Министерство здравоохранения Московской области
Государственное бюджетное учреждение здравоохранения
Московской области
«Московский областной научно-исследовательский институт
акушерства и гинекологии»

На правах рукописи

Башанкаева Юлия Николаевна

Влияние папилломавирусной инфекции на репродуктивный прогноз в программах вспомогательных репродуктивных технологий

3.1.4. Акушерство и гинекология

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
профессор РАН
Зароченцева Нина Викторовна

Москва – 2022 год

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 4
ГЛАВА 1. ВЛИЯНИЕ ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ НА РЕПРОДУКТИВНУЮ ФУНКЦИЮ 14
(обзор литературы) 14
1.1. Бесплодие, как одна из актуальных проблем в гинекологии 14
1.2. Вирус папилломы человека – биология, классификация, эпидемиология 16
1.3. Влияние ВПЧ на репродуктивную функцию 22
1.4. Влияние ВПЧ на исходы вспомогательных репродуктивных технологий. 30
1.5. Результаты проведения вакцинопрофилактики ВПЧ-ассоциированных заболеваний в мире 35
ГЛАВА 2. ХАРАКТЕРИСТИКА КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА И МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ 41
2.1 Критерии отбора пациенток 41
2.2. Дизайн исследования 42
2.3. Общеклиническая характеристика пациенток 45
2.4. Методы исследования 58
2.4.1. Анализ инфекции, передающейся половым путем. 58
2.4.3. Молекулярно-биологические методы исследования 60
2.4.4. Расширенная кольпоскопия 61
2.4.5. Ультразвуковое исследование органов малого таза 63
2.4.6. Этапы проведения ЭКО 65
2.4.7. Трансвагинальная пункция яичников 66
2.4.8. Оплодотворение и культивирование эмбрионов in vitro 66
2.4.9. Перенос эмбрионов в полость матки 67
2.4.10. Методика замораживания эмбрионов 68
2.4.11. Размораживание эмбрионов 69
2.4.12. Поддержка лютеиновой фазы индуцированной беременности 69
2.4.13. Диагностика наступления беременности, репродуктивные исходы 69
2.4.14. Статистический анализ полученных данных. 70

2.4.15. Метод множественного логистического регрессионного анализа. 72
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ 74
3.1. Результаты комплексного обследования женщин в программах ВРТ в I и II группах..... 74
3.1.1. Оценка гинекологического здоровья. 74
3.1.2. Результаты ВПЧ-тестирования женщин перед проведением программ ВРТ в I группе..... 78
3.1.3. Анализ показателей овариального резерва. 79
3.1.4 Анализ протоколов стимуляции и показателей фолликулогенеза. .. 83
3.1.5 Анализ эмбриологических показателей и исходов ВРТ в группе I в зависимости от типа ВПЧ. 88
3.2. Результаты комплексного обследования женщин в программах ВРТ в III группе. 91
3.3. Результаты лечения в криопротоколах в I, II и III группах. 94
3.4. Результаты прогнозирования положительных исходов после переноса эмбрионов в свежем цикле в I, II и III группах. 99
3.5. Результаты прогнозирования положительных исходов после проведения криопереноса эмбрионов в I, II и III группах. 101
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ. 104
ВЫВОДЫ 119
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ: 121
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ 123
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ 125

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Бесплодие является глобальной проблемой здравоохранения, затрагивающей миллионы людей репродуктивного возраста во всем мире. Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что около 48 миллионов пар и 186 миллионов человек во всем мире страдают бесплодием [1].

В нашей стране данная проблема является не менее злободневной. Так, частота встречаемости бесплодия на территории РФ превышает 15% согласно эпидемиологическим исследованиям, что по мнению Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), является критическим показателем [2, 3, 4]. Таким образом, на современном этапе можно утверждать, что почти каждая пятая супружеская пара в нашей стране обращается к специалистам в связи с отсутствием спонтанной беременности [5].

Более чем в половине наблюдений причинами бесплодия являются нарушения репродуктивной функции одного из супругов, патология у обоих партнеров встречается у одной трети бесплодных пар [6]. Общеизвестно, что важнейшими причинами бесплодия являются: трубно-перитонеальный, ассоциированный с эндометриозом, эндокринный и смешанный факторы. Если причина инфертильности доступными методами не определяется, что составляет 5–10 %, то такое бесплодие считают идиопатическим. К одному из звеньев патогенеза нарушения фертильности относят инфекционные заболевания органов малого таза.

Вирус папилломы человека (ВПЧ) относят к наиболее часто встречающимся возбудителям инфекции. Большинство людей сталкиваются с ВПЧ вскоре после начала половой жизни. Этим объясняется пик заражения вирусом в возрасте 16–25 лет [7, 8]. Около 50–80% женщин в течение 2–3 лет после начала половой жизни подвержены инфицированию [9]. Риск заражения ВПЧ сексуально-активных женщин в течение жизни составляет от 20 до 60% [10].

Распространенность папилломавирусной инфекции в мире достигает 40% [11]. По оценкам ВОЗ, каждый год диагностируется около 30 млн новых случаев инфицирования [12].

По данным ВОЗ, папилломавирусная инфекция является первопричиной развития ВПЧ-ассоцированных онкологических заболеваний среди лиц обоих полов во всех географических регионах и социально-экономических подгруппах в мире [13].

В большинстве случаев инфекция элиминируется спонтанно, без клинических признаков или симптомов. Доля перманентного носительства ВПЧ в среднем возрасте оценивается в диапазоне 4–10%, и именно эти женщины представляют собой группу высокого риска по реализации рака шейки матки (РШМ) и, вероятно, любого другого рака, ассоциированного с ВПЧ [11]. В 2020 г. было диагностировано 604 тыс. новых случаев РШМ, а летальных исходов, в связи с этим заболеванием, – 342 тыс., для сравнения, в 2018 г. заболеваемость составляла 570 тыс., а число смертельных исходов - 311 тыс. [14].

Чаще всего папилломавирусная инфекция (ПВИ) протекает бессимптомно, а инфицирование, в большинстве случаев, происходит незаметно [15]. Ряд исследований показали U-образную временную кривую инфекции ВПЧ, с двумя пиковыми периодами: в возрасте до 30 лет, а также 55–64 лет (что может быть связано с возникновением новых половых связей). Риск инфицирования вирусом прямо пропорционален количеству половых партнеров [16].

Если рассматривать вирус с биологической точки зрения, то ВПЧ является «идеальным» патогеном, так как он вызывает хронические длительно текущие инфекции, не оказывая системного действия. Эта особенность способствует периодическому выбросу большого количества ВПЧ и, соответственно, заражению партнеров. Существует несколько факторов, способствующих уклонению вируса от иммунной системы хозяина. Во-первых, его тропность - вирус является абсолютным внутриэпителиальным

паразитом. Вирус проникает в цитоплазму клетки практически не повреждая мембрану и, попав внутрь, начинает регулировать продукцию противовирусных цитокинов (таких как, тканевой фактор некроза опухоли и интерферон). Во-вторых, замедленная экспрессия антигенных белков приводит к нарушению формирования гуморального иммунитета.

ДНК вируса в зараженных клетках присутствует в виде двух форм: эписомальной (кольцевой) и интегративной (линейной) [17, 18].

За последнюю декаду лет негативное влияние ПВИ на репродуктивную систему рассматривается все пристальнее, а также доказано обсуловленное снижение эффективности вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) [15, 17, 19]. Общеизвестно, что эмбриональные клетки женского организма под влиянием ДНК папилломавируса с большей частотой подвергаются апоптозу, что приводит к целому ряду негативных последствий [20]. Есть работы, указывающие на неблагоприятное воздействие вируса на разные этапы гестационного периода. В частности, запуск апоптоза и снижение эмбриональной имплантации трофобластических клеток приводят к увеличению риска самопроизвольного аборта. Вирусы обнаруживаются в амниотической жидкости, приводя к инфицированию плода. Доказана роль папилломавируса в патофизиологии преждевременных разрывов околоплодных оболочек и преждевременных родов. Установлено, что ВПЧ оказывает негативное влияние на параметры спермы [14, 19, 20, 21, 22, 23, 24]. Несмотря на это, остается недостаточно изученной концепция воздействия ВПЧ на яичниковый ответ при стимуляции фолликулогенеза и эффективность лечения методом экстракорпорального оплодотворения (ЭКО).

Очевидно, что единственным эффективным методом предотвращения ВПЧ-ассоциированных заболеваний и РШМ является профилактика инфицирования вирусом. Первичная профилактика подразумевает проведение иммунизации. Вакцины против ВПЧ рекомендуются подросткам и молодым людям уже более 15 лет. Получены результаты вакцинопрофилактики, демонстрирующие уменьшение распространенности аногенитальных

кондилом, предраковых заболеваний шейки матки, влагалища и вульвы, а также снижение заболеваемости РШМ среди иммунизированных [17, 25, 26].

Доказана безопасность вакцины против ВПЧ и отсутствие негативного влияния на репродуктивную функцию женщин [3]. Недавний Кохрановский обзор 26 рандомизированных контролируемых исследований показал, что вакцина одновременно эффективна и безопасна [27]. Ни одно из опубликованных исследований не продемонстрировало влияния вакцин против ВПЧ на менструальную, овариальную и репродуктивную функции [15, 29, 30, 31, 32]. Напротив, было обнаружено, что вакцины против ВПЧ защищают от инфекций, отрицательно влияющих на репродуктивную функцию [33]. В то же время остается дискутабельным возможное влияние иммунизации на эффективность протоколов ЭКО. Таким образом, поиск недостающих данных в аспекте данной взаимосвязи представляет собой перспективное направление для проведения исследований.

Степень разработанности темы исследования

Проблема реализации репродуктивной функции у бесплодных пар является актуальной во всех странах мира. Несмотря на появившийся и развивающийся интерес и достаточное количество зарубежных работ, посвящённых проблеме бесплодия у пар, где один или оба партнера инфицированы ВПЧ, многие вопросы остаются неясными: какие именно методы ЭКО приводят к лучшим результатам; влияет ли инфекция на репродуктивный прогноз. Также неизученным остается вопрос влияния вакцинации против ВПЧ на репродуктивную функцию у девушек-подростков и молодых женщин и эффективность методов ЭКО в последующем. Отсутствие отечественных публикаций о влиянии папилломавирусной инфекции и вакцинации на эффективность программ ВРТ побудило к проведению данного исследования.

Цель исследования

Определить значимость папилломавирусной инфекции и вакцинации против вируса папилломы человека в программах вспомогательных репродуктивных технологий.

Задачи исследования

1. Определить наиболее часто встречаемые типы вируса папилломы человека среди пациенток, включенных в программы вспомогательных репродуктивных технологий.
2. Оценить эффективность программ вспомогательных репродуктивных технологий, включая частоту оплодотворения, процент выхода бластоцист и имплантации у женщин с персистирующей папилломавирусной инфекцией и без нее.
3. Изучить влияние вакцинации против вируса папилломы человека на показатели менструальной и овариальной функции яичников, параметры раннего эмбрионального развития, состояние эндометрия, ранние репродуктивные потери и репродуктивные исходы в циклах вспомогательных репродуктивных технологий.
4. Определить частоту наступления беременности в циклах криопереносов у ВПЧ-позитивных и ВПЧ-негативных пациенток.
5. Оценить влияние папилломавирусной инфекции на ранние репродуктивные потери и репродуктивные исходы во всех группах.

Научная новизна исследования

Впервые в России проведено обследование пациенток, включенных в программы ВРТ, на наличие вируса папилломы человека высокого канцерогенного риска. Полученные результаты исследования позволяют расширить представления о значимости ВПЧ в реализации программ ВРТ. Впервые изучено влияние вируса папилломы человека высококанцерогенного

риска на параметры оогенеза и эмбриогенеза, состояние эндометрия, частоту имплантации, ранние репродуктивные потери у пациенток в программах ВРТ.

Впервые в России определено влияние вакцинации квадривалентной вакцины против вируса папилломы человека на показатели менструальной и овариальной функции яичников, параметры раннего эмбрионального развития, состояние эндометрия, ранние репродуктивные потери и репродуктивные исходы в программах ВРТ.

Впервые проведено исследование эффективности циклов криопереносов у пациенток с персистирующей ВПЧ инфекцией и пациенток, ранее вакцинированных против ВПЧ.

Анализ полученных результатов позволил оценить исходы программ ВРТ и выявить прогностическую значимость изученных данных.

Теоретическая и практическая значимость

1. Установлена прогностическая значимость факторов, определяющих успех программ вспомогательных репродуктивных технологий, включая наличие вируса папилломы человека и вакцинации против папилломавирусной инфекции.
2. Убедительно показано положительное влияние вакцинации против вируса папилломы человека на количество и качество эмбрионов, частоту имплантации и частоту наступления беременности в программах вспомогательных репродуктивных технологий.
3. Доказано отсутствие негативного влияния вакцинации квадривалентной вакциной против вируса папилломы человека на состояние овариального резерва, состояние эндометрия, количество и качество эмбрионов, частоту наступления беременности.

Методология и методы исследования

Настоящая работа проводилось на базе поликлинического отделения и отделения Репродуктологии ГБУЗ МО МОНИИАГ.

Проведено наблюдательное ретроспективно-проспективное исследование, включившее 179 пациенток, обратившихся для лечения бесплодия в программах ВРТ и переноса эмбрионов (ПЭ). Все пациентки с учетом задач исследования были разделены на три группы: группа 1 – пациентки с бесплодием и ВПЧ-персистирующей инфекцией (n=66); группа 2 – пациентки с бесплодием без ВПЧ инфекции (n=71); группа 3 – пациентки с бесплодием, которые в анамнезе были вакцинированы квадривалентной вакциной против папилломавирусной инфекции (n=42).

Помимо общеклинических методов обследования, были проведены такие исследования, как расширенная кольпоскопия, ВПЧ-генотипирование широкого спектра (12 типов) с определением вирусной нагрузки. На основании данных наблюдения была построена прогностическая логистическая регрессионная модель для прогнозирования положительных исходов после переноса эмбрионов в свежем цикле и отдельно после проведения криопереноса.

Положения, выносимые на защиту

1. Наличие персистирующей папилломавирусной инфекции, а также проведение в анамнезе вакцинации против вируса папилломы человека с применением квадривалентной вакцины не влияет на суммарное число антральных фолликулов, среднее число доминантных фолликулов, толщину эндометрия в день переноса и количество полученных зрелых ооцитов в программах вспомогательных репродуктивных технологий.
2. Персистирующая папилломавирусная инфекция у пациенток в программах вспомогательных репродуктивных технологий негативно влияет на количество и качество эмбрионов на 5-е сутки культивирования, что приводит к уменьшению числа переносов эмбрионов (66,7% и 73,2%) и снижению ЧНБ на перенос эмбрионов в 1,4 раза по сравнению с ВПЧ-негативными пациентками (38,6% и 53,8%).

3. Доминирующими типами вирусов папилломы человека у пациенток с бесплодием в программах вспомогательных репродуктивных технологий явились 16 тип (34,8%), 33 тип (19,7%), 31 тип (16,7%), 18 тип (12,1%), 35 тип (10,6%), 52 тип (7,6%) и 51 тип (6,1%).

   Среди пациенток с неудачными попытками ЭКО наиболее часто встречался 16 тип (18,4%), далее по частоте 33 тип (14,3%), затем 31 тип (12,2%) и 18 тип (10,2%).
4. Самая низкая ЧНБ после проведения криопротоколов ЭКО наблюдалась в группе ВПЧ-позитивных женщин (33,3%) по сравнению с ВПЧ-негативными (73,9%) и ранее вакцинированными (60,7%).
5. Применение квадривалентной вакцины против ВПЧ в анамнезе у пациенток с бесплодием в программах вспомогательных репродуктивных технологий обеспечивает: достаточное количество бластоцист хорошего качества (4,0 (1,75;5,0)), высокий процент ЧНБ на перенос эмбрионов (60,7%), низкие показатели ранних репродуктивных потерь, что сопоставимо с группой ВПЧ-негативных пациенток.

Личный вклад автора

Автор принял участие в разработке стратегии научного исследования, формулировании цели и задач исследования, сборе материала, интерпретации результатов проведенных исследований, анализе, обобщении и частично статистической обработке полученных данных. Автором лично проведен ретроспективный анализ 150 амбулаторных карт пациенток с бесплодием, обратившихся в отделение Репродуктологии ГБУЗ МО МОНИИАГ с 2019 по 2021 год для лечения бесплодия в программах ВРТ и переноса эмбрионов (ПЭ). А также автором проведено комплексное обследование 100 пациенткам с бесплодием, обратившихся в поликлиническое и отделение репродуктологии ГБУЗ МО МОНИИАГ на этапе вступления в программу ЭКО.

Автор участвовал в написании и подготовке к публикации научных статей по теме диссертации.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

О достоверности результатов исследования свидетельствует проведенное обследование достаточного количества пациенток (n=179), при этом применялись современные диагностические методики, в соответствие с поставленными задачами и целью исследования. Анализ полученных результатов проведен с применением современных статистических методов обработки. Полученные выводы и практические рекомендации подтверждают положения, выносимые на защиту.

Статистическая обработка полученных данных выполнялась при помощи программы IBM SPSS, версии 26.0.

Описательная статистика результатов исследования представлена для качественных величин в виде процентных долей и их стандартных ошибок, для абсолютных – в виде средних арифметических (M) и стандартных отклонений (σ). В случаях отсутствия нормального распределения признаков, в описательной статистике использовались медиана (Me) и квартили (Q25; Q75).

Проверка нормальности распределения значений переменных в группах наблюдения проводилась с использованием критериев Шапиро-Уилка и Колмогорова-Смирнова.

При подтверждении нормального распределения значений переменных в исследуемых группах, проверку статистической значимости различий проводили при помощи t-критерия Стьюдента для независимых выборок.

Для оценки значимости статистических различий между исследуемыми группами при отсутствии нормального распределения проводили сравнение групп по непараметрическому критерию Манна-Уитни.

Статистически значимыми считались различия, при $p < 0,05$ в парных сравнениях и $p < 0,017$ в множественных сравнениях (согласно поправке Бонферрони).

Обоснованность результатов исследования подтверждается их успешным практическим использованием на базе отделения репродуктологии ГБУЗ МО МОНИИАГ. Результаты исследования опубликованы в научных изданиях, входящих в перечень рецензируемых научных журналов, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ.

Апробация диссертации состоялось на заседании Ученого Совета ГБУЗ МО «Московский областной НИИ акушерства и гинекологии» 19 апреля 2022 года.

Соответствие диссертации паспорту полученной специальности

Научные положения диссертации соответствуют специальности 3.1.4 – «Акушерство и гинекология», полученные результаты соответствуют области исследования по специальности, пунктам 3, 4, 5 паспорта акушерства и гинекологии.

Публикации результатов исследования

По материалам диссертационного исследования опубликовано 5 печатных работ, из них 5 в ведущих рецензируемых журналах, входящих в перечень ВАК РФ.

Структура и объем диссертации

Диссертация написана на русском языке, в традиционной форме изложена на 142 страницах печатного текста и состоит из введения, обзора литературы, характеристики клинического материала и методов исследования, результатов собственных исследований и их обсуждения, выводов и практических рекомендаций. Текст работы иллюстрирован 34 таблицами и 14 рисунками. Библиография включает 144 литературных источника, в том числе 14 отечественных и 130 зарубежных.

ГЛАВА 1. ВЛИЯНИЕ ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ НА РЕПРОДУКТИВНУЮ ФУНКЦИЮ

(обзор литературы)

1.1. Бесплодие, как одна из актуальных проблем в гинекологии

Бесплодие является важной проблемой здравоохранения, которая затрагивает миллионы людей репродуктивного возраста во всем мире. По данным ВОЗ, около 48 млн пар и 186 млн человек в мире страдают бесплодием [1]. Проблема бесплодного брака осложняется растущей тенденцией к снижению показателей демографии в мире, что поднимает проблему бесплодного брака на уровень социального значения.

Sun H. и соавторы в 2019 году провели работу глобального значения, изучив в динамике частоту распространенности бесплодия во всем мире за период с 1990 по 2012 гг., в результате которой был установлен ежегодный прирост данного показателя на 0,37% для женщин и на 0,29% для мужчин [34].

Причины бесплодия разнообразны и активно изучаются. Немаловажную роль в снижении фертильности играют инфекционные заболевания органов малого таза и их последствия. В последние годы в литературе пристально изучается негативное влияние ПВИ на репродуктивное здоровье, что приводит к снижению эффективности ВРТ [17, 22, 35-39].

ПВИ является не менее актуальной проблемой современной медицины. На сегодняшний день она расценивается в качестве этиологического фактора онкологических заболеваний среди лиц обоих полов во всех географических регионах и социально-экономических подгруппах в мире [13]. Общемировая распространенность папилломавирусной инфекции достигает 40% [11]. Согласно реестру ВОЗ, каждый год диагностируется около 30 млн новых случаев заражения ПВИ [12].

Из-за высокой частоты бесплодия в мире, а также тенденции к увеличению возраста первородящих повышается потребность к медицинским мероприятиям по лечению бесплодия с использованием методов ВРТ.

Важно отметить, что в России доступность медицинской помощи с применением ВРТ растет, что выражается в увеличении числа циклов ВРТ. За последние пять лет с 2014 по 2019 годы отмечен почти двухкратный рост данного показателя. На Рисунке 1 графически отражена динамика последних 20 лет [40].

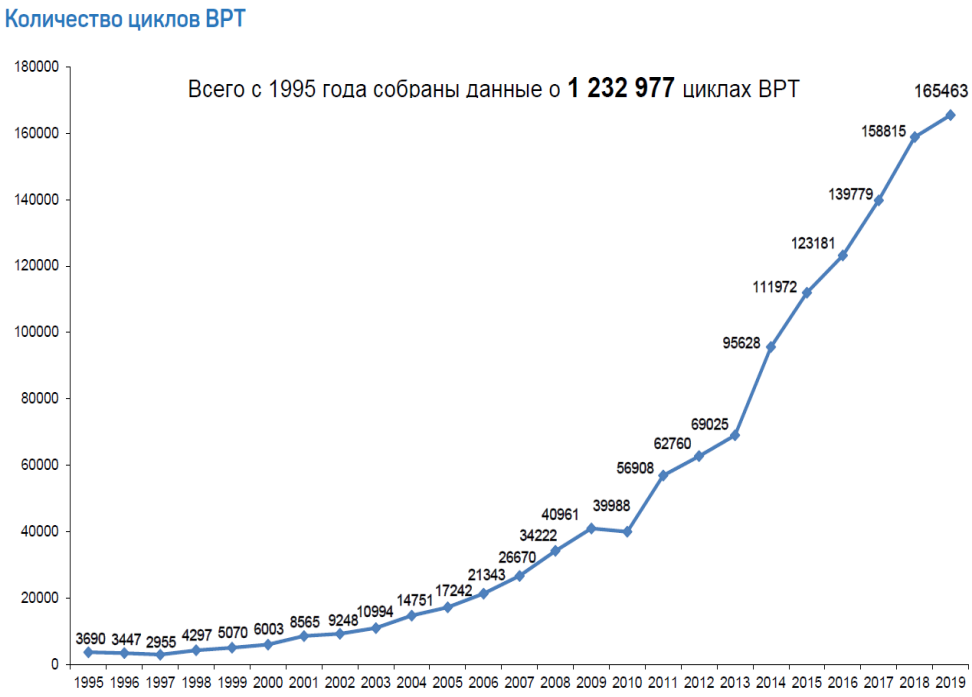


Рисунок 1. Количество циклов ВРТ в России (1995–2019 гг).

Наблюдается рост общего числа родов в России у пациенток, получивших лечение бесплодия с помощью ВРТ (в 2019 году показатель достиг 2,4%), а также циклов, использующих программу с применением дозревания ооцитов in vitro (IVM). Так, в 2019 году было проведено 98 циклов, а в 2018г. - 87.

В последние годы омечается устойчивая тенденция к уменьшению количества переносимых эмбрионов, в большинстве случаев производится перенос одного или двух эмбрионов, при этом чаще всего культивирование пролонгируется до стадии бластоцисты. Важно подчеркнуть, что основной

показатель эффективности лечения – ЧНБ - остается на прежних показателях [40] (Табл. 1).

Таблица 1- Динамика числа переносимых эмбрионов в циклах ВРТ (в расчете на перенос)

	ЭКО и ИКСИ				
	2015	2016	2017	2018	2019
1 эмбрион %	32,9	40,1	43,4	52,3	61,2
2 эмбриона %	61,5	56,8	55,1	46,9	38,5
3 эмбриона %	5,5	3,0	1,5	0,7	0,3
4 и более эмбриона %	0,2	0,1	0,0	0,0	0,0

Россия не отстает от мировых трендов в совершенствовании методов лечения бесплодия, в последние годы увеличилась доля циклов с применением предимплантационного генетического тестирования (ПГТ) и программ с использованием размороженных ооцитов. Внедрение новых технологий способствовало росту показателей ЧНБ на перенос.

1.2. Вирус папилломы человека – биология, классификация, эпидемиология

Вирус папилломы человека является одним из наиболее распространенных возбудителей инфекций, передаваемых половым путем (ИППП) во всем мире.

Папилломавирусы располагают обширным кругом хозяев – это и пресмыкающиеся, и птицы, и человек. На сегодняшний момент в семейство *Papillomaviridae* входит 49 вирусных родов, которые названы буквами греческого алфавита.

Различные типы ВПЧ существенно различаются по вирулентности. На сегодняшний день известно более 200 типов папилломавирусов, для которых

человек является основным хозяином, и они подразделяются на 5 вирусных родов, большинство которых относятся к трем родам – альфа-, бета- и гамма.

Даже несмотря на филогенетическое сходство отдельные серовары ВПЧ могут приводить к развитию разных клинических проявлений. Так, например, 6 и 11 типы наиболее известны в качестве предикторов аногенитальных бородавок и кондилом, а целый ряд других типов обладает потенциальной возможностью для развития новообразований различной локализации как у мужчин, так и у женщин [41]. Многими исследователями доказана взаимосвязь ВПЧ с формированием опухолей вульвы (VIN), влагалища (VAIN), ануса (AIN), а также таких анатомических областей, как голова и шея, ротоглотка (в частности, миндалины и основание языка), гортань, легкие, мочевой пузырь и слизистая оболочка глаза. Не прекращаются работы по изучению потенциального участия ВПЧ в индукции ряда других форм злокачественных процессов (пищевода, толстой кишки, яичников, молочной железы, предстательной железы и носовых синусов) [14, 17].

Наиболее изучена патогенетическая ассоциация вируса с развитием цервикальной интраэпителиальной неоплазии (CIN) и РШМ. Так, частота выявления ДНК ВПЧ среди пациенток с цервикальной плоскоклеточной карциномой достигает 98,7% при этом в подавляющем числе наблюдений в ходе диагностики верифицируют 16 и 18 типы ВПЧ [42]. В связи с этим ранее была выдвинута гипотеза о причастности определенных сероваров к онкогенному процессу. В процессе консолидации онкологических регистров множества стран мира определенные серовары были выдвинуты в качестве типов высокого, умеренного и низкого канцерогенного риска [17, 18].

Согласно международными эпидемиологическими исследованиями, различают следующие ВПЧ канцерогенного риска:

- *Группа А9* - ВПЧ 16, 31, 33, 35, 52, 58, 67 типов;
- *Группа А7* - ВПЧ 18, 39, 45, 59, 68, 70, 85, 97 типов;
- *Группа А5* - ВПЧ 26, 51, 69, 82 типов;
- *Группа А6* - ВПЧ 30, 53, 56, 66 типов;

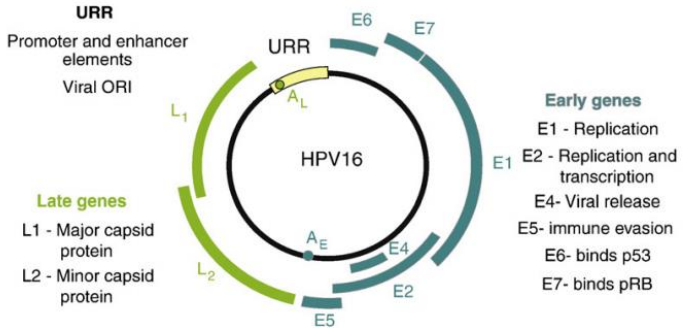
- *Группа А11* - ВПЧ 34 и 73 типов [43-45].

Данный перечень подвергался редакции за последние 20 лет, так как накопленные данные все больше сужают круг поиска типов ВПЧ высокого канцерогенного риска (ВКР), однако их групповое сходство между собой несмотря на различия в вероятности развития новообразований, не позволяет полностью исключить их из перечня потенциально опасных [44, 45]. Для того, чтобы очертить отличительные особенности вышеупомянутых сероваров необходимо детально рассмотреть строение и жизненный цикл вируса.

Геном ВПЧ представлен двуспиральной кольцевой ДНК без капсида, включающей 8000 пар нуклеотидов. Вирус состоит из двух кодирующих областей, содержащих 8 открытых рамок считывания и 1 некодирующую регуляторную область [46, 47]. Известно, что вирус вызывает пролиферативную модификацию эпителиальных клеток.

Структура вирусного генома подразделена на три домена (Рис. 2):

- Некодирующая регуляторная область (URR – upstream regulatory region) предстваляет собой 70% геном и отвечает за экспрессию генов вируса;
- Кодирующая область содержит ранние (E1, E2, E4, E5, E6, E7) и поздние (L1, L2) гены [48, 49].



HPV = human papillomavirus; URR = upstream regulatory region; ORI = origin of replication; pRB = retinoblastoma protein.

Рисунок 2. Геном ВПЧ

Ранние гены, входящие в состав генома ВПЧ, участвуют в регуляции вегетативной и пролиферативной фаз жизненного цикла вируса, поздние гены,

кодирующие белки капсида, как и длинная некодирущая контрольная область, участвуют в регуляции транскрипции и репликации ВПЧ [50, 51].

Белки Е1 и Е2, отвечающие за транскрипцию, играют первостепенную роль на этапе инфицирования. Они инициируют репликацию вируса и приводят к инкапсуляции вирусного генома. В процессе деления зараженных клеток базального слоя многослойного плоского эпителия геном вируса передается в дочернюю клетку, обеспечивая непрерывный цикл.

Белок Е2 регулирует активность промоторов ранних белков и одновременно подавляет экспрессию вирусных онкогенов (Е6 и Е7).

Белок Е4 воздействует на белки клеточной мембраны, содействует вирусной сборке и проявляет активность во время продуктивной стадии инфекции.

Белок Е5 влияет на рецепторы факторов роста и способствует уклонению от иммунного надзора клеток хозяина.

Онкобелки Е6 и Е7 непосредственно участвуют в злокачественной трансформации. Онкобелок Е6 взаимодействует с p53 (активатором апоптоза) и ингибирует его. Онкобелок Е7 связывается с pRb (белок ретинобластомы) и способствует его разрушению, активации транскрипционного фактора E2F (приводит к репликации ДНК) и гиперэкспрессии p16(INK4a). Онкобелок Е7 взаимодействует с регуляторами клеточного цикла cdk2 (циклинзависимые протеинкиназы), p21 и p27 (ингибиторы циклинзависимых киназ), приводя к опухолевому процессу.

Экспрессия генов капсидных белков L1 и L2 происходит параллельно созреванию клеток [52, 53]. Именно процесс дифференцировки многослойного плоского эпителия позволяет претерпевать вирусу все необходимые изменения для последующих репликации и росту вирусной нагрузки. По мере роста вирусной нагрузки уровни экспрессии мРНК вирусных Е6, Е7 и человеческого гена p16(INK4A) увеличиваются. Это обусловлено тем фактом, что эписомальная форма вирионов, которая носит кольцевидную структуру, разрушается в домене Е1-Е2, следовательно,

супрессивная активность данных белков теряется. А последующая интеграция ДНК в геном хозяина позволяет вирусу в дальнейшем избегать механизмов врожденного клеточного иммунитета и персистировать в эпителии [54].

