

ТИХАЕВА
Ксения Юрьевна

**РОЛЬ ЖЕЛАТИНАЗЫ В И МАГНИЙ-КАЛЬЦИЕВОГО БАЛАНСА
В ПАТОГЕНЕЗЕ ХРОНИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ ЭНДОМЕТРИЯ
(КЛИНИКО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

14.03.03 – патологическая физиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Краснодар – 2017

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования "Волгоградский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор
Рогова Людмила Николаевна;

Научный консультант: доктор медицинских наук, профессор
Ткаченко Людмила Владимировна

Официальные оппоненты:

Кубышкин Анатолий Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского", Медицинская академия им. С.И. Георгиевского, кафедра общей и клинической патофизиологии, заведующий кафедрой;

Кожин Александр Алексеевич, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ведущий научный сотрудник.

Ведущая организация:

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Ставропольский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится 10 октября 2017 года в 10.00 часов на заседании диссертационного совета Д 208.038.02 на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Кубанский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России) по адресу: 350063, г. Краснодар, ул. Седина, 4, тел. (861) 262-73-75.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на официальном сайте ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России <http://www.ksma.ru>

Автореферат разослан "___" _____ 201_ г.

Учёный секретарь

диссертационного совета Д 208.038.02

доктор медицинских наук,

доцент



Лапина Наталья Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Хронический эндометрит (ХЭ) – клинко-морфологический синдром, отличающийся высокой распространенностью в женской популяции и сопровождающийся различными симптомами нарушения репродуктивной функции (Шурашалина А.В., 2011; Плясунова М.П., 2013; Kitaya R., Yasuo T, 2015). Среди пациенток с ХЭ 97,6% составляют женщины репродуктивного возраста, что подчеркивает особую социальную значимость данной нозологии. ХЭ встречается до 70% случаев в группе женщин с бесплодием, привычным невынашиванием беременности и повторяющимися неудачами имплантации при лечении бесплодия методами вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) (Илизарова Н.А., 2009, Краснопольский В.И., 2007, Михнина Е.А., 2009, Петров Ю.А., 2012, Fatemi H.M.et all 2009).

ХЭ отличается вариабельной клинической симптоматикой, от почти бессимптомного течения до ярко выраженной картины, с такими проявлениями как: гнойные выделения из половых путей, боли, дисменорея, бесплодие, привычное невынашивание беременности (Мальцева Л. И., 2012; Цаллагова Л.В., 2014; Шурашалина А.В., 2011; Akopians, A, 2013).

Клиническая картина зависит от особенностей этиологического фактора и защитно-приспособительной реакции на первичный контакт с ним, что, вероятно, предопределяет дальнейшее течение заболевания. По современным данным, роль инфекционного фактора, как ведущего звена этиопатогенеза хронического эндометрита значительно переоценена. У большинства пациентов с ХЭ бактериологическое исследование материала, полученного из заднего свода влагалища, цервикального канала и полости матки не дает роста патогенной микрофлоры. В ряде случаев, определяется рост условно-патогенных микроорганизмов, в некоторых случаях посевы стерильны (Петров Ю. А., 2012; Сковородникова Н.Г. 2011; Cicinelli E.I. et al, 2009). Возможно, это является одним из объяснений низкой эффективности стандартной этиотропной терапии ХЭ (Данусевич И.Н., 2013; Колесникова Л. И 2013; Лебедев В.А др, 2012; Хашукоева А.З. и др., 2012).

Таким образом, с одной стороны, очевидна роль инфекционного агента, как иницирующего фактора ХЭ, с другой стороны, не вызывает сомнений значимость индивидуальных защитно-приспособительных реакций в патогенезе данной нозологии.

Согласно современным представлениям, межклеточный матрикс рассматривается не только как элемент опоры и взаимодействия клеток, но и как непосредственный участник и регулятор многих физиологических и патологических процессов, сопровождающихся ремоделированием ткани (Рогова Л.Н. и др., 2011, Тепляков А.Т. и др., 2014). Были открыты и изучены биологические функции матриксных металлопротеиназ (ММП), которые обеспечивают обмен белков межклеточного матрикса, а, следовательно, являются основным "орудием" ремоделирования ткани (Рогова Л. Н. и др., 2011; Тепляков А.Т. и др., 2014). Так, желатиназа В непосредственно принимает участие в процессах воспаления, ремоделирования ткани, репарации, мобилизации матрикс-связанных факторов роста и процессинге цитокинов.

Патология матрикса и изменения активности ММП являются важным звеном патогенеза множества заболеваний, в том числе, сепсиса, плацентарной недостаточности, ишемической болезни сердца, инфаркта миокарда, диффузных заболеваниях соединительной ткани, синдрома поликистозных яичников, преждевременных родов, эндо-

метриоза, привычного невынашивания беременности (Соловьева Н.И. 1998; Woessner F.J., 2001; Рогова Л. Н. и др., 2011; Тепляков А.Т. и др., 2014).

ММП отличаются разнонаправленностью действия, сложностью механизмов регуляции их активности (Плеханова О.С., 2006). Одним из таких механизмов регуляции, очевидно, является магний-кальциевый баланс. Кроме того, общеизвестна ведущая роль магния в биосинтезе белка, клеточной пролиферации, регуляции процессов энергообразования и энергопотребления (Есенова В.И., 2011; Zhang Z. et al., 2014). Известна роль кальция, как активатора, матриксных металлопротеиназ.

Степень разработанности темы. Роль внеклеточного матрикса и матриксных металлопротеиназ при хроническом эндометрите изучалась в работах Sukhikh, G. et al., (2007), Yoshii N., et al (2013), Кузнецова А.В., (2004). В этих исследованиях показаны противоречивые данные об изменении количественных показателей различных ММП в плазме крови и ткани эндометрия у пациентов с ХЭ. Помимо этого, в работе Sukhikh, G. et al., (2007) была предпринята попытка восстановить сниженное количество желатиназы В при помощи магнитотерапии. В работе Yoshii N., et al (2013), напротив, показано увеличение частоты имплантации при снижении содержания ММП в плазме крови пациенток с ХЭ после терапии глюкокортикоидами. В целом, можно отметить достаточно малое количество работ, в которых предметом исследования являлось изменение матрикса, активности ММП и особенности их регуляции на фоне ХЭ.

Одновременно с этим, нарушение магний-кальциевого баланса и эффективность патогенетической терапии препаратами магния доказаны при предменструальном синдроме, преждевременных родах, эклампсии, нарушениях стрессоустойчивости, эндометриозе, хроническом сальпингоофорите, ишемической болезни сердца и при патологии почек (Блинов Д.В., 2011; Громова О.А., 2013; Трисветова Е. Л., 2013). При этом, определенную роль в патогенезе каждой из перечисленных нозологий играют изменения матрикса и его компонентов. В частности, в работе Шестерниной Н.В., (2013), показано влияние внутриклеточного магния на показатели активности желатиназы В при экспериментальной язве желудка.

Однако, до сих пор остается не до конца изученной роль желатиназы В и магний-кальциевого баланса в патогенезе хронического эндометрита, а также, возможность применения препаратов магния при данной нозологии с позиции регуляции активности этого матриксина.

Цель исследования: установить роль желатиназы В и магний-кальциевого баланса в патогенезе хронического воспаления эндометрия, механизмы её активации в тканях эндометрия, в стадии хронизации экспериментального воспаления эндометрия и разработать способ коррекции развившихся изменений.

Задачи исследования:

1. Охарактеризовать морфологические показатели и оценить удельное число и интенсивность экспрессии желатиназа В позитивных клеток в тканях эндометрия на фоне хронического воспаления эндометрия в эксперименте и в образцах эндометрия, полученных у женщин с хроническим эндометритом и повторяющимися неудачами имплантации при лечении бесплодия методами вспомогательных репродуктивных технологий.

2. Оценить показатели магний-кальциевого баланса, уровень диеновых конъюгатов, малонового диальдегида и активность каталазы в крови из нижней полой и подклю-

ческой вен и их корреляцию с показателями активности желатиназы В в тканях эндометрия у крыс, на фоне экспериментального хронического воспаления эндометрия.

3. Оценить показатели магний-кальциевого баланса, уровень диеновых конъюгатов и малонового диальдегида, активность каталазы в крови из разных регионов, морфологические показатели, число и интенсивность экспрессии желатиназа-В позитивных клеток в тканях эндометрия, на фоне применения магнийсодержащей композиции, у крыс с экспериментальным хроническим воспалением эндометрия.

4. Сравнить показатели удельного числа, интенсивности экспрессии желатиназа-В позитивных клеток и морфологические показатели воспаления в образцах эндометрия у женщин с хроническим эндометритом и повторяющимися неудачами имплантации при стандартной терапии хронического эндометрита и терапии, в которую помимо стандартных назначений, включен электрофорез с 10% сульфатом магния.

