

П.В. Лятошинская¹,
Е.Ф. Кира², В.Ф. Беженарь¹,
А.П. Новожилова¹

Кафедра акушерства и гинекологии
им. А.Я. Красовского
Военно-медицинской академии,
Санкт-Петербург¹,
Кафедра женских болезней
и репродуктивного здоровья Института
усовершенствования врачей при НМХЦ
им. Н.И. Пирогова МЗ РФ, Москва²

НАРУШЕНИЕ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ ЭНДОСАЛЬПИНКСА КАК ПРИЧИНА БЕСПЛОДИЯ ПРИ ДИСТАЛЬНОЙ ОККЛЮЗИИ МАТОЧНЫХ ТРУБ

■ Проанализирована ультраструктура эндосальпинкса, полученного при микробиопсии у 26 пациенток с бесплодием, обусловленным гидросальпинксами. Вычисляли процентное содержание цилиарных клеток и оценивали различные параметры, включая высоту эпителия, наличие спаек, эпителиального слушывания, воспалительных клеток и фиброза в стенке маточной трубы. Была изучена ультраструктура микробиопсий. Обнаружены расстройства киноцилий эпителия маточных труб. Выяснено, что образование гидросальпинксов сопровождается развитием глубоких дистрофических изменений в эндосальпинксе. Последнее может являться причиной функциональной несостоятельности маточных труб у пациенток с трубно-перитонеальным бесплодием.

■ **Ключевые слова:** гидросальпинкс, трубное бесплодие, ультраструктура эндосальпинкса, цилиарный индекс

Выбор оптимального метода лечения трубно-перитонеального бесплодия является на сегодняшний день одной из наиболее дискуссионных и до конца нерешенных проблем современной репродуктологии. Несмотря на то, что в техническом отношении восстановить проходимость маточных труб проще при их дистальной окклюзии, в то же время именно при этих реконструктивно-пластических операциях наблюдается наиболее низкая эффективность в отношении наступления беременности, а нередко и рецидивы образования гидросальпинксов [6, 9].

Известно, что несмотря на четкую координацию деятельности всех отделов маточной трубы, основная функциональная нагрузка ложится именно на дистальные сегменты, что подтверждается их более сложным строением и присутствием в них основных регуляторных субстанций, обеспечивающих слаженность и взаимодействие механизмов кинетики и динамики всей трубы (субстанция «Р», гастрин-рилизинг пептид, вазоактивный интестинальный полипептид, основной пул гамма-аминобутириновой кислоты, являющейся регулятором цилиарной активности) [3, 7, 8, 10]. Кроме того, ампулярная часть маточной трубы отличается сложностью архитектоники слизистой оболочки. В 1990 г. F. Bonilla-Musoles и соавт. высказали гипотезу о наличии в слизистой оболочке ампулярного отдела маточной трубы артериальной пульсирующей помпы, благодаря которой и осуществляется транспорт яйцеклетки в сторону матки [4]. Важным является также то, что цитологическая структура слизистой оболочки ампулярного и фимбриального отделов маточной трубы представлена в основном цилиарными клетками, которые содержат киноцилии (реснички) в своей апикальной части. Известно, что киноцилии за счет своих координированных колебаний также создают поток жидкости в направлении полости матки [2]. Таким образом, дистальный отдел маточной трубы, по сравнению с проксимальным, играет возможно более важную роль в процессе нормальной репродукции. Именно в этой части трубы протекают оплодотворение и ранние стадии эмбрионального развития. Учитывая это обстоятельство, многие ученые уделяют большое внимание детальному изучению именно этого отдела маточной трубы [5, 11].

Материалы и методы исследования

Изучение ультраструктуры эндосальпинкса было проведено у 26 больных (1-я или исследуемая группа), страдающих трубно-перитонеальной формой бесплодия, обусловленной наличием гидросальпинксов. У всех пациенток данной группы выполняли лапароскопическую сальпингонеостомию с микробиопсией эндосальпинкса в ампулярном сегменте маточной трубы. Сравнительный анализ ультраструктуры эндосальпинкса

проводился с аналогичным биопсийным материалом, полученным от 15 пациенток с нормальной репродуктивной функцией (2-я или контрольная группа), которым была произведена лапароскопическая стерилизация ($n = 9$) или цистаденэктомия в связи с наличием доброкачественных опухолей яичников ($n = 6$).

