

## Методика

© Коллектив авторов, 2020

УДК 616-092

Денисова Ю.В.<sup>1</sup>, Мандра Е.В.<sup>1</sup>, Люндуп А.В.<sup>2</sup>, Александров Л.С.<sup>1</sup>, Ищенко А.И.<sup>1</sup>, Никонов А.П.<sup>1</sup>

# Выбор оптимального метода повреждения матки при создании модели для проведения доклинических исследований

<sup>1</sup> ФGAOУBO «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет), 119991, г. Москва, Россия, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2;

<sup>2</sup>АО «Национальная инжиниринговая корпорация», 105062, г. Москва, Россия, Лялин пер., д. 19/1

Проведение доклинических исследований для оценки безопасности и эффективности лекарственного средства является необходимым условием для его регистрации и внедрения в клиническую практику. Успех данных исследований во многом зависит от выбора животного и способа моделирования определенной патологии. В представленном обзоре методов анализируются данные по моделированию гинекологической патологии на лабораторных животных. В частности, рассмотрены методы воздействия, позволяющие моделировать синдром Ашермана, эндометриоз и хронический эндометрит. Поиск исследований производился в электронной библиотеке PubMed и базе клинических исследований Clinical Trials. В работе приводится характеристика используемых хирургических вмешательств, физических, химических и инфекционных методов нарушения целостности матки и формирования в органе воспалительного и спаечного процессов. Рассматривается возможность моделирования эндометриоза при помощи стрессового воздействия. Оценена эффективность применения данных стратегий и возможность их дальнейшего использования. Анализ литературы показал, что наиболее оптимальным вариантом для моделирования повреждения матки считается использование крыс-самок в возрасте от 5 до 8 нед. Наиболее воспроизводимым способом имитации патоморфологических механизмов внутриматочной адгезии является повреждение эндометрия 95-процентным этанолом. Наиболее универсальным способом моделирования хронического эндометрита считается подшивание участков эндометрия к париетальной брюшине передней брюшной стенки.

**Ключевые слова:** повреждение матки; повреждение эндометрия; моделирование; эндометрит; эндометриоз; синдром Ашермана.

**Для цитирования:** Денисова Ю.В., Мандра Е.В., Люндуп А.В., Александров Л.С., Ищенко А.И., Никонов А.П. Выбор оптимального метода повреждения матки при создании модели для проведения доклинических исследований. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2020; 64(2): 124-136.

DOI: 10.25557/0031-2991.2020.02.124-136.

**Для корреспонденции:** Александров Леонид Семёнович, e-mail: leonid.aleks@bk.ru

**Финансирование.** Работа не имела спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Участие авторов:** сбор и обработка материала – Денисова Ю.В., Мандра Е.В.; написание текста – Денисова Ю.В., Мандра Е.В.; редактирование – Люндуп А.В., Александров Л.С., Ищенко А.И., Никонов А.П. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи — все соавторы.

Поступила 05.04.2020

Принята к печати 20.04.2020

Опубликована 28.05.2020

Denisova Yu.V.<sup>1</sup>, Mandra E.V.<sup>1</sup>, Lyundup A.V.<sup>2</sup>, Aleksandrov L.S.<sup>1</sup>, Ischenko A.I.<sup>1</sup>, Nikonov A.P.<sup>1</sup>

## Selecting an optimal model of uterine damage for preclinical studies

<sup>1</sup>I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Trubetskaya Str. 8, Bldg. 2, Moscow 119991, Russia;

<sup>2</sup>National Engineering Corporation, JSC, Lyalin Pereulok 19, Bldg. 1, Moscow 105062, Russia

Preclinical studies are performed to assess safety and efficacy of a drug. They are a prerequisite for drug registration and implementation. Success of these studies depends on the choice of the animal and the method of modeling the pathology. This review focuses on modeling gynecological pathologies in preclinical studies. Specifically, the authors addressed experimental impacts

for modeling Asherman's syndrome, endometriosis, and chronic endometritis. The search for literature was conducted in PubMed and Clinical Trials databases. The review describes surgical interventions, physical, chemical, and infectious methods for affecting the uterus integrity and induction of inflammatory and adhesive processes in this organ. A possibility of modeling endometriosis by stress exposures is considered. Effectiveness of these strategies and prospects for their future use were evaluated. According to the analysis of reports the most suitable animal for modeling the uterine damage is 4-8-week-old female rats. The most reproducible way to activate mechanisms of pathomorphological intrauterine adhesion is chemical injury of the endometrium with 95% ethanol. The best approach in modeling chronic endometritis is endometrial and parietal peritoneum stitching.

**Keywords:** uterus damage; endometrium damage; modeling; endometritis; endometriosis; Asherman's syndrome.

**For citation:** Denisova Yu.V., Mandra E.V., Lyundup A.V., Aleksandrov L.S., Ischenko A.I., Nikonov A.P. Selecting an optimal model of uterine damage for preclinical studies. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2020; 64(2): 124-136. (in Russian).

**DOI:** 10.25557/0031-2991.2020.02.124-136

**For correspondence:** **Leonid S. Aleksandrov**, Dr. Med. Sc., Professor at the Department of Obstetrics and Gynecology № 1, I. M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University); Elanskogo str. 2, bldg. 2, 119435, Moscow, Russian Federation, e-mail: leonid.aleks@bk.ru

**Acknowledgments.** The study had no sponsorship.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Contribution:** collection and processing of material – Denisova Yu.V., Mandra E.V.; writing a text – Denisova Yu.V., Mandra E.V.; editing – Lyundup A.V., Aleksandrov L.S., Ischenko A.I., Nikonov A.P.; Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article — all co-authors.

**Information about the authors:**

Denisova Yu.V., <https://orcid.org/0000-0003-1753-0537>

Mandra E.V., <https://orcid.org/0000-0002-5397-9422>

Lyundup A.V., <http://orcid.org/0000-0002-0102-5491>

Aleksandrov L.S., <http://orcid.org/0000-0003-2512-5785>

Ischenko A.I., <http://orcid.org/0000-0003-3338-1113>

Nikonov A.P., <http://orcid.org/0000-0002-0142-8397>

Received 05.04.2020

Accepted 20.04.2020

Published 28.05.2020

Обязательным условием для регистрации любого лекарственного препарата и его внедрения в клиническую практику является проведение исследований по оценке его безопасности и эффективности. Первым этапом в таких доклинических исследованиях является моделирование на животных.

Поиск новых методов терапии заболеваний женской половой системы, в частности патологии матки требует расширения спектра различных моделей. Наиболее активно в последнее десятилетие востребованы модели повреждения эндометрия. Для получения достоверных результатов необходимо искусственно создать модель повреждения маточной ткани, морфологические и гистологические характеристики которой будут наиболее близки к показателям заболевания, против которого разрабатывается лекарство. На сегодняшний день требуют коррекции методы терапии многих заболеваний органов женской половой сферы: синдрома Ашермана, хронического эндометрита, эндометриоза и др. Основным осложнением перечисленных состояний является бесплодие. При неэффективности

консервативного и хирургического лечения вспомогательные репродуктивные технологии (ЭКО, ИКСИ, суррогатное материнство) становятся последней надеждой женщины в ее стремлении иметь детей. Однако и эти методы не гарантируют стопроцентного результата. Поэтому разработка инновационных препаратов, которые станут основой лечения хронических заболеваний матки, ведущих к бесплодию, является очень важным и актуальным направлением работы ученых. Успех доклинических испытаний во многом зависит от правильного выбора модели повреждения, чему и посвящен данный обзор.

**Цель обзора** – выбор оптимального метода повреждения матки при создании модели для проведения доклинических исследований.

