

На правах рукописи

Шушакова Екатерина Константиновна

**ИНФЕКЦИЯ, ВЫЗВАННАЯ ВИРУСАМИ ПРОСТОГО ГЕРПЕСА,
У СЕМЕЙНЫХ ПАР С НАРУШЕНИЯМИ РЕПРОДУКТИВНОЙ
ФУНКЦИИ: ОБОСНОВАНИЕ ПОДХОД К ВЕДЕНИЮ ПАЦИЕНТОВ**

3.1.22. Инфекционные болезни

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2023

Работа выполнена в Федеральном бюджетном учреждении науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, доцент **Руженцова Татьяна Александровна**

Официальные оппоненты:

Васильев Валерий Викторович – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры инфекционных болезней Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Северо-западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (СЗГМУ им. И.И. Мечникова),

Савенкова Марина Сергеевна – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры клинической функциональной диагностики в педиатрии факультета ДПО Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (РНИМУ им. Н.И. Пирогова).

Ведущая организация:

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Защита диссертации состоится «_____» _____ 2023 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета 64.1.010.01

в Федеральном бюджетном учреждении науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору защиты прав потребителей и благополучия человека по адресу: 111123, г. Москва, ул. Новогиреевская, д. 3а.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Федеральной службы по надзору защиты прав потребителей и благополучия человека и на сайте www.crie.ru

Автореферат разослан «_____» _____ 2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук

Николаева Светлана Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Герпесвирусами заражено более 90% людей всего земного шара [Марданлы С.Г., Симонова Е.Г., Симонова В.В., 2020; ВОЗ 2016]. Ежегодно генитальным герпесом заболевают около 500 000 человек в России, у большинства из них инфекция длительно остается не диагностированной вследствие преобладания субклинических и атипичных форм заболевания. До 70% случаев передачи генитального герпеса происходит при бессимптомном течении инфекционного процесса у инфицированного человека [Кубанов А.А. с соавт., 2021]. Самый высокий уровень заболеваемости регистрируется среди женщин раннего репродуктивного возраста [Исаков В.А. с соавт., 2013].

Герпетическая инфекция вызывает различные воспалительные заболевания половых органов [Викулов Г.Х., Вознесенский С.Л., 2020]. Рассматриваются различные механизмы действия ВПГ, приводящие к бесплодию, а также гибель эмбриона при контакте с инфицированными клетками эндометрия, обусловленная как непосредственной вирусной контаминацией эмбриона, так и опосредованной, за счет усиления цитотоксического звена иммунитета под влиянием ВПГ с последующим нарушением имплантации эмбриона [Исаков В.А., Исаков Д.В., 2021]. Имеются отдельные сведения о высокой частоте распространения ВПГ у мужчин в сперме при идиопатическом бесплодии и корреляции вирусной нагрузки со снижением основных показателей сперматогенеза [Бочарова Е.Н. с соавт., 2006; Брагина Е.Ф. и соавт., 2000].

Таким образом, в настоящее время актуально проведение новых исследований, направленных на изучение влияния герпетической инфекции на репродуктивную функцию инфертильных семейных пар для разработки эффективных алгоритмов обследования и последующего ведения этих пациентов.

Степень разработанности темы

К настоящему времени описана взаимосвязь между присутствием ВПГ 1,2 в эякуляте и бесплодием в браке, невынашиванием беременности и нарушением ранних стадий эмбрионального развития [Кущ А.А. с соавт., 2020; Тюленев Ю.А., 2012]. Есть отдельные сведения о высокой частоте распространения ВПГ 1,2 у мужчин при идиопатическом бесплодии и корреляции вирусной нагрузки с выраженностью изменений показателей спермы [Климова Р.Р., Чичев Е.В., Науменко В.А., 2010]. Проведено изучение лабораторных животных при экспериментальном интравагинальном заражении вирусом простого герпеса, с подтверждением инфицирования и поражением всех клеток яичников, включая фолликулярные клетки, синтезирующие эстрогены и прогестерон, восходящим путем [Абдулмеджидова А.Г., Рог К.В., Кущ А.А., 2014].

В медицинской литературе присутствует большое количество публикаций о типичных проявлениях генитального герпеса на половых

органах [Исаков В.А., Архипова Е.И., 2021], но это далеко не отражает полную картину, развивающуюся при инфицировании ВПГ 1,2 в семейных парах с нарушениями репродуктивной функции. Достаточно полно описаны подходы к диагностике с помощью ИФА для выявления антител Ig M и G к ВПГ 1,2 [Марданлы С.Г., 2017], но они не дают сведений о локализации и выраженности процесса. Рутинный метод ПЦР для выявления ВПГ 1,2 при отсутствии явных герпетических высыпаний оказывается нередко неэффективным для диагностики, что рядом ученых объясняется наличием изолятов ВПГ 1,2 с заменами нуклеотидов в участке связывания праймеров [Сергеев О.В., Бошьян Р.Е., Баринский И.Ф., 2020].

На сегодняшний день в доступных публикациях отсутствуют исследования о распространенности и значимости маркеров инфицирования ВПГ 1,2 в семейных парах с нарушениями репродуктивной функции. Не описана клиническая картина герпетической инфекции, вызывающая бесплодие или случаи остановки развития беременности. Семейные пары с бесплодием обследуются скрининговым методом ПЦР для выявления ВПГ 1,2 в соскобах со слизистой оболочки уrogenитального тракта и методом ИФА для выявления типоспецифических антител классов IgG и IgM. Однако, эти исследования не всегда подтверждают активность вирусов и их наличие в уrogenитальном тракте. Не изучены механизмы повреждений эмбриона при инфицировании генитальным герпесом в семейных парах.

Цель исследования

Обоснование тактики диагностики и терапии при инфекции, вызванной ВПГ 1,2 типов, у инфертильных семейных пар.

Задачи исследования

1. Изучить частоту выявления различных клинических и лабораторных маркеров инфекции, вызванной ВПГ 1,2 типов, у инфертильных семейных пар.
2. Выявить клинико-лабораторные особенности инфекции, вызванной ВПГ 1,2, у женщин и мужчин в семейных парах, имеющих нарушения репродуктивной функции.
3. Выявить особенности хромосомных аномалий хорионов, инфицированных ВПГ 1,2 типов, при неразвивающейся беременности.
4. Разработать алгоритм диагностики и терапии для семейных пар с инфекцией, вызванной ВПГ 1,2 типов, сопровождающейся нарушением репродуктивной функции.

Научная новизна

Получены ранее неизвестные данные о высокой частоте обнаружения различных маркеров активной инфекции ВПГ-1,2 типов у женщин и мужчин из семейных пар с нарушениями репродуктивной функции.

Определена значимость типичных и атипичных клинических симптомов и лабораторных данных, подтверждающих активность ВПГ-1,2 типов в семейных парах с нарушениями репродуктивной функции.

Впервые показано негативное влияние ВПГ-1,2 типов на хромосомный аппарат хориона при неразвивающейся беременности с преимущественным формированием делеции по 22 хромосоме.

Доказана значимость выявления и контроля активности ВПГ 1,2 типов для назначения этиотропной терапии обоим половым партнерам при планировании и ведении беременности для рождения здорового ребенка.

Теоретическая и практическая значимость работы

1. Полученные новые сведения о частоте, клинических и лабораторных особенностях активной герпетической инфекции у обоих половых партнеров из инфертильных семейных пар, влиянии на хромосомный аппарат хориона, существенно дополняют знания о спектре проявлений, вызванных ВПГ-1,2 типов.

2. Определены показания для дополнительного обследования на присутствие и активность ВПГ-1,2 типов у мужчин и женщин из инфертильных семейных пар, что позволит проводить своевременную противовирусную терапию.

3. Выявлены особенности клинических симптомов и лабораторных показателей активной герпетической инфекции у партнеров в инфертильных семейных парах, позволяющие своевременно проводить дополнительную обследования и контролировать эффективность проводимой терапии.

4. Разработанный на основании анализа клинических, лабораторных и инструментальных показателей алгоритм диагностики и терапии активной герпетической инфекции в инфертильных семейных парах позволяет предотвращать инфицирование хориона, сохранить беременность и способствует рождению здорового ребенка.