Благодаря вышеописанной трансформации онкобелки Е6 и Е7 имеют потенциал к дестабилизации клетки хозяина. Механизм репарации ДНК с помощью цитохрома p53 нарушается, тем самым повышая частоту генных мутаций. Помимо этого, под действием белка Е7 появляются многополюсные митозы, которые ведут к появлению анеуплоидных клеток [26]. Однако, подобные механизмы хорошо изучены на серотипах ВПЧ ВКР и по мнению многих исследователей, именно возможность интегрироваться в геном хозяина обуславливает способность к малигнизации, но при этом подобным свойством обладают далеко не все существующие сероварианты ВПЧ [55].

Заражение здорового человека происходит при непосредственном контакте с зараженным эпителием партнера, когда зрелые частицы вируса, образованные в клетках, которые достигли стадии окончательной дифференцировки, самостоятельно погибают (слущиваются) и выделяются на поверхность эпителиального слоя. Следует отметить, что на этой стадии вирус не оказывает цитопатического эффекта на клетки хозяина. Таким образом, вирус имеет возможность эволюционировать, практически не нанося вреда хозяину [18, 49].

Когда инфицированный кератиноцит попадает в дифференцирующийся слой и выходит из клеточного цикла, происходит массивная активация экспрессии всех вирусных генов с обильной экспрессией ранних генов Е6 и Е7. Происходит репликация вирусной ДНК, увеличение количества вирусных копий по крайней мере до 1000 копий на клетку и, наконец, экспрессия белков оболочки L1 и L2 и сборка инфекционного вируса. Такой цикл длится около 2–3 недель in vivo, то есть время, которое необходимо базальным кератиноцитам, чтобы продвинуться вверх по эпителию и дифференцироваться.

Важно понимать, что эти события происходят в тех клетках, которые находятся в процессе дифференцирования и вышли из клеточного цикла. Из-за того, что необходимые клеточные ДНК-полимеразы и факторы репликации доступны только в делящихся клетках, а вирус реплицируется в неделящихся клетках, вирусу необходимо решить эту проблему. ВПЧ кодирует белки, которые в процессе жизненного цикла вируса реактивируют синтез клеточной ДНК в нециклирующих клетках, ингибируют апоптоз и задерживают программу дифференцировки инфицированного кератиноцита, создавая среду, благоприятную для репликации вирусной ДНК. Точные детали, с помощью которых это достигается, до конца не изучены, но вирусные гены, отвечающие за эти функций, - это E6 и E7. Редким, но опасным побочным продуктом этой роли в репликации ВПЧ ВКР является дерегуляция контроля роста в инфицированной клетке и развитие рака [18, 49, 56-58].

Таким образом, несмотря на убедительные эпидемиологические данные, отражающие взаимосвязь ПВИ и развития CIN и аденокарциномы in situ (AIS), а также инфекции ВПЧ ВКР на реализацию плоскоклеточного рака и аденокарциномы шейки матки, патогенез заболевания требует сочетания ряда факторов для своей прогрессии [59].

Немаловажную роль, согласно ВОЗ, играют следующие факторы риска персистенции ВПЧ и развития РШМ: канцерогенность ВПЧ (зависит от типа), иммунный статус, ко-инфекция другими возбудителями, передаваемыми половым путем, такими как возбудители простого герпеса, гонореи, хламидиоза, уреалазменной и микоплазменной инфекции, паритет и ранние первые роды, хирургические вмешательства на шейке матки, табакокурение и даже прием оральных контрацептивов [14].

Эпидемиологические исследования выделяют два критических периода инфицирования ВПЧ. Первый пик наблюдается в возрасте до 30 лет (в зависимости от возраста полового дебюта), а второй - в период 55–64 лет. Риск инфицирования возрастает с ростом количества половых партнеров [15].

Инкубационный период ВПЧ колеблется от 3 недель до 8 месяцев. В большинстве случаев является субклинической транзиторной инфекцией даже если развивается кольпоскопически визуализируемая патология. Она, как правило, является интраэпителиальным поражениям низкой степени (LSIL). У большинства женщин инфекция ВПЧ (т. е. наличие ДНК в анализах, но отсутствие обнаруживаемого поражения) и даже CIN низкой степени разрешаются в результате развития клеточно-опосредованного иммунитета, сопровождающегося обычно (хотя и не обязательно) сероконверсией и антителами к основному белку оболочки L1. У меньшинства женщин (вероятно, 10–15%) инфекция не дает успешного клеточно-опосредованного иммунного ответа: они остаются ВПЧ-позитивными с персистирующей вирусной инфекцией, т. е. постоянной продукцией инфекционного вируса [60, 61]. Эта группа женщин, устойчиво инфицированных ВПЧ ВКР, подвержена риску развития внутриэпителиального заболевания тяжелой степени [62].

1.3. Влияние ВПЧ на репродуктивную функцию

Наиболее ранние сообщения о возможном негативном влиянии на фертильность начинаются с обнаружения ВПЧ в амниотической жидкости беременной женщины с поражением шейки матки [63]. Именно в начале 90-х появляются первые исследования, описывающие цервикальную ВПЧ-инфекцию как возможную причину ранних самопроизвольных выкидышей [64]. Было также обнаружено, что материал, полученный вследствие самопроизвольных абортов, инфицирован ВПЧ значительно чаще, чем после плановых прерываний беременности (60% против 20% соответственно) [65], и основной причиной абортов, у пациенток с ВПЧ инфекцией, являлось инфицирование трофобласта [66]. Результаты позволяют выдвинуть гипотезу о вовлечении ПВИ в патогенез невынашивания.

Итальянские исследования на анималистических моделях продемонстрировали успешное оплодотворение яйцеклетки сперматозоидами, инфицированными ВПЧ у грызунов [67]. Ученые отметили

в образовавшихся бластоцистах экспрессию вирусных генов в эмбриобласте и трофэктодерме. Данная работа проиллюстрировала, что экспрессия генов E6, E7 и L1 ведет к росту фрагментации ДНК и апоптозу.

В более ранних работах исследователей из университета в Пенсильвании, также было продемонстрировано, что частота апоптоза в трофобласте, инфицированном ПВИ, в 3–6 раз выше, чем в интактном. Этот патологический процесс, в конечном счете, приводит к нарушению функции плаценты и повышает риск преждевременных родов [68].

В молекулярной лаборатории при Техасском университете был проведен эксперимент, в результате которого был отмечен рост клеток трофобласта под действием ВПЧ ВКР, что может служить доказательством наличия рецептивности трофобласта и синцитиотрофобласта ворсин к вирусу. Процесс имплантации бластоцисты в эндометрий является уязвимым и зависит от его функционального состояния и инфицированности [69]. Было показано, что скорость ВПЧ-опосредованного трофобластического апоптоза связана с ростом эмбриона и зависит от скорости клеточного митоза [70]. Следует также отметить, что на данный момент большинство результатов получено в ходе смоделированных анималистических исследований, что может отличать их от реальных в условиях человеческого организма.

Исследователи из Калифорнийского университета изучали воздействие ВПЧ ВКР на ранние этапы эмбриогенеза. Показано, что вирус неблагоприятно воздействует на целостность генома, что ведет к трофобластической гибели бластоцист и согласуется с вышеописанными исследованиями [71].

Тем не менее, два ретроспективных исследования, проведенных в Польше и Мексике, противоречат им, заключив что наличие ПВИ во время беременности не оказывает негативного влияния и не повышает риск самопроизвольного выкидыша [21,72]. Правда в работах были оценены генотипы лишь ВПЧ 16 и 18 типов.

Группа канадских исследователей провела метаанализ 74 работ, в которых оценивалась связь между наличием ПВИ и неблагоприятными

исходами беременности. ВПЧ имел тенденцию к повышению следующих рисков: преждевременных родов в 1,5 раза, преждевременного разрыва плодных оболочек в 2 раза, дородового излития околоплодных вод в 1,4 раза, задержки роста плода в 1,2 раза, низкой массы тела при рождении в 1,9 раз и антенатальной гибели плода в 2,2 раза. Следует отметить, что статистически значимой ассоциации между наличием вируса и вероятностью самопроизвольного выкидыша или вызванных беременностью гипертензивных расстройств не было обнаружено. Необходимо отметить, что большинство исследований были среднего или низкого качества, и оставалась необъяснимой неоднородность между исследованиями, что безусловно требует дальнейшего изучения [73].

Ученые из университета Лома-Линда в своей работе исследовали абортусы пациенток с самопроизвольными выкидышами. В 7,4% протестированных тканей 108 пациенток была выявлена ДНК ВПЧ 16 и 18 типов [74]. Результаты показали, что ВПЧ 16 типа нарушает процесс имплантации, снижая способность трофобласта к адгезии и изменяя его инвазивные миграционные свойства. Это говорит о том, что ВПЧ может играть важную роль в инфекционной этиологии прерывания беременности на ранних сроках. Механизмы, участвующие в неудачах имплантации, связанных с ВПЧ, остаются неизвестными. Основываясь на выводах данной работы и работ ряда других исследований, ученые пришли к выводу, что онкобелки ВПЧ вызывают аберрантный импринтинг в клетках аналогично тому, как это наблюдается при герпесных инфекциях. Также предполагается, что экспрессированные онкобелки E5, E6 и E7 ВПЧ 16 типа гиперметилируют аллель SOX2, уменьшая его мРНК, что приводит к подавлению таких факторов, как E-кадгерин, участвующих в адгезии и прикреплении клеток.

Инфицирование ВПЧ 6, 11, 16 и 18 типов во время гестации может приводить к врожденным аномалиям развития и повышению риска смерти плода в 2,2% и 1,5% наблюдений соответственно [25]. Однако уровня

доказательности на сегодняшний день недостаточно из-за ретроспективной природы и малой мощности подобных исследований.

Имеются также данные о повышении риска преждевременных родов, а также преждевременного разрыва плодных оболочек у пациенток с персистирующей ПВИ. ДНК вируса статистически значимо чаще обнаруживалась в плацентарной ткани после преждевременных родов по сравнению с группой контроля (p=0,03). В то же время взаимосвязи между развитием преэклампсии не было отмечено [68].

В работе Bennani B. и соавт. отражена возможность ПВИ повышать до 80% риск спонтанных абортов, а также на 60% увеличивать риск доброкачественных образований органов малого таза [75].

Противоположные данные представлены в исследовании «случай-контроль» Ticconi C. и соавт. В результате отмечено, что привычное невынашивание беременности среди ВПЧ-позитивных женщин встречалось у 26,5% исследуемых, а в группе контроля - 61,9% [76].

В работе отечественных ученых под руководством Катковой Н. Ю. также была исследована плацентарная ткань у женщин с персистирующей ПВИ. Гигантоклеточный метаморфоз и внутриядерные включения рассматриваются как морфологические маркеры патологического процесса в плаценте [77]. Важно отметить, что даже у носителей ВПЧ инфекции, не имеющих клинических проявлений, такие трансформации встречаются в 36% случаев.

Rombaldi R. L. и соавт. опубликовали оценку трансплацентарной передачи ПВИ, которая встречалась в 24,5% наблюдений. При этом локализация вирионов варьировала, и только у 10,2% они обнаруживались с материнской и плодовой сторон плаценты. Также у каждого десятого новорожденного было соответствие типа ВПЧ тому, что определялся в плацентарной ткани [78,79].

Аналогичные результаты также были представлены в исследовании, проведенном учеными под руководством Hong L.G. Апоптоз в клетках

приводит к возникновению первичной плацентарной дисфункции, что в свою очередь уменьшает вероятность адекватной пенетрации маточной стенки бластоцистой и в итоге приводит к преждевременному разрыву плодных оболочек или ранним репродуктивным потерям [74].

В проспективном когортном исследовании, включавшем 72 беременные женщины, инфицированных ВПЧ, частота передачи от матери к плоду составила 20,8%. Однако все образцы плаценты и пуповинной крови, обследованнные на ВПЧ, полученные как с помощью полимеразно-цепной реакции (ПЦР), так и иммуногистохимии, были отрицательными [80].

В другом проспективном когортном исследовании изучалась вертикальная передача ВПЧ у 329 беременных женщин и их новорожденных. ДНК ВПЧ была обнаружена в 4,2% (13/306) образцов плаценты и в 3,5% (11/311) образцов пуповинной крови. Оральное носительство ВПЧ у новорожденных было в большей степени связано с обнаружением ВПЧ в плаценте (ОШ 14,0; 95% ДИ 3,7–52,2) [78].

По данным Zuo Z. и соавт., распространённость ПВИ среди женщин с клинической картиной преждевременных родов составила 27,8%, что поддерживает наличие вертикального пути передачи [69]. Данный тезис также подтверждают полученные данные исследования, обнаружившего у 18,2% женщин в сроке >36 недель ПВИ в материале последов. Патогенетическим механизмом авторы сочли гематогенное инфицирование через поврежденный эндометрий и восходящий путь инфицирования через маточный покровный эпителий [22].

Также играет роль наличие ДНК вируса в амниотической жидкости. Trottier H. и соавторы опубликовали исследование, демонстрирующее, что перситенция ВПЧ у матерей приводила к инфицированию 11,2% новорожденных. Наиболее распространенными локализациями были ротовая полость (8,1%), гениталии (4,8%), конъюнктива (4,8%) и глотка (1,6%), а в ряде случаев поражение было мультифокальным [36].

А обзорная статья датских ученых продемонстрировала распространенность ВПЧ у пациенток со спонтанными абортами и преждевременными родами в шейке матки (самопроизвольные аборты 24,5% и преждевременные роды 47%, соответственно) и в плаценте (самопроизвольные аборты 24,9%, преждевременные роды 50%, соответственно), что было выше значений у доношенных беременностей [81].

Многие исследования в основном сосредоточены на ВПЧ-ассоциированных заболеваниях у женщин, о мужской инфекции имеется сравнительно мало данных. ВПЧ-инфекция у мужчин ассоциирована со злокачественными новообразованиями аногенитальной зоны, яичек и ротоглотки. Немаловажно то, что вирус может ухудшать параметры спермы и снижать фертильность.

Предполагаемая распространенность ВПЧ-инфекции у мужчин колеблется от 1,3 до 72,9 % в зависимости от локализации места забора материала и диагностического метода, а у мужчин с идиопатическим бесплодием достигает 35,7% [82-84]. Хотя ПВИ у мужского населения связана с более низкой смертностью и заболеваемостью, чем таковая у женского, проведение исследований в этой области актуально в связи с разнообразием проявлений инфекции, а также высоким риском передачи вируса половым партнерам [85,86].

Выявлено, что мужчин с диагностированным бесплодием частота выявления ВПЧ выше, чем у здоровых, а персистенция ПВИ приводит к снижению качества сперматозоидов [20].

ВПЧ можно обнаружить во всех отделах мужского полового тракта, в том числе в эякуляте, где он связывается с головкой сперматозоида и значительно снижает его подвижность [24,87]. В исследованиях Foresta C. и соавт. продемонстрирована способность инфицированных ВПЧ сперматозоидов к проникновению в яйцеклетку, а многочисленные исследования *in vitro* показали, что ВПЧ может оказывать пагубное действие на раннее эмбриональное развитие [74, 84, 88, 89].

Рядом научных работ подтверждено присутствие вирусной ДНК в отсутствии иных факторов риска у мужчин с идиопатической астенозооспермией [40, 90]. Экспериментальные исследования в лабораторных условиях показывают, что ПВИ вызывает фрагментацию ДНК гаметы, и, ровно как в соматических клетках, данные изменения ведут к апоптозу [15].

Необходимо отметить, что повреждение сперматозоидов ассоциировано с определенными сероварами ВПЧ. В исследовании под руководством Souho T. была продемонстрирована фрагментация ДНК сперматозоидов под действием 16 и 31 типов, которая отсутствовала при ПВИ обусловленной 6, 11, 18 или 33 вариантами. В то же время ВПЧ 6, 11 и 16 сероваров может обуславливать тератозооспермию [15]. Схожее мнение разделяют Schillaci R. и соавт., которые также высказали предположение о взаимосвязи ПВИ с параметрами спермограммы под воздействием определенных серотипов [20].

Основной зоной патогенетического воздействия является экваториальная область головки сперматозоида [29, 90]. Предположительно восприимчивость обусловлена наличием протеогликана синдекан-1 и ряда других соединений на ее поверхности [65, 87, 90]. Впоследствии именно экваториальный сегмент сперматозоида связывается и конъюгируется с цитоплазматической мембраной ооцита [29]. Эпидемиологические данные также описывают наличие ПВИ не только у мужчин, страдающих бесплодием, но и у пациентов с изолированной лейкоцитоспермией, что объясняет вклад вируса в поддержании хронического воспаления [87 67, 84, 87, 90, 91].

В недавнем исследовании Jaworek H. было показано, что частота распространенности ВПЧ ВКР в группе мужчин из бесплодной пары и группе потенциальных доноров спермы составила 35,1% и 28,9 %, со значительно более высокой частотой вируса в мазках из полового члена по сравнению с образцами спермы как в группе бесплодных мужчин (32,3 % против 11,9 %, $p < 0{,}001$), так и в группе потенциальных доноров спермы (26,8 % против 6,2 %, $p = 0{,}006$). Исследование демонстрирует высокую распространенность

инфекции у потенциальных доноров спермы. При этом наличие вируса в эякуляте статистически значимо ассоциировалась со снижением параметров спермы. В образцах спермы ВПЧ-позитивных мужчин зафиксирован меньший объем спермы (средний объем 2,5 мл против 3 мл, p=0,009), меньшая концентрация сперматозоидов (средняя концентрация 16×10^6/мл против 31×10^6/мл, p=0,009) и сниженное общее количество сперматозоидов (среднее количество 46×10^6 против 82×10^6, p=0,009), по сравнению с мужчинами без ВПЧ. И хотя значимой связи между присутствием ДНК ВПЧ в сперме и исходами фертильности не выявлено, данные свидетельствуют о том, что инфекция влияет на мужскую фертильность и, вероятно, снижает частоту наступления спонтанных беременностей [83].

О схожих данных сообщалось в мета-анализе Laprise C. и соавт. В трех исследованиях, в которых обследовались доноры спермы, ДНК ВПЧ обнаруживалась в 7,5–26,3% образцов эякулята. При этом наиболее распространенным типом оказался ВПЧ 16 типа [12,91].

Целью работы итальянских ученых, в которой обследовалось 226 супружеских пар, страдающих бесплодием, было выявление негативного воздействия ВПЧ на эффективность лечения в программах ВРТ. Для обнаружения вируса в сперме партнера использовался метод флуоресцентной гибридизации in situ (FISH). В зависимости от наличия ВПЧ в эякуляте партнера исследумые были распределены на 2 группы. Наличие ПВИ обуславливало двухкратное снижение эффективности внутриматочной инсеминации (ВМИ), что составило 9,5% и 20% соответственно [92].

Таким образом, если проанализировать возможные варианты пагубного воздействия вируса на сперматозоиды, то получается следующая картина. В зараженных клетках значительно снижается жизнеспособность клеток, уменьшается подвижность клеток, амплитуда бокового смещения головки, количество клеток с нормальной морфологией и повышается уровень антиспермальных антител [40].

Как уже было сказано выше, вероятность передачи мужскими гаметами вирусной ДНК эмбриону в процессе оплодотворения не вызывает сомнений [65]. Кроме того, было отмечено, что гепарин и каррагинан могут ингибировать взаимодействие вируса со спермой. Полученный результат показывает, что блокирование взаимодействия ВПЧ со сперматозоидами может быть важным стратегическим шагом для разработки противовирусной терапии.

1.4. Влияние ВПЧ на исходы вспомогательных репродуктивных технологий.

Все большее количество зарубежных работ демонстрирует, что ВПЧ-инфекция может негативно влиять на ЧНБ при лечении бесплодия с помощью ВРТ, а также увеличивать частоту прерываний как при спонтанной, так и при индуцированной бereмменности [20, 23, 93].

Несмотря на выявленную взаимосвязь ПВИ с невынашиванием, противоречивость когортных исследований не позволяет поставить точку в данном вопросе [15, 58, 64–66]. Кроме того, в недавней работе, посвященной влиянию ВПЧ-положительных сперматозоидов на спонтанную и индуцированую беременности и их невынашивание, выявлено уменьшение ЧНБ во всех случаях и увеличение частоты самопроизвольных абортов у пациенток, чьи партнеры были с ВПЧ-инфекцией [67].

В совместном обзоре турецких и испанских ученых суммированы возможные пагубные последствия ВПЧ для проведения ВРТ у пар с инфицированными партнерами-мужчинами. Было показано, что распространенность ВПЧ выше у бесплодных мужчин по сравнению с фертильными. ВПЧ может связываться со сперматозоидами и потенциально может передаваться в оплодотворенные ооциты. Обнаружение вирусов в бластоцистах и трофобластических клетках связано с нарушением развития эмбриона и плохими исходами беременности. Тем не менее, попытки удалить ДНК ВПЧ из образцов спермы с помощью обычных методов промывки не

увенчались успехом. В программе ЭКО интрацитоплазматическая инъекция сперматозоидов (ИКСИ) не включает естественный отбор сперматозоидов, что означает, что эти процедуры имеют вероятный риск инъекции сперматозоидов, содержащих ВПЧ [94].

В одной из бельгийских клиник было проведено ретроспективное исследованиес с участием 590 женщин, проходящих лечение бесплодия с применением ВМИ (всего 1529 циклов). Частота распространения ВПЧ составила 11%. При этом, у ВПЧ-позитивных женщин клиническая беременность регистрировалась в шесть раз реже по сравнению с ВПЧ-негативными женщинами (1,87% и 11,4%) [95].

Ранее проведенное исследование ученых из Нидерланд заключило, что среди женщин с бесплодием и низким уровнем фертильности интраэпителиальные поражения шейки матки высокой степени (HSIL) диагностируются в два раза чаще, чем в популяции. В исследовании было обнаружено большее число патологических цервикальных мазков в группе женщин со сниженной фертильностью по сравнению с группой контроля (6,1 и 3,9% соответственно, $p < 0,02$) [17]. В то же время, схожая научная работа, проведенная в Китае, не показала связи между исходами ЭКО и цитологическими аномалиями ($n=1044$) [96].

В исследовании американских коллег, изучающих влияние ВПЧ на эффективность программ ЭКО, было обнаружено, ЧНБ в группе ВПЧ-позитивных пациенток была ниже, чем в группе контроля (23% и 57,0%, $p=0,02$). При этом статистически значимых различий в количестве полученных ооцитов, бластоцист и частоте самопроизвольных выкидышей не отмечено [20].

В другом сходном исследовании 199 бесплодных пар ВПЧ был обнаружен как у мужчин (9,5%), у женщин (17,5%) и у обоих партнеров одновременно (4,5%). Установлен больший риск самопроизвольного выкидыша у женщин, непосредственно инфицированных ВПЧ, по сравнению

с ВПЧ-негативными (57% против 23%), а также у имеющих ВПЧ-позитивных партнеров (66,7% против 15%) [23].

Еще одно исследование итальянских коллег обнаружило статистически значимую связь между наличием ВПЧ и неудачными попытками ЭКО. В работе частота неудачых попыток ЭКО у ВПЧ-позитивных женщин составила 40% против 13,5% у ВПЧ-негативных женщин [21].

Представленные выше исследования дают эпидемиологическое обоснование неудач в программах ВРТ у пациенток с ПВИ. При этом до конца не определен перечень генотипов вируса, способных оказывать негативное влияние на репродукцию. Так, например японскими учеными исследована взаимосвязь между наиболее распространенным ВПЧ 16 типа и результатами программ ЭКО. Среди 192 пациенток лишь 5,5% имели ВПЧ 16 типа, а носительство вируса не влияло на негативный исход в циклах ЭКО [38].

Еще в двух последующих работах также не было выявлено негативного влияния папилломавирусной инфекции на ЧНБ и частоту самопроизвольных абортов после проведения программ ВРТ [20, 91].

В связи с наличием противоречивых результатов, необходимо расширение научной парадигмы нарушений фертильности и репродуктивных исходов ВРТ у пациенток с ПВИ.

Благодаря постоянному совершенствованию ВРТ эффективность и безопасность применения этих методик утвердились в репродуктивной медицине. Все больше ученых сходятся во мнении, что перенос криоконсервированных эмбрионов ведет к идентичному и даже лучшему результату по сравнению со свежим циклом. Это объясняет стремительный рост количества криопереносов по всему миру и, как следствие, рост доли живорождений [97, 98]. За отчетный период 2006–2012 гг. количество циклов с криоконсервацией эмбрионов выросло на 82,5% в странах европейского континента, а количество переносов свежих эмбрионов лишь на 3,1% [99]. Международный комитет по мониторингу вспомогательных репродуктивных технологий (ICMART) сообщает об увеличении подобных циклов на 13,8% в

период с 2010 по 2011 г. [100]. Подобные тенденции прослеживаются и в отечественной медицине - согласно регистру Российской Ассоциации Репродукции Человека (РАРЧ), доля свежих циклов ЭКО в 2019 г. составила 21,5% (2018 – 24,5%) от всех программ ВРТ, а криоперенос был произведен в 31,3% (2018 – 28,1%) циклов [40].

Причинами повышенного числа проведения криопереносов эмбрионов в последнее время считаются, во-первых, совершенствование методов витрификации, совершенствование качества питательных сред и возрастание необходимости проведения ПГТ в связи с увеличением возраста первородящих [101]. Также, использование криопротоколов позволило резко снизить частоту развития тяжелых форм синдрома гиперстимуляции яичников (СГЯ) благодаря возможности отсрочить наступление беременности у женщин с избыточным ответом яичников на введение гонадотропинов [102].

В пользу предпочтения последних переносу в свежем цикле относят то, что первый обеспечивает лучшие условия для имплантации эмбриона. В результате ятрогенной стимуляции фолликулов гонадотропинами в свежем цикле возникает асинхронность роста эндометрия, а также возможна аномальная имплантация эмбриона, что ведет к нарушению эмбриогенеза. Подобное влияние стимуляции яичников (ССО) на раннюю периимплантационную среду матки тщательно изучается с применением различных диаагностических методов. Так, например допплерометрия позволяет верифицировать снижение эндометриального и субэндометриального кровотока в ходе протокола ЭКО в сравнении с физиологическими циклическими изменениями эндометрия [103].

Морфологически данным изменениям соответствует увеличение плотности сосудистой стенки и преждевременное созревание эндометрия [104]. Кроме того, проведение гиперстимуляции приводит к нарушению в транскрипции генов восприимчивости эндометрия [105]. Имеются работы, демонстрирующие негативные последствия повышенного уровня эстрадиола (Е2) во время программы ЭКО, которые влияют на плацентацию и

последующий рост плода [97]. Например, эмбрионы мышей на 5-е сутки развития после яичниковой стимуляции имеют трофобластические ворсины меньшего размера [98, 106]. В другой работе продемонстрировано, что зародыши мышей после стимуляции яичников весили на 25% меньше по сравнению с контрольной группой [101]. Такое нарушение плацентации возникает в связи с эстрадиол-индуцированной дифференциальной экспрессией гена Grb1019 и фактора транскрипции GATA3 [107]. Из вышеописанного следует предположение, что гиперэстрогения в свежем цикле ЭКО снижает раннюю имплантацию, плацентацию и последующий рост плода. [98]. Немаловажны данные, обосновывающие перенос эмбрионов в криопротоколе с позиции дисфункции щитовидной железы у новорожденных, которая также детерминирована высоким содержанием эстрогена [108]. У женщин с синдромом поликистозных яичников (СПКЯ) перенос криоэмбрионов может повысить фертильность после циклов ЭКО [109].

Считается, что ИКСИ в основном используется для лечения мужского бесплодия, при этом большинство женщин-партнеров имеют нормальную фертильность и активность яичников, и поэтому эти женщины после стимуляции яичников склонны к гиперэстрогении. Следовательно, для этих пар эмбриотрансфер в криопротоколе с большей вероятностью улучшит исходы ЭКО.

Взаимосвязь между толщиной эндометрия и исходом ВРТ до сих пор остается спорной [100]. Оптимальная толщина эндометрия, при которой следует перенести эмбрион неоднозначна, а результаты этих исследований противоречивы [111]. Данный вопрос требует более глубоко изучения.

Интересное исследование было проведено Foresta C. и соавт., в котором была изучена криоконсервированная сперма у пациентов с онкологическими заболеваниями. В семенной жидкости последних чаще, чем в контрольной группе, обнаруживался ВПЧ. Была выдвинута гипотеза, что ВПЧ может персистировать даже в условиях ультраохлаждения и перекрестно заражать здоровые криопробирки, тем самым оказывая негативное влияние на

результаты лечения с помощью методов ВРТ [112]. В связи с этим предположением было рекомендовано проводить ВПЧ-тестирование образцов спермы до ее применения, учитывая широкую распространенность вируса в мире и невозможность представления данных о фактической инфицированности.

В свою очередь отечественными акушерами-гинекологами были опубликованы результаты межкогортного исследования, в ходе которого обнаружена большая частота персистенции вируса в эндометрии у пациенток с неудачами программы ЭКО по сравнению с наблюдениями удачного эмбриотрансфера (35% против 6,7% соответственно) [113].

Следует отметить сравнительно малое количество работ в отечественной литературе, рассматривающих влияние ПВИ на эффективность программ ВРТ, что говорит в пользу нарастающего интереса отечественного здравоохранения к данной проблеме.

1.5. Результаты проведения вакцинопрофилактики ВПЧ-ассоциированных заболеваний в мире

С 2006 года в мире началась эра первичной профилактики РШМ путем вакцинации. По данным ВОЗ, иммунизация — это самое эффективное медицинское вмешательство, изобретенное человеком, она ежегодно сохраняет жизнь 5 млн человек и спасает от инвалидности 750 тыс. детей [26, 114]. В настоящее время в Российской Федерации зарегистрированы две вакцины против ВПЧ: квадривалентная вакцина, которая была впервые лицензирована в 2006 году (ВПЧ 16, 18, 6 и 11 типы) и бивалентная вакцина, зарегистрированная в 2007 году (ВПЧ 16 и 18 типов). Вакцины рекомендовано применять до полового дебюта, т. е. до момента, когда реципиенты могут контактировать с ПВИ. Вакцина содержит в себе очищенный структурный белок L1, формирующий капсидные оболочки ВПЧ. Вирусоподобные частицы не несут в себе генетический материал, а поэтому не контагиозны; также в состав вакцины не входят антибактериальные препараты и консерванты [115].

За почти двадцать лет применения вакцины в мире был достигнут невероятный прогресс в охвате иммунизацией [27]. На совещании Global Advisory Committee по вопросам безопасности вакцинопрофилактики в 2017 г. объявлено о назначении более 270 млн доз квадривалентной вакцины во всем мире [116]. Вакцина против ВПЧ уже входит в национальные программы иммунизации детей и подростков более чем в 111 странах мира, из них 20 стран влючили в программу вакцинации мальчиков-подростков [117]. Но несмотря на это, распространенность ВПЧ-ассоциированных заболеваний в мире остается высокой, приводит к инвалидизации и снижению качества жизни женщин. Помимо этого, распространенность заболеваемости не имеет гендерного характера. Следовательно, вакцинация против ПВИ актуальна и важна [118].

ВПЧ-вакцины имеют исключительный профиль безопасности. Эффективность и безопасность вакцин против папилломавирусной инфекции подтверждены в клинических исследованиях и реальной практике в течение более чем 20 лет [119, 120]. Важно отметить, что при непредумышленном введении вакцин против папилломавирусной инфекции во время беременности не было зафиксировано ни одного нежелательного явления. В ходе гестации не было отмечено каких-либо акушерских осложнений и врожденных аномалий развития у плода [120]. На сегодняшний день отсутствует доказанная взаимосвязь вакцинации против ВПЧ со снижением фертильности, а также развитием аутоиммунных заболеваний или летальных исходов [24].