Средний возраст больных исследуемой и контрольной групп составил соответственно $27,9 \pm 0,7$ и $32,9 \pm 1,1$ года ($p < 0,001$).

В исследуемой группе преобладали пациентки со вторичным бесплодием, частота которого составила 69,2% (18 из 26). Средняя длительность бесплодия у больных этой группы составила $5,0 \pm 0,5$ лет. При этом у 4 (15,4%) пациенток в анамнезе уже имели место реконструктивно-пластические операции на маточных трубах, а у 1 (3,9%) было выполнено ЭКО с переносом эмбриона в полость матки.

Из сопутствующей гинекологической патологии более чем у половины больных с бесплодием (53,8%; 14 из 26) отмечен хронический сальпингоофорит.

На дооперационном этапе почти у каждой четвертой пациентки 1-й группы были выявлены случаи различных урогенитальных инфекций (26,9%): в 1 (3,9%) случае был диагностирован неспецифический вагинит, в 1 (3,9%) — кандидозный вагинит, у 3 (11,5%) пациенток — бактериальный вагиноз и еще у 3 (11,5%) — обнаружен цервицит хламидийной этиологии.

Состояние маточных труб у больных исследуемой группы оценивалось перед операцией по результатам гистеросальпингографии, в ходе проведения которой во всех случаях были выявлены двухсторонние гидросальпинксы, что и явилось во всех случаях показанием для проведения лапароскопических двусторонних сальпингонеостомий. Диаметр гидросальпинкса от 1 до 2 см отмечен у 18 из 26 (69,2%) пациенток, а более 2 см — у 8 (30,8%) больных.

Для изучения ультраструктуры эндосальпинкса производилась микробиопсия последнего из ампулярного отдела МТ. Микробиопсия выполнялась с помощью гистероскопических биопсийных щипцов (2 мм), введенных через боковой троакар (5 мм). Каждый участок эндосальпинкса диаметром 2–3 мм разделялся на более мелкие фрагменты. Исследование эндосальпинкса проводилось с помощью световой микроскопии с полутонких срезов, а ультраструктуры ресничек — методом трансмиссионной электронной микроскопии. Важно отметить, что у всех пациенток микробиопсия эндосальпинкса выполнялась в пролиферативную фазу менструального цикла.

Материал для электронно-микроскопического изучения фиксировали в 2,5% глутаровом альдегиде на 0,1 М какодилатном буфере

(рН 7,4). Далее для трансмиссионной электронной микроскопии кусочки ткани дофиксировали в 2% четырехоксида осмия, обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации, заливали в смесь эпоксидных смол. Полутонкие 1 мкм и ультратонкие 70 нм срезы изготавляли на ультрамикротоме «Ultracut» (фирмы Reichert, Австрия). Полутонкие срезы окрашивали метиленовым синим, а также по методу Хамфрея и Питтмана. Ультратонкие срезы контрастировали цитратом свинца и уранил-ацетатом. Просмотр и фотографирование полутонких срезов осуществляли на фотомикроскопе Opton (фирмы Opton, Германия). Ультратонкие срезы просматривали и фотографировали в электронном микроскопе Hitachi H 300 (фирма Hitachi, Япония) в трансмиссионном режиме при ускоряющем напряжении 80 кВ. Высоту эпителия оценивали с помощью окуляр-микрометра. Цилиарный индекс (процентное содержание эпителиальных клеток, имеющих реснички) в каждом биоптате рассчитывался не менее чем на 500 эпителиальных клеток.

