заключается в её способности вырабатывать вазодилататор NO. Данный показатель рассчитывался по формуле:  $ФАЭ = (РМК (АХ) / РМК(L-NAME)) * 100 \%$ .

#### **2.2.4. Гистологические методы оценки ткани матки и яичников**

Для гистологического исследования производили забор матки и яичников у экспериментальных и контрольной групп животных после измерения скорости маточного кровотока, описанного в п. 2.2.3. Ткани фиксировали в 10% забуференном формалине, проводили по батарее восходящих спиртов, заливали в парафин. Срезы тканей толщиной 5-6 мкм окрашивали гематоксилином и эозином.

Световая микроскопия выполнялась на микроскопе Imager. A2.AXIO (ZEISS) при использовании объективов x10, x20, x40, с последующим фотографированием фотокамерой AxioCam 305 color (ZEISS). На препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, проводили обзорную оценку матки и яичников с последующим морфометрическим исследованием яичников.

Морфометрическое исследование проводили по всей поверхности среза яичников (ок. X10, об. X10), определяли среднее количество примордиальных, первичных, вторичных, третичных фолликулов, атретических фолликулов и атретических тел, желтых тел на разных стадиях развития, белых тел.

#### **2.2.5. Оценка современных методов исследования матриксных металлопротеиназ в органах репродуктивной системы у женщин**

В современных источниках литературы описано ряд методов оценки активности матриксных металлопротеиназ в органах женской репродуктивной системы, среди которых особое внимание стоит обратить на флуориметрию и иммуногистохимию.

В последние годы достижения в области флуориметрии позволили исследователям визуализировать активность ММП *in vivo*. Например, были разработаны флуоресцентные зонды, которые активируются при контакте с ММП и используются для оценки их активности у живых организмов (Wu, 2017). Эти зонды могут быть нацелены на конкретные ткани или типы клеток с использованием стратегий молекулярного нацеливания, таких как использование



лигандов или антител, которые связываются с рецепторами на поверхности клеток (Wu, 2017). Однако, в литературе для исследования активности ММП в органах репродуктивной системы данный метод применялся в единичных случаях в связи с дороговизной и сложности технической реализации.

Одним из наиболее часто используемых методов измерения активности ММП является иммуногистохимия. Этот метод включает в себя использование специфических антител для обнаружения матриксных металлопротеиназ в срезах тканей. Комбинируя иммуногистохимию с другими методами окрашивания, такими как окрашивание гематоксилином и эозином, исследователи могут лучше понять пространственное распределение и локализацию ММП в различных репродуктивных тканях (Zhang et al., 2018). Именно поэтому мы использовали данный метод для оценки активности матриксных металлопротеиназ в органах репродуктивной системы у крыс на фоне экспериментального перитонита и экспериментальной пневмонии.

Для оценки экспрессии ММП-1, -9, -19 использовали полуколичественный иммуногистохимический метод, фиксируя число иммунопозитивных клеток и интенсивность окрашивания в матке и яичнике по стандартной методике с использованием антител фирмы «Новокастра» ММП-1, -9, -19 (NCL–ММП-1, -9, -19 для парафиновых блоков, рабочее разведение 1:40) у экспериментальных и контрольных групп животных.

Парафиновые срезы, толщиной в диапазоне 4-5 микрон, были закреплены на предметных стеклах, предварительно обработанных поли-L-лизинном. Затем производилась депарафинизация в ксилоле и регидратация в 96% спирте. Следующим этапом было отмывание в дистиллированной воде. Для подавления активности эндогенной пероксидазы применялось охлажденное 0,3% раствор перекиси водорода в течение 10 минут, за которым следовало ополаскивание в дистиллированной воде.

Антигенную структуру ткани восстанавливали, используя раствор Target Retrieval Solution (DAKO) с pH=6,0 в СВЧ-печи при мощности 130 Вт в течение 25 минут, с последующим охлаждением в течение 20 минут при комнатной температуре. Затем проводилось дополнительное ополаскивание в дистиллированной воде. Наносили первичные антитела и инкубировали во влажной камере при комнатной температуре в течение 30 минут после чего производилось ополаскивание и промывание в буфере Tris-HCL (pH=7,6) дважды по 5 минут. Затем, для дополнительного усиления сигнала, инкубировали с En Vision (DAKO) в течение 30 минут, с последующим ополаскиванием и промыванием в буфере по аналогичной схеме. Для визуализации реакции использовался DAB (диаминобензидин). После окрашивания гематоксилином и дегидратации образцов, срезы заключались в канадский бальзам и покрывались покровным стеклом (MacCornic D. Et al., 1993; Кокосадзе Н.В., Заводиленко К.В., 2006).

В срезах оценивали удельное число (в %) положительно окрашенных клеток в 5-ти случайно выбранных полях зрения ( $\geq 500$  клеток), используя окуляр 10 и объектив 40. Интенсивность иммуногистохимической реакции оценивали по всему образцу матки с последующим усреднением, используя полуколичественную шкалу, где 0 оценивалась как негативная реакция (или отсутствие окрашивания), 1 – слабopоложительная реакция или легкое окрашивание, 2 – умеренное окрашивание (или умеренная реакция), 3 – интенсивное окрашивание или выраженная реакция. Оценку указанных показателей экспрессии металлопротеиназ проводили в эндометрии, миометрии и периметрии матки и корковом и мозговом веществе яичника соответственно.

#### **2.2.6. Оценка современных методов изучения уровня апоптоза в гранулезных клетках**

В связи с тем, что апоптоз гранулезных клеток играет решающую роль в нормальном фолликулогенезе и оогенезе были разработаны различные методы

изучения этого процесса, основу которых составляют морфологические, биохимические и молекулярные методы (Wang, L., 2016).

Одним из наиболее часто используемых методов является гистологический анализ, который включает в себя использование методов окрашивания, таких как гематоксилин и эозин (ГиЭ) и TUNEL (Terminal deoxynucleotidated Transferase — mediated dUTP — biotin Nick — End Labeling) для визуализации апоптотических клеток. Однако, этот метод наиболее часто применяется для оценки уровня апоптоза в гранулезных клетках животных и имеет ограничения с точки зрения специфичности, чувствительности и дополнительных инвазивных процедур при проведении клинических исследований.

Альтернативой гистологическому анализу в клинической практике может быть проточная цитометрия – современный метод, используемый для изучения апоптоза гранулезных клеток, при котором клетки окрашивают флуоресцентными красителями, связывающиеся с ДНК и/или белками, участвующими в апоптозе, такими как аннексин V или йодид пропидия (PI). Затем клетки анализируются с помощью проточного цитометра, который обнаруживает флуоресценцию, испускаемую каждой клеткой при прохождении через лазерный луч (Huang, X., 2020).

Аннексин V – это белок, который специфически связывается с фосфатидилсерином (PS), который перемещается из внутренней части плазматической мембраны во внешнюю на ранних стадиях апоптоза. Йодид пропидия окрашивает ДНК клеток с нарушенной целостностью мембран, таких как некротические клетки (Huang, X., 2020). Используя как аннексин V, так и PI, можно различать ранние апоптотические, поздние апоптотические и некротические клетки. Клетки, которые являются отрицательными по аннексину V и PI считаются условно живыми; положительными по аннексину V и отрицательными по PI, считаются ранними апоптотическими клетками; положительные по аннексину V и PI, считаются поздними апоптотическими

клетками; положительные по PI и отрицательные по аннексину V – некротические (Saldivar, J. C., 2019).

Проточная цитометрия позволяет проводить количественный анализ апоптоза, предоставляя информацию о процентном соотношении клеток, подвергающихся апоптозу, стадии апоптоза и кинетике процесса. Также возможно анализировать различные популяции клеток на основе их размера, зернистости и других поверхностных маркеров, что позволяет идентифицировать субпопуляции гранулезных клеток, которые могут обладать различной восприимчивостью к апоптозу (Huang, X., 2020, Saldivar, J. C., 2019). Именно поэтому мы выбрали метод проточной цитометрии для анализа уровня апоптоза в гранулезных клетках.

Оценку количества гранулезных клеток с признаками апоптоза в исследовании проводили с использованием коммерческого набора для проточной цитометрии «Dead Cell Apoptosis Kit with Annexin V FITC and PI» (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific Inc.). Суспензию клеток отмывали физиологическим раствором. Отмытые гранулезные клетки подсчитывали, затем ресуспензировали в аннексин-связывающем буфере для получения концентрации  $1 \cdot 10^6$  клеток в мл, инкубировали 15 минут при комнатной температуре с аннексином V-FITC и йодидом пропидия (PI), согласно инструкции производителя набора. Анализ проводили на проточном цитофлуориметре Attune® Acoustic Focusing Cytometer (не менее 10 тыс. событий). Результаты интерпретировали следующим образом: живые клетки не проявляли флуоресценции (Annexin V-FITC-/PI-), клетки в состоянии раннего апоптоза – Annexin V-FITC+/PI-, клетки в состоянии позднего апоптоза – Annexin V-FITC+/PI+.

### **2.3. Методы статистической обработки данных**

Статистический анализ полученных результатов проводился с использованием программы StatTech v. 2.8.8 (разработчик – ООО «Статтех», Россия). Количественные показатели оценивались на предмет соответствия

нормальному распределению с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Количественные показатели, имеющие нормальное распределение, описывались с помощью средних арифметических величин (M) и стандартных отклонений (SD), границ 95 % доверительного интервала (95 % ДИ). В случае отсутствия нормального распределения количественные данные описывались с помощью медианы (Me), нижнего и верхнего квартилей (Q1-Q3). Сравнение трёх и более групп по количественному показателю, имеющему нормальное распределение, выполнялось с помощью однофакторного дисперсионного анализа, апостериорные сравнения проводились с помощью критерия Фишера (при условии равенства дисперсий), критерия Уэлча (при неравных дисперсиях). Сравнение трёх и более групп по количественному показателю, распределение которого отличалось от нормального, выполнялось с помощью критерия Краскела-Уоллиса. Направление и теснота корреляционной связи между двумя количественными показателями оценивались с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена (при распределении показателей, отличном от нормального).

### ГЛАВА 3

## **ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАГЕНИТАЛЬНОГО ВОСПАЛЕНИЯ НА УРОВЕНЬ АПОПТОЗА ГРАНУЛЕЗНЫХ КЛЕТОК, КОЛИЧЕСТВО ЗРЕЛЫХ ООЦИТОВ И ОПЛОДОТВОРЁННЫХ ЯЙЦЕКЛЕТОК У ЖЕНЩИН С БЕСПЛОДИЕМ, ПРОХОДИВШИХ ЛЕЧЕНИЕ МЕТОДАМИ ВРТ**

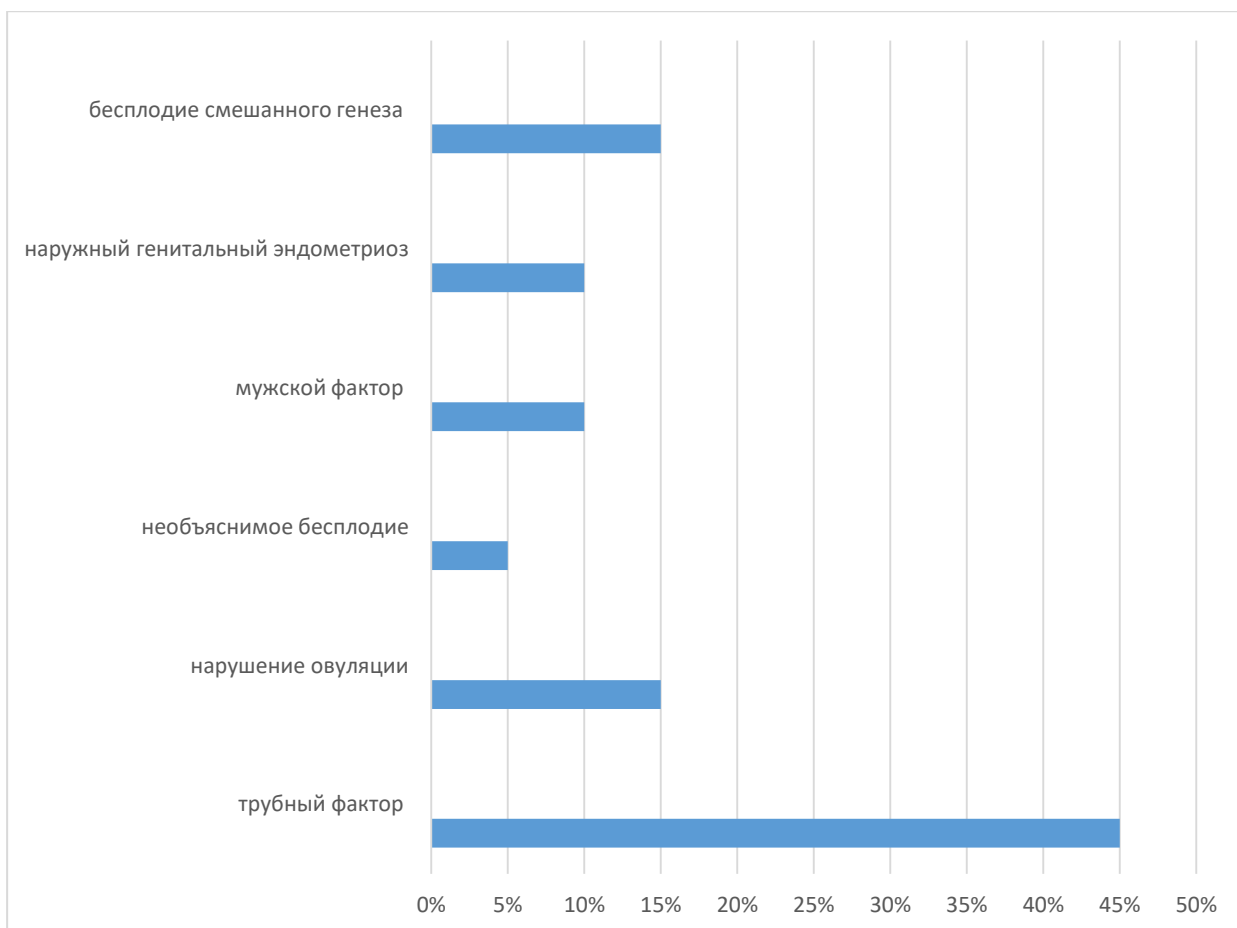
### **3.1 Распространенность хронической экстрагенитальной патологии воспалительного генеза у женщин с бесплодием**

С целью определения частоты встречаемости и структуры хронической экстрагенитальной патологии воспалительного генеза у женщин с установленным диагнозом «бесплодие» и влияния этого показателя на результативность проведения процедур ЭКО, был проведен анализ данных из первичной медицинской документации 184 пациенток, проходивших лечение бесплодия методами ВРТ, в Клинике №1 ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России в период с 2015 – 2020 года.

Были изучены следующие параметры пациенток: возраст, гинекологический анамнез, основная причина бесплодия, перенесенные заболевания репродуктивных органов, протокол стимуляции яичников гонадотропинами, количество созревших фолликулов к моменту окончания стимуляции, количество полученных, оплодотворенных яйцеклеток, количество эмбрионов к 3, 5 дню.

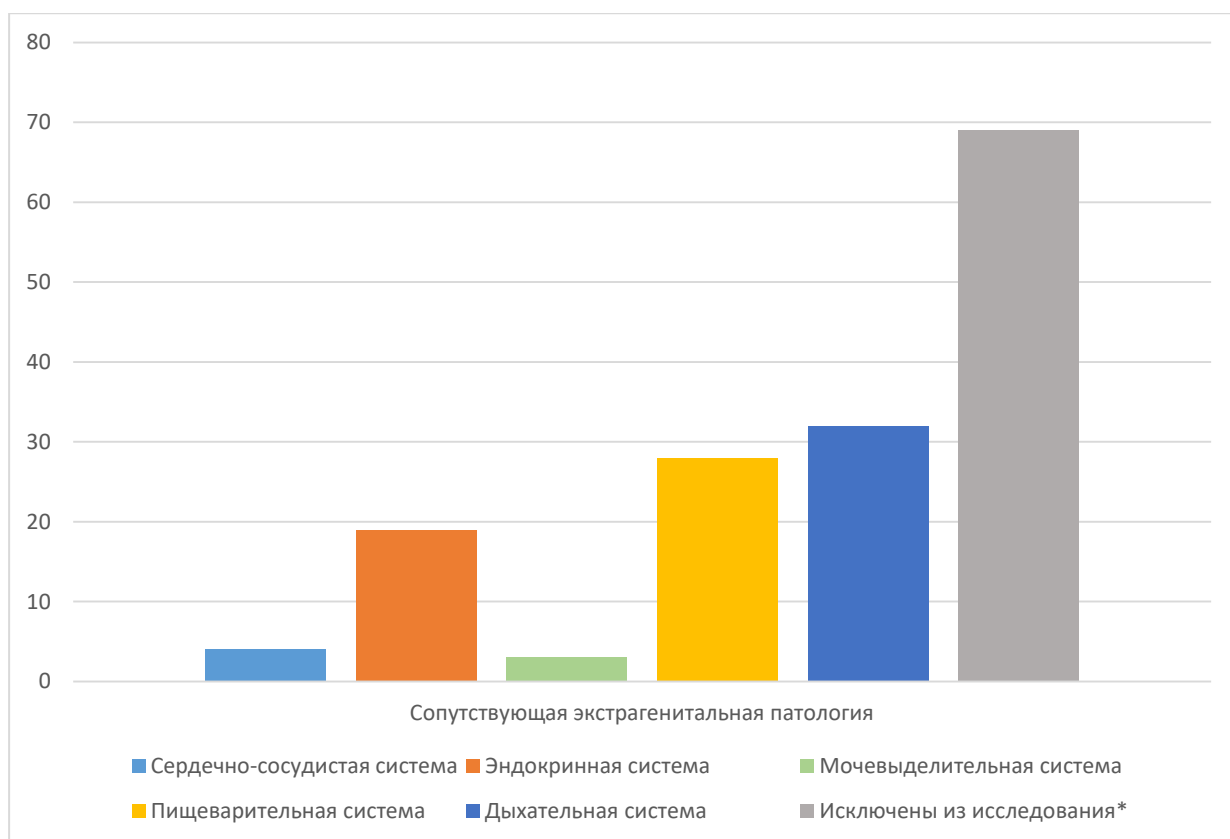
Средний возраст женщин, вступивших в программу вспомогательных репродуктивных технологий, в нашем исследовании составлял 33,96 лет. В этом возрасте на сегодняшний день увеличивается частота развития заболеваний различных систем организма, в том числе и хронических (Аржанова О. Н.).

По полученным данным (рисунок 3.1) ведущим фактором бесплодия в исследуемой группе был трубный фактор – 45% (83 женщины), нарушение овуляции – 15% (28 женщин), необъяснимое бесплодие – 5% (9 женщин), мужской фактор – 10% (18 женщин), наружный генитальный эндометриоз – 10% (19 женщин), бесплодие смешанного генеза – 15% (27 женщин).



**Рисунок 3.1** – Структура причин бесплодия у женщин, проходивших лечение методами ВРТ, в Клинике №1 ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России в период с 2015 – 2020 года.

Исходя из данных анамнеза, установлено, что у пациенток в качестве сопутствующей патологии нерепродуктивных органов имелись заболевания сердечно-сосудистой ( $n=4$ ), эндокринной ( $n=19$ ), мочевыделительной систем ( $n=3$ ). Однако, наиболее частая экстрагенитальная патология – это заболевания ЖКТ (хронические гастриты, хронические дуодениты, язвенная болезнь желудка и (или) двенадцатиперстной кишки, хронические панкреатиты) ( $n = 28$ ) и заболевания дыхательной системы (хроническая патология – хронические бронхиты или частая острая патология (более 4 раз в год) – ОРВИ, грипп, бронхиты, ларингиты, трахеиты, пневмония) ( $n = 32$ ), пациентки без сопутствующей экстрагенитальной патологии в анамнезе ( $n=29$ ) (риунок 3.2).



**Рисунок 3.2** – Структура сопутствующей экстрагенитальной патологии у женщин, проходивших лечение бесплодия методами ВРТ, в Клинике №1 ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России в период с 2015 – 2020 года.

**Примечание:** \*Из исследования исключались пациентки с отсутствием данных (или неполными данными) по изучаемым параметрам, наличием врожденных анатомических аномалий строения женской репродуктивной системы (n=69).

Таким образом, распространенность хронических экстрагенитальных воспалительных заболеваний у женщин с нарушением репродуктивной функции довольно высока. Наиболее распространена патология дыхательной (хронические бронхиты или частая острая патология (более 4 раз в год) – ОРВИ, грипп, бронхиты, ларингиты, трахеиты, пневмония) и пищеварительной (хронические гастриты, хронические дуодениты, язвенная болезнь желудка и (или) двенадцатиперстной кишки, хронические панкреатиты) систем.

Согласно данным современных литературных источников глубоко и многогранно изучено влияние патологии эндокринной и мочевыделительной систем на нарушение репродуктивной функции у женщин. Однако, как следует из данных рисунка 3.1, в связи с широким распространением в популяции, требуют



дальнейшего изучения влияние патологии дыхательной и пищеварительной систем на механизмы нарушения фертильности у женщин. Именно поэтому для дальнейшего клинического и экспериментального исследования мы используем данные разновидности экстрагенитальных заболеваний.

### **3.2 Уровень апоптоза гранулезных клеток у женщин с бесплодием и хронической экстрагенитальной патологией дыхательной и пищеварительной систем в анамнезе**

Всего для исследования было отобрано 60 пациенток, проходивших лечения бесплодия методом ЭКО в Клинике №1 ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России в 2021-2022 году, которых поделили на три группы: группа 1 (n = 20) — женщины, не имеющие экстрагенитальную патологию в анамнезе; группа 2 (n = 20) — женщины, имеющие воспалительные заболевания дыхательной системы в анамнезе (хроническая патология — хронические бронхиты или частая острая патология (более 4 раз в год) — ОРВИ, грипп, бронхит, ларингит, трахеит, пневмония); группа 3 (n = 20) — женщины, имеющие хронические воспалительные заболевания пищеварительной системы в анамнезе (гастриты, дуодениты, язвенная болезнь желудка и (или) двенадцатиперстной кишки, панкреатиты). Количество отобранных пациентов было ограничено техническими возможностями проведения дальнейшего исследования апоптоза в образцах гранулезных клеток.

Возраст женщин варьировал от 21 до 43 лет и в среднем составил  $33,5 \pm 4,7$  года. Период предшествующего бесплодия у обследованных был равен 4–16 годам, в среднем  $7,4 \pm 1,5$  года.

При исследовании уровня апоптоза в гранулезных клетках установлено, что наименее активно этот процесс протекал у женщин без экстрагенитальной патологии в анамнезе (группа 1), а у женщин с воспалительной экстрагенитальной патологией дыхательной и пищеварительной систем в анамнезе этот процесс идет наиболее активно (группа 2 и 3) (таблица 3.1)

**Таблица 3.1** – Показатель живых гранулезных клеток и уровень апоптоза в них в исследуемых группах.

Исследуемая группа	Показатель живых гранулезных клеток (%)	Показатель раннего апоптоза гранулезных клеток (%)	Показатель позднего апоптоза гранулезных клеток (%)
Группа 1 (женщины, не имеющие экстрагенитальную патологию в анамнезе) n = 20	26,73 ± 1,51  p <sub>1</sub> группа 1 – группа 2 = 0,001*  p <sub>2</sub> группа 1 – группа 3 = 0,001*	0,88 ± 0,62  p <sub>1</sub> группа 1 – группа 2 = 0,033*  p <sub>2</sub> группа 1 – группа 3 = 0,015*	0,28 [0,0012 – 0,0046] p <sub>1</sub> группа 1 – группа 2 < 0,001*  p <sub>2</sub> группа 1 – группа 3 = 0,008*
Группа 2 (женщины, имеющие воспалительные заболевания дыхательной системы в анамнезе) n = 20	19,46 ± 0,0227 p группа 2 – группа 3 = 0,008*	6,50 ± 3,91 p группа 2 – группа 3 = 0,026*	3,00 [0,0161 – 0,0393] p группа 2 – группа 3 < 0,001*
Группа 3 (женщины, имеющие воспалительные заболевания пищеварительной	21,95 ± 0,0154	1,40 ± 0,0099	1,32 [0,0102 – 0,0206]

системы в анамнезе) n = 20			
Используемый статистический метод для подсчета достоверности результатов	критерий Фишера (F)	критерий Фишера (F)	критерий Краскела–Уоллиса

**Примечание:** \* – различия показателей статистически значимы ( $p < 0,05$ )

Для оценки влияния уровня апоптоза гранулезных клеток на процессы оогенеза и оплодотворения у пациенток исследуемых групп было определено число зрелых ооцитов, полученных в ходе трансвагинальной пункции преовуляторных фолликулов, и число оплодотворенных яйцеклеток в результате экстракорпорального оплодотворения. Установлено, что наибольшее количество зрелых ооцитов и наилучший результат оплодотворения был у женщин, не имеющих экстрагенитальную патологию в анамнезе, а наименьшее количество зрелых ооцитов и, соответственно, более негативный результат оплодотворения — у женщин, имеющих воспалительные заболевания дыхательной системы в анамнезе (таблица 3.2).