Научная новизна:

1) Впервые выявлена роль желатиназы В в хронизации экспериментального воспаления эндометрия. Установлено, что на фоне морфологических признаков хронического воспаления эндометрия у крыс, удельное число и интенсивность экспрессии желатиназа-В позитивных клеток уменьшалось в клеточном компоненте стромы.

2) Выявлено, что у крыс, с экспериментальным хроническим воспалением эндометрия, на 51 сутки с момента моделирования, происходила интенсификация перекисного окисления липидов в крови из нижней полой вены, проявляющаяся увеличением содержания диеновых конъюгатов и малонового диальдегида, при неизменной активности каталазы.

3) Увеличение содержания малонового диальдегида находилось в умеренной отрицательной корреляционной связи с удельным числом желатиназа В- позитивных клеток в строме эндометрия у крыс.

4) Выявлено оптимизирующее влияние магниевого баланса, на число и интенсивность экспрессии желатиназа-В позитивных клеток в тканях эндометрия, а так же, выявлена положительная зависимость показателей активности желатиназы В от уровня магния в эритроцитарной массе крови из нижней полой вены.

5) Под влиянием магнийсодержащей композиции восстанавливалось до исходных показателей содержание магния внутри эритроцитов в крови из изучаемых регионов, сопровождавшееся восстановлением удельного числа, интенсивности экспрессии желатиназа В позитивных клеток, увеличением количества макрофагов, лимфоцитов, уменьшением числа плазмочитов и эозинофилов в ткани эндометрия у крыс с экспериментальным хроническим воспалением эндометрия, что очевидно, отражает оптимизацию условий для завершения механизмов воспаления и активации пролиферации. Применение магнийсодержащей композиции приводило к снижению содержания диеновых конъюгатов и малонового диальдегида, на фоне увеличения активности каталазы, что создает предпосылки для уменьшения деструкции и, также, усиления пролиферации.

6) Установлено, что в образцах эндометрия полученных у женщин с хроническим эндометритом и повторяющимися неудачами имплантации, отмечалось снижение удельного числа и интенсивности экспрессии желатиназа В позитивных клеток, а в образцах, полученных у женщин после применения электрофореза с 10% сульфатом магния, отмечалось увеличение удельного числа и интенсивности экспрессии желатиназа В позитивных клеток, количества макрофагов, а так же уменьшение показателей плазмочитарно-лимфоцитарной инфильтрации.

Теоретическая значимость работы. Получены новые данные о механизмах хронизации воспаления эндометрия, выявлена значимая роль в поддержании воспаления неадекватного ремоделирования ткани. Установлена роль магния, как фактора, регулирующего активность желатиназы В в тканях эндометрия на фоне экспериментального хронического воспаления эндометрия у крыс. В условиях экспериментального хронического воспаления эндометрия, на фоне применения магнийсодержащей композиции, уменьшились показатели, отражающие интенсивность деструкции тканей: уровень первичных и вторичных продуктов пероксидации, морфофункциональные критерии воспаления в тканях эндометрия, при этом, увеличивался уровень магния в эритроцитарной массе крови из нижней полой и подвздошной вен, в плазме крови из подвздошной вены, а так же удельное число и интенсивность экспрессии желатиназа В позитивных клеток в строме эндометрия, создающие условия для усиления пролиферации. Полученные на лабораторных животных данные подтверждены в клиническом исследовании, при изучении образцов эндометрия, полученных у женщин с хроническим эндометритом и повторяющимися неудачами имплантации при лечении бесплодия методами ВРТ.

Практическая значимость работы. Полученные данные дополняют представления о роли матрикса и матриксных металлопротеиназ в патологии репродуктивной системы, показывают роль магния, как фактора, стимулирующего активность желатиназы В в тканях эндометрия, доказывают вовлеченность в патогенез хронического воспаления матки магния, особенно его внутриклеточное содержание. Материалы исследования выявляют тесную взаимосвязь морфологических признаков хронического воспаления с интенсивностью пероксидации, а также, уровнями системной и региональной гипомagneмистии. Значимость магния в патогенезе хронического воспаления эндометрия подтверждена как в эксперименте, так и в клиническом исследовании. У животных на фоне экспериментального хронического воспаления эндометрия, введение ректально магнийсодержащих композиции (МСК), а у женщин с хроническим эндометритом применение наряду со стандартной терапией электрофореза 10% сульфата магния, приводит к нормализации уровня магния и формирует условия для увеличения активности желатиназы В, что дает основания рекомендовать включение магнийсодержащих препаратов в комплексную терапию хронического эндометрита.

Методология и методы исследования. Данное исследование носит клинко-экспериментальный характер. В работе использовались методы экспериментального моделирования, морфологические методы (гистологическое исследование биоптатов эндометрия, полуколичественная оценка воспалительного инфильтрата эндометрия), иммуногистохимические методы (изучение показателей активности желатиназы В в тканях эндометрия), биохимические методы (изучение магний-кальциевого баланса в крови из разных регионов, показателей интенсивности пероксидации и антиоксидантной защиты в крови из НПВ), статистические методы. Объект исследования – патогенетические механизмы нарушения баланса между повреждением ткани и ее репарацией у крыс на фоне экспериментального хронического воспаления эндометрия и в образцах эндометрия женщин с хроническим эндометритом и повторяющимися неудачами имплантации. Предмет исследования – биохимические, морфологические и иммуногистохимические параметры у животных в эксперименте, а также, морфологические и иммуногистохимические параметры образцов эндометрия женщин с бесплодием, ХЭ и повторяющимися неудачами имплантации при лечении бесплодия методами ВРТ.

Положения, выносимые на защиту:

1) В тканях эндометрия, у женщин с хроническим эндометритом и повторяющимися неудачами имплантации, и у подопытных животных на этапе хронизации экспериментального воспаления эндометрия, на фоне морфологических признаков хронического воспаления, проявляющихся дистрофическими явлениями в строме, эпителиоцитах и glanduloцитах желез, полиморфно-клеточной воспалительной инфильтрацией, с преобладанием лимфо-плазмоцитарных инфильтратов, с незначительным увеличением макрофагальной инфильтрации, фиброзом, выявлялось снижение удельного числа желатиназа-В позитивных клеток и интенсивности их экспрессии в стромально-клеточном компоненте, при практически неизменном уровне указанных параметров в железистом эпителии.

2) При экспериментальном хроническом воспалении эндометрия в эритроцитарной массе крови из нижней полой и подключичной вен, в плазме крови из подключичной вены отмечалось снижение уровня магния, а также усиление перекисного окисления липидов, проявлявшееся увеличением содержания диеновых конъюгатов и малонового диальдегида, при неизменном уровне активности каталазы в крови из нижней полой вены.

3) Под влиянием магнийсодержащей композиции у крыс, на фоне экспериментального хронического воспаления эндометрия, восстанавливалось до исходных показателей удельное число, интенсивность экспрессии желатиназа В позитивных клеток, концентрация магния в эритроцитарной массе крови из разных регионов, снижалось содержание диеновых конъюгатов и малонового диальдегида в крови из нижней полой вены, при тенденции к увеличению активности каталазы, сопровождавшееся увеличением количества макрофагов и лимфоцитов и уменьшением числа плазмочитов.

4) В образцах эндометрия, полученных у женщин с хроническим эндометритом и повторяющимися неудачами имплантации, при проведении в комплексной терапии электрофореза с 10% сульфатом магния, отмечалась тенденция к восстановлению показателей активности желатиназы В с одновременным увеличением числа макрофагов, эозинофилов и уменьшением плазмочитарно-лимфоцитарной инфильтрации.

Степень достоверности и апробация работы. О достоверности полученных результатов и обоснованности выводов свидетельствуют личное участие соискателя в получении и анализе экспериментальных данных, корректная постановка опытов с использованием необходимых контрольных групп, достаточное количество наблюдений, применение современных методов исследования и адекватных методов статистической оценки полученных результатов.

Основные положения работы представлялись и обсуждались на конференциях: 73-й открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов ВолгГМУ с международным участием "Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины", 2015 г; 74-й открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов ВолгГМУ с международным участием "Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины", 2016 г; XXVI международной конференция РАРЧ "Репродуктивные технологии сегодня и завтра", 2016 г; XIII съезде молодежных научных обществ медицинских и фармацевтических ВУЗОВ России и стран СНГ, 2016 г.

Внедрение результатов в практику. Результаты диссертации внедрены на кафедрах патофизиологии и клинической патофизиологии ФУВ ФГБОУ ВО ВолгГМУ

Минздрава России, на кафедре акушерства и гинекологии ФУВ ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России.

Публикации результатов исследования. По теме диссертации опубликовано 11 печатных работ, из них 4 – в изданиях, 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 получен патент.

