На правах рукописи

БАШАНКАЕВА Юлия Николаевна

ВЛИЯНИЕ ПАПИЛЛОМАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ НА РЕПРОДУКТИВНЫЙ ПРОГНОЗ В ПРОГРАММАХ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

3.1.4. Акушерство и гинекология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2023 год

Работа выполнена в Государственном бюджетном учреждении здравоохранении Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии» Министерства здравоохранения Московской области.

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

Официальные оппоненты:
Минкина Галина Николаевна - доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры акушерства и гинекологии лечебного факультета;

Тапильская Наталья Игоревна - доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, ведущий научный сотрудник отделения вспомогательных репродуктивных технологий.

Ведущая организация: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «__» _____ 2023 г., в _____ часов на заседании диссертационного совета 72.1.010.01 на базе Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии» Министерства здравоохранения Московской области (101000, г. Москва, ул. Покровка, д.22-А).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте (http://moniiag.ru) Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии»» Министерства здравоохранения Московской области.

Автореферат разослан «___» _____ 2023 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук,
профессор Щукина Наталья Алексеевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности

Ежегодный рост численности бесплодных супружеских пар во всем мире предопределяет необходимость разработки новых алгоритмов лечения с помощью методов вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) (ВОЗ, 2021). За последние 15 лет, только в нашей стране, показатель снижения фертильности превысил 20% (К.В. Краснопольская, В.Е. Радзинский 2017; Т.С. Сосновская 2018). Актуальность проблемы бесплодия в России подтверждается двукратным увеличением количества циклов ВРТ за последние пять лет (95626 циклов в 2014 г и 165463 – в 2019 г) (К.Ю. Сагамонова, В.С. Корсак 2019).

Как известно, эффективность программ ВРТ, в первую очередь, зависит от качества переносимого эмбриона и имплантационного потенциала эндометрия (Э.В. Вартанян 2018). В последние несколько лет научным сообществом обсуждается негативная роль ВПЧ-инфекции на репродуктивную систему (T. Souho 2015; V. Jeršovienė 2019; H. Jaworek 2021). В недавнем межкогортном исследовании была обнаружена высокая частота персистенции вируса в эндометрии у пациенток с неудачами программы ЭКО, по сравнению с наблюдениями удачного эмбриотрансфера (35% против 6,7% соответственно) (Т.А. Хуснутдинова, Н.И. Тапильская 2022).

Помимо этого, были представлены данные об отрицательном влиянии ВПЧ на трофобластические клетки (C.E. Condrat 2021). Системный обзор Ambuhl L. (2017) показал статистическую взаимосвязь между самопроизвольными абортами, преждевременными родами и наличием ВПЧ в шейке матки и в плаценте. В научных трудах демонстрируется корреляция между наличием папилломавирусной инфекции (ПВИ) и неблагоприятными исходами беременности: риск преждевременных родов выше в 1,5 раза, преждевременного разрыва околоплодных 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 (J.

Niyibizi 2020). В то же время, в отечественной литературе работ о влиянии ВПЧ на эффективность программ ВРТ нет.

Известно, что профилактика инфицирования ВПЧ является наиболее эффективным способом предупреждения ВПЧ-ассоциированных заболеваний и рака шейки матки (РШМ). С 2006 года во всем мире, в том числе и в нашей стране, проводится вакцинация против ВПЧ. Представлены данные, демонстрирующие снижение распространенности ВПЧ на 83% и 66% у девочек и молодых женщин (M. Drolet et al. 2019), аногенитальных кондилом на 67%, 54% и 31% в зависимости от возраста, снижение предраковых заболеваний шейки матки, вульвы и влагалища на 51% и 31%, снижение РШМ среди вакцинированных (S.K. Kjaer 2018; S.A. Pimple 2019; О.С. Аляутдина 2020; Г.Н. Минкина 2020; H. Shilling 2021; Ю.Э. Доброхотова 2021). Опубликованы работы, свидельствующие об отсутствии негативного влияния вакцинации против ВПЧ на менструальную и овариальную функцию ранее вакцинированных девочек (A.L. Naleway 2018; Н.В. Зароченцева 2021), а также на течение беременности: у ранее вакцинированных женщин угроза прерывания в I триместре наблюдалась на 11,5% реже, а угроза преждевременных родов на 15,2% реже, чем у ВПЧ-позитивных пациенток (В.И. Краснопольский, Н.В. Зароченцева 2020). В то же время, в литературе отсутствуют данные о влиянии вакцинации против ВПЧ на эффективность и исходы программ ВРТ, включая криопереносы.

В связи с вышеизложенным, изучение данного вопроса является актуальным и перспективным как с научной точки зрения, так и с практической.

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 частоту оплодотворения, процент выхода бластоцист и имплантации, а также частоту наступления беременности (ЧНБ) 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 высокого канцерогенного риска на параметры оогенеза и эмбриогенеза, состояние эндометрия, частоту имплантации, ранние репродуктивные потери у пациенток в программах ВРТ.

Так же, впервые в нашей стране, было 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.

Основываясь на полученных результатах, проведена научная оценка исходов программ ВРТ, а также выявлена прогностическая значимость изученных данных.

