

И. А. Верес¹, Т. Э. Владимирская¹, С. А. Руткевич²,
О. Я. Середя³, П. Г. Пигуль³

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ПОСЛЕРОДОВОГО ЭНДОМЕТРИТА НА КРЫСАХ

УО «Белорусский государственный медицинский университет»,¹

УО «Белорусский государственный университет»,²

УЗ «Городской клинический родильный дом № 2» г. Минск³

Воспалительный процесс любой локализации сопровождается повышением ферментативной активности в очаге воспаления и крови, что является важным патогенетическим звеном и в развитии и в исходе воспаления в матке.

Осуществлено экспериментальное моделирование эндометрита у крыс ($n = 15$) с помощью внутриматочного введения липополисахарида (ЛПС) *Escherichia coli* в дозе 250 мкг/0,05 мл ЛПС. Комплексную верификацию созданной модели проводили с помощью клинического (на 1-е и 3-е сутки наблюдения), гистологического (на 1 и 3-е сутки) и электрогистерографического (на 1-е и 3-е сутки) исследований.

Выявлены электрогистерографические признаки эндометрита: снижение сократительной функции матки в виде уменьшения амплитуды сократительных потенциалов в 2,2 раза, частоты их возникновения и удлинения паузы между ними по сравнению со здоровыми послеродовыми животными. Морфологически распространение воспалительной реакции на эндометрий, в первую очередь, происходит в местах его контакта со слизистой, в которой первоначально формируется очаг воспаления. Затем воспаление распространяется с прилегающих зон пораженного эндометрия на миометрий, что соотносится с развитием гипотонии матки животных.

Комплексная верификация экспериментальной модели послеродового эндометрита подтвердила ее валидность, что в дальнейшем позволяет использовать модель для разработки нового комплексного метода лечения пациентов.

Ключевые слова: послеродовый эндометрит, эксперимент, крысы, микробы.

I. Veres, T. Vladimirskaia, S. Rutkevich, O. Sereda, P. Pigul

EXPERIMENTAL MODEL OF POSTPARTUM ENDOMETRITIS IN RATS

The inflammatory process of any localization is accompanied by an increase in enzymatic activity in the inflammation site and blood, which is an important pathogenetic link in the development and outcome of inflammation in the uterus. Experimental modeling of endometritis in rats ($n = 15$) was performed using intrauterine administration of *Escherichia coli* lipopolysaccharide (LPS) at a dose of 250 μ g/0.05 ml LPS. Comprehensive verification of the created model was performed using clinical (on the 1st and 3rd days of observation), histological (on the 1st and 3rd days) and electrohysterographic (on the 1st and 3rd days) studies.

Electrohysterographic signs of endometritis were revealed: a decrease in the contractile function of the uterus in the form of a 2.2-fold decrease in the amplitude of contractile potentials, the frequency of their occurrence and an extension of the pause between them compared to healthy postpartum animals. Morphologically, the spread of the inflammatory reaction to the endometrium primarily occurs in the areas of its contact with the mucous membrane, in which the inflammation focus is initially formed. Then the inflammation spreads

from the adjacent areas of the affected endometrium to the myometrium, which correlates with the development of uterine hypotension in animals. Comprehensive verification of the experimental model of postpartum endometritis confirmed its validity, which further allows using the model to develop a new complex method of treating patients.

