

В.В. Попова, Т.И. Дергачева, С.А. Курганов

НАРУШЕНИЕ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ ПОСТВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ГЕНЕЗА (экспериментально-морфологическое исследование)

ГУ НИИ клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН, Новосибирск

Острое воспаление внутренних половых органов у крыс вызывали введением культуры стафилококка под слизистую оболочку влагалища. После клинического выздоровления самок спаривали, и если беременность наступала, то в первые сутки после родов оценивали потомство и проводили гистологическое исследование образцов стенки матки и придатков. У 35% самок на фоне бессимптомной латентной формы воспаления исход беременности характеризовался множественной внутриутробной гибелью плодов и гипотрофией новорожденных. Это соотносилось с воспалительной клеточной инфильтрацией эндометрия и дистрофией миометрия. Переход в хроническое аллергическое воспаление с выраженной эозинофилией стенки матки полностью предотвращал децидуализацию и развитие плаценты при сохраненной активности яичников и проходимости маточных труб (у 30% самок). Перенесенное воспаление в случаях самоизлечения не снижало репродуктивность у 35% самок. Делается заключение, что даже в отдаленные сроки модельное стафилококковое воспаление гениталий может оказывать отрицательное влияние на репродуктивную функцию у крыс и их потомство.

Ключевые слова: матка крысы, репродуктивная функция, стафилококковое воспаление

Воспалительные заболевания органов малого таза занимают первое место (65-70%) в структуре акушерской и гинекологической патологии. Известно, что они чрезвычайно неблагоприятно влияют на репродуктивную функцию, обуславливая невынашивание беременности, эктопическую беременность и создают серьезные медицинские, социальные и экономические проблемы [1]. Острые и хронические воспалительные заболевания половой сферы у женщин сопровождаются первичными и вторичными формами бесплодия. Частота воспалительных заболеваний гениталий среди беременных составляет 37-40% [2]. Наличие очагов инфекции в репродуктивном возрасте повышает риск развития осложнений беременности и родов: в 13 раз увеличивается частота самопроизвольных выкидышей, в 6 раз — преждевременных родов, в 3 раза — хориоамнионита, в 4-5 раз — эндометрита [3, 4]. Большая часть заболеваний беременных, приводящих к внутриутробному инфицированию плода, протекает бессимптомно. Как правило, у таких женщин рождаются дети с низкой оценкой по шкале Апгар, низкой массой тела и внутриутробной пневмонией [5, 6].

Несмотря на огромный и многолетний интерес к этой проблеме до сих пор остаются до конца не выясненными причины, приводящие к нарушению репродуктивной функции на фоне перенесенной ранее инфекции. Эту задачу невозможно решить на клиническом материале — исследователю по-

падает лишь плацента, а матка, где локализуется патологический процесс, остается недоступной для гистологического изучения.

Поэтому в данной работе была поставлена задача — изучить структурные особенности матки экспериментальных животных после родов в норме и при разных исходах беременности, связанных с перенесенным воспалением гениталий.

Материалы и методы

Работа выполнена на 62 крысах-самках линии Вистар массой 260-300 г, полученных из Томского питомника. Эксперименты выполняли с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директиве Европейского Сообщества (86/609/ЕС). Воспаление внутренних половых органов вызывали введением под слизистую оболочку средней трети правой заднебоковой стенки влагалища суточной культуры *Staphylococcus aureus* (штамм № 24943) в дозе 3 млн микробных тел по стандарту мутности [7]. Через месяц после заражения крыс спаривали и наблюдали за протеканием беременности. Контролем служили интактные беременные самки. В первые сутки после родов взвешивали потомство, самок декапитировали под эфирным наркозом согласно «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных». Оценивали состояние половых органов и исследовали образцы стенки влагалища и матки с придатками. Если беременность не наступала, то органы у бесплодных крыс забирали в те же сроки после

заражения, что и у родивших самок. Материал для гистологического исследования обрабатывали по общепринятой методике, парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Морфометрию структурных компонентов стенки матки проводили с помощью окулярной линейки с ценой деления 1,54 мкм (при увеличении $\times 700$) и 6,4 мкм — ($\times 175$).