Теоретическая и практическая значимость работы

В результате исследования предложено проводить обследование всех пациенток на этапе подготовки к проведению программ ЭКО на наличие вируса папилломы человека высокого канцерогенного риска, что позволяет прогнозировать исходы программ ВРТ. Доказано отсутствие негативного влияния вакцинации против вируса папилломы человека квадривалентной вакциной на состояние овариального резерва, состояние эндометрия, количество и качество эмбрионов, частоту наступления беременности.

Доказано положительное влияние вакцинации против вируса папилломы человека на количество и качество эмбрионов, частоту имплантации и частоту наступления беременности в программах вспомогательных репродуктивных технологий, включая криопротоколы.

Методология и методы исследования

Настоящая работа проводилось на базе поликлинического отделения и отделения репродуктологии ГБУЗ МО МОНИИАГ (директор Петрухин В.А., доктор медицинских наук, профессор, заслуженный врач РФ).

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 нативном цикле и отдельно после криопереноса.

Положения, выносимые на защиту

1. Наличие персистирующей папилломавирусной инфекции, а также ранее проведенной иммунизации квадривалентной вакциной против вируса папилломы человека 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. У пациенток с персистирующей папилломавирусной инфекцией на 5 сутки культивирования в программах вспомогательных репродуктивных технологий снижается количество и качество эмбрионов, что приводит к уменьшению числа переносов эмбрионов (66,7% против 73,2%) и снижению частоты наступления беременности в 1,5 раза (38,6% против 53,8%) по сравнению с ВПЧ-негативными пациентками.
3. Доминирующими типами вирусов папилломы человека у пациенток с бесплодием в программах вспомогательных репродуктивных технологий являются 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 встречаются 16 тип (18,4%), 33 – 14,3%, 31 тип – 12,2% и 18 тип – 10,2%.
4. Самая низкая частота наступления беременности после проведения криопротоколов ЭКО достоверно чаще наблюдается в группе ВПЧ-позитивных женщин (33,3%) по сравнению с ВПЧ-негативными (73,9%) и ранее вакцинированными (60,7%).

5. Применение квадривалентной вакцины в анамнезе у пациенток с бесплодием в программах вспомогательных репродуктивных технологий обеспечивает достаточное количество бластоцист хорошего качества, высокий процент частоты наступления беременности на перенос эмбрионов, низкие показатели ранних репродуктивных потерь, что сопоставимо с группой ВПЧ-негативных пациенток.

Личный вклад автора в проведенное исследование

Автор непосредственно участвовала в выборе научного исследования, разработке цели и задач исследования, сборе материала, проведении и интерпретации результатов, анализе, обобщении и 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 ПЭ. Также автором проведено комплексное обследование 100 пациенток с бесплодием, обратившихся в поликлиническое и отделение репродуктологии ГБУЗ МО МОНИИАГ, на этапе вступления в программу ЭКО. Автором лично создана и заполнена единая база данных, выполнена статистическая обработка полученных результатов. На основании статистического анализа сформулированы основные выводы и практические рекомендации.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Обследование достаточного количества пациенток (n=179), включенных в исследование, применение современных методов диагностики, соответствующих цели и задачам исследования, подтверждает достоверность результатов исследования. Анализ полученных результатов проведен с применением современных адекватных статистических методов обработки. Выводы и практические рекомендации, вытекающие из результатов исследования, 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). Статистически значимыми считались различия, начиная от $p<0,05$ при парных сравнениях и $p=0,017$ при множественных сравнениях (согласно поправке Бонферрони).

Публикация результатов

Материалы диссертации были изложены в 5 опубликованных работах, которые входят в перечень рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных ВАК при Минобрнауки РФ.

Структура и объем диссертации

Диссертация написана на русском языке, изложена на 142 страницах машинописного 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 на русском и 130 на английском языках.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

В исследовании приняли участие 179 женщин в возрасте от 25 до 35 лет. Средний возраст пациенток составил 31,9±2,7 год.

Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

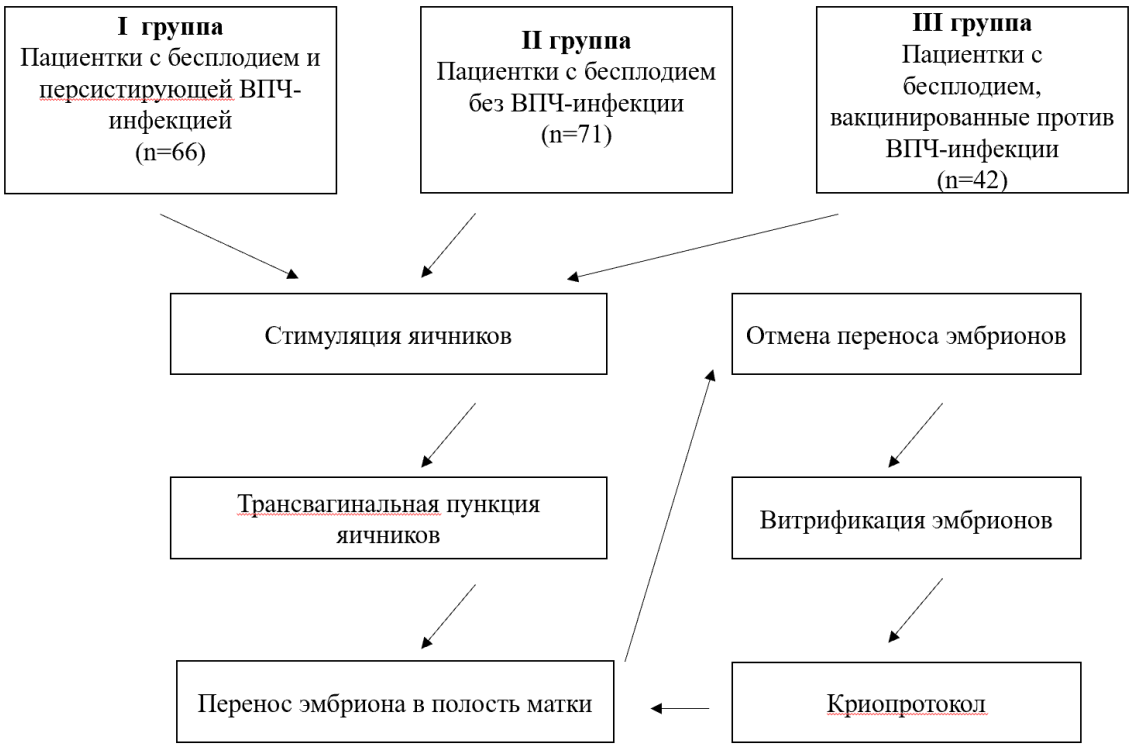

Рисунок 1. Распределение обследованных пациенток по клиническим группам.

Критерии включения в исследование: возраст от 18 до 35 лет; наличие первичного или вторичного бесплодия; нормальный овариальный резерв (уровень ФСГ на 2-3 день цикла ≤ 10 МЕ/л; АМГ (антимюллеров гормон) не менее 1,2 нг/мл; по данным УЗИ органов малого таза – не менее 5 антральных фолликулов суммарно в обоих яичниках); отсутствие врожденных аномалий развития органов малого таза; подписанное информированное согласие на включение в исследование.

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

Всем пациенткам, включенным в данное исследование, было проведено клинико-лабораторное обследование при первичном обращении по поводу бесплодия в соответствии с приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации № 107н и № 803н.

Помимо клинико-анамнестического метода, применялся гинекологический осмотр, включавший бимануальное исследование, а также осмотр шейки матки в зеркалах и расширенная кольпоскопия с использованием кольпоскопа «Leisegang» (Германия) при увеличении в 15 раз (интерпретация согласно международной терминологии IFCPC). Цитологическое исследование мазков с помощью специального цервикального зонда «Rovers Cervex-Brush» с двойным экзо- и эндоцервикальным наконечником проводилось методом жидкостной цитологии (классификация Terminology Bethesda System). Также было проведено расширенное ВПЧ-генотипирование с определением вирусной нагрузки методом ПЦР в реальном времени с использованием набора реагентов «АмплиСенс® ВПЧ ВКР скрин-титр-FL», ООО «Компания Хеликон», РФ. Исследовали концентрации гормонов в плазме крови (ФСГ, ЛГ, Е2, пролактин, прогестерон, ТТГ, $Т_{4св}$, АМГ). Диагностика инфекционных заболеваний осуществлялась методом ПЦР в реальном времени (амплификатор «DT-prime»), также проводилось микробиологическое исследование отделяемого влагалища и цервикального канала. Ультразвуковое исследование органов малого таза было выполнено на ультразвуковом аппарате – «Medison Accuvix V20» посредством трансвагинального датчика, с частотой от 4 до 8 МГц.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЯ

Сравнение пациенток всех трех групп по критериям клинико-анамнестических характеристик показало, что по всем показателям они были сопоставимы. Так, средний возраст пациенток I группы составил 32,03±2,7 лет, II группы - 32,28±2,29 лет, III группы - 31,17±3,0 лет.

Средний возраст сексуального дебюта: у пациенток I группы с персистирующей папилломавирусной инфекцией отмечено более раннее начало половой жизни, по сравнению с ВПЧ-негативными женщинами II и III групп (рис. 2).

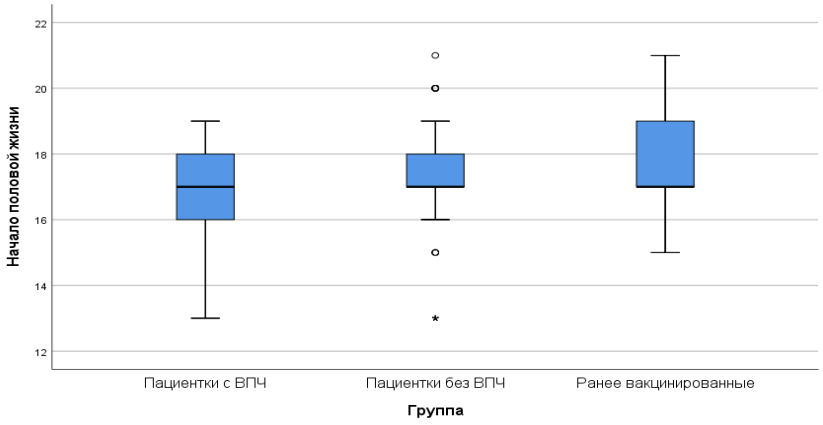

Рисунок 2. Возраст коитархе в сравниваемых группах.

Также был проведен корреляционный анализ по методу Спирмена для выявления взаимосвязи между показателем ВПЧ и началом половой жизни. В результате выявлена отрицательная обратная связь (r = -0,215, p = 0,003), что подтверждает, – более раннее коитархе коррелирует с большей инфицированностью ВПЧ.