Методология и методы исследования

Методологическая основа работы спланирована согласно поставленной цели и сформулированным задачам. Объект исследования – семейные пары с симптоматикой аногенитальной герпетической инфекции на фоне нарушений репродуктивной функции. Исследование было проведено путём выполнения 4 последовательных этапов, которые включили в себя отбор пациентов с применением клинических, лабораторных и инструментальных методов обследования, оценку изменений с помощью аналитических и статистических подходов для решения поставленных задач. Исследование выполнено по принципу сплошного скрининга с последующим формированием сравниваемых групп. Исследование является контролируемым, динамическим, проспективным. Полученные данные систематизированы, изложены в главах собственных исследований, на основании чего сформулированы выводы и практические рекомендации.

Положения, выносимые на защиту

1. Активная аногенитальная герпетическая инфекция выявляется у 54% инфертильных семейных пар. Клинические симптомы сопровождаются повышением специфических антител IgA у 90,5% женщин и у 41% мужчин, реже – повышением антител IgM и / или обнаружением ДНК методом ПЦР.

2. Активная аногенитальная герпетическая инфекция среди инфертильных пар у женщин чаще проявляется в атипичной форме (51,6%), а у мужчин – в субклинической форме (45,3%). Для активной аногенитальной герпетической инфекции характерен лимфоцитоз, а у мужчин - и изменения в спермограмме по типу тератозооспермии (96,8%).

3. Вирус простого герпеса, инфицируя хорион, может стать причиной прекращения развития беременности, что в 64% случаев сопровождается хромосомными аномалиями, чаще (53%) – развитием изолированной трисомии по 22-й хромосоме.

4. Назначение этиотропной терапии при активной аногенитальной герпетической инфекции у семейных пар в течение до 12 месяцев мужчинам и женщинам - до наступления беременности, но не менее 1 месяца, снижает частоту выделения вируса, способствует купированию клинико-лабораторных проявлений инфекции, наступлению беременности и рождению здорового ребенка.

Степень достоверности и апробация результатов работы

Степень достоверности полученных результатов основывается на использовании принципов доказательной медицины, наличии репрезентативной выборки пациентов (352 человека), а также на том, что объёмы проведенных исследований (12106) и наблюдений соответствуют поставленным задачам. В работе были использованы адекватные поставленным задачам статистические методы. Выносимые на защиту положения, выводы и практические рекомендации логически обоснованы и аргументированы анализом полученных данных.

Полученные результаты представлены в виде статей, тезисов, докладов на конференциях и конгрессах, внедрены в практику работы врачей инфекционистов, урологов, андрологов, гинекологов, дерматовенерологов и генетиков. Основные положения работы были доложены и обсуждены в рамках: Конгресса «Молекулярная диагностика и биобезопасность 2021» (28–29 апреля 2021 г., Москва), Международной научно-практической конференции «Инфекционные болезни – актуальные вопросы, достижения и инновационные подходы в охране здоровья населения» (25 июня 2021 г., Самарканд), Международной научно-практической конференции «Современные проблемы инфектологии, эпидемиологии, микробиологии и медицинской паразитологии» (22-23 сентября 2021 г., Андижан), Первого всероссийского междисциплинарного конгресса по непрерывному профессиональному образованию работников здравоохранения (1-4 декабря 2022 г., Москва), 9-го Конгресса с международным участием «Контроль и

профилактика инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи» (25-26 ноября 2021 г.), XIV Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням имени академика В.И. Покровского (28–30 марта 2022 г, Москва), Конгресса с международным участием «Молекулярная диагностика и биобезопасность 2022» (27–28 апреля 2022 г, Москва), VIII Межведомственной Научно-Практической конференции «Инфекционные болезни – актуальные проблемы, лечение и профилактика» (19-20 мая 2022 г., Москва).

Диссертация апробирована на заседании апробационного совета Федерального бюджетного учреждения науки «Центральный научно-исследовательский институт Эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека 21.03.2023 года, протокол № 62.

Внедрение результатов работы в практику

Результаты исследования внедрены в работу клинического отдела инфекционной патологии ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, врачей поликлинического звена Медицинского Центра «Городской центр медицинских исследований» (г. Москва) и в программу обучения клинических ординаторов, аспирантов и врачей образовательного центра ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора

Личное участие автора в получении результатов

Автором проведен анализ данных отечественной и зарубежной литературы по выбранной теме, сформулированы цели и задачи исследования, установлена степень ее актуальности и разработанности. Шушакова Е.К. участвовала во всех этапах исследования: в разработке дизайна, формировании выборки групп для наблюдения, сборе анамнеза, проведении осмотров, лабораторных и инструментальных исследований и назначении терапии. Автор лично вела всех пациентов из включенных в исследование семейных пар, проводила анализ, интерпретацию и статистическую обработку данных. На основе полученных результатов автор самостоятельно обосновала и сформулировала выводы, а также практические рекомендации, определила перспективы дальнейшей разработки темы.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертация соответствует шифру научной специальности: 3.1.22 – Инфекционные болезни, как области клинической медицины, изучающей этиологию, особенности клинических проявлений, подходы к диагностике и лечению, прогнозированию исходов инфекционных болезней у человека, в частности, герпетической инфекции в семейных парах с нарушением репродуктивной функции.

Публикации

Соискатель имеет 9 опубликованных работ, в том числе 4 статьи в рецензируемых научных журналах, рекомендованных в перечне научных изданий ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации по профилю специальности «Инфекционные болезни», где представлены основные результаты исследования.

Объем и структура диссертации

Диссертация представлена на 141 странице печатного текста и состоит из следующих разделов: введения, обзора литературы, описания материалов и методов, 4 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Библиографический указатель содержит 160 источников, из них 84 отечественных и 76 зарубежных авторов. Работа проиллюстрирована 28 таблицами, 16 рисунками и содержит 2 клинических примера.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Исследование является контролируемым, динамическим, проспективным, состоящим из 4 этапов, соответствующих задачам (Рисунок 1). Работа была выполнена на базе клинического отдела инфекционной патологии ФБУН «ЦНИИ Эпидемиологии» Роспотребнадзора в 2018 – 2021 гг. Набор пациентов осуществлялся на базе медицинского центра «Городской центр медицинских исследований» г. Москвы (главный врач – Шушакова Е.К.). Лабораторные исследования проводились на лабораторных базах: медико-биологический центр «Пастер» (ген. директор – Миронова Т.В.), ОМДиЭ ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (руководитель направления лабораторных и медицинских услуг – Тиванова Е.В.), лаборатория ООО «Диалаб+» (зав. лабораторией - Навасардян Д.Г.), лаборатория «Прогресс Лаб» (главный врач – Ершова И.Ю.), гистологическая лаборатория «Арчак» (заведующий лабораторией - Дзамуков Р.А.). Ультразвуковое исследование и кольпоскопию проводили в «Городском центре медицинских исследований» г. Москвы (главный врач – Шушакова Е.К.), МРТ исследования - на базе ФГБУ «НМИЦ акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» МЗ РФ, в отделении лучевой диагностики (заведующий отделением - Быченко В.Г.). Гистероскопия и лапароскопия проводились на базе ФГБУ «НМИЦ акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» МЗ РФ, в отделении инновационной онкологии и гинекологии (заведующий отделением - Хабас Г.Н.).

Материалы исследования

Для решения поставленных задач (Рисунок 1) на первом этапе были обследованы 352 пациента (из 176 инфертильных семейных пар) в возрасте от 18 до 45 лет. На основании результатов оценки клинической симптоматики и

результатов лабораторной диагностики на наличие маркёров активности ВПГ-1,2 семейные пары были разделены на 2 группы.