**Методология поиска первоисточников.** Основным методом является систематический обзор литературы по темам преимуществ и недостатков различных моделей повреждения матки и их использования в исследованиях по разработке новых подходов к лечению маточной патологии. Поиск публикаций проводился в электрон-

ной библиотеке PubMed и в базе клинических исследований Clinical trials по запросу «uterine damage model», «endometrium damage model», а также с уточнением конкретных заболеваний; историческая глубина поиска не ограничивалась. По данным запросам на ClinicalTrials найдено 108 публикаций. На сайте PubMed по запросу «uterine damage model» – 317 статей, «uterus damage» – 1368. Для анализа отобрано 55 публикаций, независимо от типа и базы проведения. Исследования, не относящиеся к теме обзора, были исключены.

*Выбор животного для моделирования повреждения матки.* Помимо способа повреждения матки, на адекватность результатов доклинических испытаний влияет выбор вида животного, который определяется несколькими факторами: длительностью эстральных циклов, сроками наступления половозрелости, размерами матки, расходами на содержание и разведение животных. В подавляющем большинстве исследований эксперименты проводятся на мышах, крысах и кроликах. Рассмотрим сильные и слабые стороны выбора того или иного животного для моделирования.

*Крольчихи.* Главным их отличием является провоцируемая овуляция, т.е. овуляцию у крольчих, в отличие от других млекопитающих, вызывают не регулярные гормональные изменения в организме, а процесс спаривания и время года. Другим недостатком выбора этих животных для моделирования повреждения матки являются большие расходы на их содержание и разведение.

*Мыши.* Недостатком данной модели является небольшой диаметр внутренней полости матки, что делает процесс моделирования повреждения технически сложным. Деятельность полового аппарата носит циклический характер; эстральный цикл, как и у крыс, составляет 4–5 сут. Сумма, требуемая на содержание и разведение мышей, заметно меньше.

*Крысы.* Преимуществом перед мышью моделью является больший диаметр внутренней полости матки, составляющий 5 мм. Изменения уровней гормонов в ходе эстрального цикла относительно стабильны, что снижает вероятность получения ошибочных данных. Эндометрий при повреждении способен восстанавливать свою структуру через 1–2 эстральных цикла. Затраты на содержание и разведение крыс невелики.

У крыс и мышей в возрасте до 4 нед длина и диаметр маточных рогов малы, предел прочности на разрыв низкий, что делает манипуляцию технически сложной и повышает вероятность разрыва маточного рога и развития кровотечения. У крыс и мышей старше 9 нед матка окружена большим количеством жировой клетчатки, что затрудняет ее фиксацию. Наиболее

оптимальным возрастом грызуна для моделирования маточного повреждения следует считать возраст самки от 5 до 8 нед.

Таким образом, самки крыс в возрасте от 5 до 8 нед наиболее оптимальны для моделирования повреждения матки в виду экономичности данной модели, простоты выполнения хирургического вмешательства, низкой вероятности осложнений и быстрого получения результата.

### **Моделирование внутриматочной адгезии**

*Способы повреждения эндометрия для моделирования внутриматочной адгезии.* Синдром Ашермана – это патология матки, при которой в ее полости под действием различных факторов (травматических, инфекционных) формируется спаечный процесс, приводящий к частичной, а иногда и полной облитерации ее полости. В 1973 г. в журнале Gynecologic and Obstetric Investigation появилась статья, касающаяся моделирования повреждения эндометрия у крольчих химическим (этанол) и механическим (медный шабер) способами для изучения процесса его регенерации [1]. Все способы моделирования повреждения эндометрия, применяемые в исследованиях, можно разделить на механические, химические, термические, инфекционные и комбинированные.

*Механический способ.* Повреждения наносились различными способами: кюреткой, иглами различного калибра, лезвием для скальпеля, электрод-иглой, электрическим скальпелем, медным шабером, хирургическим ножом.

*Описание метода.* Перед операцией шерсть на передней брюшной стенке выривали, кожу обрабатывали раствором антисептика (например, 10%-ым раствором повидон-йода). Применялись различные виды анестезии: внутривнутренняя инъекция кетамина гидрохлорида и ксилазина гидрохлорида или хлоралгидрата, ингаляции 3% изофлурана, инъекции уретана в краевую ушную вену крольчих и т.д. Доступ к матке осуществлялся путем проведения срединной лапаротомии, ее модификации – нижней срединной лапаротомии или поперечного разреза в нижней трети брюшной полости. Брюшная полость оставалась увлажненной благодаря ее промыванию большим количеством физиологического раствора на протяжении всей операции для уменьшения образования спаек. После повреждения матку промывали физиологическим раствором для удаления остатков эндометрия. Сравнительные характеристики проведения операций представлены в **табл. 1**

Применение шабера нередко приводило к разрыву маточного рога и неконтролируемому кровотече-

Таблица 1

## Методики повреждения эндометрия механическим способом

Вид животного	N	Анестезия	Доступ	Ход операции	Период наблюдения	Автор
Крысы Спрег-Доули	81	Внутрибрюшинная инъекция кетамина (50 мг/кг), диазепам (50 мг/кг)	Срединная лапаротомия	Обнажались рога матки, окружающую область покрывали влажной марлей. Участок рога длиной 1,5 см и диаметром 1/2 -2/3 от общего резецировался.	30-90 сут	[2]
Крысы Спрег-Доули	72	Не указана	Разрез на брюшной стенке	Участок маточного рога длиной 1,0 см и шириной 0,5 см удалялся.	30 сут	[3]
Новозеландские белые кролики	13	Ингаляция флуотана	Проксимальный разрез – выше шейки матки, дистальный – на маточно-трубном сочленении	Через эти разрезы проводили выскабливание эндометрия кюреткой Basnieg диаметром 2 мм. Правый рог использовался для контроля.	7 сут	[4]
Крысы Спрег-Доули	92	Не указана	Нижняя срединная лапаротомия	Участок рога матки длиной 1,5 см и шириной 0,5 см резецировался.	14 сут	[5]
Мыши C57BL/6	12	Внутрибрюшинная инъекция кетамина, диазепам	Срединная лапаротомия	На каждом роге на уровне маточно-трубного сочленения производился разрез, через который иглу 27-го калибра вводили на 2/3 ее длины 4 раза и совершали ей вращательные движения.	3 эстральных цикла (12 сут)	[6]
Крысы F344/NJcl-mu/gnu	-	Не указана	Срединная лапаротомия	Разрез производился на участке от шейки матки до маточной трубы. Эндометрий повреждался лезвием для скальпеля №21.	8 сут	[7]
Новозеландские белые кролики	20	В/м инъекция 16 мг ксилазина, через 5 мин в/в инъекция 20 мг кетамина	Срединная лапаротомия	Разрез производился на дистальной трети маточной трубы. Проводилось два выскабливания матки кюреткой диаметром 3 мм интервалом в 10 дней.	20 сут	[8]
Мыши ICR	40	Внутрибрюшинная инъекция 8% хлоралгидрата (0, мл/ 10 г)	Вертикальный разрез передней брюшной стенки и матки	В правом роге производился небольшой разрез; медной электрод-иглой диаметром 1 мм и мощностью 0,5 Вт, введенной внутрь маточного рога, наносились повреждения.	14 дней	[9]
Крысы Спрег-Доули	-	Внутрибрюшинная инъекция 10% хлоралгидразы (3,5 мл/ кг).	Нижняя срединная лапаротомия	Вначале производился поперечный разрез на матке, затем - выскабливание правой половины матки кюреткой диаметром 2 мм до появления отека.	7 сут	[10]
Кролики	-	Внутрибрюшинная инъекция 4% хлоралгидрата (0,1 мл / 10 г).	Срединная лапаротомия	Через продольный разрез длиной 0,5 см на теле матки выше отхождения маточных труб наносилось механическое повреждение электрическим скальпелем мощностью 70 ВТ со скоростью 6 мм с <sup>-1</sup> .	7 сут	[11]
Мыши ICR	-	Не указана	Срединная лапаротомия	Группа выскабливания: в один рог вводили тупую иглу 20-го калибра с отрицательным давлением 0,05 мегаПа. Группа электрокоагуляции: один рог матки повреждали монополярной электрод-иглой мощностью 0,5 Вт.	7 сут	[12]
Мыши C57BL/6	-	Ингаляция 5% изофлурана	Вагинальный хирургический доступ	Для механического повреждения был разработан медный шабер диаметром 1,8 мм, который предварительно стерилизовался и вместе с направляющим наконечником вводился в полость матки до достижения конца маточной полости, затем наносились как минимум 10 царапающих движений скребком.	7-10 сут	[1] [13] [14]