Личный вклад автора в исследование. Анализ литературных данных, эксперименты на животных, забор материала, патоморфологическое, биохимические исследования, статистический анализ полученных данных проведен самостоятельно автором, что позволило выполнить поставленные задачи, обосновать выводы и практические рекомендации. Соискателем самостоятельно проведен аналитический обзор отечественной и зарубежной литературы по изучаемой проблеме (100%). Автор непосредственно участвовал в проведении экспериментальных и клинических исследований (86%). Соискателем лично выполнены статистическая обработка и обобщение результатов исследований (90%), написан текст диссертации (90%). Личный вклад автора составляет 90% при получении результатов и 90% при оформлении публикаций по теме диссертации.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 132 страницах машинописного текста. Состоит из введения, обзора литературы, главы материалы и методы исследования, главы собственных результатов, а также обсуждения и выводов. Работа иллюстрирована 13 таблицами и 19 рисунками. Список литературы содержит 217 источников, из них 109 отечественных и 108.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Исследование включает две части: клиническую и экспериментальную. Клиническая часть представляет собой ретроспективное исследование, в которое включено 45 образцов эндометрия разделенные на четыре группы. В первую группу включены образцы эндометрия, полученные у женщин с бесплодием, без гистологических признаков ХЭ, во второй группе исследовались образцы тканей эндометрия с гистологическими признаками ХЭ, полученные у женщин с повторяющимися неудачами имплантации при лечении бесплодия методами ВРТ без предшествующей терапии ХЭ, в третью группу были включены образцы эндометрия, полученные у женщин с повторяющимися неудачами имплантации и хроническим эндометритом после ранее проведенной стандартной терапии, в четвертой группе определяли изучаемые показатели в образцах эндометрия, полученных у женщин с ХЭ и повторяющимися неудачами имплантации, которым помимо стандартной терапии был проведен электрофорез с 10% сульфатом магния (таблица 1).

В экспериментальную часть включено 60 крыс линии Вистар массой $198 \pm 3,8$ г. Животные случайным образом были разделены на 4 экспериментальные группы. В первой группе определяли изучаемые показатели в исходном состоянии. Во второй группе изучали контрольные показатели. В третьей группе, моделировали экспериментальное хроническое воспаление эндометрия (эХВЭ) и определяли величины изу-

чаемых показателей, в четвертую группу вошли животные с экспериментальным хроническим воспалением эндометрия после терапии МСК (таблица 2).

Таблица 1 – Клинический этап исследования

Клиническая часть	Группа 1 Образцы эндометрия без ХЭ, полученные у женщин с бесплодием (n=10)
	Группа 2 Образцы эндометрия с ХЭ, полученные у женщин с бесплодием и повторяющимися неудачами имплантации, при лечении бесплодия методами ВРТ (n=20)
	Группа 3 Образцы эндометрия с ХЭ, полученные у женщин с бесплодием и повторяющимися неудачами имплантации при, лечении бесплодия методами ВРТ после стандартной терапии (n=10)
	Группа 4 Образцы эндометрия с ХЭ, полученные у женщин с бесплодием и повторяющимися неудачами имплантации, при лечении бесплодия методами ВРТ после стандартной терапии + электрофорез с 10% сульфатом магния (n=5)

Для моделирования экспериментального хронического воспаления эндометрия экспериментальным животным проводили лапаротомию и затем в маточный рог вводили 0,1 мл взвеси аутокала (Тихаева К.Ю., 2016). По данным автора на 41 сутки формировалась морфологическая картина хронического эндометрита. С 41 суток в четвертой экспериментальной группе, как показано в таблице 2, проводилась коррекция магнийсодержащим препаратом Бишофит в количестве равном 6,25 мг.

Таблица 2 – Экспериментальный этап исследования

Экспериментальная часть	Группа 1 Исходное состояние (n=10)
	Группа 2 Контрольная группа (n=10)
	Группа 3 эХВЭ (n=20)
	Группа 4 эХВЭ с применением МСК (n=20)

Для оценки морфологической картины ткани эндометрия проводили гистологическое исследование и применяли полуколичественный метод оценки степени выраженности нейтрофильной, макрофагальной, лимфоцитарной, плазмоцитарной инфильтрации стромы эндометрия в биопсийном материале (Алимова О.А. и др., 2011), для чего, при 400-кратном увеличении оценивали удельное число (в %) макрофагов, нейтрофилов, лимфоцитов, плазмоцитов и эозинофилов. Отсутствие клеток в полях зрения оценивалось в 0 баллов, единичные клетки в полях зрения оценивались в 1 балл, рассеянное расположение по 3-4 клетки в полях зрения оценивались в 2 балла, образование скоплений оценивалось в 3 балла.

Исследование экспрессии ММП-9, было проведено иммуногистохимическим методом по стандартной методике с использованием антител фирмы "Новокастра" ММП-9 (NCL-MMP-9, для парафиновых блоков, рабочее разведение 1:40), (Кокосадзе Н.В., Заводиленко К.В., 2006; Мас С.Д. et al., 1993). В препаратах при 400-кратном увеличении оценивали удельное число (в %) положительно окрашенных клеток в 5-ти случайно выбранных полях зрения (≥ 500 клеток). Реакция окрашивания оценивалась как

негативная – 0 баллов, слабая – 1 балл, средняя (умеренная) – 2 балла и выраженная – 3 балла.

Диеновые конъюгаты определяли в сыворотке крови из нижней полой вены (НПВ) спектрофотометрическим методом, малоновый диальдегид в плазме крови из НПВ – по реакции с тиобарбитуровой кислотой, активность каталазы в эритроцитарной массе крови из НПВ (Королук М.А., 1988; Камышников В.С., 2000).

Концентрацию магния в эритроцитах определяли по реакции с титановым жёлтым (Камышников В.С., 2000). Для определения концентрации магния плазмы использовали набор фирмы "Лахема" (Чехия). Для определения концентрации кальция плазмы крови использовали набор фирмы "Ольвекс диагностикум" (Камышников В.С., 2000).

Для коррекции магниевых балансов использовали суппозитории, содержащие природный полиминерал бишофит, суппозитории вводили *per rectum* в течение 10 дней в количестве равном 6,25 мг бишофита (Рогов В.А., 2007).

Для статистической обработки результатов исследования использовали критерий Стьюдента (средние величины выражали как $M \pm m$) и корреляционный анализ Пирсона – при нормальном распределении величин. При распределении, отличном от нормального, использовали критерий Манна-Уитни (средние величины выражали как Me [25 и 75 перцентиль]) и корреляцию по Спирмену. Проверка рядов на нормальность распределения проводилась методами Колмогорова – Смирнова и Шапиро-Уилка. Нулевые гипотезы отвергались при достигнутом уровне значимости $p < 0,05$ и $Q < 0,05$ соответственно (Лапач С.Н., 2002).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как показано на рисунке 1, ведущим фактором бесплодия у женщин, чьи образцы были включены в исследование, являлся трубный фактор- 40% (18 образцов), наружный генитальный эндометриоз являлся причиной бесплодия у 16% женщин (7 образцов), нарушение овуляции - у 16% (7 образцов), необъяснимое бесплодие – у 9% (4 образца), мужской фактор – в 9% случаев (4 образца), бесплодие смешанного генеза - 10% (5 образцов).

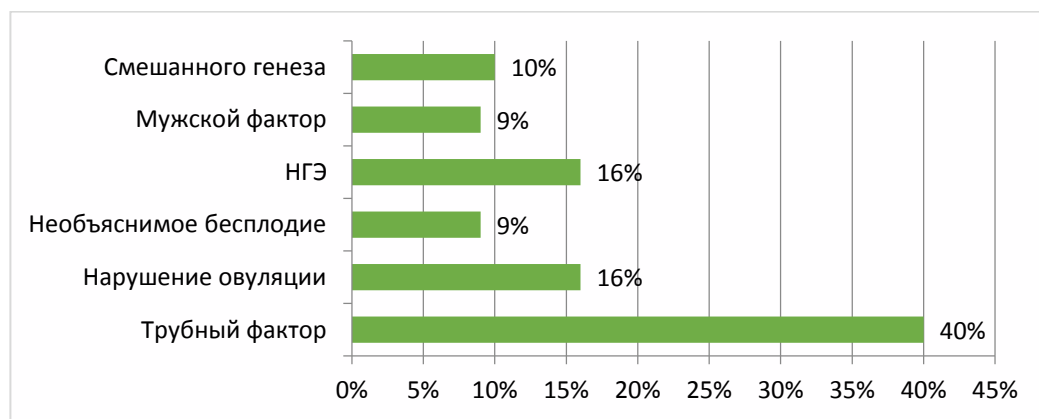


Рисунок 1 – Структура причин бесплодия среди женщин с хроническим эндометритом и повторяющимися неудачами имплантации

При гистологическом исследовании в группе образцов эндометрия без признаков хронического эндометрита были обнаружены железы, имеющие вид прямых или слегка извитых трубочек, на срезе с узким просветом округлой или слегка овальной формы. Железы выстланы многорядным эпителием, с крупными ядрами, в некото-

рых образцах эпителий имеет однорядную структуру. Данная картина наиболее характерна для ранней-средней стадии пролиферации. Клеточный состав в баллах представлен единичными нейтрофилами 1[1;2] баллов, макрофагами 1[1;2] балла, лимфоцитами 1[1;1] балла, плазмócитами 1[0;1]балла и эозинофилами 1[1;2] балла.