В ГБУЗ МОНИИАГ было проведено обследование беременных женщин, которые в анамнезе были вакцинированы против ВПЧ в возрасте от 18 до 36 лет (n=440). Было выявлено, что у пациенток, ранее иммунизированных от ВПЧ, осложнения гестации и послеродового периода наблюдались реже, чем у женщин с персистенцией ПВИ [121]. Структурный анализ осложнений во всех триместрах продемонстрировал статистически значимые различия между группами. Так, у иммунизированных женщин угроза прерывания

беременности в I триместре наблюдалась на 11,5%, а угроза преждевременых родов на 15,2% реже по сравнению с инфицированными. Кольпит наблюдался в 3 раза чаще в группе ВПЧ-позитивных пациенток (40% и 13,1%). Преэклампсия и обострение экстрагенитальной патологии были зафиксированы в 2 раза чаще у беременных с персистенцией вируса. Также отмечено снижение частоты внутриутробной инфекции, геморрагического синдрома, перинатального поражения центральной нервной системы и врожденных пороков развития в группе ранее вакцинированных пациенток [121].

Еще одно исследование, в котором была проведена сравнительная оценка частоты нарушений менструального цикла у девочек 10-17 лет в районах Московской области с вакцинацией против ВПЧ, демонстрирует отсутствие влияния на менструальную, овариальную и репродуктивную функцию ранее вакцинированных девочек [32].

Вышеупомянутая работа согласуется с данными Naleway A. и соавт., которые провели ретроспективное когортное исследование, которое включило почти 200 тысяч женщин в возрасте от 11 до 35 лет с диагнозами, указывающими на первичную недостаточность яичников. Заболеваемость в возрасте от 11 до 14 лет была крайне низкой (0,87 на 1 000 000 человеко-месяцев) и увеличивалась с возрастом. Скорректированный коэффициент риска после вакцинации против ВПЧ составлял 0,30 (95% ДИ: 0,07–1,36). Таким образом, работа показала отсутствие повышенного риска первичной недостаточности яичников после вакцинации подростков и негативного влияния на овуляторную и репродуктивную функции [30].

Недавно проведенный систематический обзор и метаанализ, включивший данные 60 млн человек за период наблюдения 5–8 лет после вакцинации проиллюстрировал перспективность вакцинопрофилактики. Распространенность ВПЧ 16 и 18 типов статистически значимо уменьшилась на 83% в группе девочек в возрасте 13–19 лет и на 66% у молодых женщин в

возрасте 20–24 лет. А в отношении ВПЧ 31, 33 и 45 типов снизилась на 54% среди девочек в возрасте 13–19 лет [31].

Отмечено снижение заболеваемости аногенитальными бородавками на 67% у девочек в возрасте 15–19 лет, на 54% у молодых женщин в возрасте 20–24 лет и на 31% у женщин в возрасте 25–29 лет. Среди мальчиков в возрасте 15–19 лет заболеваемость аногенитальными бородавками статистически значимо уменьшилась на 48%, а у молодых мужчин в возрасте 20–24 лет - на 32%. Через 5–9 лет после проведенной вакцинации также снизилась заболеваемость цервикальными интраэпителиальными неоплазиями (CIN II) на 51% среди обследованных девочек в возрасте 15–19 лет и на 31% среди молодых женщин 20–24 лет [31].

Результаты убедительно свидетельствуют о существенном влиянии программ вакцинации против ВПЧ на инфекцию и CIN II+ среди девочек и женщин, а также на формирование аногенитальных бородавок у мужчин и женщин различных возрастных групп. Кроме того, рутинные программы вакцинации с высоким её охватом во всех группах продемонстрировали популяционный эффект в виде снижения заболеваемости среди непривитого населения [31].

Многоцентровые исследования иммунизации продемонстрировали почти 100% защиту от CIN, ассоциированных с 16 и 18 сероварами вируса. А защита от аногенитальных кондилом составила 95–99% при применении квадривалентной вакцины [122]. Не менее интересна демонстрация перекрестного иммунитета в отношении типов ВПЧ, не входящих в состав вакцин [123]. Это объясняется внутриродовым филогенетическим сходством белка L1, который является основным антигеном в ходе иммунизации [124]. Доказана эффективность вакцинации против ВПЧ в профилактике рецидивов CIN после эксцизионных методов лечения [125].

Работа, в которой оценивали заболеваемость шейки матки у более чем 2000 женщин, вакцинированных квадривалентной вакциной против ВПЧ за период более 12 лет, показала отсутствие в данной группе зарегистрированных

случаев ВПЧ-ассоциированных раков. Таким образом, доказано, что вакцина обеспечивает долговременную защиту женщин в течение всего периода наблюдения [123].

Наиболее широкое внедрение вакцинопрофилактики в мире отмечено в Австралии, США и некоторых странах Европы. В Австралии распространенность вакцинных типов ВПЧ у женщин в возрасте 18–35 лет, через 12 лет после вакцинации, снизилась более чем на 90%. Распространенность ВПЧ 31, 33, 45 типов также была ниже среди вакцинированных (4%) по сравнению с невакцинированными (7%) женщинами, что свидетельствует о перекрестном иммунитете. Таким образом, вакцинация изменила эпидемиологию ВПЧ-инфекции у австралийских женщин, заметно снизив распространенность не только вакцино-таргетных типов, в том числе среди женщин с известными факторами риска инфекции. [126]. Важно отметить, что в Австралии также отмечено снижение частоты выявления диспластических поражений шейки матки у женщин, ранее вакцинированных против ВПЧ [127].

В США по истечению тех же 12 лет распространенность вакцинных типов ВПЧ у молодых девушек 14–19 лет снизилась на 88%, а у женщин 20-24 лет – на 81% [128]. В Норвегии через 10 лет после начала национальной программы вакцинации против ВПЧ распространенность вакцинных типов ВПЧ уменьшилась на 86% среди лиц в возрасте от 14 до 19 лет и на 71% среди лиц в возрасте от 20 до 24 лет, что должно привести к существенному сокращению случаев ВПЧ-ассоциированных заболеваний [129].

Схожие данные демонстрируют исследования в Канаде. Через 9 лет после начала программы вакцинации отмечается значительное снижение случаев CIN II и CIN III у женщин 16–23 лет на 62% и 65% соответственно. [130].

Эти результаты еще раз подтверждают важность вакцинации против ВПЧ. Тем не менее, вопрос влияния персистирующей ВПЧ-инфекции на эффективность программ ЭКО до сих пор остается неоднозначным, что

несомнено требует продолжения поиска нового вектора улучшения исходов программ ВРТ. Кроме того, не проводились работы, в которых бы изучалось влияние проведенной вакцинации против ВПЧ на эффективность программ ВРТ, включая криопротоколы.

ГЛАВА 2. ХАРАКТЕРИСТИКА КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА И МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Критерии отбора пациенток

Настоящая работа проводилось на базе поликлинического отделения и отделения репродуктологии ГБУЗ МО Московского Областного Научно-исследовательского института акушерства и гинекологии.

Исследование представляло собой работу, направленную на обследование пациенток, обратившихся с 2019 по 2021 годы в отделение Репродуктологии ГБУЗ МО МОНИИАГ для лечения бесплодия в программах ВРТ и ПЭ.

После отбора пациенток согласно критериям включения и исключения в исследование было включено 179 женщин. Далее с учетом поставленных задач, были сформированы три группы:

- I группа – пациентки с бесплодием и персистирующей папилломавирусной инфекцией (n=66);
- II группа – пациентки с бесплодием без папилломавирусной инфекции (n=71);
- III группа – пациентки с бесплодием, которые в анамнезе были иммунизированы квадривалентной вакциной против папилломавирусной инфекции (n=42).

Клинические исходы характеризовали по показателям частоты наступления беременности на перенос эмбриона и частоты ранних репродуктивных потерь (в I триместре беременности).

Критерии включения:

- возраст от 18 до 35 лет включительно;
- наличие первичногоо или вторичного бесплодия;
- нормальный овариальный резерв: ФСГ (2-4 день менструального цикла) ≤ 10 МЕ/л; АМГ ≥ 1,2 нг/мл; по результатам УЗИ органов малого таза – не менее 5 антральных фолликулов суммарно в обоих яичниках);

- согласие на участие в исследовании.

Критерии исключения:

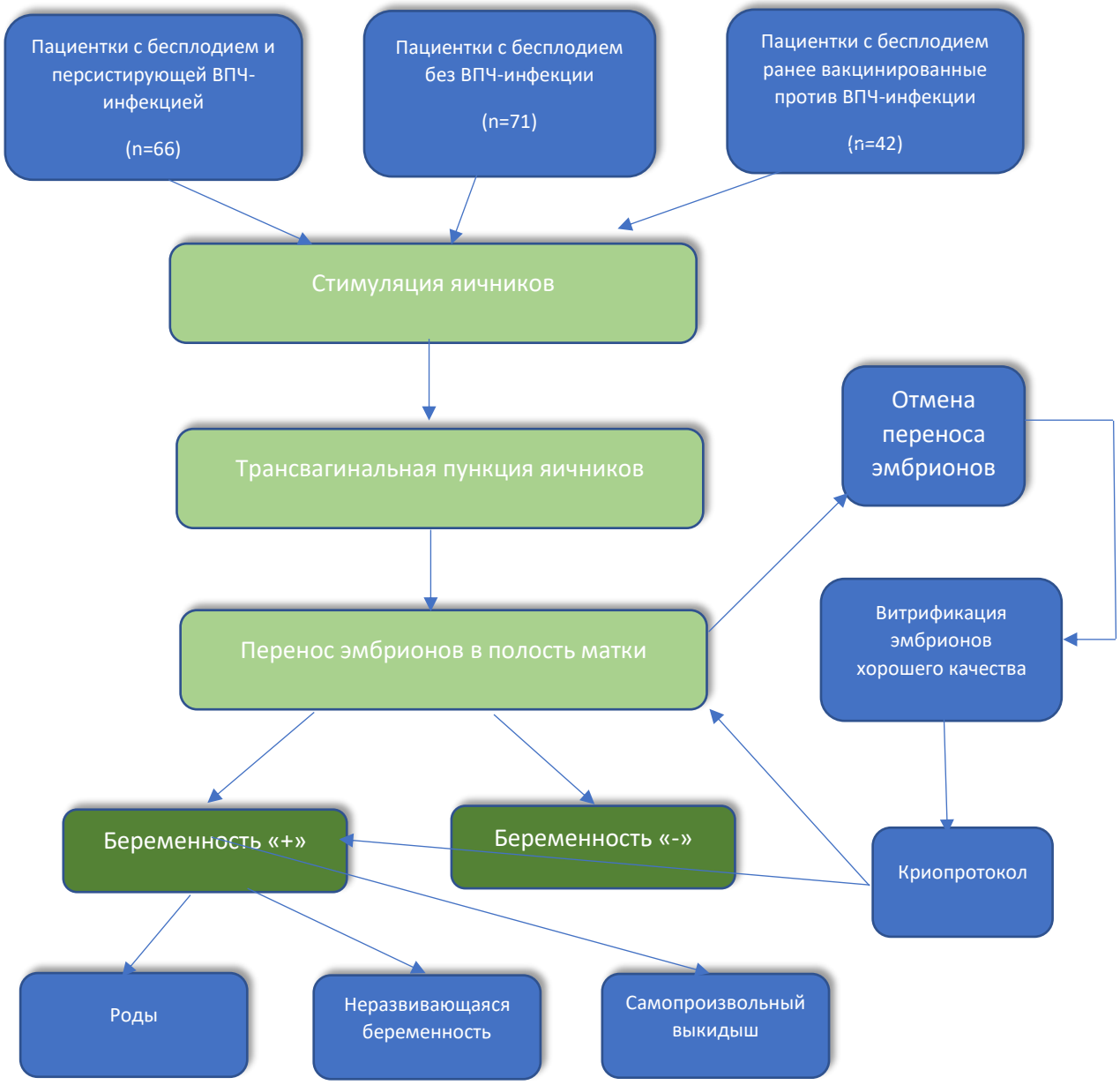
- возраст старше 35 лет;
- сниженный овариальный резерв;
- не фертильная сперма партнера;
- врожденные аномалии половых органов;
- обострение хронических заболеваний;
- алкогольная и/или наркотическая зависимость;
- наличие злокачественных новообразований;
- отказ пациентки от участия в исследовании.

Исследование было одобрено Независимым Локальным Этическим Комитетом при ГБУЗ МО «Московский областной НИИ акушерства и гинекологии» 20.11.2019 года, протокол № 10.

2.2. Дизайн исследования

Было проведено наблюдательное ретроспективно-проспективное исследование.

Дизайн исследования



Все женщины на этапе прегравидарной подготовки при первичном обращении в отделение репродуктологии ГБУЗ МО «Московский областной НИИ акушерства и гинекологии» были обследованы согласно приказу Министерства здравоохранения Российской Федерации № 107н "О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению" от 23 августа 2012 г. с обновлениями в приказе Министерства здравоохранения РФ № 803н от 31 июля 2020 г.

Применялись следующие методы обследования:

1. Клинико-анамнестический метод: анамнез, общий осмотр, измерение антропометрических параметров и оценка конституциональных особенностей для определения вероятных метаболических или эндокринных нарушений;
2. Гинекологический осмотр, включающий бимануальное исследование матки и придатков, а также осмотр шейки матки в зеркалах;
3. Расширенная кольпоскопия;
4. Цитологическое исследование мазков с эндо- и экзоцервикса;
5. Расширенное ВПЧ-генотипирование с определением вирусной нагрузки;
6. Гормональные исследования крови: фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), лютеинизирующий гормон (ЛГ), эстрадиол (Е2), пролактин (Прл) определяемые на 2–4 день менструального цикла; прогестерон (П), оцениваемый на 20-22 день менструального цикла, а также тиреотропный гормон (ТТГ), свободный тироксин ($Т_{4св}$), антимюллеров гормон (АМГ);
7. Диагностика инфекционных заболеваний с помощью ПЦР путем взятия мазков из урогенитального тракта: хламидиоз, уреаплазмоз, микоплазмоз, трихомониаз;
8. Микробиологическое исследование отделяемого влагалища и цервикального канала;

9. Ультразвуковое исследование органов малого таза.

2.3. Общеклиническая характеристика пациенток

При оценке соматического здоровья женщин противопоказаний для проведения программ ВРТ в группах ВПЧ-позитивных, ВПЧ-негативных и ранее вакцинированных пациенток с бесплодием не было выявлено, также не было выявлено различий в состоянии здоровья, с учетом предоставленных данных и по результатам сбора анамнеза.

Возраст пациенток, с учетом критериев включения в исследование, варьировал в диапазоне от 25 до 35 лет. Достоверных различий по данному параметру между исследуемыми пациентками в группах не обнаружено (Табл. 2). Средний возраст среди всех пациенток составил 31,9±2,7 лет.

Таблица 2 - Возрастная структура обследуемых женщин

Возраст (лет)	**I группа, (n=66)**	**II группа, (n=71)**	**III группа, (n=42)**	**Уровень значимости**
25-29	15 (22,7%)	21 (29,6%)	14 (33,3%)	0, 173
30-35	51 (77,3%)	50 (70,4%)	28 (66,7%)	

При учете группового распределения отмечено, что средний возраст пациенток I группы оказался 32,0±2,7 лет, II группы - 32,3±2,3 лет, а III группы - 31,2±3,0 лет (Табл. 3).

В аспектах оценки социально-бытовых факторов, уровня образования и по семейному положению женщины в сравниваемых группах различий не имели.

Таблица 3 - Возрастная характеристика включенных в исследование пациенток по группам

Возраст, годы	**I группа, (n=66)**	**II группа, (n=71)**	**III группа, (n=42)**	**Уровень значимости**
Среднее арифметическое	32,03±2,7	32,28±2,29	31,17±3,0	0,183
Медиана	32,5	33	31,5	
Минимум	25,0	26,0	26,0	
Максимум	35,0	35,0	35,0	

Структурирована экстрагенитальная патологии в соответствии с групповым распределением, статистически значимых различий между группами не выявлено (p=0,522). Среди соматических заболеваний встречались следующие: сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) (пролапс митрального клапана 1 степени без регургитации, гипертоническая болезнь), заболевания желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) (хронический гастрит, дискинезия желчевыводящих путей (ДЖВП), хронический панкреатит), дыхательной системы (ДС) (хронический бронхит, ларинготрахеит), мочевыделительной системы (хронический цистит), фиброзно-кистозная мастопатия (ФКМ), патология эндокринной системы (гипотиреоз, медикаментозно компенсированная форма), а также сочетанная патология (Табл. 4).

Таблица 4 - Частота встречаемости экстрагенитальных заболеваний в сравниваемых группах

Заболевания	**I группа, (n=66)**	**II группа, (n=71)**	**III группа, (n=42)**	**Уровень значимости**
ПМК I ст, n (%)	1 (1,5%)	-	2 (4,8%)	0,522
Гипертоническая болезнь, n (%)	1 (1,5%)	3 (4,2%)	-	
Хронический бронхит, n (%)	2 (3,0%)	2 (2,8%)	2 (4,8%)	
Ларинготрахеит, n (%)	1 (1,5%)	-	-	
Хронический гастрит, n (%)	4 (6,0%)	2 (2,8%)	2 (4,8%)	
Дискинезия желчевыводящих путей, n (%)	1 (1,5%)	-	1 (2,4%)	
Хронический панкреатит, n (%)	-	1 (1,4%)	-	
Фиброзно-кистозная мастопатия, n (%)	4 (6%)	5 (7%)	3 (7,2%)	
Хронический цистит, n (%)	7 (10,6%)	5 (7%)	2 (4,8%)	
Гипотиреоз, n (%)	4 (6%)	8 (11,3%)	4 (9,5%)	
Сочетанная патология, n (%)	2 (3%)	8 (11,3%)	4 (9,5%)	

Проведена оценка вредных привычек, оказалось, что по количеству курящих женщин статистически значимых отличий в группах не выявлено. Большая часть пациенток отрицали вредные привычки: 92,4% (n=61) женщин в I группе, 94,4% (n=67) во II и 92,9% (n=39) в III (p=0,894) (Рис. 3).

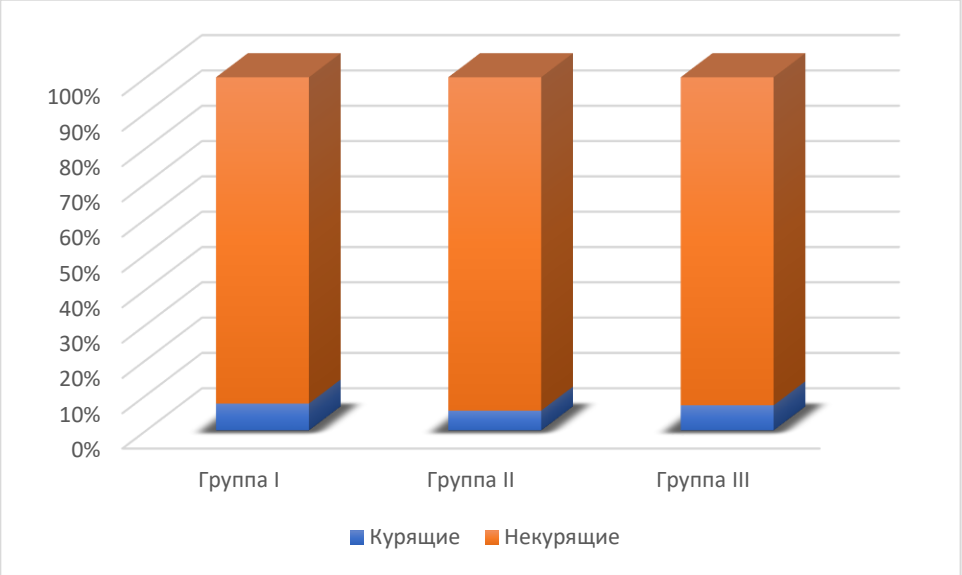


Рисунок 3. Доля курящих в исследуемых группах.

Проведен сравнительный анализ основных характеристик менструального цикла пациенток в группах.

Статистически значимых различий между показателями в группах сравнения не обнаружено. У большинства женщин менархе наступило в тринадцатилетнем возрасте, а возрастной диапазон варьировал от 11 до 17 лет.

Длительность менструального цикла в среднем составила 28 дней, а средняя продолжительность менструального кровотечения - 5 дней. В ходе оценка характера менструальной функции пациенток выявлено, что у большинства менструальный цикл был регулярным. Так в I группе это было характерно для 95,5% (n=63) женщин, во II группе - для 100% (n=71) и для 95,2% (n=40) в III группе (табл. 5).

Таблица 5 - Характеристика менструальной функции пациенток

Показатель	I группа, (n=66)	II группа, (n=71)	III группа, (n=42)	Уровень значимости
Возраст менархе, годы	13,0±0,9	12,9±0,9	12,8±1,1	0,642
Регулярный менструальный цикл	63 (95,5%)	71 (100%)	40 (95,2%)	0,184
Нерегулярный менструальный цикл	3 (4,5%)	0 (0%)	2 (4,8%)	
Интенсивность менструального кровотечения				
Скудная	2 (3,0%)	1 (1,4%)	1 (2,4%)	0,984
Умеренная	53 (80,3%)	56 (78,8%)	34 (80,9%)	
Обильная	11 (16,7%)	14 (19,7%)	7 (16,7%)	
Болезненные менструации	23 (34,8%)	25 (35,2%)	12 (28,6%)	0,739
Безболезненные менструации	43 (65,2%)	46 (64,7%)	30 (71,4%)	

Таким образом, наличие персистирующей ВПЧ-инфекции у пациенток I группы, а также предшествующая вакцинация квадривалентной вакциной против ВПЧ у женщин III группы не влияли на характер менструального цикла.

В исследовании было акцентировано внимание на возраст начала половой жизни (коитархе) женщин. Для общей выборки исследования он составил 17,3±1,5 лет. При селективном анализе средний возраст полового дебюта

составлял 16,9±1,2, 17,4±1,7 и 17,8±1,5 лет для I, II и III групп соответственно (p=0,007) (Рис. 4).

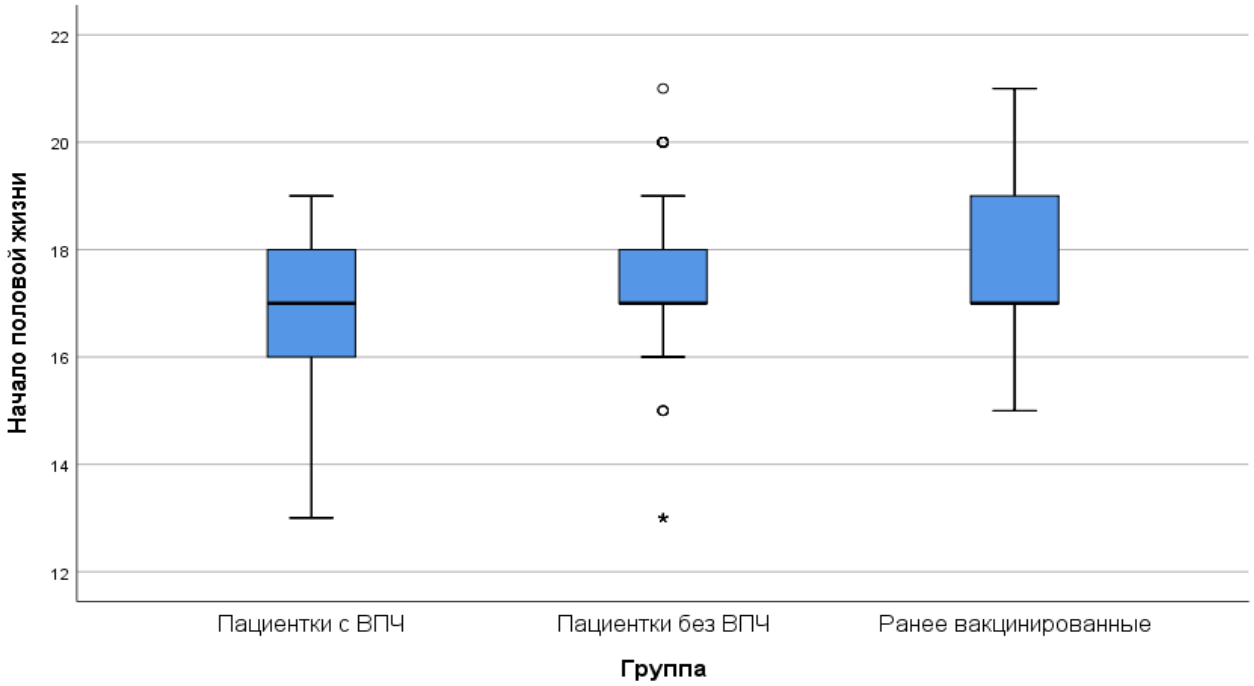


Рисунок 4. Возраст начала половой жизни в сравниваемых группах

Дополнительно был проведен корреляционный анализ, целью которого было выявление потенциальной взаимосвязи между показателем ВПЧ и началом половой жизни пациенток. В результате была выявлена обратная (отрицательная) корреляционная зависимость (r = -0,215, p = 0,003). Таким образом, раннее начало половой жизни сопровождалось большей вероятностью наличия ПВИ.

Рассмотрение методов контрацепции в исследуемых группах показало следующий результат. Большая часть женщин не использовали контрацепцию, что составило 60,6% (n=40) в I группе, 69,0% (n=49) - во II группе, и 66,7% (n=28) - в III группе. Барьерный способ контрацепции оказался наиболее распространенным у женщины в I группе 19,7% (n=13), его использовали почти в 3 раза чаще, чем женщины во II группе - 8,5% (n=6) и в III группе - 7,1% (n=3). Гормональная контрацепция (КОК) использовалась примерно в одинаковом проценте наблюдений: 15,2% (n=10) пациенток I

группы, 16,9% (n=12) женщин во II группе, и 19,0% (n=8) - в III группе; p=0,466 (Табл. 6).

Таблица 6 - Распределение методов контрацепции в исследуемых группах

Показатель	**I группа, (n=66)**	**II группа, (n=71)**	**III группа, (n=42)**	**Уровень значимости**
Отсутствие контрацепции	40 (60,6%)	49 (69,0%)	28 (66,7%)	0,466
Барьерный метод	13 (19,7%)	6 (8,5%)	3 (7,1%)	
КОК	10 (15,2%)	12 (16,9%)	8 (19,0%)	
ВМК	3 (4,5%)	4 (5,6%)	3 (7,1%)	

Частота встречаемости отдельных нозологических форм в группах представлена в таблице 7.

Таблица 7 - Заболеваемость в исследуемых группах

Показатель	**I группа (n=66)**	**II группа (n=71)**	**III группа (n=42)**	**Уровень значимости**
Миома матки	7 (10,6%)	8 (11,3%)	4 (9,5%)	0,248
Гиперплазия эндометрия	7 (10,6%)	5 (7,0%)	3 (7,1%)	
Кисты яичников	11 (16,7%)	12 (16,9%)	8 (19,0%)	
ВЗОМТ	16 (24,2%)	19 (26,8%)	12 (28,5%)	
Эндометриоз	8 (12,1%)	9 (12,7%)	6 (14,3%)	
Сочетанная патология	6 (9,1%)	6 (8,5%)	5 (11,9%)	

Структурный анализ гинекологической патологии не отразил статистически значимых различий между группами (p=0,248). Высокий процент трубно-перитонеального фактора бесплодия (52,5%) у исследуемых пациенток определен широкой встречаемостью ВЗОМТ, а также перенесенных в анамнезе ЗППП (26,3%).

Выявлено, что 77,1% (n=138) женщин ранее перенесли оперативные вмешательства на органах малого таза. Ниже продемонстрированы данные о перенесенных хирургических вмешательствах у исследуемых пациенток (Табл. 8).

Таблица 8 - Ранее перенесенные оперативные вмешательства на органах малого таза у обследуемых пациенток

Операции	**I группа (n=66)**	**II группа (n=71)**	**III группа (n=42)**	**Уровень значимости**
Лапароскопия	33 (50%)	38 (53,5%)	23 (54,8%)	0,659
Лапаротомия	10 (15,2%)	10 (14,1%)	5 (11,9%)	
ГС+РДВ	7 (10,6%)	5 (7,0%)	3 (7,1%)	
ГСГ	1 (1,5%)	2 (2,8%)	1 (2,4%)	

Статистический анализ перенесенных ранее оперативных вмешательств не выявил неоднородностей между группами пациенток (p=0,659).

Внутригрупповое соотношение типов бесплодия относительно наличия или отсутствия предшествующих беременностей также не имело статистически значимых различий (Рис. 5).

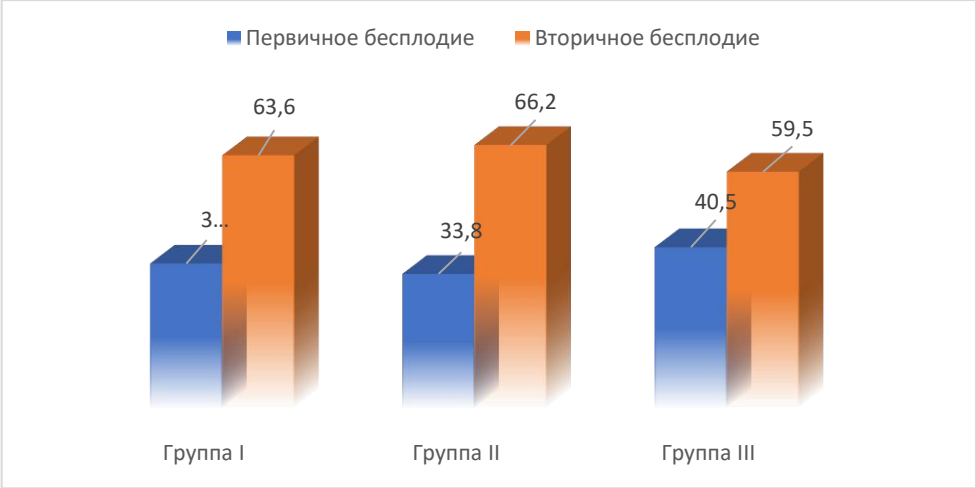


Рисунок 5. Сравнительная характеристика обследуемых женщин по типу бесплодия, %

По этиологическим причинам бесплодия трубно-перитонеальный фактор доминировал во всех группах пациенток, составив примерно половину всех случаев: у пациенток I группы в 56,1% (n=37), а также в 50,7% (n=36) и 50,0% (n=21) у пациенток II и III групп соответственно. На втором месте по частоте встречаемости был мужской фактор (без признаков тяжелой патологии), составив 15,2% (n=10), 19,7% (n=14) и 26,2% (n=11) в I, II и III группах соответственно. На долю сочетанного фактора и бесплодия неясной этиологии в I группе пришлось 13,6% (n=9) и 15,2% (n=10), во II группе — 22,2% (n=16) и 7% (n=5), а в III группе пациенток – 16,7% (n=7) и 7,1% (n=3) (Табл. 9).

Необходимо отметить, что доля бесплодия неясного генеза в группе ВПЧ-позитивных пациенток была в 2,2 раза выше по сравнению с группами без ВПЧ-инфекции и ранее вакцинированных женщин. А мужской фактор бесплодия диагностировался в 1,7 раз чаще в группе ранее вакцинированных женщин по сравнению с ВПЧ-позитивными пациентками.

Таблица 9 - Этиологические факторы бесплодия

Этиология бесплодия	**I группа (n=66)**	**II группа (n=71)**	**III группа (n=42)**	**Уровень значимости**
Трубно-перитонеальный фактор	37 (56,1%)	36 (50,7%)	21 (50,0%)	0,411
Мужской фактор	10 (15,2%)	14 (19,7%)	11 (26,2%)	
Сочетанный фактор	9 (13,6%)	16 (22,5%)	7 (16,7%)	
Неясного генеза	10 (15,2%)	5 (7,0%)	3 (7,1%)	

В структуре акушерского анамнеза родоразрешение отмечено у 7,6 % (n=5) пациенток в I группе, у 15,5 % (n=11) – во II группе и у 19% (n=8) женщин в III группе. Самопроизвольные выкидыши наблюдались у 22,7% (n=15) женщин в I группе, у 18,3% (n=13) - во II группе и 14,3% (n=6) – в III. Внематочная беременность отмечена в I группе и во II группах у 22,7% (n=15) и 21,1% (n=15) пациенток соответственно, а в III группе – у 16,7% (n=7) женщин (Табл. 10).