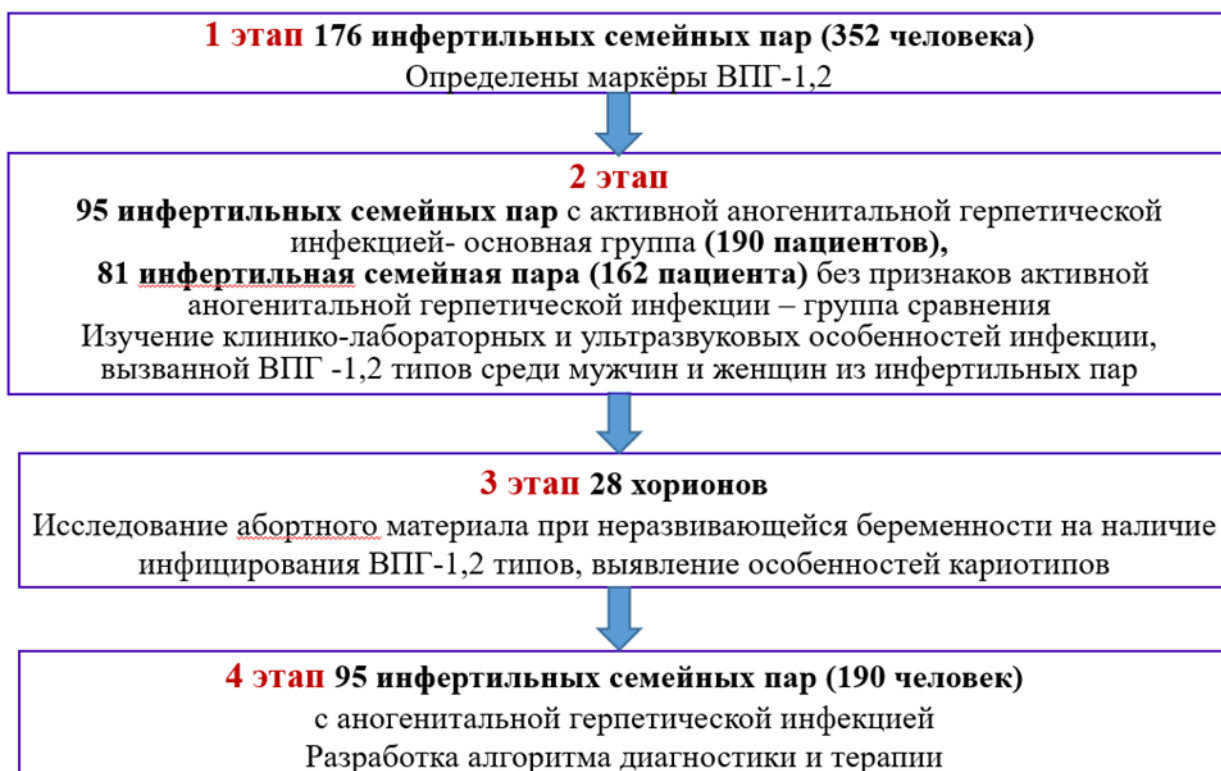


Рисунок 1 – Дизайн исследования

190 пациентов (95 женщин и 95 мужчин из семейных пар), имевших проявления активной аногенитальной герпетической инфекции (ААГИ), вошли в основную группу. В группу сравнения включили 162 пациента (81 женщину и 81 мужчину из семейных пар), не имеющих маркёров активности ВПГ-1,2.

На втором этапе в сравниваемых группах были изучены клинико-лабораторные и ультразвуковые особенности активной аногенитальной герпетической инфекции.

На третьем этапе проведено исследование абортного материала - 28 хорионов, полученных при неразвивающейся беременности, на наличие инфицирования ВПГ-1,2 и выявления особенностей кариотипа.

На четвертом этапе разработан алгоритма диагностики и терапии у 95 семейных пар при наличии ААГИ.

Обязательными критериями для включения в исследование для всех семейных пар было отсутствие беременности при регулярной половой жизни без контрацепции более 1 года и/или невынашивание по типу неразвивающейся беременности, а также подписанное информированное согласие. Критериями для невключения были отказ от подписания информированного согласия или от участия в исследовании; соматическая патология, препятствующая зачатию и вынашиванию беременности;

аномалии развития половых органов, заболевания и проведенные ранее хирургические вмешательства, исключающие возможность беременности.

В сравниваемых группах у всех пациентов проведен анализ жалоб, анамнеза, клинических и лабораторных данных, а также результатов дополнительных ультразвуковых и рентгенологических исследований. Проведено наблюдение в динамике за семейными парами основной группы со сравнительной оценкой эффективности терапии на фоне лечения противовирусными препаратами, назначавшимися в соответствии с действующими Клиническими рекомендациями.

Оценка эффективности подобранной терапии проводилась через 1, 2, 3 месяцев от начала приёма препаратов и продолжалась до момента наступления беременности у женщин, а у мужчин – до завершения беременности супруги. Во время беременности наблюдение за семейными парами продолжали до момента рождения ребенка, с контролем результатов лабораторной диагностики 1 раз в триместр у беременных женщин.

Оцениваемые конечные точки в исследовании: частота наступления беременности, частота рождения здорового ребенка, частота прерывания или неразвивающейся беременности в сравниваемых группах. Дополнительные конечные точки: частота хромосомных аномалий у плодов и частота выявления ВПГ 1,2 в хорионах abortного материала при неразвивающейся беременности в обеих группах.

Таким образом, в соответствии с целью и задачами были сформированы группы семейных пар для последующего анализа результатов обследования и лечения.

Методы исследования

Диагностику проводили с учетом действующих на момент набора групп пациентов Клинических рекомендаций №492 «Простой герпес у взрослых» от 2016 года и Клинических рекомендаций №679 «Аногенитальная герпетическая вирусная инфекция» от 2021 года. У каждого пациента оценивали жалобы; преморбидный фон анкетно-опросным методом, наличие перенесенных и хронических заболеваний в анамнезе; основные назначавшиеся препараты и кратность их курсов; гинекологический и акушерский анамнез у женщин, урологический анамнез у мужчин; социальнo-средовые факторы. У всех пациентов определяли наличие или отсутствие общеинфекционных симптомов (утомляемости, слабости, повышения температуры тела, ознобов, потливости, снижения аппетита) и локализованных проявлений ААГИ (высыпаний, трещин, гиперемии, зуда, болей в области обнаруженных изменений). Лабораторное обследование проводили всем пациентам с применением общеклинических, молекулярно-генетических (ПЦР), серологические, дополнительно - вирусологического, бактериологического, гистологического, иммуногистохимического и цитогенетического методов.

Из общеклинических исследований всем пациентам были выполнены: клинический анализ крови и общий анализ мочи, биохимический анализ крови с определением аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), общего билирубина, глюкозы, общего холестерина, креатинина. Иммуноферментным методом проводили анализ крови на содержание антител (количественно) IgA, IgM и IgG к ВПГ 1,2; IgA, IgM и IgG к ЦМВ инфекции; IgG к вирусу герпеса 6 типа; IgM к VCA, IgG VCA, EA, EBNA вируса Эпштейна-Барр.

Метод ПЦР использовали для детекции бактерий и вирусов. Для исследования у женщин использовали биоматериал, полученный при соскобе из цервикального канала и влагалища. Определяли общую бактериальную массу и количество идентифицированных *Lactobacillus* spp., *Gardnerella vaginalis*, *Prevotella bivia*, *Porphyromonas* spp., *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma* spp., *Candida* spp., *Chlamidia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma genitalium*, а также вирусов: ЦМВ, ВПГ – 1,2 с помощью набора реагентов «Фемофлор скрин» ООО «НПО ДНК-Технология» (Россия). Аналогичная диагностика для мужчин проводилась с помощью набора реагентов «Андрофлор Скрин», ООО «НПО ДНК-Технология» (Россия) в биоматериале, полученном при соскобе из уретры. Определяли общую бактериальную массу и количество идентифицированных *Lactobacillus* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Gardnerella vaginalis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*, *Mycoplasma hominis*, *Enterobacteriaceae* spp., *Enterococcus* spp., *Candida* spp., *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*. Дополнительно проводили исследование на наличие ДНК ВПГ 1,2 и ЦМВ в сперме и/или уретре.

При неразвивающейся беременности исследовали хорионы, полученные из абортного материала, на наличие вирусов ВПГ-1,2 и ЦМВ с помощью наборов реагентов для выделения ДНК: «ДНК-сорб-А-М», «ДНК-сорб-В (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия) и тест-систем для детекции ДНК: «АмплиСенс® HSV I, II-EPh»; "АмплиСенс® CMV- EPh" (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия).

Вирусологическим методом, с учётом имеющихся рекомендаций по проведению лабораторной диагностики инфекционных заболеваний [Акимкин В.Г., Творогова М.Г., 2020], определяли цитопатическое действие (ЦПД) ВПГ-1,2 путём выявления характерных для этого вируса внутриклеточных включений на полном монослое клеток диплоидных фибробластов эмбриона человека (в % на 100 клеток) в течение 5 суток в отделяемом из урогенитального тракта женщин, в сперме у мужчин, а также в хорионах. Для исследования использовали перевиваемую культуру клеток почек зеленой мартышки Vero и фибробластов эмбриона человека, полученную из лаборатории культур тканей ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д. И. Ивановского» Минздравсоцразвития России. Для культивирования Vero использовали среду Игла-МЕМ (ПанЭко, Москва).