**Таблица 3.2** – Результаты лечения пациенток исследуемых групп методами вспомогательных репродуктивных технологий.

Исследуемая группа	Число полученных зрелых ооцитов при пункции фолликулов <sup>1</sup>	Число оплодотворенных яйцеклеток <sup>2</sup>
<p>Группа 1 (женщины, не имеющие экстрагенитальную патологию в анамнезе) n = 20</p>	<p>13,44 ± 2,60 p1 группа 1 – группа 2 = 0,001* p2 группа 1 – группа 3 = 0,001*</p>	<p>11,00 [9,00 – 12,00] p1 группа 1 – группа 2 &lt; 0,001* p2 группа 1 – группа 3 = 0,020*</p>
<p>Группа 2 (женщины, имеющие воспалительные заболевания дыхательной системы в анамнезе) n = 20</p>	<p>4,47 ± 2,00 p группа 2 – группа 3 = 0,013*</p>	<p>3,00 [2,50 – 3,00] p группа 2 – группа 3 = 0,038*</p>
<p>Группа 3 (женщины, имеющие воспалительные заболевания пищеварительной системы в анамнезе) n = 20</p>	<p>7,10 ± 1,85</p>	<p>5,50 [4,00 – 6,75]</p>
<p>Используемый статистический метод для подсчета</p>	<p>критерий Фишера (F)</p>	<p>критерий Краскела–Уоллиса</p>

достоверности результатов		
------------------------------	--	--

**Примечание:** \* – различия показателей статистически значимы ( $p < 0,05$ )

Был проведен корреляционный анализ взаимосвязи показателя раннего и позднего апоптоза гранулезных клеток с числом полученных зрелых ооцитов и число оплодотворенных яйцеклеток. При оценке связи числа полученных зрелых ооцитов и показателя раннего апоптоза гранулезных клеток была установлена заметная обратная связь. При оценке связи числа оплодотворенных яйцеклеток и показателя раннего апоптоза гранулезных клеток была также выявлена заметная обратная связь. Определена умеренная обратная связь между числом зрелых ооцитов и показателем позднего апоптоза гранулезных клеток. При оценке связи числа оплодотворенных яйцеклеток и показателя позднего апоптоза гранулезных клеток была установлена заметная обратная связь (таблица 3.3).

**Таблица 3.3** – Результаты корреляционного анализа показателей раннего и позднего апоптоза гранулезных клеток с количеством полученных зрелых ооцитов и количеством оплодотворенных яйцеклеток.

Показатель	Характеристика корреляционной связи		
	$\rho$	Теснота связи по шкале Чеддока	$p$
Показатель позднего апоптоза гранулезных клеток – Количество полученных зрелых ооцитов при пункции фолликулов	-0,309	Умеренная	0,017*

Показатель позднего апоптоза гранулезных клеток – Число оплодотворенных яйцеклеток	-0,254	Слабая	0,052
Показатель раннего апоптоза гранулезных клеток – Число полученных зрелых ооцитов при пункции фолликулов	-0,607	Заметная	< 0,001*
Показатель раннего апоптоза гранулезных клеток – Число оплодотворенных яйцеклеток	-0,615	Заметная	< 0,001*

**Примечание:** \* – различия показателей статистически значимы ( $p < 0,05$ )

Таким образом, в ходе проведенного клинического исследования установлено, что экстрагенитальная воспалительная патология пищеварительной и дыхательной систем в анамнезе пациенток влияет на процесс оогенеза. Это подтверждается тем фактом, что у женщин без вышеуказанных заболеваний количество зрелых ооцитов, полученных в результате пункции фолликулов, составляло  $13,44 \pm 2,60$ , тогда как у женщин, имеющих патологию дыхательной системы и желудочно-кишечного тракта воспалительного генеза, количество

ооцитов было достоверно ниже —  $4,47 \pm 2,00$  ( $p = 0,001$ ) и  $7,10 \pm 1,85$  ( $p = 0,001$ ) соответственно.

Помимо этого, экстрагенитальная воспалительная патология пищеварительной и дыхательной систем в анамнезе пациенток ассоциируется с усилением апоптоза гранулезных клеток. Так, у женщин, не имеющих экстрагенитальную патологию, процент живых гранулезных клеток был статистически значимо выше ( $0,2673 \pm 0,0151\%$ ), а показатель раннего и позднего апоптоза значимо ниже ( $0,0088 \pm 0,0062\%$  и  $0,0028\%$  [ $0,0012-0,0046\%$ ]), чем у пациенток, имеющих хроническую воспалительную патологию пищеварительной системы (количество живых клеток —  $0,2195 \pm 0,0154\%$ , показатель раннего и позднего апоптоза —  $0,0140 \pm 0,0099\%$  и  $0,0132\%$  [ $0,0102-0,0206\%$ ]). Соответственно, у пациенток с хронической воспалительной патологией дыхательной системы (количество живых клеток —  $0,1946 \pm 0,0227\%$ , показатель раннего и позднего апоптоза —  $0,0650 \pm 0,0391\%$  и  $0,0300\%$  [ $0,0161-0,0393\%$ ]).

### 3.3 Резюме

В результате полученных данных можно сделать вывод, что экстрагенитальная патология дыхательной и пищеварительной систем воспалительного генеза ассоциируется с повышением уровня апоптоза в гранулезных клетках, что влияет на процессы оогенеза и негативно сказывается на фертильности у женщин. Экстрагенитальная воспалительная патология дыхательной системы в большей степени влияет на процент апоптоза и жизнеспособность гранулезных клеток. С этим связано ухудшение показателей результативности лечения бесплодия методами вспомогательных репродуктивных технологий у данной группы пациенток по сравнению с контрольной группой. Выявлена обратная корреляционная заметной тесноты зависимость между параметрами апоптоза в гранулезных клетках и числом зрелых ооцитов и оплодотворенных яйцеклеток у пациенток на фоне воспалительно-деструктивных процессов в дыхательной и пищеварительной системах, ухудшающих шансы на успешное зачатие.

## ГЛАВА 4

### ПАРАМЕТРЫ РЕГИОНАЛЬНОЙ РЕАКТИВНОСТИ В ТКАНЯХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ОРГАНОВ НА УРОВЕНЬ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ И ГЕОДИНАМИКИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

#### 4.1 Морфологические изменения в тканях матки у крыс при моделировании экспериментального перитонита и экспериментальной пневмонии

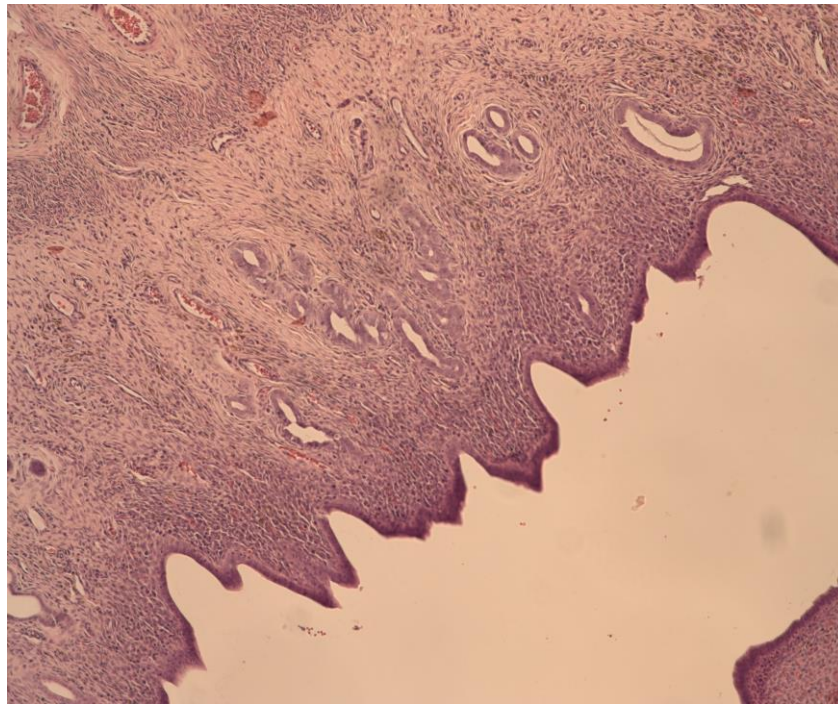
При микроскопическом исследовании матки животных контрольной группы четко определяются все слои стенки: эндометрий, миометрий и периметрий (серозная оболочка). Эндометрий выстлан однослойным призматическим эпителием, в составе которого имеются железистые, реснитчатые и базальные клетки. Железы эндометрия округлой и овальной формы, малоразветвленные, выстланы кубическим эпителием, ядра эпителиальных клеток округлой и овальной формы. Строма эндометрия, рыхлая, умеренно клеточная, со скоплениями единичных гемосидерофагов.

Шейка матки выстлана многослойным плоским неороговевающим эпителием, строма представлена волокнистыми структурами с коллагеновыми волокнами.

Миометрий включает правильно ориентированные пучки гладкомышечных волокон, разделенных рыхлой соединительной тканью.

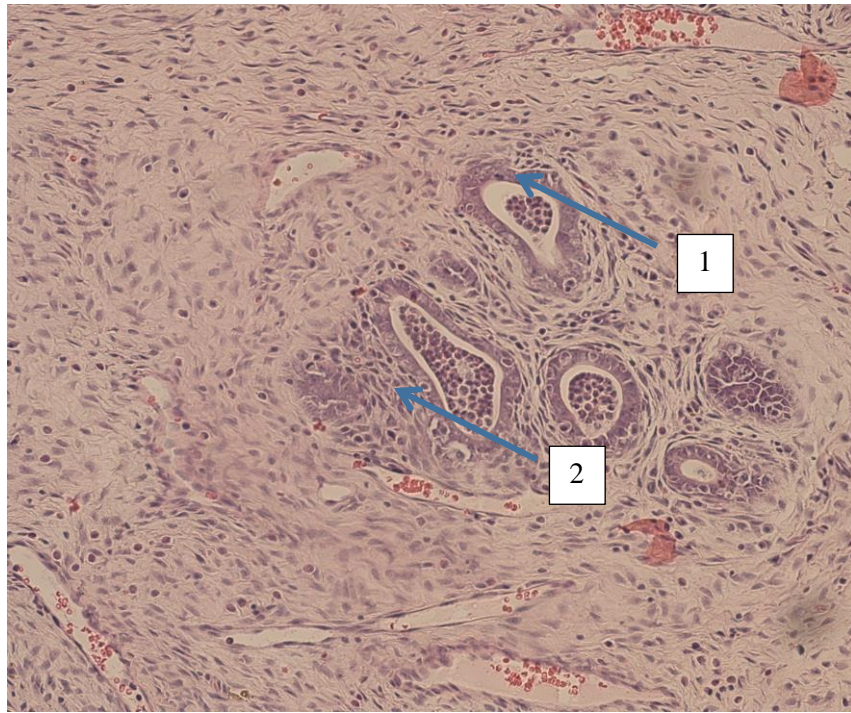
Серозная оболочка, покрывающая тело матки, представлена однослойным плоским эпителием с подлежащей, слабо развитой рыхлой соединительной тканью (рисунок 4.1).





**Рисунок 4.1** – Матка животного контрольной группы. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. X 100.

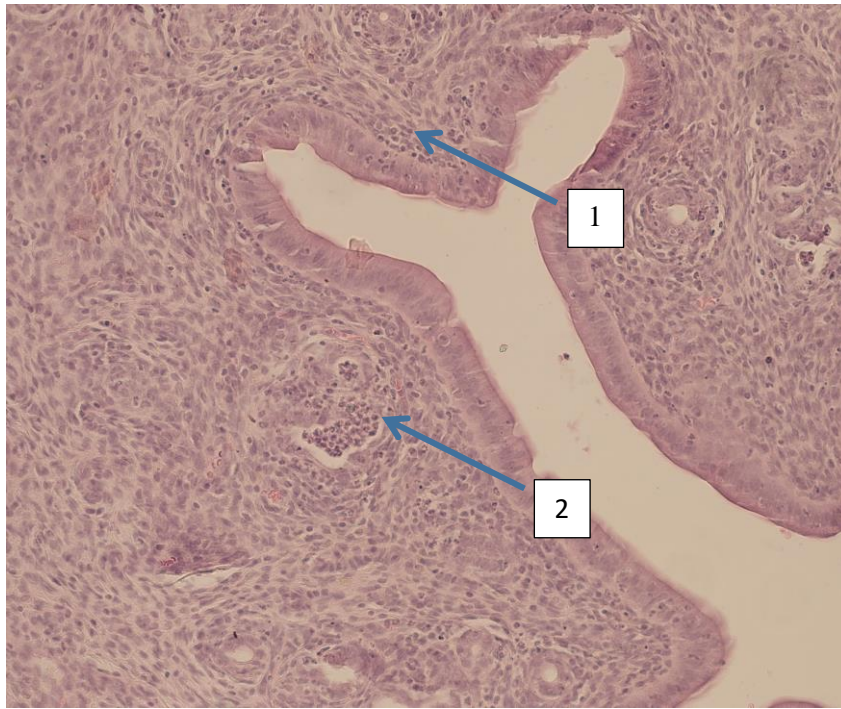
При микроскопическом исследовании матки животных группы с экспериментальным перитонитом, в отличие от контрольной группы, в эндометрии определяется рассеянная, от слабо до умеренно выраженной, инфильтрация эозинофильными лейкоцитами с очаговым лейкопедезом покровного эпителия и эпителия отдельных желез, просветы некоторых желез расширены, со скоплениями небольшого количества эозинофильных лейкоцитов. Во всех слоях стенки матки отмечается выраженное полнокровие сосудов, эритростазы. У некоторых экспериментальных животных отмечается значительное расширение полости матки. В отдельных случаях наблюдается распространение воспалительной инфильтрации по подлежащие участки миометрия (рисунок 4.2).



**Рисунок 4.2** – Матка животного с экспериментальным перитонитом.

1,2 - Диффузная инфильтрация эндометрия эозинофильными лейкоцитами, скопления эозинофильных лейкоцитов в просветах расширенных желез. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. X 100.

При микроскопическом исследовании матки животных группы с экспериментальной пневмонией, в отличие от контрольной группы, в эндометрии определяется очагово-диффузная, умеренно выраженная инфильтрация эозинофильными лейкоцитами, очаговый лейкопедез. В единичных случаях наблюдается распространение воспалительной инфильтрации на подлежащие слои миометрия. В покровном эпителии и эпителии отдельных желез наблюдается небольшое количество апоптотических телец. Шейка матки выстлана многослойным плоским неороговевающим эпителием, в подлежащей ткани определяется рассеянная инфильтрация эозинофильными лейкоцитами и макрофагами, строма представлена волокнистыми структурами с коллагеновыми волокнами (рисунок 4.3).



**Рисунок 4.3** – Матка животного с экспериментальной пневмонией. 1 - Диффузная инфильтрация эндометрия эозинофильными лейкоцитами, очаговый лейкопедез; 2 - скопления эозинофильных лейкоцитов в просветах расширенных желез. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. X 200.

Таким образом, механизмы формирования и развития экспериментального перитонита и экспериментальной пневмонии влияют на структуру ткани матки, в первую очередь, способствуя инфильтрации эозинофильными лейкоцитами органа. Моделирование экспериментального перитонита также способствует развитию полнокровия сосудов.

#### **4.2 Морфологические изменения и морфометрические показатели в тканях яичника у крыс при моделировании экспериментального перитонита и экспериментальной пневмонии**

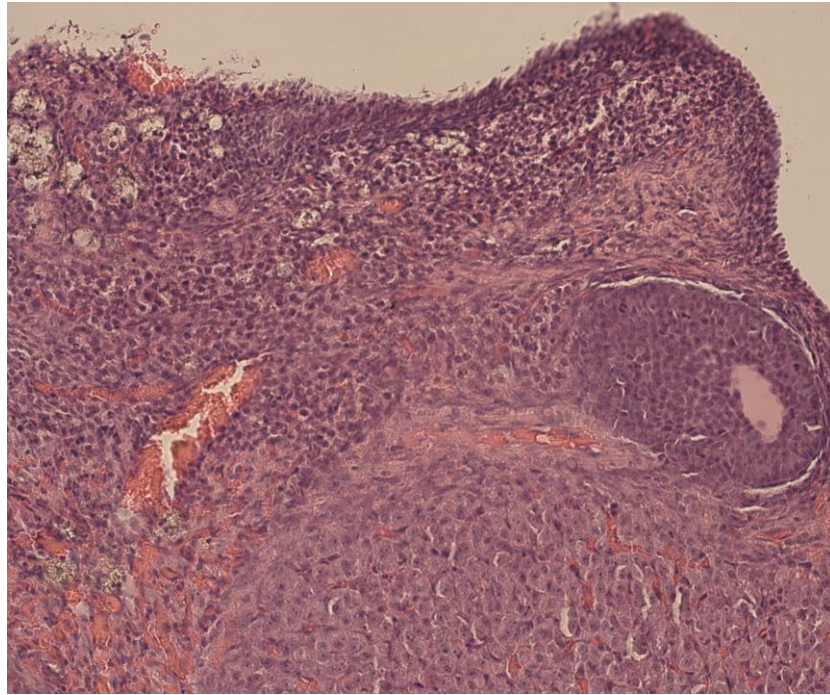
При микроскопическом исследовании яичников животных контрольной группы четко определяются все слои: корковое и мозговое вещество яичника. Поверхность яичников покрыта однослойным кубическим эпителием, под эпителием располагается белочная оболочка. В корковом веществе яичников выявляются фолликулы, которые расположены в соединительнотканной строме и находятся на различных стадиях развития. Примордиальные фолликулы многочисленные, расположены в виде цепочек и групп в поверхностных участках

коркового вещества. Растущие фолликулы представлены единичными первичными, вторичными и третичными фолликулами, имеющими характерное строение для каждого вида фолликулов. Во вторичных и третичных фолликулах отмечается высокая митотическая активность. В отдельных участках расположены единичные атретические фолликулы и единичные атретические тела.

Желтые тела, расположенные в корковом веществе яичников, находятся на различных стадиях развития: большинство желтых тел, окружено тонкой соединительнотканной капсулой, с многочисленными капиллярами, представлено полигональными гранулезными лютеоцитами и расположенными на периферии лютеоцитами теки, в цитоплазме лютеоцитов некоторых желтых тел отмечается очаговая вакуолизация. Некоторые желтые тела находятся на стадии обратного развития, в центральной части этих желтых тел определяются разрастания рубцовой соединительной ткани. В отдельных участках расположены единичные белые тела.

Мозговое вещество яичников представлено соединительной тканью с сосудами, в воротах яичников обнаруживались очаговые скопления из эпителиальных тяжей и трубочек, выстланных кубическим эпителием (сеть яичника) (рисунок 4.4).

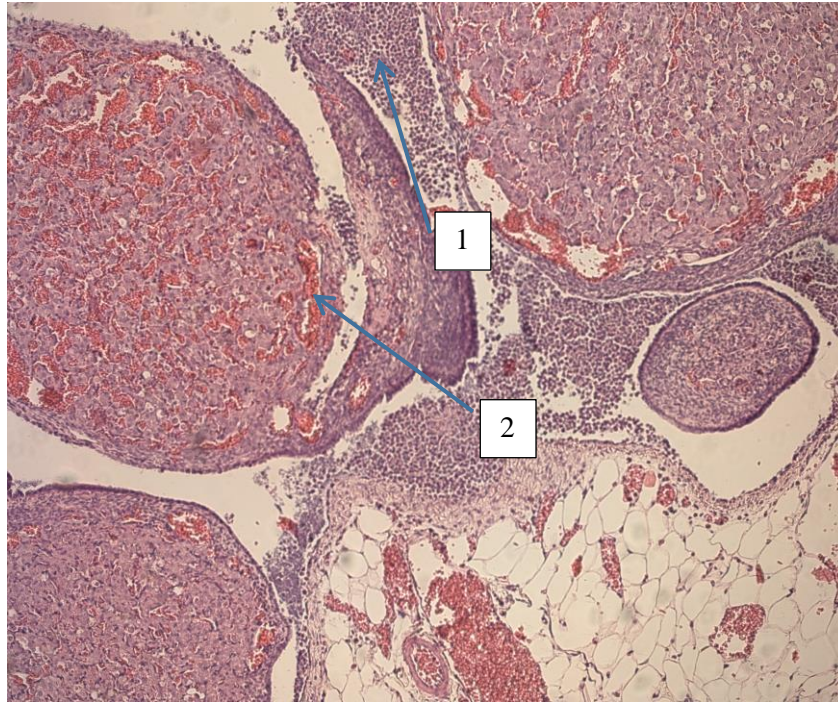




**Рисунок 4.4** – Яичник животного контрольной группы. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. X 200.

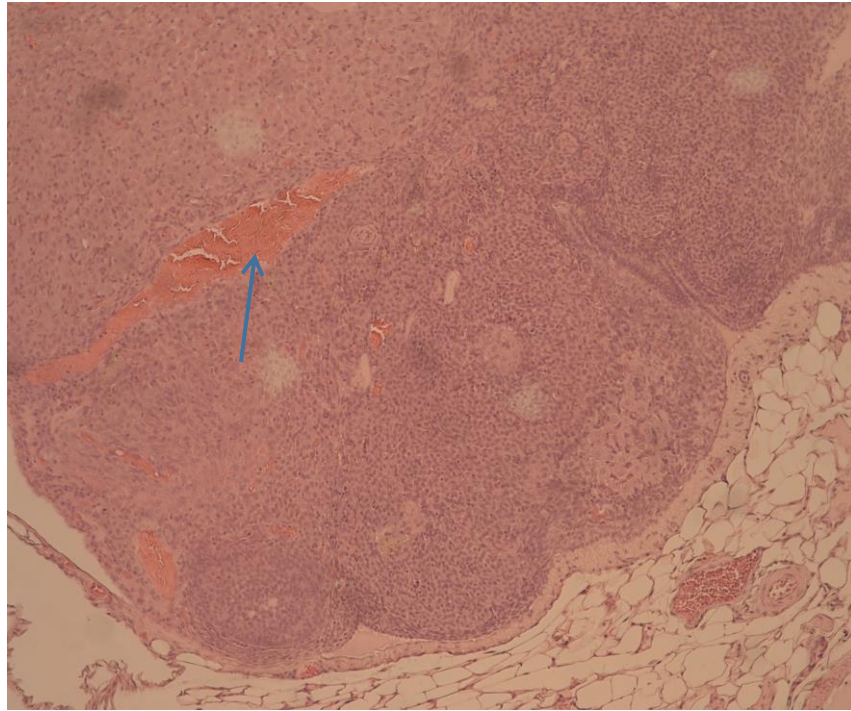
При микроскопическом исследовании яичников животных с экспериментальным перитонитом в отличие от контрольной группы примордиальные фолликулы единичные, визуализируются в виде отдельно расположенных фолликулов в поверхностных участках коркового вещества, а растущие фолликулы представлены первичными, вторичными и третичными фолликулами, имеющими характерное строение. В отдельных участках расположены атретические фолликулы и атретические тела в большем количестве, чем в контрольной группе.

В яичниках экспериментальных животных этой группы отмечается выраженное полнокровие сосудов, очаговые эритростызы, обширные участки зрелой грануляционной ткани (рисунок 4.5).



**Рисунок 4.5** – Яичник животного с экспериментальным перитонитом. 1 - очагово-диффузная инфильтрация нейтрофильными и эозинофильными лейкоцитами параовариальной жировой ткани; 2- выраженное полнокровие сосудов. Окраска гематоксилином и эозином. Увел.х 100.