Примечательно, что в группе пациенток с персистирующей ПВИ самопроизвольные аборты встречались в 1,6 раз, а внематочные беременности наблюдались в 1,4 раза чаще, чем в группе ранее вакцинированных от ВПЧ женщин.

Абдоминальное родоразрешение в анамнезе отмечалось одинаково часто: в I группе – в 1,5% (n=1) наблюдений, во II – 1,4% (n=1) и в III группе - у 2,4% (n=1).

Таблица 10 - Характеристика репродуктивной функции.

Показатель	**I группа, (n=66)**	**II группа, (n=71)**	**III группа, (n=42)**	**Уровень значимости**
Роды	5 (7,6%)	11 (15,5%)	8 (19%)	0,472
Аборты	7 (10,6%)	8 (11,3%)	4 (9,5%)	0,959
Самопроизвольные аборты	15 (22,7%)	13 (18,3%)	6 (14,3%)	0,542
Внематочные беременности	15 (22,7%)	15 (21,1%)	7 (16,7%)	0,745

Продолжительность бесплодия пациенток во всех группах варьировала от 1 года до 15 лет. Медианная продолжительность бесплодия у женщин I группы составила 4,0 (2,0;7,0) года, у II группы — 5,0 (3,0;7,0) лет, и у пациенток III группы – 5,0 (3,0;7,0) лет (p = 0,573).

В большинстве случаев женщины впервые обратились для лечения бесплодия с помощью ВРТ, что составило 65,9% (n=118) пациенток. Однако у остальных женщин для наступления беременности требовалось проведение повторных эмбриотрансферов. Таковые были отмечены у 22,3% (n=40), 8,9% (n=16) и 2,2% (n=4) пациенток в отношении второй, третьей и четвертой попыток ЭКО соответственно. В одном наблюдении (0,6%) в I группе предстояла пятая попытка ЭКО (Табл. 11)

Таблица 11 - Кратность попыток ЭКО в анамнезе.

Количество попыток ЭКО в анамнезе	**I группа (n=66)**	**II группа (n=71)**	**III группа (n=42)**	**Уровень значимости**
Первая попытка	40 (60,6%)	45 (63,4%)	33 (78,6%)	0,613
Вторая попытка	16 (24,2%)	18 (25,4%)	6 (14,3%)	
Третья попытка	7 (10,6%)	6 (8,5%)	3 (7,1%)	
Четвертая попытка	2 (3,0%)	2 (2,8%)	-	
Пятая попытка	1 (1,5%)	-	-	

Далее проведен структурный анализ патологии шейки матки и результатов цитологического скрининга, в ходе которого отмечена следующая закономерность.

Отсутствие патологии в большем количестве наблюдений отмечено в III и II группах, что составило 76,2% (n=32) и 64,8% (n=46) женщин по сравнению с пациентками I группы, у которых лишь 25,7% (n=17) пациенток не имели заболеваний шейки матки.

Не менее интересным является анализ цитологических мазков экзо- и эндоцервикса, по результатам которого изменения по типу CIN наблюдались только у представительниц I и II групп, а именно в 28,8% (n=19) и 15,5% (n=11) наблюдений соответственно. В группе ранее вакцинированных пациенток дисплазии шейки матки не отмечено (Табл. 12).

Таблица 12. Результаты цитологического скрининга в сравниваемых группах

Заболевания шейки матки	**I группа (n=66)**	**II группа (n=71)**	**III группа (n=42)**	**Уровень значимости**
CIN I	13 (19,7%)**	11 (15,5%)	0	p < 0,001
CIN II	3 (4,5%)***	0	0	
CIN III	3 (4,5%)***	0	0	
NILM	47 (71,2%)**	60 (84,5%)	42 (100%)	

Примечание. * - статистически значимые различия (p<0,05) относительно второй группы; ** - статистически значимые различия (p<0,05) относительно третьей группы; *** - статистически значимые различия (p<0,05) относительно второй и третьей группы

Из представленных данных видно, что негативный в отношении интраэпителиальных поражений и злокачественности материал (NILM) определялся почти у половины пациенток I группы (71,2%). А у трети пациенток (28,8%) в анамнезе были зафиксированы интраэпителиальные поражения различной степени.

Во II группе у 84,5% (n=60) пациенток цитологический мазок соответствовал NILM, и только у 15,5% (n=11) выявлены поражения легкой степени (CIN I), поражения более тяжелой степени (CIN II/III) не отмечены.

В соответствии с клиническими рекомендациями всем пациенткам с CIN на этапе прегравидарной подготовки было проведено патогенетическое лечение.

У всех пациенток с CIN III и двух с CIN II произведена конизация шейки матки электродом-парусом (7,6%). Радиоволновой петлевой эксцизии шейки матки (15,2%) подверглись 5 женщин с CIN I, 1 с CIN II, а также 4 с хроническим цервицитом. Пациентки с хроническим цервицитом 36,4% (n=24) были пролечены консервативно.

В II группе в анамнезе треть пациенток получили лечение шейки матки 30,9% (n=22). Из них у 5,6% (n=4) была выполнена радиоволновая петлевая эксцизия шейки матки, одной (1,4%) произведена CO_2 лазерная деструкция.

Консервативная терапия была проведена 23,9% (n=17) пациенткам с хроническим цервицитом.

Инвазивное лечение в III группе не проводилось, а пациентки с хроническим цервицитом получили патогенетическое консервативное лечение с положительным эффектом (23,8%) (Табл. 13).

Таблица 13 - Лечение заболеваний шейки матки в анамнезе (доля среди получивших лечение).

Терапия	**I группа (n=66)**	**II группа (n=71)**	**III группа (n=42)**	**Уровень значимости**
Общее количество пролеченных	43 (65,2%)	22 (30,9%)	10 (23,8%)	
Радиоволновая петлевая эксцизия	10 (15,2%)**	4 (5,6%)	0	p < 0,001
Конизация	5 (7,6%)**	0	0	
CO_2 лазерная деструкция	4 (6,1%)*	1 (1,4%)	0	
Консервативное лечение	24 (36,4%)	17 (23,9%)	10 (23,8%)	

Примечание. * - статистически значимые различия (p<0,05) относительно третьей группы; ** - статистически значимые различия (p<0,05) относительно второй и третьей группы

2.4. Методы исследования

2.4.1. Анализ инфекции, передающейся половым путем.

Для выявления ИППП, к которым относятся Chlamydia trachomatis, Ureaplasma Urealyticum, Neisseria gonorrhoeae, Mycoplasma Hominis и Trichomonas vaginalis применялась ПЦР для верификации наличия или отсутствия патогена. В ходе гинекологического осмотра влагалищную порцию

шейки матки выводили в зеркалах и очищали от избытка цервикальной слизи и вагинального секрета. Затем с помощью стерильной щеточки производили забор материала из зоны переходного эпителия и примыкающих зон экзо- и эндоцервикса, после чего он помещался в стерильную транспортную среду, которую хранили при температурном режиме от 2°С до 8°С.

По результатам проведенного обследования всем пациенткам провели этиотропную терапию согласно клиническим рекомендациям по ведению пациенток с урогенитальными заболеваниями.

2.4.2. Цитологическое исследование шейки матки.

Цитологический скрининг шейки матки также входило в обязательный перечень обследования у женщин, принявших участие в исследовании. Соскоб для цитологического исследования проводили с помощью специальной цервикального зонда «*Rovers Cervex-Brush*» с двойным экзо- и эндоцервикальным наконечником. В цервикальный канал аккуратно вводили центральный участок цитощётки, а периферические щетинки прижимали к влагалищной поверхности шейки матки его. Далее для забора материала производили 5 оборотов щетки по часовой стрелке, после чего съемную часть щетки помещали в стабилизирующий раствор. Интерпретацию результата цитологического исследования проводили в соответствии с классификацией Бетесда (Bethesda system) (Табл. 14).

На момент вступления в программу ЭКО всем пациенткам с отличными от нормальных результатами цитологического скрининга было произведено инвазивное или консервативное лечение, в результате которого у всех женщин патологических изменений не отмечено (NILM).

Таблица 14 - Классификация Бетесда (Terminology Bethesda System)

Атипичные железистые клетки	**AGC**
Атипичные железистые клетки, похожие на неопластичные	AGC, favor neoplastic
Атипичные клетки плоского эпителия	ASC
Атипичные клетки плоского эпителия неясного значения	ASC-US
Атипичные клетки плоского эпителия, не позволяющие исключить HSIL	ASC-H
Цервикальная интраэпителиальная неоплазия 1, 2 или 3 степени	CIN 1, 2, 3
Карцинома in situ	CIS
Высокая степень плоскоклеточного интраэпителиального поражения	HSIL
Низкая степень плоскоклеточного интраэпителиального поражения	LSIL
Не определенные иначе	NOS

2.4.3. Молекулярно-биологические методы исследования

Выявление и количественное определение двенадцати типов ВПЧ ВКР: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 в клиническом материале проводили методом ПЦР в реальном времени с набором реагентов *«АмплиСенс® ВПЧ ВКР скрин-титр-FL», ООО «Компания Хеликон», РФ.*

Метод основан на одновременной амплификации и обнаружении участков ДНК Е1, Е2 генов ВПЧ и участка ДНК β-глобинового гена, используемого в качестве эндогенного внутреннего контроля.

Алгоритм забора материала аналогичен взятию цитологического мазка, описанного выше. После чего рабочую часть цитощётки помещали в емкость с транспортной средой, которая хранилась при идентичной температуре (2–8^0 С). В лаборатории после ряда процедур производилось центрифугирование 10

тыс. оборотов в минуту в течение 30 секунд. После добавления отмывочного раствора помещали в термостат с температурой 56^0С на 5–10 минут, затем добавляли буфер для элюции ДНК. После этого помещали в термостат на 5 минут, центрифугировали при 12 тыс. оборотов в минуту в течение минуты. Полученные результаты обрабатывали автоматически при помощи используемого программного обеспечения. Благодаря выполнению ПЦР-диагностики в режиме реального времени их интерпретация позволяла судить не только о качественном, но и количественном наличии вирусных частиц.

2.4.4. Расширенная кольпоскопия

Всем исследуемым пациенткам перед вступлением в программы ВРТ проводили расширенную кольпоскопию. Оценивали состояние эпителия шейки матки, вульвы и влагалища, выявляли очаги поражения, дифференцировали доброкачественные изменения от злокачественных, а также при необходимости выполняли прицельную биопсию шейки матки. Для проведения расширенной кольпоскопии применяли кольпоскоп «*Leisegang*», в котором имеются линзы с 7, 15 и 30-кратным увеличением. На первом этапе эпителий шейки матки обрабатывали 3% раствором уксусной кислоты, затем проводили пробу Шиллера с применением 0,5% раствором Люголя.

Полученный результат расширенной кольпоскопии интерпретировали согласно утвержденной в 2017 г. на XVI Всемирном Конгрессе Международной Федерации по цервикальной патологии и кольпоскопии (IFCPC) в Орландо кольпоскопической терминологии. (Табл. 15)

Таблица 15 - Кольпоскопическая терминология, утвержденная IFCPC

Общие Положения	• Удовлетворительная/не удовлетворительная (из-за воспаления, кровотечения, рубцовых изменений или деформации шейки матки и т.д.) • Стык между МПЭ и ЦЭ визуализируется полностью, частично, не визуализируется • Тип ЗТ (1-2)
Нормальная кольпоскопическая картина	<u>Многослойный плоский эпителий:</u> • Зрелый • Атрофический <u>Цилиндрический эпителий:</u> • Эктопия • Эктропион <u>Метапластический эпителий</u> <u>Открытые/закрытые железы:</u> • Наботовы кисты • Открытые железы (крипты) <u>Децидуоз при беременности</u>
Аномальная кольпоскопическая картина	<u>Локализация поражения:</u> • В пределах или вне ЗТ (стыка МПЭ и ЦЭ) • Соответствие условному циферблату <u>Размеры области поражения:</u> • В процентном соотношении с экзоцервиксом
Степень I (слабо выраженные поражения)	• Тонкий АБЭ с неровными нечеткими краями • Медленное проявление АБЭ • Нежная мозаика • Нежная пунктация

(продолжение таблицы 15)

Степень II (выраженные поражения)	• Плотный АБЭ с четкими контурами • Быстрое проявление АБЭ • Плотный ацетобелый ободок вокруг ОЖ (крипт) • Грубая мозаика • Грубая пунктация • Признак «поражение в поражении» • Признак гребня (бугристости)
Неспецифические Признаки	• Лейкоплакия (кератоз,гиперкератоз) • Эрозия • Проба Шиллера йоднегативная/йодпозитивная
Подозрение на инвазивную карциному	• Атипические сосуды • «Ломкие сосуды» • Неоднородная поверхность • Экзофитные поражения, некроз, изъязвление, опухолевидное крупное новообразование
Другие кольпоскопические картины	• Врожденная ЗТ • Гипертрофия • Деформация • Кондиломы • Последствия ранее проведенного лечения • Стеноз • Врожденные аномалии • Воспаление • Полипы (экзо-/эндоцервикальный) • Эндометриоз

2.4.5. Ультразвуковое исследование органов малого таза

На 5–7 день менструального цикла всем исследуемым пациенткам проводили ультразвуковое исследование органов малого таза с целью исключения патологии, препятствующей проведению программы ВРТ.

Исследование осуществляли посредством трансвагинального датчика с частотой 4–8 МГц на ультразвуковом аппарате «*Medison Accuvix V20*». В ходе осмотра визуализировали размеры, форму и положение тела матки, структуру миометрия, наличие миоматозных узлов или очагов аденомиоза и их локализацию, контуры полости матки, толщину и структуру эндометрия, размеры и топографию яичников относительно матки, количество антральных фолликулов. У всех женщих обнаружено не менее 5 антральных фолликулов суммарно в обоих яичниках, что соответствует критериям включения в исследование и параметрам нормального овариального резерва.

Дополнительно оценено наличие или отсутствиие спаечного процесса, объемных образований и свободной жидкости в полости малого таза.

Проведение протокола ЭКО подразумевало собой проведение динамического ультразвукового контроля. Первое УЗИ соответствовало дню начала стимуляции яичников. Далее на 5-й день от ее начала проводили мониторинг роста фолликулов и толщины эндометрия для оценки эффективности подобранной дозировки гонадотропинов и ее возможной корректировки. Размер фолликулов высчитывали определением среднего арифметического между его продольным и поперечным диаметрами. УЗ контроль динамики фолликулогенеза и пролиферации эндометрия производили каждые 2-3 дня до принятия решения о назначении овуляторной дозы человеческого хорионического гонадотропина (чХГ) и последующего проведения трансвагинальной пункции яичников.

Нормально развивающимся считали эндометрий, достигший толщины 7 мм и более на 8-й день менструального цикла.

На 21-й день после переноса эмбрионов проводили УЗ диагностику наличия беременности (визуализация плодного яйца в полости матки). Диагностику клинической беременности по ультразвуковому определению сердечной деятельности плода выполняли в сроке 6 недель.

2.4.6. Этапы проведения ЭКО

Стимуляцию яичников в контролируемых циклах ЭКО выполняли с использованием длинного протокола с применением агониста гонадотропин-рилизинг гормона (аГнРГ) (Рис. 6).

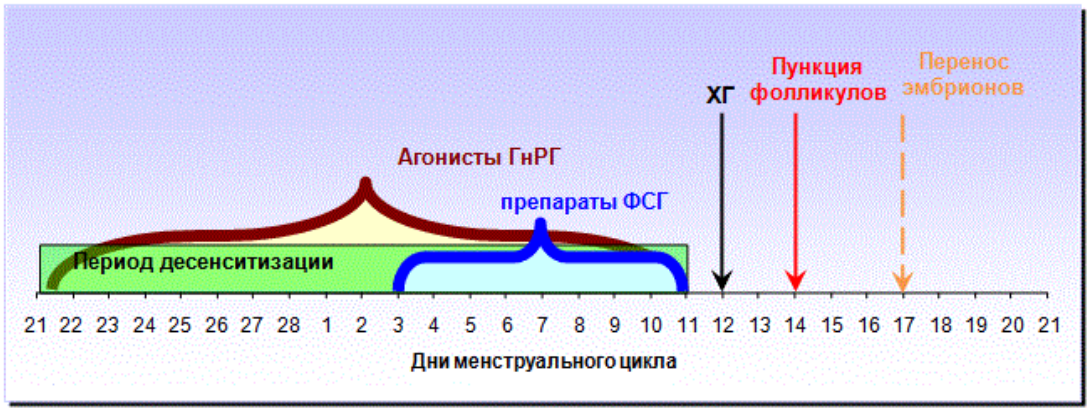


Рисунок 6. Схема применяемого длинного протокола ЭКО с аГнРГ

Предварительную десенситизацию гипоталамо-гипофизарно-яичниковой системы проводили с помощью однократного введения пролонгированной формы трипторелина ацетата (Диферелин) в дозировке 3,75 мг на 19–21 день менструального цикла.

Подбор стартовой дозы рекомбинантного ФСГ или менопаузальных/мочевых гонадотропинов осуществляли, основываясь на клинических рекомендациях. Их максимальная суточная доза не превышала 225 МЕ. Далее, как уже было описано выше, проводился УЗ-мониторинг, согласно которому принимали решение о введении триггера овуляции.

Параметром оценки адекватного роста фолликула является ежедневное увеличение диаметра в активную фазу стимуляции на 2–3 мм. Достижение размера одного или нескольких фолликулов 18–20 мм в сочетании с уровнем эстрадиола в крови ≥ 300 пмоль/л указывает на их функциональную зрелость и служит маркером завершения стимуляции гонадотропинами и введения триггера овуляции.

Дополнительно оценивали ответ яичников на яичниковую стимуляцию. В зависимости от количества преовуляторных фолликулов, ответ считается

недостаточным при росте 1–3 фолликулов в обоих яичниках, субоптимальным при росте 4-5, оптимальным в случае наличия 6–10 доминантных фолликулов в обоих яичниках или 2-5 фолликулов в одном из яичников и избыточным при росте >10 фолликулов в обоих яичниках или ≥ 5 фолликулов в одном яичнике.

Паралельно стимуляции яичников проводилась динамическая оценка М-эхо. К окончанию стимуляции отмечали увеличение толщины эндометрия до 10–12 мм, что являлось основанием для введения триггера финального созревания фолликулов. При этом в день введения триггера особое внимание уделяли признакам преждевременной лютеинизации фолликулов и секреторной трансформации эндометрия, с целью предупреждения риска развития СГЯ.

К критериям для оценки риска развития СГЯ по Delvigne-Whelan относят: число фолликулов диаметром >16 мм и количеством >6 в каждом яичнике, наличие множества фолликулов диаметром 10-12 мм, средний объем яичника >60 см³, концентрация эстрадиола в сыворотке крови >12000 пмоль/л.

2.4.7. Трансвагинальная пункция яичников

Операцию выполняли в асептических условиях под внутривенной анестезией через 36 часов после введения триггера овуляции. С целью предупреждения развития СГЯ поочередно проводили пункцию всех визуализируемых фолликулов с обязательной аспирацией всей жидкости, которую собирали в раздельные стерильные пробирки. Последние затем сразу оценивали в эмбриологической лаборатории, где происходила верификация ооцит-кумулюсного комплекса и степени зрелости полученных гамет.

2.4.8. Оплодотворение и культивирование эмбрионов in vitro

Эмбриологический этап проводили в стандартных условиях с применением специальных культуральных сред. Метод оплодотворения избирали согласно показателям спермограммы и количеству аспирированных

ооцитов. При нормальных показателях спермограммы оплодотворение проводили путем ЭКО, а в случае патологии спермы – методом ИКСИ.

Последний осуществляли следующим образом. Предварительно отобранный согласно морфологическим критериям сперматозоид обездвиживали и затем отбирали специальной пипеткой-иглой. Далее инструментом фиксировали ооцит с обязательной локализацией его полярного тельца в положении 6 или 12 часов условного циферблата. Иглой перфорировали мембрану ооцита и далее вводили акросому сперматозоида в цитоплазму. Гаметы культивировали в специальной среде и оценивали не ранее, чем через 14–15 часов после оплодотворения. Ключевым параметром успешной фертилизации являлось наличие 2-х пронуклеусов (2pN). Их отсутствие (0pN) указывало на отсутствие оплодотворения, а в случае обнаружения 1-го или ≥3 пронуклеусов ооциты подвергали утилизации по причине патологического мейоза.

2.4.9. Перенос эмбрионов в полость матки

В эмбриологической лаборатории оценку производили на 5-е сутки культивирования, так как наиболее физиологично осуществлять перенос именно пятидневных эмбрионов и, соответственно, тогда же проводить более точную оценку их качества.

Все эмбрионы на 5-е сутки культивирования оценивали по таблице Gardner D. (1999) (Табл. 16).

Таблица 16 - Классификация качества эмбрионов по D. Gardner

Эмбрионы	**Качество**
Отличные	Больше, чем 3AA
Хорошие	3-6 AB, 3-6 BA, 1-2 AA
Средние	3-6 BB, 3-6 AC, 3-6 CA, 1-2 AB, 1-2 BA
Плохие	1-6 BC, 1-6 CB, 1-6 CC, 1-2 BB

Количество переносимых эмбрионов в одном цикле ЭКО/ИКСИ не превышало одного. Эмбрионы высокого качества, не использованные в свежем цикле, витрифицировали для проведения последующих криопереносов.

2.4.10. Методика замораживания эмбрионов

Криоконсервация эмбрионов представляет собой низкотемпературное хранение эмбрионов с возможностью восстановления их биологических функций после размораживания. Хранение осуществляется в жидком азоте при температуре -196 °С. Чтобы охлаждение до низких температур не вызывало повреждения живых клеток, необходимо перед охлаждением провести специальные защитные мероприятия, в том числе выдержать эмбриональные клетки в криопротекторных растворах.

Для витрификации эмбрионов использовали набор реагентов для замораживания бластоцист (B-VIT). Перед началом процедуры по криоконсервации для удобства последующей идентификации каждый носитель маркировали, указывая следующие данные: ФИО пациентки, номер носителя, дата заморозки.

Метод осуществлялся следующим образом. Специальные 4-луночные планшеты для выдерживания эмбрионов в витрификационных растворах заполняли растворами комнатной температуры (18-24º С) с помощью стерильных шприцев. Подготавливали соломинки для витрификации из расчета: 1–2 бластоцисты на одну соломинку. Готовили ёмкость с жидким азотом, размещая ее в непосредственной близости от ламинарного шкафа. Далее эмбрионы, отобранные для криоконсервации, переносили поочередно в лунки с заранее заготовленными растворами разной плотности и выдерживали в каждой из них непродолжительное время. Вследствие данных манипуляций цитозоль эмбрионов постепенно сгущалась для безопасного проведения процедуры замораживания. После выдерживания в растворах соломинку с эмбрионами погружали в жидкий азот и далее в сосуд Дьюара криохранилища.

2.4.11. Размораживание эмбрионов

Для восстановления биологической функции бластоцист из размороженных клеток были удалены криопротекторные растворы. С этой целью размороженные бластоцисты располагали в гипертонических растворах, препятствующих возникновению избыточного осмотического давления.

При размораживании криоконсервированных эмбрионов подготавливалась чашка Петри для культивирования и переноса размороженных бластоцист, которая выдерживалась не менее 6 часов в инкубаторе, насыщенным углекислым газом.

Далее последовательность действий, как при замораживании, заключалась в поэтапном размещении и выдерживании бластоцист в специальных стерильных растворах. В конце бластоцисты переносили из планшета для размораживания в чашку для культивирования и переноса в полость матки.

2.4.12. Поддержка лютеиновой фазы индуцированной беременности

Спустя сутки после аспирации ооцитов пациенткам рекомендовали ежедневное применение микронизированного прогестерона (Утрожестан) интравагинально в дозировке 200–300 мкг или дидрогестерона (Дюфастон) перорально 20–30 мг в день. Сразу же после эмбриотрансфера дозировку гестагена увеличивали до 400–600 мкг в день или 40–60 мг в день соответственно.

2.4.13. Диагностика наступления беременности, репродуктивные исходы

Эффективность протокола ЭКО оценивали по ЧНБ на число переносов эмбрионов.

Через 2 недели после эмбриотрансфера проводилась диагностика наступления беременности путем определения концентрации ß-субъединицы

ХГЧ (ß-ХГЧ) в сыворотке крови. Нормативным минимальным пороговым значением являлось 20 МЕ/л, что позволяло судить о наступлении «биохимической беременности». По окончании 3 недель посттрансферного периода УЗ-диагностика позволяла визуализировать плодное яйцо в полости матки, что расценивалось как наступление беременности. Подтверждение клинической беременности осуществлялась путем оценки сердцебиения плода при УЗИ по достижении 6 недель гестации.

2.4.14. Статистический анализ полученных данных.

Статистический анализ проведен с использованием программного обеспечения Statistical Package for Social Sciences (IBM SPSS, 26.0).

Результаты исследования в описательной части представлены абсолютными значениями, процентными долями и стандартными ошибками для качественных величин и для количественных, в зависимости от характера распределения, среднего арифметического (M) и стандартных отклонений (σ) при нормальном распределении или медиан (Me) и квартилей (Q1-Q3) в условиях распределения, отличного от нормального. С учетом количества наблюдений (179 пациенток) для оценки вида распределения количественных данных был использован критерий Колмогорова-Смирнова.

Значимость различий между группами сравнения для качественных величин, исходя из ожидаемых значений в четырехпольных таблицах сопряженности, определяли при помощи критерия χ^2 Пирсона, χ^2 с поправкой Йейтса и точного критерия Фишера. В случае множественных сравнений был использован критерий χ^2 с поправкой Бонферрони.

Для определения значимости различий по количественным данным, при нормальном распределении, был использован t-критерий Стьюдента и, в случае множественных сравнений, однофакторный дисперсионный анализ. При распределении, отличного от нормального, были применены U-критерия Манна-Уитни и H-критерия Краскела-Уоллиса (для множественных сравнений).

Различия считали статистически значимыми при уровне $p<0,05$ и $p<0,017$ (с учетом соответствующей поправки при множественных сравнениях).

Различия считали статистически значимыми при уровне $p<0,05$ и с учетом соответствующей поправки при множественных сравнениях.

Определение корреляционных взаимосвязей между анализируемыми признаками, при нормальном распределении, было проведено при помощи коэффициента корреляции Пирсона. Для качественных показателей и количественных, при распределении отличном от нормального, использован коэффициент корреляции Спирмена. Для измерения силы связи между номинальными категориями рассчитывали показатель V Крамера (Cramer's V). Данный критерий основан на критерии $\chi 2$ и может быть рассчитывается по формуле:

$$V = \sqrt{\frac{\chi^2}{n \cdot (r-1) \cdot (c-1)}}$$

Интерпретация значений критерия V Крамера осуществлялась согласно рекомендациям Rea & Parker, указанным в таблице 17.

Таблица 17 - Значения показалелей V Крамера

Значение критериев φ или V Крамера	**Сила взаимосвязи**
<0,1	Несущественная
0,1 – <0,2	Слабая
0,2 – <0,4	Средняя
0,4 – <0,6	Относительно сильная
0,6 – <0,8	Сильная
0,8 –1,0	Очень сильная

2.4.15. Метод множественного логистического регрессионного анализа.

Метод логистической регрессии был использован для разработки прогностической модели положительных событий переноса эмбриона в свежем цикле.

При этом вероятность события определяли по следующей, рассчитанной формуле:

$$p = \frac{1}{1 + e^{-(b_0 + b_1 x_1 + \ldots + b_n x_n)}}$$

где,

p – вероятность прогнозируемого события,

e – основание натурального логарифма (2,72),

b_0 – постоянная логистической модели,

b_1 …b_n – коэффициенты, показывающие изменения логарифмических шансов,

x_1 … x_n – предикторы, включенные в уравнение,

n – порядковый номер предиктора, включенного в уравнение

Влияние каждого отдельного фактора на вероятность изучаемого события определяли при помощи грубых (COR) и скорректированных (AOR) отношений шансов (ОШ), а также определения 95% доверительного интервала (ДИ). В ходе анализа значение ОШ, превышающее 1 (при положительном коэффициенте регрессии b) считали свидетельствующими о возрастании шансов наступления прогнозируемого события, отрицательный коэффициент b и величина ОШ меньше 1 оценивали как снижение его вероятности. Отношение шансов считали статистическими значимыми, в случае непопадания единицы в границы 95% ДИ единицы.

Отбор возможных предикторов для многофакторных моделей осуществляли с использованием метода пошагового включения каждого из них. Для оценки доли влияния отобранных прогностических факторов на

вероятность развития изучаемого события определяли коэффициент детерминации R^2 Найджелкерка.

Диагностическую значимость модели положительных событий переноса эмбриона в свежем цикле оценивали путем ROC анализа и определения площади под кривой ошибок (AUC). При этом значение AUC соответствующее единице считали равной 100% вероятности наступления прогнозируемого события.

Оценку значимости расчетной модели проводили с использованием χ^2 Вальда (модель определяется как статистически значимая при $p<0,05$). Согласие полученной модели и используемых данных определяли по критерию Хосмера–Лемешова (согласованность модели имеет место при значении $p>0,05$).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Результаты комплексного обследования женщин в программах ВРТ в I и II группах.

3.1.1. Оценка гинекологического здоровья.

Перед вступлением в программы ЭКО всем пациенткам в обязательном порядке проводится расширенная кольпоскопия, онкоцитологическое исследование мазков и исследование микробиома влагалища.

Эктопия шейки матки в ходе кольпоскопического исследования выявлена у 8,8% (n=12) пациенток. В I группе эктопия наблюдалась у 10,6% (n=7) пациенток, во II группе встречалась у 7,0% (n=5).

Послеродовая рубцовая деформация шейки матки определялась у 5,1% (n=9) пациенток во всех группах. При этом наиболее часто она встречалась в I группе, составляя 9,1% (n=6), а во II группе пациенток лишь в 4,2% (n=3), p = 0,054.

У 4,5% (n=3) женщин в I группе были диагностированы единичные кондиломы наружных половых органов, а во II группе подобных не отмечено вовсе (p = 0,057).

Неизмененный многослойный плоский эпителий (МПЭ) был выявлен у 89,5% (n=93) пациенток в I группе и у 97% (n=95) – во II группе.

Зона стыка двух эпителиев шейки матки (цилиндрического и многослойного плоского) является диагностически важным участком и называется зоной трансформации (ЗТ). Ее визуализация и оценка при проведении кольпоскопии позволяет заключить об удовлетворительной или неудовлетворительной кольпоскопической картине. К последней относятся случаи, когда стык цилиндрического и многослойного плоского эпителиев не визуализируется, так как располагается в эндоцервиксе (ЗТ типа 3), либо, наоборот, смещен к сводам влагалища, а также при воспалительных процессах эндо- и экзоцервикса или при кровотечениях, когда затруднена визуализация.

По типу зоны трансформации у пациенток наблюдалось следующее распределение: ЗТ 1 типа (стык эпителиев целиком экзоцервикальный, полностью визуализируется) наблюдался практически у половины пациенток 53,1% (n=95), ЗТ 2 типа (стык эпителиев эндоцервикальный, полностью визуализируемый с экзоцервикальным компонентом) обнаружен у 19,6% (n=35) и ЗТ 3 типа (эндоцервикальный компонент не визуализируется) диагностирована у 27,4% (n=49) (Табл. 18).