Бактериологическим методом осуществляли анализ отделяемого урогенитального тракта на аэробную и анаэробную флору, грибы рода *Candida*.

Микроскопия мазков проводилась с окраской по Грамму из урогенитального тракта у мужчин и женщин. Спермограмму с морфологией проводили по методу Крюгера [ВОЗ, 2010].

Для исключения других возможных причин нарушений репродуктивной функции исследовали уровни гормонов проводили у женщин с оценкой содержания фолликулостимулирующего и лютеинизирующего гормонов, пролактина, эстрадиола, тестостерона, прогестерона 17-ОН, дегидроэпиандростерона, тиреотропного гормона, тироксина (Т4) свободного.

Гистологическое исследование биопсийного материала эндометрия проводили с помощью иммуногистохимического исследования (ИГХ) на наличие ЦМВ, папилломавируса, аденовируса, ВПГ 1,2, энтеровирусов. Тканевые образцы для иммуногистохимического исследования готовили по общепринятой методике. Для визуализации антигенреактивных клеток использовали тест-систему «UltraVision Quanto Detection Sistem» (Thermo Fisher Scientific, UK).

Цитологическое исследование соскоба с шейки матки (эндо- и экзоцервикс) выполняли с окраской по Папаниколау. Цитогенетический анализ для определения кариотипа клеток ворсин хориона проводили с помощью анализа препаратов хромосом из культур клеток, полученных путём их культивирования, с помощью окраски GTG методом (обработка слабым раствором протеолитического фермента трипсина с последующим окрашиванием красителем Гимза) для дифференциального окрашивания хромосом. Анализ кариотипа осуществляли при помощи световой микроскопии с увеличением 1000х и выведением изображений на экран компьютера. Дифференцировка хромосомного аппарата матери и хориона проводилась путём их сравнения.

Электронная микроскопия сперматозоидов (ЭМИС) проводилась с помощью трансмиссионной электронной микроскопии (на аппарате JEM 1400, JEOL, Япония). При исследовании изучалась ультраструктура сперматозоидов, определялись аномалии и наличие вирусных капсидов, которые идентифицировали по морфологическим признакам в ядре и в цитоплазме сперматозоидов.

Для уточнения патологии пациентам проводили инструментальное обследование, которое включало: УЗИ органов малого таза (у мужчин и женщин) на ультразвуковом аппарате HITACHI ALOKA F37 (производство в Японии) на базе «Городской центр медицинских исследований» (главный врач – Шушакова Е.К.); кольпоскопию с помощью аппарата «Сканер МК-300» (совместное производство Германии и Украины) на базе «Городской центр медицинских исследований» (главный врач – Шушакова Е.К.); магнитно-резонансную томографию (МРТ) малого таза у женщин с использованием магнитно-резонансного томографа General Electric Signa 1,5T 9x и МРТ GE

Signa HDxt 3.0T (производство США) на базе ФГУ НЦ акушерства, гинекологии и перинатологии Минздрава России; гистероскопию и лапароскопию у женщин на базе ФГУ НЦ акушерства, гинекологии и перинатологии Минздрава России.

Всего проведено 11105 лабораторных и 1001 инструментальных исследований (всего – 12106 исследований).

Таким образом, всем пациентам было проведено комплексное обследование с применением современных методов лабораторной и инструментальной диагностики в соответствии с поставленной целью и сформулированными задачами исследования.

Статистические методы

В работе применялись методы статистического анализа, рекомендуемые для проведения научных исследований в области медицины, с использованием пакета статистических программ IBM SPSS Statistics, версия 23, WPS Office Excel. Статистическую значимость различий определяли с помощью критерия Хи-квадрат, точного критерия Фишера, оценки шансов и Z-критерия.

Использовали методы вариационной статистики с расчетом средней арифметической (M), ошибки средней (m), среднеквадратичного (σ) и стандартного отклонения (SD) от средней арифметической.

Таким образом, используемые современные методы статистической обработки позволили сделать достоверные выводы.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для определения распространенности герпетической инфекции урогенитального тракта у женщин были оценены жалобы, клинические проявления и лабораторные показатели среди 352 инфертильных семейных пар (у 176 женщин и 176 мужчин репродуктивного периода). Исследование проводили методом сплошного скрининга половых партнеров, обратившихся амбулаторно в медицинское учреждение «Городской центр медицинских исследований» г. Москвы (главный врач – Шушакова Е.К.) с жалобами на отсутствие беременности в течение более 1 года при регулярной половой жизни без применения методов контрацепции.

Как представлено на Рисунке 2, жалобы, которые рекомендуется оценивать для выявления герпетической инфекции согласно Клиническим рекомендациям «Аногенитальная герпетическая инфекция» №679 от 2021 года, были выявлены у 66 (37,5%) женщин и 42 (24,4%) мужчины. При осмотре клинические проявления герпетической инфекции были выявлены у 90 (51,1%) женщин и у 54 (30,7%) мужчин.

При лабораторном обследовании, проведенном в соответствии с Клиническими рекомендациями, действовавшими в период включения пациентов в исследование, «Простой герпес (ПГ) у взрослых» №492 от 2016 года, в 100% случаев выявлены специфические антитела класса IgG к ВПГ-1,2, у 86 (49%) женщин и 39 (22,2%) мужчин обнаружены антитела IgA к ВПГ-

1,2, у 4 (2%) женщин – антитела IgM к ВПГ-1,2. У 12 (6,8%) женщин и у 6 (3,4%) мужчин выделена ДНК ВПГ-1,2 из урогенитального тракта, а также выявлено ЦПД ВПГ-1,2 на культуре клеток у 95 мужчин в сперме (54%) и у 95 женщин из урогенитального тракта (также у 54%), что показано на Рисунке 2.

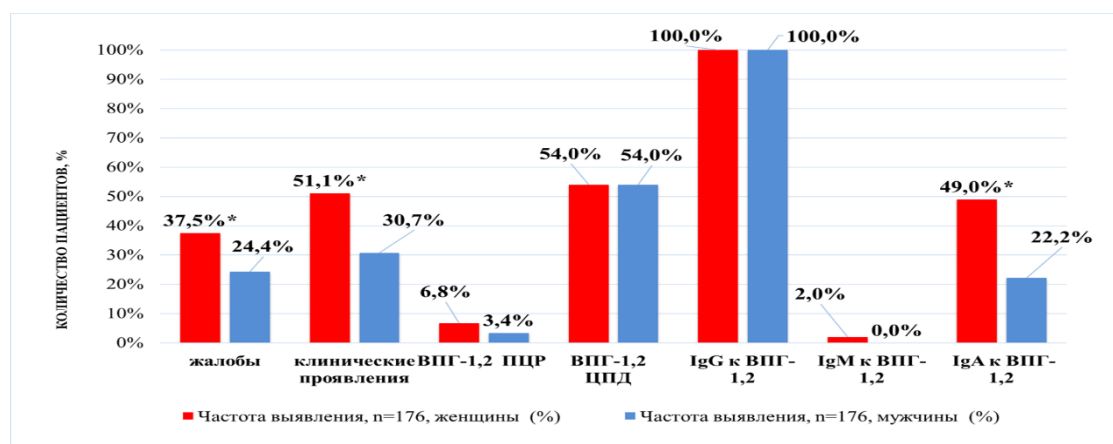


Рисунок 2 - Частота выявления маркеров ВПГ-1,2 у мужчин и женщин из инфертильных семейных пар, %, * - $p < 0,05$

Таким образом, активная АГВИ была выявлена у 54% семейных пар, а клинические проявления инфекционного процесса регистрировались только у 30,7% мужчин и 51,1% женщин, что диктует необходимость комплексного лабораторного обследования инфертильных пар для выявления активности АГВИ.

Для оценки особенностей течения АГВИ у женщин и мужчин было проведено сравнение клинических симптомов, лабораторных данных и результатов дополнительного инструментального обследования в группах женщин и мужчин из семейных пар, в которых выявили лабораторные признаки активной АГВИ: наличие IgA и/или IgM к ВПГ-1,2 и/или ДНК ВПГ-1,2, а также ЦПД ВПГ культуральным методом. В основную группу вошли 95 женщин и 95 мужчин с активной АГВИ, в группу сравнения – 81 женщина и 81 мужчина, не имеющие каких-либо проявлений урогенитальной герпетической инфекции.