Анализ был проведен по следующим группам крыс-самок: 1 — «интактные» (6 особей), 2 — «контроль» родившие интактные (8), 3 — «воспаление» на 10-е сутки после заражения (8), 4 — спаренные после перенесенного воспаления (40), из них: 4-а — родившие «без осложнений» (14), 4-б — принесшие «малочисленное потомство» (12), 4-в — «бесплодные» (14).

Статистическую обработку данных проводили в пакете Statistica, версия 6.0. Достоверность различий с контролем определяли по критерию Стьюдента, уровень значимости p принимали 0,05. Результаты представляли в виде среднего и ошибки среднего ($M \pm m$).

Результаты исследования

У контрольных самок (группа 2) новорожденные крысята по количеству и средней массе (Таблица) соответствовали видовой и линейной норме [8]. В первые сутки после родов средняя длина рогов матки составляла $57 \pm 1,6$ мм при $43 \pm 1,2$ мм у нерожавших животных (группа 1). В полости содержались кровяные сгустки. Места прикрепления плаценты имели вид уплотненных образований 5-7 мм в диаметре, багрового цвета, располагающихся по ребрам рогов матки и выбухающих к широкой связке. Тонкий слой собственной пластинки эндометрия в этих участках (Рис. 1) был покрыт сгустками крови. Внутри пластинки в месте прикрепления плаценты имелись участки фиброза, встречались геморрагии и немногочисленные лейкоциты (Рис. 2). Мелкие артерии миометрия выглядели спазмированными, многочисленные полнокровные крупные сосуды образовывали сосудистый пучок в широкой связке матки от каждого плодного места. У этих

самок на 83 поворожденных крысенка в рогах матки имелось 3 дополнительных места имплантации — мелкие образования размером 2-3 мм, незначительно выбухающие над поверхностью матки ближе к широкой связке. На разрезе они имели бело-желтый цвет и не образовывали собственного сосудистого пучка. При гистологическом исследовании выявлено, что эти округлые образования были рыхло связаны со стенкой и отслаивались по собственной пластинке вместе с остатками децидуальной ткани и хориальных ворсин. Их основная часть была представлена аморфным бесструктурным веществом, клеточным детритом и небольшим участком кальцификации. Можно предположить, что гибель и мумификация отде-

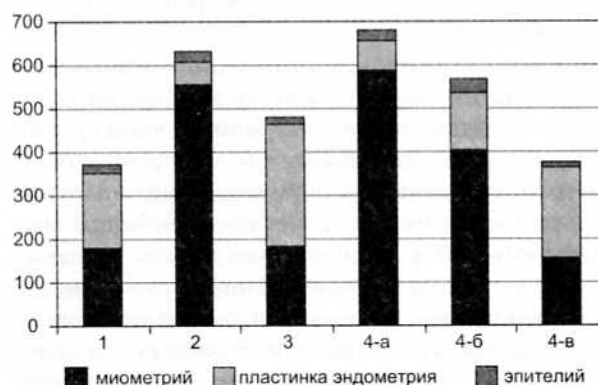


Рис. 1. Структура стенки маточного рога в разных экспериментальных группах

Группы самок: 1 — интактные, 2 — контроль, родившие интактные, 3 — «воспаление», 10-е сутки после заражения, 4-а — родившие «без осложнений» после воспаления, 4-б — принесшие «малочисленное потомство» после воспаления, 4-в — «бесплодные» после воспаления

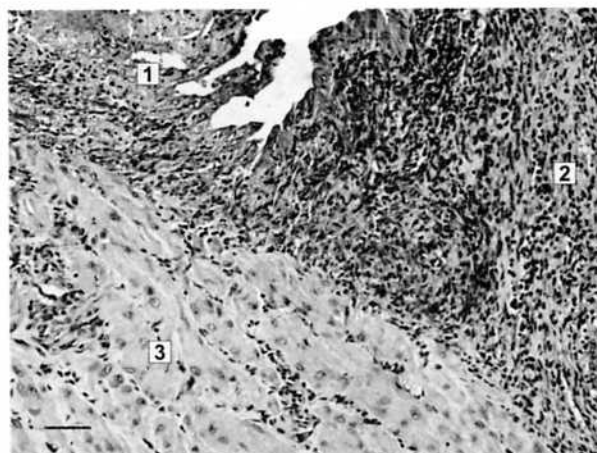


Рис. 2. Место отхождения плаценты в первые сутки после родов. Рог матки крысы контрольной группы. Окраска гематоксилин-эозином. Масштаб 50 мкм.