При гистологическом исследовании в образцах эндометрия, полученных у женщин с ХЭ без лечения и после стандартной терапии, определялись дистрофические явления разной степени выраженности в строме, эпителиоцитах и glanduloцитах желез. Регистрировалась полиморфно-клеточная воспалительная инфильтрация по интенсивности скорее имеющая характер слабой-умеренной, с преобладанием лимфо-плазмóцитарных инфильтратов. Плазмóциты располагались рассеянно, имелись мелкие очаговые скопления. Помимо лимфоцитарно-плазмóцитарной инфильтрации также определялись единичные нейтрофилы. Эти данные согласуются с данными Кузнецовой А.В. (2000), Шуршалиной А.В. (2009), Алимова О.А.и др. (2011).

Клеточный состав воспалительного инфильтрата во второй группе в баллах составил: нейтрофилы 1[1;2] балла ($Q>0,1$), макрофаги 1[0;1] балла ($Q>0,1$), лимфоциты 3[2;3] балла ($Q<0,001$), плазмóциты 3[2;3] балла ($Q<0,001$) и эозинофилы 1[1;0] балла ($Q>0,1$). В третьей группе клеточный состав представлен (в баллах) нейтрофилами 1[0;1], макрофагами 1 [1;2], лимфоцитами 2,5[2;3], плазмóцитами 2[2;3] и эозинофилами 1 [1;2] баллов. При сопоставлении параметров клеточной инфильтрации группы с ХЭ и группы образцов без ХЭ выявлена достоверная разница в показателях лимфоцитарной и плазмóцитарной инфильтрации. Помимо этого, в клетках стромы эндометрия выявлена фибробластическая трансформация. В большинстве образцов фибробласты формировали крупные поля, расположенные вокруг желез и/или сосудов. Иногда обнаруживались разрозненные фибробласты.

При этом при сопоставлении показателей клеточной воспалительной инфильтрации в группах без лечения хронического эндометрита и после стандартной терапии, не определялось достоверной разницы ($Q>0,1$). В работах Шуршалиной А.В. (2011), Сковородникова Н. Г. (2001), Решетникова Н.С (2010) и в работе Петрова Ю. А. и др., (2011), так же, показана низкая эффективность стандартной "этиотропной" терапии.

Учитывая данные о значимости ремоделирования матрикса и роли матриксных металлопротеиназ в физиологии и патологии репродуктивной системы, нами проведено иммуногистохимическое исследование удельного числа и интенсивности экспрессии желатиназа-В позитивных клеток в образцах эндометрия.

Как показано на рисунке 2, при иммуногистохимическом исследовании образцов эндометрия женщин обнаружено, что показатели удельного числа и интенсивности экспрессии желатиназа-В позитивных клеток, в группе образцов с хроническим эндометритом ниже, по отношению к указанным показателям в группе образцов эндометрия без хронического воспаления. Удельное число желатиназа-В позитивных клеток в группе образцов эндометрия с ХЭ достоверно ниже в сравнении с группой без ХЭ: 10[7;13]% и 28[22,5;43]% соответственно, ($Q<0,01$). Также достоверно отличается интенсивность экспрессии желатиназы В в первой и второй группах 0[0;1] и 2[1;3] баллов соответственно, ($Q<0,05$). Достоверной разницы в указанных показателях активности желатиназы В в железистом эпителии в образцах эндометрия с хроническим эндометритом и без него не обнаружено ($Q>0,1$).

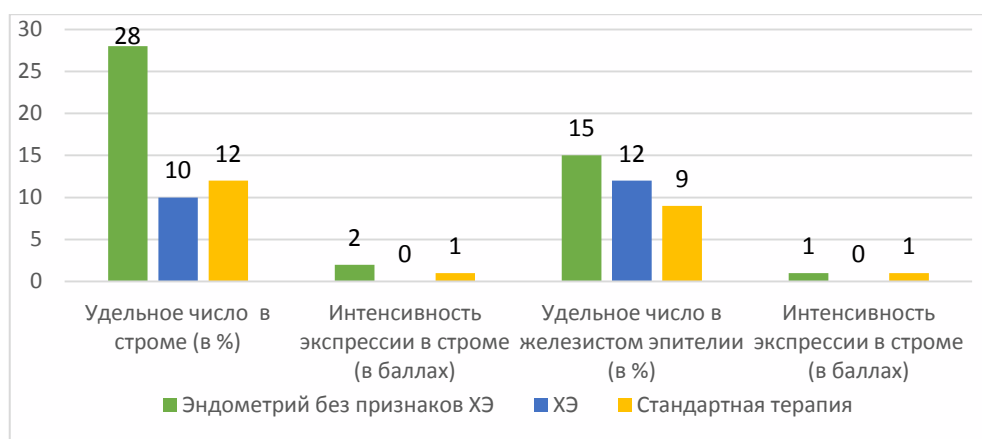


Рисунок 2 – Показатели активности желатиназы В у женщин с хроническим эндометритом и повторяющимися неудачами имплантации

Эти данные согласуются с результатами исследования Sukhikh, G.et al., (2007), в котором получены данные о снижении показателей активности желатиназы В в плазме крови у женщин на фоне хронического эндометрита.

При этом, в группе образцов, полученных у женщин, после проведения стандартной терапии с целью эрадикации "инфекционного агента" не обнаружено статистически достоверной разницы в показателях активности желатиназы В, в сравнении с образцами эндометрия до стандартной терапии В стромальном компоненте удельное число клеток составило 12[10;12,5]%, интенсивность экспрессии 1[0;1] баллов ($Q>0,1$); в железистом эпителии удельное число 9[12;15,5] %, интенсивность экспрессии 1[0;1]баллов, ($Q>0,1$).

Помимо этого, корреляционный анализ показал умеренную отрицательную связь между показателем плазмочитарной инфильтрации и удельным числом желатиназа-В позитивных клеток в стромально-клеточном компоненте тканей эндометрия у женщин ($r= 0,68$).

Взаимосвязь морфологических показателей хронического воспаления эндометрия со снижением удельного числа желатиназы В, адекватная активность которой необходима для ремоделирования тканей, диктует необходимость поиска механизмов регулирования, активации желатиназы В в тканях, для чего проведено экспериментальное исследование.

Для оценки морфологической картины эндометрия при его экспериментальном хроническом воспалении нами проведена полуколичественная оценка клеточного инфильтрата тканей эндометрия. Достоверных различий в показателях клеточной инфильтрации эндометрия между первой и второй группами, не выявлено. Число нейтрофилов, макрофагов, лимфоцитов, плазмочитов и эозинофилов в исходном состоянии в баллах: 1[0;1]; 1[0;1]; 1[1;1]; 1[0;1]; 0[0;1]; 1[1;2] баллов, в контроле: 1 [1;2], ($Q>0,1$); 1[0;1], ($Q>0,1$); 1[0,25;1], ($Q>0,1$); 0[0;1], ($Q>0,1$); 1[1;0], ($Q>0,1$) соответственно.

На фоне ЭХВЭ у крыс, как и в образцах эндометрия у женщин с хроническим эндометритом наблюдается нарушение морфологической картины тканей, которое проявлялось дистрофическими явлениями в строме, эпителиоцитах и glanduloцитах желез, полиморфно-клеточной воспалительной инфильтрацией, с преобладанием лимфо-плазмочитарных инфильтратов, с незначительной тенденцией к макрофагально-эозинофильной инфильтрации, а так же фиброз, представляющий собой избыточную продукцию и накопление белковых компонентов внеклеточного матрикса. Показатели

затели клеточной инфильтрации в баллах в третьей группе составили: нейтрофилов 1 [0;1] баллов, ($Q>0,1$), макрофагов 1,5[1,5;2] баллов, ($Q<0,05$), лимфоцитов 2,5[1,5;3] баллов, ($Q<0,01$), плазмоцитов 2[1;3] баллов, ($Q<0,001$), эозинофилов 1,5[1,5;2] баллов, ($Q<0,01$). Обращает на себя внимание, что величина названных показателей воспалительного инфильтрата, достоверно отличается от таковых в контроле.

Умеренный характер клеточной инфильтрации, видимо, отражает "слабость" ответа иммунной системы на воздействие флогогена, поскольку, в норме результатом миграции клеточных элементов является их участие в воспалении как киллеров, антигенпрезентирующих клеток, макрофагов, продуцирующих хемоаттрактанты и цитокины, регулирующие согласованность и достаточность воспаления и активизирующих ремоделирование и пролиферацию в зоне воспаления. При этом фаза экссудации на фоне хронического воспаления, значительна по своей продолжительности и приводит к хронической активации провоспалительных реакций, что сопровождается длительной выработкой цитокинов и биологически активных веществ, обуславливающих нарушения микроциркуляции и поддержание воспаления (Висмонт Ф.И., 2006).