Результаты исследования

Результаты световой микроскопии с полутонких срезов свидетельствовали о том, что средняя высота эпителия маточных труб у пациенток с гидросальпинксами в 2 раза ниже по сравнению с высотой эпителия маточных труб у здоровых пациенток. Так, средняя высота эпителия ампулярного отдела маточных труб пациенток исследуемой группы составила $12,5 \pm 0,4$ мкм (рис. 2, 3, 5), а у пациенток контрольной группы — $27,5 \pm 2,3$ мкм ($p < 0,001$) (рис. 1, табл. 1). Высота эпителия маточных труб в пролиферативную фазу менструального цикла в норме соответствует 20–30 мкм [1].

Таблица 1

Состояние слизистой оболочки маточных труб в сравниваемых группах (по результатам световой микроскопии с полутонких срезов)

Признаки, характеризующие состояние слизистой оболочки	Исследуемая группа ($n=26$)	Контрольная группа ($n=15$)
Высота эпителия, мкм	$12,5 \pm 0,4^*$	$27,5 \pm 2,3$
Цилиарный индекс, %	$29,6 \pm 1,7^*$	$73,3 \pm 1,8$
Зоны десквамации эпителия	Присутствуют	Отсутствуют
Адгезия складок слизистой оболочки	Присутствует	Отсутствует
Фиброз стромы подслизистой пластинки	Присутствует	Отсутствует
Воспалительные клетки в подслизистой пластинке	Присутствуют	Отсутствуют

* — $p < 0,001$.

Цилиарный индекс эпителия среди пациенток с бесплодием колебался от 15 до 42% и составил в среднем $29,6 \pm 1,6\%$ (рис. 2, 3, 5), что достоверно меньше по сравнению со средним цилиарным индексом в контрольной группе, значение которого соответствовало $73,3 \pm 1,8\%$ ($p < 0,001$) (рис. 1). В норме цилиарный индекс эпителия ампулярного отдела маточных труб колеблется в пределах от 50 до 80% [5].

Практически у всех пациенток — у 25 из 26 (96,2%), прооперированных по поводу гидросальпинксов при исследовании эпителиального покрова маточных труб методом световой микроскопии с полутонких срезов были обнаружены зоны десквамации эпителия (рис. 3), при этом у 11 из 26 больных (42,3%) протяженность зон десквамации не превышала 100 μm , а у 15 из 26 (57,7%) — протяженность этих зон составляла 100 μm и более. Среди пациенток с нормальной репродуктивной функцией признаков десквамации эпителия маточных труб выявлено не было (рис. 1).



Рис. 1. Микрофотография нормального эндосальпинкса ампулярного отдела маточной трубы.

Высота эпителия 27 μm , цилиарный индекс 71%, в подслизистом слое умеренное количество коллагеновых волокон. Микрофотография полутонких эпиксидных срезов. Окраска по Питмани и Хэмфри, увеличение $\times 400$

При исследовании эпителиального покрова маточных труб у 18 пациенток исследуемой группы (69,2%) обращало на себя внимание наличие адгезии складок эпителия между собой (рис. 2), в то время как у пациенток контрольной группы архитектура складок эпителия маточных труб в исследуемых биоптатах нарушена не была. В подслизистом слое у всех пациенток с гидросальпинксами присутствовало большое количество коллагеновых волокон и фибробластов, что свидетельствовало о фиброзе стромы (рис. 3). Наблюдался также склероз стенки сосудов стромы (рис. 4). Среди кол-

лагеновых волокон и клеток стромы у 16 больных (61,5%) 1-й группы выявлялось множество клеточных маркеров хронической воспалительной реакции (тканевых макрофагов и гистиоцитов) (рис. 3, 5). При исследовании подслизистой основы у пациенток 2-й группы отмечалось умеренное количество коллагеновых

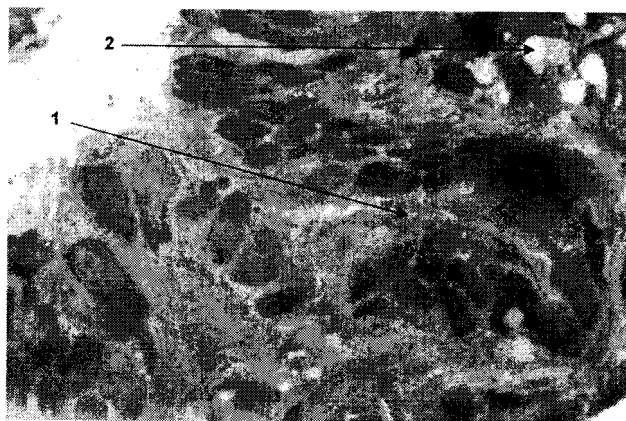


Рис. 2. Гидросальпинкс.