1 — Сгусток крови на собственной пластинке эндометрия. 2 — Участок разрастания соединительной ткани в эндометрии. 3 — Миометрий

Таблица
Характеристика потомства у крыс, перенесших стафилококковое воспаление гениталий ($M \pm m$)

Показатели	Контроль Группа 2	Экспериментальные группы	
		4-а	4-б
Число крысят в помете	10,4 $\pm$ 1,10	11,8 $\pm$ 0,46	6,0 $\pm$ 1,0*
Масса крысенка, г	6,1 $\pm$ 0,21	6,3 $\pm$ 0,11	5,7 $\pm$ 0,57*
«Лишние места» имплантации, %	3,6	5,3	42,9

Примечание: Группы самок: 2 — родившие интактные, 4-а — родившие «без осложнений» после воспаления, 4-б — принесшие «малочисленное потомство» после воспаления. * — различия с контролем достоверны при $p < 0,05$.

льных плодов при многоплодной беременности является механизмом регуляции плодовитости и генетической полноценности потомства.

Из 40 самок, перенесших стафилококковое воспаление половых органов и спаренных с самцами после выздоровления, 35% крыс произвели нормальное по количеству и массе тела потомство (группа 4-а), 30% имели большую внутриутробную гибель плодов (группа 4-б) и 35% остались бесплодными (группа 4-в).

У крыс группы 4-а анатомические особенности, гистологическое строение и морфометрические показатели рогов матки в первые сутки после родов не отличались от контрольных в группе 2 (Рис. 1). По-видимому, животные этой группы в период спаривания были здоровы, и перенесенное воспаление не отразилось на их репродуктивной способности.

У крыс с малочисленным приплодом (группа 4-б) прирост массы тела во время беременности был ниже, чем у животных контрольной группы 2, а у родившихся крысят наблюдалась гипотрофия. Макроскопически при вскрытии обнаружались лишние места имплантации (Таблица), размеры которых различались не только у разных самок, но и у одной особи. Иногда это были довольно крупные образования, 6-8 мм в диаметре, со сформированной плацентой, иногда — мелкие, по 2-3 мм. Гистологическое исследование показало, что в одних местах погибшей беременности выявлялись все основные структурные элементы плаценты, включая децидуальную оболочку, ворсинки хориона, в других — только склерозированные остатки оболочек и дистрофически измененные ворсинки. Во всех случаях в плаценте имелись обширные участки детрита, окруженные нейтрофилами и немногочисленными лимфоцитами.

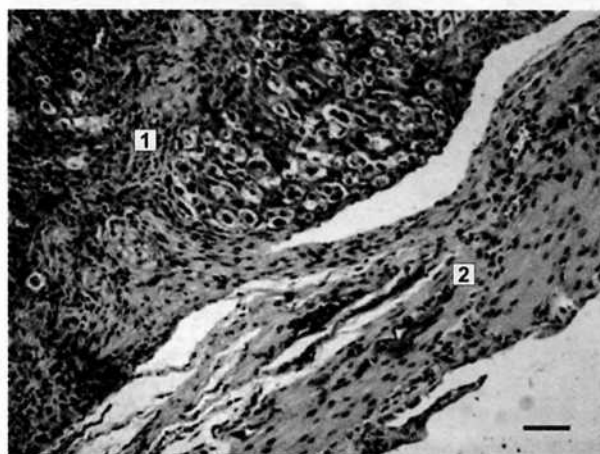


Рис. 3. Место внутриутробной гибели плода в роге матки у крысы с малочисленным потомством. Первые сутки после родов. Окраска гематоксилин-эозином. Масштаб 50 мкм. 1. — Остатки плаценты. 2 — Отек и дистрофия миометрии

Нейтрофильная инфильтрация разной степени выраженности распространялась на стенки сохранившихся сосудов плаценты и в подлежащий миометрий. В мышечном слое определялся выраженный межклеточный отек и разволокнение ткани, лимфостаз и небольшие скопления лимфоцитов. За счет этого доля собственно гладкомышечных клеток в миометрии была сниженной, имелись признаки выраженной миодистрофии (Рис. 3). Необходимо подчеркнуть, что эти участки принципиально отличались от «лишних мест» имплантации у крыс контрольной группы 2, где ни в погибшем плоде, ни в месте прикрепления плаценты, ни в стенке матки не выявлялись клеточные инфильтраты или какие-либо признаки воспаления.