Продолжение табл. 1 см. на стр. 128

Вид животного	N	Анестезия	Доступ	Ход операции	Период наблюдения	Автор
Крысы Спрег-Доули	40	350 мг/кг 10% хлоралгидрата	Срединная лапаротомия	В верхней трети матки производили разрез длиной 1,5 см, ткани фиксировали офтальмологическим пинцетом. Эндометрий скоблили хирургическим ножом до появления кровотечения.	1-6 нед	[15]
Мыши BALB/с голые	30	Внутрибрюшинная инъекция 1% пентобарбитала натрия (0,75 мл/10 г)	Продольный разрез длиной 1,5 см в проекции верхней части мочевого пузыря по средней линии живота	Офтальмологическими щипцами фиксировали кожу, офтальмологическими ножницами послойно разрежали брюшную стенку. Маточные трубы фиксировались прямыми зажимами. На маточном роге производился разрез, в него на 2/3 расстояния между рогом и телом матки вводилась игла 4-го калибра и вращалась 4 раза.	-	[16]
Крысы Спрег-Доули	-	в/в инъекция 3% пентобарбитала натрия (1 мл/кг) в диэструс	Срединная лапаротомия (длина разреза 2 мм)	В полость матки вводилась игла 16-го калибра, которую вращали, повреждая эндометрий обеих боковых стенок матки до серозной оболочки.	19 сут	[17]
Мыши BALB/с	-	Внутрибрюшинная инъекция пентобарбитала натрия	Нижняя срединная лапаротомия	Между правой и левой маткой вводили иглу 7-го калибра и повреждали внутренний слой матки до появления гиперемии.	8 сут	[18]
Крысы Спрег-Доули	5	Внутрибрюшинная инъекция 1% пентобарбитала натрия (2 мг/кг <sup>-1</sup> )	Поперечный разрез длиной в 2 см в нижней части живота	Вблизи от маточной трубы, не затрагивая кровеносные сосуды, производился разрез. Игла 16-го калибра придавали форму ложки-скрепка, который затем вставляли в полость матки и вращали до появления кровотечения.	8 сут	[19] [20]

нию, поэтому его следует использовать для моделирования повреждения эндометрия у животных, матки которых имеют достаточный размер [13].

Изменения тканей матки и степень внутриматочной адгезии оценивались в среднем через 1 нед после операции различными методами: 1) УЗИ – измерение толщины эндометрия; 2) гистологически – оценка толщины, структуры эндометрия и подсчет числа эндометриальных желез; 3) патоморфологически – оценка размеров полости матки, выраженности гиперемии и отека, а также эластичности ткани; 4) количественным – учет частоты беременностей для оценки результатов вмешательства.

Механическое повреждение, несомненно, является наиболее распространенным способом моделирования повреждения матки, в частности, внутриматочной адгезии. Этот вид повреждения наиболее близок к естественному механизму образования спаек в маточной полости (в 90% случаев внутриматочные синехии являются следствием послеродового выскабливания) [21]. При проведении гистологического и патоморфологического исследований через 1 нед после вмешательства в матке выявляются характерные для внутриматочной адгезии изменения: сужение маточной полости, уменьшение толщины эндометрия, сни-

жение количества эндометриальных желез и т.д. Однако степень выраженности признаков внутриматочной адгезии в различных исследованиях неоднозначна, что объясняется наличием большого количества факторов, влияющих на получаемые результаты (особенности хирургического инструмента, площадь и глубина повреждения, длительность воздействия, квалификация сотрудника, выполняющего процедуру). Все это препятствует созданию универсальной модели механического повреждения эндометрия и достижению стабильного эффекта при многократном воспроизведении.

*Химический способ.* В подавляющем большинстве исследований для индуцирования внутриматочной адгезии в качестве химического агента применялся этанол в различных концентрациях. *Способы анестезии.* Внутрибрюшинные инъекции: золетил (8 мкл) и ромпун (2 мкл) [22]; 1% пентобарбитал натрия (2 мг/кг<sup>-1</sup>) [19], 8% хлоралгидрат (0,5 мл/10 г) [23]; внутримышечные инъекции: тилетамин (0,07 мл), золазепам и ксилазин (0,05 мл) в 0,1 мл физ.раствора [24].

Kim Y.Y., Park K.H., Kim Y.J. и др. вводили 50%-й этанол в полость матки с помощью катетера через влагалище, через 5 мин омывали маточную полость физиологическим раствором. Некоторые исследователи вводили

этанол в полость матки в ходе операции прямого доступа к телу и рогам матки. *Описание способа.* Вскрывалась брюшная полость, обеспечивался доступ к матке, дистально и проксимально на рога матки накладывались два кровоостанавливающих зажима, 0,4–0,5 мл 95%-го водного раствора этилового спирта вводилось в рог матки с помощью шприца 26-го или 30-го калибра. Через 3 мин зажимы снимались и рог матки промывался стерильным физиологическим раствором для удаления остатков этанола [19, 23–24].

В исследовании Kim Y.Y., Choi B.B., Lim J.W. и др. проводилось сравнение влагалищного и дорсального хирургических доступов для введения этанола в полость матки [13]. *Описание способов:* а) влагалищный доступ: наконечник пипетки вставлялся во влагалище, в правый либо левый маточный рог вводился катетер длиной 2 см, через который в маточную полость поступало 50 мл 50%, 70% или 95% этилового спирта; через несколько мин полость матки промывали сбалансированным солевым раствором Хэнка; б) дорсальный хирургический доступ: над областью проекции почек (1,5–2,0 см от средней линии) делался поперечный разрез, прослойка жировой клетчатки позади яичника отодвигалась, через фиксированный зажимом маточный рог проксимальнее от яичника в полость матки вводилась игла калибра 30 G со шприцем объемом 1 мл, содержащим 50 мкл спирта указанных выше концентраций. Спустя 7–8 мин полость матки также промывали раствором Хэнкса. Преимуществами влагалищного хирургического доступа являлись более короткий период наркотизации, меньшая вероятность развития послеоперационных спаек. Недостатками данного доступа были невозможность контроля прохождения катетера, случаи перфорации и проникновения катетера в брюшную полость, что приводило к гибели животного. Явные преимущества дорсального хирургического доступа: визуализация и возможность купирования кровотечения. Через 7–10 сут после повреждения проводили гистологический и морфологический анализ тканей матки. Наиболее эффективной оказалась 95%-я концентрация спирта (эффективность 70% спирта была практически аналогична, 50% спирта – заметно ниже), т.к. при этой концентрации достигалось более значительное уменьшение толщины эндометрия. Отек и снижение эластичности внутренней поверхности матки наблюдались во всех исследуемых группах.

Моделирование внутриматочной адгезии с использованием этанола имеет ряд преимуществ: концентрация и объем этанола, время начала и прекращения воздействия легко фиксируются и могут быть стан-

дартизованы, что обеспечивает стабильность и воспроизводимость данной модели. Кроме того, данный метод приводит к значительным изменениям толщины эндометрия, количества желез и относительно высокому уровню фиброза, что относится к основным фенотипическим показателям для оценки модели внутриматочной адгезии. Также воздействие этанола препятствует пролиферации эпителиальных и стромальных клеток, не инициирует восстановительные реакции в отличие от механического повреждения.