Высота эпителия 13 μm , цилиарный индекс 42%, наблюдается слияние складок слизистой оболочки (1), эпителий деструктивен, много вакуолей в строме (2). Микрофотография эпиксидных полутонких срезов. Окраска: метиленовая синь и основной фуксин, увеличение $\times 400$

волокон и отсутствие признаков хронического воспалительного процесса (табл. 1).

При исследовании ультраструктуры ресничек трубного эпителия у пациенток с ненарушенной репродуктивной функцией выявлено нормальное строение органел, которое описывается формулой $(9 \times 2) + 2$. Это означает, что в

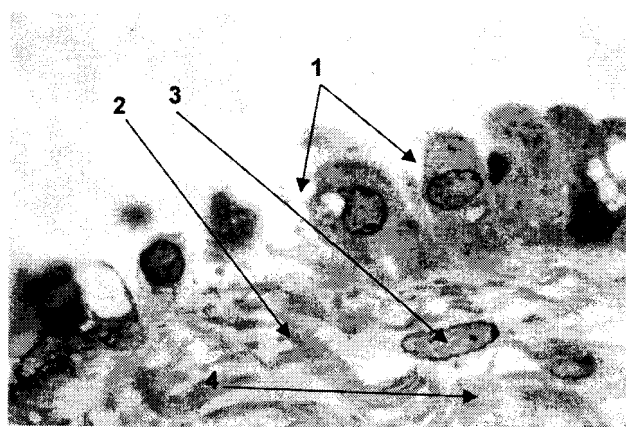


Рис. 3. Гидросальпинкс.

Высота эпителия 9–12 μm , цилиарный индекс 19%, имеется нарушение связей в эпителиальном пласте, десквамация эпителиоцитов (1), большое количество коллагеновых волокон (2) и фибробластов (3) в подслизистой основе. Среди клеток стромы тканевые макрофаги (4). Микрофотография полутонких эпиксидных срезов. Окраска по Питмани и Хэмфри, увеличение $\times 500$

норме аксонема реснички образована 9-ю периферическими парами микротрубочек и одной центрально расположенной парой. Центральная пара микротрубочек окружена центральной оболочкой, от которой к периферическим дублетам расходятся радиальные спицы. Периферические дублеты связаны друг с другом мостиками нексина, а от микротрубочки А к микротрубочке В соседнего дублета отходят «ручки» из белка динеина, который

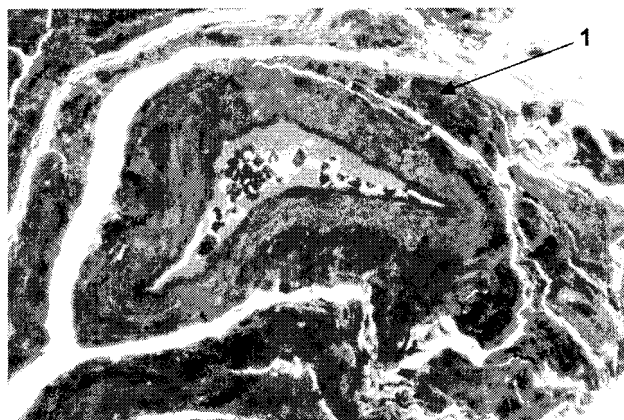


Рис. 4. Гидросальпинкс.