Анализ причин бесплодия во всех группах продемонстрировал преобладание трубно-перитонеального фактора (52,5%). Мужской фактор (за исключением аспермии/азооспермии) составил – 19,5%. Доля сочетанного фактора и бесплодия неясной этиологии – по 10% (рис.3).

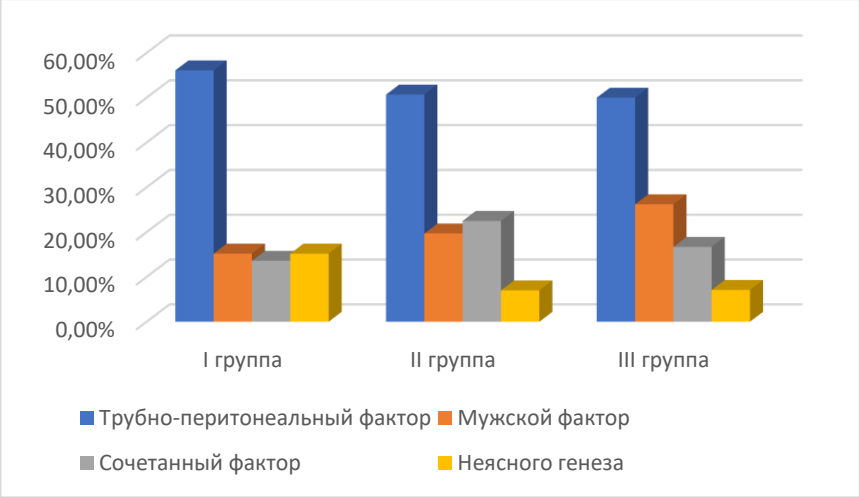

Рисунок 3. Причины бесплодия в сравниваемых группах

Необходимо отметить, что доля бесплодия неясного генеза в группе ВПЧ-позитивных пациенток была в 2,2 раза выше, по сравнению с группами ВПЧ-негативных и ранее вакцинированных женщин (15,2%, 7% и 7,1%

соответственно). Мужской фактор бесплодия диагностировался в 1,7 раз чаще в группе ранее вакцинированных женщин, по сравнению с ВПЧ-позитивными пациентками.

ВПЧ-позитивные женщины, по сравнению с ВПЧ-негативными, в анамнезе в 6,5 раз чаще (p=0,022) лечились по поводу хламидийной инфекции. Перед проведением программы ЭКО всем пациенткам с нарушениями микрофлоры влагалища проводилось лечение, с учетом возбудителя и чувствительности к антибактериальным препаратам. Проведение программы ЭКО осуществлялось после достижения нормальных показателей биоценоза влагалища.

До включения в программы ВРТ цервикальные интраэпителиальные поражения (CIN) шейки матки были диагностированы только в I и во II группах. В I группе негативный в отношении интраэпителиальных поражений и злокачественности материал (NILM) определялся у 71,2% пациенток (n=47). У трети пациенток I группы 28,8% (n=19) определялись CIN различной степени тяжести: CIN I – у 19,7% (n=13), CIN II – у 4,5% (n=3) и CIN III – у 4,5% (n=3). У 84,5% (n=60) пациенток II группы цитологический мазок соответствовал NILM, у 15,5% (n=11) – выявлены поражения легкой степени (CIN I), поражения более тяжелой степени (CIN II/III) не отмечены.

По результатам проведенного ВПЧ-генотипирования с определением вирусной нагрузки, было выявлено, что наиболее распространенными вирусами в I группе оказались 16 (34,8%), 33 (19,7%), 31 (16,7%) и 18 (12,1%) типы. Продолжительность персистенции ВПЧ-инфекции у пациенток данной группы варьировалась от 1 до 4 лет – Me 1 (1;3) (рис.4).

Всем пациенткам с верифицированными внутриэпителиальными поражениями до вступления в программы ЭКО согласно клиническим рекомендациям было проведено лечение шейки матки: эксцизия, конизация, коагуляция.

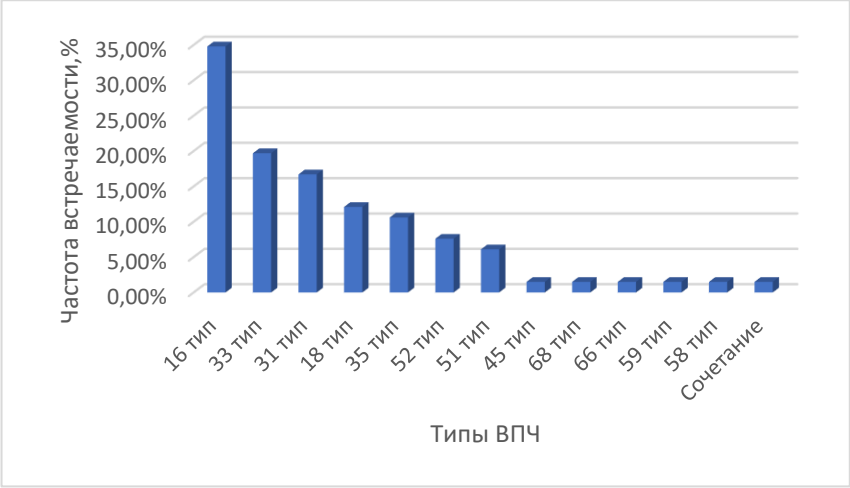

Рисунок 4. Частота встречаемости типов ВПЧ в I группе

Результаты обследования гормонального статуса пациенток не определили различий показателей базовых гормонов перед вступлением в программы ВРТ между ВПЧ-позитивными, ВПЧ-негативными и ранее вакцинированными пациентками (табл. 1).