Таблица 18 - Результаты проведения расширенной кольпоскопии в группах I и II.

Кольпоскопические	**проявления**	**I группа (n=66)**	**II группа (n=71)**	**p**
Нормальная кольпоскопическая картина	МПЭ	59 (89,4%)	66 (92,9%)	0,802
	Эктопия	7 (10,6%)	5 (7,0%)	0,745
	ЗТ 1 типа 95 (53,1%)	34 (51,5%)	37 (52,1%)	0,921
	ЗТ 2 типа 35 (19,6%)	18 (27,3%)	25 (35,2%)	0,783
	ЗТ 3 типа 49 (27,4%)	14 (21,2%)	9 (12,7%)	0,435
	Послеродовая рубцовая деформация	6 (9,1%)	3 (4,2%)	0,054*
Аномальная кольпоскопическая картина		0 (0%)	0 (0%)	-
Другие варианты кольпоскопической картины	Кондиломы	3 (4,5%)	0 (0%)	0,057*
	Воспаление	24 (36,4%)	11 (15,5%)	0,001*

Примечание. * - статистически значимые различия (p<0,05).

Наиболее важным признаком, характерным для интраэпителиальных неоплазий и относящимся к аномальной кольпоскопической картине, является визуализация ацетобелого эпителия (АБЭ) – участки побеления эпителия

после нанесения уксусной кислоты. Наличие пунктеации и мозаики является признаком атипичности сосудов эпителия шейки матки.

Ни у одной пациентки, вступающей в протокол, не была обнаружена аномальная кольпоскопическая картина.

Методы и результаты проведения онкоцитологического мазка шейки матки и бактериологического исследования отделяемого влагалища развернуто описаны во второй главе.

Пациенкам с выявленными признаками дисбиоза влагалища была рекомендована патогенетическя терапия с контрольным взятием мазка после лечения. Вступление в программу ЭКО допускалось после достижения нормальных показателей биоценоза влагалища. В ходе проведения трансвагинальной пункции яичников ни у одной пациентки не было выявлено осложнений.

Анализ гинекологических заболеваний в анамнезе показал наличие ИППП у пациенток во всех группах. Нарушение микробиоценоза влагалища было выявлено у 76 пациенток в анамнезе, что составило чуть больше половины исследуемых - 55,5%. Бактериальный вагиноз наблюдался почти у трети пациенток - 27,0 % (n=37), вульвовагинальный кандидоз встречался в 14,6% (n=20) наблюдений.

Относительно возбудителей урогенитальной инфекции было установлено, что хламидийная инфекция в анамнезе встречалась у 9,1% (n=6) пациенток I группы и у 1,4% (n=1) во II группе. Уреаплазменная инфекция диагностирована у 31,8% (n=21) в I группе и у 12,5% (n=9) во II группе. Микоплазменная инфекция в нашем исследовании встречалась только в группе среди ВПЧ-позитивных женщин, что составило 3,0% (n=2) (Табл. 19).

Таблица19 - Частота выявления инфекции, передающейся половым путем *в* сравниваемых группах

Показатель	**I группа (n=66)**	**II группа (n=71)**	**Уровень значимости**
Хламидийная инфекция	16 (9,1%)	1 (1,4%)	0,022*
Микоплазменная инфекция	2 (3,0%)	0	0,355
Уреаплазменная инфекция	21 (31,8%)	9 (12,7%)	0,001*
Вирус простого герпеса I типа	10 (15,2%)	11,3% (8)	0,777
Gardnerella Vaginalis	12 (18,2%)	10 (14,1%)	0,806
Candida albicans	11 (16,7%)	9 (12,7%)	0,802
Atopobium vaginae	8 (12,1%)	7 (9,9%)	0,702
ВПЧ	66 (100%)	0 (0%)	< 0,001*

Примечание * - статистически значимые различия (p<0,05).

3.1.2. Результаты ВПЧ-тестирования женщин перед проведением программ ВРТ в I группе.

Одним из диагностических методов перед вступлением в программу ЭКО было ВПЧ-генотипирование с определением вирусной нагрузки. Описание методики представлено во второй главе.

Медианная продолжительность персистенции ПВИ у пациенток I группы составляла 1 год (1;3).

Также в группе была проанализировано распределение ВПЧ в соответствии с их типами и/или их сочетание.

Среди исследуемых женщин доминировал 16 тип, который определялся у 34,8% (n=23) пациенток, на втором месте по частоте встречаемости 33 тип, он

наблюдался у 19,7% (n=13) женщин, 31 тип ВПЧ был обнаружен у 11 пациенток (16,7%), 18 тип наблюдался у 12,1% (n=8) пациенток, а 35 тип – у 7 женщин (10,6%). Серотип 52 определялся у 7,6% пациенток (n=5), 51 тип встречался у 6,1% (n=4). Остальные варианты вируса или сочетаное носительство наблюдались у 1,5% женщин (Табл. 20).

Таблица 20. Частота встречаемости ВПЧ инфекции в I группе.

Тип ВПЧ или сочетание типов	**Число пациенток, %**
16 тип	23 (34,8%)
33 тип	13 (19,7%)
31 тип	11 (16,7%)
18 тип	8 (12,1%)
35 тип	7 (10,6%)
52 тип	5 (7,6%)
51 тип	4 (6,1%)
45 тип	1 (1,5%)
68 тип	1 (1,5%)
66 тип	1 (1,5%)
59 тип	1 (1,5%)
58 тип	1 (1,5%)
Различное сочетание типов	1 (1,5%)
Всего	66 (100%)

3.1.3. Анализ показателей овариального резерва.

В I и II группах проанализированы показатели репродуктивной системы фолликуло-, оо- и раннего эмбриогенеза, устанавливалась ЧНБ и исходы лечения в программах ВРТ в зависимости от присутствия персистирующей папилломавирусной инфекции.

У всех пациенток в обязательном порядке на прегравидарном этапе оценивалось состояние овариального резерва и гормонального статуса на 2–4 день менструального цикла.

На этапе подготовки к проведению стандартной попытки ЭКО определялся базовый уровень следующих гормонов ФСГ, ЛГ, E_2 и АМГ. Также всем проводилось обследование на наличие патологии щитовидной железы и гипоталамо-гипофизарной системы (ТТГ и T_4).

Определение E_2 применялось в качестве контроля эффективности использования индукторов овуляции и расчета момента введения триггера овуляции (хориогонадотропин альфа).

Уровень прогестерона определяли в день введения триггерной дозы чХГ и в период после переноса эмбриона для контроля функции желтого тела и принятии решения о дозировке гестагенов в период поддержки лютеиновой фазы.

Было выявлено, что у ВПЧ-позитивных пациенток медиана АМГ составляла 3,1 (2,1;4,9) нг/мл, уровень ФСГ перед началом стимуляции в среднем — 6,7±2,1 МЕ/л, уровень ЛГ в среднем составлял 5,4±2,5 МЕ/мл. Уровень эстрадиола перед введением триггера овуляции – 296,7±80,9 пмоль/л, прогестерона – 33 (28,0;48,3) нмоль/л. Базальные уровни ТТГ – 1,9±3,6 мМЕ/л, T_4св – 15,7±3,7 пмоль/л.

Аналогичные данные получены в группе ВПЧ-негативных пациенток. Показатель медианы АМГ составил 4,3 (1,8;5,0) нг/мл, уровень ФСГ в среднем — 6,7±2,3 мЕд/л, средний уровень ЛГ был 5,1±2,7 мМЕ/мл. Уровень эстрадиола перед введением триггера – 280,4±76,3 пмоль/л, прогестерона – 38 (29;55) нмоль/л. Базальные уровни ТТГ – 2,0±0,6 мМЕ/л, T_4св – 15,5±3,5 пмоль/л.

Таким образом, базальные значения гормонов перед вступлением в программы ВРТ статистически значимо не отличались у ВПЧ-позитивных и ВПЧ-негативных пациенток. Более того, в обеих группах не отмечены статистистически значимые различия в параметрах овариального резерва,

продемонстрированы нормальные и высокие показатели, что бесспорно отвечает возрастным нормативам и соответствует критериям включения в наше исследование (Табл. 21).

Таблица 21 - Гормональный спектр исследуемых пациенток перед вступлением в программы ЭКО.

Наименование переменной	**Нормативные показатели**	**I группа, (n=66)**	**II группа, (n=71)**	**Уровень значимости**
ФСГ, МЕ/л*	3,0 – 10,0	6,7±2,1	6,7±2,3	0,564
ЛГ, МЕ/л*	3,0 – 8,0	5,4±2,5	5,1±2,7	0,166
АМГ, нг/л**	1,2 – 4,5	3,1 (2,1;4,9)	4,3 (1,8;5,0)	0,766
E_2, пмоль/л*	150 - 450	296,7±80,9	280,4±76,3	0,305
Прогестерон, нмоль/л**	16 - 95	33 (28,0;48,3)	38 (29;55)	0,487
Т4св, пмоль/л*	10,8 - 22,0	15,7±3,7	15,5±3,5	0,692
ТТГ, мМЕ/л*	1,0 – 3,0	1,9±3,6	2,0±0,6	0,497

Примечание. * -данные представлены как средние ± стандартное отклонение; ** - данные представлены как медиана, 25 - 75 процентили;

3.1.4 Анализ протоколов стимуляции и показателей фолликулогенеза.

Всего было проведено 137 циклов ЭКО, среди которых 19,0% (n=26) было с применением ИКСИ. Проведено сравнение рецептивности овариальной ткани на стимуляцию между ВПЧ-позитивными и ВПЧ-негативными пациентками.

Как было описано во 2 главе, во всех исследуемых группах наиболее часто использовались рекомбинантные гонадотропины (ГТ), составляя 60,6% (n=40) у пациенток I группы и 70,4% (n=50) у пациенток II группы, менопаузальные или мочевые ГТ применены почти у трети пациенток 28,8% (n=19) I группы и у 22,5% (n=16) во II группе. Сочетанное применение ГТ имело место у 10,6% (n=7) и 7,0% (n=5) пациенток I и II групп соответственно (Табл. 22).

Таблица 22 - Частота применения индукторов стимуляции яичников в программах ЭКО.

Тип индуктора	**I группа, (n=66)**	**II группа, (n=71)**	**Уровень значимости**
Рекомбинантные ГТ	40 (60,6%)	50 (70,4%)	
Мочевые ГТ	19 (28,8%)	16 (22,5%)	0,467
Сочетание ГТ	7 (10,6%)	5 (7,0%)	

Сравнительный анализ применения различных групп гонадотропинов у исследуемых пациенток не обнаружил статистически значимых различий по данному параметру (p=0,467).

По продолжительности стимуляции яичников группы также оказались сопоставимы. Так, в среднем ее общая продолжительность составляла 11,76±2,3 и 11,37±2,8 дней в I и во II группе соответственно (p=0,178).

М-эхо в день эмбриотрансфера в обеих группах статистически значимо не различалось и составляло 9,7±2,0 мм в группе ВПЧ-позитивных пациенток и 9,9±1,7 мм в группе ВПЧ-негативных пациенток (p=0,505). Полученные

результаты соответствуют референсным значениям и свидетельствуют об отсутствии негативного влияния ПВИ на эндометрий у пациенток I группы (Табл. 23).

Таблица 23 - Основные характеристики лечения в программе ЭКО.

Наименование переменной	**I группа, (n=66)**	**II группа, (n=71)**	**Уровень значимости**
Продолжительность стимуляции, дни	11,76±2,3	11,37±2,8	0,178
М-эхо к переносу, мм	9,7±2,0	9,9±1,7	0,505

Исследуемые группы сравнили по основным параметрам оценки фолликулогенеза (Табл. 24). Ответ яичников на стимуляцию яичников в обеих группах расценен как нормальный. Был отмечен равномерный двусторонний рост преовуляторных фолликулов в яичниках у пациенток обеих групп. Среднее их число было сопоставимым (p=0,638) и составило 12,0±4,2 в I группе и 13,7±4,8 во II группе, что соответствовало критериям включения в исследование. По количеству аспирированных ооцитов в I и II группах пациенток статистически значимые различия не обнаружены (p=0,99). В I группе медианный показатель составил 10 (7;15,3) ооцитов, а во II группе – 11 (7;15).

Проанализированы начальные стадии эмбриогенеза в сравниваемых группах. По количеству полученных пронуклеусов группы статистически значимо не различались. В I группе медианное значение составило 6,0 (3,8;9), во II группе — 6,0 (3;9) (p=0,853). Следует отметить, что доля оплодотворения в группах также статистически была схожей, но в группе ВПЧ-негативных пациенток доля правильно оплодотворенных яйцеклеток в 1,2 раза выше, чем в группе ВПЧ-позитивных (62,5% против 55,9%, p=0,336).

Таблица 24 - Сравнительная оценка оогенеза и эмбриогенеза

Наименование переменной	**I группа, (n=66)**	**II группа, (n=71)**	**Уровень значимости**
Суммарное число антральных фолликулов	16,7±3,3	16,8±3,5	0,511
Среднее число доминантных фолликулов	12,0±4,2	13,7±4,8	0,638
Количество полученных ооцитов	10 (7;15,25)	11 (7;15)	0,990
Количество 2pn	6,0 (3,75;9,0)	6,0 (3,0;9,0)	0,853
Доля 2pn от полученных, %	55,9 (38,3;69,4)	62,5 (42,8;70)	0,336

Проведено исследование количества 5-дневных эмбрионов и отдельно бластоцист хорошего качества, которые были отобраны согласно морфологическим критериям, описанным в предыдущей главе (по Gardner D.). Несмотря на то, что персистирующая ПВИ не оказала статистически значимого влияния на количество полученных эмбрионов на 5-е сутки в сравниваемых группах, отмечена положительная тенденция, согласно которой отсутствие ВПЧ позволило в 1,5 чаще отбирать бластоцисты хорошего качества в представленной выборке. (p = 0,059) (Табл. 25).

Таблица 25 - Сравнительный анализ эмбриологических показателей ВПЧ-позитивных и негативных пациенток.

Наименование переменной	**I группа, (n=66)**	**II группа, (n=71)**	**Уровень значимости**
Количество эмбрионов на 5-е сутки	2 (0,75;4,0)	2 (1,0;5,0)	0,218
Доля эмбрионов на 5 день от 2pn, %	33,3 (5,4;60,0)	44,4 (14,2;70,0)	0,161
Количество бластоцист хорошего качества	1 (0;3)	2 (1;4)	0,059
Доля бластоцист хорошего качества, %	55 (0;100)	80 (28,5;100)	0,05*

Примечание. * - статистически значимые различия (p<0,05).

Перенос бластоцист в полость матки выполнялся в асептических условиях под УЗ навигацией.

У большинства пациенток использовалась стандартная процедура инсеминации ооцитов спермой (ЭКО), в группе ВПЧ-позитивных пациенток у 84,8% (n=56), а в группе ВПЧ-негативных пацианток у 77,5% (n=55). Во всех остальных наблюдениях методом выбора явилась ИКСИ. Статистически значимых различий между группами не отмечено (p=0,271). (Табл. 26).

Таблица 26 - Групповое распределение примененных методов ЭКО.

Варианты	**I группа (n=66)**	**II группа (n=71)**	**Уровень значимости**
ЭКО	56 (84,8%)	55 (77,5%)	0,271
ИКСИ	10 (15,2%)	16 (22,5%)	

К наиболее распространенным осложнениям ВРТ относятся СГЯ и многоплодная беременность. СГЯ диагностирован у 9,1% (n=6) пациенток с ПВИ и у 10,0% (n=7) ВПЧ-негативных женщин (p=0,857). Несмотря на то, что во всех наблюдения тяжесть синдрома не превышала умеренную, эмбриотрансфер был отменен с целью профилактики прогрессирования патологии и все полученные эмбрионы хорошего качества были подвергнуты криоконсервации.

В структуре причин, послуживших отмене переноса эмбрионов, также отмечены: плохое самочувствие женщины (гриппоподобный синдром), патология эндометрия по УЗИ, проведение ПГТ, риск развития СГЯ и низкое качество полученных эмбрионов. По основным параметрам группы сопоставимы p=0,710. Важно подчеркнуть, что в I группе отмена проведения программ ЭКО по причине получения эмбрионов низкого качества в 2 раза чаще, чем в группе ВПЧ-негативных пациенток (40,9% по сравнению с 18,8%, p=0,05) (Табл. 27).

Таблица 27 - Сравнительный анализ причин отмены переносов в сравниваемых группах.

Показатель	**I группа (n=22)**	**II группа (n=16)**	**Уровень значимости**
Риск синдрома гиперстимуляции яичников	6 (27,3%)	7 (43,8%)	0,710
Преимплантационное генетическое тестирование	3 (13,6%)	2 (12,5%)	
Патология эндометрия	1 (4,5%)	2 (12,5%)	
Плохое самочувствие пациентки	1 (4,5%)	1 (6,3%)	
Эмбрионы низкого качества	9 (40,9%)	3 (18,8%)	0,05*

Примечание. * - статистически значимые различия (p<0,05).

При сравнении частоты имплантации (определение доли положительного результата ß-ХГЧ на количество переносов эмбрионов) в сравниваемых группах было выявлено, что наличие ВПЧ обуславливало в 1,5 раза меньшие значения данного показателя, что, однако, не являлось статистически значимым различием (p=0,06) (Табл. 28).

Таблица 28 - Результаты программ ВРТ у пациенток I и II групп.

Показатель	**I группа (n=66)**	**II группа (n=71)**	**Уровень значимости**
Доля перенесенных эмбрионов из полученных	44 (66,7%)	52 (73,2%)	0,401
Положительный ß-ХГЧ	18 (40,9%)	30 (57,7%)	0,06
Частота наступления клинической беременности на ПЭ	17 (38,6%)	28 (53,8%)	0,05*

Примечание. * - статистически значимые различия (p<0,05).

ЧНБ на перенос эмбрионов составила 38,6% (n=17) и 53,8% (n=28) в I и II группах соответственно. Таким образом в группе ВПЧ-негативных пациенток $ЧНБ_{ПЭ}$ в 1,5 раза выше, чем в группе ВПЧ-позитивных пациенток (p=0,05).

Также стоит отметить, что неразвивающаяся беременность в I группе диагностировалась в 2 раза чаще, чем во II группе пациенток (3% и 1,4% соответственно).

3.1.5 Анализ эмбриологических показателей и исходов ВРТ в группе I в зависимости от типа ВПЧ.

Группа ВПЧ-позитивных пациенток была структурирована с целью оценки патогенной роли различных серотипов ПВИ в отношении ВРТ.

Проанализированы показатели фолликуло- и эмбриогенеза, а также исходы программ ЭКО для каждого из типов ВПЧ.

Как видно из рисунка 7, наиболее высокие показатели оплодотворения зафиксированы у пациенток с 52 типом ВПЧ, но при этом у них наблюдается низкие показатели выхода бластоцист и, как результат, у половины пациенток была отмена переноса по причине эмбрионов плохого качества. Беременность у женщин в этой подгруппе не наступила.

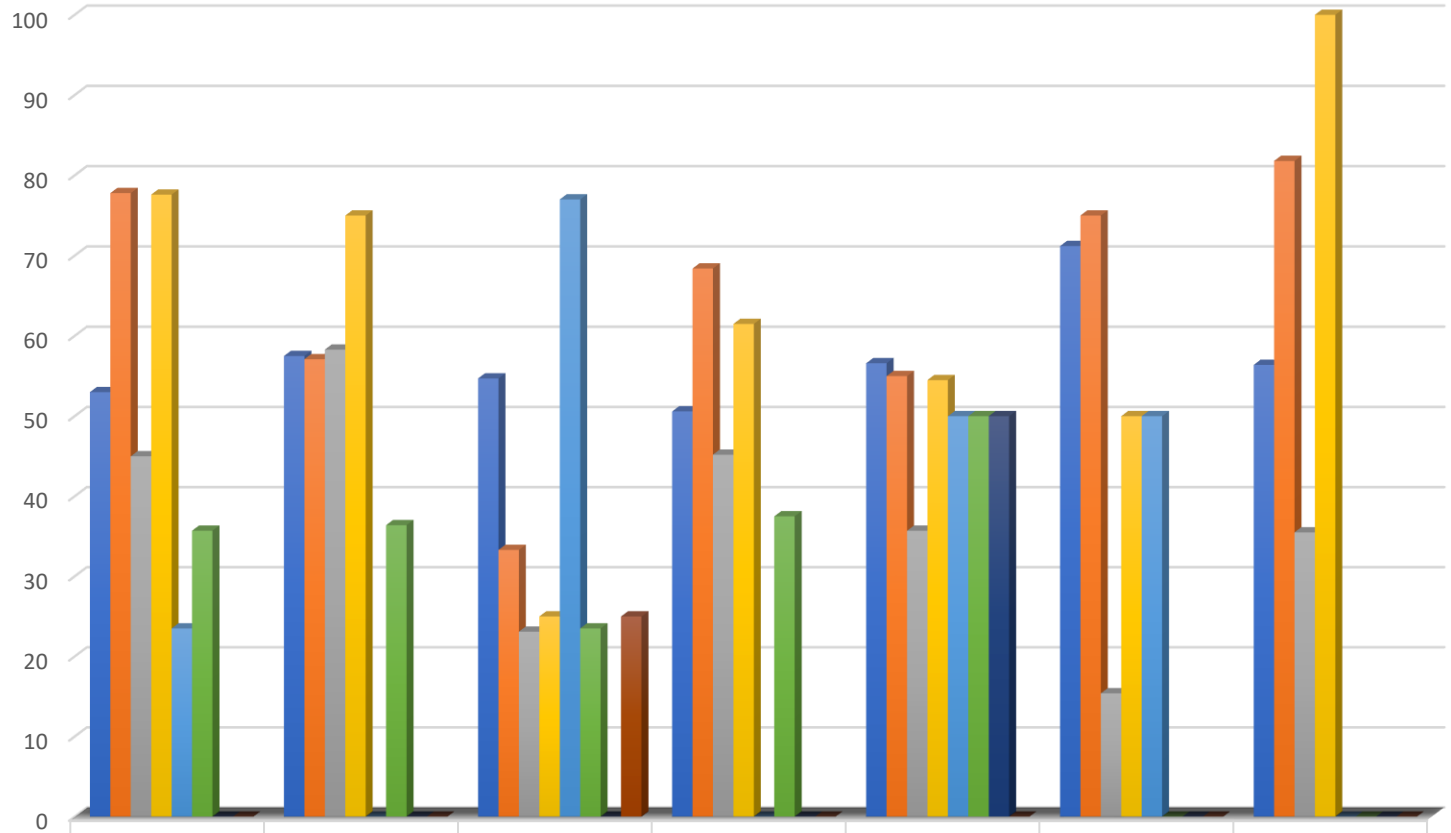
У пациенток позитивных в отношении 33 и 18 типов ВПЧ, отмечаются высокие показатели оплодотворения и выхода бластоцист, составляя 58,3% и 45,2% соответственно. Показатели ЧНБ на перенос эмбрионов у женщин в этих подгруппах практически не различаются: 36,4% и 37,5%. Также у этих пациенток высокие показатели доли криоконсервированных эмбрионов.

У женщин с ВПЧ 31 типа отмечалась самая низкая доля эмбрионов хорошего качества из сравниваемых (33,3%), низкая доля выхода бластоцист и самая высокая доля отмены переноса эмбрионов. Отмечается самая низкая частота наступления беременности (23,5%) и самый высокий процент биохимической беременности.

Было отмечено, что наиболее часто неразвивающаяся беременность (50%) наблюдалась в подгруппе пациенток с 35 типом ВПЧ.

Тем не менее, небольшой объем выборки не позволяет делать выводы, основываясь на полученных наблюдениях. Несмотря на это, отмеченная неоднонородность репродуктивных исходов создает почву для последующего проведения структурного анализа на больших когортах и лишь подчеркивает патологическое влияние ВПЧ на фертильность.

Рисунок 7 - Сравнительная оценка типов ВПЧ и их влияние на показатели исходов в программах ВРТ.



	16 тип	33 тип	31 тип	18 тип	35 тип	52 тип	51 тип
% оплодотворения	53	57,5	54,7	50,6	56,6	71,2	56,4
доля эмбрионов хорошего кач-ва на 5 сутки	77,8	57,1	33,3	68,4	55	75	81,8
% бластуляции	45	58,3	23,1	45,2	35,7	15,4	35,5
доля криоконсервированных эмбрионов от полученных	77,6	75	25	61,5	54,5	50	100
доля отмены переноса (низкое ка-во эмбрионов)	23,5	0	77	0	50	50	0
ЧНБ на ПЭ	35,7	36,4	23,5	37,5	50	0	0
частота неразвивающейся беременности	0	0	0	0	50	0	0
частота биохимической беременности	0	0	25	0	0	0	0

3.2. Результаты комплексного обследования женщин в программах ВРТ в III группе.

В третью группу пациенток вошли женщины, обратившиеся в отделение для лечения бесплодия, которым в анамнезе была проведена вакцинация против папилломавирусной инфекции квадривалентной вакциной «Гардасил».

Все пациентки (n=42) были клинически обследованы в полном объеме. Методом ПЦР-диагностики подтверждено отсутствие ВПЧ у всех пациенток.

Затем была проведена расширенная кольпоскопия, которая обнаружила наличие эктопии шейки матки у трети пациенток 28,6% (n=12). Стоит также отметить, что во всех наблюдениях отсутствовали рубцовая деформация шейки матки и кольпоскопические аномалии. В зависимости от визуализации ЗТ пациентки были распределены следующим образом: ЗТ 1 типа встречалась у 57,1% женщин (n=24), ЗТ 2 типа наблюдалась у 28,6% (n=12), а ЗТ 3 типа – у 14,3% (n=6).

Среди верифицированных патогенов в ходе анализа микробиома наблюдалась уреаплазменная инфекция у 4,8% пациенток (n=2), а микоплазма обнаружена в 2,4% наблюдений (n=1).

Влагалищный дисбиоз наблюдался у 38% пациенток (n=16), из них у 23,8% (n=10) женщин диагностировался бактериальный вагиноз, а у 14,3% (n=6) наблюдался кандидозный вульвовагинит. Всем пациенткам рекомендовано патогенетическое лечение с положительным эффектом.

В рамках прегравидарной подготовки вакцинированные женщины были обследованы для оценки параметров репродуктивной системы. В ходе последнего было изучено влияние вакцинации против ПВИ на фолликуло- и эмбриогенез, ЧНБ и исходы лечения в программах ВРТ.

Изучение базальных уровней основных показателей гормонов выявило следующую картину. Медианный уровень АМГ равнялся 3,5 (2,1;4,8) нг/мл, средний уровень ФСГ перед началом стимуляции — 6,3±1,4 МЕ/л, уровень ЛГ в среднем составлял 4,2 (3,7;5,2) МЕ/мл. Таким образом, с учетом количества антральных фолликулов по данным УЗИ (не менее 5 антральных фолликулов

суммарно в обоих яичниках), овариальный резерв пациенток III группы сохранен, что соответствует критериям включения. Среднее содержание эстрадиола в крови перед введением триггера овуляции составило 265,7±73,9 пмоль/л, а медианные показатели прогестерона равнялись 40,0 (30,7;49,2) нмоль/л. Базальные уровни ТТГ – 2,5±0,5 мМЕ/л, T_4св – 15,7±3,7 пмоль/л. Полученные данные сопоставимы с показателями в I и II группах.

Стимуляция яичников в группе вакцинированных также выполнялась с использованием длинного протокола с агонистами ГнРГ.

В качестве индуктора применялись рекомбинантные ГТ в 69% циклов (n=29), мочевые ГТ использовали у 26,2% (n=11) пациенток, сочетание ГТ требовалось у 4,8% (n=2). По структуре выбора форм гонадотропинов и их сочетания исследуемые группы статистически значимо между собой не различались (p=0,683).

Продолжительность стимуляции гонадотропинами в среднем составляла 12±1,8 дней.

Толщина эндометрия в день эмбриотрансфера составляла в вакцинированной группе 9,7±1,5 мм, что соответствовало референсным значениям.

Затем исследуемую группу оценили по основным параметрам оогенеза. Суммарное число антральных фолликулов составило 17,6±4,9. На фоне стимуляции яичников отмечен равномерный рост преовуляторных фолликулов, число которых в среднем было 13,0±4,6. В ходе трансвагинальной пункции яичников получено 10,5 (7,0;17,5) ооцитов, что соответствовало адекватному яичниковому ответу.

Далее была проведена сравнительная характеристика оплодотворения ооцитов и анализ начальных стадий эмбриогенеза. Медианное значение числа пронуклеосов в группе вакцинированных пациенток составило 7 (4,0;10,0). Медианное значение доли 2 pn от полученных эмбрионов (% оплодотворения) составило 65,0% (56,2;75,0), что статистически значимо превышало показатели в I группе.

На 5-е сутки после оплодотворения получено в среднем 5,0 (2,0;7,0) бластоцист. После оценки согласно критериям Gardner D. число 5-дневных эмбрионов хорошего качества составило 4,0 (1,75;5,0). Оба показателя статистически значимо превышают показатели в группе ВПЧ-позитивных пациенток.

Затем осуществлялся эмбриотрансфер под УЗ-контролем. Как и в остальных группах проводился перенос одного эмбриона в одном цикле ЭКО/ИКСИ.

В группе ранее вакцинированных женщин всего было проведено 42 цикла. Доля ЭКО составила 85,7% (n=36), ИКСИ было проведено у 14,3% (n=6) женщин.

В ходе оценки жизнеспособности эмбрионов медианное значение частоты выхода бластоцист в группе ранее вакцинированных пациенток составило 68,3% (42,3;100,0). Медианное значение доли эмбрионов хорошего качества на 5 сутки было еще выше и достигало 80% (44;100). Полученный результат иллюстрирует статистически значимое преимущество в сравнении с группой ВПЧ-позитивных пациенток.

В качестве причины отказа от проведения эмбриотрансфера в III группе у 75% (n=6) пациенток послужило развитие СГЯ слабой и умеренной степени. Также у 25% (n=2) женщин перенос эмбрионов был отменен в результате плохого самочувствия пациенток. Не было зафиксировано ни одного случая многоплодной беременности.

Все эмбрионы, которые не были перенесены в свежем цикле, подверглись витрификации. Наличие криоконсервированных эмбрионов в последующем исключает необходимость повторной стимуляции, что увеличивает кумулятивную ЧНБ. По результатам проводимого обследования выявлено, что медианное количество криоконсервированных эмбрионов в III группе составило 3,0 (0;4), что достоверно значимо выше по сравнению с I группой. Доля криоконсервированных эмбрионов от полученных составила медианное значение равное 75% (0;83,3).

Оценка репродуктивных исходов продемонстрировала следующие данные. Частота определения положительного результата ß-ХГЧ в III группе составила 64,3% (n=23), а ЧНБ на перенос эмбрионов 60,7% (n=21), что было статистически значимо выше, по сравнению с остальными группами.

Среди осложнений гестации частота развития неразвивающейся и биохимической беременностей составила 2,4% (n=1) и 4,8% (n=2) соответственно.

3.3. Результаты лечения в криопротоколах в I, II и III группах.

Замороженные ранее эмбрионы использовали для проведения лечения бесплодия в криопротоколах, которых в общей выборке было проведено 72.

Частота их применения составила 31,8% (n=21), 32,4% (n=23) и 66,7% (n=28) в I, II и III группах соответственно (Рис. 8). Отмечено, что в группе ранее вакцинированных пациенток количество криопереносов вдвое превысило количество в I и II группах, что связано с большим числом полученных и витрифицированных бластоцист в данной когорте. У части пациенток переносы были отменены в связи с риском СГЯ.