Выраженный склероз крупных и мелких кровеносных сосудов, некоторые облитерированы. Мощные пучки коллагеновых волокон с большим числом фибробластов окружают их (1). Микрофотография полутонких эпиксидных срезов. Окраска: метиленовая синь, основной фуксин, увеличение $\times 125$

обладает активностью АТФазы. Снаружи каждая ресничка покрыта плазмолеммой, которая в норме имеет ровную поверхность (рис. 6, 7).

У всех больных с гидросальпинксами при детальном исследовании ресничек трубного

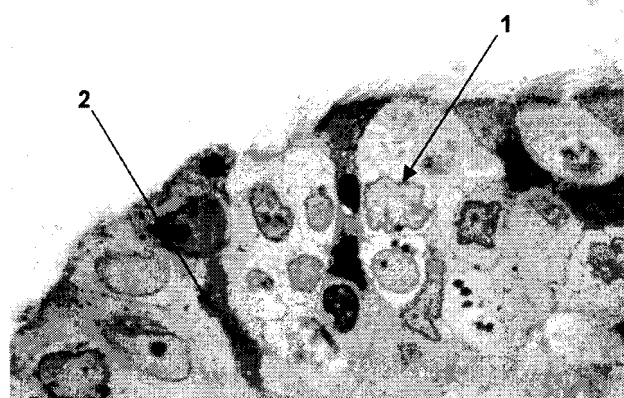


Рис. 5. Гидросальпинкс.

Эпителий эндосальпинкса высотой 16 μm , цилиарный индекс 44%, ядра эпителиальных клеток неправильной формы с глубокими инвагинациями (1), в цитоплазме липидные гранулы, среди клеток эпителия гистиоциты (2), маркеры воспалительной реакции. Микрофотография полутонких эпиксидных срезов, окраска по Питманн и Хэмфри, увеличение $\times 400$

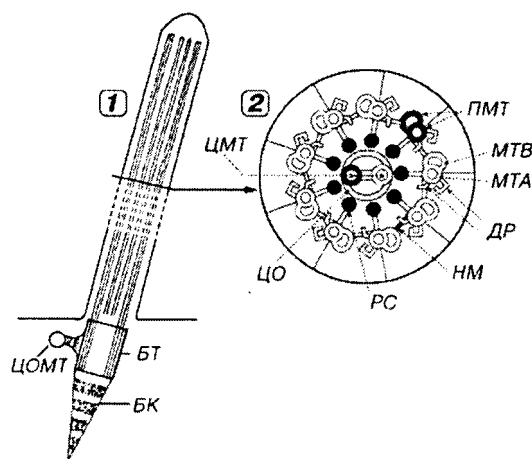


Рис. 6. Ресничка (схема):

1 — продольный разрез, 2 — поперечный разрез, БТ — базальное тельце (образовано триадами микротрубочек), ЦОМТ — центр организации микротрубочек, БК — базальный корешок, ПЛ — плазмолемма, МТА — микротрубочка А, МТВ — микротрубочка В, ПМТ — периферические микротрубочки, ЦМТ — центральные микротрубочки, ЦО — центральная оболочка, ДР — динеиновые ручки, РС — радиальные спицы, НМ — нексинные мостики (В.Л. Быков, 2002)

эпителия при снижении общего их количества были выявлены также и аномалии строения. Так у 24 (92,3%) пациенток этой группы плазмолемма ресничек имела неравномерный характер, что, по-видимому, являлось причиной



Рис. 7. Продольный и поперечный срез ресничек эндосальпинкса.

На поперечных срезах ресничек видна типичная организация микротрубочек $(9+2)+2$. Реснички интактны, плазмолемма ресничек не повреждена. Электроннограмма, увеличение $\times 15000$

их слипания и слияния в большие конгломераты (рис. 9). Во всех препаратах исследуемой группы встречались реснички с нарушенной архитектурой аксономы. В некоторых ресничках дублеты были представлены только одной микротрубочкой, а в некоторых — отсутствовали динеиновые «ручки». Во многих ресничках была выявлена дезорганизация нексинальных мостиков и радиальных спиц, что