При оценке клинических симптомов было выявлено, что статистически значимо чаще жалобы и характерные для активной АГВИ клинические проявления определяли у женщин (в 58,9% и 94,7%) и мужчин из основной группы (44,2% и 25,3%), чем в группе сравнения, что представлено на Рисунке 3 ($p < 0,05$, критерий Хи-квадрат).

При анализе жалоб у женщин в сравниваемых группах выявлено, что наиболее значимыми, указывающих на возможный герпетический процесс в урогенитальном тракте, являются: жжение в области наружных половых органов (НПО) и болезненность при половом контакте (у 48,4%), болезненные мочеиспускания с усилением рези при окончании мочеиспускания (у 30,5%), в 26,3% сочетающиеся с гематурией, пузырьковые высыпания (у 13,7%),

трещины (в 13,7%) и зуд в области ануса (в 8,4%), что представлено на Рисунке 4.

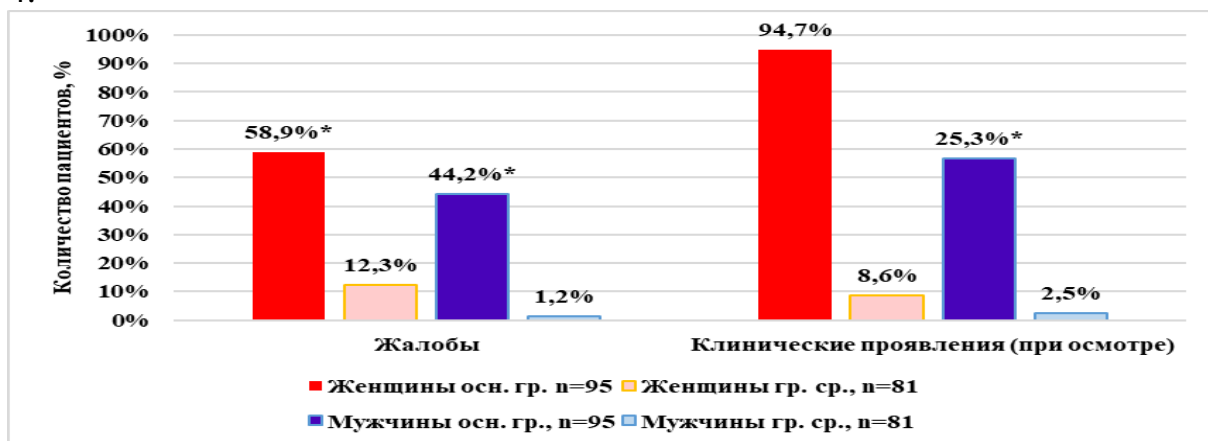


Рисунок 3 - Частота выявления клинических симптомов активной аногенитальной герпетической вирусной инфекции у мужчин и женщин в сравниваемых группах (в %), *- $p < 0,05$.



Рисунок 4 - Частота регистрации жалоб у женщин в сравниваемых группах (в %), *- $p < 0,05$.

У мужчин в сравниваемых группах на фоне активной АГВИ отмечались достоверно значимо жжения в области НПО (в 29,5%), несколько реже - боли в тазовой области (в 25,3%), которые в 21,1% сопровождались парестезией в области лона и бедер, сухость и трещины на головке полового члена (у 24,2%), $p < 0,05$, что показано на Рисунке 5.

Среди перенесенных и имеющих на момент обследования заболеваний достоверно значимо чаще в основной группе женщин и мужчин выявляли ОРВИ 3 и более раз в год, хронический тонзиллит, протрузии межпозвоночных дисков, преимущественно, в поясничном отделе. У женщин в основной группе, достоверно чаще, выявляли эндометриоз (в 60%) и рецидивирующий цистит (в 30,5%), $p < 0,05$, что представлено на Рисунке 6.

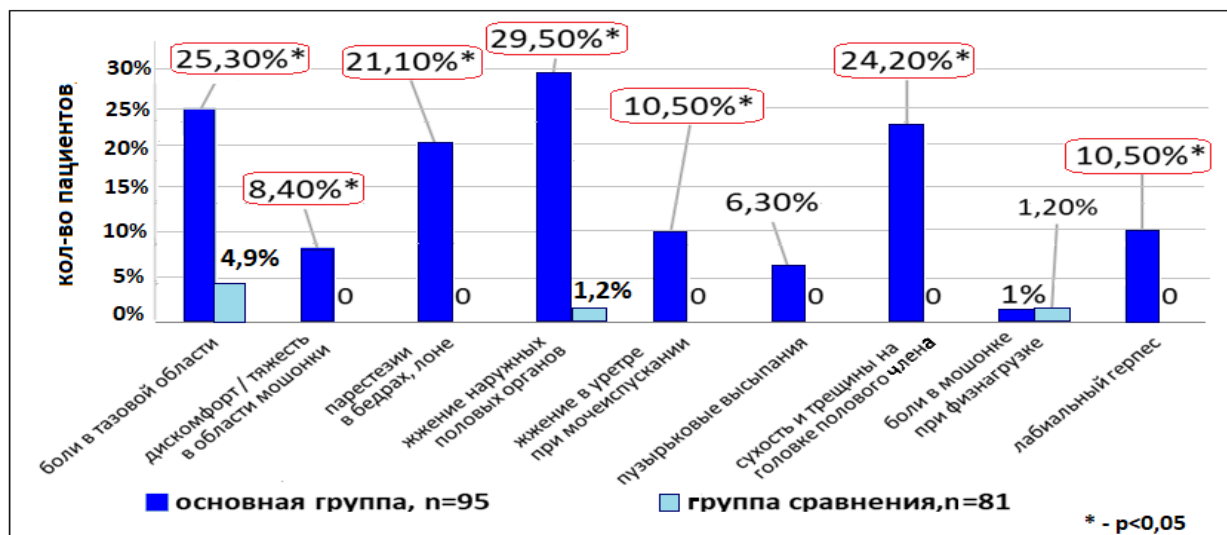


Рисунок 5 - Частота регистрации жалоб у мужчин в сравниваемых группах (в %), *- p<0,05.

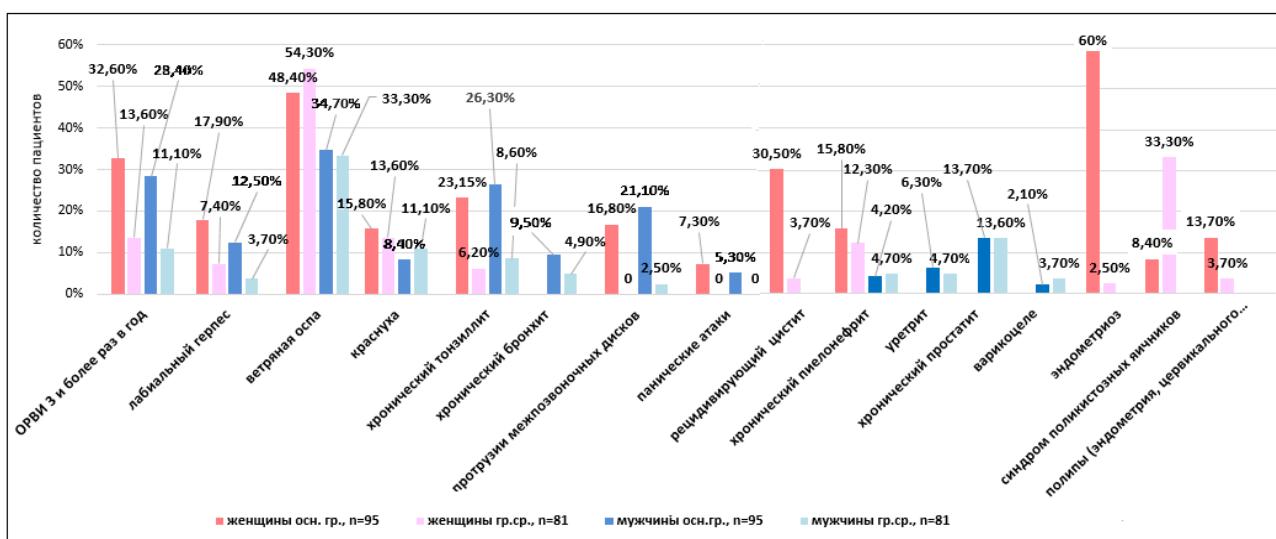


Рисунок 6 - Частота регистрации сопутствующей патологии в сравниваемых группах (в %), *- p<0,05.