Учитывая результаты клинического этапа исследования, в котором были получены данные, указывающие на участие желатиназы В в хронизации воспаления эндометрия, были определены показатели активности желатиназы В в тканях эндометрия у крыс в эксперименте.

В группе животных, после моделирования воспаления эндометрия, в клеточном компоненте стромы число клеток положительно реагирующих на антитела уменьшилось с 28[26;30] % до 18[17;20]%, в сравнении с группой контроля, ($Q<0,05$). Интенсивность экспрессии снизилась с 2[0;2] до 0[1;2] баллов, ($Q<0,05$). В эпителии желез удельное число желатиназа В положительных клеток значимо не изменилось: 29 [28;30]% в исходном состоянии и 27[23,5;29]% в группе с эХВЭ, ($Q>0,1$), но отмечалось некоторое уменьшение интенсивности экспрессии желатиназы В с 2[0;1] баллов в контрольной группе до 1[1;2] балла в группе с экспериментальным хроническим воспалением эндометрия, ($Q<0,05$) (рисунок 3).

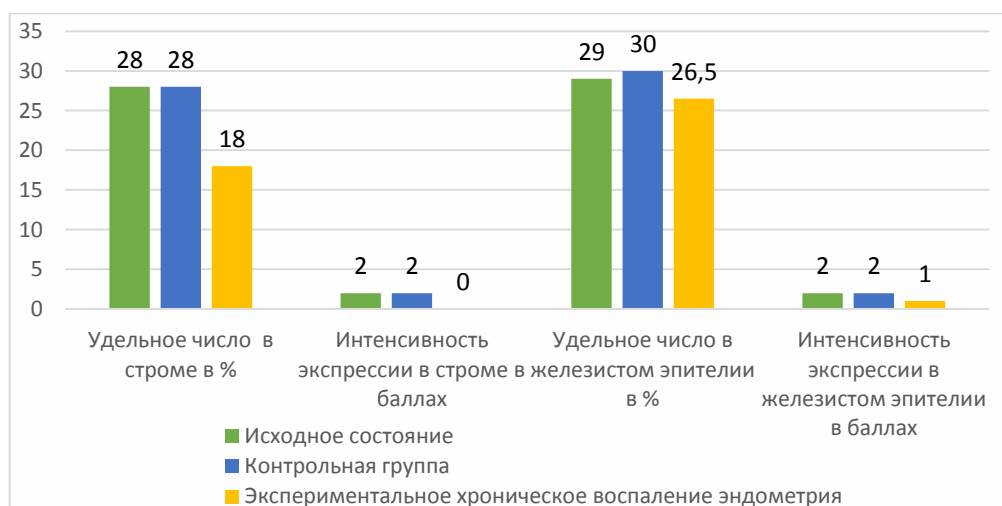


Рисунок 3 – Показатели активности желатиназы В в тканях эндометрия на фоне его экспериментального хронического воспаления у крыс

На рисунке 4 показано большое количество желатиназа В позитивных клеток.

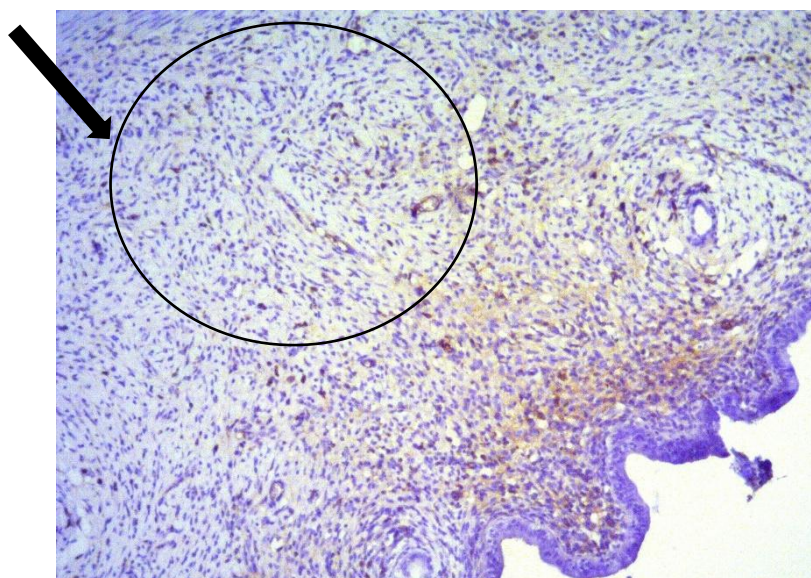


Рисунок 4 – Фрагмент эндометрия крысы в исходном состоянии. Окрашивание с использованием моноклональных антител к ММП-9, подкрашивание гематоксилин-эозином. Увел. $\times 100$.

На рисунке 5 показано уменьшение числа желатиназа В позитивных клеток в стромально-клеточном компоненте эндометрия.

Общеизвестно, что для начала репарации в зоне повреждения, необходима полноценная деструкция и элиминация поврежденных тканей. Учитывая приведенные данные об участии желатиназы В в обмене белков внеклеточного матрикса можно предположить, что обнаруженная недостаточность показателей активности этого матриксина отражает неадекватность финальных этапов воспаления, непосредственно предшествующих началу пролиферации и репарации (Гиниатуллина Е. Р., 2011).

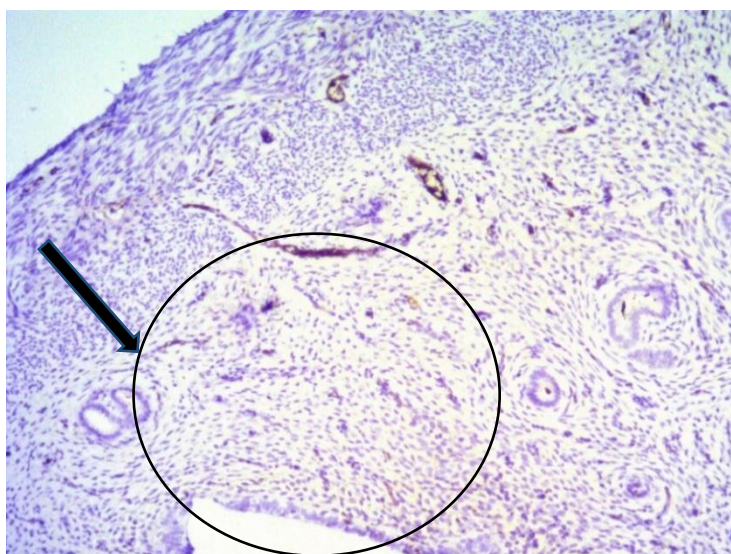


Рисунок 5 – Фрагмент эндометрия крысы на фоне экспериментального хронического воспаления эндометрия. Окрашивание с использованием моноклональных антител к ММП-9, подкрашивание гематоксилин-эозином. Увел. $\times 100$

Проведение корреляционного анализа показало умеренную отрицательную связь между параметрами плазмоцитарной инфильтрации и удельным числом желатиназа-В позитивных клеток в тканях эндометрия у крыс на фоне ЭХВЭ ($r=0,48$), что согласуется с результатами клинического этапа исследования.

Таким образом, на этапе хронизации экспериментального воспаления эндометрия у крыс, наблюдается снижение удельного числа желатиназа-В позитивных клеток и интенсивности их экспрессии в стромально-клеточном компоненте, при практически неизменном уровне указанных параметров в железистом эпителии. Данные показатели на фоне морфологических признаков воспаления свидетельствуют об участии изучаемого фермента в хронизации воспаления в тканях эндометрия.

Доказано изменение баланса между процессом пероксидации и активностью антиоксидантной защиты в патогенезе многих заболеваний (Зенков Н.К. и др., 2001).

Содержание ДК, МДА и каталазы в крови из нижней полой вены у крыс контрольной серии и у крыс в исходном состоянии практически не отличается: ДК - $0,029 \pm 0,008$ едА/мл у животных группы контроля и $0,029 \pm 0,012$ едА/мл в исходном состоянии ($p > 0,1$); МДА - $4,86 \pm 0,29$ мкмоль/л в контрольной группе и $4,22 \pm 0,36$ мкмоль/л в исходном состоянии, ($p > 0,1$), активность каталазы $61,68 \pm 2,5$ мкатал/л у крыс в контрольной группе и $60,98 \pm 1,5$ мкатал/л у крыс в исходном состоянии ($p > 0,1$). На фоне хронического воспаления эндометрия на сроке 51 сутки увеличилось содержание ДК по отношению к контролю с $0,029 \pm 0,008$ едА/мл в контрольной группе до $0,049 \pm 0,009$ едА/мл у крыс с эндометритом ($p < 0,01$). Содержание МДА увеличилось с $4,86 \pm 0,29$ мкмоль/л до $6,09 \pm 0,64$ мкмоль/л, ($p < 0,001$). При этом, активность каталазы оставалась практически без изменений: $61,68 \pm 2,5$ мкатал/л в контрольной группе и $60,6 \pm 2,7$ мкатал/л в группе с экспериментальным хроническим эндометритом, ($p > 0,1$).