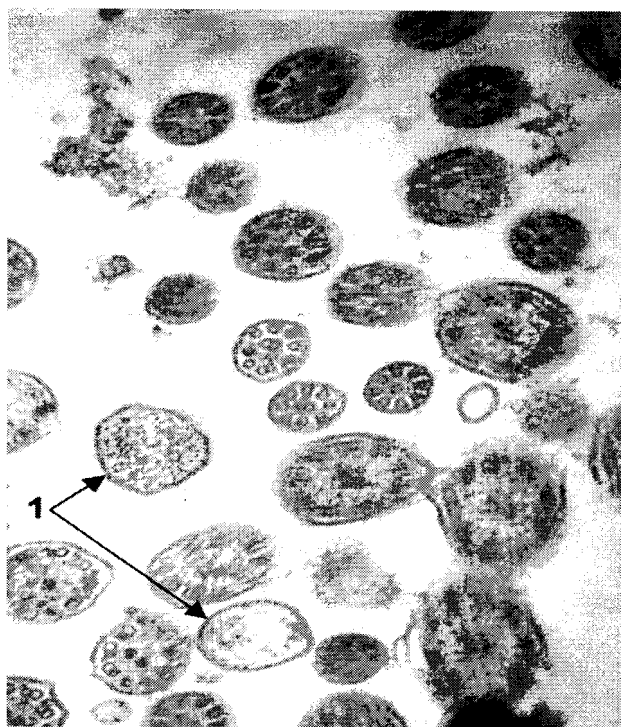


Рис. 8. Гидросальпинкс.

На поперечных срезах ресничек обнаруживается нетипичная организация микротрубочек (1): отсутствие одной пары периферических микротрубочек, дезорганизация микротрубочек в виде «разбегания» в цитоплазме реснички, что косвенно свидетельствует о нарушении белков, организующих их, — динеиновых ручек, нексинальных мостиков и радиальных спиц. Электронограмма, увеличение $\times 50\,000$

несомненно снижает двигательный потенциал киноцилии (рис. 8; табл. 2).

Обнаруженные изменения в строении киноцилий носят, по нашему мнению, вторичный характер и являются следствием длительно текущего хронического воспалительного процесса в эндосальпинксе, в результате которого развивается фиброз подслизистого слоя и стенок находящихся в нем сосудов, что в свою очередь неминуемо приводит к дистрофии эпителиальных клеток и нарушению процессов цилиогенеза.

После реконструктивно-пластических операций на маточных трубах среди пациенток с

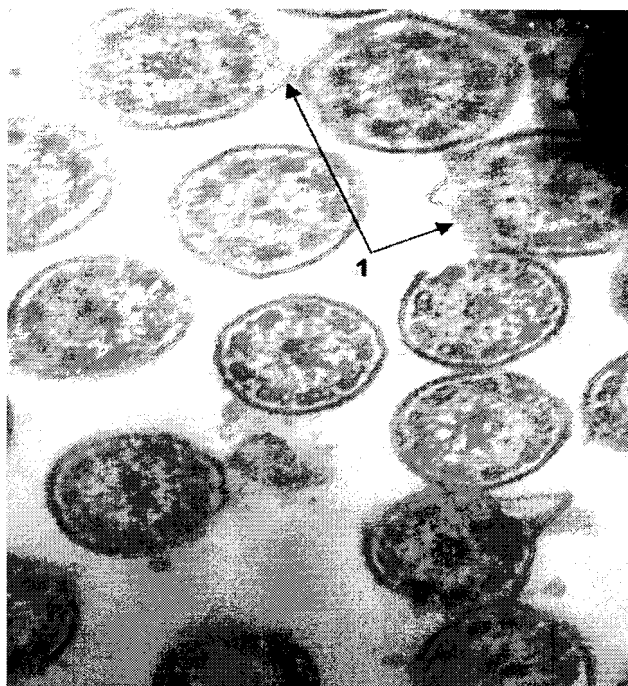


Рис. 9. Гидросальпинкс.