При объективном осмотре (Рисунок 7) у пациенток с активной АГВИ достоверно чаще были выявлены везикуло-эрозивные элементы (в 35,8%), из них на наружных половых органах – у 13,7%, на шейке матки – у 22,1%, а также сопутствующая гиперемия шейки матки (у 35,8% женщин основной группы), как с везикуло-эрозивными элементами, так и без них (p<0,05).

Атипичными проявлениями герпетической инфекции, которые встречались только в основной группе, были трещины вульвы и задней спайки (у 15,8%, p<0,001). В основной группе чаще регистрировали контактные кровотечения при осмотре в зеркалах (у 16,8%, p<0,05). При бимануальном осмотре достоверно чаще в основной группе определялась болезненность при пальпации в области уретры. В 76,8% случаев клинические проявления

активной АГВИ сочетались с односторонним увеличением паховых лимфоузлов (Рисунок 7).

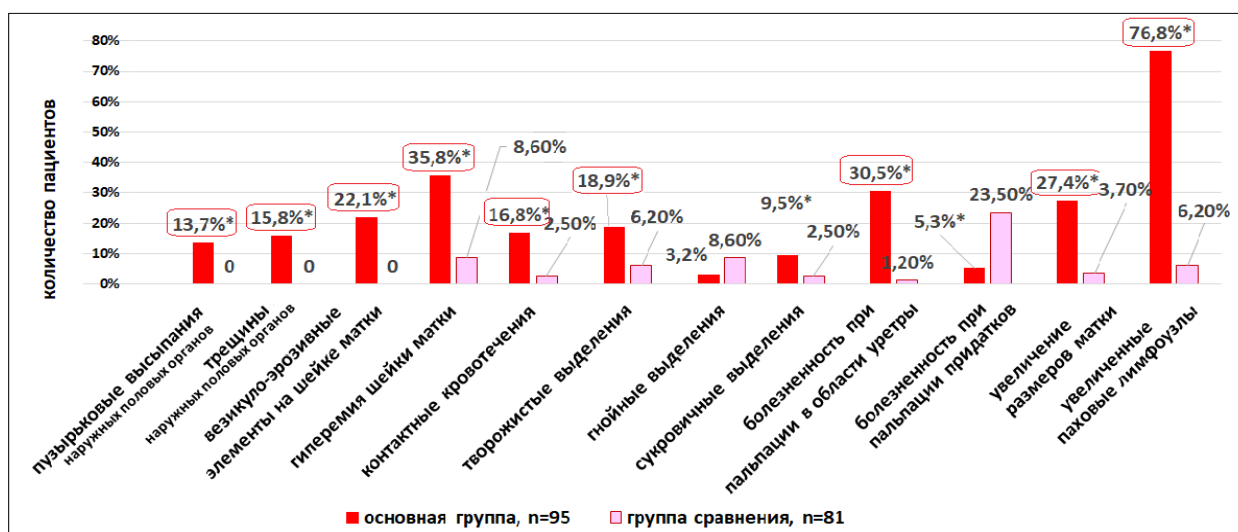


Рисунок 7 - Клинические проявления аногенитальной герпетической инфекции у женщин, по данным осмотра (в %), * - $p < 0,05$.

У мужчин в основной группе, как показано на Рисунке 8, статистически значимо чаще выявляли сухость, микротрещины на головке полового члена (у 24,2%), выделения из уретры слизисто-водянистого характера (у 10,5%), пузырьковые элементы на генитальной области (у 10,5%, $p < 0,05$), очаговую гиперемию на головке полового члена (у 9,5%, $p < 0,05$), одностороннее увеличение паховых лимфоузлов (у 41%, $p < 0,05$). При пальпации лимфатические узлы были плотноэластической консистенции, умеренно чувствительные или безболезненные, размерами примерно от 1 до 2,5 см. Гнойные выделения из уретры выявляли существенно чаще в группе сравнения.

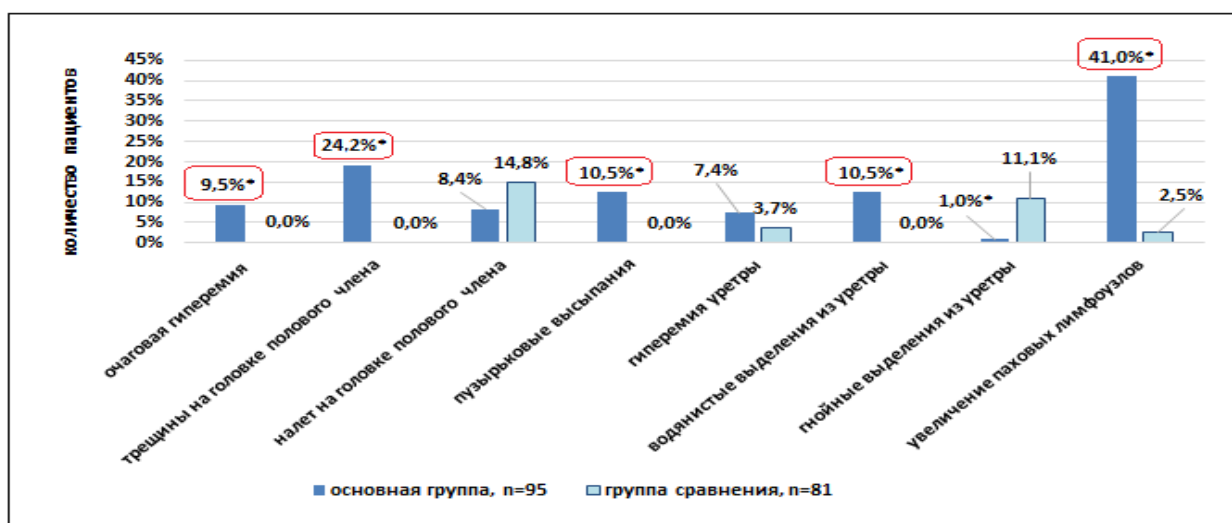


Рисунок 8 - Клинические проявления аногенитальной герпетической инфекции у мужчин, по данным осмотра (в %), * - $p < 0,05$.

При изучении результатов общеклинических лабораторных исследований в клиническом анализе крови был выявлен относительный лимфоцитоз у 76,8% женщин и у 88,4% мужчин из основной группы ($p < 0,05$), средний показатель лимфоцитов составил 39%. Лейкопения при подтвержденной активной АГВИ была выявлена у 13,7% женщин и у 9,4% мужчин ($p < 0,05$). У женщин в основной группе в общем анализе мочи в 24,2% выявлялась гематурия в сочетании с протеинурией 7,4% ($p < 0,05$).

В спермограмме у мужчин из основной группы выявляли отклонения от нормы у 96,8%, из них по типу тератозооспермии - у 84,2% и тератоолигозооспермии - у 12,6%. В группе сравнения отклонения выявлены всего у 35% мужчин, из них тератозооспермия и тератоолигозооспермия 1,45% и 4,35% соответственно ($p < 0,05$).

По данным лабораторных исследований, уровней антител IgG к ВПГ-1,2 выявлены у всех пациентов из обеих групп. Показателем был уровень антител IgA к ВПГ-1,2: положительный результат был обнаружен у 90,5% женщин и у 41% мужчин в основной группе. Наличие ДНК ВПГ-1,2 методом ПЦР в основной группе было подтверждено среди женщин – в 12,6% случаев, а среди мужчин - в 6,3%. В то же время у 100 % пациентов этой группы при анализе эякулята у мужчин и отделяемого уrogenитального тракта у женщин отмечали ЦПД ВПГ-1,2 культуральным методом, что показано на Рисунке 9. При этом положительные результаты на наличие ДНК методом ПЦР и положительные значения IgM были зарегистрированы только при типичных формах АГВИ (Рисунок 9).



Рисунок 9 - Частота выявления лабораторных маркёров активности ВПГ-1,2 при различных клинических формах активной герпетической инфекции (в %), * - $p < 0,05$.