Key words: *postpartum endometritis, experiment, rats, microbes.*

Актуальность проблемы обусловлена высокой медико-социальной значимостью и практической направленностью [1, 2]. Сохранение репродуктивного здоровья женщин – приоритетная задача государства. По данным Всемирной организации здравоохранения в мире ежегодно от гнойно-септических осложнений погибает 150 000 родильниц. Послеродовой эндометрит (ПЭ) занимает лидирующее положение в структуре перинатальных осложнений и является наиболее частой причиной госпитализации родильниц. Длительно персистирующий воспалительный процесс при ПЭ, трудно поддающийся лечению, сопровождается торпидным течением, развитием интоксикации и анемии, что утяжеляет клиническое состояние пациентов и удлиняет сроки лечения. В классификациях ВОЗ и МКБ X пересмотра субинволюцию матки относят в рубрику O90.8 (другие уточненные послеродовые осложнения) и рассматривают как самостоятельное осложнение пуэрперия, а послеродовой эндометрит в рубрику O85.0 (послеродовой сепсис). Частота послеродовой субинволюции матки согласно отчетам Комитета по здравоохранению г. Минска за 2020–2023 гг. составила примерно 15–18 % от всех родов. По данным годовых отчетов послеродового отделения УЗ «3-я ГКБ имени Е. В. Клунова» г. Минска за 2020–2023 гг. заболеваемость инфицированной субинволюцией матки (эндометрит) с сопутствующей хирургической санацией маточной полости составляла около 5 %. В настоящее время достаточно подробно изучен спектр бактериальных агентов послеродового инфекционного процесса. По результатам исследования М. Е. Шляпникова (2015), к основным возбудителям заболевания в современных условиях относятся *Escherichia coli* (35,1 %), *Staphylococcus spp.* (32 %), *Enterococcus spp.* (16,2 %). По данным Верес И. А. (2023) среди условно-патогенных возбудителей эндометрита, выделенных из полости матки, наиболее часто встречается *Escherichia coli* (69,5 %), среди патогенных – *Klebsiella pneumoniae* (19,4 %) и *Proteus mirabilis* (13,9 %). С данными возбу-

дителями ассоциированы инфекции мочевыводящих путей у беременных и родильниц, послеродовой сепсис и послеоперационный перитонит. Установлено, что более 50 % серотипов *Escherichia coli* резистентны к препаратам пенициллинового и цефалоспоринового ряда, которые широко используются при лечении беременных и родильниц, что затрудняет своевременное назначение эффективных этиотропных антибиотиков и часто сопровождается их неоднократной заменой.

Формирование в полости послеродовой матки раневого процесса обуславливает поиск эффективных методов профилактики вторичного инфицирования и деструктивно-воспалительных изменений полости матки при ее субинволюции. Одним из основных патогенетических механизмов развития инфекционного воспалительного процесса является запуск избыточного тканевого протеолиза, что сопровождается повышением ферментативной активности лизосомальных ферментов гранулоцитов и мононуклеарных фагоцитов в очаге воспаления и периферическом кровотоке, нарастанием синдрома интоксикации, деструктивно-некротическим и гнойно-септическим повреждением тканей эндометрия.

В современном научном мире эксперименты на лабораторных животных являются неотъемлемой частью большинства медицинских научных исследований. В настоящее время созданы экспериментальные модели послеродового эндометрита (W. Shen, X. Ma, X. Ding; 2022) с использованием липополисахаридов мембран грамотрицательных бактерий, в том числе кишечной палочки. Экстраполяция на экспериментальную модель эндометрита принципов лечения инфекционно-воспалительного процесса позволит обосновать эффективность проводимых лечебно-профилактических мероприятий. Следовательно, большой научно-практический интерес представляет изучение активности лизосомальных ферментов на системном и локальном уровнях, а также поиск эффективных методов их медикаментозной инактивации в комплексе с антибактериаль-

ной терапией послеродовой инфекции матки для предупреждения деструктивно-некротического повреждения матки. Разработка комплексного метода медицинской профилактики послеродовых осложнений позволит повысить эффективность медикаментозной коррекции вторичных инфекционно-воспалительных изменений у родильниц при инфицированной субинволюции матки.

Цель исследования – осуществить экспериментальное моделирование послеродового эндометрита и провести клинко-гистологическую верификацию созданной модели для усовершенствования метода консервативного лечения пациентов с данной патологией.

Материал и методы. Эксперимент проводили на 15 половозрелых белых беспородных крысах (послеродовые самки, масса тела 245 ± 30 г), содержащихся в стационарных условиях вивария на биологического факультета Белорусского государственного университета (БГУ) в соответствии с принципами, изложенными в постановлении Межпарламентской ассамблеи государств-участников Содружества независимых государств 31.10.2007 № 29-17 «О модельном законе «Об обращении с животными». До начала эксперимента животные находились под карантинным наблюдением в течение двух недель в виварии. Для эксперимента отбирали активных животных с гладким, блестящим шерстным покровом, нормальной окраской видимых слизистых оболочек, охотно поедающих корм. Во время исследования все животные находились в идентичных условиях содержания: по 1–2 особи в клетках, естественное освещение помещения, температура воздуха 20–22 °С, постоянный доступ к воде и пище. Эксперимент начинали в одно и то же время суток – утром, учитывая хронобиологическую зависимость большинства физиологических и биохимических процессов в организме.

