

**ИСАКОВА КАМИЛА МУСЛИМОВНА**

**ОСОБЕННОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДОВ ВСПОМОГАТЕЛЬНОЙ  
РЕПРОДУКЦИИ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ БОЛЬНЫХ**

**14.01.01 –Акушерство и гинекология**

**Автореферат**

**диссертации на соискание ученой степени**

**кандидата медицинских наук**

**Москва – 2017 г.**

Работа выполнена в отделении репродуктологии Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии» Министерства здравоохранения Московской области

### **Научные руководители**

доктор медицинских наук, профессор **Назаренко Татьяна Алексеевна**  
доктор медицинских наук, профессор **Сундуков Александр Вадимович.**

### **Официальные оппоненты:**

**Калинина Елена Анатольевна** – доктор медицинских наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, отделение вспомогательных технологий в лечении бесплодия имени профессора Б.В. Леонова, заведующая.

**Беляева Наталия Михайловна** – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного последипломного образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра инфекционных болезней, заведующая.

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта».

Защита диссертации состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2018 года в \_\_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета Д 208.048.01 при Государственном бюджетном учреждении здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии» Минздрава Московской области (101000, Москва, ул. Покровка, д. 22А)

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» Минздрава Московской области.

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2017 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
доктор медицинских наук, профессор

Зайдиева Янсият Зайдилаевна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

С момента обнаружения вируса иммунодефицита в 1982 г., ВИЧ-инфицированные больные зарегистрированы практически во всех странах земного шара (Parham G. P., Sahasrabudde V.V., Mwanahamuntu M. H., 2006). Накопленный клинический опыт и фундаментальные медицинские исследования значительно изменили течение заболевания. Если раньше больные СПИДом не имели шанса излечиться, то в настоящее время ВИЧ является хроническим, длительно текущим, управляемым заболеванием. Это произошло вследствие изучения самого вируса иммунодефицита и, особенно, разработки и внедрения в клиническую практику антиретровирусной терапии (АРТ) (Pavia C., Navarra A., Pisani G., 2006). То, что произошло дальше, осталось неповторимым феноменом в медицине: в течение нескольких лет после открытия заболевания из заведомо смертельного, оно превратилось в состояние, которое эффективно поддается длительной терапии. Именно антиретровирусная терапия позволила перевести ВИЧ инфекцию в управляемую хроническую патологию (Pirota M., Fethers K. A., Bradshaw C. S., 2009). И хотя сегодня мы не можем говорить об излечении ВИЧ, активная работа ученых в области совершенствования диагностических тестов и лекарственных средств, упорный труд над созданием вакцины против ВИЧ, внушает обоснованный оптимизм в том, что ВИЧ инфекция будет побеждена. Уже сейчас ВИЧ инфицированные люди живут, работают и являются, в достаточной степени, социально адаптированными. Последние исследования показали изменения социального и гендерного состава инфицированных граждан, возрастает число инфицированных женщин, инфекция диагностируется не только среди маргинальных, но и вполне благополучных групп населения, среди впервые инфицированных возрастает число лиц старшего возраста, нарастает гетеросексуальный путь передачи инфекции (Ibrahim F. W., Schembri G., Taha H., 2009).

Произошедшие изменения поставили перед медициной новые задачи, это качественная медицинская помощь, способная сохранить здоровье и обеспечить полноценную жизнь инфицированным гражданам. В этом контексте наиболее важным аспектом является реабилитация репродуктивной функции ВИЧ инфицированных пациентов, предотвращение инфицирования партнера и рождение здоровых детей. Такая возможность существует при правильном наблюдении за ВИЧ-инфицированными пациентками, применении антиретровирусной терапии и адекватных пособиях для

достижения беременности (Hoffmann C., Mulcahy F. Rockstroh, B. Kamps, 2006). Известно, что ВИЧ инфицированные дискордантные и, часто, конкордантные пары предохраняются от беременности, боясь инфицировать партнера или контаминации вируса, т.е. они вынужденно бесплодны, что, несомненно, сказывается на качестве жизни, а решение проблемы реабилитации репродуктивной функции инфицированных больных является актуальной проблемой медицины (Hilber A. M., Chersich M. F., van de Wijgert J. H., 2007). Многие аспекты этой проблемы не решены, а именно, влияет ли ВИЧ инфекция или антиретровирусная терапия на репродуктивную функцию человека, качество женских и мужских гамет, частоту наступления беременности. И, наконец, отличается ли частота встречаемости и структура факторов бесплодия в специфической группе от популяционных данных.

Известно, что методы вспомогательной репродукции могут обеспечить преодоление как вынужденного бесплодия, так и фактического у этой группы населения. Практически во всех развитых странах, в том числе и в РФ, сформированы Национальные руководства, регламентирующие использование вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) у ВИЧ-инфицированных (приказ МЗ РФ №107н от 2012 г.). Тем не менее, хотя законодательный акт существует, в нашей стране до настоящего времени не проведены исследования и нет клинического опыта, который позволил бы эффективно и безопасно использовать программы экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) для реабилитации репродуктивной функции инфицированных пациентов. Это, несомненно, создает определенные трудности в практической работе и мешает эффективному проведению лечебных мероприятий.

Медико-социальная значимость ВИЧ-инфекции и немногочисленность исследований, посвященных этой проблеме, послужили основанием для проведения настоящей работы.

### **Степень разработанности темы исследования**

Проблема реализации репродуктивной функции у ВИЧ-инфицированных пар является актуальной во всех странах мира. Несмотря на интерес и достаточное количество зарубежных работ, посвящённых этой проблеме многие вопросы остаются неясными, а именно: показания для проведения ЭКО; отбор пациентов; до сих пор обсуждается вопрос использования метода внутриматочной инсеминации в серодискордантных парах, когда инфицирован один из партнеров; необходимость очистки спермы ВИЧ-инфицированного мужчины методом двойного центрифугирования и ее

тестирования на наличие РНК и ДНК ВИЧ при благоприятном инфекционном статусе пациента. Также разнятся мнения об эффективности программ ЭКО, когда инфицирована женщина или мужчина. Неясным является влияние антиретровирусной терапии на качество ооцитов и сперматозоидов. Отсутствие научно обоснованных рекомендаций по использованию методов вспомогательной репродукции для реализации репродуктивной функции у ВИЧ-инфицированных пар обусловило написание данной диссертации.