Поперечные срезы ресничек, многие из которых имеют повреждение окружающей их плазмолеммы (1), приводящее к адгезии ресничек между собой. Электронограмма, увеличение $\times 70\,000$

Таблица 2

Ультраструктура ресничек эпителия МТ в сравниваемых группах (по результатам трансмиссионной электронной микроскопии)

Признаки, характеризующие состояние ресничек	Исследуемая группа (n=26)	Контрольная группа (n=15)
Степень адгезии ресничек между собой	Реснички слипаются, образуя конгломераты	Адгезия ресничек отсутствует
Состояние плазмолеммы	Поверхность неравномерная	Поверхность ровная
Состояние аксономы	Дезорганизация аксономы: во многих ресничках отсутствуют нексинальные мостики и радиальные спицы, в некоторых дублетах нет второй микротрубочки и динеиновых «ручек»	9 пар периферических микротрубочек и одна центрально расположенная пара, связанные между собой нексинальными мостиками, динеиновыми «ручками» и радиальными спицами (9+2)+2

бесплодием наступило 2 беременности (7,7%). Обе беременности были внематочными и локализовались в прооперированных маточных трубах, в связи с чем потребовалось выполнение трубэктомии. При контрольной гистеросальпингографии через 1 год среди пациенток 1-й группы частота реокклюзии маточных труб составила 75% (18 из 24).

Заключение

Научно-практические работы, посвященные хирургическим методам лечения трубно-перитонеального бесплодия, главным образом сводятся к различным методологическим подходам восстановления проходимости маточных труб. При этом в меньшей степени уделяется внимание значимости морфологических изменений при патологии фаллопиевых труб и их функциональной реабилитации в послеоперационном периоде. В то же время в зависимости от микрохирургической техники или применения разных вариантов лапароскопии эффективность лечения (наступление беременности) варьируется в широких пределах — от 10 до 80%, тогда как восстановить проходимость маточных труб при дистальной окклюзии удается в 70–95% случаев.

В нашем исследовании такой невысокий результат (7,7%) возникновения беременности и в обоих случаях — внематочной, — не вызывает энтузиазма. С одной стороны, непродолжительность наблюдения — чуть больше года (зачатия можно ожидать и в последующее время), а также незначительная выборка для анализа (всего 26 наблюдений) безусловно не могут претендовать на бесспорную достоверность. Однако такой высокий процент неудач вполне объясним из полученных материалов, что в свою очередь свидетельствует о том, что задача исследования выполнена.

Анализируя полученные результаты, можно сделать вывод о том, что образование гидросальпинксов сопровождается развитием выраженных необратимых изменений эпителия маточной трубы и субэпителиальной пластинки, которые носят дистрофический характер.

Выявленные изменения эпителия маточных труб у пациенток данной категории заключаются в достоверном снижении высоты эпителиальных клеток, снижении цилиарного индекса, в активизации процессов десквамации эпителия, а также адгезивных процессов, в результате которых происходит слипание складок эпителиального покрова, что несомненно ведет к сужению функционального пространства внутри ампулярного отдела маточной трубы. В результате изучения ультраструктуры киноцилий при данной патологии

обнаружены изменения, связанные с нарушением архитектоники аксономы, которые характеризуются дезорганизацией микротрубочек и связующих их белков, что несомненно ведет к снижению их двигательной активности, а также плазмолеммы, в результате нарушения поверхностного рельефа которой происходит адгезия ресничек между собой и сливание их в большие конгломераты.

При исследовании подслизистого слоя отмечалась чрезмерно развитая сеть коллагеновых волокон и большое количество фибробластов, что свидетельствовало о фиброзе подслизистого слоя, признаки которого присутствовали и в стенках сосудов, питающих его. Клеточные маркеры хронической воспалительной реакции (тканевые макрофаги и гистиоциты), обнаруженные среди коллагеновых волокон и клеток стромы, подтверждают воспалительную этиологию выявленных изменений.