Перед моделированием для создания седативного эффекта внутривентрально животным вводили раствор тиопентала натрия в дозе 4 мг/100 г. Затем в область матки выполнялась чрезвлагалищная инъекция ЛПС 250 мкг/0,05 мл. После проведения манипуляции животные находились в индивидуальных клетках со свободным доступом к пище и воде.

Проводилась комплексная верификация экспериментальной модели, включающая кли-

ническую и гистологическую интерпретацию данных. Динамическое наблюдение за состоянием животных проводили через 24, 72 часов с оценкой сократительной функции матки, термометрии и ЭКГ.

Регистрировали сократительную активность матки животных. Для этого у всех животных выполняли лапаротомию: у 5-ти животных контрольной группы – в день исследования, у 5-ти животных основной группы 1-й подгруппы – через 24 часа после создания модели, у 5-ти животных основной группы 2-й подгруппы – через 72 часа после создания модели. Кишечные петли извлекали, покрывали вазелиновым маслом во избежание подсыхания. Ободочную кишку, мочевой пузырь смещали латерально, освобождая переднюю стенку матки. В процессе регистрации сокращений матки электрогистерографию (ЭГГ) выполняли с помощью прижимных биполярных хлорсеребряных электродов, один из которых размещали на роге матки, заземляющий электрод располагали контрлатерально под кожей. Исследовали следующие параметры: 1) амплитуду сократительного потенциала (СП), 2) длительность СП, 3) частота электрофизиологического покоя (с), 4) частоту осцилляций в секунду (Гц).

Гистологическое исследование эндо- и миометрия проводили на 1-е и 3-е сутки наблюдения после создания модели. Взятие материала на гистологическое исследование проводили в день выведения животного из эксперимента в соответствующие сроки наблюдения. Для этого на передней поверхности брюшка крысы удаляли шерсть, рассекали кожу, апоневроз с отсечением рогов матки. Фрагменты тканей помещали в маркированные флаконы с 10 % раствором формалина для фиксации, затем в течение 24 часов, подвергали бескислотной декальцинации в растворе Трилона Б. После завершения декальцинации материал заливали парафином, изготавливали гистологические срезы тканей и окрашивали их гематоксилин-эозиновым красителем. Визуальную оценку окрашенных препаратов толщиной 5 мкм проводили путем световой микроскопии с помощью микроскопа Motic Panthera Series (Гонконг).

Анализ полученных данных проводился с помощью статистического метода исследования (пакеты приложений Microsoft Office XP и программы Statistica 10).

Результаты и их обсуждение. Нами установлено, что несколько бактерий участвуют в патогенезе послеродового эндометрита [3]. *Escherichia coli* является наиболее распространенным патогеном эндометрита [4]. Липополисахарид (ЛПС) является эндотоксическим компонентом *Escherichia coli* и может стимулировать воспалительную реакцию, что приводит к выработке провоспалительных цитокинов, таких как фактор некроза опухоли (ФНО- α), интерлейкины (ИЛ-6, ИЛ-1 β). ЛПС является важным компонентом внешней мембраны грамотрицательных бактерий и может способствовать образованию гнойно-септического процесса урогенитального тракта [5]. ЛПС попадает в организм и накапливает нейтрофилы для высвобождения воспалительных цитокинов. Модели животных с эндометритом, вызванным ЛПС, широко использовались учеными-экспериментаторами для оценки эффективности терапии эндометрита и других воспалительных заболеваний [5]. При выборе способа создания экспериментальной модели мы руководствовались прежде всего этиопатогенетиче-

скими особенностями формирования изучаемого патологического процесса, в связи с этим выбрали внутриматочное введение ЛПС, которые нарушают инволюцию послеродовой полости матки с развитием воспалительных изменений в эндометриометрии. Кроме того, этот способ малоинвазивен и технически не сложен. За основу был выбран известный эксперимент по воспроизведению воспалительного процесса в полости матки животных, который заключался в однократном внутриматочном введении ЛПС и был пролонгирован во времени. Нами модифицирован предложенный метод: использовали препарат ЛПС с дозировкой 0,5 мл/3,5 мг при однократном введении, что позволило оценить результат через 24 и 72 часа наблюдения.