При микроскопическом исследовании яичников животных с экспериментальной пневмонией отмечается небольшое количество примордиальных фолликулов, растущие фолликулы представлены единичными первичными, вторичными и третичными фолликулами, имеющими характерное строение для каждого вида фолликулов. Во вторичных и третичных фолликулах отмечаются единичные митозы, множественные апоптотические тельца. В отдельных участках располагались атретические фолликулы и единичные атретические тела. Отмечается более высокое содержание атретических фолликулов, атрезии преимущественно подвергались первичные и вторичные фолликулы. Также практически во всех желтых телах выявляются многочисленные фибробласты, выраженное полнокровие капилляров (рисунок 4.6).



**Рисунок 4.6** – Яичник животного с экспериментальной пневмонией. Растущие фолликулы, практически полное отсутствие примордиальных фолликулов, желтые тела со значительными скоплениями фибробластов и признаками инволюции; под стрелкой - выраженное полнокровие сосудов. Окраска гематоксилином и эозином. Увел.х 100.

Количественные показатели структурных компонентов коркового вещества яичников самок крыс каждой группы представлены в таблице 4.1.

**Таблица 4.1** – Количественные показатели структурных компонентов коркового вещества яичника самок белых крыс

Структурные компоненты коркового вещества яичников	Контрольная группа животных (n=20)	Группа животных с экспериментальным перитонитом (n=20)	Группа животных с экспериментальной пневмонией (n=25)
Примордиальные фолликулы	33,50 [30,50;38,25]	20,00 [30,50;38,25]*	4,00 [4,00;4,00]*^
Первичные фолликулы	1,50 [1,00;2,25]	1,00 [0,00;1,00]	5,00 [2,00;6,00]*^

Вторичные фолликулы	1,50 [1,00;2,00]	2,00 [1,00;2,00]	7,00 [7,00;11,00]* <sup>^</sup>
Третичные фолликулы	0,50 [0,00;1,25]	0,00 [0,00;2,00]	2,00 [0,00;2,00]
Желтые тела	3,00 [0,75;5,00]	6,00 [5,00;8,00]*	4,00 [3,00;7,00]* <sup>^</sup>
Белые тела	1,00 [0,00;2,00]	0,00 [0,00;3,00]	0,00 [0,00;0,00]
Атретические фолликулы	1,50 [1,00;2,00]	1,00 [1,00;1,000]	11,00 [7,00;16,00]* <sup>^</sup>
Атретические тела	0,00 [0,00;0,25]	0,00 [0,1,00]	0,00 [0,00;0,00]

**Примечание:** Статистически значимые различия по сравнению с \*контролем, <sup>^</sup> группой с экспериментальным перитонитом при  $p < 0,05$ .

Таким образом, механизмы формирования и развития экспериментального перитонита и экспериментальной пневмонии влияют на структуру яичника. Так при экспериментальном перитоните статистически достоверно снижалось количество примордиальных фолликулов по сравнению с контрольной группой (20,00 [30,50;38,25] – при перитоните и 33,50 [30,50;38,25] – в контрольной группе,  $p < 0,05$ ). Помимо этого, в яичниках экспериментальных животных этой группы отмечается выраженное полнокровие сосудов, очаговые эритросты, обширные участки зрелой грануляционной ткани. При моделировании экспериментальной пневмонии отмечается более высокое содержание атретических фолликулов по сравнению с контрольной группой (11,00 [7,00;16,00] – при пневмонии и 1,50 [1,00;2,00] – в контрольной группе,  $p < 0,05$ ). При этом атрезии преимущественно подвергались первичные и вторичные фолликулы. Также практически во всех желтых телах выявляются многочисленные фибробласты, имеет место выраженное полнокровие капилляров. Вышеуказанные изменения говорят в первую очередь о том, что при

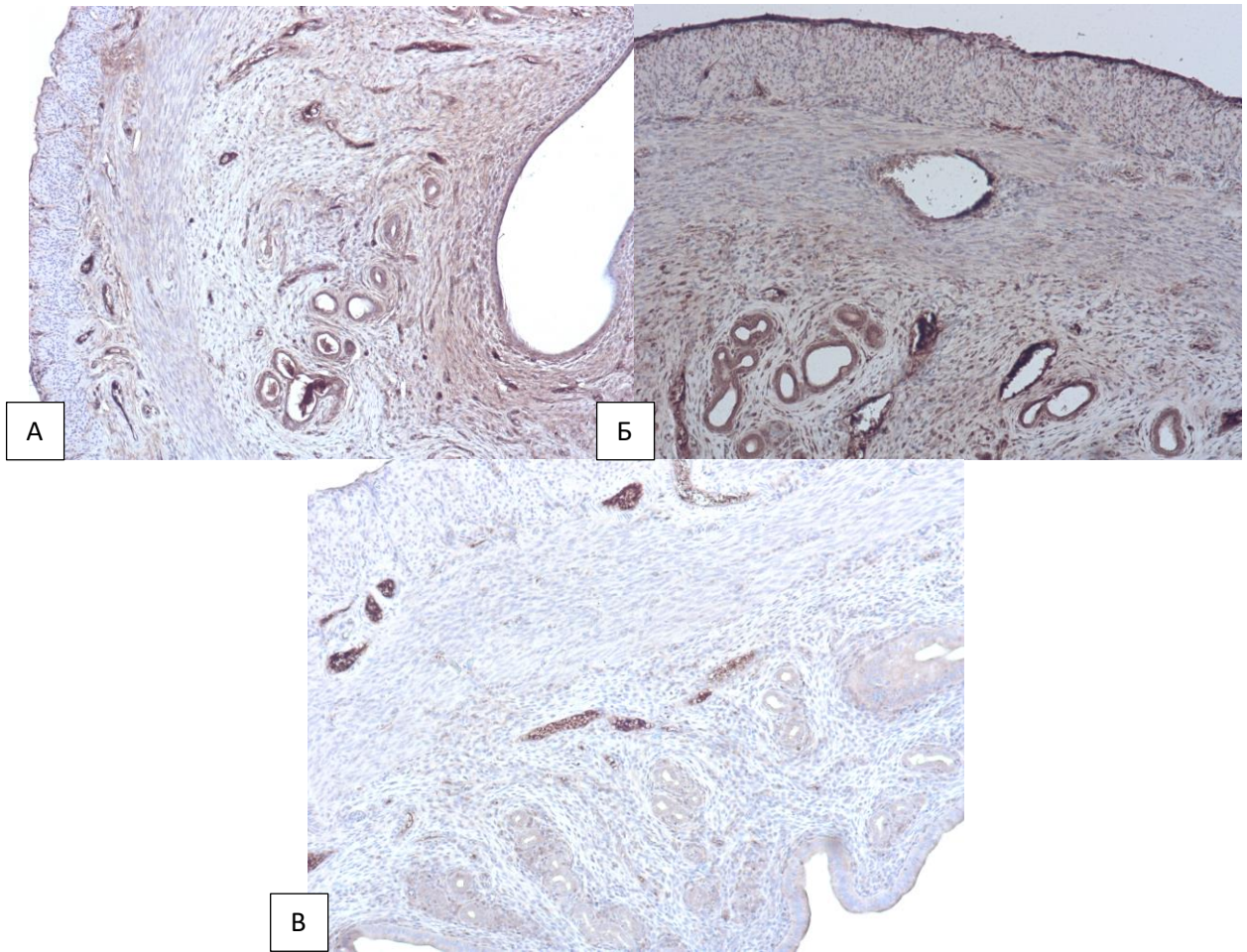


моделировании перитонита и пневмонии нарушаются нормальные процессы фолликулогенеза.

С учетом современных литературных данных о роли матричных металлопротеиназ -1,-9,-19 в регуляции имплантации и развитии эмбриона, а также в ремоделировании эндометрия в менструальном цикле и фолликулогенезе, мы провели иммуногистохимическое исследование, направленное на определение удельного числа и интенсивности экспрессии вышеуказанных ММП в образцах матки и яичников животных со смоделированной пневмонией и перитонитом.

### **4.3 Особенности экспрессии матричных металлопротеиназ -1, -9, -19 в тканях матки на фоне экспериментального перитонита и экспериментальной пневмонии**

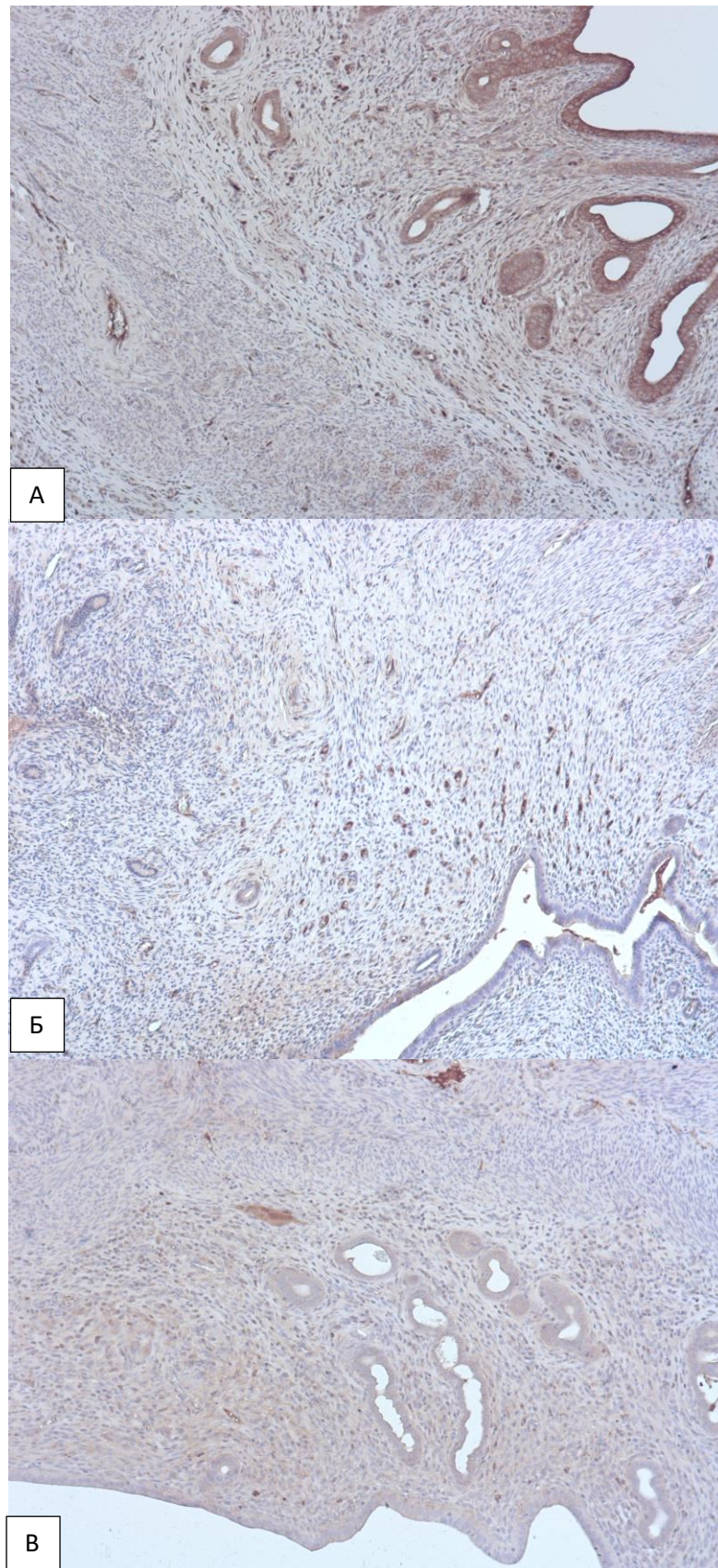
Как показано в таблице 4.2, при перитоните через сутки с момента моделирования число клеток экспрессирующих ММП-1 в эндометрии, миометрии увеличилось по сравнению контрольной группой: 73,70–[62,11;85,29]% и 40,40 [24,10;56,70]%  $p<0,05$  – в эндометрии; 11,10 [5,41;16,79]% и 4,20 [2,55;5,85]%  $p<0,05$  – в миометрии. В периметрии же число клеток экспрессирующих ММП-1 достоверно ниже, чем в контрольной группе: 22,50 [4,75;46,50]% и 42,50 [19,50;56,75]%  $p<0,05$ , соответственно. На фоне экспериментальной пневмонии число клеток экспрессирующих ММП-1 достоверно снизилась в эндометрии и периметрии по сравнению с контрольной группой и группой животных с экспериментальным перитонитом и составила 24,30 [7,95;40,65]% и 6,00 [1,25;7,50]%  $p<0,05$ . Также достоверно отличалась интенсивность экспрессии ММП-1 в эндометрии и периметрии по сравнению с контрольной группой и группой животных с экспериментальным перитонитом 1,00 [1,00;1,00] и 1,00 [0,00;1,00] баллов соответственно (рисунок 4.7).



**Рисунок 4.7** – А – фрагмент матки крысы контрольной группы. Б – фрагмент матки крысы с экспериментальным перитонитом. В – фрагмент матки крысы с экспериментальной пневмонией. Окрашивание с использованием моноклональных антител к ММП-1, подкрашивание гематоксилин-эозином. Увел.  $\times 100$

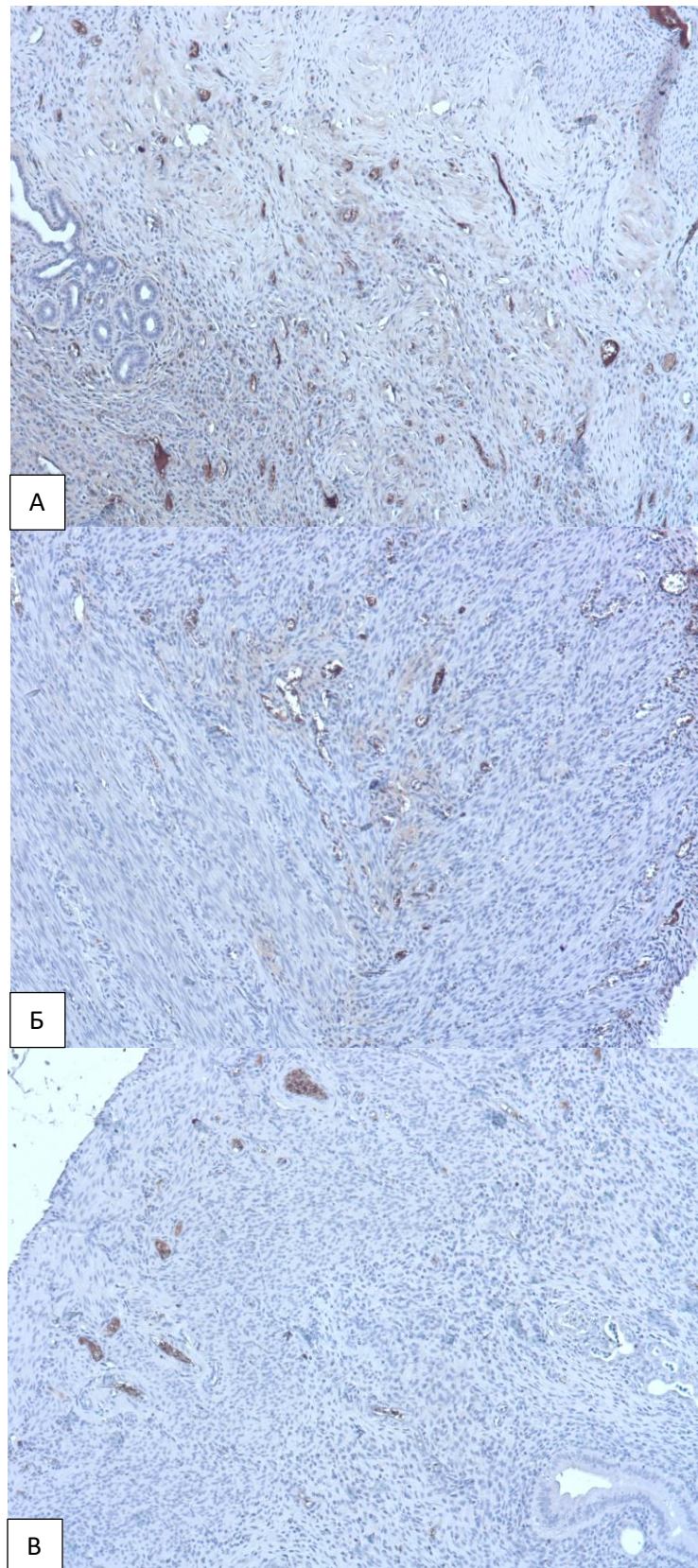
При анализе экспрессии ММП-9 и ММП-19 при экспериментальном перитоните и экспериментальной пневмонии мы наблюдаем тенденцию к снижению числа экспрессирующих клеток в эндометрии по сравнению с контрольной группой, а ММП-19 – и в миометрии (рисунок 4.8, 4.9).





**Рисунок 4.8** – А – фрагмент матки крысы контрольной группы. Б – фрагмент матки крысы с экспериментальным перитонитом. В – фрагмент матки крысы с экспериментальной пневмонией. Окрашивание с использованием моноклональных антител к ММП-9, подкрашивание гематоксилин-эозином. Увел.  $\times 100$





**Рисунок 4.9** – А – фрагмент матки крысы контрольной группы. Б – фрагмент матки крысы с экспериментальным перитонитом. В – фрагмент матки крысы с экспериментальной пневмонией. Окрасивание с использованием моноклональных антител к ММП-19, подкрашивание гематоксилин-эозином.

Увел.  $\times 100$

**Таблица 4.2** – Удельное число и интенсивность экспрессии иммунопозитивных клеток в тканях матки животных контрольной и экспериментальной групп

ММП №	Группа	Показатель	Слой матки			
			Эндометрий	Миометрий	Периметрий	
ММП-1	Контроль (n=20)	Удельное число, %	40,40 [24,10;56,70]	4,20 [2,55;5,85]	42,50 [19,50;56,75]	
		Интенсивность экспрессии, баллы	2,00 [2,00;2,00]	1,00 [0,25;1,00]	2,00 [2,00;2,00]	
	Животные с перитонитом (n=20)	Удельное число, %	73,70 [62,11;85,29]*	11,10 [5,41;16,79]*	22,50 [4,75;46,50]*	
		Интенсивность экспрессии, баллы	2,00 [2,00;2,75]	1,00 [1,00;2,00]	1,50 [1,00;2,00]	
	Животные с пневмонией (n=25)	Удельное число, %	24,30 [7,95;40,65]*†	5,10 [1,65;8,55] †	6,00 [1,25;7,50]*†	
		Интенсивность экспрессии, баллы	1,00 [1,00;1,00]*†	1,00 [0,25;1,00]	1,00 [0,00;1,00] *†	
	ММП-9	Контроль (n=20)	Удельное число, %	30,50 [23,25;44,25]	8,00 [3,83;12,17]	5,40 [1,78-9,02]
			Интенсивность экспрессии, баллы	1,50 [1,00;2,00]	1,00 [1,00;1,75]	2,00 [1,25;2,00]
		Животные	Удельное	13,00	8,90	5,58

	с перитонитом (n=20)	число, %	[8,75;28,50]*	[3,87;13,93]	[2,66-8,94]
		Интенсивность экспрессии, баллы	1,50 [1,00;2,00]	2,00 [1,00;2,00]	2,00 [1,00-2,00]
	Животные с пневмонией (n=25)	Удельное число, %	13,00 [5,50;18,00] *†	5,50 [2,12;8,88]	3,80 [1,84-5,76]
		Интенсивность экспрессии, баллы	1,50 [1,00;1,75]	1,00 [1,00;1,00]	1,00 [1,00-1,75]
ММП-19	Контроль (n=20)	Удельное число, %	15,20 [10,91;19,49]	7,50 [4,50;8,00]	2,90 [1,49;4,31]
		Интенсивность экспрессии, баллы	1,50 [1,00;2,00]	1,00 [1,00;1,00]	1,00 [1,00;1,75]
	Животные с перитонитом (n=20)	Удельное число, %	11,30 [4,16;18,44]*	3,00 [0,50;5,00]*	5,00 [2,76;7,24]*
		Интенсивность экспрессии, баллы	2,00 [1,25;2,00]	1,50 [0,25;2,00]	1,50 [1,00;2,00]
	Животные с пневмонией (n=25)	Удельное число, %	4,80 [2,40;7,20]* †	2,00 [1,00;3,75]* †	3,90 [2,38;5,42]
		Интенсивность	1,50 [1,00;2,00]	1,00 [1,00;1,00]	2,00 [1,00;2,00]

		экспрес- сии, баллы			
--	--	------------------------	--	--	--

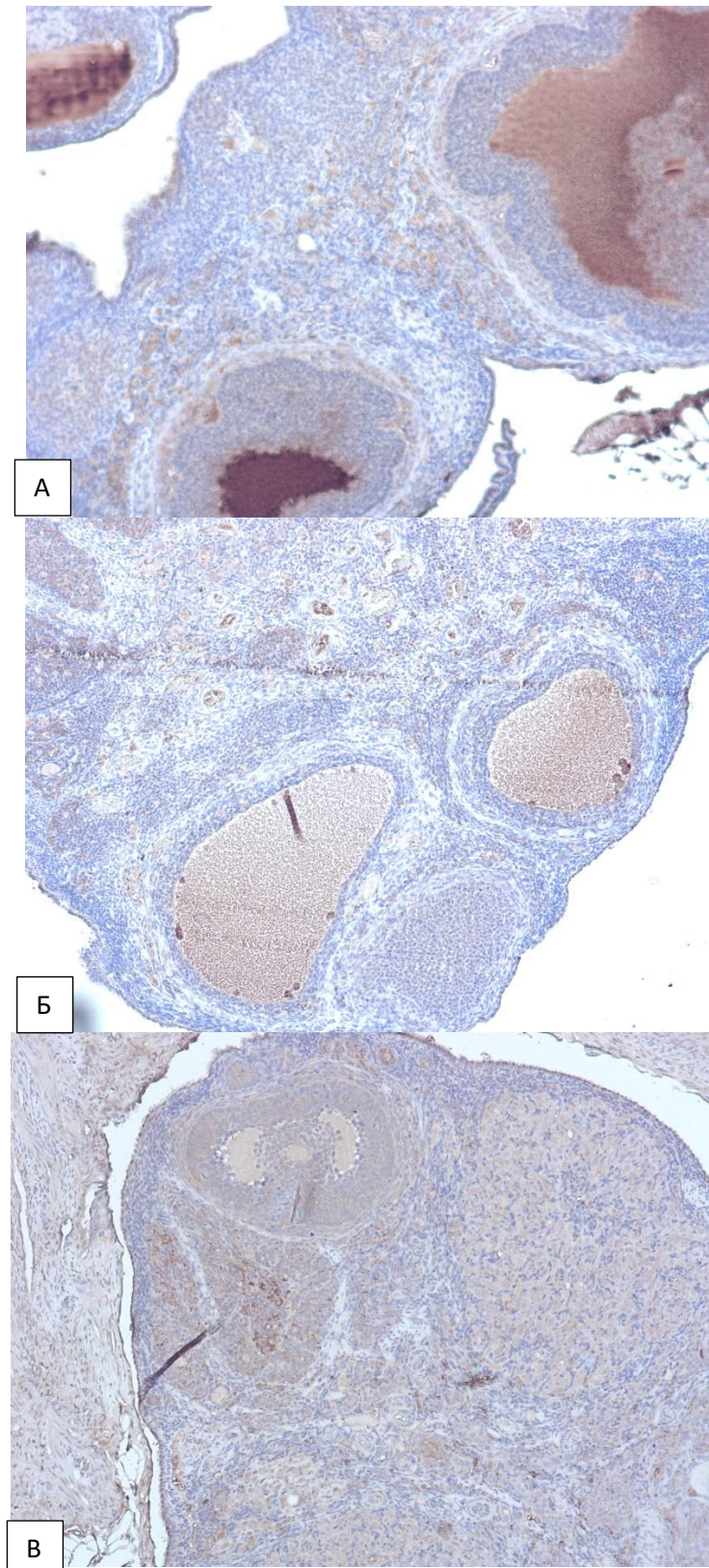
**Примечание:** Статистически значимые различия по сравнению с \*контролем, †группой с экспериментальным перитонитом при  $p < 0,05$ . Используемый статистический метод для подсчета достоверности результатов – критерий Фишера.