Подводя итог данному исследованию, следует подчеркнуть, что обнаруженные ультраструктурные и микроскопические изменения эндосальпинкса у больных с гидросальпинксами подтверждают функциональную неполноценность маточных труб, обусловленную выраженными необратимыми изменениями дистрофического характера. Нарушение сложной архитектоники слизистой ампулярного и фимбриального сегментов маточной трубы вследствие хронического воспалительного процесса, эндометриоза, а также при травмах во время операций, являются, по нашему мнению, причиной низкой эффективности реконструктивно-пластических операций на дистальном отделе маточных труб.

Таким образом, чисто механическое восстановление проходимости маточных труб без попытки восстановления функции становится малоперспективным. Следовательно, наличие у больных с трубно-перитонеальным бесплодием длительно существующих и рецидивирующих гидросальпинксов больших размеров является показанием для выполнения трубэктомии в целях подготовки к ЭКО.

Литература

1. Быков В.Л. Цитология и общая гистология. — СПб., 2002. — 520 с.
2. Глуховец Б.И., Лебедев С.С., Ухов Ю.И. Особенности микрососудистого русла маточных труб у женщин // Арх. анат., гистология и эмбриология. — 1982. — Т. 82, № 5. — С.51–55.
3. Bonilla-Musoles F., Ferrer-Barriendes J., Pellicer A. Makroskopische, microscopische und ultramicroscopische Anatomie und Nukleinsäure-Synthese der Tuba Fallopii // In: Inthraphavasak J., Pellicer A., Bonilla-Musoles F. Mikrochirurgie des Eileiters. Physiologie, Pathologie und Operationstechnik. Schattauer, Stuttgart. — 1990. — P. 9–56.

4. *Brokelmann J.* Funktionelle Morphologie des Eileiters // Arch. Gynecol. Obstet.— 1989.— Vol. 245.— P. 391–395.
5. *Brosens I.A., Vasques G.* Fimbrial microbiopsy // Journal of reproductive medicine.— 1976.— Vol. 16.— P. 171–178.
6. *Denschlag D., Keck C.* IVF versus Tubenchirurgie // Reproduktionsmedizin.— 2002.— N 2.— P. 66–72.
7. *Forman A., Anderson K.-E., Maigaad S.* Concentration and contractile effects of substance P in the human ampullare-isthmic junction // Acta Physiologica Scandinavica.— 1985.— Vol. 124.— P. 17–23.
8. *Frederichs C.M.* Morphological and functional aspects of the oviductal epithelium // In: Siegler A.M. The fallopian: basic studies and clinical contributions.— Futura, New York.— P. 67–80.
9. *Gauwerky J.F.H.* Rekonstruktive Tubenchirurgie.— 1999.
10. *Halbert S.A., Szal S.E., Broderson S.H.* Anatomical basis of a passive mechanism for ovum retention at the ampul-loisthmic junction // Anat. Rec.— 1988.— Vol. 221.— P. 841–845.
11. *Vasques G., Boeckx W., Brosens I.* Prospective study of tubal mucosal lesions and fertility in hydrosalpinges // Human Reproduction.— 1995.— Vol. 10.— P. 1075–1078.

DISTURBTION OF THE ENDOSALPINGEAL ULTRA-STRUC- TURE AS A STERILITY CAUSE UNDER DISTAL UTERINE TUBE OCCLUSION

Lyatoshinskaia P.V., Kira E.F., Bezhenar V.F., Novozhylova A.P.

■ **The summary:** We analyzed the ultra-structure of endosalpingian microbiopsies in 26 infertile patients with hydrosalpingites. We calculated the percentage of ciliated cells and estimated different parameters including the height of the epithelium, the presence of adhesions, epithelial desquamation, inflammatory cells and fibrosis in the wall. The microbiopsies were also investigated for their fine structure by transmission microscopy. Abnormalities of the kinocilia were detected. It was found that the formation of the hydrosalpingites is followed by the development of the deep dystrophic changes in endosalpinx. The latter can be the reason for the functional tubal disability in infertile patients.

■ **Key words:** hydrosalpingitis, endosalpinx ultra-structure, tube sterility, ciliary index