На рисунках 1–3 представлены результаты сократительной активности животных контрольной группы, а также на 1-е и 3-е сутки экспериментального моделирования. В контрольной группе при регистрации сократительной активности рога матки возникали серии СП, средняя амплитуда которых составляла

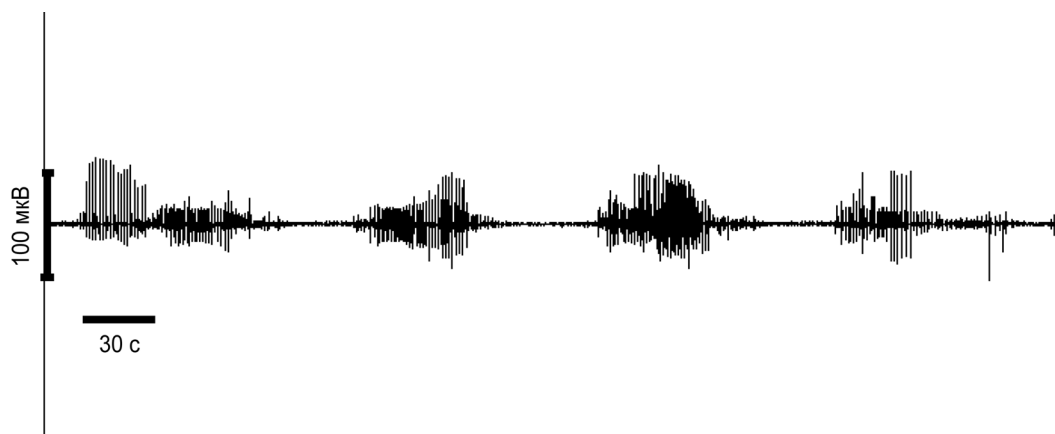


Рисунок 1. Пример сократительной активности матки крысы в контрольной группе

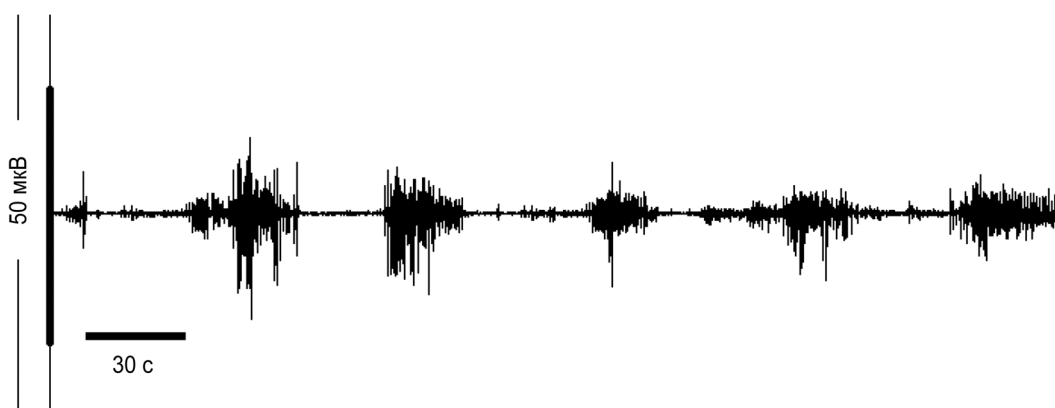


Рисунок 2. Пример сократительной активности матки крысы через 24 часа после создания модели