Таким образом, полученные данные показали, что экспрессия ММП-1, -9 и -19 изменяется в тканях матки на фоне экспериментального перитонита и экспериментальной пневмонии. В частности, обнаружено увеличение активности ММП-1 в эндометрии и миометрии на фоне экспериментального перитонита, тогда как на фоне экспериментальной пневмонии активность данного фермента уменьшалась. Интенсивность экспрессии ММП-9, ММП-19 на фоне обеих смоделированных патологий значительно уменьшалось в эндометрии, а ММП-19 – и в миометрии.

#### **4.4 Особенности экспрессии матриксных металлопротеиназ -1, -9, -19 в тканях яичников на фоне экспериментального перитонита и экспериментальной пневмонии**

Как указано в таблице 4.3 удельное число клеток экспрессирующих ММП-1 в корковом слое яичника при перитоните увеличилось по сравнению с контрольной группой животных (45,62 [33,16;58,09]% – контрольная группа животных, 67,25 [58,89;76,61]%  $p < 0,05$  – группа животных с перитонитом), а при пневмонии число иммуно-позитивных клеток статистически значимо уменьшается (45,62 [33,16;58,09]% – контрольная группа животных, 36,00 [26,72;45,28]%  $p < 0,05$  – группа животных с пневмонией) (рисунок 4.10).

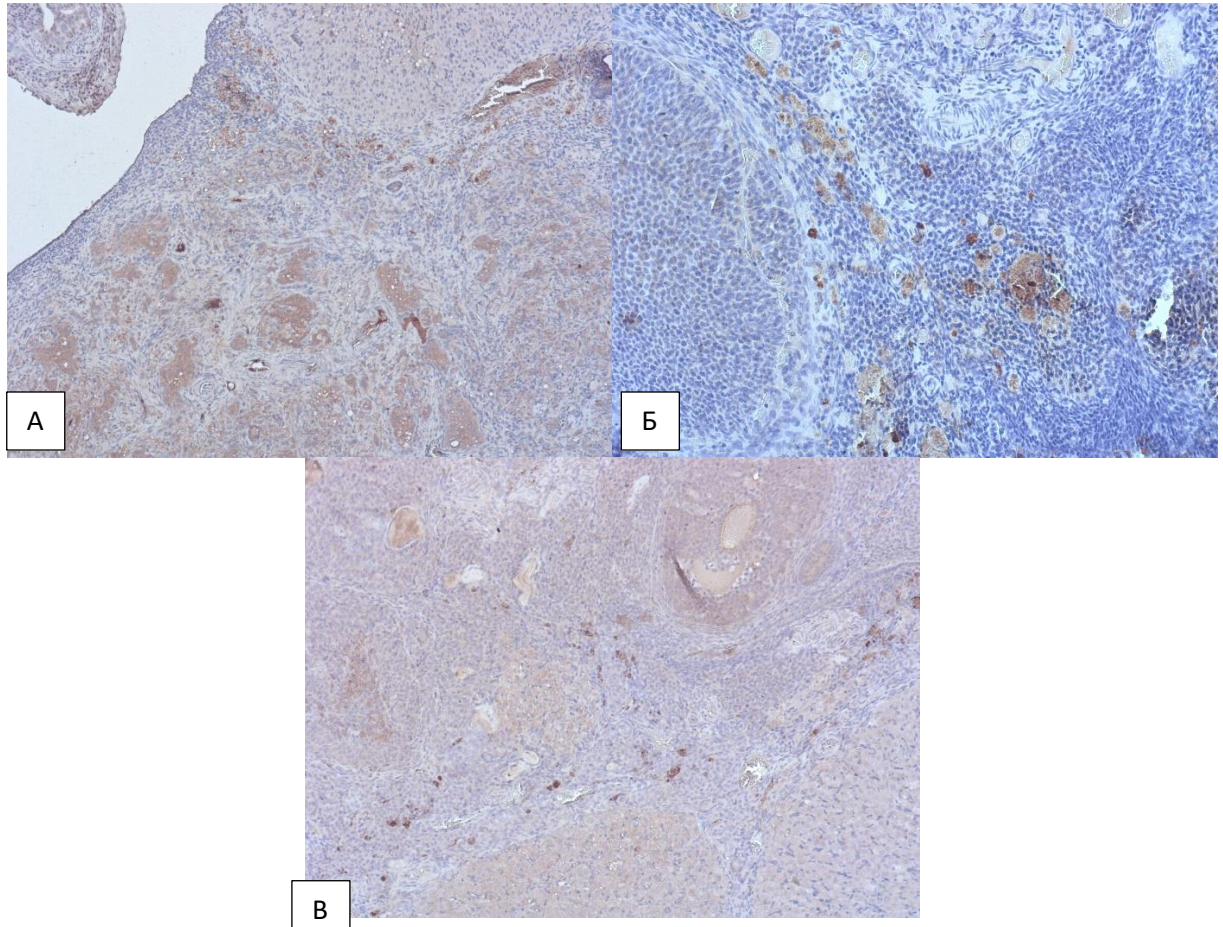




**Рисунок 4.10** – А – фрагмент яичника крысы контрольной группы. Б – фрагмент яичника крысы с экспериментальным перитонитом. В – фрагмент яичника крысы с экспериментальной пневмонией. Окрашивание с использованием моноклональных антител к ММП-1, подкрашивание гематоксилин-эозином. Увел.  $\times 100$



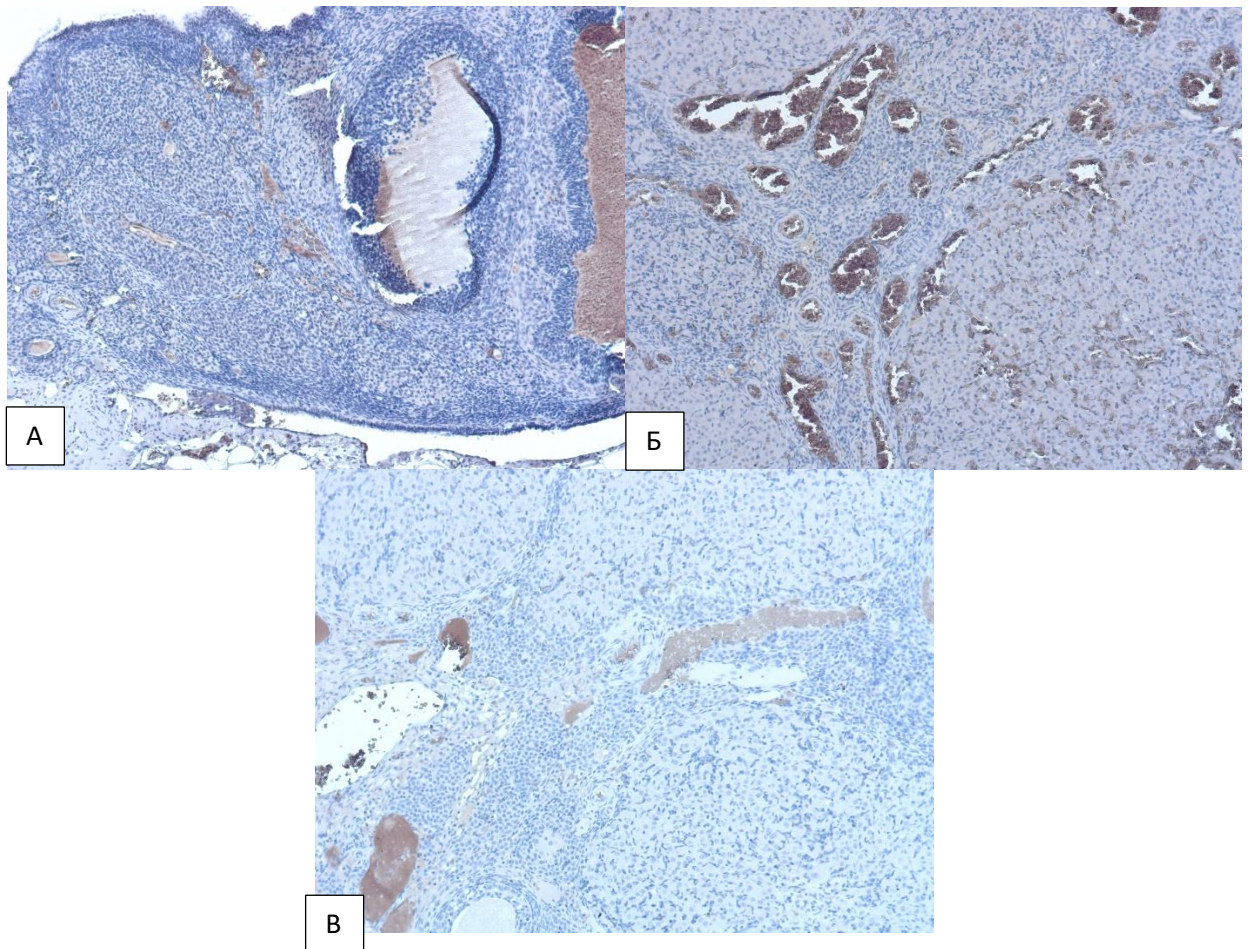
При анализе числа клеток экспрессирующих ММП-9 установлено снижение показателя иммуно-позитивных клеток в мозговом веществе яичника у группы животных с перитонитом и пневмонией по сравнению с контрольной группой – 25,67 [19,24;32,09]% - контрольная группа, 12,83 [5,11;20,56]%  $p < 0,05$  – группа животных с перитонитом, 16,83 [8,51;25,16]%  $p < 0,05$  – группа животных с пневмонией (таблица 4.3) (рисунок 4.11).



**Рисунок 4.11** – А – фрагмент яичника крысы контрольной группы. Б – фрагмент яичника крысы с экспериментальным перитонитом. В – фрагмент яичника крысы с экспериментальной пневмонией. Окрашивание с использованием моноклональных антител к ММП-9, подкрашивание гематоксилин-эозином. Увел.  $\times 200$

При анализе числа клеток экспрессирующих ММП-19 в группе животных с перитонитом установлено увеличение показателя иммуно-позитивных клеток в мозговом и корковом слое яичников по сравнению с контрольной группой (таблица 4.3). В группе животных с пневмонией статистически значимых

изменений по вышеуказанным параметрам по сравнению с группой контрольных животных не выявлено (рисунок 4.12).



**Рисунок 4.12** – А – фрагмент яичника крысы контрольной группы. Б – фрагмент яичника крысы с экспериментальным перитонитом. В – фрагмент яичника крысы с экспериментальной пневмонией. Окрашивание с использованием моноклональных антител к ММП-19, подкрашивание гематоксилин-эозином. Увел.  $\times 200$

**Таблица 4.3** – Удельное число и интенсивность экспрессии иммунопозитивных клеток в тканях яичников животных контрольной и экспериментальной групп

	Группа	Показатель	Слои яичника	
			Корковый слой	Мозговой слой
ММП-1	Контроль (n=20)	Удельное число, %	45,62 [33,16;58,09]	16,25 [2,18;30,32]
		Интенсив- ность экспрессии,	2,00 [2,00;3,00]	1,50 [1,00;2,00]

		баллы		
	Животные с перитонитом (n=20)	Удельное число, %	67,25 [58,89;76,61] *	24,12 [13,06;35,19]
		Интенсивность экспрессии, баллы	2,00 [2,00;2,00]	1,00 [1,00;2,00]
	Животные с пневмонией (n=25)	Удельное число, %	36,00 [26,72;45,28] *†	23,12 [13,47;32,78]
		Интенсивность экспрессии, баллы	2,00 [2,00;3,00]	1,50 [1,00;2,00]
ММП-9	Контроль (n=20)	Удельное число, %	18,00 [15,50;53,00]	25,67 [19,24;32,09]
		Интенсивность экспрессии, баллы	1,50 [0,00;2,00]	2,00 [2,00;2,72]
	Животные с перитонитом (n=20)	Удельное число, %	23,50 [14,75;35,25]	12,83 [5,11;20,56] *
		Интенсивность экспрессии, баллы	2,00 [1,00;2,50]	2,00 [1,25;2,00]
	Животные с пневмонией (n=25)	Удельное число, %	29,50 [25,00;33,25]	16,83 [8,51;25,16] *
		Интенсивность экспрессии, баллы	2,00 [1,00;2,50]	2,00 [2,00;2,00]



		экспрессии, баллы		
ММП-19	Контроль (n=20)	Удельное число, %	7,50 [5,25;15,50]	11,00 [8,41;13,59]
		Интенсив- ность экспрессии, баллы	1,00 [1,00;2,00]	1,00 [1,00;1,00]
	Животные с перитонитом (n=20)	Удельное число, %	23,00 [18,25;28,50] *	19,60 [13,97;25,33] *
		Интенсив- ность экспрессии, баллы	1,00 [1,00;1,75]	1,00 [1,00;1,00]
	Животные с пневмонией (n=25)	Удельное число, %	11,00 [6,50;14,75] †	9,50 [5,27;13,73] †
		Интенсив- ность экспрессии, баллы	1,50 [1,00;2,00]	1,00 [1,00;1,75]

**Примечание:** Статистически значимые различия по сравнению с \*контролем, †группой с экспериментальным перитонитом при  $p < 0,05$ . Используемый статистический метод для подсчета достоверности результатов – критерий Фишера.

Таким образом, полученные данные показали, что экспрессия ММП-1, -9 и -19 изменяется в тканях яичников на фоне экспериментального перитонита и экспериментальной пневмонии. Экспрессия ММП-1 и ММП-19 увеличивается на фоне перитонита в корковом слое яичника, при этом на фоне пневмонии активность ММП-1 – уменьшалась. Экспрессия ММП-9 в основном изменяется в

мозговом слое – у животных с перитонитом и пневмонией удельное число иммуно-позитивных клеток снижается.

#### **4.5 Линейная скорость кровотока и функциональная активность NO-синтаз в маточной артерии у крыс на фоне экспериментального перитонита и экспериментальной пневмонии**

Проведённое исследование показало, что в исходном состоянии до проведения фармакологических проб линейная скорость кровотока в маточной артерии у крыс в обеих экспериментальных и контрольной группах была различной. В первой экспериментальной группе – на 56,81% ниже ( $p=0,039$ ), чем линейная скорость у контрольных животных, а во второй группе – на 51,66% ( $p=0,021$ ) (таблица 4.4).

После введения АХ у всех групп животных регистрировалось изменение скорости кровотока с последующим возвращением к исходному значению. Эффект АХ в данном случае опосредован в первую очередь активацией нитрооксидсинтаз и образованием NO из концевых гуанидин-азота L-аргинина и кислорода. При этом происходит расширение сосудов и увеличение линейной скорости кровотока.

При подсчёте РМК на АХ процент прироста линейной скорости кровотока у контрольных животных по отношению к исходному состоянию составил 19,85% ( $p<0,001$ ), в первой экспериментальной группе у крыс с пневмонией – 142,74% ( $p<0,05$ ), а во второй экспериментальной группе – на 34,86% ( $p<0,001$ ).

При проведении пробы с L-NAME, заключающейся в неизбирательном ингибировании нитрооксидсинтаз (нейрональной, эндотелиальной, индуцибельной), у всех групп животных через 15-20 минут после его введения происходило плавное падение линейной скорости кровотока до минимальных значений. В этот период имела место максимальная вазоконстрикция, проявляющаяся у контрольных животных падением линейной скорости кровотока на 50,03% ( $p<0,001$ ) по сравнению с исходным состоянием, в первой экспериментальной группе – на 51,93% ( $p<0,001$ ) и во второй группе – на 54,04%

( $p < 0,001$ ) также по отношению к показателям в исходном состоянии в своей экспериментальной группе (таблица 4.4).

Функциональная активность эндотелиальной NO-синтазы в маточной артерии при перитоните, оцениваемой на фоне функциональных проб с АХ и L-NAME, имела тенденцию к преобладанию над показателем в контроле, но это изменение незначимо, тогда как функциональная активность эндотелиальной NO-синтазы в маточной артерии при пневмонии была статистически достоверно выше показателя контрольной группы.

**Таблица 4.4** – Линейная скорость кровотока на фоне применения АХ, L-NAME (см/с) и функциональная активность NOS у крыс контрольной и экспериментальных групп

Регуляторы сосуд торуca Эксперим. Группы	Исходная скорость кровотока (см в с) <sup>1</sup>	Скорость кровотока после АХ (см в с) <sup>2</sup>	Скорость кровотока после L- NAME (см в с) <sup>3</sup>	Функциональ ная активность NOS (%) <sup>4</sup>
Контрольная группа (n=20)	33,00 [29,00- 35,68] n=20	39,55±7,93 n=20 Р исходная скорость – после АХ <0,001	16,40 [15,30- 20,52] n=20 Р исходная скорость – после L-NAME <0,001	245,25±52,66 n=20
Группа животных с пневмонией (n=25)	14,25 [13,25- 25,38] n=20 Р контрольная	34,59±12,65 n=20 Р1 исходная скорость–после АХ<0,05	6,85 [5,98-11,68] n=20 Р1 исходная скорость – после	421,95±178,2 1 n=20 Р контрольная группа – группа

	группа–группа $p_1 = 0,039$	$P_2$ контрольная группа – группа $p_1 > 0,05$	LNAME < 0,001 $P_2$ контрольная группа – группа 1 $= 0,045$	$p_1 < 0,001$
Группа животных с перитонитом (n=20)	15,95 [12,90- 18,07] n=20 $P$ контрольная группа – группа 2 = 0,021	21,51 ± 5,11 n=20 $P_1$ исходная скорость – после AX < 0,001 $P_2$ контрольная группа – группа 2 = 0,001	7,33 [4,72-10,08] n=20 $P_1$ исходная скорость – после LNAME < 0,001 $P_2$ контрольная группа -группа 2 = 0,021	282,00 ± 132,5 1 n=20 $P_2$ группа 1 – группа 2 = 0,171
Используемый статистический метод для подсчета достоверности результатов – критерий Фишера.	критерий Краскела- Уоллиса	F-критерий Фишера	критерий Краскела- Уоллиса	T-критерий Уэлча

**Примечание:** \* – различия показателей статистически значимы ( $p < 0,05$ ).

## ГЛАВА 5

### ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

В последние годы проблема женского бесплодия становится предметом все более глубокого исследования и обсуждения. Анализ современных литературных данных подтверждает, что частота этой серьезной патологии в мировой популяции продолжает оставаться на высоком уровне и составляет примерно 10–15% (Larsen et al., 2013). Важно отметить, что наблюдается отсутствие значимой тенденции к снижению этой статистики, что подчеркивает необходимость более глубокого исследования этой проблемы.

Главными причинами развития женского бесплодия являются гормональный дисбаланс, нарушения овуляции, структурные аномалии в развитии матки и маточных труб, а также влияние возрастных факторов (Dumesic et al., 2015). Это подчеркивает многогранность проблемы и необходимость комплексного подхода к ее исследованию и лечению.

Один из наиболее широко используемых методов лечения женского бесплодия – это применение вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Однако стоит отметить, что несмотря на их популярность, эти методы сопряжены с высокими экономическими затратами и не всегда обеспечивают высокие показатели эффективности. Согласно некоторым исследованиям, частота успешной беременности при использовании ВРТ составляет менее 35% (Кравцова О. А., 2016). Это факт подчеркивает необходимость поиска новых, более эффективных методов лечения и подходов к преодолению бесплодия.

В свете вышеизложенного, возрастает интерес со стороны исследователей к изучению новых механизмов возникновения и развития женского бесплодия. Особое внимание уделяется разработке персонализированных подходов к лечению и профилактике данной патологии, которые могут учитывать индивидуальные особенности каждой женщины. Это направление исследований



значительный потенциал, позволяющий разработать новые методы лечения и профилактики женского бесплодия.

В последнее время растет число исследований, которые подтверждают, что сопутствующая экстрагенитальная патология имеет значительное воздействие на различные аспекты беременности, созревания и развития плода, а также на процессы родов. Этот факт подчеркивает важность учета общего состояния организма женщины при изучении факторов, влияющих на репродуктивную функцию (Чернуха Е.А., 2017; Sharma and Aggarwal, 2019; Новикова Е.Б., 2018; Бондаренко Е.А., 2019).

Например, сердечно-сосудистые заболевания могут приводить к нарушениям кровоснабжения матки и яичников, что, в свою очередь, негативно сказывается на процессах оогенеза – образования и созревания яйцеклеток (Бондаренко Е.А., 2019). Подобные изменения могут воздействовать на фертильность женщины и способствовать развитию бесплодия. Сахарный диабет, нарушения функции щитовидной железы и ожирение также имеют свои последствия для женской репродуктивной системы. Они способствуют изменениям в овариальном и менструальном циклах, что может стать потенциальным предиктором нарушения женской репродуктивной функции (Бондаренко Е.А., 2019; Joffe and Key, 2016; Горячева Л.И., 2019; Chavarro et al., 2017). Такие изменения могут сказаться на возможности зачатия и успешной беременности.

В свете этих научных данных становится очевидной необходимость в комплексном подходе оценки здоровья женщин и их общему состоянию при выявлении причин бесплодия и разработке индивидуальных стратегий лечения и репродуктивного планирования.

Ряд исследователей отмечает принципиальное воздействие экстрагенитальных воспалительных заболеваний на женскую фертильность. Особенно важно обратить внимание на то, как эта патология, например,

воспаление кишечника и пародонтоз, могут сказываться на репродуктивной системе женщины (Sharma and Aggarwal, 2019). В частности, вышеописанная патология может вызывать нарушения овуляции и имплантации эмбриона, что имеет потенциальное значение для беременности и успешного развития плода (Sharma and Aggarwal, 2019). Помимо этого, воспалительные заболевания могут приводить к нарушению кровотока и повреждению тканей, что может способствовать образованию спаек и рубцов на органах репродуктивной системы, включая яичники и матку (Козлова Е.А., 2018). Это потенциально приводит к структурным изменениям и функциональным нарушениям, которые негативно влияют на возможность зачатия и нормальное развитие беременности.

Анализ медицинской документации, проведенный в клинической части данного исследования, выявил интересные паттерны в отношении сопутствующих экстрагенитальных заболеваний у женщин, страдающих бесплодием (рисунок 3.2). Особое внимание на себя обращает число женщин с хронической воспалительной патологией пищеварительной системы (гастриты, дуодениты, язвенная болезнь желудка и (или) двенадцатиперстной кишки, панкреатиты) и дыхательной системы (хронические бронхиты или частая острая патология (более 4 раз в год) — ОРВИ, грипп, бронхит, ларингит, трахеит, пневмония) – суммарно таких женщин было больше половины от обследуемых. Эти наблюдения подчеркивают важность исследования взаимосвязи между сопутствующими экстрагенитальными патологиями и бесплодием.

В процессе исследования выявлено, что вышеуказанная сопутствующая патология оказывает отрицательное воздействие на процессы фолликулогенеза (образование и созревание фолликулов) и оогенеза (образование и созревание яйцеклеток). Это может быть объяснено тем, что у женщин из групп, страдающих воспалительными экстрагенитальными заболеваниями дыхательной и пищеварительной систем, наблюдается существенное снижение количества зрелых ооцитов при пункции фолликулов, а также уменьшение числа успешно

оплодотворенных ооцитов во время процедуры экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), по сравнению с контрольной группой (таблица 3.2).

Это явление, вероятно, может быть объяснено «cross-organ» эффектом на органы малого таза. Этот термин относится к ситуации, когда воспалительные изменения в органах репродуктивной системы могут быть вызваны острым или хроническим воспалительным процессом в другой части организма. В данном контексте, воспалительные изменения в пищеварительной и дыхательной системах могут инициировать воспалительные реакции в органах малого таза, оказывая негативное воздействие на процессы фолликулогенеза и оогенеза у женщин (Dileepan T, 2016).

Существующие научные исследования также подтверждают, что «cross-organ» воздействие включает активацию вегетативной системы и высвобождение различных медиаторов воспаления, включая цитокины. Это может создавать сложные молекулярные механизмы, которые могут влиять на функции репродуктивной системы у женщин с сопутствующей экстрагенитальной патологией (Dileepan T, 2016).

Так, в эксперименте с мышами, проведенном Dileepan T. (2016), было установлено, что при индуцированном экспериментальном фарингите наблюдается перемещение специфических Th17-клеток, производящих ИЛ-17А, в мозговую ткань, что увеличивает вероятность развития аутоиммунных неврологических нарушений, связанных со стрептококковой инфекцией (Dileepan T, 2016). Целесообразно подчеркнуть, что в случае воспалительных заболеваний как пищеварительной, так и дыхательной системы, наблюдается активное присутствие в крови разнообразных медиаторов воспаления, таких как интерлейкины, факторы некроза опухоли и другие (Fonseca J.Ею, 2019; Mantovani A, 2019). При предположении, что подобный механизм может также функционировать в репродуктивных органах, медиаторы воспаления могут перемещаться в матку и придатки, вызывая структурные изменения в органах и нарушение местного кровообращения.