У бесплодных крыс-самок (группа 4-в) через 8 недель после заражения структура стенки влагалища, свободный просвет маточных труб, а также наличие в яичниках вторичных фолликулов с яйцеклетками свидетельствовали о сохраненной способности к оплодотворению. Но серозная оболочка матки выглядела тусклой, длина рогов составляла в среднем $47 \pm 1,6$ мм, в их расширенной полости находилось небольшое количество серозного содержимого. Морфометрия показала, что эндометрий был резко утолщен за счет собственной пластинки (Рис. 1). Строма собственной пластинки во всех случаях была гиперемизированной, отечной и инфильтрированной многочисленными эозинофилами и единичными макрофагами (Рис. 4). Между рыхлыми тонкими мышечными пучками располагались широкие кровеносные и лимфатические сосуды. Вблизи сосудов мышечного слоя встречались единичные тучные клетки и большое количество эозинофилов, которые иногда инфильтрировали весь мышечный слой. Все сосуды

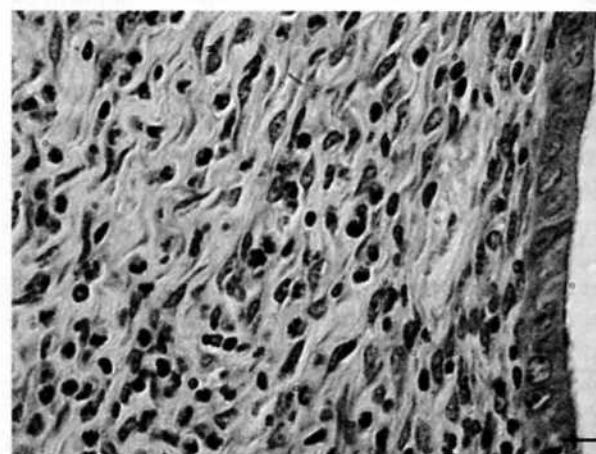


Рис. 4. Выраженная эозинофильная инфильтрация собственной пластинки эндометрия у бесплодной крысы после перенесенного воспаления. Окраска гематоксилин-эозином. Масштаб 10 мкм

широкой связки были расширенными, периваскулярно встречались эозинофилы и тучные клетки.

У трех крыс этой группы в рогах матки обнаружено 4 места погибших на очень ранней стадии зародышей в виде образований округлой формы 2-3 мм диаметром бело-желтого цвета, плотные на ощупь, покрытые эндометрием. Сосудистый пучок, характерный для обычного места имплантации, отсутствовал. В этих местах имелось локальное утолщение мышечного слоя, покрытое фиброзной тканью без элементов плаценты. Вокруг участка рубцовой ткани, ближе к мышечному слою, располагались многочисленные эозинофилы.

Описанная морфологическая картина и морфометрические данные у бесплодных крыс полностью соответствуют подробно описанным нами изменениям в стенке матки в разгар воспаления [9, 10]. Из данных морфометрии (Рис. 1) можно сделать вывод о том, что воспалительный процесс у крыс в группах 3 и 4-в вызывает утолщение стенки рогов, но не столь значительное и не за счет гипертрофии мышечного слоя, как при беременности в группах 2 и 4-а, а за счет отека и эозинофильной инфильтрации собственной пластинки эндометрия.

Обсуждение результатов

Полученные результаты показали, что перенесенное острое стафилококковое воспаление гениталий может вызывать разнообразные тяжелые осложнения, влияющие на репродуктивную функцию вплоть до бесплодия. В нашем модельном эксперименте более трети самок, перенесших воспаление, в течение наблюдения оставались бесплодными. У них были проходимы маточные трубы, в яичниках присутствовали вторичные фолликулы, но сохранялись структурные изменения стенки рога: очаги воспалительной клеточной инфильтрации (эозинофильной, плазматической, лимфоцитарной) и значительная миодистрофия. Это соответствовало хроническому воспалению и, вероятно, создавало предпосылки к обострению патологических процессов и нарушению генеративной функции.