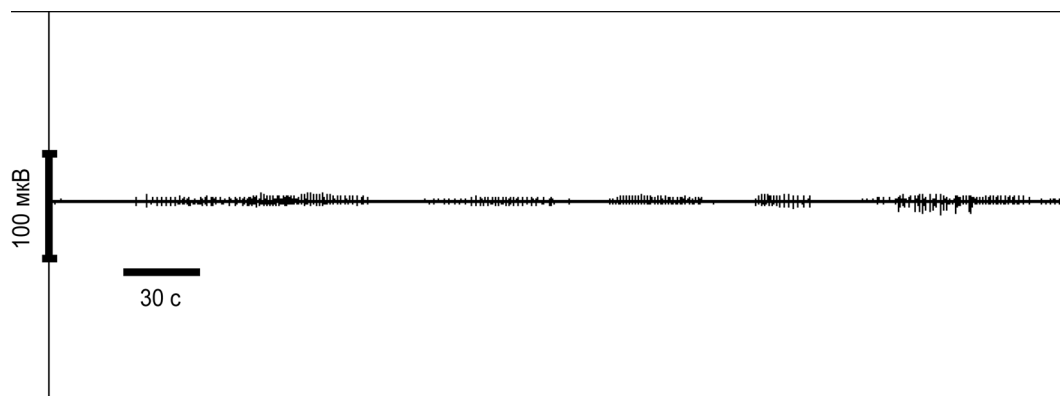


Рисунок 3. Пример сократительной активности матки крысы через 72 часа после создания модели



Рисунок 4. Рога матки крысы – значительно выраженное полнокровие органа и гиперемия органа

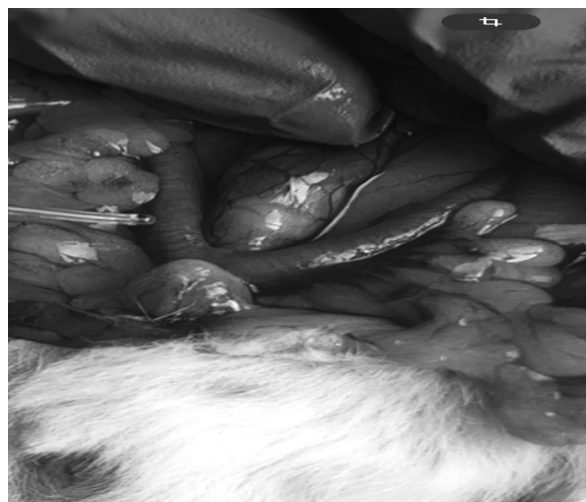


Рисунок 5. Рога матки крысы – отек и гиперемия органа

92 ± 8,3 мкВ, период отсутствия СП (период покоя) составлял 58 ± 6,1 с, средняя частота осцилляций составляла 4 ± 0,6 Гц (рисунок 1). Спустя 24 часа воздействия ЛПС регистрировали значительное снижение сократительной активности матки, которое выражалось в уменьшении ее амплитудно-временных характеристик. Амплитуда СП уменьшалась в 2,2 раза по сравнению с контрольной группой и составила 42 ± 2,3 ($p = 0,002$), длительность периода развития СП – 28 ± 3,1 с, длительность периода покоя 56 ± 6,4 с (рисунки 2, 3). Спустя часа персистенции ЛПС, помещенного в послеродовые пути крысы, мы наблюдали изменение сократительной активности матки: амплитуда достоверно уменьшалась в 3,8 раза и составила 24 ± 2,3 ($p = 0,001$), длительность периодов отсутствия СП была в диапазоне 76 ± 3,2 с ($p = 0,032$).

Нами было установлено, что модель послеродового эндометрита вызывает достаточно сильное угнетение сократительной активности

матки. Следует отметить, что изменения электрической активности сопровождались увеличением диаметра рогов матки и их гиперемией (рисунок 4).

На 3-е сутки наблюдения сохраняется отек, гиперемия органа, жидкость в полости матки при ее вскрытии – воспалительный выпот, обусловленный персистенцией патогенной флоры в полости матки (рисунок 5).

Проведено морфологическое исследование биоптатов матки в сравниваемых группах, которые получили путем экстирпации матки.

При гистологическом исследовании матки у intactных животных слизистая оболочка представлена однослойным низким эпителием с участками многорядного эпителия (рисунок 6, а); собственный слой неравномерно широкий, представлен клеточно-волоконистой тканью, которая формирует сосочковые выпячивания слизистой оболочки; содержит диффузно разбросанные и неупорядоченно упакованные мелкие железы, выстланные низким