В связи с тем, что у женщин с воспалительной патологией дыхательной и пищеварительной систем ухудшаются процессы оогенеза, о чем было описано выше, с целью изучения особенностей патогенеза этого процесса, нами был проанализирован уровень апоптоза – один из механизмов гибели гранулезных клетках.

Созревание яйцеклетки – это сложный и многоступенчатый процесс, в котором участвует слаженное взаимодействие различных клеток, гормонов, факторов роста и сигнальных молекул (Heber M.F., 2021). Отмечается, что в оогенезе ключевую роль играют специализированные соматические клетки, известные как гранулезные клетки (King M.L., 2017). Они не только отвечают за синтез эстрогенов, но также регулируют воздействие фолликулостимулирующего гормона, который необходим для развития фолликулов (Sutton-McDowall M.L., 2010; Hsueh A.J., 2015).

Последние исследования подтверждают, что гранулезные клетки оказывают непосредственное воздействие на качество яйцеклетки путем выделения разнообразных факторов роста и сигнальных молекул, которые влияют на её развитие (Зенкина В. Г., 2011; Richards J.S., 2010). Эти сигналы играют важную роль в определении созревания яйцеклетки и поддержании её функциональной целостности.

Однако, недостаточная или избыточная активация апоптоза в гранулезных клетках может иметь серьезные последствия. Избыточный апоптоз приводит к гибели яйцеклетки, что негативно повлияет на возможность успешного зачатия и наступление беременности. С другой стороны, недостаточная активация апоптоза способна вызвать нарушения в нормальном процессе оогенеза, что также негативно скажется на её качестве и способности к оплодотворению (Hsueh A.J., 2015).

Ряд исследований подчеркивают важность баланса между апоптозом и выделением сигнальных молекул гранулезными клетками в поддержании

нормального созревания яйцеклеток и репродуктивной функции женщины (Зенкина В. Г., 2011; Heber M.F., 2021; Hsueh A.J., 2015).

Повышение уровня воспалительных медиаторов, которое, в частности, наблюдается при воспалительных заболеваниях дыхательной и пищеварительной систем, может стимулировать индукцию апоптоза. Этот процесс часто обусловлен увеличением концентрации активных форм кислорода и одновременным снижением трансмембранного митохондриального потенциала, что, в свою очередь, способствует иницированию внутреннего пути запрограммированной клеточной гибели (Чечина О. Е., 2009).

Результаты нашего исследования явно указывают на важное влияние экстрагенитальной патологии воспалительного генеза на состояние гранулезных клеток, которые, как отмечалось ранее, играют ключевую роль в развитии ооцитов. Так, у женщин без экстрагенитальной патологии наблюдается статистически значимо большее количество живых гранулезных клеток по сравнению с пациентками, имеющими хроническую воспалительную патологию пищеварительной или дыхательной системы.

Отметим также, что у женщин без экстрагенитальной патологии наблюдаются сниженные показатели раннего и позднего апоптоза в гранулезных клетках. Это может указывать на то, что воспалительные изменения в пищеварительной и дыхательной системах оказывают отрицательное воздействие на апоптотические процессы в гранулезных клетках, что, в свою очередь, может повлиять на нормальное созревание яйцеклеток.

В ходе исследования также установлено, что патология пищеварительной и дыхательной систем воспалительного генеза оказывает различные воздействия на гранулезные клетки. Женщины с патологией дыхательной системы демонстрируют более выраженное снижение числа живых гранулезных клеток и повышенный апоптоз по сравнению с женщинами, имеющими в анамнезе патологию пищеварительной системы. Эти различия могут отражать

разнообразии биологических механизмов, активирующихся при различных видах воспалительных процессов. Вероятно, это объясняется еще тем, что у пациенток с заболеваниями дыхательной системы развивается гипоксия, которая, в свою очередь, дополнительно активирует апоптоз и нарушает процессы оогенеза (Yang Z, 2022).

Однако, полученные данные клинического исследования не могут в полной мере объяснить роль экстрагенитальной воспалительной патологии в патогенезе женского бесплодия. В связи с этическими ограничениями, детально изучить влияние вышеуказанного фактора на структурно-функциональные изменения женских репродуктивных органов, изменения маточно-овариального кровотока, изменения со стороны межклеточного матрикса на пациентах не представляется возможным. Поэтому данные аспекты были изучены в экспериментальной части исследования при моделировании воспаления в брюшной полости и экспериментальной пневмонии на самках крыс.

В результате проведенного экспериментального исследования выявлены значительные структурно-функциональные изменения в репродуктивных органах самок крыс на фоне экспериментального перитонита и экспериментальной пневмонии. Особенно заметные изменения наблюдаются в корковом слое яичников. Животные из экспериментальных групп показывают статистически значимое снижение количества примордиальных фолликулов и увеличение числа более зрелых фолликулов по сравнению с контрольной группой, причем эти изменения значимо выражены в группе с экспериментальной пневмонией.

Эти наблюдения предположительно могут быть связаны активацией нескольких механизмов, индуцированных воспалительным процессом. При перитоните и пневмонии наблюдается увеличение циркуляции провоспалительных цитокинов в крови, таких как интерлейкин-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), интерлейкин-6 (IL-6) и фактор некроза опухоли- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) (Kwak-Kim, J., 2015).

Исследования показывают, что медиаторы воспаления могут оказывать влияние на рост и дифференциацию фолликулов яичников, способствуя переходу одного типа фолликула в другой (Li Y., 2019, Kwak-Kim J., 2015). Например, IL-1 $\beta$  и IL-6 стимулируют митоген-активированную протеинкиназу (МАРК), которая играет роль в регуляции размножения, дифференциации и выживания клеток, включая клетки фолликула (Li Y., 2019). С другой стороны, как уже отмечалось ранее, TNF- $\alpha$  индуцирует апоптоз гранулезных клеток, окружающих ооциты внутри фолликула. Это может иметь негативное воздействие на развитие фолликулов, так как гранулезные клетки играют важную роль в поддержании микроокружения ооцитов и способствуют их развитию (Li Y., 2019).

Более выраженное сокращение антральных фолликулов и увеличение первичных и вторичных фолликулов в группе с пневмонией по сравнению с контролем и группой с перитонитом ассоциируется с наличием респираторной гипоксии, которая развивается на фоне пневмонии. Гипоксия влияет на развитие фолликулов путем регуляции факторов, активируемых гипоксией, так называемых HIFs белков, приспособляющих клетки к низким уровням кислорода (Zheng W., 2018).

В условиях низкого кислорода HIF стабилизируются и активируются в ядре, где они координируют экспрессию генов, участвующую в различных клеточных процессах, включая ангиогенез и метаболизм. Исследования также показали, что в яичнике HIF регулируют развитие и функцию фолликулов, экспрессию генов, связанных с их дифференциацией. Отмечается, что HIF влияют на гены, поддерживающие рост вторичных фолликулов, что соответствует результатам проведенного нами исследования (Zheng W., 2018).

Гипоксия через увеличения числа активных форм кислорода (АФК), которые вызывают клеточные повреждения и апоптоз, приводит к увеличению числа нефункциональных атретических фолликулов в группе с пневмонией (Zheng W., 2018).

Таким образом, полученные данные согласуются с анализом уровня апоптоза гранулезных клеток, выполненного в клинической части исследования. Вероятно, медиаторы воспаления, которые персистируют в крови как при остром, так и при хроническом воспалении, влияют не только на уровень апоптоза гранулезных клеток, но также непосредственно на процессы оогенеза и фолликулогенеза, тем самым способствуя с одной стороны гибели фолликулов, с другой – перехода одного вида фолликулов в другой, что потенциально может вести за собой преждевременное истощение овариального резерва в частности, и нарушение репродуктивной функции в целом.

Морфологические изменения при экспериментальной пневмонии и экспериментальном перитоните наблюдаются также и в другом органе репродуктивной системы животных - матке. В первую очередь, у экспериментальных групп животных, в отличие от контрольной группы, отмечается усиленная инфильтрация органа эозинофильными лейкоцитами. В литературе имеются сведения, что подобная картина у крыс может наблюдаться в определенные стадии эстрального цикла, однако, у всех животных до проведения исследования брались влагалищные смывы для определения периодичности цикла, а все процедуры выполнялись строго в стадию диэструса (Hsieh M., 2019). Таким образом, можно предположить, что экстрагенитальный воспалительный процесс влияет либо на периодичность самого эстрального цикла, либо в органе развивается воспаление. В пользу последнего говорит тот факт, что помимо эозинофильной инфильтрации в обеих экспериментальных группах наблюдаются увеличение числа макрофагов, апоптотических телец, у некоторых животных наблюдались очаги некроза, а сам процесс локализован не только в эндометрии, но и затрагивает миометрий, а у некоторых животных – периметрий. Так или иначе подобные изменения матки потенциально могут сказываться на репродуктивной функции.

Важные изменения в органах репродуктивной системы на фоне экспериментального перитонита и экспериментальной пневмонии происходят



также на уровне белков межклеточного матрикса, в частности, матриксных металлопротеиназ – группе ферментов, играющих важную роль в физиологических и патологических процессах (Иванова А.П., 2019). Недавние исследования показали, что три члена семейства металлопротеиназ – ММП-1, -9 и -19, а также их тканевые ингибиторы, играют существенные роли в различных аспектах женской репродуктивной системы. Эти аспекты включают процессы оогенеза, фолликулогенеза, ремоделирование эндометрия, имплантации эмбриона, не только в норме, но и при патологии (Chen, H., 2017).

В результате проведенных экспериментов, установлено, что после моделирования патологии, спустя сутки, было выявлено увеличение количества клеток, которые экспрессируют матриксную металлопротеиназу-1 (ММП-1), как в эндометрии, так и в миометрии.

Матриксные металлопротеиназы – это группа ферментов, играющих важную роль в регуляции разнообразных биологических процессов, таких как ремоделирование межклеточного матрикса, миграция клеток и воспалительные реакции (Иванова А.П., 2019). В данном контексте, ММП-1 является ключевым представителем группы коллагеназ и часто связана с разрушением компонентов межклеточного матрикса.

Увеличение активности ММП-1 в эндометрии имеет особое значение. Эндометрий – это внутренний слой матки, который подвергается регулярному циклическому обновлению во время менструального цикла. Наблюдаемая здесь активность ММП-1 может быть связана с деструкцией компонентов межклеточного матрикса в этой быстро обновляющейся ткани. Этот процесс может иметь значимость для понимания механизмов, регулирующих проникновение трофобласта (зародышевой ткани) в эндометрий в начале беременности, а также влияния на репродуктивную функцию в целом.

Повышение активности ММП-1 может быть обусловлено различными факторами. Увеличение концентрации цитокинов в крови при перитоните может

оказывать стимулирующее воздействие на ММП-1, синтез и высвобождение цитокинов вызывает развитие синдрома системного воспалительного ответа и полиорганной недостаточности, что в свою очередь приводит к смерти животных в эксперименте.

В первой экспериментальной группе через первые сутки погибли 4 особи. По данным Фастовой И.А. (2011), при использовании этой модели перитонита в течение 48-72 часов наблюдалась полная гибель всех экспериментальных крыс. Нельзя не согласиться с Фастовой И.А., что цитокины играют важную роль в развитии перитонита.

Исследования Staal J, 2018, подтверждают, что в случае перитонита наблюдается увеличение концентрации провоспалительных медиаторов в крови. Среди таких медиаторов можно выделить фактор некроза опухоли- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), интерлейкины -1 $\beta$ , -6 (IL-1 $\beta$ , -6), а также трансформирующий фактор роста- $\beta$  (TGF- $\beta$ ). Эти медиаторы играют ключевую роль в активации металлопротеиназы-1 (ММП-1) в различных тканях, включая матку. (Staal J, 2018).

Активация ММП-1 в эндометрии и миометрии матки при перитоните может быть результатом сложных биохимических сигнальных путей. Один из таких путей – сигнальный путь NF- $\kappa$ B (Hayden M.S., 2011). Активированный NF- $\kappa$ B связывается с регуляторными элементами NF- $\kappa$ B ( $\kappa$ BRE) в промоторных областях генов, ассоциированных с воспалением, что стимулирует их транскрипцию и, в результате, увеличивается уровень воспалительных белков, адгезивных молекул, факторов роста и, как в данном случае, матриксных металлопротеиназ. Близость репродуктивного органа к патологическому процессу при перитоните усиливает воздействие этих изменений. Увеличение числа антигенпозитивных клеток к ММП-1 в эндометрии и миометрии свидетельствует о более высокой активности ММП-1 в этих тканях. Одновременно с этим, активность ММП-1 в периметрии (наружной оболочке матки) снижается, что может влиять на снижение прочности тканей матки.

Помимо изменения активности матриксной металлопротеиназы-1 на фоне экспериментального перитонита и экспериментальной пневмонии у крыс, в ходе исследования также наблюдалось снижение активности ММП-9 и ММП-19 в эндометрии и миометрии.

При экспериментальной пневмонии и экспериментальном перитоните имеет место снижение активности этих металлопротеиназ, сопряженные с активацией фибробластов, фиброгенезом и образованием соединительной ткани в ответ на повреждения. В данном контексте, снижение активности ММП-9 и ММП-19 может свидетельствовать о компенсаторной реакции организма на ограничение деструктивных процессов, на предотвращение дальнейшего разрушения тканей.

Выявленное снижение активности ММП-9 и ММП-19 также может иметь долгосрочные последствия для репродуктивной функции. Металлопротеиназы играют важную роль в регулировании тканевого гомеостаза и ремоделировании, в том числе в репродуктивных тканях. Снижение их активности влияет на структуру и функцию эндометрия и миометрия, что, в свою очередь, может оказывать воздействие на проникновение и закрепление эмбриона, а другие аспекты репродуктивной функции.

Исследование выявило, что при экспериментальной пневмонии, в эндометрии, миометрии и периметрии снижается количество антигенпозитивных клеток к ММП-1 по сравнению с контролем. Известно, что уменьшение активности ММП-1 может влиять на проникновение трофобласта в строму эндометрия, что в конечном итоге нарушает репродуктивную функцию (Vandenbroucke R.E., 2014). По результатам клинической части исследования, нарушение репродуктивной функции было более выражено у лиц, часто страдающих от воспалительных заболеваний дыхательной системы, в сравнении с воспалительными заболеваниями пищеварительной системы. Очевидно, что уменьшение активности ММП-1, особенно в эндометрии, играет важную роль в нарушении репродуктивной функции у пациентов с частыми заболеваниями дыхательной системы воспалительной природы.

Снижение удельного числа иммунопозитивных клеток к ММП-1, видимо, результат избыточного выделения цитокинов. Возможно, это связано с интенсивным синтезом и выделением интерлейкина-1 (IL-1) и интерферона- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) во время воспалительных процессов, которые, как отмечают некоторые исследователи, при высоких концентрациях могут угнетать активность ММП-1 путем регулирования транскрипции гена ММП-1 (Shan Y, 2022). В нашем случае при моделировании экспериментальной пневмонии, мы выбрали метод введения взвеси аутокаловых масс в паренхиму легких, что фактически приводит к колонизации легких кишечной микрофлорой. В группе с экспериментальной пневмонией к концу 1 суток, 7 крыс погибли, что указывает на развитие инфекционно-токсического шока. Высокий уровень смертности свидетельствует о серьезных деструктивно-воспалительных процессах в легких и развитии так называемого «цитокинового шторма».

В легких находится большое количество тканевых макрофагов и эпителиальных клеток, которые при борьбе с бактериальными агентами синтезируют IL-1 и IFN- $\gamma$ , что приводит к более значительному увеличению концентрации названных цитокинов, чем при экспериментальном перитоните (Stockinger S., 2016). Важно также подчеркнуть, что снижение активности ММП-1 также нарушает процессы ремоделирования матрикса матки, а это в свою очередь оказывает негативное воздействие на репродуктивную функцию. В результате экспериментального перитонита и пневмонии, наблюдается тенденция к снижению экспрессии ММП-9 и -19, что, возможно, связано с тем, что провоспалительные медиаторы, усиленно выделяемые при изучаемых патологических процессах, активируют фибробласты, фиброгенез на фоне уменьшения активности указанных металлопротеиназ (Wynn T.A., 2008).

В яичниках на фоне экспериментального перитонита и экспериментальной пневмонии также наблюдаются схожие изменения со стороны активности матриксных металлопротеиназ. Так количество клеток, экспрессирующих металлопротеиназу-1 в корковом веществе яичника при перитоните достоверно

увеличивалось, а при пневмонии – уменьшалось. В литературе имеются сведения, что ММП-1 принимает активное участие в фолликулогенезе и оогенезе, способствуя рассасыванию фолликулярной оболочки и освобождению яйцеклетки (Li, Y., 2015). Эти данные согласуются с результатами, полученными в ходе оценки количественных показателей структурных компонентов коркового вещества яичника самок белых крыс (таблица 4.1). Так, и при пневмонии, и при перитоните количество нефункциональных антральных фолликулов значительно уменьшается по сравнению с контрольной группой, причем у животных с экспериментальной пневмонией значительно увеличено число атретических фолликулов. По всей видимости, как увеличение, так и снижение активности ММП-1 влечет за собой нарушение процессов оогенеза и фолликулогенеза, однако, наиболее значимо это влияние при снижении экспрессии ММП-1.

Согласно проведенному исследованию, установлено, что у животных с экспериментальной пневмонией и экспериментальным перитонитом наблюдается заметное снижение удельного числа клеток, экспрессирующих металлопротеиназу-9, в мозговом слое яичников по сравнению с контрольной группой. Этот результат может указывать на изменения в регуляции воспалительных процессов в яичниках при наличии инфекционных процессов в организме (Smith, H. O., 2020).

Важно отметить, что в корковом слое яичников экспериментальных групп наблюдается противоположная тенденция. Уровень клеток, экспрессирующих матриксную металлопротеиназу-19, значительно повышен в этих группах по сравнению с контрольной группой. Это может указывать на активацию процессов реконструкции межклеточного матрикса в данной области яичников, возможно, связанную с попыткой организма справиться с патологическими изменениями (Jones, S. E., 2019).

Экспериментальная пневмония и экспериментальный перитонит оказывают воздействие не только на структуру и активность матриксных металлопротеиназ в женских репродуктивных органах, но также влияет и на региональный кровоток.

В ходе проведенного исследования было выявлено, что в обеих экспериментальных группах происходит значительное снижение линейной скорости кровотока в маточных артериях. Это наблюдение, вероятно, связано с реакцией сосудистого русла на воздействие шокогенного фактора, присутствующего при экспериментальной пневмонии и перитоните (Johnson C. D., 2019).

Исследования показывают, что периваскулярная ткань вдоль микрососудов содержит значительное количество тучных клеток, которые реагируют на экстремальные факторы путем увеличения секреции гистамина через процесс экзоцитоза. Далее, происходит дегрануляция тучных клеток, что приводит к высвобождению множества биологически активных веществ. Эти вещества играют роль в регуляции сосудистого тонуса, проницаемости стенок микрососудов, свойству крови (Девятова Е.А., 2016).

Важно отметить, что под воздействием экстремальных факторов, на фоне экспериментальной пневмонии и перитонита, происходит увеличение высвобождения катехоламинов из адренергических нервных окончаний. Это сопровождается усилением синтеза катехоламинов корой надпочечников и развитием гиперкатехолемии – высокого уровня катехоламинов в крови (Андреева И.В., 2019). Эти изменения способствуют десенситизации  $\beta$ -адренорецепторов и активации  $\alpha$ -адренорецепторов сосудов, что влечет за собой увеличение сосудистого сопротивления, артериальных спазмов, перераспределение кровотока и, следовательно, развитие нейрогенной формы ангиоспастической ишемии (Ананченко М.Н., 2011). Это явление направлено на централизацию кровообращения и обеспечение наиболее важных органов и тканей кровью в условиях стресса.

Сравнительный анализ результатов, полученных в ответ на введение ацетилхолина, свидетельствует о наиболее выраженном вазодилатирующем эффекте у экспериментальных групп животных. Этот результат, вероятно, связано с увеличением содержания цитокинов, таких как фактор некроза опухоли (ФНО-

$\alpha$ ), интерлейкин- $1\beta$  (ИЛ- $1\beta$ ) и других, в условиях выраженного бактериально-токсического повреждения. Эти цитокины могут значительно влиять на регуляцию сосудистого тонуса и иметь вазодилатационный эффект.

К примеру, ФНО- $\alpha$ , кальций- и кальмодулиннезависимый белок, может стимулировать синтез оксида азота (NO) в концентрациях, превышающих нормальные значения в тысячи раз (Черток В. М., 2020). Интерлейкин- $1\beta$  также может оказывать воздействие на сосудистый тонус, способствуя снижению активности  $\beta$ -адренорецепторов. Эти изменения могут приводить к выраженной вазодилатации (Nistri S., 2019). Кроме того, помимо NO-синтазы, существует предположение о высвобождении других гуморальных региональных вазодилататоров, включая медиаторы воспаления (Быченкова М.А., 2018).

При проведении пробы с L-NAME, который ингибирует активность нитроксидсинтаз и подавляет синтез оксида азота (NO), наблюдалась максимальная вазоконстрикция, проявляющаяся падением линейной скорости кровотока у животных. В экспериментальных группах снижение линейной скорости кровотока еще более значимы, чем в контроле. Это значительное уменьшение линейной скорости кровотока может быть обусловлено накоплением в крови высокого уровня вазоконстрикторов, таких как катехоламины, и подчеркивает значительную роль оксида азота в регуляции сосудистого тонуса, которая в данном контексте при ингибировании нитроксидсинтазы становится неактивной.

Отметим, что функциональная активность эндотелиальной NO-синтазы в маточной артерии, оцениваемая посредством функциональных проб с ацетилхолином и L-NAME, имела тенденцию к преобладанию над показателями в контрольной группе у экспериментальных животных. Однако у животных с перитонитом изменение активности NO-синтаз было статистически незначимы и это может свидетельствовать о возможном нарушении регуляции эндотелиальной NO-синтазой сосудистого тонуса на фоне сформировавшегося перитонита и пневмонии. Важно подчеркнуть, что спазм маточной артерии в исходном

состоянии и более резкое уменьшение линейной скорости кровотока на фоне ингибирования NO-синтазы L-NAME указывают на выраженное констрикторное влияние на кровоснабжение матки при перитоните и пневмонии.

Видимо при воспалительно-деструктивных процессах в брюшной полости и легких, одновременно активируются констрикторные механизмы и происходит усиление активности эндотелиальной NO-синтазы (eNOS), индуцибельной NO-синтазы (iNOS) и нейрональной NO-синтазы, которой явно недостаточно для компенсации ишемии. Это приводит к морфофункциональным изменениям женских репродуктивных органов.

При этом стоит отметить, что изменение линейной скорости кровотока в маточной артерии у крыс связано с размером и активностью воспалительного процесса. При этом, чем масштабнее бактериально-токсическое повреждение, тем сильнее выражены констрикторные эффекты, приводящие к гипоксии и компенсаторному увеличению активности NOS.



## ВЫВОДЫ

1. Определено увеличение уровня интенсивности апоптоза в гранулезных клетках и уменьшение числа зрелых ооцитов, полученных при проведении пункции фолликулов во время выполнения экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) у женщин, страдающих бесплодием, с наличием экстрагенитальной патологии дыхательной и пищеварительной систем воспалительного генеза в анамнезе. Выявлена обратная корреляционная связь между параметрами апоптоза в гранулезных клетках и числом зрелых ооцитов у пациенток на фоне воспалительно-деструктивных процессов в дыхательной и пищеварительной системах, ухудшающих шансы на успешное зачатие.

2. Выявлено значимое снижение количества примордиальных фолликулов на фоне смоделированного перитонита и экспериментальной пневмонии, а также увеличение числа первичных, вторичных и атретических фолликулов на фоне экспериментальной пневмонии, что свидетельствует о влиянии воспалительно-деструктивных процессов в брюшной полости и дыхательной системе на процессы созревания и дифференцировки фолликулов.