Xiangzhen Wang, Nana Ma, Qiannan Sun и др. в качестве химического агента использовали *клейкий фенол* (0.04 мл), который инъецировали в маточные рога крыс Спрег-Доули [25]. Через 10 сут после инъекции оценивали параметры внутриматочной адгезии (количество эндометриальных желез, площадь фиброза). Оценивали также экспрессию транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B, который способствует экспрессии внутриматочных воспалительных факторов адгезии и играет важную роль в патогенезе синдрома Ашермана.

Kilic S., Yuksel B., Pinarli F. и др. в правый маточный рог крыс инъецировали *трихлоруксусную кислоту*, что также приводило к развитию внутриматочных синехий [26].

Исследования, в которых были использованы клейкий фенол и трихлоруксусная кислота единичны, что не позволяет сделать однозначные выводы об их достоверности и рекомендовать данные химические агенты к моделированию.

*Термический способ.* Оценку эффективности данного способа моделирования повреждения матки проводили Sun L, Zhang S, Chang Q и др. *Описание способа.* Для анестезии использовали внутривенную инъекцию 1% пентобарбитала натрия (2 мг/кг); затем производили поперечный разрез длиной 2 см в нижней части живота. Область вокруг матки обкладывалась марлей, смоченной водой, для предотвращения высыхания. Шприц 20-го калибра, соединенный с резиновой трубкой и чашкой Петри, содержащей горячую воду, вводили проксимально и дистально в полость матки. После этого в течение 80 секунд с помощью шприца с постоянной скоростью вводили горячий физиологический раствор (90 °C), после чего брюшная полость промывалась физиологическим раствором для ее охлаждения.

Через 1 нед проводили патоморфологические исследования, в ходе которых обнаруживалось повреждение как функционального, так и базального слоев эндометрия. В ходе эксперимента развивался воспалительный процесс, серьезно повреждался эндометрий и мышечный слой окружающих тканей. Следствием действия термического агента являлись коагуляция

белков, гибель клеток эндометрия (индукция некроза), воспалительный процесс, что завершалось развитием фиброза [27]. Ввиду непредсказуемости и тяжести повреждений данный способ не был рекомендован для создания модели внутриматочной адгезии.

**Инфекционный способ.** В качестве инфекционного агента для повреждения эндометрия и индукции внутриматочной адгезии применялись липополисахариды (ЛПС) бактерий, которые вводились в полость матки путем внутрибрюшинной инъекции или в ходе оперативного вмешательства. Внутрибрюшинная инъекция проводилась однократно, доза ЛПС составляла 0.5 мг/кг. В качестве животной модели использовали мышей BALB/c [28]. Для оценки повреждения эндометрия измеряли процентное содержание нейтрофилов через 24 ч после инъекции.

Liu F., Zhu Z.-J., Li P. вводили ЛПС в полость матки хирургическим путем. *Описание способа.* Для обезболивания авторы в краевую ушную вену кроликов вводили уретан (1,5 г/кг). Производилась срединная лапаротомия, обнажалась матка, на ее передней поверхности в нижней трети делался продольный разрез длиной 0,5 см, через который в маточную полость вводилась хирургическая шовная нить с липополисахаридами бактерий. Хвостовой конец нити выводился на кожу передней брюшной стенки для облегчения удаления нити через 48 ч после операции [29]. Степень внутриматочной адгезии оценивалась по количеству эндометриальных желез и площади фиброза. Спустя 1 нед после вмешательства были ярко выражены отек и нейтрофильная инфильтрация, отмечалась выраженная регенерация клеток эндометрия, что делает данную модель более пригодной для изучения патогенеза воспалительной реакции, чем для создания искусственной модели внутриматочной адгезии.

**Комбинированная модель.** В ходе исследований комбинировались различные способы повреждения. Liu F., Zhu Z.-J., Li P. вначале повреждали матку механическим способом, а затем инфекционными агентами [29]. *Описание способа.* Для анестезии кроликам в краевую ушную вену вводили уретан (1,5 г/кг), затем проводили срединную лапаротомию, обнажали матку, на ее передней поверхности в нижней трети выполняли продольный разрез длиной 0,5 см, функциональный слой эндометрия средней и верхней третей внутренней поверхности матки выскабливали кюреткой диаметром 4 мм. После выскабливания в полость матки через разрез вводилась хирургическая шовная нить с липополисахаридами бактерий, хвостовой конец нити выводился на кожу передней брюшной стенки для облегчения его удаления через 48 ч.

Анализ изменений проводили через 24, 48, 72 ч и 7, 14, 28 сут. Через 1 нед после вмешательства спайки занимали 30% внутренней поверхности матки. Клетки эндометрия быстро начинали регенерировать, однако восстановительные процессы протекали относи-

тельно медленно, и нормальная структура матки наблюдалась лишь спустя 28 сут после операции.

Sun L., Zhang S., Chang Q. также, как и Liu F., Zhu Z.-J., Li P., комбинировали механическое повреждение и инфекционные агенты в одной из экспериментальных групп [19]. *Описание способа.* После нанесения механического повреждения с помощью ложки-скребка, которое было описано выше, в полость матки через разрез вводилась хлопковая нить длиной 5 см, пропитанная 0,6 мг L1 липополисахарида (ЛПС). Отрезок этой нити длиной 2 см выводился на переднюю поверхность брюшной стенки. При патоморфологическом исследовании было обнаружено, что толщина эндометрия, являющаяся одним из основных параметров оценки внутриматочной адгезии, практически не изменялась. Степень внутриматочной адгезии после механического повреждения, которое является первым этапом операции, зависит от большого количества факторов, что делает невозможным создание универсального протокола данных исследований. Таким образом, результаты применения комбинированной травмы (механическое повреждение + инфекционные агенты) для создания модели внутриматочной адгезии противоречивы, что свидетельствует о нерепрезентативности данной модели.

Кава С., Sever N., Cengiz повреждали матку путем прижигания ее внутренней поверхности, что сочетает в себе механический и термический способы [30]. *Описание способа.* Анестезию проводили путем внутримышечной инъекции 10% кетамина (50 мг/кг) гидрохлорида и 2% ксилазина (5 мг/кг). На передней брюшной стенке крыс линии Вистар по средней линии производили разрез длиной 3 см, обнажали рога матки. Затем путем прижигания электрокоагулятором Bovie1 мощностью 10 Вт наносили по 7 повреждений на поверхности маточных рогов, противоположной брыжейке матки. Второе повреждение наносилось на участке длиной в 1,5 см между двумя основными сосудистыми ветвями на нижней стенке каждого рога. Через 2 нед после операции проводили гистологическую оценку клеточной адгезии. По данным одного исследования нельзя сделать однозначные выводы о преимуществах и недостатках данного способа, однако, как уже было сказано, механическое повреждение, являющееся обязательным этапом создания комбинированной модели, препятствует стандартизации вмешательства и не позволяет его рекомендовать экспериментаторам.

**Сравнение представленных способов моделирования внутриматочной адгезии.** Sun L., Zhang S., Chang Q. и др. проводили сравнительный анализ 4 способов повреждения матки: химического, механического, термического и комбинированных (механический + инфекционный и механический + термический). При патоморфологическом исследовании во всех экспериментальных группах отмечалось сужение полости мат-

ки и снижение эластических свойств ткани. В группе комбинированной травмы полость матки была более дилатирована относительно остальных групп, степень повреждения стенок была выражена в наименьшей степени, что говорит о нерепрезентативности данной модели. Гистологический анализ показал уменьшение толщины эндометрия и сокращение количества желез; структура эндометрия была рыхлой. Во всех группах наблюдалось истончение эндометрия, за исключением групп с комбинированной травмой, в которых его толщина практически не изменилась. Это может быть связано с тем, что механическое повреждение вызывает воспаление, сопровождающееся репарацией поврежденной ткани за счет дифференцировки эндометриальных стволовых клеток и выравнивания соотношения фибротических и антифибротических факторов [31, 32]. По степени сужения полости матки, снижения эластических свойств, развития фиброза наилучшие показатели отмечались в группе химического повреждения 95% водным раствором этилового спирта.