**Цель исследования:** разработать принципы использования методов вспомогательной репродукции для достижения беременности у ВИЧ-инфицированных пациентов.

**Задачи исследования:**

1. Оценить социальные и инфекционные характеристики ВИЧ-инфицированных пациентов
2. Выделить и охарактеризовать группы больных в зависимости от инфицирования партнера в супружеских парах
3. Разработать тактику работы отделения ЭКО при проведении лечения ВИЧ-инфицированных пациентов.
4. Исследовать состояние гинекологического здоровья, репродуктивный анамнез и параметры овариального резерва ВИЧ-инфицированных женщин, провести спермиологическое и инфекционное исследование спермы инфицированных мужчин.
5. Провести сравнительный анализ показателей фолликуло-эмбриогенеза при стимуляции яичников в программах ЭКО в зависимости от инфицирования партнеров
6. Оценить эффективность лечения бесплодия методом ЭКО в зависимости от наличия ВИЧ-инфекции у партнеров
7. Разработать тактику реализации репродуктивной функции методом ЭКО у ВИЧ-инфицированных пациентов.

**Научная новизна**

Впервые изучено состояние репродуктивной системы ВИЧ-инфицированных пациентов детородного возраста; определены показания для достижения беременности методом экстракорпорального оплодотворения (ЭКО); определены оптимальные методики проведения программ экстракорпорального оплодотворения (ЭКО); оценено качество гамет у ВИЧ-инфицированных пациентов; уточнены методики подготов-

ки и тестирования спермы у ВИЧ-инфицированных мужчин; оценена эффективность реализации репродуктивной функции методом экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) у ВИЧ-инфицированных пациентов; предложена патогенетическая концепция влияния препаратов АРТ на качество ооцитов.

### **Практическая и теоретическая значимость работы**

В клиническую практику внедрены алгоритмы обследования и подготовки к программе экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) ВИЧ-инфицированных пациентов. Определены оптимальные протоколы стимуляции яичников в программах ЭКО, показана необходимость культивирования эмбрионов до стадии бластоцисты, разработаны методики подготовки спермы к оплодотворению у ВИЧ-инфицированного мужчины. Предложены организационно- методические принципы работы отделения ЭКО, занимающегося лечением ВИЧ-инфицированных пациентов.

### **Методология и методы исследований**

На клинической базе ГБУЗ МО МОНИАГ обследованы 106 ВИЧ-инфицированных супружеских пар, которым планировалось проведение программы ЭКО.

Программа ЭКО проведена у 60 ВИЧ-инфицированных пар.

В зависимости от наличия ВИЧ-инфекции они были разделены:

- дискордантные пары 46 (76,7%), из них инфицирован мужчина – 28 (60,9%), инфицирована женщина – 18 (39,1%),
- конкордантные пары – 14 (23,3%).

У всех пациенток получено информированное согласие на использование данных обследования в научных целях, также получено согласие этического комитета на проведение исследования.

### **Положения, выносимые на защиту:**

I. ВИЧ-инфицированные пациенты программ ЭКО относятся к социально устойчивой группе населения, имеющей образование, работу, стабильно благополучный инфекционный статус, желающие иметь здоровых детей и способные их воспитывать. Гендерные отношения указывают на преобладание мужчин по сравнению с инфици-

рованными женщинами и серодискордантных пар по сравнению с конкордантными. Источником инфицирования у 2/3 мужчин и четверти женщин является парентеральное употребление наркотиков.

II. Неблагополучное состояние гинекологического здоровья инфицированных женщин (воспалительные заболевания органов малого таза, CIN, сопряженный с носительством онкогенных типов ВПЧ, ИППП), и неблагоприятный репродуктивный анамнез (аборты, в/маточные беременности, неразвивающиеся беременности и выкидыши), формируют бесплодие у этого контингента больных и требуют расширения спектра обследования перед проведением программы ЭКО.

III. Эффективность программ ЭКО в два раза ниже при наличии инфекции у женщин по сравнению с ситуацией здоровой женщины и инфицированного мужчины, что связано с дефектами ооцитов и плохим качеством эмбрионов.

IV. Для повышения эффективности программ ЭКО у ВИЧ-инфицированных пациентов необходима замена препаратов АРТ на менее токсичные перед ЭКО, культивирование эмбрионов до стадии бластоцисты с целью отбора лучших из них, использование программ с переносом криоконсервированных эмбрионов.

### **Степень достоверности и апробация результатов работы**

Достоверность полученных результатов обусловлена системной проработкой проблемы, глубоким изучением литературных источников, а также статистической обработкой полученных данных с использованием прикладных компьютерных программ («Statistica 6»). Для оценки достоверности различий между сопоставляемыми группами по качественным признакам использовали непараметрический критерий Пирсона ( $\chi^2$ -тест).

Апробация работы состоялась на заседании Ученого совета Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии» (ГБУЗ МО МОНИИАГ) 23 мая 2017 года.

### **Личное участие автора в проведенном исследовании**

Лично автором было проведено клинико-анамнестическое, инструментальное обследование, анализ лабораторных и ультразвуковых данных, статистическая обработка полученных результатов у 106 супружеских пар, включённых в исследование.

Самостоятельно проведены 90 программ ЭКО у 60 пациенток. Проведена сравнительная оценка клинических исходов и эмбриологических параметров программ ЭКО в зависимости от наличия или отсутствия ВИЧ-инфекции. Проведена статистическая обработка полученных результатов

### **Внедрение в практическое здравоохранение**

Результаты исследования внедрены в работу отделения репродуктологии ГБУЗ МО МОНИИАГ, также рекомендованы для использования в клинической практике центров ЭКО.

### **Публикации**

По результатам проведенной работы опубликовано 7 научных работ, в том числе 3 работы в научных журналах, входящих в перечень ВАК Минобрнауки РФ.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация написана на русском языке, изложена на 124 страницах компьютерного текста. Состоит из введения, обзора литературы, трех глав результатов собственных исследований, главы обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы, включающего 153 источника, из них 21 отечественных и 132 зарубежных. Диссертация содержит 16 таблиц и 5 рисунков.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Материалы и методы исследования**

В отделении репродуктологии ГБУЗ МО МОНИИАГ в период с 2013 по декабрь 2016 гг. проводилась работа, направленная на обследование и лечение бесплодия методом ЭКО ВИЧ-инфицированных супружеских пар.