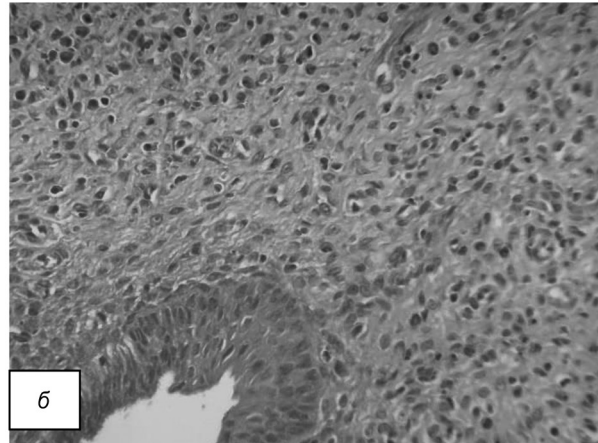


Рисунок 6. Микропрепараты матки интактной крысы контрольной группы (окрашивание гематоксилин-эозином, $\times 100$ (а), $\times 400$ (б))

компактным эпителием с очагами полнокровных капилляров. Среди волокнистых структур собственного слоя преобладают коллагеновые волокна, эластические волокна немногочисленны, образуют сеть (рисунок 6, б). В миометрии четко прослеживается внутренний и наружный продольный слои, между которыми располагается узкий тяж рыхлой волокнистой ткани с фрагментами мышечных пучков и полнокровными капиллярами (средний сосудистый слой). Серозная оболочка (периметрий) представлена узкой полоской рыхлой волокнистой ткани.

Гистологическая картина измененного эндометрия у животных основной группы 1-й подгруппы на 1-е сутки после моделирования эндометрита характеризовалась выраженным отеком, полнокровием эктазированных синусоидных капилляров и артериол (рисунок 7, а). Наиболее часто выявляли морфологические изменения в виде лимфоцитарной инфильтра-

ции, а также отека межмышечных соединительнотканых прослоек с очаговыми геморрагическими кровоизлияниями в тканях параметрия (рисунок 7, б).

У животных основной группы 2-й подгруппы спустя 72 часа после создания модели эндометрита отмечалась выраженная воспалительная лейкоцитарная инфильтрация в поверхностных и глубоких слоях эндометрия на фоне слабого отека стромы, представленная эозинофилами и лимфоцитами, наблюдалось реактивное полипозное разрастание эпителия слизистой оболочки (рисунок 8, а). Синусоидные капилляры были резко расширены, а полнокровный эндотелий капилляров был значительно эктазирован вследствие инфильтрации воспалительными клеточными элементами (рисунок 8, б).

На этой стадии патологического процесса (3-е сутки) также наблюдалось воспалительное поражение миометрия, что обусловило тяжесть

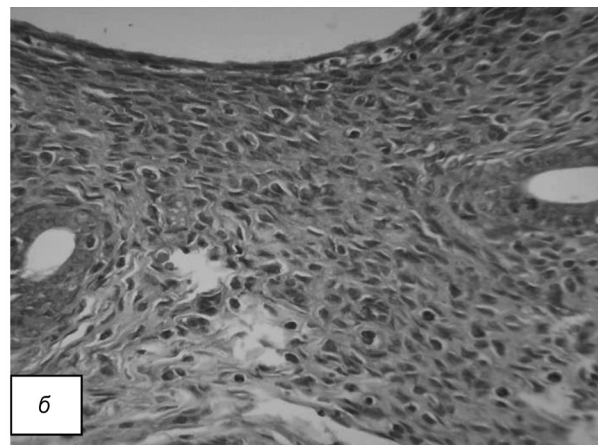


Рисунок 7. Микропрепараты матки крысы основной группы 1-й подгруппы (окрашивание гематоксилин-эозином, $\times 100$ (а), $\times 400$ (б))

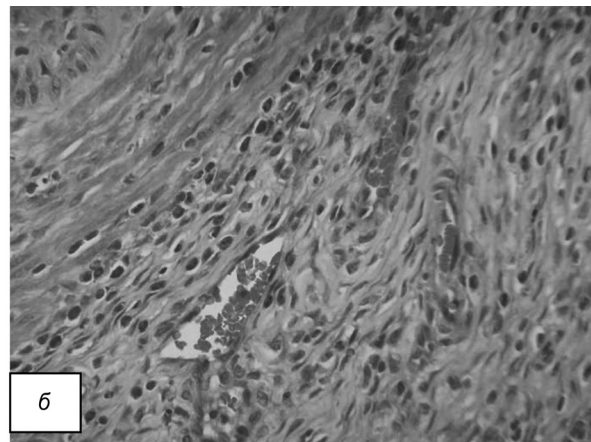


Рисунок 8. Микропрепараты матки крысы основной группы 2-й подгруппы (окрашивание гематоксилин-эозином, $\times 100$ (а), $\times 400$ (б))