Проведенные экспериментальные исследования, показывают, что система "перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита" в крови у животных с экспериментальным хроническим воспалением эндометрия отличается выраженным дисбалансом, проявляющимся значительной интенсификацией процесса перекисного окисления липидов, при отсутствии ожидаемого увеличения активности антиоксидантных ферментов, которое в данной ситуации могло быть оценено, как защитно-приспособительная реакция. Помимо этого, обнаружена умеренная отрицательная корреляционная связь ($r=0,5$) между показателем содержания МДА в крови из НПВ и удельным числом желатиназа В позитивных клеток в строме эндометрия.

Полученные результаты согласуются с результатами работ авторов Колесниковой Л. И. (2013), Городецкая О.С., Чандра-Д'Мелло Р. (2012), в которых, так же показано увеличение интенсивности пероксидации у пациентов с хроническим эндометритом.

По литературным данным, активные формы кислорода и оксидативный стресс непосредственно влияют на интенсивность процессов фиброобразования, так как способны как активизировать ММП, так и одновременно с этим, активизировать синтез коллагена (Скляр Л.Ф., 2004; Степанькова Е.А. и др., 2014; Burch, H. B., et al., 1997, Poli G. et al., 1997; Ramírez A.H. et al., 2016). В свою очередь, фиброобразование приводит к усугублению гипоксии, дальнейшему усилению пероксидации и снижению активности желатиназы В в тканях.

Известно, что желатиназа В является Са-зависимым ферментом. Помимо этого, в отдельных работах высказывается предположение о влиянии магния на активность

желатиназы В (Старавойтов В.А. и др., 2011, Шестернина Н.В. др., 2011, Громова О.А. и др., 2008).

В связи со значимой ролью магния в активации ферментов энергообразования, энергопотребления и регулировании синтеза белков, включая ферменты антиоксидантной защиты, нами было определено содержание магния в эритроцитарной массе крови из НПВ и ПКВ и плазме ПКВ у подопытных животных.

Содержание магния в эритроцитарной массе в крови из нижней полой вены у крыс первой и второй групп составило в ммоль/л: $1,91 \pm 0,26$ и $1,87 \pm 0,21$ соответственно ($p > 0,1$), в эритроцитарной массе в крови из подключичной вены в исходном состоянии составило (в ммоль/л) - $1,78 \pm 0,52$ в группе контроля - $1,73 \pm 0,31$ ($p > 0,1$). На фоне экспериментального хронического воспаления эндометрия в эритроцитарной массе крови из нижней полой и подключичной вен отмечалась тенденция к снижению уровня магния до $1,63 \pm 0,19$ ммоль/л, ($p < 0,01$), до $1,49 \pm 0,18$ ммоль/л, ($p < 0,05$), т.е. на 18% и 14% соответственно. При этом, в сыворотке крови из подключичной вены содержание магния было в ммоль/л: $1,31 \pm 0,33$ в исходном состоянии, $1,2 \pm 0,19$ в группе контроля, ($p > 0,1$). В группе с экспериментальным хроническим воспалением эндометрия отмечалось статистически достоверное снижение содержания магния до $0,87 \pm 0,23$ ммоль/л.

Анализ полученных результатов показывает, что на фоне экспериментального хронического воспаления эндометрия в эритроцитарной массе крови из нижней полой и подключичной вен, плазме крови подключичной вены отмечалось достоверное снижение уровня магния. При проведении корреляционного анализа выявлена положительная корреляция между показателями содержания внутриклеточного магния в крови из НПВ и удельным числом желатиназа В позитивных клеток в тканях эндометрия ($r = 0,65$).

При этом не обнаружено достоверной разницы в содержании кальция в указанных группах.

Обнаруженные нами уменьшение удельного числа и интенсивности экспрессии желатиназа В-позитивных клеток в структурах эндометрия, гипомagneстия, гипомagneзиемия, очевидно, выступают как факторы хронизации экспериментального воспаления и фиброзирования, причем, эти факторы вызывают сдвиг баланса между механизмами повреждения и репарации в зоне воспаления.

Учитывая выявленные изменения в магниевом гомеостазе, данные о значимом участии магния в регуляции процессов репарации и тот факт, что в литературе неоднократно описан положительный эффект магнийсодержащих препаратов и композиций при различной патологии (Рогова Л.Н., 2001; Спасов А.А., 2003; Трошин И.Ю. и др., 2008), в эксперименте, и затем в клинике, проведена оценка эффективности патогенетической терапии хронического воспаления эндометрия магнийсодержащими препаратами.

Как показано на рисунке 6, после применения МСК уровень магния в эритроцитарной массе в крови и нижней полой вены вырос на 26%, ($p < 0,01$), в эритроцитарной массе в крови из подключичной вены на 21%, ($p < 0,01$).

Обращает на себя внимание, более интенсивное увеличение содержания магния в эритроцитарной массе из НПВ в сравнении с приростом этого показателя в эритроцитарной массе в крови из ПКВ.

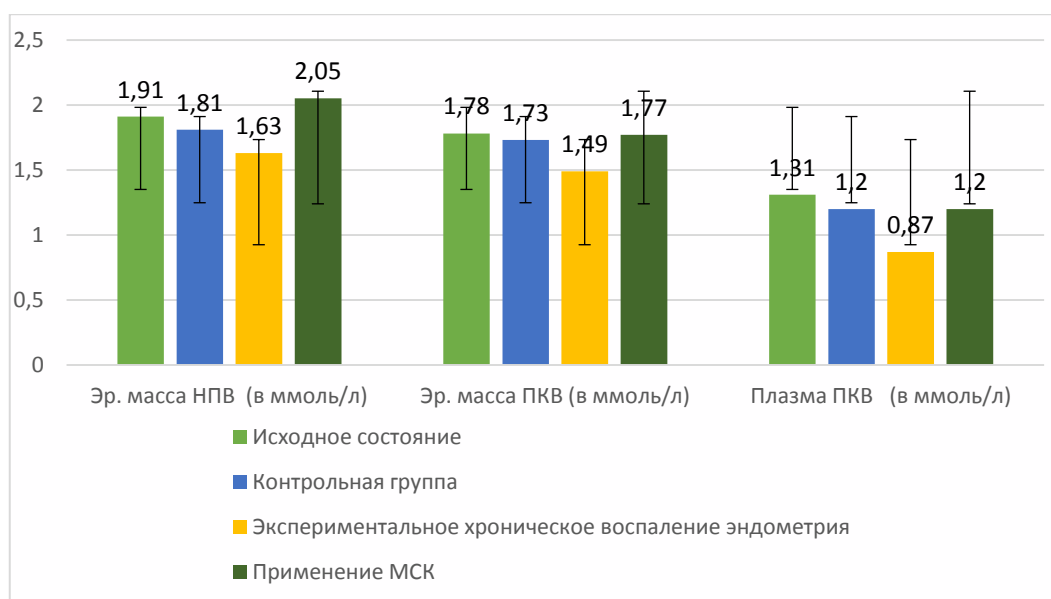


Рисунок 6 – Показатели содержания магния в эритроцитарной массе в крови у крыс с экспериментальным хроническим воспалением эндометрия без применения МСК и с применением МСК

Помимо этого, на фоне применения магнийсодержащей композиции у крыс с эХВЭ по отношению к группе без применения МСК в тканях эндометрия уменьшилось число плазмоцитов до 1[1;2] баллов, ($Q < 0,05$), эозинофилов 1[0;1] баллов, ($Q < 0,05$), увеличился уровень макрофагов до 2[1,5;2,5]баллов, ($Q < 0,05$), лимфоцитов до 3[1,5;2] баллов, ($Q < 0,01$), число нейтрофилов осталось практически неизменным 1[1;2] баллов, ($Q > 0,1$). Одновременно с этим изменялись показатели удельного числа и интенсивности экспрессии желатиназа-В позитивных клеток в элементах стромы. Удельное число желатиназа В позитивных клеток (в %) составило 35[31;39], ($Q < 0,01$) и интенсивность экспрессии 1[2;3] баллов, ($Q < 0,05$) в элементах стромы, на фоне незначительных изменений указанных показателей в железистом эпителии ($Q > 0,1$) (рисунок 7).