Объектом исследования явились 106 пар, в которых инфицирован один из партнёров (дискордантные пары – 85 пар, из них инфицированных мужчин – 66%, женщин – 34%), или оба партнёра (конкордантные пары – 21 пара).

Инфицированных мужчин было 77, женщин – 50. Всего обследовано 127 инфицированных пациентов.



Программа ЭКО проведена у 60 пар, всего 90 попыток лечения, в 72 (80%) случаев перенос проводили в лечебном цикле, в 27 случаях переносили размороженные эмбрионы.

Из пациентов, с проведенными программами ЭКО

– дискордантных пар было 46 (76,7%), из них инфицирован мужчина – 28 (60,9%), инфицирована женщина – 18 (39,1%)

– конкордантных пар – 14 (23,3%).

При обследовании пациентов полученные данные (анамнестические, состояние соматического, гинекологического, репродуктивного здоровья и особенности репродуктивного поведения), сравнивали между позитивными и негативными пациентами.

При проведении программ ЭКО результаты лечения сравнивали в зависимости от того, инфицирована женщина или здорова. Так, группами сравнения явились 53 протокола ЭКО, проведенных у ВИЧ-инфицированных женщин и 37 протокола, выполненных у здоровых женщин в супружеских парах, где инфицирован мужчина.

Исследование носило характер проспективного, оценивающего социальные, клинические, инфекционные характеристики пациентов, состояние репродуктивной системы, показания для проведения ЭКО, особенности циклов ЭКО, параметры фолликуло-оо-эмбриогенеза, частоту наступления беременности в программах ЭКО.

Критериями включения в исследование служили:

– ВИЧ-инфицированные пациенты репродуктивного возраста, конкордантные и дискордантные супружеские пары, имеющие 3-ю субклиническую стадию заболевания, стадию вторичных заболеваний (4А) в фазе ремиссии, продолжительность ремиссии – не менее 6 месяцев;

– находящиеся на учете в специализированных учреждениях по профилактике и борьбе со СПИДом и получающие антиретровирусную терапию;

– уровень РНК вируса в крови не определяем, CD 4+ не менее 380 клеток;

– программы ЭКО проводили лишь при наличии заключения врача – инфекциониста о возможности проведения программы ЭКО и подписанного пациентами информированного согласия, в котором разъяснялись особенности проведения программ ЭКО у ВИЧ-инфицированных больных и необходимые правила поведения пациентов.

Критериями исключения служили:

– употребление наркотиков,

- асоциальный образ жизни,
- стадия инкубации (1 стадия) и острая стадия ( 2А, 2Б, 2В), стадия вторичных заболеваний (4А, 4Б, 4В) в фазе прогрессирования;
- противопоказания со стороны соматического здоровья пациентов;
- отказ пациентов выполнять предписываемые им рекомендации и условия проведения программы ЭКО.

Кроме общепринятого обследования пациентов программ ЭКО, регламентированного приказом 107н МЗ РФ, мы разработали собственный алгоритм, учитывающий специфичность ситуации, связанной с носительством вируса иммунодефицита.

### **Алгоритм обследования ВИЧ-инфицированных пациентов**

#### ***Социальный анамнез ВИЧ-инфицированных женщин и мужчин***

Общие сведения.

1. Возраст.
2. Образование (высшее, неполное высшее, среднее, начальное).
3. Работа (работает постоянно, работает временно, не работает).
4. Место жительства (имеет собственное жилье, снимает жилье).
5. Длительность инфицирования (лет).
6. Обнаружение ВИЧ-инфекции (случайно при обследовании, сознательное обращения).
7. Источник инфицирования (парентеральный, употребление наркотиков, если да, то длительность употребления, лечился ли от наркозависимости, употребляет ли наркотики в настоящее время, гетеросексуальный, другой).

Общий осмотр, гинекологическое и урологическое обследование, также лабораторные и инструментальные исследования проводили по общепринятым нормам для обследования пациентов при подготовке к программам ЭКО.

Дополнительно оценивали **результаты инфекционного обследования** на основании документов, предоставленных из Центра профилактики и борьбы со СПИД-ом не менее 3-месячной давности. Обращали внимание на уровни РНК вируса, СД4. Анализировали характер АРТ. В случае необходимости делали запрос в Центр профилактики и борьбы со СПИД-ом.

С целью инфекционного скрининга проводили микроскопию влагалищного отделяемого, цитологическое исследование (РАР-тест), исследование специфической

урогенитальной бактериальной инфекции. Всем инфицированным пациенткам определяли наличие ВПЧ и генотипа вируса папилломы человека, учитывая частоту встречаемости вируса у инфицированных пациентов и частые поражения шейки матки.

**По специальной методике проводили обработку и тестирование спермы ВИЧ-инфицированных мужчин:** сперму, после ее получения путем мастурбации, обрабатывали в двойном градиенте плотности, после обработки осадок делили на две порции и замораживали. Далее, одну из порций направляли на исследование для определения РНК вируса в очищенных сперматозоидах. Исследование проводили методом ПЦР в лаборатории Центрального НИИ Эпидемиологии СМД (Центр молекулярной диагностики). При получении отрицательного результата (вирус не обнаружен в сперме), замороженные экземпляры использовали для оплодотворения в программе ЭКО, если вирус обнаруживали, то оставшуюся часть спермы утилизировали.

Особое внимание уделяли **режиму работы лаборатории ЭКО при лечении ВИЧ-инфицированных пациентов** с соблюдением принципов конфиденциальности и защиты персональных данных. Работа эмбриологической лаборатории исключала возможность инфицирования, для этого использовали отдельный ламинар II степени защиты и индивидуально маркированные Дьюары. Утилизировали использованный материал согласно СанПин 3.5.2528-09.

**Проведено 90 программ ЭКО у 60 инфицированных супружеских пар.**

Программы проводили по общепринятым принципам, выбирая протокол стимуляции в зависимости от состояния овариального резерва пациентки, проводили УЗ мониторинг индуцированного цикла. Отличием явилось обязательное определение уровней эстрадиола и CD4 в преовуляторном периоде. Трансвагинальную пункцию яичников проводили типично, оплодотворение производили во всех случаях методом ИКСИ. Эмбрионы культивировали до 3-го или 5-го дня, переносили не более 2-х эмбрионов в полость матки, «лишние» замораживали, проводили поддержку лютеиновой фазы, через 14 дней после переноса эмбрионов тестировали наличие беременности.