Таблица 1. Результаты обследования гормонального статуса пациенток

Показатель	**Нормативные величины**	**I группа, (n=66)**	**II группа, (n=71)**	**III группа, (n=42)**	**P**
ФСГ,МЕ/л*	3,0 – 10,0	6,7±2,1	6,7±2,3	6,3±1,4	0,564
ЛГ, МЕ/л*	3,0 – 8,0	5,4±2,5	5,1±2,7	4,9± 2,2	0,166
АМГ, нг/л**	1,2 – 4,5	3,1 (2,1;4,9)	4,3 (1,8;5,0)	3,5 (2,1;4,8)	0,766
E_2, пмоль/л*	150 - 450	296,7±80,9	280,4±76,3	265,7±73,9	0,305
Прогестерон нмоль/л**	16 - 95	33 (28,0;48,3)	38 (29;55)	40,0 (30,7;49,2)	0,487
T_4св, пмоль/л*	10,8 - 22,0	15,7±3,7	15,5±3,5	15,7±3,7	0,692
ТТГ, мМЕ/л*	1,0 – 3,0	1,9±3,6	2,0±0,6	2,5±0,5	0,497

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

Таким образом, наше исследование подтвердило, что проведенная вакцинация против ВПЧ не оказало негативного влияния на уровни гонадотропных, тиреотропного и половых гормонов, уровень АМГ и овариальную функцию яичников, что согласуется с данными мировой

литературы (S.D. Spandorfer 2006; A.L. Naleway 2018; M. Demir 2020, Z. Yousefi 2022).

Результаты комплексного обследования женщин в программах ВРТ

Всего в исследовании проведен 251 цикл ВРТ, включавший 147 циклов ЭКО (82,1%), 32 цикла ИКСИ (17,9%) и 72 криопротокола (28,7%).

Стимуляцию яичников в контролируемых циклах ЭКО выполняли с использованием длинного протокола с назначением агонистов ГнРГ. По применяемому индуктору исследуемые группы статистически достоверно между собой не различались (p=0,467).

В качестве индуктора во всех группах чаще всего применяли рекомбинантные ГТ. Их использовали у 40 (60,6%) пациенток I группы, у 50 (70,4%) – II группы и 29 (69,0%) - III группы. Реже применяли мочевые ГТ – у 19 (28,8%) пациенток I группы, у 16 (22,5%) – II группы и у 11 (26,2%) – III группы, еще реже – сочетанные 7 (10,6%), 5 (7,0%) и 2 (4,8%) пациенток I, II и III групп соответственно.

По количеству дней стимуляции группы оказались также сопоставимы (p=0,178), в среднем, продолжительность стимуляции составила 11,76±2,3 дней у пациенток I группы, 11,37±2,8 дней – у II и 12±1,8 дней – у III группы.

Следует отметить, что наличие ВПЧ, а также проведенная в анамнезе вакцинация не повлияли на толщину эндометрия к моменту переноса: в I группе м-эхо составило 9,7±2,0 мм, в группе ВПЧ-негативных пациенток – 9,9±1,7 мм и в группе ранее вакцинированных пациенток – 9,7±1,5 мм (p=0,505).

Далее, нами была проведена сравнительная оценка параметров оогенеза в исследуемых группах: суммарное число антральных фолликулов, среднее число доминантных фолликулов, количество аспирированных ооцитов и число полученных пронуклеусов в группах пациенток достоверно не различались (табл.2).

Таблица 2. Сравнительная оценка оогенеза и эмбриогенеза в изучаемых группах.

Наименование переменной	**I группа, (n=66)**	**II группа, (n=71)**	**III группа, (n=42)**	**p**
Суммарное число антральных фолликулов*	16,7±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)	0,336 **0,03**
Количество эмбрионов на 5 сутки**	2 (0,75;4,0)	2 (1,0;5,0)	5,0 (2,0;7,0)	0,218 **0,001**
Доля эмбрионов на 5 сутки от 2pn, %**	33,3 (5,4;60,0)	44,4 (14,2;70,0)	68,3 (42,3;100,0)	0,161 **0,001**
Количество эмбрионов хорошего качества на 5 сутки**	1 (0;3)	2 (1;4)	4,0 (1,75;5,0)	**0,059** **0,001**
Доля эмбрионов хорошего качества на 5 сутки, %**	55 (0;100)	80 (28,5;100)	80 (44;100)	**0,050**

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

При анализе начальных стадий эмбриогенеза было выявлено, что в группе ВПЧ-позитивных пациенток доля правильно оплодотворенных яйцеклеток составила 55,9 (38,3;69,4), что в 1,2 раза ниже, чем в группе ВПЧ-негативных 62,5 (42,8;70), и в 1,3 раза ниже, чем в группе ранее вакцинированных женщин 6,5 (56,2;75,0), p=0,03. Также были выявлены различия по количеству эмбрионов на 5 сутки развития. В группе ранее вакцинированных женщин количество эмбрионов было самым высоким - в 2,5 раза выше, по сравнению с I и со II группами 5,0 (2,0;7,0), p=0,001.