3. Установлен значимый прирост линейной скорости кровотока в маточной артерии после введения ацетилхолина у крыс на фоне экспериментальной пневмонии и умеренное увеличение этого показателя у крыс с экспериментальным перитонитом. После введения L-NAME в экспериментальных группах равнозначно снижается скорость кровотока, при этом функциональная активность NO-синтаз в маточной артерии увеличивается более выражено при пневмонии, по отношению к контрольной группе и группе с экспериментальным перитонитом.

4. Выявлено увеличение активности MMP-1 в эндометрии и миометрии, а MMP-19 в периметрии и одновременное уменьшение активности MMP-19 в эндометрии и миометрии, а MMP-1 в периметрии у крыс на фоне экспериментального перитонита у крыс, в то время как активность MMP-1, -9, -19

в эндометрии уменьшалась на фоне экспериментальной пневмонии, что приводит к нарушению ремоделирования тканей и имплантации.

5. В корковом слое яичника активность ММП-1, ММП-19 увеличивается на фоне экспериментального перитонита, а при экспериментальной пневмонии активность ММП-1 уменьшается, в то время как в мозговом слое яичника активность ММП-9 снижается как при экспериментальном перитоните, так и при экспериментальной пневмонии, приводя к нарушению процессов ремоделирования матрикса, необходимого для успешного фолликулогенеза и овуляции.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Рекомендуется использовать определение интенсивности апоптоза в гранулезных клетках для прогностической оценки качества эмбриона при экстракорпоральном оплодотворении у женщин с экстрагенитальной патологией дыхательной и пищеварительной систем воспалительного генеза в анамнезе.

2. Наряду с перечнем утвержденных клинико-лабораторных методов исследования при прегравидарной подготовке проводить дополнительные исследования маточного кровотока у женщин с экстрагенитальной патологией дыхательной и пищеварительной систем воспалительного генеза в анамнезе.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

**ММ** – межклеточный матрикс

**ММП** – матриксные металлопротеиназы

**ММП-1** – матриксная металлопротеиназа -1

**ММП-9** – матриксная металлопротеиназа-9

**ММП-19** – матриксная металлопротеиназа-19

**РМК** – реакция маточного кровотока

**АХ** – ацетилхолин

**L-NAME** – метиловый эфир L-нитроаргинина

**Лсмакс** – максимальное значение линейной скорости кровотока

**Лсисх** – исходное значение линейной скорости кровотока

**Лсмин** – минимальное значение линейной скорости кровотока

**ФАЭ** – функциональная активность NO-синтаз

**ЭКО** – экстракорпоральное оплодотворение

**ВРТ** – вспомогательные репродуктивные технологии

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Абдикадырова, А.А. Особенности репродуктивной функции пациенток с эндометриозом яичников / Абдикадырова, А.А., Садуакасова, Ш.М., Бодыков, Г.Ж. // Вестник Казахского Национального медицинского университета. 2020. № 2. С. 1-6.
2. Агеева, Т.А. Процессы репаративной регенерации в яичниках в условиях курсовой полихимиотерапии в эксперименте / Агеева Т.А., Гвоздева Н.В. // Journal of Siberian Medical Sciences. 2012. № 4. С. 18.
3. Адамян, Л.В. Новые возможности хирургии в восстановлении утраченных функций яичников при преждевременной недостаточности яичников у женщин репродуктивного возраста / Адамян, Л.В., Дементьева, В.О., Смольникова, В.Ю., Асатурова, А.В. // Доктор.Ру. 2019. № 11 (166). С. 44-49.
4. Адамян Л. В., Манукян Л. М., Логинова О. Н., Арсланян К. Н., Зайратьянц В. О. Роль матричных металлопротеиназ в патогенезе эндометриоза (обзор литературы) // Проблемы репродукции. 2020. Т. 26. № 2. С. 95-103. URL: <https://www.mediasphera.ru/issues/problemyreproduksii/2020/2/downloads/ru/1102572172020021095>
5. Адамян, Л.В. Роль матричных металлопротеиназ в патогенезе эндометриоза (обзор литературы) / Адамян, Л.В., Манукян, Л.М., Логинова, О.Н., Арсланян, К.Н., Зайратьянц, В.О. // Проблемы репродукции. 2020. Т. 26. № 2. С. 95-103.
6. Адамян, Л.В. Окислительный стресс и эндометриоз: обзор литературы / Адамян, Л.В., Сонова, М.М., Арсланян, К.Н., Логинова, О.Н., Харченко, Э.И. // Лечащий Врач. 2019. № 12. С. 20-25.
7. Алексанова, Е.М., Аксененко, В.А. Металлопротеиназы, сосудистые факторы и молекулы адгезии у пациенток с эндометриоидными кистами яичников и недифференцированной дисплазией соединительной ткани // Доктор.Ру. 2015. № 14 (115). С. 28-31.

8. Андреева, Е.А., Хонина, Н.А., Пасман, Н.М., Черных, Е.Р. Цитокины в регуляции овариального фолликулогенеза (обзор литературы) // Проблемы репродукции. 2017. Т. 23. № 1. С. 8-14.
9. Аржанова, О.Н. Причины акушерских осложнений у пациенток после вспомогательных репродуктивных технологий / Аржанова, О.Н., Пайкачева, Ю.М., Рулёва, А.В., Капустин, Р.В., Ничипорук, Н.Г. // Журнал акушерства и женских болезней. 2017. Т. 66. № 3. С. 25-33.
10. Аржанова, О.Н. Риск развития гестационного сахарного диабета у пациенток после использования вспомогательных репродуктивных технологий / Аржанова, О.Н., Рулева, А.В., Пайкачева, Ю.М., Иванова, А.О., Ничипорук, Н.Г. // Журнал акушерства и женских болезней. 2019. Т. 68. № 2. С. 17-22.
11. Блинов, Д.В. Ранняя менопауза и преждевременная недостаточность яичников: проблемы и перспективы / Блинов, Д.В., Хазан, П.Л., Мнацаканьян, А.Л., Корабельников, Д.И., Сафаров, А.Т., Павлова, Н.В., Захарова, Н.С., Пономарев, Д.А., Петренко, Д.А. // Акушерство, гинекология и репродукция. 2020. Т. 14. № 3. С. 328-345.
12. Вакарева, В.В. Предикторы повышения артериального давления у женщин после индукции суперовуляции при экстракорпоральном оплодотворении / Вакарева, В.В., Авдеева, М.В., Щеглова, Л.В. // Артериальная гипертензия. 2020. Т. 26. № 1. С. 53-63.
13. Вакарева, В.В. Функциональное состояние сердца у женщин перед экстракорпоральным оплодотворением и его динамика после стимуляции суперовуляции / Вакарева, В.В., Авдеева, М.В., Щеглова, Л.В., Попова, В.В., Воронков, П.Б. // Педиатр. 2019. Т. 10. № 6. С. 55-61.
14. Вакарева, В.В. Вариабельность сердечного ритма во время стимуляции овуляции у женщин, проходящих процедуру экстракорпорального оплодотворения / Вакарева, В.В., Щеглова, Л.В. // Ученые записки СПбГМУ им. И.П. Павлова. 2012. Т. 19. № 3. С. 52-54.
15. Веропотвелян, П.Н. Нарушение менструальной и репродуктивной функции у пациенток с ожирением / Веропотвелян, П.Н., Веропотвелян, Н.П., Полонец,

- И.А., Цехмистренко, И.С., Гужевская, И.В. // Здоровье женщины. 2014. № 5. С. 130-135.
16. Волгина, Н.Е. Секреция матриксных металлопротеиназ ММП-9 клетками эндометрия / Волгина, Н.Е., Садекова, А.А., Щипицына, В.С., Красный, А.М. // Медицинский академический журнал. 2016. Т. 16. № 4. С. 122-123.
17. Волкова, Е.Ю. Влияние физиотерапии на гемодинамику матки у женщин с нарушением репродуктивной функции и "тонким" эндометрием / Волкова, Е.Ю., Силантьева, Е.С., Серов, В.Н., Корнеева, И.Е., Соколова, Ю.Ю. // Российский вестник акушера-гинеколога. 2012. № 3. С. 50-54.
18. Волкова, Н.И. Механизмы нарушения фертильности у женщин с ожирением / Волкова, Н.И., Дегтярева, Ю.С. // Медицинский вестник Юга России. 2020. Т. 11. № 3. С. 15-19.
19. Гайдарова, А.Х. Изменение состояния микроциркуляторного русла у пациенток с хроническим эндометритом под влиянием контрастного массажа / Гайдарова, А.Х., Котенко, Н.В., Кульчицкая, Д.Б., Сычева, А.Ю., Тарасова, Т.Ю. // Физиотерапия, бальнеология и реабилитация. 2015. Т. 14. № 2. С. 36-40.
20. Гайдуков, С.Н. Роль генного полиморфизма матриксных коллагеназ в профилактике и тактике ведения больных с аденомиозом / Гайдуков, С.Н., Арутюнян, А.Ф., Кустаров, В.Н. // Фундаментальные исследования. 2015. № 1-10. С. 2019-2022.
21. Герилевич, Л.А. Оценка состояния здоровья женщин, использующих программы вспомогательных репродуктивных технологий / Герилевич, Л.А., Егорова, А.Т., Базина, М.И., Маисеенко, Д.А. // Медицинский альманах. 2015. № 4 (39). С. 76-79.
22. Герунова, Л.К. Ангиопротекторы: фармакологическая активность и перспективы использования в ветеринарной медицине / Герунова, Л.К., Тарасенко, А.А., Петрова, У.О. // Приоритетные векторы развития промышленности и сельского хозяйства: материалы IV Международной

- научно-практической конференции, Макеевка, 15 апреля 2021 года. Макеевка, 2021. Т. 1. С. 57-60.
23. Герштейн, Е.С. Современные представления о роли матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов в клиническом течении и прогнозе рака яичников / Герштейн, Е.С., Терешкина, И.В., Хуломханова, М.М., Кушлинский, Д.Н., Паяниди, Ю.Г., Жордания, К.И., Адамян, Л.В., Кушлинский, Н.Е. // Онкогинекология. 2018. № 3. С. 4-15.
  24. Гимбут, В.С. Повышение биодоступности окиси азота и адаптационные реакции сосудов маточно-плацентарно-плодового комплекса при плацентарной недостаточности / Гимбут, В.С., Боташева, Т.Л., Авруцкая, В.В., Палиева, Н.В. // Медицинский вестник Юга России. 2013. № 4. С. 50-54.
  25. Годовалов, А.П. Распространенность и возможные причины бесплодия в Пермском крае. / Годовалов, А.П., Николаева, Н.В., Карпунина, Т.И. // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2019. №18(1) С. 77-81.
  26. Горбатенко, Н.В. Влияние ожирения на развитие нарушения репродуктивной функции у женщин / Горбатенко, Н.В., Беженарь, В.Ф., Фишман, М.Б. // Ожирение и метаболизм. 2017. Т. 14. № 1. С. 3-8.
  27. Гриневич, Т.Н. Изучение аллельного полиморфизма генов матриксной металлопротеиназы-2 (С-735 Т) и тканевого ингибитора матриксной металлопротеиназы-2 (G-418 С) у женщин с привычным невынашиванием беременности / Гриневич, Т.Н., Ляликов, С.А., Степура, Т.Л., Дричиц, О.А. // Молекулярная и прикладная генетика. 2019. № 27. С. 33-38.
  28. Громова, О.А. Перспективы использования миоинозитола у женщин с поликистозом яичников и инсулинорезистентностью в программах прегравидарной подготовки к экстракорпоральному оплодотворению / Громова, О.А., Торшин, И.Ю., Лиманова, О.А. // Эффективная фармакотерапия. 2013. № 51. С. 12-23.
  29. Гутикова, Л.В. Значение матриксных металлопротеиназ в патогенезе генитального эндометриоза / Гутикова, Л.В., Павловская, М.А. // Журнал



- Гродненского государственного медицинского университета. 2016. № 4 (56). С. 43-49.
30. Денисенко, М.В. Сохранение фертильности при сниженном овариальном резерве / Денисенко, М.В., Абакушина, Е.В., Румянцев, С.А., Савельева, Г.М., Курцер, М.А., Азиев, О.А., Андреев, А.И., Костюк, Э.В. // Research'n Practical Medicine Journal. 2015. № Прил. С. 52.
31. Дикке, Г.Б. Терапевтическая тактика при нарушениях менструального цикла, вызванных овуляторной дисфункцией / Дикке, Г.Б. // Медицинский совет. 2018. № 13. С. 40-44.
32. Дмитриева, М.Л. МикроРНК и преждевременная овариальная недостаточность / Дмитриева, М.Л., Тихоновская, О.А., Романова, А.А., Логвинов, С.В. // Акушерство и гинекология. 2020. № 1. С. 40-46.
33. Должиков, А.А. Молекулярно-генетические факторы прогноза гладкомышечных новообразований матки: роль матриксных металлопротеиназ / Должиков, А.А., Чурносков, М.И., Пахомов, С.П., Орлова, В.С., Быков, П.М., Мухина, Т.С., Нагорный, А.В., Алтухова, О.Б. // Человек и его здоровье. 2012. № 2. С. 138-146.
34. Дробинцева, А.О. Эндометриозная болезнь: патогенетическая роль рецепторов гормонов и методы диагностики / Дробинцева, А.О., Андреев, А.Е., Полякова, В.О., Кветной, И.М. // Клиническая медицина. 2018. Т. 96. № 9. С. 796-803.
35. Дубова, Е.А. Экспрессия матриксных металлопротеиназ в ткани плаценты зависит от выраженности недифференцированной дисплазии соединительной ткани / Дубова, Е.А., Климанцев, И.В., Павлов, К.А., Куликова, Г.В., Кан, Н.Е., Щёголев, А.И., Сухих, Г.Т. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2013. Т. 156. № 7. С. 123-127.
36. Дубровина, С.О. Оценка полиморфизма генов матриксной металлопротеиназы у больных с эндометриозными кистами яичников / Дубровина, С.О., Берлим, Ю.Д., Вовкочина, М.А., Морданов, С.В., Д.А.А. // Гинекология. 2021. Т. 23. № 5. С. 407-412.

37. Дятлова, А.С. Эндометриоз и эндометриоидные гетеротопии: от теорий происхождения к молекулярным маркерам диагностики / Дятлова, А.С., Линькова, Н.С., Полякова, В.О., Ярмолинская, М.И., Самошкин, Н.Г. // Успехи современной биологии. 2017. Т. 137. № 5. С. 458-467.
38. Еркенова, С.Е. Состояние яичников после оперативных вмешательств на органах малого таза у женщин репродуктивного возраста / Еркенова, С.Е., Бейсембаева, М.К., Муртаева, Д.А., Нурмамбетова, Д.А., Гусенова, Р.И., Кемелбекова, А.А., Даулетбаева, Ж.Б., Мирзахметова, Н.Х. // Вестник Казахского Национального медицинского университета. 2014. № 3-3. С. 65-69.
39. Жаркин, Н.А. Апоплексия яичника и ее влияние на репродуктивное здоровье / Жаркин, Н.А., Ткаченко, Л.В., Кравченко, Т.Г., Гриценко, И.В. // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. 2015. № 1 (53). С. 10-14.
40. Зайратьянц, О.В. Экспрессия моззина, p21-активированной киназы 4 (РАК 4), матриксных металлопротеиназ (ММП 2, ММП 9) и CD34 в эутопическом и эктопическом эндометрии при аденомиозе / Зайратьянц, О.В., Адамян, Л.В., Манукян, Л.М., Калинин, Д.В., Арсланян, К.Н. // Архив патологии. 2018. Т. 80. № 6. С. 14-21.
41. Зенкина, В.Г. Молекулярно-генетические механизмы организации и развития яичника / Зенкина, В.Г., Солодкова, О.А. // Бюллетень сибирской медицины. 2018. Т. 17. № 2. С. 133-142.
42. Зенкина, В.Г. Участие оксида азота в овариальном цикле / Зенкина, В.Г., Солодкова, О.А. // Современные проблемы науки и образования. 2015. № 6. С. 10.
43. Зенкина, В.Г. Молекулярные механизмы оогенеза / Зенкина, В.Г., Солодкова, О.А., Божко, Г.Г., Агибалова, А.А., Зенкин, И.С. // Бюллетень сибирской медицины. 2021. Т. 20. № 2. С. 139-147.
44. Зиновьева, О.С. Влияние сочетанной плацентарной терапии и инфракрасного спектра лазера на гемодинамические нарушения в гипопластичном эндометрии / Зиновьева, О.С., Мотовилова, Т.М., Качалина, Т.С., Кузнецова,

- И.А., Фомина, Е.А., Чикалова, К.И., Гагаева, Ю.А. // Медицинский альманах. 2018. № 6 (57). С. 94-97.
45. Золотых, О.С. Значение нарушения протеомного спектра фолликулярной жидкости в прогнозировании эффективности программ экстракорпорального оплодотворения у женщин с бесплодием / Золотых, О.С., Ломтева, С.В., Сагамонова, К.Ю. // Казанский медицинский журнал. 2018. Т. 99. № 3. С. 496-503.
46. Ибрагимова, С.М. Экспрессия матриксной металлопротеиназы 9 при преэклампсии / Ибрагимова, С.М., Тимохина, Е.В. // Университетская медицина Урала. 2019. Т. 5. № 2. С. 55-56.
47. Ильина, А.Р. ММП-9 как молекулярный маркер наружного генитального эндометриоза / Ильина, А.Р., Линькова, Н.С., Полякова, В.О. // Неделя науки СПбПУ : материалы научной конференции с международным участием, Санкт-Петербург, 13–19 ноября 2017 года. Санкт-Петербург, 2017. С. 461-463.
48. Ильина А.Р., Линькова Н. С., Полякова В. О. Экспрессия ММП-9 в эндометрии в норме, в эндометрии и эндометриальных гетеротопиях при наружном генитальном эндометриозе // Неделя науки СПбПУ : материалы научной конференции с международным участием. Лучшие доклады, Санкт-Петербург, 13–19 ноября 2017 года. Санкт-Петербург, 2018. С. 179-183.
49. Ильина, А.Р. Матриксные металлопротеиназы как одно из звеньев патогенеза наружного генитального эндометриоза / Ильина, А. Р., Миронова, Е. С., Линькова, Н. С., Полякова, В. О., Кветной, И. М., Белушкина, Н. Н. // Успехи физиологических наук. 2019. Т. 50. № 4. С. 81-86.
50. Ильченко, О.А. Влияние соматической и экстрагенитальной патологии в анамнезе женщин с неразвивающейся беременностью после экстракорпорального оплодотворения / Ильченко, О. А., Целкович, Л. С., Иванова, Т. В. // Наука в современном обществе: закономерности и тенденции развития. 2021. С. 116-123.
51. Казакова, О.А. Особенности экспрессии гена ММП9 у женщин с невынашиванием беременности в условиях воздействия фенолом в

- эксперименте *ex vivo* / Казакова, О. А., Долгих, О. В. // Современные проблемы гигиены, токсикологии и медицины труда. 2020. С. 111-116.
52. Камалов, З.С. Уровень провоспалительных цитокинов у женщин с синдромом поликистозных яичников / Камалов, З. С., Музафарова, С. А., Хайдарова, Ф. А. // Российский аллергологический журнал. 2017. Т. 14. № S1. С. 58-60.
53. Киروشка, В.В. Криоконсервирование и трансплантация овариальной ткани как метод восстановления эндокринной и репродуктивной функций / Киروشка, В. В. // Проблемы криобиологии и криомедицины. 2013. Т. 23. № 1. С. 4-14.
54. Клейменова, Т.С. Иммуноцитохимическая верификация экспрессии киспептинов в эндометрии человека в норме и при эндометриозе / Клейменова, Т. С. // Санкт-Петербург, 2016.
55. Клейменова, Т.С., Экспрессия киспептина и матриксных металлопротеиназ в культуре эндометрия человека: исследование инвазивных и миграционных свойств / Клейменова, Т.С., Дробинцева, А.О., Полякова, В.О., Цыпурдеева, А.А. // Журнал акушерства и женских болезней. 2019. Т. 68. № 2. С. 43-50.
56. Клюкина, Л.А. Антифосфолипидный синдром как важнейшее звено в генезе неудач экстракорпорального оплодотворения / Клюкина, Л. А. // Архив акушерства и гинекологии им. В. Ф. Снегирева. 2018. Т. 5. № 2. С. 69-76.
57. Коган, Е. А. Синдром недифференцированной дисплазии соединительной ткани в сочетании с наследственными тромбофилиями как причина первичного женского бесплодия / Коган, Е. А., Николенко, В. Н., Занозин, А. С., Демура, Т. А., Колосовский, Д. Ю. // Медицинский вестник Северного Кавказа. 2016. Т. 11. № 2-2. С. 324-326.
58. Коган, И. Ю. Роль некоторых цитокинов в эффективности лечения бесплодия методом экстракорпорального оплодотворения / Коган, И. Ю., Сысоев, К. А., Буйнова, А. Н., Грязнов, А. Ю., Тотолян, А. А., Мотовилова, Н. О. // Медицинская иммунология. 2012. Т. 14. № 4-5. С. 373-382.
59. Козаченко, И. Ф. Особенности кровообращения и ангиогенеза у больных репродуктивного возраста при миоме матки, аденомиозе и внутриматочной перегородке: использование функциональной МРТ и оценка уровня

- экспрессии маркеров ангиогенеза в эндометрии / Козаченко, И. Ф., Макиян, З. Н., Файзуллина, Н. М., Быченко, В. Г., Щеголев, А. И., Адамян, Л. В. // Акушерство и гинекология. 2021. № 3. С. 101-109.
60. Козаченко, И.Ф. Рецептивность эндометрия у больных доброкачественными заболеваниями матки в сочетании с бесплодием до и после оперативного лечения / Козаченко, И.Ф., Файзуллина, Н.М., Щеголев, А.И., Адамян, Л.В. // Акушерство и гинекология. 2020. № 11. С. 147-158.
61. Коновалова, М.В. Влияние функциональной активности трансформирующего ростового фактора и его рецепторов на состояние женской репродуктивной системы / Коновалова, М.В., Прохорович, Т.И., Васильев, В.В. // Global Reproduction. 2021. № S2. С. 44-49.
62. Кононенко, И.С. Полиморфизмы генов трансформирующего ростового фактора  $\beta 1$  и матриксной металлопротеиназы 9 как молекулярно-генетические предикторы формирования истмико-цервикальной недостаточности у пациенток с недифференцированной дисплазией соединительной ткани / Кононенко, И.С. // Вестник Витебского государственного медицинского университета. 2020. Т. 19. № 3. С. 50-58.
63. Кореновский, Ю.В. Референтные значения концентраций матриксных металлопротеиназ ММП-1, ММП-2, ММП-9 и тканевого ингибитора матриксных металлопротеиназ ТИМП-1 в амниотической жидкости в родах при физиологически протекающей беременности / Кореновский, Ю.В., Ремнёва, О.В. // Биомедицинская химия. 2016. Т. 62. № 1. С. 96-98.
64. Кореновский, Ю.В. Матриксные металлопротеиназы и тканевые ингибиторы матриксных металлопротеиназ при беременности и родах / Кореновский, Ю.В., Синельникова, Л.М., Фильчакова, О.Н., Шабалина, Ю.В., Ершова, Е.Г., Фадеева, Н.И., Ельчанинова, С.А. // Acta Biomedica Scientifica. 2012. № 5-2 (87). С. 146-149.
65. Косякова, Г.П. Изменения клеток гранулёзы фолликулов в стадии атрезии, регистрируемые с помощью флюорохромов / Косякова, Г.П., Прошин, С.Н.,

- Шабанов, П.Д., Глушаков, Р.И. // Морфологические ведомости. 2014. Т. 22. № 2. С. 41-47.
66. Кравцова, О.А. Изучение влияния медико-социальных факторов на результативность экстракорпорального оплодотворения на территории Самарской области / Кравцова, О.А., Гилевич-Родкина, И.В. // Аспирантский вестник Поволжья. 2016. № 5-6. С. 62-67.
67. Крылова, Ю.С. Рецептивность эндометрия: молекулярные механизмы регуляции имплантации / Крылова, Ю.С., Кветной, И.М., Айламазян, Э.К. // Журнал акушерства и женских болезней. 2013. Т. 62. № 2. С. 63-74.
68. Кузнецова, О.М. Концентрации металлопротеиназ в сыворотке крови до и после хирургического удаления опухоли / Кузнецова, О.М., Березов, Т.Т., Чибисова, А.Ю. // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2013. № 4. С. 5-9.
69. Кузьмин, В.Н. О влиянии факторов риска на исходы беременности, наступившей вследствие вспомогательных репродуктивных технологий / Кузьмин, В.Н., Машина, М.А. // Лечащий Врач. 2020. № 1. С. 52-54.
70. Кухарчик, Ю.В. Влияние генитального эндометриоза на реализацию репродуктивной функции женщин / Кухарчик, Ю.В., Гутикова, Л.В., Павловская, М.А., Кузьмич, И.И. // Сборник научных статей, посвященный памяти профессора Евгения Михайловича Тищенко: (к 60-летию со дня рождения). Гродно, 2020. С. 249-252.
71. Лактионов, К. П. Исследование матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов у больных с новообразованиями яичников / Лактионов, К. П., Лёвкина, Н. В., Кушлинский, Д. Н., Герштейн, Е. С. // Опухоли женской репродуктивной системы. 2012. № 2. С. 48-55.
72. Лебедева, О. П. Экспрессия толл-подобных рецепторов в женском репродуктивном тракте и ее гормональная регуляция (обзор) / Лебедева, О. П., Кирко, Р. // Научные результаты биомедицинских исследований. 2018. Т. 4. № 3. С. 3-17.