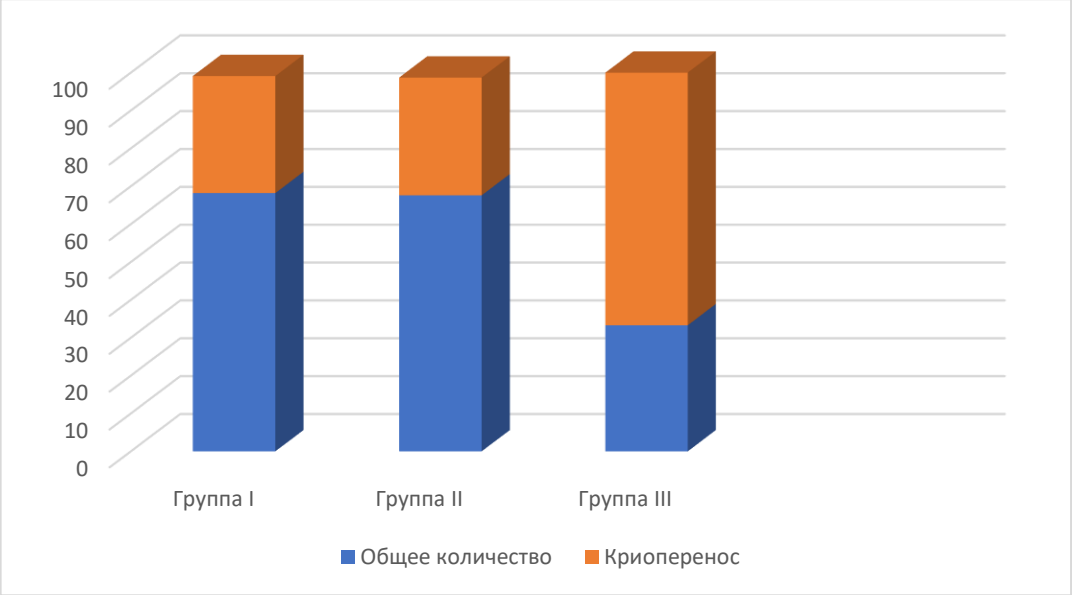


Рисунок 8. Частота применения криопротоколов в группах

Эмбриотрансфер проводился в индуцированном цикле на фоне заместительной гормональной терапии. Со 2 дня менструального цикла на 10-12 дней перорально или накожно применялся препарат эстрадиола в дозировке 4-6 мг. В ходе динамического мониторинга роста эндометрия по достижении его толщины 10-11 мм в терапию добавлялся микронизированный прогестерон в дозировке 600 mg вагинально или дидрогестерон в дозировке 30 mg перорально. На 5-6 сутки после назначения прогестерона происходил перенос одной размороженной бластоцисты.

Было установлено, что медианное значение количества криоконсервированных эмбрионов в группе ВПЧ-позитивных женщин составило 0 (0;2), в группе ВПЧ-негативных пациенток – 1 (0;3), а в группе ранее вакцинированных – 3 (0;4). Таким образом, показатели женщин с персистенцией ПВИ статистически значимо различались от пациенток II ($p = 0,015$) и III ($p = 0,01$) групп (Рис.9). Были также рассчитаны доли криоконсервированных эмбрионов от оплодотворенных в отдельных группах, согласно которым также отмечена статистически значимая разница между ВПЧ-позитивной и ВПЧ-негативной выборками ($p = 0,01$) (Рис.10).

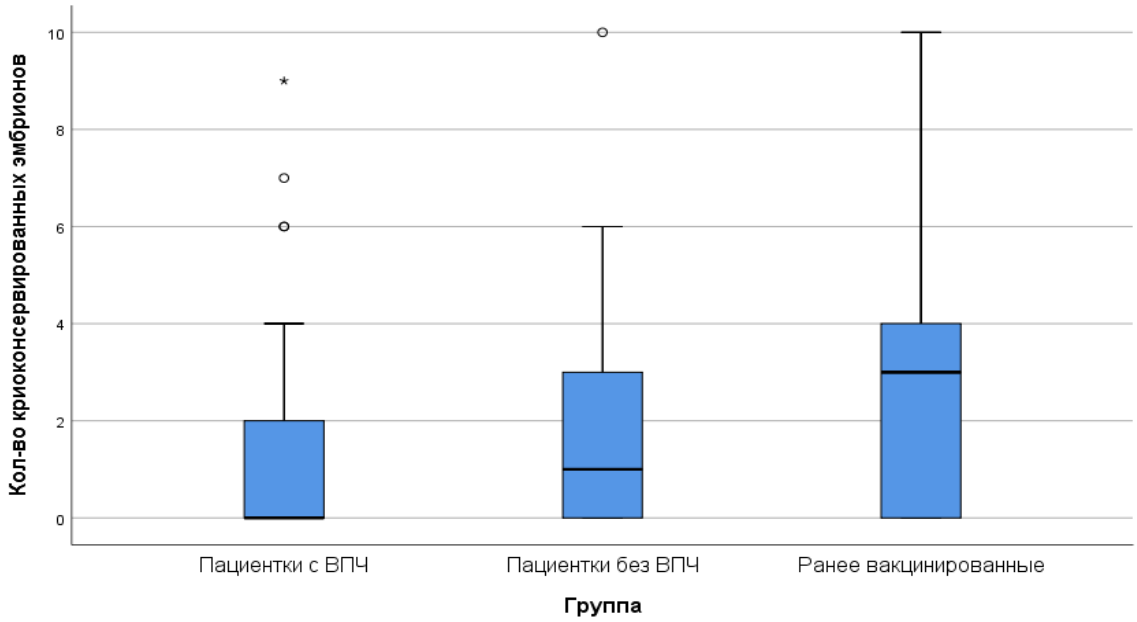


Рисунок 9. Количество криоконсервированных эмбрионов в группах. * – $p_{1-2} = 0,015$; $p_{1-3} = 0,01$ (тест Манна-Уитни).

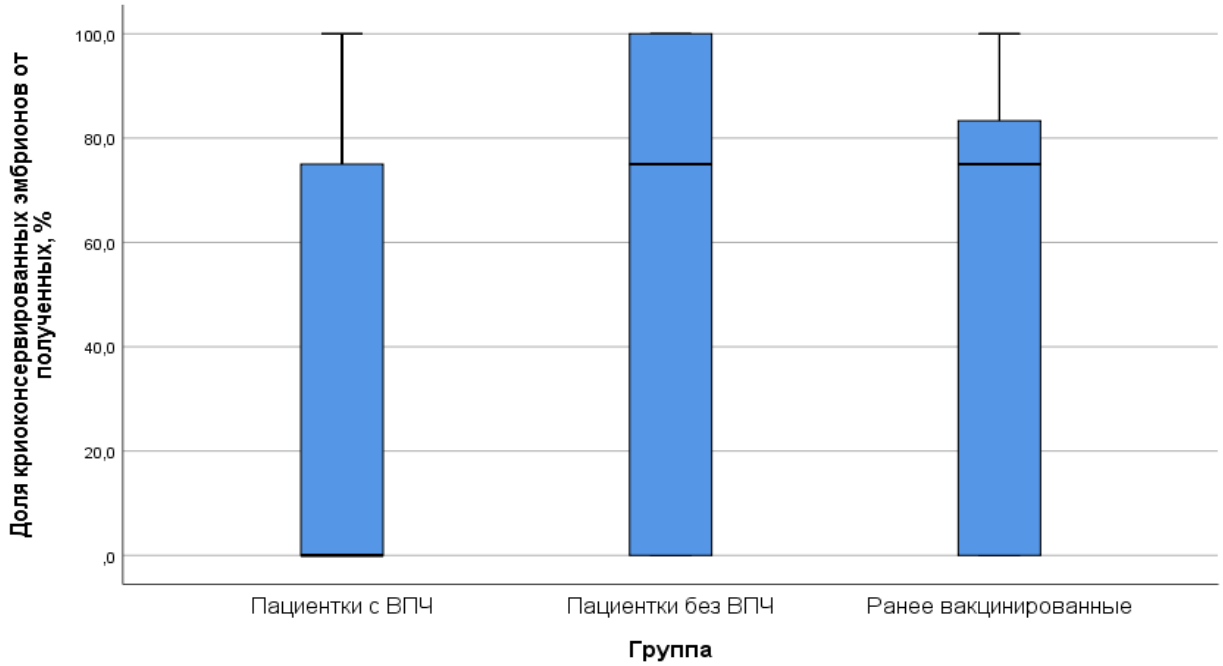


Рисунок 10. Доля криоконсервированных эмбрионов от оплодотворенных в группах. * – p_{1-2} = 0,01 (тест Манна-Уитни).

Анализ репродуктивных исходов после проведения криопротоколов экстракорпорального оплодотворения продемонстрирован в таблице 29. Частота имплантации в сравниваемых группах составила 38,1% (n=8) в группе ВПЧ-позитивных женщин и 73,9% (n=17) в группе ВПЧ-негативных пациенток, таким образом, частота положительного уровня β-ХГЧ была диагностирована почти в 2 раза чаще во II группе, что является статистически значимой разницей p=0,017. В III группе, в свою очередь, доля имплантации составила 64,3% (n=18). Сравнительный анализ I и III групп выявил более высокие показатели в группе ранее вакцинированных пациенток (p=0,058). При одновременном сравнении трех групп уровень значимости составил p=0,04.

Было продемонстрировано, что у ВПЧ-негативных пациенток частота наступления беременности на перенос эмбрионов в 2,2 раза выше, чем в группе ВПЧ-позитивных пациенток (73,9% протиа 33,3%, p=0,007). ЧНБ на ПЭ в группе ранее вакцинированных женщин наблюдалась в 1,7 раз чаще, у пациенток I группы (60,7% и 33,3%, p = 0,05).

Проведенный корреляционный анализ в исследуемых группах выявил заметную отрицательную (обратную) корреляционную зависимость между длительностью персистенции ВПЧ и положительным исходом беременности ($r = - 0,503$; $p = 0,02$) в крио протоколах. Согласно рекомендациям Rea & Parker, в данном случае критерий V Крамера выявил относительно сильную взаимосвязь между анализируемыми позициями.

При оценке частоты ранних репродуктивных потерь было продемонстрировано, что в протоколах с переносом размороженных бластоцист неразвивающаяся беременность встречалась только в группе пациенток с ВПЧ-инфекцией (4,8%, n=1).

Биохимическая беременность в криопротоколе наблюдалась у одной пациентки в ВПЧ-позитивной и у одной женщины в группе ранее вакцинированных пациенток, в группе пациенток без ПВИ биохимическая беременность не диагностировалась.

Таблица 29 - Репродуктивные исходы после проведения криопротоколов экстракорпорального оплодотворения

Показатель	**I группа (n=21)**	**II группа (n=23)**	**III группа (n= 28)**	**Уровень значимости**
Количество криоконсервированных эмбрионов	0 (0;2)	1 (0;3)	3 (0;4)	p_{1-2} = 0,015* p_{1-3} = 0,01*
Доля криоконсервированных эмбрионов от полученных, %	0 (0;81,2)	75 (0;100)	75 (0;83,3)	p_{1-2} = 0,01* p_{1-3} = 0,123
Положительный ß-ХГЧ	8 (38,1%)	17 (73,9%)	18 (64,3%)	p_{1-2} = 0,017* p_{1-3} = 0,058*
ЧНБ на перенос эмбрионов	7 (33,3%)	17 (73,9%)	17 (60,7%)	p_{1-2} = 0,007* p_{1-3} = 0,05*

Примечание. * - статистически значимые различия (p<0,05).

3.4. Результаты прогнозирования положительных исходов после переноса эмбрионов в свежем цикле в I, II и III группах.

На основании данных наблюдения 179 пациенток была построена прогностическая логистическая регрессионная модель, включающая пять статистически значимых предикторов:

$$p = \frac{1}{1 + e^{-(0{,}956+1{,}213x_1-0{,}165x_2+0{,}010x_3+0{,}013x_4-0{,}908x_5)}}$$

где

p – вероятность наличия положительного результата,

x_1 – наличие родов в анамнезе (0 – нет; 1 - да);

x_2 – суммарное число антральных фолликулов, ед.;

x_3 – доля эмбрионов на 5 день от 2pn, %;

x_4 – доля бластоцист хорошего качества, %;

x_5 – наличие инфицирования ВПЧ (0 – нет; 1 - да);

e – основание натурального логарифма (2,72).

Модель является статистически значимой (χ^2=31,143; p<0,001) и согласованной с исходными данными (по Хосмеру-Лемешеву - χ^2=7,329; p=0,502) На пятом шаге построения модель характеризуется следующими параметрами (Табл. 30):

Таблица 30 - Сводные данные по регрессионной модели прогнозирования положительного результата после проведения переноса эмбрионов

№	Предикторы	b	±m	χ^2 Вальда	p	OR	95% ДИ для OR	
							Нижняя	Верхняя
1.	Наличие родов в анамнезе	1,213	0,502	5,830	0,016	3,364	1,257	9,005
2.	Суммарное число антральных фолликулов	-0,165	0,058	8,191	0,004	0,848	0,757	0,949
3.	Доля эмбрионов на 5 день от 2pn, %	0,010	0,005	4,081	0,043	1,010	1,001	1,021
4.	Доля бластоцист хорошего качества, %	0,013	0,005	7,063	0,008	1,013	1,003	1,022
5.	ВПЧ	-0,908	0,344	6,970	0,008	0,403	0,205	0,791
6.	Константа	0,956	1,002	0,911	0,340	2,602		

В логистическую регрессионную модель прогнозирования положительного результата после проведения переноса эмбрионов вошли 5 наиболее прогностически значимых факторов. Предикторами, снижающими вероятность положительного результата, является наличие у женщины ВПЧ (ОШ=0,403, ДИ95% [0,205-0,791], p=0,008) и суммарное число антральных фолликулов (ОШ=0,848, ДИ95% [0,757-0,791], p=0,004), как отражение имеющегося у части пациенток поликистоза яичников. Три предиктора повышают вероятность успешного эмбриотрансфера: наличие родов в анамнезе (ОШ=3,364, ДИ95% [1,257-9,005], p=0,016), доля эмбрионов на 5 день от 2pn, % (ОШ=1,010, ДИ95% [1,001-1,021], p=0,043), доля бластоцист хорошего качества, % (ОШ=1,013, ДИ95% [1,003-1,022], p=0,008).

Для данной модели коэффициент детерминации (R^2) составил 0,242, что показывает статистически значимое объяснение данными предикторами

дисперсии переменной отклика на 24,2%. При этом модель на 83,2% правильно предсказывает отрицательный результат после переноса эмбриона. Чувствительность модели в плане предсказания положительного результата составила 42,4%. Общий процент корректных предсказаний достигает 68,2%.

По результатам построения ROC-кривой показатель AUC составил 0,761±0,037 (ДИ 95% 0,689-0,833; p<0,001), что соответствует в хорошему качеству прогностической модели (Рис. 11).

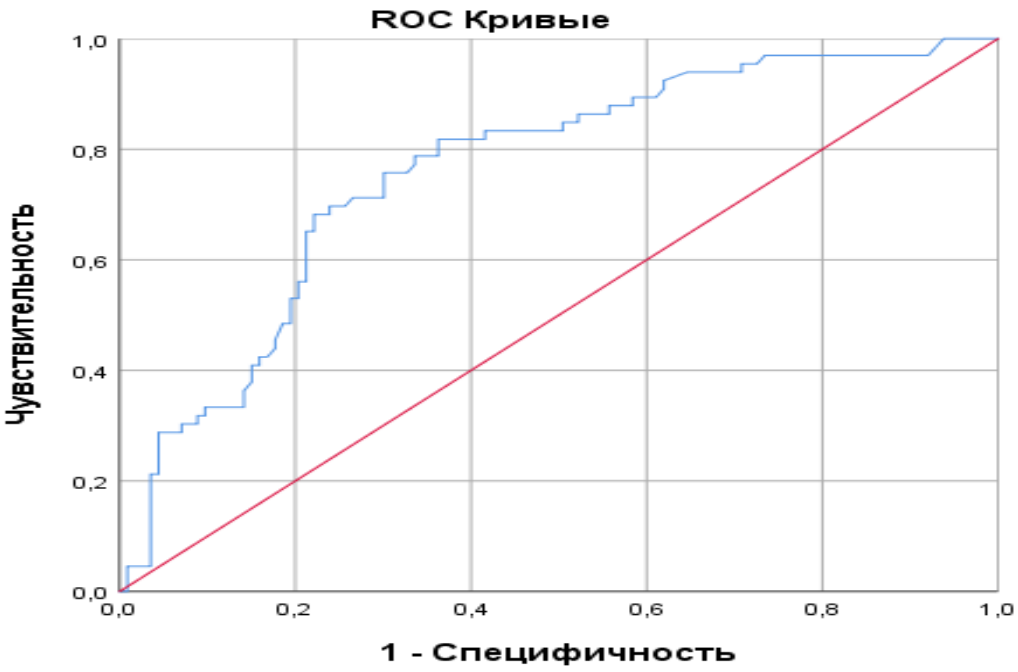


Рисунок 11. ROC-кривая прогнозирования положительного результата после проведения переноса эмбрионов

3.5. Результаты прогнозирования положительных исходов после проведения криопереноса эмбрионов в I, II и III группах.

Отдельно была построена прогностическая логистическая регрессионная модель для проведения криопереноса эмбрионов:

$$p = \frac{1}{1 + e^{-(-0{,}640 - 1{,}160x_1 - 0{,}226x_2)}}$$

где

p – вероятность наличия положительного результата,

x_1 - наличие инфицирования ВПЧ (0 – нет; 1 - да);

x_2 – лечение патологии шейки матки в анамнезе, (0 – нет; 1 - да);

e – основание натурального логарифма (2,72).

Модель является статистически значимой (χ^2=19,657; p<0,001) и согласованной с исходными данными (по Хосмеру-Лемешеву - χ^2=1,585; p=0,903) На втором шаге построения модель характеризуется следующими параметрами (Табл. 31):

Таблица 31 - Сводные данные по регрессионной модели прогнозирования положительного результата после проведения криопереноса эмбрионов

№	Предикторы	b	±m	χ^2 Вальда	p	OR	95% ДИ для OR	
							Нижняя	Верхняя
1.	ВПЧ	-1,160	0,487	5,672	0,017	0,314	0,121	0,814
2.	Лечение патологии шейки матки	-0,226	0,086	6,888	0,009	0,798	0,674	0,944
3.	Константа	-0,640	0,223	8,217	0,004	0,527		

В логистической регрессионной модели прогнозирования положительного результата после проведения переноса ранее размороженных эмбрионов выявлены два прогностически значимых фактора. Были установлены предикторы, которые приводят к снижению вероятности положительного результата. Этими предикторами являются наличие у женщины ВПЧ (ОШ=0,314, ДИ 95% [0,121-0,614], p=0,017) и лечение патологии шейки матки (ОШ=0,798, ДИ 95% [0,674-0,944], p=0,009).

Для данной модели коэффициент детерминации (R^2) составил 0,158, что показывает статистически значимое объяснение данными предикторами изменения переменной отклика на 15,8%. При этом модель обладает 100%-ной

специфичностью в плане предсказания отрицательного результата криопереноса, но не является чувствительной для предсказания положительного результата. Общий процент корректных предсказаний составил 78,7%.

ROC-анализ показывает, что площадь под кривой (AUC) составляет 0,692±0,045 (ДИ 95% 0,604-0,799; p<0,001), что соответствует среднему качеству прогностической модели (Рис. 12).

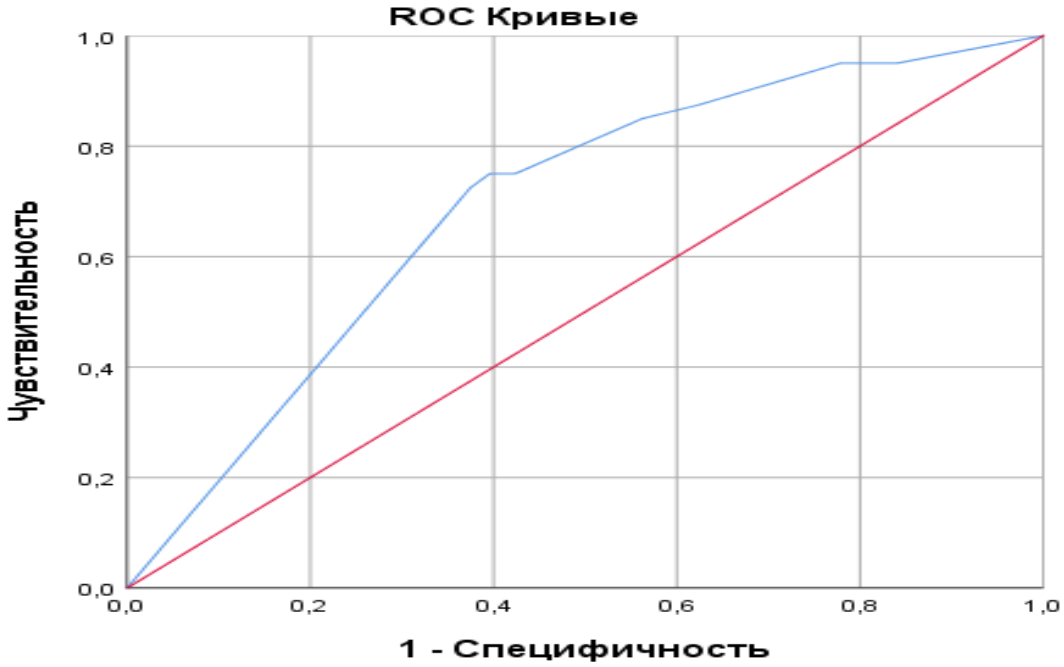


Рисунок 12. ROC-кривая прогнозирования положительного результата после проведения криопереноса эмбрионов

Таким образом, получены прогностические модели для положительного результата как после всех случаев переноса эмбрионов, так и в отдельности для криопротоколов. В обе данные модели, как фактор, статистически значимо повышающий вероятность отрицательного результата при переносе эмбрионов, вошел фактор инфицирования женщины ВПЧ. К числу факторов, повышающих вероятность положительного результата, относятся доля эмбрионов на 5 день от 2pn и доля бластоцист хорошего качества. Из анамнестических данных статистическую значимость для всех случаев переноса показало наличие предшествовавших родов, и для криопереносов – лечение патологии шейки матки.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.

Бесплодие – это актуальная проблема здравоохранения, которая включает не только медицинский аспект, но и социальный, так как затрагивает все большее число семей во всем мире. Среди причин, приводящих к снижению фертильности, не последнюю роль играет инфекция. Известно, что одной из самых распространенных ИППП, является ПВИ.

Целью нашего исследования явилась оценка влияния папилломавирусной инфекции на эффективность лечения бесплодия методами ВРТ. Также были изучены исходы программ ВРТ у женщин, иммунизированных против папилломавирусной инфекции, и влияние вакцинации на менструальную, овариальную и репродуктивную функции. Изучение материалов, изложенных в мировой литературе, указало на противоречия или отсутствие информации по данной проблеме, что потребовало детального изучения вопроса и проведения научно-практической работы в вышеизложенном направлении.

Все пациентки, включенные в исследование (n=179), были разделены на три группы. В I группу вошли пациентки с бесплодием и ВПЧ-персистирующей инфекцией (n=66); во II группу – пациентки с бесплодием без ВПЧ инфекции (n=71); и в III группу – пациентки с бесплодием, которые в анамнезе были вакцинированны квадривалентной вакциной против папилломавирусной инфекции (n=42). Средний возраст пациенток составил 31,93±2,65 лет. Длительность течения бесплодия во всех группах варьировала от 1 года до 15 лет.

Известно, что незрелая метаплазия, которая характерна для эпителия шейки матки подростков и молодых женщин, является одним из предрасполагающих факторов внедрения вируса в базальный слой ее эпителия. Именно по этой причине ранний дебют половой жизни является одним из факторов риска развития CIN и РШМ в молодом возрасте [10]. В настоящем исследовании было отражено более раннее начало половой жизни у пациенток с персистирующей ПВИ, что статистически значимо различалось

в сравнении с женщинами, отрицательными (p = 0,013) или вакцинированными (p = 0,04) в отношении ВПЧ. Гипотеза была также подтверждена путем выявления отрицательной корреляционной зависимости между показателями наличия ВПЧ и началом половой жизни (r = -0,215, p = 0,002).

Однако, в некоторых исследованиях анализ сексуальной жизни пациенток не выявил достоверно значимых различий по возрасту сексуального дебюта у пациенток [131].

Также отмечено, что для данной когорты женщин характерно наличие сопутствующих ИППП. Так, например, хламидийная инфекция обнаруживалась в 6,5 раз, а уреаплазменная - в 2,5 раза чаще у ВПЧ-позитивных женщин по сравнению с ВПЧ-негативными (p = 0,022). Среди иммунизированных к ВПЧ хламидиоз не был отмечен ни в одном наблюдении, а уреаплазма диагностировалась в 6,6 раз реже по сравнению с I группой и в 2,6 раз реже по сравнению со II группой (p = 0,001).

Микоплазменная инфекция встречалась у женщин I и III групп, и не наблюдалась у ВПЧ-отрицательных пациенток с бесплодием. Несмотря на то, что в I группе она встречалась чаще, это не имело статистической значимости (p = 0,355).

Воспалительные заболевания наблюдались у пациенток во всех исследуемых группах. Предраковые заболевания шейки матки имелись только у женщин I и II групп. При этом у пациенток I группы почти в 2 раза чаще диагностировали CIN относительно ВПЧ-негативных, что составило 28,8% (n = 19) и 15,5% (n = 11) соответственно. Также персистенция ПВИ в 2,3 раза чаще сопровождалась хроническим цервицитом, который встречался в 36,4% (n = 24) наблюдений по сравнению с 15,5% (n = 11). Данные различия были статистически значимыми (p <0,001).

Таким образом, необходимо подчеркнуть, что в группе ранее вакцинированных женщин наблюдались самые низкие показатели заболеваемости шейки матки и не зафиксировано ни одного случая CIN.

Данные настоящего исследования перекликаются с рядом зарубежных и отечественных работ, которые показывают, что ко-инфекция ВПЧ и Chlamidia trachomatis может повышать риск интраэпителиальных поражений шейки матки вплоть до реализации РШМ, а также косвенно негативно влиять на фертильность [132-134].

Схожие результаты отражены в исследовании, выполненном в Нидерландах, где была показана статистически значимая связь ($p < 0,02$) между бесплодием и поражениями шейки матки, индуцированными ПВИ. Так, у женщин с низким уровнем фертильности, планирующих ЭКО, частота HSIL была в 2 раза выше по сравнению с популяционной [135]. Также научные исследования демонстрируют, что распространенность ВПЧ ВКР в два раза выше у женщин с бесплодием по сравнению с женщинами в общей популяции, что подразумевает связь между ВПЧ и бесплодием [136].

С другой стороны, исследование, проведенное в Китае и включающее 1044 женщин, не показало достоверной связи между результатами ЭКО и цитологическими аномалиями шейки матки [96].

При проведении нами корреляционного анализа была выявлена положительная корреляционная зависимость между персистенцией ВПЧ и наличием хламидийной ($r = 0,223$, $p = 0,002$) и уреаплазменной инфекций ($r = 0,258$, $p < 0,001$), а также заболеваниями шейки матки ($r = 0,423$, $p < 0,001$). Полученные результаты подтверждаются данными литературы.

Параметры фолликулогенеза, изученные в ходе стимуляции яичников не имели отличий в группах сравнения. Установлено, что толщина эндометрия во всех группах статистически значимо не различалась ($p = 0,505$), что свидетельствовало о нормальном развитии эндометрия. Известно, что М-эхо в естественных циклах к моменту овуляции в норме по данным УЗИ достигает 8–12 мм, такие же данные отмечаются у большинства пациенток в циклах ЭКО в день введения хориогонадотропина альфа [137]. В настоящем исследовании иммунизация или наличие ПВИ не повлияли на данные параметры.

Количество полученных ооцитов и частота оплодотворения в I, II и III группах также статистически значимо не различались, а ответ на стимуляцию яичников был адекватный. Однако, было отмечено, что наибольшее медианное значение доли 2 pn от полученных эмбрионов (% оплодотворения) составило 65% (56,2;75,0) и зарегистрировано у пациенток, иммунизированных от ВПЧ. Это явилось статистически значимым различием при сравнении с группой ВПЧ-позитивных пациенток, но при этом было сопоставимо с группой ВПЧ-негативных пациенток (Табл. 32).

Таким образом, необходимо подчеркнуть, что наличие ПВИ и проведенная ранее вакцинация не оказывают влияния на показатели фолликуло- и оогенеза.

Таблица 32 - Сравнительная оценка оогенеза в изучаемых группах

Наименование переменной	**I группа, (n=66)**	**II группа, (n=71)**	**III группа, (n=42)**	**Уровень значимости**
Суммарное число антральных фолликулов*	6,7±3,3	16,8±3,5	17,6±4,9	0,511
Среднее число доминантных фолликулов	12,0±4,2	13,7±4,8	13,0±4,6	0,638
Количество полученных ооцитов	10 (7;15,25)	11 (7;15)	10,5 (7,0;17,5)	0,990
Количество 2pn	6,0 (3,75;9,0)	6,0 (3,0;9,0)	7 (4,0;10,0)	0,853
Доля 2pn от полученных, %	55,9 (38,3;69,4)	62,5 (42,8;70)	65 (56,2;75,0)	p_1-p_2=0,330 p_1-p_3=0,03*

Примечание. * - статистически значимые различия (p<0,05).

В ходе дальнейшей оценки эмбриогенеза выяснилось, что количество эмбрионов на 5-е сутки развития в сравниваемых группах различалось. Так, в III группе число бластоцист было в 2,5 раза выше по сравнению с I и со II группами, что составило статистически значимые различия (p = 0,001). При сравнении I и II группы между собой подобных отличий не выявлено. Таким образом, количество бластоцист статистически значимо выше в группе вакцинированных женщин при сравнении с ВПЧ-позитивными и ВПЧ-негативными пациентками (Рис. 13).

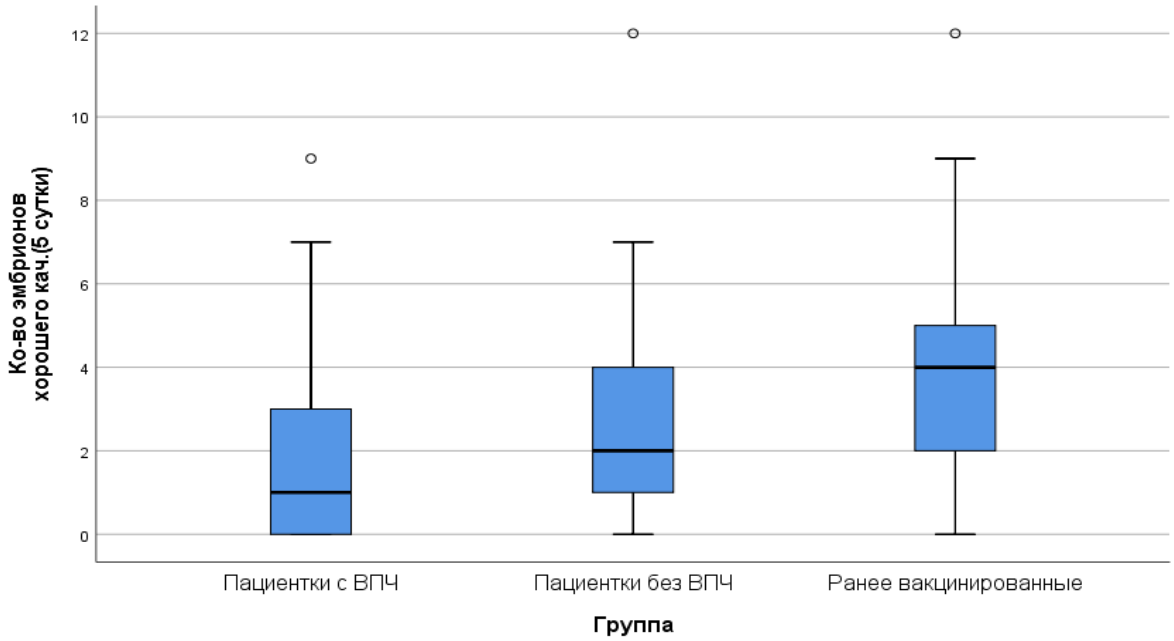


Рисунок 13. Количество бластоцист хорошего качества; * – p_{1-2}=0,059; p_{1-3}<0,001 (тест Манна-Уитни).