При сравнении бластоцист хорошего качества в исследуемых группах было установлено, что у женщин без ВПЧ-инфекции количество эмбрионов хорошего качества было в 2 раза больше 2 (1;4), чем у ВПЧ-позитивных пациенток 1 (0;3), p=0,059, а у ранее вакцинированных женщин – в 4 раза больше 4,0 (1,75;5,0), чем у ВПЧ-позитивных пациенток (p=0,001).

Дополнительно был проведен анализ причин отмены переноса эмбрионов. Среди основных можно выделить: низкое качество полученных эмбрионов, плохое самочувствие женщины (подозрение на ОРВИ), подозрение на патологию эндометрия, желание женщины проведения преимплантационной генетической диагностики (ПГД), риск развития СГЯ.

У пациенток с ВПЧ-инфекцией отмена проведения программ по причине получения эмбрионов плохого качества происходила в 2 раза чаще (40,9%), чем у пациенток без папилломавирусной инфекции (18,8%) и в 3,2 раза чаще, чем у ранее вакцинированных (12,5%), p=0,05. По остальным причинам отмены переноса эмбрионов достоверных различий не выявлено.

Таблица 3. Сравнительный анализ результатов программ ВРТ в изучаемых группах, n (%)

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}=0,08 **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**

В группе ВПЧ-позитивных пациенток частота диагностики положительного ХГЧ наблюдалась в 1,4 раза реже (40,9%) по сравнению с группой ВПЧ-негативных пациенток (57,7%), p=0,08 и в 1,6 раз реже по сравнению с группой ранее вакцинированных женщин (64,3%), p=0,05. Эффективность протокола ЭКО оценивали по частоте наступления клинической беременности (визуализация плодного яйца в полости матки при

УЗИ) на число переносов эмбрионов. Было продемонстрировано, что ЧНБ на ПЭ достоверно ниже у женщин с ВПЧ инфекцией (38,6%), как по сравнению с пациентками без ВПЧ инфекции (53,8%), p = 0,052, так и по сравнению с группой ранее вакцинированных пациенток (60,7%), p = 0,04 (табл. 3).

Результаты нашего исследования согласуются с рядом работ зарубежных ученых. Так, в опубликованных данных Spandorfer et al. (2006) показано, что ЧНБ в группе ВПЧ-негативных женщин достоверно выше по сравнению с ВПЧ-позитивной – 76,5% против 57% (p<0,02). Аналогичные данные представлены в работе Perino A. (2011), где частота неудачных попыток ЭКО у ВПЧ инфицированных женщин составила 40%, по сравнению с 13,5% у неинфицированных (p<0,05). При этом мы не нашли в литературных источниках работ по изучению воздействия отдельных типов ВПЧ на результаты программ ВРТ. Поэтому нами также проведен анализ влияния типа ВПЧ на показатели фолликулогенеза и эмбриогенеза, а также исходы программ ЭКО отдельно для пациенток с различными типами ВПЧ.

Хотя наиболее высокие показатели оплодотворения зафиксированы у пациенток с 52 типом ВПЧ (71,2%), из-за низких показателей выхода бластоцист (15,4%) у половины пациенток была отмена переноса по причине эмбрионов плохого качества; беременность у женщин данной подгруппы не наступила ни в одном из наблюдений.

У пациенток позитивных в отношении 33 и 18 типов ВПЧ, также отмечались высокие показатели оплодотворения и выхода бластоцист, составив 58,3% и 45,2% соответственно. Показатели ЧНБ на перенос эмбрионов у женщин в этих подгруппах практически не различались: 36,4% и 37,5%. Также у этих пациенток отмечены высокие показатели доли криоконсервированных эмбрионов (75% и 61,5%).

У женщин с ВПЧ 31 типа отмечалась самая низкая доля эмбрионов хорошего качества из сравниваемых (33,3%), низкая доля выхода бластоцист (23,1%) и самая высокая доля отмены переноса эмбрионов (77%). Отмечался самый высокий процент биохимической беременности (25%), при этом самая

низкая частота наступления беременности (23,5%). Неразвивающаяся беременность наиболее часто (50%) наблюдалась в подгруппе пациенток с 35 типом ВПЧ.

Отмеченная тенденция репродуктивных исходов создает предпосылки для последующего проведения структурного анализа на больших когортах и подчеркивает патологическое влияние ВПЧ на фертильность.

Результаты комплексного обследования женщин в криопротоколах

В работе проведено 72 цикла лечения с использованием ранее замороженных бластоцист. Перенос проводился в индуцированном цикле на фоне заместительной гормональной терапии.

В группе ВПЧ-позитивных пациенток был сделан 21 криоперенос (31,8%), в группе ВПЧ-негативных пациенток – 23 переноса (32,4%), в группе ранее вакцинированных женщин – 28 (66,7%). Большое количество криопереносов в III группе объясняется высоким числом полученных эмбрионов хорошего качества. 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.