73. Лещева, Т. В. Кровоток яичников у женщин репродуктивного возраста и эхографическая оценка влияния на него субтотальной гистерэктомии / Лещева, Т. В. // Патологія. 2017. Т. 14. № 3. С. 310-313.
74. Лучина, Е. М. Матриксные металлопротеиназы как патогенетические и диагностические биомаркеры рубцов кожи / Лучина, Е. // Врач. 2017. № 3. С. 14-17.
75. Лызикова, Ю. А. Определение антимюллера гормона в норме и при различных гинекологических заболеваниях / Лызикова, Ю. А. // Проблемы здоровья и экологии. 2014. № 3 (41). С. 67-71.
76. Лысенко, И.М. Особенности течения беременности и родов у женщин после экстракорпорального оплодотворения / Лысенко, И.М., Лысенко, О.В., Рождественская, Т.А. // Здоровье – основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения. 2015. Т. 10. № 2. С. 594-595.
77. Макишева, Р. Т. Инсулин и клеточная смерть / Макишева, Р. Т. // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2015. Т. 9. № 2. С. 8.
78. Маринова, О.А. Прогностическое значение определения матриксной металлопротеиназы-1 и ее тканевого ингибитора в фолликулярной жидкости у пациенток в программах экстракорпорального оплодотворения / Маринова, О.А., Трубникова, Л.И., Албутова, М.Л. // Гинекология. 2021. Т. 23. № 6. С. 542-547.
79. Маркелова, Е.В. Матриксные металлопротеиназы и их взаимосвязь с системой цитокинов, диагностический и прогностический потенциал / Маркелова, Е.В., Здор, В.В., Романчук, А.Л., Бирко, О.Н. // Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2016. № 2. С. 11-22.
80. Марченко, Л.А. Современные воззрения на ранние этапы фолликулогенеза и механизмы формирования преждевременной недостаточности яичников / Марченко, Л.А., Машаева, Р.И., Чернуха, Г.Е. // Гинекология. 2020. Т. 22. № 5. С. 57-60.
81. Машкина, Е.В. Исследование ассоциации полиморфных вариантов генов матриксных металлопротеиназ с репродуктивными потерями в I триместре

- беременности / Машкина, Е.В., Коваленко, К.А., Мараховская, Т.А., Сараев, К.Н., Беланова, А.А., Шкурят, Т.П. // Генетика. 2016. № 8. С. 958-965.
82. Милош, Т.С. Анализ заболеваемости пациенток, применивших экстракорпоральное оплодотворение / Милош, Т.С., Гурин, А.Л., Разина, С.А., Сайковская, В.Э., Кашко, Л.И. // Материалы республиканской с международным участием научно-практической конференции, посвященной 60-летию Гродненского государственного медицинского университета: сборник статей, Гродно, 28 сентября 2018 года. Гродно, 2018. С. 551-553.
83. Назаренко, А.Ю. Содержание матриксной металлопротеиназы 9 в сыворотке крови больных раком молочной железы (РМЖ) / Назаренко, А.Ю., Березов, Т.Т., Кузнецова, О.М. // Медико-фармацевтический журнал "Пульс". 2012. Т. 14. № 2. С. 79.
84. Невежкина, Т.А. Показатели системы интерферонов, матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов у женщин с папилломавирусной инфекцией в период прегравидарной подготовки / Невежкина, Т.А., Кныш, С.В., Чагина, Е.А., Матюшкина, Л.С., Умеренкова, С.А. // Российский иммунологический журнал. 2020. Т. 23. № 3. С. 263-270.
85. Невежкина, Т.А. Уровень матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов у женщин с папилломавирусной инфекцией и бесплодием / Невежкина, Т.А., Матюшкина, Л.С., Тулупова, М.С., Махалина, Я.А., Собянина, П.К., Чагина, Е.А. // Российский аллергологический журнал. 2019. Т. 16. № S1. С. 106-108.
86. Никишин, Д.А. Влияние серотонина на экспрессию маркеров функционального состояния клеток гранулезы в культуре *in vitro* / Никишин, Д.А., Алёшина, Н.М., Семенова, М.Л., Шмуклер, Ю.Б. // Медицина. Социология. Философия. Прикладные исследования. 2018. № 4. С. 12-17.
87. Никишин, Д.А. Опосредованное ооцитом влияние серотонина на функциональный статус клеток гранулезы / Никишин, Д.А., Храмова, Ю.В., Алёшина, Н.М., Мальченко, Л.А., Шмуклер, Ю.Б. // Онтогенез. 2021. Т. 52. № 2. С. 120-128.



88. Овчарук, Э.А. Хронический аутоиммунный эндометрит как одна из главных причин нарушения репродуктивной функции (обзор литературы) / Овчарук, Э.А. // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2013. № 1. С. 224.
89. Оразов, М.Р. Бесплодие у женщин репродуктивного возраста, обусловленное миомой матки: патогенез и способы преодоления / Оразов, М.Р., Михалёва, Л.М., Леффады, М.Л. // Трудный пациент. 2021. Т. 19. № 7. С. 16-19.
90. Оразов, М.Р. Бесплодие, ассоциированное с эндометриозом яичников: современный взгляд на проблему / Оразов, М.Р., Хамошина, М.Б., Абитова, М.З., Михалева, Л.М., Волкова, С.В., Арютин, Д.Г., Шустова, В.Б. // Гинекология. 2020. Т. 22. № 5. С. 44-49.
91. Орлова, В.В. Роль мелатонина в репродуктивной реализации женщин с бесплодием / Орлова, В.В., Сусликова, Л.В. // Здоровье женщины. 2017. № 8. С. 99.
92. Павловская, М.А. Иммуногистохимическое исследование матриксной металлопротеиназы 9 и циклина D1 в гиперплазированной эндометрии женщин репродуктивного возраста / Павловская, М.А., Гутикова, Л.В. // Новости медико-биологических наук. 2015. Т. 11. № 1. С. 38-42.
93. Панова, И.А. Синтез матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов периферическими фагоцитами у беременных с гипертензивными расстройствами / Панова, И.А., Малышкина, А.И., Кудряшова, А.В., Хлипунова, Д.А., Рокотьянская, Е.А., Сытова, Л.А. // Журнал акушерства и женских болезней. 2015. Т. 64. № 3. С. 26-32.
94. Передереева, Е.В. Гормон лептин и проблемы репродукции / Передереева, Е.В., Лушникова, А.А., Фрыкин, А.Д., Пароконная, А.А. // Злокачественные опухоли. 2012. Т. 2. № 1. С. 35-39.
95. Пешиков, О.В. Сенсорно-пептидергическое влияние на регуляцию дистального сосудистого русла у женщин с постменопаузальным синдромом легкой степени / Пешиков, О.В., Астахов, А.А. // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2014. Т. 13. № 4. С. 34-40.

96. Плясунова, М.П. Хронический эндометрит как одна из актуальных проблем в современной гинекологии / Плясунова, М.П., Хлыбова, С.В. // Вятский медицинский вестник. 2013. № 1. С. 44-53.
97. Подзолкова, Н.М. Роль матриксных металлопротеиназ при неблагоприятных исходах беременности, ассоциированных с эндометриальными причинами / Подзолкова, Н.М., Никитина, Т.И., Немцова, М.В., Осадчев, В.Б., Бабков, К.В., Мухаметзянова, В.М. // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2017. Т. 16. № 2. С. 74-77.
98. Пожиленкова, Е.А. Особенности апоптоза гранулезных клеток доминантных фолликулов пациенток с гиперпролактинемией и гиперандрогенией / Пожиленкова, Е.А., Тепляшина, Е.А., Екимова, М.В., Салмина, А.Б., Сыромятникова, С.А. // Вестник Новосибирского государственного университета. Серия: Биология, клиническая медицина. 2014. Т. 12. № 1. С. 55-61.
99. Прохорович, Т. Фолликулярный яичниковый резерв и его регуляция / Прохорович, Т., Шандренко, К., Куц, Е.Е., Тайц, А. // Global Reproduction. 2021. № S1. С. 36-41.
100. Радзинский, В.Е. Матриксные металлопротеиназы и их ингибиторы в патогенезе пролапса тазовых органов / Радзинский, В.Е., Ханзадян, М.Л., Демура, Т.А. // Доктор. ру. 2014. № S1. С. 7-10.
101. Путило А.О. Новое в нарушении женской репродуктивной функции неясного генеза (обзор литературы) / Путило А.О., Джибладзе Т.А., Григорцевич Н.Ю. // Архив акушерства и гинекологии им. В. Ф. Снегирева. 2020. №2.
102. Родичкина, В.Р. Изучение маркеров апоптоза в яичниках при внутриутробном развитии / Родичкина, В.Р., Дробинцева, А.О. // Журнал акушерства и женских болезней. 2017. Т. 66. № Спецвып. С. 143-144.
103. Романов, А. Ю. Фолиевая кислота, прегравидарная подготовка и беременность: современные аспекты / Романов, А. Ю., Долгушина, Н. В. // Медицинский совет. 2021. № 3. С. 50-53.

104. Сандакова, Е. А. Эффективность вспомогательных репродуктивных технологий у женщин с гинекологическими и экстрагенитальными воспалительными заболеваниями в анамнезе / Сандакова, Е. А., Осипович, О. А., Годовалов, А. П., Карпунина, Т. И. // Медицинский альманах. 2017. № 6 (51). С. 69-72.
105. Сармулдаева, Ш. К. Беременность после ЭКО у пациентки с синдромом Шерешевского-Тернера / Сармулдаева, Ш. К. // Репродуктивная медицина. 2020. № 3. С. 61-66.
106. Сметанина, И. Г. Овариальная ренин-ангиотензиновая система как фактор регуляции созревания ооцитов у млекопитающих (обзор) / Сметанина, И. Г. // Проблемы биологии продуктивных животных. 2020. № 1. С. 5-23.
107. Согоян, Н.С. Роль АМГ в репродуктивной системе женщин (обзор литературы) / Согоян, Н.С., Козаченко, И.Ф., Адамян, Л.В. // Проблемы репродукции. 2017. Т. 23. № 1. С. 37-42.
108. Соснова, Е.А. Состояние яичников после оперативных вмешательств на органах малого таза у женщин репродуктивного возраста / Соснова, Е.А. // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2013. Т. 12. № 4. С. 42-49.
109. Соснова, Е.А. Изменения функционального состояния яичников у женщин репродуктивного возраста после органосохраняющих хирургических вмешательств на органах малого таза / Соснова, Е.А., Гасымова, У.Р. // Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева. 2014. Т. 1. № 2. С. 32-36.
110. Станиславович, Т.И. Оценка деструктивных процессов хроматина гранулезных клеток овариальных фолликулов коров и функциональный статус ооцита / Станиславович, Т.И., Кузьмина, Т.И., Молчанов, А.В. // Аграрный вестник Урала. 2019. № 12 (191). С. 60-64.
111. Тимохина, Е.В. Клиническое наблюдение успешной беременности при "чистой" форме дисгенезии гонад - синдроме Свайера / Тимохина, Е.В., Афанасьева, Н.В., Самойлова, Ю.А., Силаева, Т.М., Белоусова, В.С., Ломовцева, М.М., Сейфуллаева, Л.И. // Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева. 2019. Т. 6. № 4. С. 225-228.

112. Ткачева, Е.В. Матриксные металлопротеиназы 14 и 17 как факторы ревазуляризации при аденомиозе / Ткачева, Е.В., Горелик, М.З., Дюйзен, И.В. // Тихоокеанский медицинский журнал. 2015. № 2 (60). С. 69-72.
113. Томаева, К.Г. Матриксные металлопротеиназы как маркеры преждевременных родов у женщин с учетом соматотипа / Томаева, К.Г., Гайдуков, С.Н., Комиссарова, Е.Н. // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2021. Т. 15. № 2.
114. Торшин, И.Ю. Хемореактомный анализ стереоизомеров инозитола: различные профили фармакологического действия мио-инозитола и D-хиро-инозитола при нарушениях женской репродуктивной системы / Торшин, И.Ю., Майорова, Л.А., Уварова, Е.В., Тапильская, Н.И., Громова, О.А. // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2020. Т. 19. № 5.
115. Трубникова, Л.И. Определение металлопротеиназ при лечении бесплодия методом ВРТ / Трубникова, Л.И., Маринова, О.А., Албутова, М.Л. // Современная наука: актуальные вопросы, достижения и инновации : сборник статей XVIII Международной научно-практической конференции, Пенза, 20 марта 2021 года. Пенза, 2021. С. 226-227.
116. Трубникова, Л.И. Клиническая значимость уровней ММП-1 и ТИМП-1 в фолликулярной жидкости при различных исходах ВРТ / Трубникова, Л.И., Таджиева, В.Д., Маринова, О.А., Аввакумова, Т.В. // Ульяновский медико-биологический журнал. 2017. № 4. С. 59-68.
117. Тулупова, М.С. Уровень матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов у женщин с невынашиванием беременности / Тулупова, М.С., Хамошина, М.Б., Невежкина, Т.А., Сидорова, О.Н. // Российский иммунологический журнал. 2019. Т. 13. № 2-1. С. 581-583.
118. Турдыбекова, Я.Г. Фолликулогенез и фолликулярный запас яичника в норме и патологии: аспекты (этапы) клинико-морфологического изучения / Турдыбекова, Я.Г. // Вестник Казахского Национального медицинского университета. 2019. № 1. С. 41-45.

119. Филипенкова, Т.Е. Полиморфизм генов, влияющих на ремоделирование соединительной ткани, у пациенток с бесплодием / Филипенкова, Т.Е., Щербакова, Л.Н., Балацкий, А.В., Самоходская, Л.М., Алексеенкова, М.В., Панина, О.Б. // Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева. 2020. Т. 7. № 3. С. 158-164.
120. Филиппова, Е.С. Современный взгляд на овариальный резерв у женщин репродуктивного возраста с эндометриоидными кистами яичников (обзор литературы) / Филиппова, Е.С., Козаченко, И.Ф., Быков, А.Г., Бобров, М.Ю., Адамян, Л.В. // Проблемы репродукции. 2017. Т. 23. № 2. С. 72-80.
121. Хаитова, Д.Т. Возможности реализации репродуктивной функции женщин с миомой матки после эмболизации маточных артерий / Хаитова, Д.Т., Давидян, Л.Ю. // Ульяновский медико-биологический журнал. 2013. № 3. С. 75-84.
122. Хомидова, Ш.М. Уровень антимюллера гормона у женщин с преждевременным истощением яичников / Хомидова, Ш.М. // Достижения науки и образования. 2020. № 3 (57). С. 104-107.
123. Храмова, И.А. Структурная организация кровеносной системы матки / Храмова, И.А., Черток, В.М., Коцюба, А.Е., Черток, А.Г. // Тихоокеанский медицинский журнал. 2018. № 3 (73). С. 13-23.
124. Черток, В.М. Регуляция функций яичников: участие газовых трансммиттеров NO, CO и H<sub>2</sub>S / Черток, В.М., Зенкина, В.Г. // Успехи физиологических наук. 2015. Т. 46. № 4. С. 74-89.
125. Черток, В.М. Газотрансммиттеры в регуляции функций внутриорганных кровеносных сосудов матки / Черток, В.М., Храмова, И.А., Коцюба, А.Е. // Морфология. 2020. Т. 157. № 1. С. 98-111.
126. Шадрина, А.С. Классификация, регуляция активности, генетический полиморфизм матриксных металлопротеиназ в норме и при патологии / Шадрина, А.С., Плиева, Я.З., Кушлинский, Д.Н., и др. // Альманах клинической медицины. 2017. Т. 45. № 4. С. 266-279.
127. Шестакова, М.А. Окислительный стресс в фолликуле и его влияние на исход экстракорпорального оплодотворения: состояние проблемы /

- Шестакова, М.А., Киселёва, М.В., Проскурнина, Е.В. // Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева. 2017. Т. 4. № 3. С. 137-144.
128. Шпаков, А.О. Роль апелина в функционировании репродуктивной системы / Шпаков, А.О., Деркач, К.В. // Acta Biomedica Scientifica. 2019. Т. 4. № 3. С. 7-17.
129. Щедрина, И.Д. Клинические случаи успешной реализации репродуктивной функции после применения МРТ-ФУЗ-абляции миомы матки у пациентки с длительным первичным бесплодием / Щедрина, И.Д., Мелкозерова, О.А., Полянин, Д.В., Михельсон, А.А., Климова, Л.Е. // Лечение и профилактика. 2018. Т. 8. № 2. С. 61-67.
130. Щелкунова, Т.А. Молекулярные основы и тканевая специфичность действия прогестинов / Щелкунова, Т.А., Морозов, И.А. // Молекулярная биология. 2015. Т. 49. № 5. С. 728.
131. Эседова, А.Э. Значение маркеров дисфункции эндометрия в патогенезе хронического эндометрита у женщин с репродуктивными потерями / Эседова, А.Э., Идрисова, М.А., Гаджиева, А.М. // Уральский медицинский журнал. 2021. Т. 20. № 5. С. 82-89.
132. Юлдашева, Д.Ю. Роль матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов при развитии гиперплазии эндометрия / Юлдашева, Д.Ю. // Фундаментальные исследования. 2015. Т. 4. № 1. С. 845-847.
133. Юнусов, А.А. Тиреоидный гомеостаз и дисгормональные нарушения репродуктивной системы у женщин / Юнусов, А.А. // Международный эндокринологический журнал. 2014. № 8 (64). С. 100-106.
134. Ярмолинская, М.И. Анализ полиморфизма гена ММП1 в зависимости от клинических особенностей течения миомы матки / Ярмолинская, М.И., Иващенко, Т.Э., Кусевицкая, М.Б., Осинская, Н.С. // Проблемы репродукции. 2020. Т. 26. № 1. С. 73-82.
135. Ярмолинская, М.И. Ассоциация полиморфизма генов матриксных металлопротеиназ ММП3 и ММП9 с развитием генитального эндометриоза /

- Ярмолинская, М.И., Молотков, А.С., Беженарь, В.Ф., Швед, Н.Ю., Иващенко, Т.Э., Баранов, В.С. // Генетика. 2014. Т. 50. № 2. С. 230.
136. Ярмолинская, М.И. Матриксные металлопротеиназы и ингибиторы: классификация, механизм действия / Ярмолинская, М.И., Молотков, А.С., Денисова, В.М. // Журнал акушерства и женских болезней. 2012. № 1. С. 113-125.
137. Ярмолинская, М.И. Роль матриксных металлопротеиназ в патогенезе генитального эндометриоза / Ярмолинская, М.И., Молотков, А.С., Денисова, В.М. // Журнал акушерства и женских болезней. 2012. Т. 61. № 2. С. 92-100.
138. Abdel-Razik, M. The Effects of Nitric Oxide Donors on Uterine Artery and Sub-endometrial Blood Flow in Patients with Unexplained Recurrent Abortion / Abdel-Razik, M., El-Berry, S., Mostafa, A. // Journal of Reproduction & Infertility. 2014. Vol. 15. N. 3. P. 142-146.
139. Almeida, C.P. Clinical correlation of apoptosis in human granulosa cells - A review / Almeida, C.P., Ferreira, M.C.F., Silveira, C.O., et al. // Cell Biology International. 2018. Vol. 42. N. 10. P. 1276-1281.
140. Almeida, C.P. Clinical correlation of apoptosis in human granulosa cells - A review. / Almeida, C.P., Ferreira, M.C.F., Silveira, C.O., et al. // Cell Biology International. 2018. Vol. 42. N. 10. P. 1276-1281.
141. Anjos, J.G.G.D. Evaluation of the Seroprevalence of Infectious Diseases in 2,445 in vitro Fertilization Cycles / Anjos, J.G.G.D., Carvalho, N.S., Saab, K.A., et al. // Revista brasileira de ginecologia e obstetricia: revista da Federacao Brasileira das Sociedades de Ginecologia e Obstetricia. 2021. Vol. 43. N. 3. P. 216-219.
142. Arthuis, C.J. New insights into uteroplacental perfusion: Quantitative analysis using Doppler and contrast-enhanced ultrasound imaging / Arthuis, C.J., Novell, A., Escoffre, J.M., et al. // Placenta. 2013. Vol. 34. N. 5. P. 424-431.
143. Bashmakova, N.V. Epidemiology of critical states during pregnancy after assisted reproductive technologies / Bashmakova, N.V., Davydenko, N.B., Maligna, G.B., Putilova, N.V. // Gynecological endocrinology: the official journal of the

- International Society of Gynecological Endocrinology. 2016. Vol. 32. N. S2. P. 47-51.
144. Begum, Y. Insights Into the Regulation of Gynecological Inflammation-Mediated Malignancy by Metalloproteinases / Begum, Y., Pandit, A., Swarnakar, S. // *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2021. Vol. 9. P. 780510.
145. Belani, M. Modulation of Steroidogenic Pathway in Rat Granulosa Cells with Subclinical Cd Exposure and Insulin Resistance: An Impact on Female Fertility / Belani, M., Purohit, N., Pillai, P., et al. // *BioMed Research International*. 2014. Vol. 2014. P. 460251.
146. Bibeau, K. Placental Underperfusion in a Rat Model of Intrauterine Growth Restriction Induced by a Reduced Plasma Volume Expansion / Bibeau, K., Sicotte, B., Béland, M., et al. // *PLOS ONE*. 2016. Vol. 11. N. 1. P. 1-17.
147. Bigonnesse, E. Activated NO pathway in uterine arteries during pregnancy in an IUGR rat model / Bigonnesse, E., Sicotte, B., Brochu, M. // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2018. Vol. 315. N. 2. P. 415-422.
148. Bok, R. Cystathionine  $\gamma$ -lyase promotes estrogen-stimulated uterine artery blood flow via glutathione homeostasis / Bok, R., Guerra, D. D., Lorca, R. A., et al. // *Redox Biology*. 2021. Vol. 40. P. 101827.
149. Bulgurcuoglu Kuran, S. Expression of pro-apoptotic and anti-apoptotic proteins in granulosa cells of women with diminished ovarian reserve / Bulgurcuoglu Kuran, S., Altun, A., Karamustafaoglu Balci, B., et al. // *J. Assist. Reprod. Genet.* 2022. N. 10 Feb.
150. Bulgurcuoglu Kuran, S. Expression of pro-apoptotic and anti-apoptotic proteins in granulosa cells of women with diminished ovarian reserve / Bulgurcuoglu Kuran, S., Altun, A., Karamustafaoglu Balci, B., et al. // *Journal of assisted reproduction and genetics*. 2022. Vol. 39. N. 3. P. 765-775.
151. Care, A.S. Reduction in Regulatory T Cells in Early Pregnancy Causes Uterine Artery Dysfunction in Mice / Care, A.S., Bourque, S.L., Morton, J.S., et al. // *Hypertension*. 2018. Vol. 72. N. 1. P. 177-187.