У женщин при наличии признаков хронического эндометрита и/или при наличии полипа (или полипов) эндометрия дополнительно проводили

исследование на наличие антигена ВПГ-1,2 иммуногистохимическим (ИГХ) методом в материале, полученном при гистероскопии. У всех обследованных с помощью этого метода женщин основной группы (30 пациенток) был выделен антиген ВПГ-1,2 из образцов эндометриальной ткани, а в группе сравнения ВПГ-1,2 выявить не удалось ни у одной из пациенток (17 человек).

Изменения хромосомного аппарата хорионов, полученных при прерывании беременности по медицинскому показанию – при подтвержденной неразвивающейся беременности, были изучены с применением цитогенетического метода. Среди обратившихся 28 пациенток герпетическая инфекция в ворсинах хориона была подтверждена лабораторно в 18 случаях (64%). При цитогенетическом исследовании в 80% инфицированных хорионов были обнаружены изменения хромосомного набора. Достоверной разницы в сравниваемых группах по частоте встречаемости хромосомных аномалий получено не было. Однако по хромосомному набору были выявлены существенные отличия. Так, в основной группе наиболее часто (у 8 хорионов – 53,3%) выявляли трисомию по 22-й хромосоме: у 7 (46,7%, $p < 0,05$ при сопоставлении с группой сравнения) – изолированно при кариотипе 47, XY, +22, у 1 – в сочетании с трисомией по 14-й хромосоме (7,2%, кариотип 48, XY, +14, +22), что представлено на Рисунке 10. В группе сравнения не было выявлено ни одного случая изолированной трисомии по 22-й и 14-й хромосомам ($p < 0,05$, точный критерий Фишера). Примечательно, что хорионы, имевшие аномалии хромосомного аппарата, в основной группе в 100% случаев имели мужской кариотип, а в группе сравнения набор XY был обнаружен только у 3 из 7 хорионов, имевших аномалии (43%, $p < 0,05$, точный критерий Фишера).

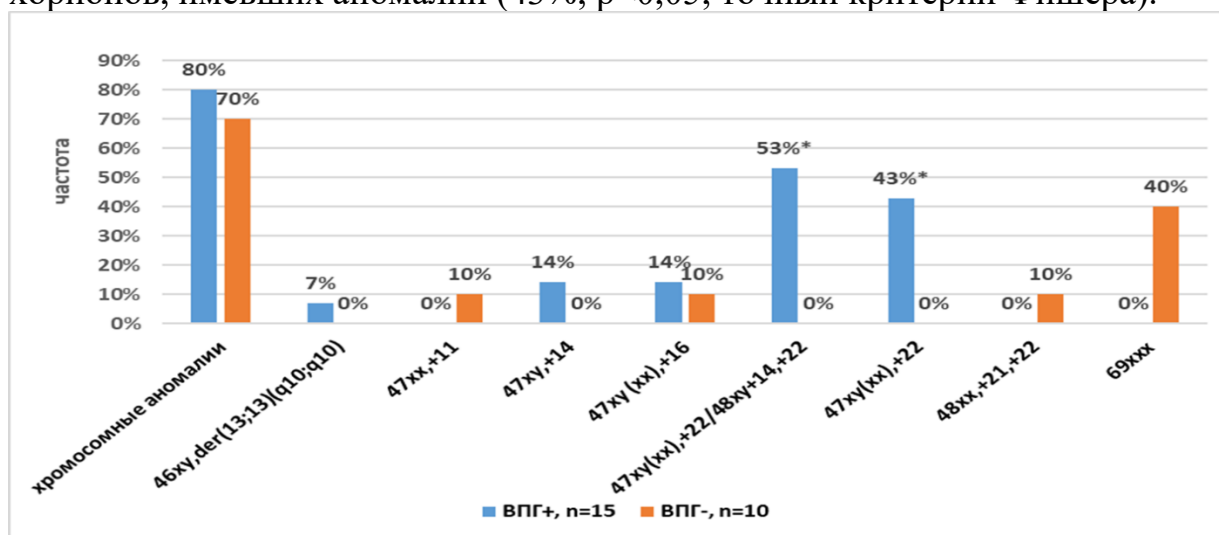


Рисунок 10 - Выявленные хромосомные аномалии у хорионов при неразвивающейся беременности у женщин при наличии или отсутствии маркеров активности ВПГ-1,2. * - $p < 0,05$.

В амбулаторных условиях после лабораторного подтверждения ВПГ-1,2 всем семейным парам была назначена противогерпетическая терапия ацикловиром минимум на 30 дней с промежуточной (на 10 сутки) и

заключительной оценкой эффективности проводимой терапии по наличию жалоб, клинических симптомов активной АГВИ и лабораторных данных. На фоне лечения у женщин и мужчин с активной АГВИ отмечали положительную динамику по клиническим и лабораторным проявлениям. Основным эффектом от терапии отмечался к 30 суткам приема ацикловира, только у 15,8% женщин и 12,6% мужчин, сохранялись маркеры активной АГВИ. Этим пациентам производилась замена ацикловира на валацикловир, с последующей оценкой клинико-лабораторных маркеров через 30 суток. На валацикловире эффективность не достигнута только у 2% женщин, которым проведена замена на фамцикловир в связи с сохраняющимися признаками активности вируса простого герпеса. Оценка эффективности на 10 сутки терапии подтвердила отсутствие маркеров активности АГВИ в этих случаях.

Всем семейным парам при отсутствии признаков активной АГВИ на противогерпетической терапии было рекомендовано планирование беременности на подобранном препарате. При наступлении беременности у женщин терапия прекращалась, а мужчинам было рекомендовано продолжить прием препарата до рождения ребенка (профилактический приём до 12 месяцев, в соответствии с Клиническими рекомендациями), что показано на Рисунке 11.

При применении данного алгоритма беременность наступила у 64% семейных пар, страдавших бесплодием более 1 года при регулярной половой жизни без контрацепции. У 55% беременность завершилась рождением здорового ребенка.

Проведенные исследования позволили разработать персонифицированный алгоритм терапевтической тактики при активной АГВИ (Рисунок 12).



Рисунок 11 - Алгоритм диагностики и терапии при активной аногенитальной герпетической инфекции в инфертильных семейных парах.