Полученные результаты свидетельствуют о существующей до сих пор недооценке роли тканевых эозинофилов в процессах имплантации. Нами показано, что плотная инфильтрация именно этими клетками всех слоев стенки матки препятствует децидуализации и не совместима с вынашиванием беременности. Отмечено, что при нормальном исходе беременности (группы 2 и 4-а) в стенке матки эозинофилы отсутствовали. Повышение содержания эозинофилов в периферической крови и их накопление в тканях тесно связано с развитием аллергических реакций (бронхиальная астма, де-

матиты, гиперчувствительность к лекарственным препаратам, некоторые опухоли, реакция отторжения трансплантата и др.) и глистными инвазиями. Встречаются указания на их «неясную роль» в репродуктивной сфере. Эозинофилы способны связывать IgE и активироваться комплексом антиген-антитело [11]. В последние годы с ними связывают функцию антигенпрезентирующих клеток. В гранулах эозинофилов содержится целый ряд биологически активных веществ, действие которых до конца пока не изучено. В ответ на раздражение выделяются липидные медиаторы (лейкотриен С₄, фактор активации тромбоцитов и липосины), провоспалительные цитокины, активные перекисные радикалы, катионные белки [12].

В литературе не удалось найти описания таких воспалительных процессов во внутренних половых органах, в которых основной эффекторной клеткой является эозинофил. Нет указаний на этиологию, патогенез и морфологические особенности их проявления в связи с какими-нибудь заболеваниями или осложненной беременностью. Поэтому для интерпретации случаев эозинофильной инфильтрации стенки матки мы сочли возможным обратиться к данным, полученным при изучении воздухоносных путей и пищеварительного тракта, осознавая некоторую натянутость таких сопоставлений в связи с органной специфичностью процессов. У больных бронхиальной астмой и хроническими риносинуситами стафилококкового генеза в слизистой оболочке носа часто разрастаются полипы, густо инфильтрированные эозинофилами. Считается, что это аллергическое эозинофильное воспаление, резистентное к стероидам, развивается в ответ на выделение бактериального токсина, но детали процесса остаются пока невыясненными [13].

Локальное обострение воспалительного процесса в стенке матки в период беременности может вызвать плацентит, что провоцирует гибель плода. Токсический эффект бактерий связан, в первую очередь, с наличием в их стенке термостабильных липополисахаридов, получивших название эндотоксинов. Они выделяются в окружающую среду и взаимодействуют с провоспалительными цитокинами (интерлейкинами-1 и 6, фактором некроза опухоли и др.), которые играют большую роль в процессе проникновения бластоцисты в эндометрий. Большинство исследователей считают, что гнойное стафилококковое воспаление является иммунологическим процессом. Стафилококк имеет целый ряд антигенов: липополисахариды клеточной стенки, полисахаридные О-антигены, протеин А, протективный антиген — токсин-Ј и др. Именно антигены и токсины стафилококка, с одной стороны, и антитела ткани матки — с дру-

гой стороны, становятся главными участниками патологических процессов, препятствующих имплантации. Известно, что матка должна регулировать глубину проникновения трофобласта путем выделения биологически активных молекул (металлопротеаз, цитокинов, интегринов) так, чтобы обеспечить адекватный фетоплацентарный обмен, не нарушая при этом целостность материнского организма. Недостаток некоторых цитокинов, например интерлейкина-10, может усилить воспалительную реакцию на трофобласт настолько, что вызовет апоптоз трофобластцитов, гипоксию, тромбоз и инфаркт плаценты [14] и нарушение течения беременности.

Заключение

У экспериментальных животных перенесенное модельное стафилококковое воспаление гениталий оказывает отрицательное влияние на репродуктивную функцию даже в отдаленные сроки. В случаях множественной внутриутробной гибели плодов вокруг плаценты наблюдается инфильтрация эндометрия нейтрофилами и другими воспалительными клеточными элементами, очаговые или диффузные повреждения миометрия. Переход процесса в хроническое аллергическое (эозинофильное) воспаление матки, даже при сохраненной способности к оплодотворению и проходимость маточных труб, приводит к бесплодию, так как полностью предотвращает децидуализацию и развитие плаценты. В случаях самоизлечения перенесенное воспаление не влияет на репродуктивную функцию самок.