Перенос размороженных эмбрионов провели в 27 протоколах, использовали циклы с заместительной гормональной терапией и естественные модифицированные циклы.

Провели сравнительный анализ 53-х протоколов лечения у ВИЧ- инфицированных женщин (1-я группа) и 37-и здоровых (2-я группа). Сравнивали такие показатели, как дозы препаратов в день и на цикл лечения, длительность стимуляции, число преовуляторных фолликулов, число зрелых ооцитов МП и их качество, % оплодотворения, качество эмбрионов на 3-й и 5-й дни культивирования, % «выхода» бластоцист, число бластоцист, оставшихся для криоконсервации, частоту наступления беременности.

### **Статистический анализ полученных результатов**

Анализ данных проводили с использованием программы «Statistica-6», включающей все необходимые методы описательной и вариационной статистики.

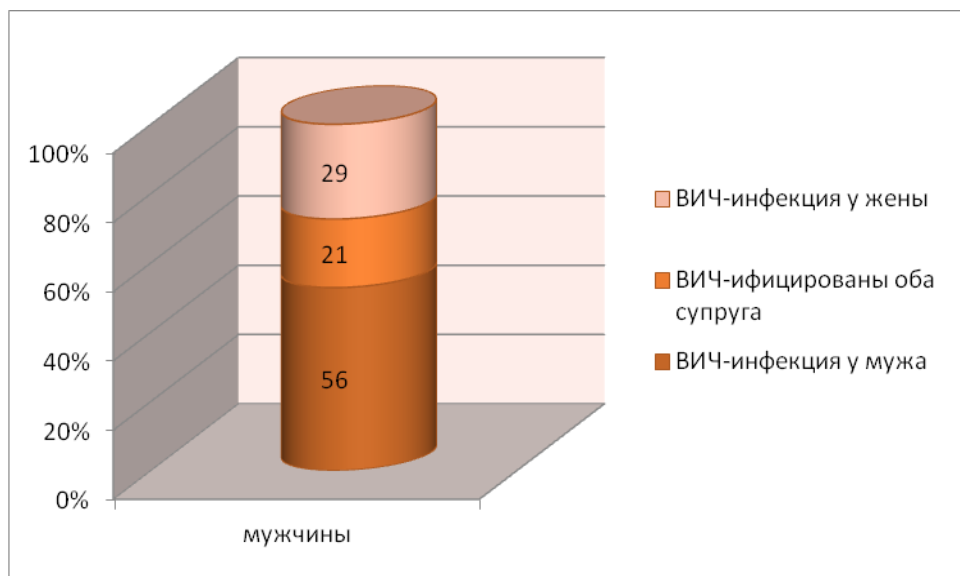
Для оценки достоверности различий между сопоставляемыми группами по качественным признакам использовали непараметрический критерий Пирсона ( $\chi^2$ -тест), рассчитываемый на основе анализа сопряженности наблюдаемых и ожидаемых чисел в таблице  $2 \times 2$ .

Различия между сравнивавшимися группами по анализируемым признакам во всех случаях расценивали как достоверные при уровне значимости  $p < 0,05$ .

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

Из обратившихся для проведения программы ЭКО 106 супружеских пар, мужчин было 77, женщин – 55, что подтверждает существующее мнение о преобладании инфекции среди мужчин, но и отражает факт увеличения числа инфицированных женщин, на что указывают ряд специалистов (Хоффман К., Рокштро Ю.К., 2009; М.Р. Валент, 2012). Также дискордантных пар, когда инфицирован один из партнеров было в 4 раза больше, чем конкордантных (85 и 21 соответственно).

Возраст инфицированных мужчин колебался от 28 до 44, составив в среднем  $30,3 \pm 3,9$  лет. Длительность инфицирования составила от 1 года до 16 лет, в среднем  $6,1 \pm 3,2$  лет. 46 мужчин имели 3-ю стадию заболевания, остальные – 4А в стадии стойкой ремиссии. Длительность лечения колебалась от года до 10 лет, в среднем –  $4 \pm 2,5$  лет. Уровни РНК вируса составили у 61 (79,2%) менее 20 коп/мл, у остальных (16 мужчин) от 200 до 1150 клеток/мл, в среднем  $532,4 \pm 178,1$  клеток /мл. Все мужчины состояли на учете в Центрах профилактики и борьбы со СПИД-ом и регулярно проходили обследование.



**Рис.1.** Гендерное распределение ВИЧ-инфицированных пар.

Возраст инфицированных женщин колебался от 27 до 40 лет, составив в среднем  $33,7 \pm 3,5$  лет. Длительность инфицирования варьировала от года до 18 лет, в среднем  $6,4 \pm 3,7$  лет. 39 (78,0%) женщин имели 3-ю стадию заболевания, остальные – 4А в стадии стойкой ремиссии. Все женщины наблюдались в Центре профилактики и борьбы со СПИД-ом, 46 (92%) получали АРТ. Длительность лечения составила от года до 10 лет. Уровень РНК вируса менее 20 коп/мл определен у 42 пациенток (84,0%), у остальных 6-и женщин вирусная нагрузка составляла от 284 до 1889 клеток/мл, в среднем  $628,7 \pm 294,1$  кл/мл. Полученные данные подтвердили мнение о том, что ВИЧ регистрируется, в основном, среди молодых людей активного, в том числе, репродуктивного возраста. Вместе с тем, нами было показано, это представлено и в других исследованиях, что возраст ВИЧ-инфицированных людей увеличивается, это уже не подростки, а взрослые граждане, хотя инфицировались большинство из них в молодом возрасте, что подтверждает эффективность АРТ и увеличение продолжительности жизни пациентов (Кузьмин В.Н., 2011).

47 (61,0%) мужчин и 11 (22%) женщин инфицированы парентеральным путем. Они указали, что это случилось при приеме наркотических средств, хотя все опрошенные пациенты не считали себя наркоманами, утверждали, что прием наркотиков был однократным и случайным в юношеском возрасте. Тем не менее, прием наркотиков, как причина инфицирования, остается у мужчин первостепенным фактором, тогда как женщины инфицировались, в основном, при случайном, незащищенном половом контакте.