Kim Y.Y., Choi B.B., Lim J.W. и др. сравнивали механический и химический способы моделирования внутриматочной адгезии [13]. При механической травме изменения эндометрия были выражены слабее, чем в группе химического повреждения. Осложнениями применения медного шабера являлись разрыв маточного рога и неконтролируемые кровотечения, поэтому применение данного механического повреждения у крыс и мышей с малым диаметром полости матки не желательно при моделировании внутриматочной адгезии.

Таким образом, повреждение эндометрия 95% этанолом можно считать наиболее эффективным и подходящим способом имитации патоморфологических механизмов внутриматочной адгезии ввиду возможности создания единого протокола клинических исследований и схожести параметров маточной ткани после воздействия этанола с таковыми при развитии внутриматочных синехий в естественных условиях.

*Модель повреждения матки для изучения ее регенеративного потенциала.* Другим направлением исследований является изучение процесса регенерации ткани матки при самых разнообразных ее повреждениях. В основе таких экспериментов лежит удаление определенного участка (в основном, небольшой части маточного рога) с последующим наблюдением за процессом ее репара-

ции. Стандартный протокол такого клинического исследования описали Miyazaki K., Maruyama T. [33]. *Описание способа.* Авторы для анестезии применяли ингаляцию 3% изофлурана. Крысам Фишер проводили срединную лапаротомию, обнажали рога матки, область вокруг матки покрывали куском влажной марли. Участок маточного рога длиной 1,5 см и диаметром ½ от общего резецировался. Брюшную полость промывали физиологическим раствором, после чего переднюю брюшную стенку крыс контрольной группы послойно зашивали. В экспериментальной группе в матку трансплантировали децеллюляризованный маточный матрикс со зрелыми и недифференцированными клетками матки и мезенхимальными стволовыми клетками для ускорения регенерации.

### **Моделирование эндометрита и эндометриоза**

Основными заболеваниями, моделируемыми в доклинических исследованиях, являлись хронический эндометрит и эндометриоз. Эндометрит — это воспаление слизистой оболочки матки, которое часто сопровождается хронической тазовой болью [34]. Эндометриоз, помимо хронического воспаления внутреннего слоя маточной стенки, характеризуется его разрастанием за пределы этого слоя [35].

*Способы повреждения эндометрия для моделирования эндометрита.* К основным критериям успешно воспроизведенного хронического воспалительного процесса эндометрия относятся наличие лейкоцитарных инфильтратов, состоящих преимущественно из лимфоидных элементов в сочетании с лейкоцитами, гистиоцитами и плазматическими клетками. Для эндометрита характерен отек стромы, очаговый фиброз, а также склеротические изменения стенок спиральных артерий эндометрия и стаз эритроцитов [36]. Основные стратегии моделирования хронического воспаления и их результаты представлены в **табл. 2**.

Можно выделить несколько групп методик, использованных для моделирования хронического воспаления. Во-первых, это введение аутокала (1:10 с физиологическим раствором), которое приводило к возникновению воспаления после операции. Следует отметить простоту моделирования данного типа повреждения<sup>1</sup>. Айламазян Э.К. и соавт. (2012 г.) запатентовали способ моделирования хронических воспалительных заболеваний половых органов<sup>2</sup>. В течение 7 сут до планируемой операции проводилась эстрогенизация животных путем внутримышечного введения 0,1% синестрола. *Описание способа.* Для наркоза

<sup>1</sup>Тихаева К.Ю., Рогова Л.Н., Ткаченко Л.В. Способ моделирования экспериментального хронического воспаления эндометрия у крыс. Патент РФ RU2580986C1, 04.10.2016.

<sup>2</sup>Айламазян Э.К., Ниаури Д.А., Гзгзян А.М., Джемплиханова Л.Х., Радькова Ю.А., Савельев А.Н. Способ моделирования хронических воспалительных заболеваний женских половых органов в эксперименте. Патент РФ RU 2 533 739 C2, 11.07.2012.



## Методики повреждения эндометрия для моделирования хронического эндометрита

Метод	Животные	Описание метода	Период наблюдения	Результат	Автор
Введение аутокаала	Крысы	Приготовление взвеси аутокаала: кал смешивали с физиологическим раствором в соотношении 1:10. Наркоз: рометар (3-4 мг/кг). Этапы вмешательства: 1. Обработка передней брюшной стенки растворами антисептиков. 2. Срединная лапаротомия. 3. Выведение матки в рану, обложение стерильными салфетками. 4. Введение тонкой инъекционной иглы в маточный рог. 5. Введение 0,1 мл приготовленной взвеси аутокаала. 6. Послойное ушивание передней брюшной стенки.	С 3 сут проводились в/м инъекции цефтриаксона в течение 7 сут.	Формирование хронического воспаления эндометрия на 41 сут эксперимента.	[Патент РФ RU2580986C1]
Подшивание фрагментов эндометрия к париетальной брюшине	Кролики	Использование общехирургической техники и шовного материала, создающего объемное давление в зоне хирургических узлов, что приводит к повреждению эндометрия.	Первые 5 сут: цефтриаксон 50 мг/кг/сут. Повторная эстрогенизация 0,1%-м раствором синестрола. Снятие кожных швов на 7-е сут после операции.	Нестабильная и непредсказуемая морфологическая реакция имплантов эндометрия на лазерное и электрохирургическое воздействия, а также их несоответствие критериям хронического воспаления говорят о нецелесообразности применения данных методик. Использование же общехирургической техники показало стабильно положительные результаты.	[37]
Лазерное воздействие		Фрагмент эндометрия фиксировался к брюшине с применением микрохирургических инструментов. На 7-е сут в ходе лапароскопического вмешательства производилось лазерное воздействие на имплант (мощность излучения составляла 2 Вт, длина волны лазерного излучения — 980 нм) в непрерывном режиме с последующей поверхностной лазерной вапоризацией до визуально контролируемого испарения имплантата. Время экспозиции: 3–5 с.			
Электрохирургическое воздействие		Фрагмент эндометрия фиксировался к брюшине с применением микрохирургических инструментов. На 7-е сут производилось воздействие на импланты эндометрия электрическим током высокой частоты в монополярном режиме (мощность — 10 Вт, частота тока — 440 кГц).			
Введение ЛПС	Мыши	Мышам вводили 50 мл ЛПС через влагалище (1 мг / мл, растворенный в стерильном фосфатно-буферном физиологическом растворе).	Через 24 ч мышей усыпляли для взятия образца тканей матки.	Наблюдались: воспалительная клеточная инфильтрация, отек эпителия эндометрия, гиперемия; достоверное повышение воспалительных цитокинов TNF- $\alpha$ , IL-6 и IL-1 $\beta$ .	[38, 39, 40]
	Мыши	Мышам вводили равные количества ЛПС (1 мг/кг) с каждой стороны.	Мышей умерщвляли при помощи CO <sub>2</sub> через 24 ч. Ткани матки помещали в 4% параформальдегид для окрашивания гематоксилином и эозином. Оставшиеся ткани хранили при температуре -80 °С.	Отек, воспалительная клеточная инфильтрация и исчезновение маточных структур.	[41, 42, 43]