Анализ репродуктивных исходов после проведения криопротоколов показал, что самая низкая частота имплантации зафиксирована в группе ВПЧ-позитивных женщин (38,1%). По сравнению с I группой частота положительного уровня β-ХГЧ была почти в 2 раза выше во II группе (73,9%) $p=0,017$, и в 1,7 раз выше в III группе (64,3%) $p=0,058$. Частота наступления беременности на перенос эмбрионов была в 2,2 раза выше у пациенток II группы (73,9%) относительно группы ВПЧ-позитивных пациенток (33,3%), $p=0,007$, и в 1,7 раз выше в III группе (60,7%), по сравнению с инфицированными пациентками первой группы, $p=0,05$. (табл. 4).

Таблица 4. 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} = 0,058**
ЧНБ на перенос эмбрионов	7 (33,3%)	17 (73,9%)	17 (60,7%)	**p_{1-2} = 0,007** **p_{1-3} = 0,05**

Таким образом, самая низкая частота наступления беременности после проведения криопротоколов ЭКО, в нашей работе, наблюдалась в группе ВПЧ-позитивных женщин (33,3%) по сравнению с ВПЧ-негативными (73,9%) и ранее вакцинированными пациентками (60,7%); $p<0,05$. В литературных источниках нет исследований, изучающих влияние ВПЧ инфекции на репродукцию в условиях криопротокола, но в целом негативное влияние ВПЧ на репродукцию подтверждается в ряде работ. По данным Gomez et al. (2008) при проведении программ ВРТ у женщин с персистенцией ВПЧ, частота наступления беременности была достоверно ниже, чем у женщин без вируса (57 % против 23,5%).

На основании полученных данных наблюдения нами была построена прогностическая логистическая регрессионная модель, включающая пять статистически значимых предикторов. Предикторами, снижающими вероятность положительного результата, явились 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). Три предиктора повышали вероятность успешного эмбриотрансфера: наличие родов в

анамнезе (ОШ=3,364, ДИ95% [1,257-9,005], p=0,016), процент образования бластоцист из правильно оплодотворенных ооцитов (2pn), (ОШ=1,010, ДИ95% [1,001-1,021], p=0,043) и доля бластоцист хорошего качества, % (ОШ=1,013, ДИ95% [1,003-1,022], p=0,008).

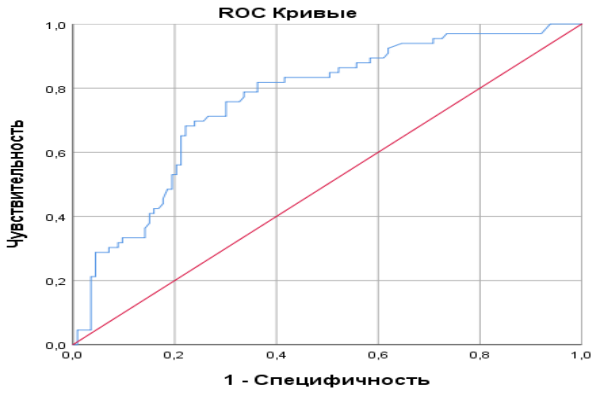

Рисунок 5. ROC-кривая прогнозирования положительного результата после проведения переноса эмбрионов

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).

Также была построена прогностическая логистическая регрессионная модель для проведения криопереноса эмбрионов. Установлены предикторы, снижающие вероятность положительного результата: наличие у женщины ВПЧ (ОШ=0,314, ДИ 95% [0,121-0,614], p=0,017) и лечение заболеваний шейки матки (ОШ=0,798, ДИ 95% [0,674-0,944], p=0,009).

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 криопротоколах.

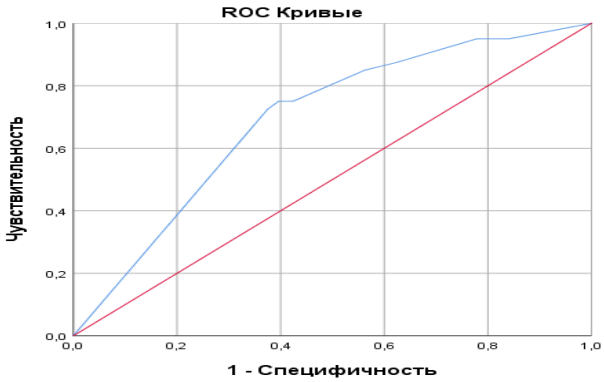

Рисунок 6. ROC-кривая прогнозирования положительного результата после проведения криопереноса эмбрионов

Анализ частоты ранних репродуктивных потерь показал, что неразвивающаяся беременность в нативном цикле в 2 раза чаще встречалась в группе ВПЧ-позитивных пациенток по сравнению с группой ВПЧ-негативных пациенток (3% и 1,4%). В условиях проведения криопротоколов неразвивающаяся беременность зафиксирована только в группе ВПЧ-позитивных пациенток, а в группах ВПЧ-иммунизированных и негативных в отношении ПВИ пациенток не отмечена.

Биохимическая беременность в нативном цикле диагностировалась во всех группах (1,5%, 2,8% и 4,8% соответственно). В криопротоколе биохимическая беременность наблюдалась у одной пациентки в ВПЧ-позитивной группе и у одной – в группе ранее вакцинированных пациенток, в группе ВПЧ-негативных пациенток биохимическая беременность не диагностировалась. В целом, нами была прослежена тенденция к увеличению частоты репродуктивных потерь в ВПЧ-позитивной группе.