клинического состояния животных в виде гиподинамии, отказе от еды и воды, снижении температуры тела до $35,1 \pm 0,3$ С, тахикардии по ЭКГ до $350,4 \pm 12$ ударов в минуту. Отмечалась выраженная гиперемия и отек влагалища, мутные выделения из половых путей. Морфологически распространение воспалительной реакции на эндометрий, в первую очередь, происходит в местах его контакта со слизистой, в которой первоначально формируется очаг воспаления. Затем воспаление распространяется с прилегающих зон пораженного эндометрия на миометрий, что соотносится с развитием гипотонии матки.

С целью усовершенствования метода консервативного лечения эндометрита рожениц проведено воспроизведение данной патологии у 10 крыс с помощью с дозировкой 0,5 мл/3,5 мг при однократном введении, что позволило оценить результат через 24 и 72 часа наблюдения.

Гистологическая, клиническая и электрографическая верификация экспериментального эндометрита у крыс подтвердила валидность созданной модели, что позволяет использовать её для разработки нового комплексного метода лечения у пациентов.

Литература

1. *Epidemiological analysis of peripartum hysterectomy across nine European countries* / A. F. Kallianidis [et al.] // *Acta Obstet. et Gynecol. Scand.* – 2020. – Vol. 99, № 10. – P. 1364–1373. – doi: 10.1111/aogs.13892.
2. *Indications and outcomes of emergency obstetric hysterectomy; a 5-year review at the Bafoussam Regional Hospital, Cameroon* / M. R. Mbakwa [et al.] // *BMC Pregnancy*

Childbirth. – 2021. – Vol. 21, № 1. – P. 323. – doi: 10.1186/s12884-021-03797-3.

3. Верес, И. А. Характеристика микробиоценоза при инфекционном и гипотоническом вариантах послеродового эндометрита / И. А. Верес // *Мед. журн.* – 2021. – № 4. – С. 5–11.

4. Sens, A. Presence of *Escherichia coli*, *Trueperella pyogenes*, α -hemolytic streptococci, and coagulase-negative staphylococci and prevalence of subclinical endometritis / A. Sens, W. Heuwieser // *J. of Dairy Sci.* – 2013. – Vol. 96, № 10. – P. 6347–6354.

5. *Inhibition of neutrophil extracellular traps formation by CL-Amidine alleviates lipopolysaccharide-induced endometritis and uterine tissue damage* / W. Shen, A. Oladejo, X. Ma, W. Jiang, J. Zheng // *Animals.* – 2022. – № 12. – P. 1151.

References

1. *Epidemiological analysis of peripartum hysterectomy across nine European countries* / A. F. Kallianidis [et al.] // *Acta Obstet. et Gynecol. Scand.* – 2020. – Vol. 99, № 10. – P. 1364–1373. – doi: 10.1111/aogs.13892.
2. *Indications and outcomes of emergency obstetric hysterectomy; a 5-year review at the Bafoussam Regional Hospital, Cameroon* / M. R. Mbakwa [et al.] // *BMC Pregnancy Childbirth.* – 2021. – Vol. 21, № 1. – P. 323. – doi: 10.1186/s12884-021-03797-3.
3. Veres, I. A. Charakteristika mikrobiocenoza pri infekcionnom i gipotonicheskom variantah poslerodovogo endometrita / I. A. Veres // *Med. zhurn.* – 2021. – № 4. – S. 5–11.
4. Sens, A. Presence of *Escherichia coli*, *Trueperella pyogenes*, α -hemolytic streptococci, and coagulase-negative staphylococci and prevalence of subclinical endometritis / A. Sens, W. Heuwieser // *J. of Dairy Sci.* – 2013. – Vol. 96, № 10. – P. 6347–6354.
5. *Inhibition of neutrophil extracellular traps formation by CL-Amidine alleviates lipopolysaccharide-induced endometritis and uterine tissue damage* / W. Shen, A. Oladejo, X. Ma, W. Jiang, J. Zheng // *Animals.* – 2022. – № 12. – P. 1151.

Поступила 07.05.2025 г.