Продолжение табл. 2 см. на стр. 133

Метод	Животные	Описание метода	Период наблюдения	Результат	Автор
	Мыши	25 $\mu$ л ЛПС (2 мг/мл) вводили в каждый рог матки мышей с помощью шприца 100 $\mu$ л с тупой иглой 30-го калибра для индуцирования эндометрита.	Мышей усыпляли через 24 ч, а ткани матки хранили при температуре $-80^{\circ}\text{C}$ .	Отек, воспалительная клеточная инфильтрация и исчезновение маточных структур.	[44]
Инфицирование <i>Staphylococcus aureus</i>	Мыши	Инфицирование золотистым стафилококком с помощью инъекций 100 $\mu$ л в каждый рог матки (общий объем 200 $\mu$ л) через микрошприц.	Мыши были усыплены через 24 ч пентобарбиталом натрия.	Воспалительная клеточная инфильтрация, гиперемия эндометрия, выраженное разрушение клеток миометрия.	[45, 46]
	Мыши	200 мл суспензии <i>S. aureus</i> ( $1 \times 10^7$ колониеобразующих единиц [КОЕ]/10 мкл) вводили в оба рога матки мышей для индуцирования эндометрита.	Через 8 ч мышей усыпляли пентобарбиталом натрия, а ткани матки собирали и хранили при температуре $-80^{\circ}\text{C}$	Воспалительная инфильтрация, отек эндометрия.	[47, 48]
	Крысы	Инфицирование золотистым стафилококком с помощью инъекций 100 $\mu$ л в каждый рог матки через микрошприц.	Через 24 ч крыс усыпляли пентобарбиталом натрия. Ткани матки собрали и хранили при температуре $-80^{\circ}\text{C}$ .	Отслаивание выстилающего эпителия, отек эндометрия, утолщение эндометрия с повреждением эндометриальных желез.	[49]
	Мыши	Наркоз: внутривентральное введение 0,075 мг/мл медетомидина, 0,4 мг/мл мидазолама и 0,5 мг/мл буторфанолола. Инюкуляцию токсина/клеток золотистого стафилококка проводили с использованием устройства NSET. Этапы: 1. Введение зеркала в вагинальный тракт мыши 2. В наконечник NSET набирали 3 мкл суспензии бактерий с титром клеток $1 \times 10^7$ КОЕ / 3 мкл или 10 мкг токсинов 3. Образец прививали в матку 4. Удаляли наконечник и зеркало 5. Внутривентральная инъекция 0,075 мг/мл гидрохлорида атипамезола	Через 24 ч мышей умерщвляли. Матку фиксировали в 4%-ом параформальдегидном буфере при $4^{\circ}\text{C}$ в течение ночи. Затем ткани помещали в температуру $-80^{\circ}\text{C}$ .	Нахождение бактериальных клеток в эпителии. Признаки цервиковагинальной инфекции.	[50]

использовался тиопентал (30–40 мг/кг массы тела животного). Выполнялась послынная нижнесрединная лапаротомия. Правый маточный рог выделялся и резецировался на протяжении 3 см, оставшийся участок рога рассекался продольным разрезом на стороне, противоположной прикреплению брыжейки матки. Эндометрий из центра препарата отделялся острым путем, и его фрагменты размером  $2 \times 3$  мм подшивались к париетальной брюшине передней брюшной стенки. Способ фиксации фрагментов эндометрия, а также дополнительные воздействия на имплант, отличались в группах животных в зависимости от выбранного повреждающего фактора. По итогам сравнения повреждающих методик исследователи пришли к выводу о неэффективности применения лазерного и электрохирургического воздействия в то время, как общехирургическая

техника доказала свою универсальность и стабильность результатов [37].

Значительное количество исследований было направлено на изучение влияния введения липополисахаридов (ЛПС). ЛПС являются одними из наиболее мощных индукторов воспаления (табл. 2), что было подтверждено авторами всех анализируемых нами публикации (табл. 2). При введении ЛПС в эндометрии наблюдался отек и клеточная инфильтрация – основные признаки воспалительного процесса, характерного для эндометрита [38–44].

Еще одним часто используемым методом воздействия для моделирования эндометрита служило инфи-

## Способы повреждения эндометрия для моделирования эндометриоза

Метод	Животные	Описание метода	Период наблюдения	Результат	Автор
Стресс	Крысы	Анестезия: пентобарбитал Этапы: Удаление дистальных 2 см правого рога матки Погружение их в теплую (37 °С), стерильную питательную среду Обнажение эндометрия путем продольного вскрытия стерильными ножницами Отделение 4 имплантатов эндометрия размером 2*2 мм Имплантаты сшивались с серозной оболочкой рядом с брыжеечными сосудами тонкой кишки В группе «фиктивной операции» к брыжейке кишечника без имплантатов прикрепляли 4 шва. Правый рог матки массировали кончиками пальцев в течение 2 мин Через 7 сут после хирургической индукции эндометриоза крысам давали плавательные нагрузки, что вызывало появление у них стресса	Животные были умерщвлены через 60 сут после операции. Оценивали влияние уровня стресса на симптоматику и характеристики ткани эндометрия при эндометриозе.	При стрессе усиливалась местная воспалительная реакция и стимулировалось образование нервных волокон.	[51, 52, 53, 54, 55]

цирование *Staphylococcus aureus* (табл. 2). Описание сподоба. Золотистый стафилококк культивировали в 100 мл среды LB (англ. Lysogeny broth), пока он не вступал в стационарную фазу (оптическая плотность при 600 нм равна 2,0). *S. aureus* центрифугировали и затем ресуспендировали в 1 мл фосфатно-буферного физиологического раствора [47]. После внесения суспензии *S. aureus* в оба маточных рога мышей все авторы исследований отмечали появление признаков воспаления эндометрия, а в некоторых случаях повреждение и гибель клеток миометрия [47–49].

**Моделирование эндометриоза.** Эндометриоз моделировали аутоотрансплантацией предварительно отделенных имплантов правого рога матки к брыжейке тонкой кишки. В ложнооперированных группах правый рог матки массировали пальцами в течение 2 мин и накладывали швы без маточных имплантатов на брыжеечную область кишки. В качестве фактора прогресси-рования эндометриоза многие ученые указывают стресс, поэтому для формирования модели эндометриоза использовали стрессовое воздействие. Через 7 сут после операции крыс подвергали плавательным нагрузкам (данное мероприятие проводилось в пластиковом бассейне (диаметр 150 см, глубина 60 см), заполненном водой (37 °С) с растворенной в ней нетоксичной краской. Положение животных во время выполнения задания контролировалось и фиксировалось с помощью установленной на потолке видеокамеры [51]. Отмечалось усиление воспалительной реакции при стрессе, также стимулировалось образование нервных волокон [51–55] (табл. 3).

## Заключение

Мировой опыт моделирования гинекологических заболеваний свидетельствует о перспективности данного направления, а следовательно, и о возможности проведения испытаний по внедрению инновационных препаратов в терапию синдрома Ашермана, эндометрита и эндометриоза на доклиническом этапе. Различный подход к воспроизведению патологических процессов на моделях животных обеспечивает условия для оценки эффективности лечения при различных уровнях оснащенности.

Внедрение препарата в практику – сложный многоуровневый процесс, однако надежность и относительная простота ряда обсуждаемых способов повреждения эндометрия для проведения доклинических исследований помогут изменить подход к лечению многих гинекологических заболеваний и даже бесплодия.

## Литература

(п.п. 1-35; 38-55 см. References)

- Кузнецова А.В. Хронический эндометрит. *Архив патологии.* 2000; 3: 48–52.
- Айламазян Э.К., Гзгзян А.М., Савинов П.А., Ниаури Д.А., Джемплиханова Л.Х., Усольцева Е.О., и др. Особенности реакции имплантата аутологичного эндометрия на механическое воздействие в эксперименте *Журн. акушерства и женских болезней.* 2012; LX1(3): 24–30.

## References

- Schenker J., Polishuk W. Regeneration of rabbit endometrium following intrauterine instillation of chemical agents. *Gynecol Invest.* 1973; 4: 1–13.