Все пациенты были заинтересованы в рождении здорового ребенка и сохранении семьи, считали себя способными обеспечить содержание и воспитание детей. Подтверждением намерений пациентов явились установленные факты их социальной стабильности. Так, при беседе было выяснено, что подавляющее большинство мужчин имели образование: высшее у 38 (49,4%), средне-специальное 17 (22,1%), остальные 22 (28,6%) имели среднее образование. 61 (79,2%) мужчин постоянно работали, 76,0% (38 пациенток) имели средне-специальное и высшее образование, 80,0% (40 женщин) постоянно работали, 6,0% (3 женщины) называли себя домохозяйками.

При обследовании 32 ВИЧ-положительных пациенток и 28 ВИЧ-негативных из дискордантных супружеских пар, не различающихся по возрасту, были зарегистрированы достоверные отличия в частоте встречаемости воспалительных заболеваний органов малого таза, кольпитов, заболеваний шейки матки, что потребовало дополнительного обследования ВИЧ-инфицированных пациенток. У 25,0% женщин (8 пациенток) диагностировали CIN. Среди этой группы CIN I выявлена у 5 (62,5%), CIN II у 2-х (25,0%), CIN III у одной (12,5%) пациентки соответственно. У 87,5% пациенток, имеющих CIN (7 женщин) выявлен ВПЧ высокого онкогенного риска (16 и 18 типы), тогда как среди остальных ВИЧ-инфицированных женщин ВПЧ высокого онкогенного риска был обнаружен в 12,3% случаев. Результаты проведенной работы продемонстрировали необходимость исследования ВИЧ-инфицированных пациенток на носительство ВПЧ онкогенных типов, которые сочетаются с патологией шейки матки практически у всех женщин.

Работ, оценивающих состояние гинекологического здоровья ВИЧ-инфицированных пациенток мало. Есть единичные сообщения, указывающие на повышение частоты инфекционных и воспалительных заболеваний органов малого таза, что вполне закономерно в условиях иммунодефицита (Ю.Т. Гафуров, 2013; Ginselmaier A, Hollwitz B, Casteleyn 1999–2003.). Работами Ю.Т. Гафурова (2014г.) показана высокая частота встречаемости предраковых заболеваний шейки матки у ВИЧ-инфицированных больных, быстрое течение заболевания с переходом в рак шейки матки. Автор указывает на наличие тяжелых заболеваний шейки матки у 28% больных, а инвазивного рака шейки матки у 10,7% ВИЧ-инфицированных женщин, что позволяет отнести этих пациенток к группе риска по развитию тяжелых заболеваний шейки матки.

При оценке микроскопической картины биоценоза влагалища у 79,9% (20 женщин) выявили кольпит, в том числе у 70,1% микотической этиологии. У подавляющего числа больных (93%) обнаружили сочетание ИППП. Подобные результаты были получены в ряде других исследований, что позволяет отнести ВИЧ-инфицированных пациенток к группе риска по обострению воспалительных заболеваний в процессе проведения программы ЭКО и требует тщательного обследования и превентивного лечения.

Интерес представляло исследование репродуктивного анамнеза и репродуктивного поведения ВИЧ-инфицированных женщин в сравнении с негативными пациентками.

Репродуктивный анамнез инфицированных пациенток был расценен как неблагоприятный, вследствие большого числа искусственных абортов, самопроизвольных выкидышей и внематочных беременностей. Как в той, так и в другой группе у одинакового числа женщин были беременности в анамнезе (46,9% и 46,4% соответственно). Однако среди ВИЧ-положительных родами беременность закончилась лишь у 26,7% женщин, среди негативных женщин у 46,2% пациенток.

В 53,3% случаев беременность была прервана по желанию ВИЧ-инфицированной женщины, среди негативных пациенток частота абортов составила 46,2%. У ВИЧ-положительных пациенток в два раза чаще имели место самопроизвольные выкидыши и неразвивающиеся беременности (20,0% и 0% соответственно), в 2 раза чаще внематочные беременности (46,7% и 23,1% соответственно).

Представленные данные однозначно свидетельствуют о неблагоприятном гинекологическом и репродуктивном здоровье ВИЧ-инфицированных пациенток, что позволяет считать их группой риска по формированию бесплодия, в основном, трубно-перитонеального генеза.

При спермиологическом обследовании мужчин программ ЭКО, нормозооспермия выявлена у 71,4% инфицированных и у 83,3% негативных мужчин, что не различалось, а обнаружение патозооспермии у инфицированных мужчин не превышало, а было даже ниже, чем в традиционных группах больных программ ЭКО.

Перед проведением программы ЭКО у всех женщин оценили состояние овариального резерва. Пациентки, как позитивные, так и негативные, были молодого возраста и имели хорошие показатели резерва в одинаковом проценте случаев – 75%. У 25% женщин, как инфицированных, так и здоровых, овариальный резерв был расце-

нен как сниженный. Работ, оценивающих состояние репродуктивной системы ВИЧ-инфицированных женщин, практически, нет. Есть единичные указания, которые, в основном, носят предположительный характер, на снижение функциональной активности яичников. Наше исследование не подтвердило этого мнения, пациентки были расценены как перспективные для достижения беременности методом ЭКО, вследствие хороших показателей овариального резерва, молодого возраста, первой попытки лечения.

Стимуляцию яичников в программах ЭКО проводили традиционно, используя так называемый «длинный» протокол с аГнРГ и протокол с антГнРГ. Мы не видели, как и в других случаях, приоритетов той или иной схемы стимуляции, протокол стимуляции назначали исходя из конкретной ситуации, предпочтений врача и пациентки. Набор препаратов, суточные и курсовые дозы кардинально не отличались от общепринятых, составив в сутки от  $168,5 \pm 49,6$  до  $215 \pm 48$  Ед, на курс лечения от  $2385,7 \pm 876,7$  Ед до  $3265,0 \pm 636,4$  Ед. В табл. 1 представлены основные характеристики индуцированного цикла.