Морфологическая оценка бластоцист также подтвердила гипотезу негативного влияния ПВИ на эмбриогенез. Установлено, что у женщин с наличием ВПЧ (I группа) количество эмбрионов хорошего качества было статистически значимо меньше по сравнению с группой ВПЧ-негативных (p = 0,059) и иммунизированных (p <0,001) пациенток. Не менее интересен тот факт, что даже при сравнении II и III групп были отмечены различия в количестве бластоцист хорошего качества (p = 0,03) (Рис. 14).

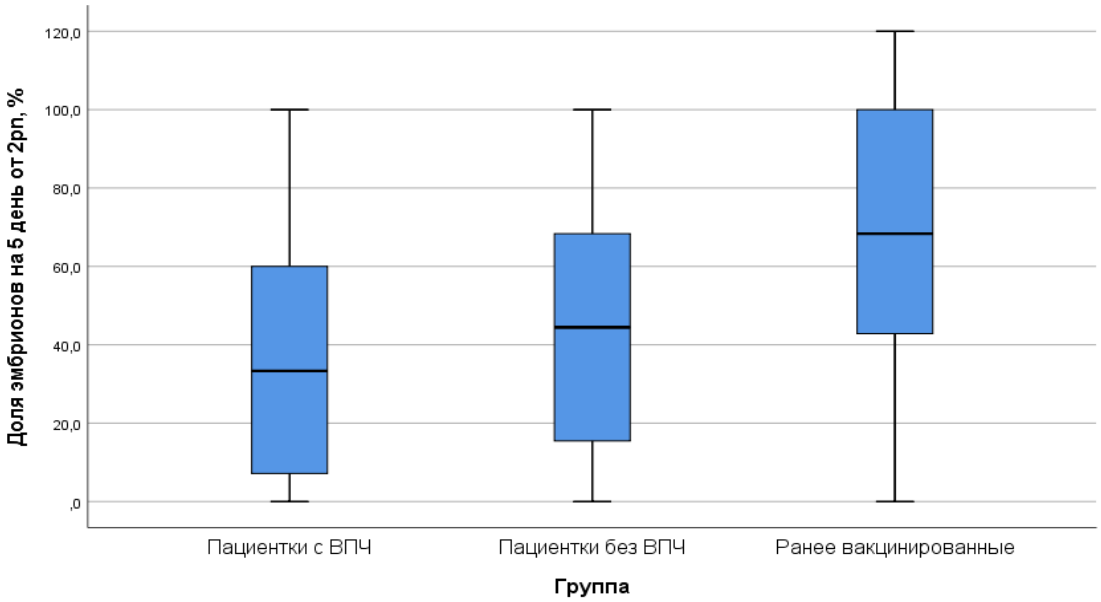


Рисунок 14. Частота выхода бластоцист на 5 сутки эмбриогенеза; * - p_{1-2}=0,218; p_{1-3}<0,001 (тест Манна-Уитни)

Среди всех обследованных нами женщин ВПЧ был обнаружен больше, чем у трети – 36,8% (n = 66). Вызывает особый интерес изучение влияния различных типов ВПЧ на результативность программ ЭКО, которые на данный момент представлены в небольшом количестве.

В настоящем исследовании наиболее часто определялся 16 серотип ВПЧ среди инфицированных женщин — 34,8% (n=23). Хочется отметить, что ЧНБ на ПЭ у женщин, инфицированных 16 типом ВПЧ, хоть и несколько ниже, чем в общей группе ВПЧ-позитивных пациенток, но не имеет статистически значимого различия с остальными типами ПВИ, что вероятно может быть следствием сравнительно небольшой выборки.

Напротив, данные японского исследования продемонстрировали, что распространенность ВПЧ 16-го типа среди женщин, перенесших ЭКО, составила лишь 5,5% (n = 192). На основании этого ученые сформулировали вывод, что наличие ВПЧ 16-го типа не связано с неудачными попытками ЭКО.

Однако, с нашими результатами согласуется научно-практическая работа под руководством Jaworek H., в ходе которой отмечено, что у бесплодных женщин, получавших лечение методом ЭКО, наиболее часто

определялся ВПЧ 16 типа (21,4% среди ВПЧ-позитивных образцов), который был наиболее распространенным серотипом ВПЧ (27,1%, 13/48) [19].

Нами также было отмечено, что у пациенток позитивных по ВПЧ 33 и 18 типов, процент выхода бластоцист составил 58,3% и 45,2% соответственно и оказался самым высоким в подгруппах. Показатели ЧНБ на перенос эмбрионов и доля криоконсервированных бластоцист хорошего качества у этих пациенток также были высокими.

У женщин с ВПЧ 31 типа отмечалась наиболее низкая доля выхода бластоцист хорошего качества из сравниваемых (33,3%) и как результат самая низкая доля криоконсервированных эмбрионов в подгруппе (25%). А также самая низкая ЧНБ (23,5%) и самый высокий процент биохимической беременности (25%).

У пациенток, инфицированных ВПЧ 35 типа, несмотря на высокий процент оплодотворения (56,6%) и получение эмбрионов хорошего качества (55%), процент бластуляции оказался невысоким (35,7%). Половина эмбрионов подверглась витрификации, а вторая половина была перенесена в свежем цикле. Несмотря на это, во всех наблюдениях исходом стала неразвивающаяся беременность.

Полученные данные согласуются с исследованием центра репродукции Лома-Линда, в котором среди генетически схожих сероваров только ВПЧ 16 типа приводила к значительной фрагментации ДНК хозяина и последующему апоптозу клеток [138]. Также в одной из работ отражены дозозависимое снижение количества клеток трофобласта и низкая адгезия клеток трофобласта к эндометрию из-за воздействия 31 типа ВПЧ. [139]. Эти данные еще раз подтверждают гипотезу о том, что ВПЧ активен в трофобластах и может вызывать самопроизвольные аборты или неразвивающуюся беременность.

С другой стороны, в недавнем исследовании были изучены ворсины хориона и образцы сыворотки крови в группах женщин, которые подверглись добровольному прерыванию беременности, и женщин, перенесших

самопроизвольный аборт. Результат продемонстрировал, что персистенция ПВИ в ворсинах хориона обнаруживалась в редких случаях, а значит возможно вирус не играет ключевую роль в патогенезе самопроизвольных выкидышей [140].

По всей видимости, для формирования полноценной и демонстративной патогенетической картины требуется проведение дополнительных исследований, с большим количеством пациенток в каждой подгруппе.

В нашем исследовании в группе ВПЧ-позитивных пациенток частота определения положительного теста с ß-ХГЧ наблюдалась в 1,4 раза реже по сравнению со II и в 1,6 раз реже по сравнению с III группой. Частота наступления беременности на перенос эмбрионов встречалась значимо чаще у пациенток в группе без ПВИ (53,8%), по сравнению с женщинами с ее наличием (38,6%), p = 0,052. При сравнении группы ВПЧ-позитивных пациенток с группой ранее вакцинированных женщин было выявлено, что ЧНБ на ПЭ статистически значимо выше в группе ранее вакцинированных пациенток (64,3% и 38,6%), p = 0,04 (Табл. 33).

Таблица 33 - Исходы программ ВРТ в сравниваемых группах

Показатель	**I группа (n=66)**	**II группа (n=71)**	**III группа (n=42)**	**Уровень значимости**
Доля перенесенных эмбрионов из полученных	44 (66,7%)	52 (73,2%)	34 (81%)	0,401
Положительный ß-ХГЧ	18 (40,9%)	30 (57,7%)	23 (64,3%)	p_{1-2}=0,06 p_{1-3}=0,05*
Частота наступления клинической беременности на ПЭ	17 (38,6%)	28 (53,8%)	21 (60,7%)	p_{1-2}=0,052 p_{1-3}=0,04*

Примечание. * - статистически значимые различия (p<0,05).

Схожие результаты получены в работе клиники на базе Корнельского университета США, в которой оценивали влияние ВПЧ на результаты ЭКО. Несмотря на то, что разница в числе аспирированных ооцитов, количестве и качестве перенесенных эмбрионов, а также частоте самопроизвольных абортов не выявлена, у женщин с ПВИ отмечена более низкая ЧНБ (23,5%) по сравнению с женщинами без наличия вируса (57,0%). Доля ВПЧ-позитивных женщин в данном исследовании составила 16% (n=106) [68].

Также с нашими данными согласуются результаты работы итальянских ученых. В исследовании Perino A. и соавт. частота неудачных попыток ЭКО у женщин, инфицированных ВПЧ, составила 40% по сравнению с 13,5% у здоровых ($p < 0,05$) [23]. В иной работе из Италии был отмечен более низкий уровень живорождения у ВПЧ-позитивных пациенток по сравнению с группой контроля, однако эти различия не достигли статистической значимости из-за небольшого размера выборки [37].

Введение методов криоконсервации является прогрессивным направлением в мире ВРТ. Появляется все больше подтверждений того, что перенос замороженных эмбрионов может привести к такому же или даже лучшему результату по сравнению с переносом нативных эмбрионов при бесплодии различной этиологии. Одними из преимуществ данного метода является возможность минимизировать риск развития СГЯ и эктопической беременности [97].

В нашей работе было проведено 72 лечебных цикла с использованием криоконсервированных эмбрионов на 5-е сутки. В I группе пациенток был сделан 21 криоперенос (31,8%), во II группе – 23 эмбриотрансфера (32,4%), в III группе ранее вакцинированных женщин было сделано 28 криопереносов (66,7%).

По числу криоконсервированных эмбрионов наблюдается статистически значимое различие при последовательном сравнении групп. Наименьшая доля криоконсервированных эмбрионов от исходно полученных отмечена в группе ВПЧ-позитивных пациенток, что было статистически

значимым при сравнении со II группой (p = 0,01). Таким образом, доля криоконсервированных эмбрионов в III группе выше, чем в группе с ВПЧ инекцией и сопоставима с группой ВПЧ-негативных женщин.

Были проанализированы репродуктивные исходы программ ЭКО с переносом размороженных эмбрионов. Результаты представлены в таблице 34.

Таблица 34 - Результаты лечения с переносом размороженных эмбрионов

Показатель	**I группа (n=21)**	**II группа (n=23)**	**III группа (n= 28)**	**Уровень значимости**
Количество криоконсервированных эмбрионов	0 (0;2)	1 (0;3)	3 (0;4)	p_{1-2} = 0,015* p_{1-3} = 0,01*
Доля криоконсервированных эмбрионов от полученных, %	0 (0;81,2)	75 (0;100)	75 (0;83,3)	p_{1-2} = 0,01* p_{1-3} = 0,123
Положительный ß-ХГЧ	8 (38,1%)	17 (73,9%)	18 (64,3%)	p_{1-2} = 0,017* p_{1-3} = 0,057*
ЧНБ на перенос эмбрионов	7 (33,3%)	17 (73,9%)	17 (60,7%)	p_{1-2} = 0,007* p_{1-3} = 0,05*

Примечание. * - статистически значимые различия (p<0,05).

Частота имплантации в сравниваемых группах существенно различалась. В группе ВПЧ-негативных пациенток - 73,9% (n=17) отмечено двухкратное увеличение частоты имплантации в сравнении с группой ВПЧ-позитивных женщин 38,1% (n=8) (p=0,017). В группе ранее вакцинированных женщин доля имплантации составила 64,3% (n=18), что в 1,7 раз выше по сравнению с ВПЧ-позитивной группой пациенток, что, однако, не имело статистически значимого различия (p=0,057).

Анализ репродуктивных исходов после проведения криопротоколов показал, ЧНБ на перенос эмбрионов в 2,2 раза выше у пациенток II группы (73,9%) относительно группы ВПЧ-позитивных пациенток (33,3%) и в 1,7 раз выше в III группе (60,7%) по сравнению с инфицированными пациентками (p=0,007 и p = 0,05 соответственно).

Был проведен корреляционный анализ криопротоколов в результате которого выявлена отрицательная корреляционная зависимость между длительностью ВПЧ и положительным исходом беременности (r = - 0,503; p = 0,02). Это позволяет сделать вывод, что продолжительность персистенции ВПЧ-инфекции негативно сказывается на вероятность положительного исхода беременности в криопротоколах ЭКО.

Анализ частоты репродуктивных потерь показывает, что ранние репродуктивные потери, такие как неразвивающаяся беременность и биохимическая беременность, встречались во всех группах, однако в группе ВПЧ-позитивных пациенток неразвивающаяся беременность диагностировалась в 2 раза чаще, чем в группе ВПЧ-негативных пациенток (3% по сравнению 1,4%). Применение криопротоколов полностью нивелировало возникновение подобных осложнений в группах ВПЧ-иммунизированных и негативных в отношении ПВИ пациенток.

Результаты настоящего исследования сопоставимы с представленными данными литературы. Так, Gomez L.M. и соавт. обнаружили, что у пациенток, инфицированных ВПЧ, частота апоптоза в трофобластах была в 3—6 раз выше, чем у здоровых женщин, что детерминирует первичную

фетоплацентарную недостаточность и повышает риск преждевременных родов [68].

Zuo Z. и соавт. в своей работе подтвердили негативное влияние ВПЧ в виде уменьшения количества трофобластических клеток и возникновения аномальной трофобластическо-эндометриальной адгезии. Были отмечены ранние репродуктивные потери в виде увеличения частоты самопроизвольных выкидышей, преждевременных родов и преждевременного разрыва плодных оболочек [69, 70]. Несмотря на это, мировая литература на сегодняшний день не пришла к консенсусу. Например, было показано отсутствие влияния ВПЧ на частоту наступления клинической беременности и самопроизвольных выкидышей после ЭКО у исследователей из Китая и Италии [20, 91]. Впрочем, с нашими данными совпадают результаты исследования, проведенного Henneberg A.A. и соавт. в Калифорнийском университете, которые продемонстрировали, что генотипы ВПЧ 16-го и 18-го типов оказывают патологическое воздействие на эмбрион [71].

В недавнем обзоре Isaguliants M. и соавт. было предположено, что бесплодие может быть связано с иммунным ответом против ВПЧ [141]. Активация иммунной системы с целью элиминации инфицированных клеток может вызвать отторжение зараженного вирусом эмбриона по типу реакции «трансплантат против хозяина». Авторы подчеркивают, что ПВИ может блокировать функцию аквапорина AQP8, участвующего в нейтрализации активных форм кислорода, вызывая избыточный окислительный стресс в мужских и женских гаметах, что приводит к дополнительному повреждению ДНК и апоптозу [142]. Кроме того, ПВИ может ухудшать процессы репарации ДНК, усиливая ее повреждение в клетках половых желез [143].

В ходе оценки эмбриогенеза и ранних репродуктивных исходов нами была отмечена положительная корреляционная зависимость между вакцинацией и количеством эмбрионов на 5 сутки ($r = 0,333$; $p = 0,001$), вакцинацией и количеством бластоцист хорошего качества ($r = 0,318$; $p = 0,001$), вакцинацией и количеством криоконсервированных эмбрионов ($r =$

0,221; p = 0,003), вакцинацией и положительным β-ХГЧ (r = 0,175; p = 0,019), вакцинацией и клинической беременностью (r = 0,153; p = 0,040).

В заключении хотелось бы подчеркнуть, что репродуктивное здоровье – одна из главных мировых и национальных проблем, а ВРТ позволяют добиться успеха в лечении бесплодных пар, которые ранее считались безнадежными.

Вакцинация против папилломавирусной инфекции не только предотвращает ВПЧ-ассоциированные заболевания у женщин (интраэпителиальные неоплазии аногенитальной зоны и области верхних дыхательных путей), а также не оказывает негативного влияния на овариальную, менструальную функции, суммарное число антральных и среднее количество преовуляторных фолликулов. Также не отмечено влияния на толщину эндометрия в день эмбриотрансфера и количество полученных зрелых ооцитов. Обеспечивает большее количество и, что немаловажно, качество бластоцист, улучшает прогноз имплантации, ЧНБ и профилактирует репродуктивные потери. Таким образом, вакцинация против ВПЧ-инфекции, являясь безопасной и эффективной медицинской процедурой, должна стать частью здорового образа жизни современного человека [144].

ВЫВОДЫ

1. Среди пациенток, включенных в программы ВРТ, наиболее часто встречались следующие типы ВПЧ: 16 тип (34,8%), 33 тип (19,7%), 31 тип (16,7%), 18 тип (12,1%), 35 тип (10,6%), 52 тип (7,6%), 51 тип (6,1%). Среди пациенток с неудачными попытками ЭКО доминировали ВПЧ: 16 тип (18,4%), 33 тип (14,3%), 31 тип (12,2%), 18 тип (10,2%).
2. Суммарное число антральных, среднее число доминантных фолликулов, толщина эндометрия в день эмбриотрансфера, количество полученных зрелых ооцитов и количество эмбрионов на 5-е сутки культивирования не зависят от наличия ВПЧ у пациентки и от проведения вакцинации в анамнезе.
3. У пациенток с персистирующей ВПЧ-инфекцией процент выхода бластоцист в 1,4 раза ниже, чем у ВПЧ-негативных пациенток (33,3% и 44,4%); медианное значение доли эмбрионов хорошего качества на 5 сутки в 1,5 раза ниже 55 (0;100) и 80 (28,5;100); p=0,05; в 2 раза чаще наблюдается отмена проведения программ ВРТ по причине получения эмбрионов плохого качества (40,9% и 18,8%); $ЧНБ_{ПЭ}$ достоверно ниже по сравнению с ВПЧ-негативной группой (38,6% и 53,8%) p=0,05.
4. У пациенток, ранее вакцинированных против ВПЧ, частота оплодотворения в 1,2 раза превышает показатели в группе ВПЧ-позитивных пациенток – 65% (56,2;75,0) и 55,9% (38,3;69,4). Частота выхода бластоцист в 2 раза выше при сравнении с ВПЧ-позитивными (68,3% (42,3;100,0) и 33,3% (5,4;60,0) p=0,001). Доля криоконсервированных эмбрионов статистически значимо выше, чем в группе с ВПЧ инфекцией – 75% (0;83,3)) и 0% (0;81,2) (p = 0,01). Частота положительного ß-ХГЧ в 1,6 раз выше, чем в ВПЧ-позитивной группе (64,3% и 40,9%, p = 0,04). ЧНБ на ПЭ в 1,6 раз выше по сравнению с группой ВПЧ-позитивных пациенток (60,7% и 38,6%, p <0,001).

5. В криопротоколах у пациенток с персистирующей ВПЧ-инфекцией частота положительного β-ХГЧ в 2 раза ниже (38,1% и 73,9%, p = 0,017); а $ЧНБ_{ПЭ}$ в 2,2 раза ниже (33,3% и 73,9%, p = 0,007), чем в группе ВПЧ-негативных пациенток. У пациенток с ВПЧ-инфекцией частота положительного β-ХГЧ в 1,7 раз ниже (38,1% и 64,3%, p = 0,05); а $ЧНБ_{ПЭ}$ в 1,8 раз ниже (33,3% и 60,7%, p = 0,05), чем в группе ранее вакцинированных.
6. Самая высокая частота репродуктивных потерь наблюдалась в группе ВПЧ-позитивных пациенток. В свежих циклах неразвивающаяся беременность диагностировалась в 2 раза чаще, чем в группе ВПЧ-негативных пациенток (3% и 1,4%) и в 1,3 раза чаще, чем в группе ранее вакцинированных женщин (2,4%). В криопротоколах неразвивающаяся беременность встречалась только в группе ВПЧ-позитивных пациенток.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ:

1. Перед проведением программ ВРТ **необходимо** проводить обследование пациенток на наличие вируса папилломы человека высококанцерогенного риска, что позволяет прогнозировать исходы программ ВРТ.
2. Применение квадривалентной вакцины против папилломавирусной инфекции у девушек и молодых женщин не оказывает негативного влияния на состояние овариальной функции, улучшает количество и качество эмбрионов на 5-е сутки, повышает ЧНБ на ПЭ в циклах ВРТ, включая криопротоколы.
3. Предикторами, **снижающими** вероятность положительного результата после проведения переноса эмбрионов, является наличие у женщины ВПЧ (ОШ=0,403, ДИ 95% [0,205-0,791], p=0,008) и суммарное число антральных фолликулов (ОШ=0,848, ДИ 95% [0,757-0,791], p=0,004), как риск развития СГЯ и отмены эмбриотрансфера по этой причине.
4. Предикторами, **повышающими** вероятность положительного результата при переносе эмбриона, являются наличие родов в анамнезе (ОШ=3,364, ДИ 95% [1,257-9,005], p=0,016), доля эмбрионов на 5 день культивирования от 2pn, % (ОШ=1,010, ДИ 95% [1,001-1,021], p=0,043), доля эмбрионов хорошего качества на 5 сутки, % (ОШ=1,013, ДИ 95% [1,003-1,022], p=0,008), наличие иммунизации и отсутствие ВПЧ. По результатам построения ROC-кривой показатель AUC составил 0,761±0,037 (ДИ 95% 0,689-0,833; p<0,001), что соответствует в хорошему качеству прогностической модели. Выявлена положительная корреляционная зависимость между вакцинацией и положительным β-ХГЧ (r = 0,175; p = 0,019), а также вакцинацией и клинической беременностью (r = 0,153; p = 0,040).
5. Предикторами, **снижающими** вероятность положительного результата после проведения **криопереноса** эмбрионов, являются наличие у женщины ВПЧ (ОШ=0,314, ДИ 95% [0,121-0,614], p=0,017) и лечение

патологии шейки матки в анамнезе (ОШ=0,798, ДИ 95% [0,674-0,944], p=0,009). ROC-анализ показывает, что площадь под кривой (AUC) составляет 0,692±0,045 (ДИ 95% 0,604-0,799; p<0,001), что соответствует среднему качеству прогностической модели.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АМГ - антимюллеров гормон

АТ-ТПО – антитела к тиреоидной пероксидазе

АЧТВ - активированное частичное тромбиновое время

аГнРГ – агонисты гонадотропин-рилизинг гормона

ВМИ – внутриматочная инсеминация

ВОЗ - Всемирная организация здравоохранения

ВПГ – вирус простого герпеса

ВПЧ - вирус папилломы человека

ВРТ – вспомогательные репродуктивные технологии

ЗГТ – заместительная гормональная терапия

ИКСИ (ICSI – Intra Cytoplasmic Sperm Injection) - введение сперматозоида в цитоплазму, интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида

ИППП – инфекции, передающиеся половым путем

ИФА – иммуноферментный анализ

ИМТ – индекс массы тела

ЛГ - лютеинизирующий гормон

Прл - пролактин

ПЦР – полимеразноцепная реакция

ПЭ – перенос эмбрионов

рФСГ– рекомбинантный фолликулостимулирующий гормон

РНК - рибонуклеиновая кислота

СГЯ – синдром гиперстимуляции яичников

СЦ – стимулированный цикл

Т – тестостерон

Т4 своб. – свободный тироксин

ТТГ – тиреотропный гормон

УЗИ – ультразвуковое исследование

ФСГ - фолликулостимулирующий гормон

ХГЧ – хорионический гонадотропин человака

чМГ – человеческий менопаузальный гонадотропин

ЧНБ– частота наступления беременности

ЧНБПЭ– частота наступления беременности на перенос эмбрионов

ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение

β-ХГЧ - β субъединица хорионического гонадотропина человека

CIN (Cervical intraepithelial neoplasia) - цервикальная интраэпителиальная неоплазия

E2 - эстрадиол

HSIL (High-grade Squamous Intraepithelial Lesions) - высокий класс плоскоклеточных интраэпителиальных поражений

LSIL (Low-grade Squamous Intraepithelial Lesions) - низкий класс плоскоклеточных интраэпителиальных поражений

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.

1. Mascarenhas, M. N. National, Regional, and Global Trends in Infertility Prevalence Since 1990: A Systematic Analysis of 277 Health Surveys / M. N. Mascarenhas, S. R. Flaxman, T. Boerma [et al.] // PLoS Medicine. – 2012. – Vol. 9. – № 12. – P. e1001356.

2. McLaren, J. F. Infertility evaluation / J. F. McLaren // Obstet Gynecol Clin North Am. - 2012. - Vol. 39, N 4. - P. 453-463.

3. Сосновская, Т. С. Бесплодие как социально-демографическая проблема России / Т. С. Сосновская // Научное сообщество студентов: Междисциплинарные исследования: сб. ст. по мат. XXXII междунар. студ. науч.-практ. конф. - 2018. - № 21. - С. 32.

4. Vander Borght, M. Fertility and infertility: Definition and epidemiology / M. Vander Borght, C. Wyns // Clinical Biochemistry. – 2018. – Vol. 62. – P. 2-10.

5. Краснопольская К.В., Радзинский В.Е., Бесплодный брак, глава 31, Гинекология: национальное руководство / под ред. Г.М. Савельевой, Г.Т. Сухих, В.Н. Серова и др. – 2-е изд., перераб. И доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017 – с. 849-850

6. Gleicher, N. Worldwide decline of IVF birth rates and its probable causes / N. Gleicher, V. A. Kushnir, D. H. Barad // Human Reproduction Open. – 2019. – Vol. 2019. – № 3. – P. 15-17.

7. He Y. Clinical analysis of cervical intraepithelial neoplasia with vaginal intraepithelial neoplasia / Y. He, Q. Zhao et al. // Medicine. – 2017.- 96.- P.17.

8. World Health Organization. WHO guidelines for the use of thermal ablation for cervical pre-cancer lesions / World Health Organization. – Geneva : World Health Organization, [Электронный ресурс]. 2019. – 108 p. – URL: https://apps.who.int/iris/handle/10665/329299 (дата обращения: 07.11.2021).

9. Bruni L., Albero G., Serrano B. et al. ICO/IARC Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). Human Papillomavirus and Related Diseases in Russia. [Электронный ресурс]. 2012. Дата обновления: 22.10.2021. URL:

https://hpvcentre.net/statistics/reports/RUS_FS.pdf?t=1646591300998 (дата обращения: 07.11.2021).

10. Костин А.А. Анализ статистических данных о злокачественных новообразованиях, ассоциированных с вирусом папилломы человека / А.А. Костин, В.В. Старинский, Ю.В. Самсонов, А.Т. Асратов // Исследования и практика в медицине. – 2016.– Том 3. - №1.– С.66–78.

11. Bosch, F. X. Comprehensive Control of Human Papillomavirus Infections and Related Diseases / F. X. Bosch, T. R. Broker, D. Forman [et al.] // Vaccine. – 2013. – Vol. 31. – P. 1-31.

12. Laprise, C. Prevalence of human papillomaviruses in semen: a systematic review and meta-analysis / C. Laprise, H. Trottier, P. Monnier [et al.] // Human Reproduction. – 2014. – Vol. 29. – № 4. – P. 640-651.

13. Noronha, A. S. Systematic review of human papillomavirus vaccine coadministration / A. S. Noronha, L. E. Markowitz, E. F. Dunne // Vaccine. – 2014. – Vol. 32. – № 23. – P. 2670-2674.

14. Sung, H., Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries / H. Sung, J. Ferlay, R. L. Siegel [et al.] // CA: A Cancer Journal for Clinicians. – 2021. – Vol. 71. – № 3. – P. 209-249.

15. Souho, T. Human Papillomavirus Infection and Fertility Alteration: A Systematic Review / T. Souho, M. Benlemlih, B. Bennani // PLOS ONE. – 2015. – Vol. 10. – № 5. – P. e0126936.

16. Dunne, E. F. CDC grand rounds: Reducing the burden of HPV-associated cancer and disease / E. F. Dunne, L. E. Markowitz, M. Saraiya [et al.] // MMWR. Morbidity and mortality weekly report. – 2014. – Vol. 63. – № 4. – P. 69-72.

17. Pereira, N. Human Papillomavirus Infection, Infertility, and Assisted Reproductive Outcomes / N. Pereira, K. M. Kucharczyk, J. L. Estes [et al.] // Journal of Pathogens. – 2015. – Vol. 2015. – P. 1-8.

18. Stanley, M. Pathology and epidemiology of HPV infection in females / M. Stanley // Gynecologic Oncology. – 2010. – Vol. 117. – № 2. – P. S5-S10.

19. Jaworek, H. Prevalence of human papillomavirus infection in oocyte donors and women treated for infertility: An observational laboratory-based study / H. Jaworek, B. Zborilova, V. Koudelakova [et al.] // European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology: X. – 2019. – Vol. 4. – P. 100068.

20. Schillaci, R. Detection of oncogenic human papillomavirus genotypes on spermatozoa from male partners of infertile couples / R. Schillaci, G. Capra, C. Bellavia [et al.] // Fertility and Sterility. – 2013. – Vol. 100. – № 5. – P. 1236-1240.

21. Cho, G. High-risk human papillomavirus infection is associated with premature rupture of membranes / G. Cho, K.-J. Min, H.-R. Hong [et al.] // BMC Pregnancy and Childbirth. – 2013. – Vol. 13. – № 1. – P. 173.

22. Park, H. Rate of vertical transmission of human papillomavirus from mothers to infants: Relationship between infection rate and mode of delivery / H. Park, S. W. Lee, I. H. Lee [et al.] // Virology Journal. – 2012. – Vol. 9. – № 1. – P. 80.

23. Perino, A. Human papillomavirus infection in couples undergoing in vitro fertilization procedures: impact on reproductive outcomes / A. Perino, L. Giovannelli, R. Schillaci [et al.] // Fertility and Sterility. – 2011. – Vol. 95. – № 5. – P. 1845-1848.

24. Yousefi, Z. An Update on Human Papilloma Virus Vaccines: History, Types, Protection, and Efficacy / Z. Yousefi, H. Aria, F. Ghaedrahmati [et al.] // Frontiers in Immunology. – 2022. – Vol. 12. – P. 80-95.

25. Muñoz, N. Impact of Human Papillomavirus (HPV)-6/11/16/18 Vaccine on All HPV-Associated Genital Diseases in Young Women / N. Muñoz, S. K. Kjaer, K. Sigurdsson [et al.] // JNCI: Journal of the National Cancer Institute. – 2010. – Vol. 102. – № 5. – P. 325-339.

26. Foresta, C. Clinical and prognostic significance of human papillomavirus DNA in the sperm or exfoliated cells of infertile patients and subjects with risk

factors / C. Foresta, D. Pizzol, A. Moretti [et al.] // Fertility and Sterility. – 2010. – Vol. 94. – № 5. – P. 1723-1727.

27. Arbyn, M. Prophylactic vaccination against human papillomaviruses to prevent cervical cancer and its precursors / M. Arbyn, L. Xu, C. Simoens, P. P. Martin-Hirsch // Cochrane Database of Systematic Reviews. – 2018. – Vol. 2020. – № 3. – P. CD009069

28. Spandorfer, S.D. Prevalence of cervical human papillomavirus in women undergoing in vitro fertilization and association with outcome / S. D. Spandorfer, A. M. Bongiovanni, S. Fasioulotis [et al.] // Fertility and Sterility. – 2006. – Vol. 86. – № 3. – P. 765-767.

29. Zacharis, K. Human Papilloma Virus (HPV) and Fertilization: A Mini Review / K. Zacharis, C. I. Messini, G. Anifandis [et al.] // Medicina. – 2018. – Vol. 54. – № 4. – P. 50.

30. Naleway, A. L. Primary Ovarian Insufficiency and Adolescent Vaccination / A. L. Naleway, K. F. Mittendorf, S. A. Irving [et al.] // Pediatrics. – 2018. – Vol. 142. – № 3. – P. e20180943.