2. Li X., Sun H., Lin N., Hou X., Wang J., Zhou B., et al. Regeneration of uterine horns in rats by collagen scaffolds loaded with collagen-binding human basic fibroblast growth factor. *Biomaterials*. 2011; 32(32): 8172–81.
3. Lin N., Li X., Song T., Wang J., Meng K., Yang J., et al. The effect of collagen-binding vascular endothelial growth factor on the remodeling of scarred rat uterus following full-thickness injury. *Biomaterials*. 2012; 33(6): 1801–7.
4. Fernandez H., Hafiz A., Khrouf M., Morel O., Chavatte-Palmer P. Evaluation of the rabbit as an experimental model for human uterine synechia. *Journal of Human Reproductive Sciences*. 2012; 5(2): 175.
5. Ding, L., Li, X., Sun, H., Su, J., Lin N., Peault B., et al. Transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells on collagen scaffolds for the functional regeneration of injured rat uterus. *Biomaterials*. 2014; 35(18): 4888–900.
6. Alawadhi F., Du H., Cakmak H., Taylor H. Bone Marrow-Derived Stem Cell (BMDSC) Transplantation Improves Fertility in a Murine Model of Asherman's Syndrome. *PLoS ONE*. 2014; 9(5): e96662.
7. Kuramoto G., Takagi S., Ishitani K., Shimizu T., Okano T., Matsui H. Preventive effect of oral mucosal epithelial cell sheets on intrauterine adhesions. *Human Reproduction*. 2014; 30(2): 406–16.
8. Huberlant S., Fernandez H., Vieille P., Khrouf M., Ulrich D., de-Tayrac R., et al. Application of a Hyaluronic Acid Gel after Intrauterine Surgery May Improve Spontaneous Fertility: A Randomized Controlled Trial in New Zealand White Rabbits. *PLoS ONE*. 2015; 10(5): e0125610.
9. Zhang Y., Lin X., Dai Y., Hu X., Zhu H., Jiang Y., et al. Endometrial stem cells repair injured endometrium and induce angiogenesis via AKT and ERK pathways. *Reproduction*. 2016; 152: 389–402.
10. Xu H., Xu J., Zhang S., Zhu Q., Jin B., et al. Temperature-sensitive heparin-modified poloxamer hydrogel with affinity to KGF facilitate the morphologic and functional recovery of the injured rat uterus. *Drug Delivery*. 2017; 24(1), 867–81.
11. Xu, H.-L., Xu, J., Shen, B.-X., Zhang, S.-S., Jin, B.-H., Zhu, Q.-Y., et al. Dual Regulations of Thermosensitive Heparin–Poloxamer Hydrogel Using  $\epsilon$ -Polylysine: Bioadhesivity and Controlled KGF Release for Enhancing Wound Healing of Endometrial Injury. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2017; 9(35): 29580–94.
12. Yanpeng W., Qiongxiao H., Sheng X., Jing S. Establishment of mouse endometrial injury model by curettage or coagulation. *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2017; 46: 186–91.
13. Kim Y., Choi B., Lim J., Kim Y., Kim S., Ku S. Efficient Production of Murine Uterine Damage Model. *Tissue Eng Regen Med*. 2018; 16(2): 119–29.
14. Aaby P., Jensen H., Simondon F., Whittle H. High-titer measles vaccination before 9 months of age and increased female mortality: do we have an explanation? *Semin Pediatr Infect Dis*. 2003; 14: 22032
15. Cai Y., Wu F., Yu Y., Liu Y., Shao C., Gu H., et al. Porous Scaffolds from Droplet Microfluidics for Prevention of Intrauterine Adhesion. *Acta Biomaterialia*. 2018; 15(84): 222–30.
16. Hu J., Song K., Zhang J., Zhang Y., Tan B. Effects of menstrual blood-derived stem cells on endometrial injury repair. *Mol Med Rep*. 2019; 19(2): 813–20.
17. Zhang S., Li P., Yuan Z., Tan J. Platelet-rich plasma improves therapeutic effects of menstrual blood-derived stromal cells in rat model of intrauterine adhesion. *Stem Cell Res Ther*. 2019; 10(1): 61.
18. Li B., Zhang Q., Sun J., Lai D. Human amniotic epithelial cells improve fertility in an intrauterine adhesion mouse model. *Stem Cell Res Ther*. 2019; 10(1): 257.
19. Sun L., Zhang S., Chang Q., Tan J. Establishment and comparison of different intrauterine adhesion modelling procedures in rats. *Reprod Fertil Dev*. 2019; 31(8): 1360–8.
20. Khrouf, M., Morel, O., Hafiz, A., Chavatte-Palmer, P., Fernandez, H. Evaluation of the rabbit as an experimental model for human uterine synechia. *J. Hum. Reprod. Sci*. 2012; 5(2): 175–80.
21. Hooker A., de Leeuw R., van de Ven P., Bakkum E., Thurkow A., Vogel N., et al. Prevalence of intrauterine adhesions after the application of hyaluronic acid gel after dilatation and curettage in women with at least one previous curettage: short-term outcomes of a multicenter, prospective randomized controlled trial. *Fertil. Steril*. 2017; 107(5): 1223–31.
22. Kim Y., Park K., Kim Y., Kim M., Liu H., Rosenwaks Z., et al. Synergistic regenerative effects of functionalized endometrial stromal cells with hyaluronic acid hydrogel in a murine model of uterine damage. *Acta Biomater*. 2019; 15(89): 139–51.
23. Lin, X., Zhang, Y., Pan, Y., He, S., Dai, Y., Zhu, B., et al. (2018). Endometrial stem cell-derived granulocyte-colony stimulating factor attenuates endometrial fibrosis via sonic hedgehog transcriptional activator Gli2 $\uparrow$ . *Biology of Reproduction*. 2018; 98(4): 480–90.
24. Jang, H., Myoung, S., Choe, J., Kim, T., Cheon, Y., Kim, Y., et al. Effects of Autologous Platelet-Rich Plasma on Regeneration of Damaged Endometrium in Female Rats. *Yonsei Medical Journal*. 2017; 58(6): 1195.
25. Xiangzhen W., Nana Ma., Qiannan S., Chenlingzi H., Yanmei L., Xin Lu. Elevated NF- $\kappa$ B signaling in Asherman syndrome patients and animal models. *Oncotarget*. 2017; 8: 15399–406.
26. Kilic S., Yuksel B., Pinarli F., Albayrak A., Boztok B., Delibasi T. Effect of stem cell application on Asherman syndrome, an experimental rat model. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2014; 31(8): 975–82.
27. Römer T., Müller J., and Foth D. Hydrothermal ablation. A new simple method for coagulating endometrium in patients with therapyresistant recurring hypermenorrhea. *Contrib. Gynecol. Obstet*. 2000; 20: 154–60.
28. Xiao L., Song Y., Huang W., Yang S., Fu J., Feng X., et al. Expression of SOX2, NANOG and OCT4 in a mouse model of lipopoly-saccharide-induced acute uterine injury and intrauterine adhesions. *Reprod. Biol. Endocr*. 2017; 15(1): 1423.
29. Liu F., Zhu Z.-J., Li P., He Y. Creation of a female rabbit model for intrauterine adhesions using mechanical and infectious injury. *Journal of Surgical Research*. 2013; 183(1): 296–303.
30. Kaya C., Sever N., Cengiz H., Yıldız Ş., Ekin M., Yaşar, L. A randomized controlled study of the efficacy of misoprostol and hyaluronic acid in preventing adhesion formation after gynecological surgery: a rat uterine horn model. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2014; 176: 44–9.
31. Hu J., Zeng B., Jiang X., Hu L., Meng Y., Zhu, Y., et al. The expression of marker for endometrial stem cell and fibrosis was increased in intrauterine adhesions. *Int. J. Clin. Exp. Pathol*. 2015; 8(2): 1525–34.
32. Gargett C., Schwab K., Deane, J. Endometrial stem/progenitor cells: the first 10 years. *Hum. Reprod. Update*. 2016; 22(2): 137–63.
33. Miyazaki K., Maruyama T. Partial regeneration and reconstruction of the rat uterus through recellularization of a decellularized uterine matrix. *Biomaterials*. 2014; 35: 8791–800.
34. Wiesenfeld H., Hillier SL., Krohn M., Amortegui A., Heine R., Landers D., Sweet R. Lower genital tract infection and endometriosis: insight into subclinical pelvic inflammatory disease. *Obstet. Gynecol*. 2002; 100 (3): 456–63.