**Таблица 1. Сравнительные характеристики циклов ЭКО**

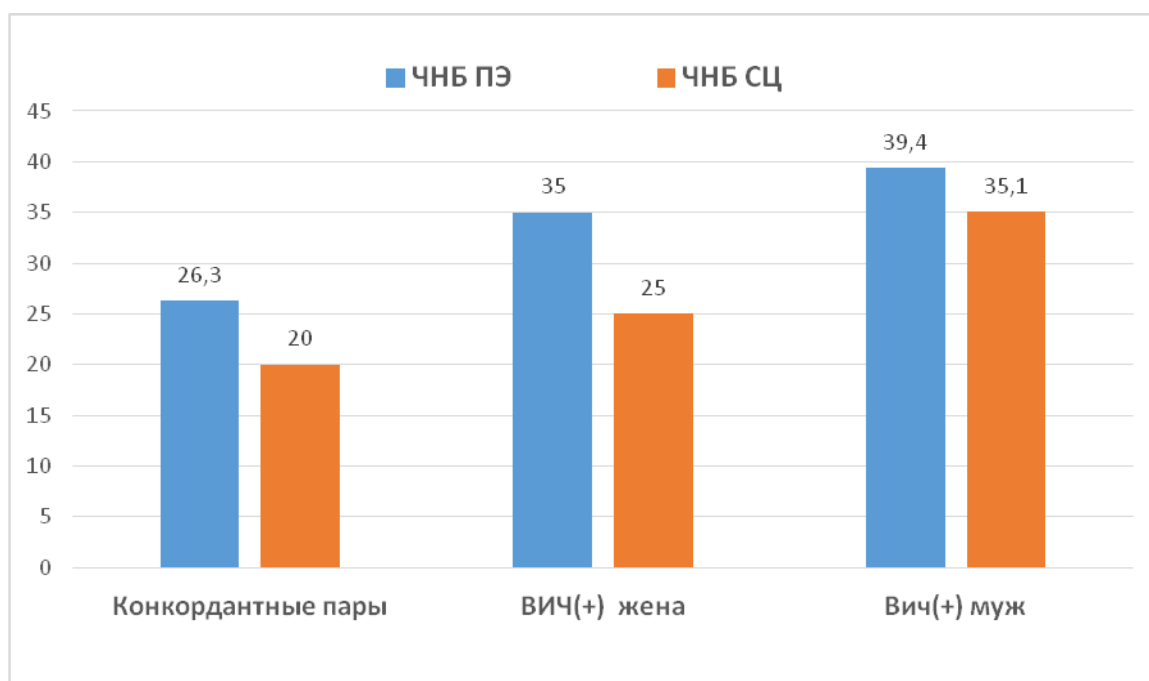
Циклы лечения	ВИЧ (+) n=53	ВИЧ (-) n=37
Доза ГТ в день (МЕ)	$178,7 \pm 52,6$	$180,7 \pm 50,4$
Курсовая доза ГТ в день (МЕ)	$2651,8 \pm 833,4^*$	$3172,0 \pm 642,4$
Длительность стимуляции	$12,7 \pm 2,7$	$12,5 \pm 2,5$
Число преовуляторных фолликулов	$14,4 \pm 6,6$	$13,1 \pm 6,3$
Доля зрелых ооцитов (M2) от полученных	81,5%	84,4%
Количество полученных эмбрионов	$9,6 \pm 3,8$	$9,4 \pm 3,1$
Доля бластоцист от полученных эмбрионов	13,1%*	30,9%
Доля криоконсервированных эмбрионов от полученных	0,8%	1,5%

\* $p < 0,05$  статистически значимые различия по сравнению с группой ВИЧ (-).



Мониторинг роста фолликулов показал отсутствие разницы между позитивными и негативными пациентками: 8 день цикла –  $8,5 \pm 4,3$  и  $8,9 \pm 5,4$  фолликулов соответственно, преовуляторный период  $14,4 \pm 6,6$  и  $13,1 \pm 6,3$  соответственно. Не отличалось число полученных зрелых ооцитов МП (81,5% и 84,4% соответственно), также как и количество полученных эмбрионов –  $9,6 \pm 3,8$  и  $9,4 \pm 3,1$  соответственно. Вместе с тем, значительно различались показатели раннего эмбриогенеза. У ВИЧ-инфицированных пациенток «выход» бластоцист оказался в три раза меньшим, чем у негативных пациенток – 13,1% и 30,9% соответственно.

На рисунке 2 представлена частота наступления беременности на перенос эмбрионов и стимулированный цикл.



**Рис. 2.** Частота наступления беременности на стимулированный цикл и на ПЭ.

Полученные результаты продемонстрировали более низкую эффективность лечения у ВИЧ-инфицированных пациенток по сравнению с негативными – наступление беременности 20% и 25% по сравнению с 35,1% у здоровых женщин на попытку лечения при равных исходных позициях по возрасту, состоянию овариального резерва, первой попытке лечения, реакции яичников на гонадотропную стимуляцию.

Были зарегистрированы худшие показатели раннего эмбриогенеза у ВИЧ-инфицированных женщин, что заставило нас провести тщательный анализ эмбриологического этапа лечения.

В таблице 2 представлены эмбриологические характеристики индуцированного цикла.

**Таблица 2. Сравнительный анализ эмбриологических показателей ВИЧ-положительных и отрицательных пациенток**

Циклы лечения	ВИЧ (+) n=53	ВИЧ (-) n=37
Количество ооцитов МП	10,4±5,2	10,1±4,6
% оплодотворения	75,1%	78,3%
Эмбрионы 3-го дня развития (n)	47,5%* хорошего качества (A+B)	71,1% хорошего качества (A+B)
Эмбрионы, остановившиеся в развитии (n)	155 ±3.2* (36.8%)	35±1.6 (16%)
Число полученных бластоцист	38,9±1,6* 22%	50,8±0.8 41%

\*p<0,05 статистически значимые различия по сравнению с группой ВИЧ (-).

Представленные данные свидетельствуют о том, что при равном количестве ооцитов хорошего качества и одинаковом проценте оплодотворения, эмбрионов хорошего качества на 3-й день культивирования у отрицательных пациенток оказалось 36,8% , а у инфицированных лишь 16%, число бластоцист у положительных женщин было в два раза меньше, чем у отрицательных.