31. Drolet, M. Population-level impact and herd effects following the introduction of human papillomavirus vaccination programmes: updated systematic review and meta-analysis / M. Drolet, É. Bénard, N. Pérez [et al.] // The Lancet. – 2019. – Vol. 394. – № 10197. – P. 497-509.

32. Зароченцева, Н.В. Гинекологическая заболеваемость девочек в Московской области в период проведения программы вакцинопрофилактики папилломавирусной инфекции / Н.В. Зароченцева, Ю.М. Белая // Доктор.Ру. – 2021. – Т. 20. - № 8. – С. 23–27.

33. Schmuhl, N. B. No association between HPV vaccination and infertility in U.S. females 18–33 years old / N. B. Schmuhl, K. E. Mooney, X. Zhang [et al.] // Vaccine. – 2020. – Vol. 38. – № 24. – P. 4038-4043.

34. Sun, H. Global, regional, and national prevalence and disability-adjusted life-years for infertility in 195 countries and territories, 1990–2017: results from a global

burden of disease study, 2017 / H. Sun, T.-T. Gong, Y.-T. Jiang [et al.] // Aging. – 2019. – Vol. 11. – № 23. – P. 10952-10991.

35. Jeršovienė, V. Human Papillomavirus and Infertility / V. Jeršovienė, Ž. Gudlevičienė, J. Rimienė, D. Butkauskas // Medicina (Kaunas, Lithuania). – 2019. – Vol. 55. – № 7. – P. E377.

36. Trottier, H. Human papillomavirus (HPV) perinatal transmission and risk of HPV persistence among children: Design, methods and preliminary results of the HERITAGE study / H. Trottier, M.-H. Mayrand, F. Coutlée [et al.] // Papillomavirus Research (Amsterdam, Netherlands). – 2016. – Vol. 2. – P. 145-152.

37. Comar, M. Human papillomavirus infection is associated with decreased levels of GM-CSF in cervico-vaginal fluid of infected women / M. Comar, L. Monasta, N. Zanotta [et al.] // Journal of Clinical Virology: The Official Publication of the Pan American Society for Clinical Virology. – 2013. – Vol. 58. – № 2. – P. 479-481.

38. Tanaka, H. Mass screening for human papillomavirus type 16 infection in infertile couples / H. Tanaka, A. Karube, H. Kodama [et al.] // The Journal of Reproductive Medicine. – 2000. – Vol. 45. – № 11. – P. 907-911.

39. Foresta, C. Human papilloma virus in the sperm cryobank: an emerging problem? / C. Foresta, A. Ferlin, A. Bertoldo [et al.] // International Journal of Andrology. – 2011. – Vol. 34. – № 3. – P. 242-246.

40. Регистр ВРТ РАРЧ, отчет за 2019 год Сагамонова К.Ю., Корсак В.С., Смирнова А.А., Шурыгина О.В. Регистр ВРТ РАРЧ, отчет за 2019 год. [Электронный ресурс]. 2019. URL:https://www.rahr.ru/d_registr_otchet/RegistrART2019.pdf (дата обращения: 10.07.2021).

41. Bruggink, S. C. Cutaneous wart-associated HPV types: Prevalence and relation with patient characteristics / S. C. Bruggink, M. N. C. de Koning, J. Gussekloo [et al.] // Journal of Clinical Virology. – 2012. – Vol. 55. – № 3. – P. 250-255.

42. Ramachandran, D. Genomic Risk Factors for Cervical Cancer / D. Ramachandran, T. Dörk // Cancers. – 2021. – Vol. 13. – № 20. – P. 5137.

43. Chen, Z. Classification and evolution of human papillomavirus genome variants: Alpha-5 (HPV26, 51, 69, 82), Alpha-6 (HPV30, 53, 56, 66), Alpha-11 (HPV34, 73), Alpha-13 (HPV54) and Alpha-3 (HPV61) / Z. Chen, M. Schiffman, R. Herrero [et al] // Virology. – 2018. – Vol. 516. – P. 86-101.

44. Gage, J. C. The Improving Risk Informed HPV Screening (IRIS) Study: Design and Baseline Characteristics / J. C. Gage, T. Raine-Bennett, M. Schiffman [et al.] // Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention. – 2022. – Vol. 31. – № 2. – P. 486-492.

45. de Sanjose, S. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study / S. de Sanjose, W. G. Quint, L. Alemany [et al] // Lancet Oncol. – Nov. – 2010. – Vol. 11. - № 11. – P. 1048-1056.

46. Alteri, R. American Cancer Society Guideline for the Early Detection of Cervical Neoplasia and Cancer / D. Saslow, C. D. Runowicz, D. Solomon [et al.] // CA: A Cancer Journal for Clinicians. – 2019. – Vol. 52. – № 6. – P. 342-362.

47. Vashisht, S. Structure, Genome, Infection Cycle and Clinical Manifestations Associated with Human Papillomavirus / S. Vashisht, H. Mishra, P. K. Mishra [et al.] // Current Pharmaceutical Biotechnology. – 2019. – Vol. 20. – № 15. – P. 1260-1280.

48. Khoury, R. Risk of Human Papillomavirus Infection in Cancer-Prone Individuals: What We Know / R. Khoury, S. Sauter, M. Butsch Kovacic [et al.] // Viruses. – 2018. – Vol. 10. – № 1. – P. 47.

49. zur Hausen, H. The search for infectious causes of human cancers: Where and why / H. zur Hausen // Virology. – 2009. – Vol. 392. – № 1. – P. 1-10.

50. Ершов, В.А. Механизм развития неоплазии при поражении эпителия шейки матки вирусом папилломы человека высокого канцерогенного риска / В.А. Ершов // Инфекция и иммунитет. - 2014. - Т. 4. - №2. - С. 167–172.

51. Бебнева, Т.Н. Патогенетическое лечение неопластических процессов шейки матки: новые подходы / Т.Н. Бебнева, Е.Л. Муйжнек, С.И. Роговская, В.И. Киселёв, Л.А. Ашрафян//Доктор.Ру. - 2016. – Т. 3 № 120. - С.9-14.

52. Gardella, B. The Complex Interplay between Vaginal Microbiota, HPV Infection, and Immunological Microenvironment in Cervical Intraepithelial Neoplasia: A Literature Review / B. Gardella, M. F. Pasquali, M. La Verde [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2022. – Vol. 23. – № 13. – P. 71-74.

53. Tummers, B. High-risk human papillomavirus targets crossroads in immune signaling / B. Tummers, S.H. Van der Burg // Viruses. – 2015. – Vol. 7. - № 5. - P. 485–506.

54. Scarth, J. A. The human papillomavirus oncoproteins: a review of the host pathways targeted on the road to transformation / J. A. Scarth, M. R. Patterson, E. L. Morgan, A. Macdonald. // Journal of General Virology. – 2021. – Vol. 102. – № 3. – P. 15-40.

55. Schiffman, M. Carcinogenic human papillomavirus infection / M. Schiffman, J. Doorbar, N. Wentzensen [et al.] // Nature Reviews Disease Primers. – 2016. – Vol. 2. – № 1. – P. 16086.

56. Shukla, S. p53 and bcl2 expression in malignant and premalignant lesions of uterine cervix and their correlation with human papilloma virus 16 and 18 / S. Shukla, J. Dass, M. Pujani // South Asian J Cancer. – 2014. – Vol. 3, № 1. – P. 48-53.

57. Chitsike, L. PPI Modulators of E6 as Potential Targeted Therapeutics for Cervical Cancer: Progress and Challenges in Targeting E6 / L. Chitsike, P. J. Duerksen-Hughes // Molecules. – 2021. – Vol. 26. – № 10. – P. 3004.

58. Mittal, S. Molecular mechanisms underlying human papillomavirus E6 and E7 oncoprotein-induced cell transformation / S. Mittal, J. Banks // Mutat Res Rev Mutat Res. – 2017. – Vol. 772. – P. 23-35.

59. Houliha, C. F. Prevalence of Human Papillomavirus in Adolescent Girls Before Reported Sexual Debut / C. F. Houlihan, S. de Sanjosé, K. Baisley [et al.] // The Journal of Infectious Diseases. – 2014. – Vol. 210. – № 6. – P. 837-845.

60. de Sanjosé, S. HPV in genital cancers (at the exception of cervical cancer) and anal cancers / S. de Sanjosé, L. Bruni, L. Alemany // La Presse Médicale. – 2014. – Vol. 43. – № 12. – P. 423-428.

61. Ebisch, R. M. F. Screening for persistent high-risk HPV infections may be a valuable screening method for young women; A retrospective cohort study / R. M. F. Ebisch, P. J. W. Ketelaars, W. M. H. van der Sanden [et al.] // PLOS ONE. – 2018. – Vol. 13. – № 10. – P. 206-219.

62. Zuñiga Martinez, M. de L. Establishment, authenticity, and characterization of cervical cancer cell lines / M. de L. Zuñiga Martinez, C. M. López Mendoza, J. Tenorio Salazar [et al.] // Molecular & Cellular Oncology. – 2022. – Vol. 9. – № 1. – P. 20-28.

63. Elfström, K. M. Long-term HPV type-specific risks for ASCUS and LSIL: A 14-year follow-up of a randomized primary HPV screening trial: Long-Term HPV Type-Specific Risks for ASCUS/LSIL / K. M. Elfström, V. Smelov, A. L. V. Johansson [et al.] // International Journal of Cancer. – 2015. – Vol. 136. – № 2. – P. 350-359.

64. Celewicz, A. Perspectives in HPV Secondary Screening and Personalized Therapy Basing on Our Understanding of HPV-Related Carcinogenesis Pathways / A. Celewicz, M. Celewicz, M. Michalczyk, R. Rzepka // Mediators of Inflammation. – 2020. – Vol. 2020. – P. 1-7.

65. Depuydt, C. E. Human Papillomavirus (HPV) virion induced cancer and subfertility, two sides of the same coin / C. E. Depuydt, J. Beert, E. Bosmans, G. Salembier // Facts, Views & Vision in ObGyn. – 2016. – Vol. 8. – № 4. – P. 211-222.

66. Condrat, C. E. Maternal HPV Infection: Effects on Pregnancy Outcome / C. E. Condrat, L. Filip, M. Gherghe [et al.] // Viruses. – 2021. – Vol. 13. – № 12. – P. 2455.

67. Garolla, A. Association, prevalence, and clearance of human papillomavirus and antisperm antibodies in infected semen samples from infertile patients / A. Garolla, D. Pizzol, A. Bertoldo [et al.] // Fertility and Sterility. – 2013. – Vol. 99. – № 1. – P. 125-131.

68. Gomez, L. M. Placental infection with human papillomavirus is associated with spontaneous preterm delivery / L. M. Gomez, Y. Ma, C. Ho [et al.] // Human Reproduction. – 2008. – Vol. 23. – № 3. – P. 709-715.

69. Zuo, Z. Association of cervical cytology and HPV DNA status during pregnancy with placental abnormalities and preterm birth / Z. Zuo, S. Goel, J. E. Carter // American Journal of Clinical Pathology. – 2011. – Vol. 136. – № 2. – P. 260-265.

70. Noventa, M. A. Is it time to shift the attention on early stages embryo development to avoid inconclusive evidence on HPV-related infertility: debate and proposal / M. Noventa, A. Andrisani, S. Gizzo [et al.] // Reproductive Biology and Endocrinology. – 2014. – Vol. 12. – № 1. – P. 48.

71. Henneberg, A. A. Human papilloma virus DNA exposure and embryo survival is stage-specific / A. A. Henneberg, W. C. Patton, J. D. Jacobson, P. J. Chan // Journal of Assisted Reproduction and Genetics. – 2006. – Vol. 23. – № 6. – P. 255-259.

72. Skoczynski, M. Prevalence of human papillomavirus in spontaneously aborted products of conception: HPV in spontaneously aborted products / M. Skoczyński, A. Goździcka-Józefiak, A. Kwaśniewska // Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica. – 2011. – Vol. 90. – № 12. – P. 1402-1405.

73. Niyibizi, J. Association Between Maternal Human Papillomavirus Infection and Adverse Pregnancy Outcomes: Systematic Review and Meta-Analysis / J.

Niyibizi, N. Zanré, M.-H. Mayrand, H. Trottier // The Journal of Infectious Diseases. – 2020. – Vol. 221. – № 12. – P. 1925-1937.

74. Hong L. J. HPV-16 exposed mouse embryos: a potential model for pregnancy wastage / L. J. Hong, B. T. Oshiro, P. J. Chan // Archives of Gynecology and Obstetrics. – 2013. – Vol. 287. – № 6. – P. 1093-1097.

75. Bennani, B. Correlates of HPV: a cross-sectional study in women with normal cytology in north-central Morocco / B. Bennani, S. Bennis, C. Nejjari [et al.] // The Journal of Infection in Developing Countries. – 2011. – Vol. 6. –№ 7. – P. 543-550.

76. Ticconi, C. Recurrent Miscarriage and Cervical Human Papillomavirus Infection / C. Ticconi, A. Pietropolli, G. Fabbri [et al.] // American Journal of Reproductive Immunology. – 2013. – Vol. 5. - № 3. - P. 343-346.

77. Каткова, Н. Ю. Морфологические изменения плацентарной ткани у женщин с папилломавирусной инфекцией. / Н. Ю. Каткова, Н.А. Кабатин, М. В. Чернов, О. В. Качалина // Актуальные вопросы педиатрии, перинатологии и репродуктологии. Межвузовский сборник научных работ. – 2013. - №5. – С. 255–257.

78. Koskimaa, H.-M. Human Papillomavirus Genotypes Present in the Oral Mucosa of Newborns and their Concordance with Maternal Cervical Human Papillomavirus Genotypes / H.-M. Koskimaa, T. Waterboer, M. Pawlita [et al.] // The Journal of Pediatrics. – 2012. – Vol. 160. – № 5. – P. 837-843.

79. Кустова, М.А. Персистенция вируса папилломы человека в шейке матки и в плаценте / М.А. Кустова, Е.И. Барановская, О.А. Теслова // Материалы ежегодной научно-практической конференции. - 2011. – Т.7. - С. 54–55.

80. Hahn, H.S. Distribution of maternal and infant human papillomavirus: risk factors associated with vertical transmission / H. S. Hahn, M. K. Kee, H. J. Kim [et al.] // European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology. – 2013. – Vol. 169. – № 2. – P. 202-206.

81. Ambuhl, L.M. Human Papillomavirus Infection as a Possible Cause of Spontaneous Abortion and Spontaneous Preterm Delivery / L. M. M. Ambühl, U.

Baandrup, K. Dybkær [et al.] // Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology. – 2016. – Vol. 2016. – P. 1-19.

82. Muscianisi, F. Is HPV the Novel Target in Male Idiopathic Infertility? A Systematic Review of the Literature / F. Muscianisi, L. De Toni, G. Giorato [et al.] // Frontiers in Endocrinology. – 2021. – Vol. 12. – P. 43-53.

83. Jaworek, H. Impact of human papillomavirus infection on semen parameters and reproductive outcomes / H. Jaworek, V. Koudelakova, I. Oborna [et al.] // Reproductive Biology and Endocrinology. – 2021. – Vol. 19. – № 1. – P. 156.

84. Foresta, C. HPV-DNA sperm infection and infertility: from a systematic literature review to a possible clinical management proposal / C. Foresta, M. Noventa, L. De Toni [et al.] // Andrology. – 2015. – Vol. 3. – № 2. – P. 163-173.

85. Abalos, A. T. Human Papillomavirus Type Distribution Among Heterosexual Couples / A. T. Abalos, R. B. Harris, A. G. Nyitray [et al.] // Journal of Lower Genital Tract Disease. – 2012. – Vol. 16. – № 1. – P. 10-15.

86. de L. Rocha, M. G. Prevalence of DNA-HPV in Male Sexual Partners of HPV-Infected Women and Concordance of Viral Types in Infected Couples / M. G. de L. Rocha, F. L. Faria, L. Gonçalves [et al.] // PLoS ONE. – 2012. – Vol. 7. – № 7. – P. 40-48.

87. Eleftheriadou, A. Frozen Blastocyst Embryo Transfer: Comparison of Protocols and Factors Influencing Outcome / A. Eleftheriadou, A. Francis, M. Wilcox, K. Jayaprakasan // Journal of Clinical Medicine. – 2022. – Vol. 11. – № 3. – P. 737.

88. Foresta, C. Mechanism of Human Papillomavirus Binding to Human Spermatozoa and Fertilizing Ability of Infected Spermatozoa / C. Foresta, C. Patassini, A. Bertoldo [et al.] // PLoS ONE. – 2011. – Vol. 6. – № 3. – P. 15-36.

89. Weyn, C. Regulation of human papillomavirus type 16 early gene expression in trophoblastic and cervical cells / C. Weyn, J.-M. Vanderwinden, J. Rasschaert [et al.] // Virology. – 2011. – Vol. 412. – № 1. – P. 146-155.

90. Garolla, A. The role of human papillomavirus on sperm function / A. Garolla, D. Pizzol, C. Foresta // Current Opinion in Obstetrics & Gynecology. – 2011. – Vol. 23. – № 4. – P. 232-237.

91. Yang, R. Does human papillomavirus infection do harm to in-vitro fertilization outcomes and subsequent pregnancy outcomes? / R. Yang, Y. Wang, J. Qiao [et al.] // Chinese Medical Journal. – 2013. – Vol. 126. – № 4. – P. 683-687.

92. Garolla, A. Spontaneous fertility and in vitro fertilization outcome: new evidence of human papillomavirus sperm infection / A. Garolla, B. Engl, D. Pizzol [et al.] // Fertility and Sterility. – 2016. – Vol. 105. – № 1. – P. 65-72.

93. Forinash, A. B. Safety of the HPV Bivalent and Quadrivalent Vaccines during Pregnancy / A. B. Forinash, A. M. Yancey, J. M. Pitlick, T. D. Myles // Annals of Pharmacotherapy. – 2011. – Vol. 45. – № 2. – P. 258-262.

94. Çağlar, G. S. The implications of male human papilloma virus infection in couples seeking assisted reproduction technologies / G. S. Çağlar, N. Garrido // Journal of the Turkish-German Gynecological Association. – 2018. – Vol. 19. – № 1. – P. 48-52.

95. Depuydt, C. E. Human Papillomavirus Positivity in Women Undergoing Intrauterine Insemination Has a Negative Effect on Pregnancy Rates / C. E. Depuydt, L. Verstraete, M. Berth [et al.] // Gynecologic and Obstetric Investigation. – 2016. – Vol. 81. – № 1. – P. 41-46.

96. Wang, Y. Relationship of cytopathology and cervical infection to outcome of in-vitro fertilization and embryo transfer / Y. Wang, C. Wang, J. Qiao [et al.] // International Journal of Gynecology & Obstetrics. – 2008. – Vol. 101. – № 1. – P. 21-26.

97. Pereira N. A fresh(er) perspective on frozen embryo transfers / N. Pereira, Z. Rosenwaks // Fertility and Sterility. – 2016. – Vol. 106. – № 2. – P. 257-258.

98. Pereira, N. Fresh or Frozen Embryo Transfer in In Vitro Fertilization: An Update / N. Pereira, A. C. Petrini, K. L. Hancock, Z. Rosenwaks // Clinical Obstetrics & Gynecology. – 2019. – Vol. 62. – № 2. – P. 293-299.

99. Thoma M. E. Prevalence of infertility in the United States as estimated by the current duration approach and a traditional constructed approach / M. E. Thoma, A. C. McLain, J. F. Louis [et al.] // Fertility and Sterility. – 2013. – Vol. 99. – № 5. – P. 1324-1331.

100. Maheshwari, A. Obstetric and perinatal outcomes in singleton pregnancies resulting from the transfer of blastocyst-stage versus cleavage-stage embryos generated through in vitro fertilization treatment: a systematic review and meta-analysis / A. Maheshwari, T. Kalampokas, J. Davidson, S. Bhattacharya // Fertility and Sterility. – 2013. – Vol. 100. – № 6. – P. 1615-1621.

101. Weinerman, R. Why we should transfer frozen instead of fresh embryos: the translational rationale / R. Weinerman, M. Mainigi // Fertility and Sterility. – 2014. – Vol. 102. – № 1. – P. 10-18.

102. Sciorio, R. Clinical utility of freeze-all approach in ART treatment: A mini-review / R. Sciorio, S. C. Esteves // Cryobiology. – 2020. – Vol. 92. – P. 9-14.

103. Pereira, N. Supraphysiologic estradiol is an independent predictor of low birth weight in full-term singletons born after fresh embryo transfer / N. Pereira, R. T. Elias, P. J. Christos [et al.] // Human Reproduction. – 2017. – Vol. 32. – № 7. – P. 1410-1417.

104. Zapantis, G. Premature formation of nucleolar channel systems indicates advanced endometrial maturation following controlled ovarian hyperstimulation / G. Zapantis, M. J. Szmyga, E. A. Rybak, U. T. Meier // Human Reproduction. – 2013. – Vol. 28. – № 12. – P. 3292-3300.

105. Haouzi, D. Gene expression profile of human endometrial receptivity: comparison between natural and stimulated cycles for the same patients / D. Haouzi, S. Assou, K. Mahmoud [et al.] // Human Reproduction. – 2009. – Vol. 24. – № 6. – P. 1436-1445.

106. Taher, L. The proteome, not the transcriptome, predicts that oocyte superovulation affects embryonic phenotypes in mice / L. Taher, S. Israel, H. C. A. Drexler [et al.] // Scientific Reports. – 2021. – Vol. 11. – № 1. – P. 23-31.

107. Lee, B. Function and Hormonal Regulation of GATA3 in Human First Trimester Placentation / B. Lee, L. L. Kroener, N. Xu [et al.] // Biology of Reproduction. – 2016. – Vol. 95. – № 5. – P. 113-113.

108. Lv, P.-P. Altered thyroid hormone profile in offspring after exposure to high estradiol environment during the first trimester of pregnancy: a cross-sectional study / P.-P. Lv, Y. Meng, M. Lv [et al.] // BMC Medicine. – 2014. – Vol. 12. – № 1. – P. 240.

109. Chen, Z.-J. Fresh versus Frozen Embryos for Infertility in the Polycystic Ovary Syndrome / Z.-J. Chen, Y. Shi, Y. Sun [et al.] // New England Journal of Medicine. – 2016. – Vol. 375. – № 6. – P. 523-533.

110. Kuć, P. The dynamics of endometrial growth and the triple layer appearance in three different controlled ovarian hyperstimulation protocols and their influence on IVF outcomes / P. Kuć, A. Kuczyńska, M. Topczewska [et al.] // Gynecological Endocrinology. – 2011. – Vol. 27. – № 11. – P. 867-873.

111. Gingold, J. A. Endometrial pattern, but not endometrial thickness, affects implantation rates in euploid embryo transfers / J. A. Gingold, J. A. Lee, J. Rodriguez-Purata [et al.] // Fertility and Sterility. – 2015. – Vol. 104. – № 3. – P. 620-628.

112. Yang, Y. Correlation between HPV sperm infection and male infertility / Y. Yang, C.-W. Jia, Y.-M. Ma [et al.] // Asian Journal of Andrology. – 2013. – Vol. 15. – № 4. – P. 529-532.

113. Хуснутдинова, Т. А. Особенности диагностики и оценки клинической значимости вируса папилломы человека для репродуктивного здоровья / Т. А. Хуснутдинова, А. А. Копылова, Н. И. Тапильская, А. М. Савичева // Проблемы медицинской микологии. – 2022. – Т. 24. – № 2. – С. 147.

114. Минкина, Г. Н. Возможности вакцинопрофилактики в ликвидации рака шейки матки: достижения и перспективы / Г. Н. Минкина // Акушерство и гинекология. – 2019. – № 8. – С. 40–45.

115. Simelela, P. N. WHO global strategy to eliminate cervical cancer as a public health problem: An opportunity to make it a disease of the past / P. N. Simelela // International Journal of Gynecology & Obstetrics. – 2021. – Vol. 152. – № 1. – P. 1-3.

116. World Health Organization. Weekly epidemiological record / World Health Organization, [Электронный ресурс]. 2017. – Vol. – 92. - № 28. – P. 393–404. - URL:https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/255870/WER9228.pdf (дата обращения: 12.12.2021).

117. Crusz, S. M. Targeting HPV in gynaecological cancers – Current status, ongoing challenges and future directions / S. M. Crusz, K. El-Shakankery, R. E. Miller // Women's Health. – 2020. – Vol. 16. – P. 174550652096170.

118. Аляутдина, О.С. Текущие проблемы и будущие направления вакцинации против вируса папилломы человека / О.С. Аляутдина, В.Ю. Прилуцкая // Безопасность и риск фармакотерапии. - 2020. - Т. 8. - № 3. - С. 141-150.

119. Moreira, E. D. Safety Profile of the 9-Valent HPV Vaccine: A Combined Analysis of 7 Phase III Clinical Trials / E. D. Moreira, S. L. Block, D. Ferris [et al.] // Pediatrics. – 2016. – Vol. 138. – № 2. – P. e20154387.

120. Luxembourg, A. 9-Valent human papillomavirus vaccine: a review of the clinical development program / A. Luxembourg, E. Moeller // Expert Review of Vaccines. – 2017. – Vol. 16. – № 11. – P. 1119-1139.

121. Краснопольский, В.И. Особенности течения беременности и ее исходов у женщин, вакцинированных против папилломавирусной инфекции / В.И. Краснопольский, В.А. Петрухин, Н.В. Зароченцева [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2020. – Т. 1. – С. 146–154.

122. Pimple, S. A. Global strategies for cervical cancer prevention and screening / S. A. Pimple, G. A. Mishra. // Minerva Ginecologica. – 2019. – Vol. 71. – № 4. – P.313-320.

123. Kjaer, S.K. A 12-Year Follow-up on the Long-Term Effectiveness of the Quadrivalent Human Papillomavirus Vaccine in 4 Nordic Countries / S. K. Kjaer, M. Nygård, J. Dillner [et al.] // Clinical Infectious Diseases. – 2018. – Vol. 66. – № 3. – P. 339-345.

124. Минкина, Г. Н. Достижения и перспективы вакцинопрофилактики папилломовирусной инфекции и ассоциированных заболеваний / Г. Н. Минкина // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2020. – Т. 19. – № 2. – С. 110-118.

125. Зароченцева, Н.В. Эффективность вакцинации против ВПЧ в профилактике рецидивов цервикальных интраэпителиальных неоплазий после эксцизионных методов лечения. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии / Н.В. Зароченцева, Л.К. Джиджихия, В.Н. Набиева // Вопросы акушерства и гинекологии. – 2021. – Т. 20. – 4. – С. 38–44.

126. Shilling, H. Human papillomavirus prevalence and risk factors among Australian women 9–12 years after vaccine program introduction / H. Shilling, S. M. Garland, S. Atchison [et al.] // Vaccine. – 2021. – Vol. 39. – № 34. – P. 4856-4863.

127. Patel, C. The impact of 10 years of human papillomavirus (HPV) vaccination in Australia: what additional disease burden will a nonavalent vaccine prevent? / C. Patel, J. M. Brotherton, A. Pillsbury [et al.] // Eurosurveillance. – 2018. – Vol. 23. – № 41. – P 30-37.

128. Rosenblum H. G. Declines in Prevalence of Human Papillomavirus Vaccine-Type Infection Among Females after Introduction of Vaccine — United States, 2003–2018 / H. G. Rosenblum, R. M. Lewis, J. W. Gargano [et al.] // MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report. – 2021. – Vol. 70. – № 12. – P. 415-420.

129. McClung N. M., Declines in Vaccine-Type Human Papillomavirus Prevalence in Females Across Racial/Ethnic Groups: Data From a National Survey / N. M. McClung, R. M. Lewis, J. W. Gargano [et al.] // Journal of Adolescent Health. – 2019. – Vol. 65. – № 6. – P. 715-722.

130. Donken, R. Declining rates of cervical intraepithelial neoplasia in British Columbia, Canada: An ecological analysis on the effects of the school-based human papillomavirus vaccination program / R. Donken, D. Niekerk, J. Hamm [et al.] // International Journal of Cancer. – 2021. – Vol. 149. – № 1. – P. 191-199.

131. Vaccarella, S. Sexual Behavior, Condom Use, and Human Papillomavirus: Pooled Analysis of the IARC Human Papillomavirus Prevalence Surveys / S. Vaccarella, S. Franceschi, R. Herrero [et al.] // Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention. – 2006. – Vol. 15. – № 2. – P. 326-333.

132. Chen, H. Chlamydia trachomatis and Human Papillomavirus Infection in Women From Southern Hunan Province in China: A Large Observational Study / H. Chen, L. Luo, Y. Wen [et al.] // Frontiers in Microbiology. – 2020. – Vol. 11. – P. 827.

133. Martinelli, M. Prevalence of Chlamydia trachomatis Infection, Serovar Distribution and Co-Infections with Seven High-Risk HPV Types among Italian Women with a Recent History of Abnormal Cervical Cytology / M. Martinelli, R. Musumeci, A. Rizzo [et al.] // International Journal of Environmental Research and Public Health. – 2019. – Vol. 16. – № 18. – P. 33-54.

134. Bellaminutti, S. HPV and Chlamydia trachomatis co-detection in young asymptomatic women from high incidence area for cervical cancer / S. Bellaminutti, S. Seraceni, F. De Seta [et al.] // Journal of Medical Virology. – 2014. – Vol. 86. – № 11. – P. 1920-1925.

135. van Hamont, D. Abnormal cervical cytology in women eligible for IVF / D. van Hamont // Human Reproduction. – 2006. – Vol. 21. – № 9. – P. 2359-2363.

136. Nohr, B. High-risk human papillomavirus infection in female and subsequent risk of infertility: a population-based cohort study / B. Nohr, S. K. Kjaer, L. Soylu, A. Jensen // Fertility and Sterility. – 2019. – Vol. 111. – № 6. – P. 1236-1242.

137. El-Toukhy, T. The relationship between endometrial thickness and outcome of medicated frozen embryo replacement cycles / T. El-Toukhy, A. Coomarasamy, M. Khairy [et al.] // Fertility and Sterility. – 2008. – Vol. 89. – № 4. – P. 832-839.

138. Calinisan, J. H., HumanPapillomavirusand Blastocyst Apoptosis Cervical Cancer control, priorities and directions / J. H. Calinisan, S. R. Chan, A. King, P. J. Chan // Journal of Assisted Reproduction and Genetics. – 2002. – Vol. 19. – № 3. – P. 132-136.

139. You, H. Infection, replication, and cytopathology of human papillomavirus type 31 in trophoblasts / H. You, Y. Liu, N. Agrawal [et al.] // Virology. – 2003. – Vol. 316. – № 2. – P. 281-289.

140. Tognon, M. Investigation on Spontaneous Abortion and Human Papillomavirus Infection / M. Tognon, A. Tagliapietra, F. Magagnoli [et al.] // Vaccines. – 2020. – Vol. 8. – № 3. – P. 473.

141. Isaguliants, M. Genetic instability and anti-HPV immune response as drivers of infertility associated with HPV infection / M. Isaguliants, S. Krasnyak, O. Smirnova [et al.] // Infectious Agents and Cancer. – 2021. – Vol. 16. – № 1. – P. 29.

142. Laforenza, U. Aquaporin-Mediated Water and Hydrogen Peroxide Transport Is Involved in Normal Human Spermatozoa Functioning / U. Laforenza, G. Pellavio, A. Marchetti [et al.] // International Journal of Molecular Sciences. – 2016. – Vol. 18. – № 1. – P. 66.

143. Cruz-Gregorio, A. Cellular redox, cancer and human papillomavirus / A. Cruz-Gregorio, J. Manzo-Merino, M. Lizano // Virus Research. – 2018. – Vol. 246. – P. 35-45.

144. Broutet, N. Implementation research to accelerate scale-up of national screen and treat strategies towards the elimination of cervical cancer / N. Broutet, J. Jeronimo, S. Kumar [et al.] // Preventive Medicine. – 2022. – Vol. 155. – P. 106906.