152. Chai, M. Effect of Supracervical Apposition and Spontaneous Labour on Apoptosis and Matrix Metalloproteinases in Human Fetal Membranes / Chai, M., Walker, S.P., Riley, C., et al. // *BioMed Research International*. 2013. Vol. 2013. P. 316146.
153. Chen, J., Khalil R. A. Matrix Metalloproteinases in Normal Pregnancy and Preeclampsia / Chen, J., Khalil, R. A. // *Progress in molecular biology and translational science*. 2017. Vol. 148. P. 87-165.
154. Cheng, D. Increased lncRNA MIR503HG in Preeclampsia Modulated Trophoblast Cell Proliferation, Invasion, and Migration via Regulating Matrix Metalloproteinases and NF- $\kappa$ B Signaling / Cheng, D., Jiang, S., Chen, J. [et al.] // *Disease Markers*. 2019. Vol. 2019. P. 4976845.
155. Chih, H. J. Assisted reproductive technology and hypertensive disorders of pregnancy: systematic review and meta-analyses / Chih, H. J., Elias, F. T. S., Gaudet, L., Velez, M. P. // *BMC Pregnancy and Childbirth*. 2021. Vol. 21. P. 449.
156. Clark, A. R. Understanding abnormal uterine artery Doppler waveforms: A novel computational model to explore potential causes within the utero-placental vasculature / Clark, A. R., James, J. L., Stevenson, G. N., Collins, S. L. // *Placenta*. 2018. Vol. 66. P. 74-81.
157. Coddington, C. C. Influence of subfertility and ART treatment on mortality of women after delivery / Coddington, C. C., Gopal, D., Cui, X., et al. // *Fertility and Sterility*. 2020. Vol. 113. N. 3. P. 569-577.
158. Inhorn, M.C., Infertility around the Globe: New Thinking on Gender, Reproductive Technologies and Global Movements in the 21st Century. / Inhorn, M.C., Patrizio, P. // *Human Reproduction Update*. 2015. N. 21. P. 411-426.
159. Fan, Y. Apoptosis of mural granulosa cells is increased in women with diminished ovarian reserve / Fan, Y., Chang, Y., Wei, L. [et al.] // *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2019. Vol. 36. N. 6. P. 1225-1235.
160. Fu, J. Persistent follicular granulosa cell senescence and apoptosis induced by methotrexate leading to oocyte dysfunction and aberrant embryo development / Fu,

- J., Liu, Y., Wang, C. [et al.] // *Clinical and Translational Science*. 2021. Vol. 14. N. 5. P. 2043-2054.
161. Gong, Y. Growth hormone activates PI3K/Akt signaling and inhibits ROS accumulation and apoptosis in granulosa cells of patients with polycystic ovary syndrome / Gong, Y., Luo, S., Fan, P. [et al.]// *Reproductive Biology and Endocrinology: RB&E*. 2020. Vol. 18. P. 121.
162. Guedes-Martins, L. Reference Ranges for Uterine Artery Pulsatility Index during the Menstrual Cycle: A Cross-Sectional Study / Guedes-Martins, L., Gaio, R., Saraiva, J. [et al.] // *PLOS ONE*. 2015. Vol. 10. N. 3.
163. Haas, J. Standard human chorionic gonadotropin versus double trigger for final oocyte maturation results in different granulosa cells gene expressions: a pilot study / Haas, J., Ophir, L., Barzilay, E. [et al.] // *Fertility and sterility*. 2016. Vol. 106. N. 3. P. 653-659.
164. Heber, M. F. The effects of assisted reproduction technologies on metabolic health and disease / Heber, M. F., Ptak, G. E. // *Biology of Reproduction*. 2021. Vol. 104. N. 4. P. 734-744.
165. Karuputhula, N. B. Oxidative status in granulosa cells of infertile women undergoing IVF / Karuputhula, N. B., Chattopadhyay, R., Chakravarty, B., Chaudhury, K. // *Systems biology in reproductive medicine*. 2013. Vol. 59. N. 2. P. 91-98.
166. Khong, S. L. First-Trimester Uterine Artery Doppler Analysis in the Prediction of Later Pregnancy Complications / Khong, S. L., Kane, S. C., Brennecke, S. P., da Silva Costa, F. // *Disease Markers*. 2015. Vol. 2015. P. 1-10.
167. Kunitomi, C. Activation of endoplasmic reticulum stress mediates oxidative stress-induced apoptosis of granulosa cells in ovaries affected by endometrioma / Kunitomi, C., Harada, M., Takahashi, N. [et al.] // *Molecular human reproduction*. 2020. Vol. 26. N. 1. P. 40-52.
168. Lai, Q. Oxidative stress in granulosa cells contributes to poor oocyte quality and IVF-ET outcomes in women with polycystic ovary syndrome / Lai, Q., Xiang, W., Li, Q. [et al.] // *Frontiers of medicine*. 2018. Vol. 12. N. 5. P. 518-524.

169. Lin, C. Integrative Cardiovascular Physiology and Pathophysiology: Decreased uterine vascularization and uterine arterial expansive remodeling with reduced matrix metalloproteinase-2 and -9 in hypertensive pregnancy / Lin, C., He, H., Cui, H. [et al.] // *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*. 2020. Vol. 318. N. 1. P. 165-180.
170. Lin, D. Effect of GOLPH3 on cumulus granulosa cell apoptosis and ICSI pregnancy outcomes / Lin, D., Ran, J., Zhu, S. [et al.] // *Scientific Reports*. 2017. Vol. 7. P. 7863.
171. Liu, Y. X. Regulation of follicular development and differentiation by intra-ovarian factors and endocrine hormones / Liu, Y. X., Zhang, Y., Li, Y. Y. [et al.] // *Frontiers in bioscience (Landmark edition)*. 2019. Vol. 24. P. 983-993.
172. Lloyd-Davies, C. Understanding the uterine artery Doppler waveform and its relationship to spiral artery remodelling / Lloyd-Davies, C., Collins, S. L., Burton, G. J. // *Placenta*. 2021. Vol. 105. P. 78-84.
173. Manze, M. G. Women's Perspectives on Reproductive Health Services in Primary Care / Manze, M. G., Romero, D. R., Sumberg, A. [et al.] // *Family medicine*. 2020. Vol. 52. N. 2. P. 112-119.
174. Matsuda, F. Follicular growth and atresia in mammalian ovaries: regulation by survival and death of granulosa cells / Matsuda, F., Inoue, N., Manabe, N., Ohkura, S. // *The Journal of reproduction and development*. 2012. Vol. 58. N. 1. P. 44-50.
175. Mieszko, K. The utility of metalloproteinases (MMPIs) and their inhibitors (TIMPs) in diagnostics of gynecological malignancies / Mieszko, K., Ławicki, S., Szmitkowski, M. // *Polski merkuriusz lekarski: organ Polskiego Towarzystwa Lekarskiego*. 2016. Vol. 40. N. 237. P. 193-197.
176. Özkan, M. B. Can we measure the spiral and uterine artery blood flow by real-time sonography and Doppler indices to predict spontaneous miscarriage in a normal-risk population? / Özkan, M. B., Ozyazici, E., Emiroglu, B., Özkara, E. // *Australasian Journal of Ultrasound in Medicine*. 2015. Vol. 18. N. 2. P. 60-66.

177. Polanski, L. T. Doppler ultrasonography in infertility / Polanski, L. T., Baumgarten, M. N., Raine-Fenning, N. J., Jayaprakasan, K. // *Ultrasonography in Gynecology*. Cambridge, 2014. P. 245.
178. Possomato-Vieira, J. S. Mechanisms of Endothelial Dysfunction in Hypertensive Pregnancy and Preeclampsia / Possomato-Vieira, J. S., Khalil, R. A. // *Advances in pharmacology* (San Diego, Calif.). 2016. Vol. 77. P. 361-431.
179. Qu, H. Integrative Cardiovascular Physiology and Pathophysiology: Vascular mechanisms and molecular targets in hypertensive pregnancy and preeclampsia / Qu, H., Khalil, R. A. // *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*. 2020. Vol. 319. N. 3. P. 661-681.
180. Rashidi Z., Aleyasin A., Eslami M. [et al.] Quercetin protects human granulosa cells against oxidative stress via thioredoxin system // *Reproductive biology*. 2019. Vol. 19. N. 3. P. 245-254.
181. Regan S. L. P. Granulosa Cell Apoptosis in the Ovarian Follicle—A Changing View / Regan, S. L. P., Knight, P. G., Yovich, J. L. [et al.] // *Frontiers in Endocrinology*. 2018. Vol. 9. P. 61.
182. Ren, Z. Extracellular Matrix in Cardiovascular Pathophysiology: Placental growth factor reverses decreased vascular and uteroplacental MMP-2 and MMP-9 and increased MMP-1 and MMP-7 and collagen types I and IV in hypertensive pregnancy / Ren, Z., Cui, N., Zhu, M., Khalil, R. A. // *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*. 2018. Vol. 315. N. 1. P. 33-47.
183. Richards, J. S. Adiponectin and its receptors modulate granulosa cell and cumulus cell functions, fertility and early embryo development in the mouse and human / Richards, J. S., Liu, Z., Kawai, T. [et al.] // *Fertility and sterility*. 2012. Vol. 98. N. 2. P. 471-479.
184. Rosenfeld, C. R. Prolonged uterine artery nitric oxide synthase inhibition modestly alters basal uteroplacental vasodilation in the last third of ovine pregnancy / Rosenfeld, C. R., Roy, T. // *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2014. Vol. 307. N. 8. P. 1196-1203.

185. Sanchez, A. M. The WNT/ $\beta$ -catenin signaling pathway and expression of survival promoting genes in luteinized granulosa cells: endometriosis as a paradigm for a dysregulated apoptosis pathway / Sanchez, A. M., Viganò, P., Quattrone, F. [et al.] // *Fertility and sterility*. 2014. Vol. 101. N. 6. P. 1688-1696.
186. Sennström, M. Thromboembolism and in vitro fertilization - a systematic review / Sanchez A. M., Viganò P., Quattrone F. [et al.] // *Acta obstetricia et gynecologica Scandinavica*. 2017. Vol. 96. N. 9. P. 1045-1052.
187. Seyer-Hansen, M. Risk of bowel obstruction during in vitro fertilization treatment of patients with deep infiltrating endometriosis / Seyer-Hansen, M., Egekvist, A., Forman, A., Riiskjaer, M. // *Acta obstetricia et gynecologica Scandinavica*. 2018. Vol. 97. N. 1. P. 47-52.
188. Shah, D. A. Bioactive Factors in Uteroplacental and Systemic Circulation Link Placental Ischemia to Generalized Vascular Dysfunction in Hypertensive Pregnancy and Preeclampsia / Shah, D. A., Khalil, R. A. // *Biochemical pharmacology*. 2015. Vol. 95. N. 4. P. 211-226.
189. Small, H. Y. Abnormal uterine artery remodelling in the stroke prone spontaneously hypertensive rat / Small H. Y., Morgan H., Beattie, E. [et al.] // *Placenta*. 2016. Vol. 37. P. 34-44.
190. Small, H. Y. Role of Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  and Natural Killer Cells in Uterine Artery Function and Pregnancy Outcome in the Stroke-Prone Spontaneously Hypertensive Rat / Small, H. Y., Nosalski, R., Morgan, H. [et al.] // *Hypertension*. 2016. Vol. 68. N. 5. P. 1298-1307.
191. Sreerangaraja Urs, D. B. Mitochondrial Function in Modulating Human Granulosa Cell Steroidogenesis and Female Fertility / Sreerangaraja Urs, D. B., Wu, W. H., Komrskova, K. [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. Vol. 21. N. 10. P. 3592.
192. Tian, Y. Review of Roles of Uterine Artery Doppler in Pregnancy Complications / Tian, Y., Yang, X. A // *Frontiers in Medicine*. 2022. Vol. 9. P. 1-14.
193. United Nations World Fertility and Family Planning 2020: Highlights. - UN, 2021

194. Uyar, A. Cumulus and granulosa cell markers of oocyte and embryo quality / Uyar, A., Torrealday, S., Seli, E. // *Fertility and sterility*. 2013. Vol. 99. N. 4.
195. Varras, M. Expression of antiapoptosis gene survivin in luteinized ovarian granulosa cells of women undergoing IVF or ICSI and embryo transfer: clinical correlations / Varras, M., Polonifi, K., Mantzourani, M. [et al.] // *Reproductive Biology and Endocrinology: RB&E*. 2012. Vol. 10. P. 74.
196. Verga Falzacappa, C. T(3) preserves ovarian granulosa cells from chemotherapy-induced apoptosis / Verga Falzacappa, C., Timperi, E., Bucci, B. [et al.] // *The Journal of endocrinology*. 2012. Vol. 215. N. 2. P. 281-289.
197. Vygivska, L. M., Nykoniuk, T. R., Oleshko, V. F. The optimization ways of pregnancy and labor management tactics in women after application of assisted reproductive technologies / Vygivska, L. M., Nykoniuk, T. R., Oleshko, V. F. // *Women 's health*. 2017. N. 9. P. 111-113.
198. Yang, W. Luteolin-induced vasorelaxation in uterine arteries from normal pregnant rats / Yang, W., Li, Q., Duncan, J. W. [et al.] // *Pregnancy Hypertension*. 2021. Vol. 23. P. 11-17.
199. Zhang, J. MicroRNAs in ovarian follicular atresia and granulosa cell apoptosis / Zhang, J., Xu, Y., Liu, H., Pan, Z. // *Reproductive Biology and Endocrinology: RB&E*. 2019. Vol. 17. P. 9.
200. Zhang, K. Role of low-molecular-weight heparin in altering uterine artery blood flow in recurrent spontaneous abortion: a prospective study / hang, K., Wang, E., Li, Y. [et al.] // *Journal of International Medical Research*. 2020. Vol. 48. N. 8. P. 1410564699.
201. Zhang, Q. Human amniotic epithelial cells inhibit granulosa cell apoptosis induced by chemotherapy and restore the fertility / Zhang, Q., Xu, M., Yao, X. [et al.] // *Stem Cell Research & Therapy*. 2015. Vol. 6. N. 1. P. 152.

**ПРИЛОЖЕНИЕ**

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



RU2021622770

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ  
ГОСУДАРСТВЕННАЯ РЕГИСТРАЦИЯ БАЗЫ ДАННЫХ, ОХРАНЯЕМОЙ  
АВТОРСКИМИ ПРАВАМИ

Номер регистрации (свидетельства): 2021622770 Дата регистрации: 02.12.2021 Номер и дата поступления заявки: 2021622659 25.11.2021 Дата публикации и номер бюллетеня: 02.12.2021 Бюл. № 12	Автор(ы): Рогова Людмила Николаевна (RU), Липов Данил Сергеевич (RU), Шестернина Наталья Владимировна (RU) Правообладатель(и): ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ "ВОЛГОГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ" МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (RU)
---	--

Название базы данных:

**Допплерометрия маточной артерии у крыс с экспериментальным перитонитом**

**Реферат:**

База данных создана для систематизации и анализа данных доплерометрии маточной артерии у крыс с экспериментальным перитонитом. База данных содержит информацию, которая характеризует особенности гемодинамики маточной артерии при воспалительно-деструктивном процессе в брюшной полости: приводятся данные исходной линейной скорости кровотока и данные после проведения фармакологических проб с вазоактивными веществами: ацетилхолином-хлоридом (АХ) и метиловым эфиром L-нитроаргинаина (L-NAME); а также представлена функциональная активность эндотелиальной NO-синтазы. При проведении фармакологических проб рассчитывались: реакция кровотока (РК) на введения АХ по формуле:  $PK(AH) = P_{Max} / P_{Mисx} * 100 \%$ , где  $P_{Max}$  – максимальное значение линейной скорости кровотока,  $P_{Mисx}$  – исходное значение линейной скорости кровотока; реакция кровотока на введение L-NAME по формуле:  $PK(L-NAME) = P_{Min} / P_{Mисx} * 100 \%$ , где  $P_{Min}$  – минимальное значение линейной скорости кровотока,  $P_{Mисx}$  – исходное значение линейной скорости кровотока. Функциональная активность эндотелиальной NO-синтазы рассчитана по формуле:  $((PK(AH) - PK(L-NAME)) / PK(L-NAME)) * 100 \%$ . Тип ЭВМ: Персональный компьютер, мобильные устройства (мобильные телефоны, планшеты). ОС: Windows.

**Вид и версия системы управления базой данных:** Access 2007

**Объем базы данных:** 328 КБ



«УТВЕРЖДАЮ»  
 Проректор по научной  
 деятельности ФГБОУ ВО  
 ВолгГМУ Минздрава России

С.В. Шоройский  
 «01»  2023 г.



## АКТ О ВНЕДРЕНИИ

результатов научных исследований в научно-исследовательскую работу

**Предмет внедрения:** методология оценки влияния апоптоза гардулезных клеток на репродуктивную функцию у женщин с экстрагенитальной патологией воспалительного генеза дыхательной и пищеварительной системы в анамнезе.

**Кем предложен:** Липов Д.С. – ассистент кафедры патофизиологии, клинической патофизиологии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России в научно-исследовательской работе «Роль матриксных металлопротеиназ -1, -9, -19 и апоптоза в нарушении репродуктивной функции при экстрагенитальных воспалительно-деструктивных процессах (клинико-экспериментальное лечение)», выполненной на базе кафедры патофизиологии, клинической патофизиологии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, лаборатории клеточных технологий НЦИЛС и отделения вспомогательных репродуктивных технологий Многопрофильной Клиники №1 ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России.

**Источники информации:** основные положения исследования доложены и обсуждены на: конференции «Фундаментальные медицинские и биологические науки» в рамках II Дальневосточного медицинского конгресса (Хабаровск, 2021); 80-й и 81-й Международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Волгоград, 2022, 2023); Международном медицинском форуме «Вузовская наука. Инновации» (Москва, 2022; 2023) I научно-практической конференции с международным участием «Привентивная медицина как основа качественного и здорового долголетия» (Оренбург, 2023). По материалам диссертационного исследования опубликовано 11 научных работ, из которых 5 – в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий или входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени

кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук и издания, приравненные к ним, в том числе получено 1 свидетельство государственной регистрации баз данных, охраняемых авторским правом.

**Где и кем внедрено:** данные научно-исследовательской работы используются в НИР кафедры акушерства и гинекологии Института непрерывного медицинского и фармацевтического образования ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России.

**Цель внедрения:** использование данных исследования в научно-исследовательской работе по поиску новых патогенетически обоснованных путей профилактики и лечения женского бесплодия.

**Ответственные за внедрение:** заведующий кафедрой, доктор медицинских наук, Н.И. Свиридова

**Эффективность внедрения:** предложение позволит внедрить в научно-исследовательскую работу на кафедре акушерства и гинекологии Института непрерывного медицинского и фармацевтического образования ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России новые методы оценки влияния экстрагенитальной патологии на показатели фертильности у женщин, что послужит основой для поиска новых патогенетически обоснованных методов коррекции бесплодия.

Ответственный за внедрение:  
заведующий кафедрой акушерства  
и гинекологии ИНМФО ВолгГМУ, д.м.н.



Н.И.Свиридова

Автор предложения:  
ассистент кафедры патофизиологии,  
клинической патофизиологии



Д.С.Липов

«УТВЕРЖДАЮ»  
Проректор по научной  
деятельности ФГБОУ ВО  
ВолГМУ Минздрава России



С.В. Поройский

«01» сентября 2023 г.

### АКТ О ВНЕДРЕНИИ

#### результатов научных исследований в научно-исследовательскую работу

**Предмет внедрения:** методология оценки маточного кровотока и активности NO-синтаз на фоне воспалительно-деструктивных процессов брюшной полости и дыхательной системы.

**Кем предложен:** Липов Д.С. – ассистент кафедры патофизиологии, клинической патофизиологии ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России в научно-исследовательской работе «Роль матриксных металлопротеиназ -1, -9, -19 и апоптоза в нарушении репродуктивной функции при экстрагенитальных воспалительно-деструктивных процессах (клинико-экспериментальное лечение)», выполненной на базе кафедры патофизиологии, клинической патофизиологии ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России, лаборатории клеточных технологий НЦИЛС и отделения вспомогательных репродуктивных технологий Многопрофильной Клиники №1 ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России.

**Источники информации:** основные положения исследования доложены и обсуждены на: конференции «Фундаментальные медицинские и биологические науки» в рамках II Дальневосточного медицинского конгресса (Хабаровск, 2021); 80-й и 81-й Международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Волгоград, 2022, 2023); Международном медицинском форуме «Вузовская наука. Инновации» (Москва, 2022; 2023) I научно-практической конференции с международным участием «Привентивная медицина как основа качественного и здорового долголетия» (Оренбург, 2023). По материалам диссертационного исследования опубликовано 11 научных работ, из которых 5 – в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий или входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук и издания,



приравненные к ним, в том числе получено 1 свидетельство государственной регистрации баз данных, охраняемых авторским правом.

**Где и кем внедрено:** данные научно-исследовательской работы используются в НИР кафедры патофизиологии, клинической патофизиологии ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России.

**Цель внедрения:** использование данных исследования в научно-исследовательской работе «Влияние экстрагенитального воспаления на активность металлопротеиназ, аннексин-зависимый апоптоз в тканях и репродуктивную функцию» 2023-2025 гг. на базе кафедры патофизиологии, клинической патофизиологии.

**Ответственные за внедрение:** доцент, кандидат медицинских наук, Е.А.Музыка.

**Эффективность внедрения:** предложение позволит внедрить в научно-исследовательскую работу на кафедре патофизиологии, клинической патофизиологии ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России новые способы коррекции воспалительно-деструктивных процессов у животных с экспериментальной пневмонией и экспериментальным перитонитом.

Заведующий кафедрой патофизиологии,  
клинической патофизиологии, д.м.н.



Р.А.Кудрин

Ответственный за внедрение:  
доцент кафедры патофизиологии,  
клинической патофизиологии, к.м.н.



Е.А.Музыка

Автор предложения:  
ассистент кафедры патофизиологии,  
клинической патофизиологии



Д.С.Липов

«УТВЕРЖДАЮ»

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО ВРАЧА ПО ЭВН  
О. В. МАЛОВА

«5» сентября 2023 г.

### АКТ О ВНЕДРЕНИИ результатов научных исследований в практическую работу

**Предмет внедрения:** методология оценки маточного кровотока при прегравидарной подготовке у женщин с отягощенным анамнезом по экстрагенитальной воспалительной патологии пищеварительной и дыхательной систем.

**Кем предложен:** Липов Д.С. – ассистент кафедры патофизиологии, клинической патофизиологии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России в научно-исследовательской работе «Роль матриксных металлопротеиназ -1, -9, -19 и апоптоза в нарушении репродуктивной функции при экстрагенитальных воспалительно-деструктивных процессах (клинико-экспериментальное лечение)», выполненной на базе кафедры патофизиологии, клинической патофизиологии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, лаборатории клеточных технологий НЦИЛС и отделения вспомогательных репродуктивных технологий Многопрофильной Клиники №1 ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России.

**Источники информации:** основные положения исследования доложены и обсуждены на: конференции «Фундаментальные медицинские и биологические науки» в рамках II Дальневосточного медицинского конгресса (Хабаровск, 2021); 80-й и 81-й Международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Волгоград, 2022, 2023); Международном медицинском форуме «Вузовская наука. Инновации» (Москва, 2022; 2023) I научно-практической конференции с международным участием «Привентивная медицина как основа качественного и здорового долголетия» (Оренбург, 2023). По материалам диссертационного исследования опубликовано 11 научных работ, из которых 5 – в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий или входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук и издания,

приравненные к ним, в том числе получено 1 свидетельство государственной регистрации баз данных, охраняемых авторским правом.

**Где и кем внедрено:** данные научно-исследовательской работы используются в практической деятельности отделения ультразвуковой диагностики ГУЗ Клиническая поликлиника № 28 г. Волгоград.

**Цель внедрения:** использование данных исследования для оценки интенсивности маточного кровотока у женщин с экстрагенитальной воспалительной патологией пищеварительной и дыхательной систем в анамнезе при проведении процедур прегравидарной подготовки.

**Ответственные за внедрение:** заведующий отделением ультразвуковой диагностики О.С.Филоненко.

**Эффективность внедрения:** предложение позволит внедрить в практическую деятельность ГУЗ Клиническая поликлиника № 28 методологию оценки маточного кровотока у женщин с отягощенным анамнезом по экстрагенитальной воспалительной патологии пищеварительной и дыхательной систем для более качественного и персонализированного подхода при проведении процедур прегравидарной подготовки.

Заведующий отделением  
ультразвуковой диагностики



О.С.Филоненко

Автор предложения:  
ассистент кафедры патофизиологии,  
клинической патофизиологии



Д.С.Липов