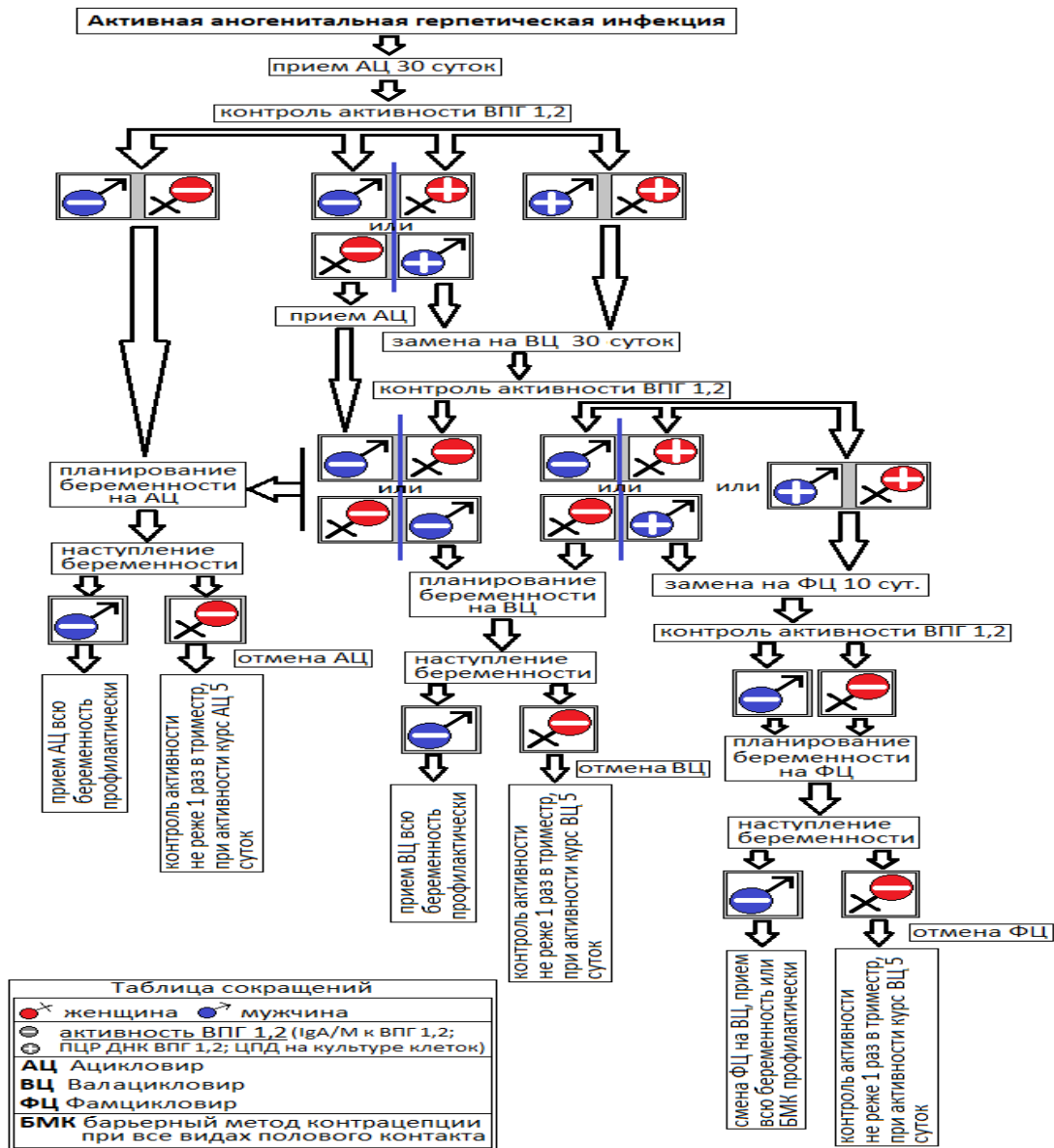


Рисунок 12 – Алгоритм ведения семейных пар с активной АГВИ.

ВЫВОДЫ

1. У всех женщин и мужчин из семейных пар, имевших нарушение репродуктивной функции, были выявлены антитела к ВПГ-1,2 класса IgG. Признаки активности вируса были обнаружены у 54% семейных пар.

2. При активной герпетической инфекции в инфертильных семейных парах жалобы регистрировались у 58,9% женщин (чаще на жжение в аногенитальной области - у 48,4%, болезненные мочеиспускания - у 30,5%, гематурию – у 26,3%) и у 44,2% мужчин (чаще на жжение в области наружных половых органов – у 29,5%, боли в тазовой области – у 25,3% в сочетании с парестезиями в бедрах и лоне – у 21,1%, сухость и трещины на головке полового члена - у 23,2%).

3. У женщин, имеющих активную инфекцию, вызванную ВПГ-1,2, на фоне нарушений репродуктивной функции, регистрируется высокая частота эндометриоза - у 45,2%, хронического цистита - у 30,5%, эпизоды ОРВИ 3 и более раз в год – у 32,6%.

4. У 95% мужчин из семейных пар, в которых выявлена активная инфекция, вызванная ВПГ-1,2, имелись изменения в спермограмме, наиболее часто – тератозооспермия (у 84,2%).

5. При активной герпетической инфекции урогенитального тракта лимфоцитоз зарегистрирован у 76,7% женщин и у 88,4% мужчин, лейкопения - у 13,7% женщин и у 9,4% мужчин.

6. Инфицирование хориона вирусом простого герпеса выявлено у 64% женщин при неразвивающейся беременности, что в 80% случаев сопровождалось хромосомными аномалиями, чаще – развитием изолированной трисомии по 22-й хромосоме (53%).

7. Этиотропная терапия герпетической инфекции приводит к подавлению активности ВПГ 1,2 типов, наступлению планируемой беременности и рождению здорового ребенка.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При жалобах на нарушение репродуктивной функции в семейных парах с отсутствием или эпизодами неразвивающейся беременности необходимо проводить обследование с определением активности ВПГ-1,2 у обоих партнеров.

2. Для выявления и уточнения активности герпетической инфекции урогенитального тракта целесообразно использовать комплекс методов: высокочувствительные методы идентификации ВПГ-1,2 (ПЦР), серологический с определением антител IgM и IgA, дополнительно - культуральный.

3. Терапия герпетической инфекции урогенитального тракта должна проводиться обоим половым партнерам этиотропными препаратами: женщине - в период подготовки к беременности, супругу – в течение всей беременности.

4. В случае неэффективности проводимой терапии, согласно разработанному алгоритму, через 30 дней производится замена препарата с последующей оценкой эффективности через 30 дней.

5. В случае выявления активности ВПГ-1,2 во время беременности после проведенной противовирусной терапии в семейных парах с нарушениями репродуктивной функции (отсутствием в течение более 1 года или неразвитием беременности в анамнезе) показан кратковременный курс противовирусной терапии (до 10 дней).

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

1. Продолжение изучения и накопление фактических данных по влиянию других вирусов в развитии нарушений репродуктивной функции, в том числе, при неразвивающейся беременности.

2. Необходимо расширить знания о нарушениях хромосомного аппарата хорионов в результате негативного влияния ВПГ-1,2 и других возбудителей.

3. Разработка тест-систем для обнаружения ВПГ-1,2 методом ПЦР в сперме.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Шушакова, Е.К. Симптоматика герпесвирусной инфекции при нарушениях репродуктивной функции в семейных парах / Е.К. Шушакова, В.С. Маркина, С.В. Николаева, Т.А. Руженцова // *Лечащий врач.* – 2022. - № 7-8(25). – С. 86-91. DOI: 10.51793/OS.2022.25.8.014.

2. Шушакова, Е.К. Вирус простого герпеса как причина мужского бесплодия (Клинический случай) / Е.К. Шушакова, О.В. Рублева // *Журнал научных статей Здоровье и образование в XXI веке.* - 2017. - Т. 19. - № 10. - С. 146-148.

3. Шушакова, Е.К. Клинический случай мужского бесплодия, связанного с вирусной инфекцией / Е.К. Шушакова, О.В. Рублева // *Вопросы урологии и андрологии.* - 2017. - Т. 5. - № 1. - С. 44-48.

4. Шушакова, Е.К. Механизмы влияния вирусов простого герпеса при неразвивающейся беременности / Е.К. Шушакова, Т.А. Руженцова, С.В. Николаева // *Инфекционные болезни.* - 2019. - Т. 17. - № 3. - С. 15-19.

5. Николаева, С.В. Витамин D и его влияние на инфекционные заболевания / С.В. Николаева, Д.В. Усенко, Е.К. Шушакова, О.А. Савватеева, А.В. Горелов А.В. // *Инфекционные болезни.* - 2020. - Т. 18. - № 1. - С. 77-84.

6. Шушакова, Е.К. Влияние герпетической инфекции на репродуктивную функцию семейных пар / Е.К. Шушакова, Т.А. Руженцова, С.В. Николаева // *Инфекционные болезни в современном мире: эпидемиология, диагностика, лечение и профилактика. Сборник трудов XII Ежегодного Всероссийского интернет-конгресса по инфекционным болезням с международным участием. Под ред. В.И. Покровского.* Москва. - 2020. - С. 256-257.

7. Шушакова, Е.К. Значение вируса простого герпеса в развитии бесплодия у семейных пар / Е.К. Шушакова, Н.А. Мешкова, Д.А. Хавкина, П.В. Чухляев, Т.А. Руженцова // *Медицинский алфавит.* -2021. - № 32. - С. 16-19.

8. Руженцова, Т.А. Результаты применения интерферона α -2В в сочетании с витаминами Е И С в терапии урогенитальных инфекций у беременных женщин / Т.А. Руженцова, Д.А. Хавкина, Е.К. Шушакова // *Лечащий врач.* - 2021. - № 1. - С. 31-37.

9. Шушакова, Е.К. Герпетическая инфекция как причина рецидивирующего цистита у женщин / Е.К. Шушакова, С.В. Николаева, Т.А. Руженцова // *Материалы II интернет-конференции по инфекционным болезням "Покровские чтения". Сборник тезисов конференции.* Москва. - 2022. - С. 52.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АГВИ – аногенитальная герпетическая вирусная инфекция

ААГИ – активная аногенитальная герпетическая инфекция

ВПГ-1,2 – вирус простого герпеса 1, 2 типа

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ВОЗ – Всемирная Организация Здравоохранения

ВПГ – вирус простого герпеса

ВПГ 1,2 – вирус простого герпеса 1 и 2 типов

ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота

ИФА – иммуноферментный анализ

ИХГА – иммунохроматография

НПО – наружные половые органы

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ЦМВ – цитомегаловирус

ЦПД – цитопатическое действие

УЗИ – ультразвуковое исследование

Ig – иммуноглобулин