35. Atkins H., Bharadwaj M., O'Brien Cox A., Furdui C., Appt S., Caudell D. Endometrium and endometriosis tissue mitochondrial energy metabolism in a nonhuman primate model. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2019; 17(1): 7.
36. Kuznetsova A.V. Chronic endometritis. *Arkhiv patologii*. 2000; 3: 48–52. (in Russian)
37. Aylamazyan E.K., Gzgyan A.M., Savinov P.A. et al. The endometrial implants reaction after the experimental mechanical tissue damage. *Zurn. Akusherstva i zhenskikh bolezney*. 2012; LXI(3): 24–30. (in Russian)
38. Li, R., Maimai, T., Yao, H., Liu, X., He, Z., Xiao, C., Xie, G. (2019). Protective effects of polydatin on LPS-induced endometritis in mice. *Microbial Pathogenesis*, 137, 103720. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103720>
39. Hu, X., Li, D., Wang, J., Guo, J., Li, Y., Cao, Y., Fu, Y. (2018). Melatonin inhibits endoplasmic reticulum stress-associated TXNIP/NLRP3 inflammasome activation in lipopolysaccharide-induced endometritis in mice. *International Immunopharmacology*, 64, 101–109. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2018.08.028>
40. Liang, Y., Shen, T., Ming, Q., Han, G., Zhang, Y., Liang, J., & Zhu, D. (2018). Alpinetin ameliorates inflammatory response in LPS-induced endometritis in mice. *International Immunopharmacology*, 62, 309–312. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2018.07.010>
41. Zhao, G., Zhang, T., Wu, H., Jiang, K., Qiu, C., & Deng, G. (2019). MicroRNA let-7c Improves LPS-Induced Outcomes of Endometritis by Suppressing NF- $\kappa$ B Signaling. *Inflammation*, 42(2), 650–657. <https://doi.org/10.1007/s10753-018-0922-4>
42. Wu, Haichong, Zhao Gan, Kangfeng Jiang, Chengye Li, Changwei Qiu, and Ganzhen Deng. (2016). Engeletin alleviates lipopolysaccharide-induced endometritis in mice by inhibiting TLR4-mediated NF- $\kappa$ B activation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 64 (31): 6171–78. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b02304>.
43. Zhang, H., Wu, Z., Yang, Y., Shaukat, A., Yang, J., Guo, Y., Shi, D. (2019). Catalpol ameliorates LPS-induced endometritis by inhibiting inflammation and TLR4/NF- $\kappa$ B signaling. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B*, 20(10), 816–27. doi:10.1631/jzus.b1900071
44. Guo, J., Wang, Y., Jiang, P., Yao, H., Zhao, C., Hu, X., Shen, H. (2019). Sodium butyrate alleviates lipopolysaccharide-induced endometritis in mice through inhibiting inflammatory response. *Microbial Pathogenesis*, 103792. doi:10.1016/j.micpath.2019.103792
45. Zhang, Z., Guo, Y., Liu, Y., Li, C., Guo, M., & Deng, G. (2017). IFN- $\tau$  Displays Anti-Inflammatory Effects on Staphylococcus aureus Endometritis via Inhibiting the Activation of the NF- $\kappa$ B and MAPK Pathways in Mice. *BioMed Research International*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/23350482>
46. Hu, X., Guo, J., Xu, M., Jiang, P., Yuan, X., Zhao, C., Fu, Y. (2019). Clostridium tyrobutyricum alleviates Staphylococcus aureus -induced endometritis in mice by inhibiting endometrial barrier disruption and inflammatory response. *Food & Function*. <https://doi.org/10.1039/c9fo00654k>
47. Jiang, K., Chen, X., Zhao, G., Wu, H., Mi, J., Qiu, C., Deng, G. (2017). IFN- $\tau$  plays an anti-inflammatory role in staphylococcus aureus-induced endometritis in mice through the suppression of NF- $\kappa$ B pathway and MMP9 expression. *Journal of Interferon and Cytokine Research*, 37(2), 81–89. <https://doi.org/10.1089/jir.2016.0058>
48. Wang, X., Yuan, T., Yin, N., Ma, X., Zhang, Z., Zhu, Z., Deng, G. (2018). Luteololide Protects the Uterus from Staphylococcus aureus-Induced Inflammation, Apoptosis, and Injury. *Inflammation*, 41(5), 1702–1716. <https://doi.org/10.1007/s10753-018-0814-7>
49. Liu, Y., Qiu, C., Li, W., Mu, W., Li, C., & Guo, M. (2016). Selenium Plays a Protective Role in Staphylococcus aureus-Induced Endometritis in the Uterine Tissue of Rats. *Biological Trace Element Research*, 173(2), 345–353. <https://doi.org/10.1007/s12011-016-0659-6>
50. Asano, K., Narita, K., Hirose, S., & Nakane, A. (2018). Contribution of toxic shock syndrome toxin-1 to systemic inflammation investigated by a mouse model of cervicovaginal infection with Staphylococcus aureus. *Medical Microbiology and Immunology*, 207(5–6), 297–306. <https://doi.org/10.1007/s00430-018-0551-4>
51. Cuevas, M., Cruz, M.L., Ramirez, A.E., Flores, I., Thompson, K.J., Bayona, M., Appleyard, C.B. (2018). Stress During Development of Experimental Endometriosis Influences Nerve Growth and Disease Progression. *Reproductive Sciences*, 25(3), 347–57. <https://doi.org/10.1177/1933719117737846>
52. Hernandez, S., Cruz, M.L., Seguinot, I.I., Torres-Reveron, A., & Appleyard, C.B. (2017). Impact of Psychological Stress on Pain Perception in an Animal Model of Endometriosis. *Reproductive Sciences*, 24(10), 1371–81. <https://doi.org/10.1177/1933719116687655>
53. Hernandez, S., Cruz, M.L., Torres-Reveron, A., & Appleyard, C.B. (2015). Impact of physical activity on pain perception in an animal model of endometriosis. *Journal of Endometriosis*, 7(3), 100–108. <https://doi.org/10.5301/je.5000231>
54. Appleyard, C.B., Cruz, M. L., Hernández, S., Thompson, K.J., Bayona, M., & Flores, I. (2015). Stress management affects outcomes in the pathophysiology of an endometriosis model. *Reproductive Sciences*, 22(4), 431–441. <https://doi.org/10.1177/1933719114542022>
55. Cuevas, M., Flores, I., Thompson, K.J., Ramos-Ortolaza, D.L., Torres-Reveron, A., & Appleyard, C.B. (2012). Stress exacerbates endometriosis manifestations and inflammatory parameters in an animal model. *Reproductive Sciences*, 19(8), 851–862. <https://doi.org/10.1177/1933719112438443>

#### Сведения об авторах:

**Денисова Юлия Вадимовна**, студентка 5-го курса Международной школы «Медицина будущего» Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовского Университета), e-mail: yuliya.sheveleva.97@mail.ru;

**Мандра Екатерина Владимировна**, студентка 5-го курса Международной школы «Медицина будущего» Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовского Университета), e-mail: emandra97@mail.ru;

**Люндуп Алексей Валерьевич**, канд. мед. наук, директор департамента по направлению «Фармацевтическая отрасль» АО «Национальная инжиниринговая корпорация», e-mail: lyundup@gmail.com;

**Александров Леонид Семёнович**, доктор мед. наук, проф. каф. акушерства и гинекологии № 1 Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовского Университета), e-mail: leonid.aleks@bk.ru;

**Ищенко Анатолий Иванович**, доктор мед. наук, проф., директор клиники акушерства и гинекологии им. И.Ф. Снегирёва Первого МГМУ им. И. М. Сеченова, зав. каф. акушерства и гинекологии № 1 Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовского Университета), e-mail: liubella.2011@mail.ru;

**Никонов Андрей Павлович**, доктор мед. наук, проф. каф. акушерства и гинекологии № 1 Первого МГМУ им. И. М. Сеченова (Сеченовского Университета), e-mail: nikonov2ao@yandex.ru