REPRODUCTIVE INEFFICIENCY OF POSTINFLAMMATORY GENESIS (THE EXPERIMENTAL-MORPHOLOGICAL STUDY)

V.V. Popova, T.I. Dergacheva, S.A. Kurganov

The internal genitals inflammation in female rats was triggered by *Staphylococcus aureus* culture injection into vaginal submucous membrane. The females mated after clinical self-recovery and if an animal became pregnant the progeny status was estimated and the specimens of uterine wall and appendages were taken out for histological evaluation on the first postpartum day. In 35% of the rats with latent form of infection the pregnancy outcome was characterized by a multiple intrauterine fetal death and new-born hypotrophy. It was associated with inflammatory cell infiltration of endometrium and myometrial dystrophy. The switch to chronic allergic inflammation with pronounced eosinophil accumulation in the uterine wall completely prevented the decidualization and placenta formation in spite of ovarian responsiveness and tubes patency (in 30% of the rats). In cases of self-recovery after the inflammation (35%) the female reproductive capacity was not reduced. We conclude that the genital inflammation

may negatively affect the reproductive function and the progenies in rats even in the long period of time.

Литература

1. Тихомиров, А.Л. Современный алгоритм терапии воспалительных заболеваний половой системы / А.Л. Тихомиров, В.Н. Юдаев, Д.М. Лубнин // РМЖ. — 2003. — Т. 11. — № 1. — С. 12-18.
2. Кулаков, В.И. Современные принципы антибактериальной терапии в акушерстве, гинекологии и неонатологии / В.И. Кулаков // Акушерство и гинекология. — 2004. — №4. — С. 3-6.
3. Орджоникидзе, Н.В. Алгоритм обследования беременных с высоким инфекционным риском / Н.В. Орджоникидзе, В.Л. Тютюнник // РМЖ. — 2001. — Т. 9. — № 6. — С. 215-218.
4. Spontaneous recovery of bacterial vaginosis during pregnancy is not associated with an improved perinatal outcome / E. Gratacos, F. Figueras, M. Barranco, et al. // Acta Obstet. Gynecol. Scand. — 1998. — Vol. 77 — P. 37-40.
5. Боровкова, Е.И. Взаимодействие возбудителей инфекции с организмом беременной как фактор риска внутриутробного инфицирования плода / Е.И. Боровкова // Росс. вестник акушера-гинеколога. — 2005. — № 5. — С. 50-54.
6. Spiegel, C.A. Bacterial vaginosis / C.A. Spiegel // Clinical Microbiology Reviews. — 1991. — № 10. — P. 485-502.
7. Старкова, Е.В. Структурно-клеточные преобразования тканей женских половых органов, регионарных лимфатических узлов в разные периоды позднего постнатального онтогенеза, в условиях экспериментального септического воспаления половых органов и его коррекции углеродминеральным сорбентом СУМС-1: Автореф. дис. ... канд. мед. наук / Е.В. Старкова. — Новосибирск, 1997.
8. Baker, D.E.J. Reproduction and breeding / D.E.J. Baker // The laboratory rat. — 1979. — Vol. 1. — P. 154-166.
9. Курганов, С.А. Реакция лимфатического региона и лимфатических сосудов брыжейки на воспаление внутренних половых органов и при его коррекции (экспериментальное исследование): Автореф. ... канд. мед. наук / С.А. Курганов. — Новосибирск, 1998.
10. Попова, В.В. Влияние перенесенного воспаления гениталий на репродуктивную функцию крыс / В.В. Попова, С.А. Курганов, Т.И. Дергачева // Вестник НГУ. — 2005. — Т. 3. — № 4. — С. 53-60.
11. Gleich, G.J. The eosinophilic leukocyte: structure and function / G.J. Gleich, C.R. Adolphson // Adv. Immunol. — 1986. — Vol. 39. — P. 177-253.
12. Shi, H.Z. Eosinophils function as antigen-presenting cells / H.Z. Shi // J. Leukoc. Biol. — 2004. — Vol. 76 (3). — P. 520-527.
13. An update on the impact of *Staphylococcus aureus* enterotoxins in chronic sinusitis with nasal polyposis / N. Zhang, P. Gevaert, T. van Zele, et al. // Rhinology. — 2005. — Vol. 43 (3). — P. 162-168.
14. Immunology of preeclampsia / L. Matthiesen, G. Berg, J. Ernerudh, et al. // Chem. Immunol. Allergy. — 2005. — Vol. 89. — P. 49-61.