На низкую эффективность лечения методом ЭКО ВИЧ-инфицированных пациенток указывают все исследователи, занимающиеся этой проблемой, но никто не ответил на вопрос о причинах плохих результатов лечения (Chetty V, Moodley D, Chuturgoon A., 2012). Предполагается влияние вируса или АРТ на различные звенья репродуктивной системы инфицированных. Сведения крайне противоречивы и гипотетичны, касаются они, в основном, возможного влияния АРТ на сперматогенез (Crittenden L.V. et al,1992 и Robbins I.M. et al, 2001). В тоже время, характеризуя фертильность ВИЧ-инфицированных мужчин большинство специалистов считает, что в основном, параметры спермограммы при бессимптомной ВИЧ-инфекции не изменены, что подтверждают результаты настоящего исследования. Что касается женщин, то исследований еще меньше. Указывая на низкую частоту наступления беременности, специалисты обсуждают вопросы сниженного овариального резерва, плохого качества яйцеклеток, нарушения рецептивности эндометрия. Однако, в подавляющем

большинстве случаев сведения носят предположительный характер (Firnhaber C., Van Le H., Pettifor A., 2010 ).

Результаты настоящей работы позволяют обоснованно утверждать наличие так называемого «ооцитарного фактора» у ВИЧ-инфицированных пациенток, т.е. плохого качества яйцеклеток, о чем свидетельствует «арест эмбриогенеза», плохие показатели дробления эмбрионов, низкая частота формирования бластоцист, низкая частота наступления беременности, в случаях, если инфицирована женщина, тогда как при наличии инфекции у мужчины и здоровой женщины параметры эмбриогенеза и частота наступления беременности вполне удовлетворительные. Важным направлением, которое на сегодняшний день не имеет доказательного решения, является вопрос о том, сам вирус, или же АРТ повреждает ооцит и на каком уровне клетки эти повреждения происходят. Широкие побочные эффекты препаратов, используемых для АРТ, ряд исследователей (Brinkman K., 1999) связывают с наличием митохондриальной токсичности нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы, используемых для лечения ВИЧ-инфицированных пациентов, что подтверждает предположение о токсическом воздействии этой группы лекарственных средств на ооцит. Вместе с тем, при получении качественных бластоцист и их консервации, частота наступления беременности в криоциклах оказалась высокой и не различалась между пациентками – 42,8% и 46,1% при переносе в естественном цикле и 57% и 53,8% при переносе на фоне заместительной гормональной терапии соответственно.

Мы не получили данных, указывающих на негативное влияние гиперстимуляции яичников на иммунный статус пациенток (не отмечено снижения уровня CD4 в преовуляторный период).

Полученные результаты убедительно доказали необходимость культивирования эмбрионов до стадии бластоцисты с целью элиминации неполноценных, широкого использования криоконсервации бластоцист, переноса их в естественном менструальном цикле, что обеспечивает высокую частоту наступления беременности на перенос эмбрионов и исключает риски, связанные с гиперстимуляцией яичников.

Тщательное предварительное обследование пациентов и проведение подготовительной паллиативной терапии позволило повысить частоту наступления беременности у ВИЧ-инфицированных пациенток с 21,1% до 26,7% на попытку лечения. Принципиальным, мы считаем необходимость расценивать женщин, нуждающихся в

проведении ЭКО как потенциально беременных и менять терапию на менее токсичную.

Результаты выполненной работы показали необходимость тщательного отбора ВИЧ-инфицированных пациентов для проведения программ ЭКО, расширения спектра вопросов для индивидуального анкетирования с исследованием социального статуса больных. Было установлено, что основную долю составляют серодискордантные пары с инфицированным мужчиной. Источником инфицирования у 2/3 мужчин является парентеральный путь и это, к сожалению, прием наркотиков, среди женщин таких было 22%. Важной задачей явилась организация работы лаборатории ЭКО, были сформулированы и внедрены в клиническую практику принципы конфиденциальности общения с больными и хранения полученной информации, изолированной работы с биологическим материалом, исключающее малейшую возможность инфицирования. Исследование состояния гинекологического здоровья и репродуктивного анамнеза пациенток показало наличие большого количества аборт, неразвивающихся и внематочных беременностей. ВИЧ-инфицированные женщины значительно чаще болели воспалительными заболеваниями органов малого таза, кольпитами, имели инфекции, передаваемые половым путем. Настораживающим явилось то, что у трети женщин выявлен CIN, сопряженный с носительством ВПЧ онкогенного типа, что потребовало хирургического лечения шейки матки. По существу, половина женщин, состоящих в дискордантных парах, имели явные факторы бесплодия, тем более, было выяснено, что многие супружеские пары регулярно не предохранялись при половой жизни. Исследование состояния овариального резерва теоретически подтвердило перспективность ВИЧ-инфицированных женщин для достижения беременности методом ЭКО в силу молодого возраста, хороших показателей резерва яичников, первой попытки лечения и нормозооспермии у подавляющего числа мужчин. Однако, результаты лечения оказались неудовлетворительными в тех случаях, когда инфицирована женщина, частота наступления беременности на попытку лечения составила лишь 22,6% (в конкордантных парах – 20%, в дискордантных парах – 25%).

Анализируя показатели эмбриогенеза мы предположили наличие ооцитарного фактора, т.е. плохого качества ооцитов и эмбрионов вследствие токсического действия АРТ. В этой связи мы предложили рассматривать пациенток, готовящихся к проведению программы ЭКО как потенциально беременных, менять терапию на менее токсичную, как это делают у беременных, назначать антиоксидантную терапию и

культивировать полученные эмбрионы до бластоцисты, чтобы выбрать лучших из них. Проведенная работа показала высокую частоту наступления беременности при переносе предварительно замороженных бластоцист, что делает эту методику перспективной для ВИЧ-инфицированных пациенток.

## ВЫВОДЫ

1. ВИЧ-инфицированные пациенты имели 3 или 4А стадию инфекции в состоянии стойкой ремиссии, получали АРТ, регулярно наблюдались в центрах СПИД, что позволяет проводить лечение в учреждениях общего профиля. Источником инфицирования у 61% мужчин и у 22% женщин явился парентеральный приём наркотиков, что подчёркивает значимость этого социального явления в распространении ВИЧ-инфекции, вместе с тем, наличие образования у подавляющего числа пациентов (91,3% мужчин и 92% женщин), постоянной работы, позволяет отнести их к социально благополучной группе населения, способной воспитывать детей.

2. У каждой второй (46,9%) ВИЧ-инфицированной женщины диагностировали заболевания шейки матки: из них у 25% – CIN, сопряженная с носительством ВПЧ высокого онкогенного риска, у 43,8%, воспалительные заболевания органов малого таза, у 79,9%, кольпиты вызванные ИППП. Невынашивание беременности встретилось у 20% больных, трубные беременности у 46,7%, что свидетельствует о нарушениях репродуктивной функции и высоком риске формирования бесплодия.