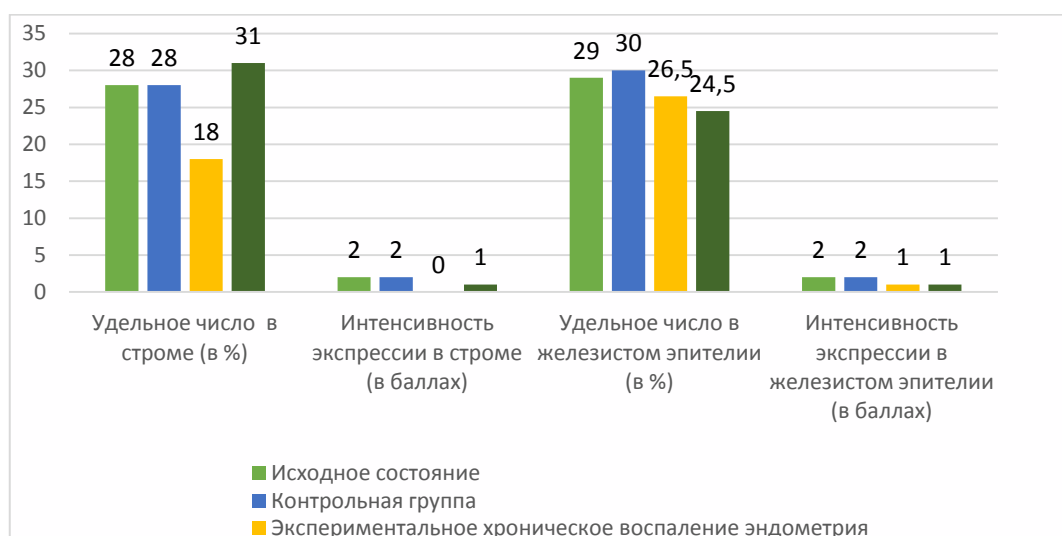


Рисунок 7 – Показатели активности желатиназы В в тканях эндометрия у крыс с экспериментальным хроническим воспалением эндометрия

Установлено, что после применения МСК снижается интенсивность пероксидации у крыс с ЭХВЭ, о чем свидетельствует уменьшение содержания ДК на 21 %, а МДА на 25%, при этом активность каталазы выросла на 12%.

На рисунке 8 показано увеличение удельного числа желатиназа В-позитивных клеток в стромально-клеточном компоненте эндометрия.

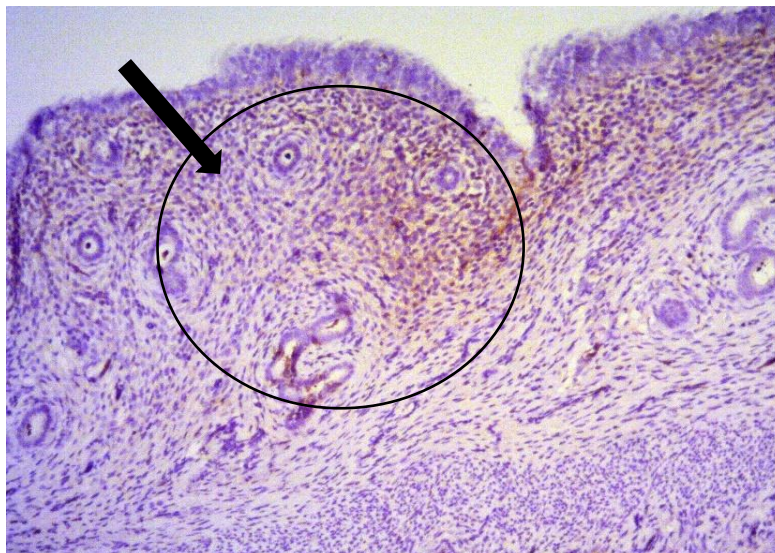


Рисунок 8 – Фрагмент эндометрия крысы на фоне экспериментального хронического воспаления эндометрия после терапии МСК. Окрашивание с использованием моноклональных антител к ММП-9, подкрашивание гематоксилин-эозином. Увел. $\times 100$

В клинике, при иммуногистохимическом исследовании, в образцах эндометрия, полученных у женщин после проведения курса электрофореза с 10% сульфатом магния наметилась тенденция к увеличению показателей активности желатиназы В в строме (рисунок 9).

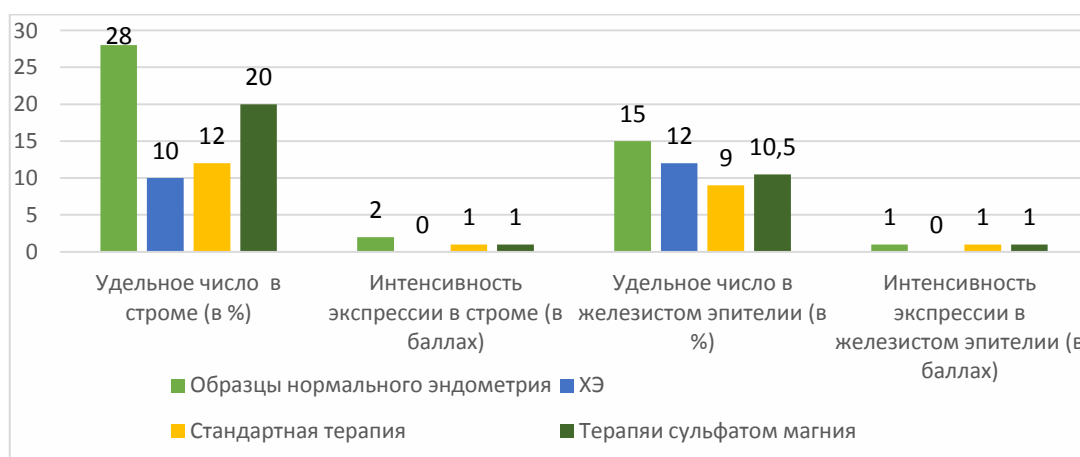


Рисунок 9 – Показатели активности желатиназы В в тканях эндометрия у женщин с ХЭ и повторяющимися неудачами имплантации без и после терапии электрофорезом с 10% сульфатом магния

В группе с хроническим эндометритом без лечения удельное число желатиназа В позитивных клеток в строме (в %) составило 10[7;13], после проведения терапии

сульфатом магния 20[17;25,5], ($Q<0,01$). Интенсивность экспрессии в стромально-клеточном компоненте также имела тенденцию к росту до 1[1;2] балла, ($Q<0,05$). В железистом эпителии мы не наблюдали статистически значимых изменений в указанных параметрах (рисунок 10).

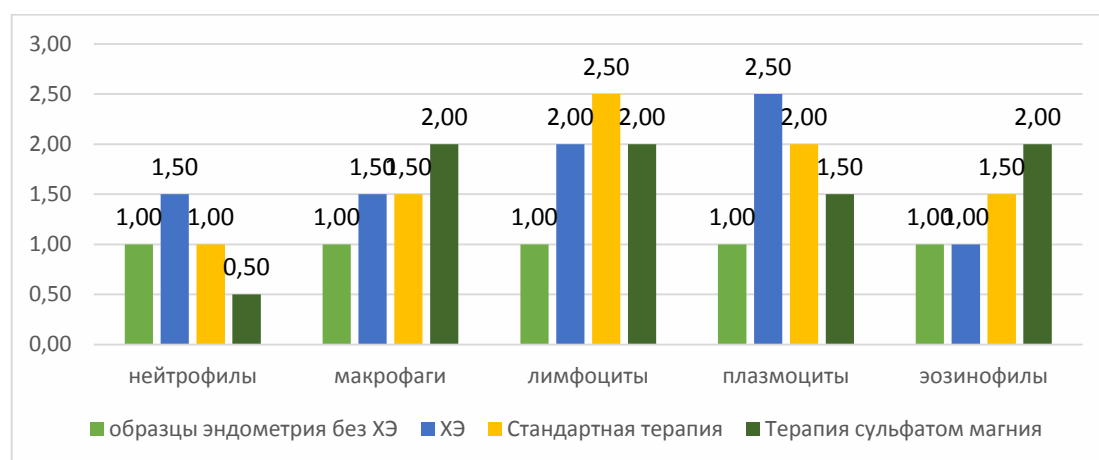


Рисунок 10 – Показатели клеточного инфильтрата в образцах эндометрия у женщин с ХЭ и повторяющимися неудачами имплантации без и после терапии электрофорезом с 10% сульфатом магния

Одновременно с изменением показателей активности желатиназы В изменялись параметры воспалительной инфильтрации в эндометрии. Количество макрофагов в тканях эндометрия увеличилось с 1[1;2] баллов в группе образцов ХЭ без лечения, до 3[2;3] баллов, в группе после терапии сульфатом магния Количество плазмоцитов уменьшилось до 1[0,5;1] ($Q<0,001$), но не вернулось к показателям практически здоровых женщин. Количество эозинофилов в группе с ХЭ без терапии составило 1[1;0], и 2[1;2] в группе после терапии сульфатом магния, ($Q<0,001$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В образцах эндометрия, полученных у женщин с хроническим эндометритом после коррекции МСК, обнаруженное увеличение количества макрофагов при сохранении слабой лимфо-плазмоцитарной инфильтрации эндометрия, может быть результатом продолжающегося процесса воспаления, но с тенденцией к интенсификации защитных механизмов, направленных на завершение деструкции поврежденных тканей и следовательно способности к завершению процесса воспаления и репарации. Это, очевидно, опосредованно усилением обмена белков межклеточного матрикса в противовес длительному накоплению структурных компонентов матрикса, приводящих к фиброзу.