Таким образом, у пациенток с персистирующей папилломавирусной инфекцией на 5 сутки культивирования в программах вспомогательных репродуктивных технологий снижается количество и качество эмбрионов, что приводит к уменьшению числа переносов эмбрионов и снижению частоты наступления беременности. Вакцинация против папилломавирусной инфекции квадривалентной вакциной не оказывает негативного влияния на овариальную, менструальную и репродуктивную функции и в программах ВРТ обеспечивает большее количество и улучшает качество бластоцист,

повышает частоту наступления беременности и снижает репродуктивные потери.

ВЫВОДЫ

1. У пациенток, включенных в программы ВРТ, наиболее часто выявляются следующие типы ВПЧ: 16 (34,8%), 33 (19,7%), 31 (16,7%), 18 (12,1%), 35 (10,6%), 52 (7,6%), 51(6,1%), у пациенток с неудачными попытками ЭКО доминируют те же типы ВПЧ: 16 (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 переноса, количество полученных зрелых ооцитов и количество эмбрионов на 5 сутки культивирования не зависит от наличия ВПЧ у пациентки и проведения вакцинации в анамнезе.

3. У пациенток с персистирующей ВПЧ-инфекцией по сравнению с группой ВПЧ-негативных пациенток в 1,4 раза ниже процент выхода бластоцист (33,3% и 44,4%), достоверно ниже медианное значение доли бластоцист хорошего качества (на 25%), в 2 раза чаще наблюдается отмена проведения программ ВРТ по причине получения эмбрионов плохого качества (40,9% и 18,8%); достоверно ниже $ЧНБ_{ПЭ}$ (38,6% и 53,8%).

4. У пациенток, ранее вакцинированных против ВПЧ, по сравнению с ВПЧ-позитивными пациентками в 1,2 раза выше показатель оплодотворения (65%); достоверно выше процент выхода бластоцист (в 2 раза), выше медианное значение доли криоконсервированных эмбрионов 75 (0;83,3) и 0 (0;81,2) и достоверно выше частота наступления беременности (60,7% и 38,6%).

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 частота наступления беременности на перенос эмбриона 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 частота наступления беременности на перенос эмбриона в 1,8 раз ниже (33,3% и 60,7%), $p = 0,05$, чем в группе ранее вакцинированных.

6. В группе ВПЧ-позитивных пациенток наблюдается самая высокая частота репродуктивных потерь: в нативных циклах неразвивающаяся беременность диагностировалась в 2 раза чаще, чем в группе ВПЧ-негативных пациенток и в 1,3 раза чаще, чем в группе ранее вакцинированных женщин, в криопротоколах неразвивающаяся беременность встретилась только в группе ВПЧ-позитивных пациенток.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ:

1. Перед проведением программ ВРТ необходимо проводить обследование пациенток на наличие вируса папилломы человека высокого канцерогенного риска с определением вирусной нагрузки методом ПЦР в реальном времени, 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 сутки, повышает частоту наступления беременности на перенос эмбриона в циклах ВРТ, включая криопротоколы. Вакцины рекомендованы к применению в возрасте от 9 до 45 лет, наибольший эффект достигается при их применении до полового дебюта.

3. Предикторами, снижающими вероятность положительного результата после проведения переноса эмбрионов, является наличие у женщины ВПЧ и суммарное число антральных фолликулов.

4. Предикторами, повышающими вероятность положительного результата при переносе эмбриона, являются наличие родов в анамнезе, процент образования бластоцист из правильно оплодотворенных ооцитов, доля эмбрионов хорошего качества на 5 сутки, наличие вакцинации в анамнезе, отсутствие ВПЧ.

5. Предикторами, снижающими вероятность положительного результата после криопереноса эмбрионов, являются наличие у женщины ВПЧ и

заболевания шейки матки и их лечение в анамнезе (конизация, эксцизия, коагуляция).

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Краснопольский В.И., Зароченцева Н.В., Краснопольская К.В., **Башанкаева Ю.Н.,** Кузьмичева В.С. Папилломавирусная инфекция и репродукция // Вестник Российской академии медицинских наук, Педиатръ. - 2020. – Т. 75. - №3. - С 189-195 (**перечень ВАК РФ, Scopus**).

2. Зароченцева Н.В., Баранов И.И., Костинов М.П., **Башанкаева Ю.Н.** Иммунизация женщины в разные возрастные периоды // Доктор Ру. 2021. – Т. 20. - №8. – С. 70-78 (**перечень ВАК РФ**).

3. Зароченцева Н.В., Краснопольская К.В., Исакова К.М., **Башанкаева Ю.Н.** Эффективность программы экстракорпорального оплодотворения при бесплодии у пациенток с вирусом папилломы человека // Проблемы репродукции. - 2021. – Т. 27. - №4. - С108-116 (**перечень ВАК РФ**).

4. **Башанкаева Ю.Н.,** Зароченцева Н.В., Краснопольская К.В., Исакова К.М. Эффективность переноса эмбрионов у пациенток с ВПЧ-инфекцией в криопротоколах экстракорпорального оплодотворения // Тезисы XXII Всероссийский научно-образовательный форум «Мать и Дитя». Москва, 29.09 – 01.10.2021.

5. **Башанкаева Ю.Н.,** Зароченцева Н.В., Краснопольская К.В., Исакова К.М. Эффективность переносов эмбрионов у пациенток в крио протоколах экстракорпорального оплодотворения // Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение. – 2022. - Том 10. - № 2 (36). – С. 23-30 (**перечень ВАК РФ**).