3. Состояние овариального резерва у 75% пациенток в возрасте  $32 \pm 2,5$  лет оценено как нормальное, при этом 71,4% инфицированных мужчин имели нормозооспермию, что позволило прогнозировать перспективность программ ЭКО для достижения беременности у этой группы больных

4. Число преовуляторных фолликулов, полученных зрелых ооцитов и частота оплодотворения в программах ЭКО не различались у инфицированных и здоровых женщин, у инфицированных женщин уровень СД4 в преовуляторном периоде не отличался от исходного и не зависел от степени гиперстимуляции яичников.

5. Показатели эмбриогенеза значительно отличались у инфицированных и здоровых женщин, что выражалось в плохом качестве эмбрионов у ВИЧ инфицированных по сравнению с негативными: образование бластоцист составило – 22% и 41%

соответственно, «арест» эмбриогенеза и отсутствие эмбрионов, пригодных для переноса у 36,8% инфицированных пациенток.

6. Частота наступления беременности у конкордантных пар составила – 20,0% на попытку ЭКО, у дискордантных с инфицированной женщиной – 25%, с инфицированным мужчиной – 35,1%, что позволяет считать ооцитарный фактор определяющим низкие результаты лечения у ВИЧ-инфицированных пациенток.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Программы ЭКО с целью достижения беременности следует проводить ВИЧ-инфицированным пациенткам, состоящим как в конкордантных бесплодных парах, так и в дискордантных, имеющих факторы бесплодия или вынужденно бесплодных при стабильно благополучном инфекционном статусе: уровень РНК вируса в крови не определяется, уровень CD4+ более 380, наблюдающихся в специализированных центрах и получающих АРТ. Пациенты не должны иметь противопоказаний для ЭКО, перечисленных в приказе 107н от августа 2012г.

2. Обработку, подготовку и тестирование спермы ВИЧ-инфицированного мужчины рекомендуется проводить по методике: градиентное центрифугирование→отмыв средой→флотация (swim up), разделение полученного супернатанта на две порции, одну из которых направить на исследование для определения РНК вируса иммунодефицита человека типа I методом полимеразной цепной реакции «Ампли-Сенс ВИЧ –С-FL», другую часть образца спермы заморозить. При получении отрицательного результата (РНК вируса не обнаружен в сперме), замороженный экземпляр использовать для оплодотворения, если вирус обнаруживали, оставшуюся часть спермы необходимо утилизировать.

3. Целесообразно расширить спектр обследования ВИЧ-инфицированных пациентов, включив социальные характеристики, подробную историю инфицирования, предоставление справки из наркологического диспансера при парентеральном пути инфицирования, у женщин исследование ВПЧ, состояния шейки матки, ИППП, расширенное исследование системы гемостаза.

4. Перед проведением программы ЭКО и в процессе лечения дискордантной супружеской паре необходимо использовать контрацепцию (презерватив), а ВИЧ-

инфицированную женщину расценивать как потенциально беременную и заменять, по согласованию с инфекционистом, препараты АРТ на менее токсичные.

5. Программу ЭКО проводить по общепринятым принципам, выбирая протокол лечения в зависимости от состояния овариального резерва, оплодотворение проводить методом ИКСИ, целесообразно контролировать уровень CD4+ в процессе лечения в преовуляторный период и в день переноса эмбрионов.

6. Для отбора лучших эмбрионов рекомендуется культивировать полученные эмбрионы до 5-ого дня (стадия бластоцисты), переносить одну бластоцисту, оставшиеся консервировать. Шире использовать программы с переносом размороженных эмбрионов в не стимулированных циклах.

7. Целесообразно откладывать лечение методом ЭКО, если пациентка в течение ближайших 3-х месяцев болела ОРВИ или другой инфекцией, жаловалась на недомогание при первичной консультации, назначать подготовительную терапию по показаниям, по согласованию с врачом-инфекционистом менять препараты АРТ на менее токсичные.

## **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Назаренко Т.А. Программы ЭКО у ВИЧ-инфицированных пациентов (отбор больных и особенности проведения) / Т.А. Назаренко, К.М. Исакова, К.В. Краснопольская, // Проблемы репродукции. –2016. – Т.22. – №4. – С. 60–65 (перечень ВАК РФ).

2. Назаренко Т.А. Эффективность методов вспомогательной репродукции для достижения беременности у ВИЧ-инфицированных пациентов / Т.А. Назаренко, К.В. Краснопольская, Ю.Т. Гафуров, А.В. Сундуков, К.М. Исакова // Инфекционные болезни. – 2017. – № 3(20) – С. 77–83 (перечень ВАК РФ).

3. Исакова К.М. Медико-социальные характеристики ВИЧ-инфицированных пациентов программ ЭКО / К.М. Исакова, Т.А. Назаренко, К.В. Краснопольская //Акушерство и гинекология. – 2017. – № 11 . – С. 100-106 (перечень ВАК РФ).

4. Назаренко Т.А. Причина низкой эффективности программ ЭКО у ВИЧ-инфицированных пациенток / Т.А. Назаренко, К.М. Исакова, К.В. Краснопольская, // материалы XXVII международной конференции РАРЧ «Репродуктивные технологии

сегодня и завтра».– Санкт-Петербург, 2017. – С. 290.

5. Исакова К.М. Программы экстракорпорального оплодотворения у ВИЧ-инфицированных пациентов/ К.М. Исакова, Т.А. Назаренко, К.В. Краснопольская, А.В. Сундуков, // материалы IX ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням с международным участием. – Москва, 2017. – С. 116.

6. Исакова К.М. Особенности и эффективность программ ЭКО у ВИЧ-инфицированных пациентов / К.М. Исакова, Т.А. Назаренко, К.В. Краснопольская, // материалы XXVI международной конференции РАРЧ «Репродуктивные технологии сегодня и завтра».– Москва, 2016. – С. 99.

7. Исакова К.М. Реализация репродуктивной функции методами ВРТ у ВИЧ-инфицированных пациентов / К.М. Исакова, Т.А. Назаренко, К.В. Краснопольская, // материалы XXV международной конференции РАРЧ «Репродуктивные технологии сегодня и завтра».– Сочи, 2015. – С. 172.