Исходя из полученных результатов экспериментального исследования, литературных данных о роли желатиназы В, магния, пероксидации в ремоделировании ткани можно сделать вывод, что на фоне применения МСК у крыс восстановление исходных показателей активности экспрессии желатиназы В, внутриклеточного магния, снижение интенсивности пероксидации, увеличение активности каталазы являются факторами способствующими репарации ткани после повреждения. Нормализация уровня плазмоцитов, увеличение числа макрофагов, можно расценивать как предпосылки для активизации иммунных защитных реакций, оптимизации уровня стрессовых гормонов, уровня гуморальных и клеточных механизмов регенерации.

ВЫВОДЫ

1. В тканях эндометрия на этапе хронизации экспериментального воспаления у крыс и в образцах, полученных у женщин с повторяющимися неудачами имплантации, на фоне морфологических признаков хронического эндометрита, наблюдается снижение удельного числа желатиназа-В позитивных клеток и интенсивности их экспрессии в стромально-клеточном компоненте, при практически неизменном уровне указанных параметров в железистом эпителии. При этом показатели плазмоцитарной инфильтрации отрицательно коррелируют с удельным числом желатиназа В-позитивных клеток в стромально-клеточном компоненте эндометрия.

2. На этапе хронизации экспериментального воспаления эндометрия в крови, оттекающей от поврежденных тканей, отмечается активизация перекисного окисления липидов, проявляющаяся возрастанием содержания диеновых конъюгатов и малонового диальдегида, на фоне практически неизменной активности каталазы в крови из нижней полой вены. Содержание малонового диальдегида отрицательно коррелирует с удельным числом желатиназа В-позитивных клеток в стромально-клеточном компоненте эндометрия.

3. При экспериментальном хроническом воспалении эндометрия снижается содержание магния в эритроцитарной массе и плазме крови из нижней полой и подключичной вены, с более интенсивным снижением уровня внутриэритроцитарного магния в эритроцитарной массе крови нижней полой вены, при неизменном содержании кальция в плазме крови. Содержание магния в эритроцитарной массе крови из нижней полой вены положительно коррелирует с удельным числом желатиназа В-позитивных клеток в стромально-клеточном компоненте эндометрия.

4. Применение у крыс при экспериментальном хроническом воспалении эндометрия магнийсодержащей композиции приводит к увеличению содержания магния в эритроцитарной массе крови из разных регионов, уменьшению содержания диеновых конъюгатов и малонового диальдегида, и увеличению активности каталазы в крови из нижней полой вены. А так же, увеличению удельного числа, интенсивности экспрессии желатиназа В-позитивных клеток, числа макрофагов, лимфоцитов, и уменьшению числа плазмочитов и эозинофилов в стромально-клеточном компоненте эндометрия, что отражает активацию более эффективных механизмов воспаления.

5. В образцах эндометрия, полученных у женщин с хроническим эндометритом после применения стандартной терапии, удельное число и интенсивность экспрессии желатиназы В оставались неизменными, в то время, как в образцах, полученных у женщин после проведения в комплексе со стандартной терапией электрофореза 10% сульфата магния увеличивается удельное число и интенсивность экспрессии желатиназы В в стромально-клеточном компоненте эндометрия, а также увеличивается количество макрофагов и уменьшаются показатели плазмоцитарно-лимфоцитарной инфильтрации.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Пациентам с ХЭ рекомендовано назначение препаратов магния в комплексе со стандартной терапией, с целью увеличения эффективности механизмов репарации ткани.

2. У пациентов групп риска по возникновению ХЭ рекомендовано определять содержание магния внутри эритроцитов периферической крови, для своевременного

выявления его дефицита и соответствующей коррекции, как метода профилактики возникновения ХЭ.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Проведенное диссертационное исследование раскрывает один из значимых механизмов хронизации воспаления эндометрия, в частности, определяет роль внеклеточного матрикса, матриксных металлопротеиназ и магния в нарушении эффективной репарации поврежденной ткани. Дальнейшее продолжение исследований по определению показателей активности разных металлопротеиназ, их активаторов и ингибиторов, позволит выявить патогенетически обоснованные способы коррекции хронического воспаления не только, в тканях репродуктивной зоны, но и в других тканях и органах.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Рогова, Л.Н. Оценка эффективности моделирования хронического воспаления эндометрия у крыс / Л.Н. Рогова, **К.Ю. Тихаева**, Д.М. Фролов // Сборник трудов научно-практической конференции профессорско-преподавательского коллектива, посвященной 80-летию ВолгГМУ. – Волгоград, 2015. – С. 143-146.

1. Метод моделирования хронического воспаления эндометрия и его патогенетическое обоснование / **К.Ю. Тихаева**, Л.В. Ткаченко, Л.Н. Рогова, Д.В. Куркин // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2015. – №1 (45). – С. 31-35.

3. ***Влияние магнийсодержащей композиции на интенсивность пероксидации, магниевый баланс и показатели воспалительной клеточной инфильтрации у крыс с экспериментальным хроническим воспалением эндометрия / Л.Н. Рогова, К.Ю. Тихаева, Н.В. Григорьева, В.В. Ермилов // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2015. – № 2 (54). – С. 127-130.**

4. **Тихаева, К.Ю.** Роль магния в механизмах хронизации воспаления эндометрия у крыс / **К.Ю. Тихаева** // Евразийский союз ученых. – 2015. – № 6. – С. 65-67.

5. **Тихаева, К.Ю.** Влияние магния на показатели воспалительной клеточной инфильтрации у крыс с экспериментальным хроническим воспалением эндометрия / **К.Ю. Тихаева**, Л.Н. Рогова // Фармация и фармакология. – 2015. – Приложение № 1. – С. 112-113.

6. ***Тихаева, К.Ю.** Роль желатиназы В как звена патогенеза экспериментального хронического воспаления эндометрия / **К.Ю. Тихаева**, Л.Н. Рогова, Л.В. Ткаченко // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2016. – №1 (57). – С. 88-91.

7. **Тихаева, К.Ю.** Корреляция между интенсивностью пероксидации и показателями активности желатиназы В в условиях хронического экспериментального воспаления эндометрия / **К.Ю. Тихаева**, Л.Н. Рогова // Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины: Материалы 74-й открытой научно-практической конференции молодых ученых и студентов ВолгГМУ с международным участием. – Волгоград: Изд-во ВолгГМУ, 2016. – С. 24.

8. **Тихаева, К.Ю.** Патогенетическое обоснование профилактики отдаленных последствий абортов препаратами магния / **К.Ю. Тихаева** // Материалы XIII Съезда молодежных научных обществ медицинских и фармацевтических вузов России и стран СНГ. – Волгоград, 2016. – С. 237-239.

9. *Rogova, L. Role of gelatinase B and intraerythrocytic magnesium in formation of the chronic endometrium inflammation in rat / L. Rogova, K. Tikhayeva, L. Tkachenko // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2016. – № 2. – С. 214-216.

10. Тихаева, К.Ю. Показатели активности желатиназы в тканях эндометрия у женщин с хроническим эндометритом и неоднократными неудачами имплантации / К.Ю. Тихаева, Л.Н. Рогова, Л.В. Ткаченко // Репродуктивные технологии сегодня и завтра: материалы XXVI Международной конференции Российской Ассоциации Репродукции Человека (7-10 сентября 2016, Москва). – М., 2016. – С. 79-81.

11. *Патент №2580986. Российская Федерация. Способ моделирования экспериментального хронического воспаления эндометрия у крыс / К.Ю. Тихаева, Л.Н. Рогова, Л.В. Ткаченко; заявитель и патентообладатель: государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Волгоградский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (RU). – 2015105650/14; заявл. 18.02.2015; опубл. 10.04.2016. Бюл. № 10. – 9 с.

*– работы, опубликованные в журналах, входящих в перечень изданий, рекомендуемых ВАК РФ для опубликования материалов докторских и кандидатских диссертаций, а так же публикации, приравненные к ним.

СПИСОК ПРИНЯТЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ВКМ – внеклеточный матрикс

ВРТ – вспомогательные репродуктивные технологии

ДК – диеновые конъюгаты

КА – каталаза

МДА – малоновый диальдегид

ММП-9 – матриксная металлопротеиназа 9, желатиназа В

МСК – магнийсодержащая лекарственная композиция

НПВ – нижняя полая вена

ПКВ – подключичная вена

ПОЛ – перекисное окисление липидов

ТИМП – тканевый ингибитор металлопротеиназы

ХЭ – хронический эндометрит

эХВЭ – экспериментальное хроническое воспаление эндометрия