

Вирус-ассоциированный хронический эндометрит: возможности терапии

Н.И. Тапильская^{✉1,2}, Г.Х. Толибова^{1,3}, Т.Г. Траль^{1,2}, А.М. Савичева^{1,2}, Р.И. Глушаков^{2,4,5}, Г.А. Садикова¹, О.В. Будилова^{1,2}, А.А. Крысанова^{1,2}, А.М. Гзгзян^{1,5}, О.Н. Беспалова¹

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург, Россия;

²ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия;

³ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия;

⁴ФГБОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Минобороны России, Санкт-Петербург, Россия;

⁵ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

Аннотация

Цель. Оценка эффективности применения препарата аллоферон (Аллокин-альфа[®]) в комплексном лечении вирус-ассоциированного хронического эндометрита (ХЭ) у пациенток с бесплодием, папилломавирусной инфекцией, персистирующей в полости матки, и рецидивирующей герпес-вирусной инфекцией, локализованной в области гениталий.

Материалы и методы. Проведено проспективное (n=33) открытое рандомизированное (2:1) исследование по оценке эффективности применения аллоферона (препарат Аллокин-альфа[®]) в комплексном лечении ХЭ у пациенток с бесплодием, папилломавирусной инфекцией и рецидивирующей герпес-вирусной инфекцией в возрасте от 25 до 37 лет (медиана возраста – 31 [29; 32,5] год). Все пациентки со дня рандомизации получали терапию валацикловиром по 500 мг 1 раз в сутки в течение 30 дней. Пациентки основной группы (n=21) одновременно с началом противовирусной терапии получали препарат Аллокин-альфа[®] в количестве 9 подкожных инъекций 1 раз в 2 дня (по одной инъекции через день). Через 3 мес после завершения лечения оценивали микробиоту полости матки пациенток и проводили гистологическое и иммуногистохимическое исследование биоптатов эндометрия.

Результаты. После анализа микробиологических данных установлено, что в группе аллоферона удельный вес элиминации вируса папилломы человека составил 71,4%, в то время как в группе сравнения данный показатель составил 16,7% ($\chi^2=7,102$, $p=0,008$). Также в основной группе достоверно снижалась выраженность ХЭ ($\chi^2=27,586$, $p<0,001$) и уровни экспрессии белка p16^{ink4a} ($\chi^2=6,17$, $p=0,013$).

Заключение. При лечении вирус-ассоциированного ХЭ добавление аллоферона к вирус-супрессивной терапии приводит к более высокому удельному весу элиминации вируса папилломы человека из полости матки и достоверно снижает степень выраженности ХЭ.

Ключевые слова: хронический эндометрит, вирус папилломы человека, вирус простого герпеса, аллоферон, Аллокин-альфа

Для цитирования: Тапильская Н.И., Толибова Г.Х., Траль Т.Г., Савичева А.М., Глушаков Р.И., Садикова Г.А., Будилова О.В., Крысанова А.А., Гзгзян А.М., Беспалова О.Н. Вирус-ассоциированный хронический эндометрит: возможности терапии. Гинекология. 2022;24(5):348–354. DOI: 10.26442/20795696.2022.5.201693 © ООО «КОНСИЛИУМ МЕДИКУМ», 2022 г.

Информация об авторах / Information about the authors

[✉]**Тапильская Наталья Игоревна** – д-р мед. наук, проф., вед. науч. сотр. отд. репродукции ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта»; проф. каф. акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО СПбГПМУ. E-mail: tapnatalia@yandex.ru; ORCID: 0000-0001-5309-0087

Толибова Гулрухсор Хайбуллоевна – д-р мед. наук, зав. отд. патоморфологии, вед. науч. сотр. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», доц. каф. акушерства и гинекологии им. С.Н. Давыдова ФГБОУ ВО «СЗГМУ им. И.И. Мечникова». E-mail: gulyatolibova@yandex.ru; ORCID: 0000-0002-6216-6220

Траль Татьяна Георгиевна – канд. мед. наук, зав. лаб. иммуногистохимии патологоанатомического отд-ния ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта»; доц. каф. патологической анатомии с курсом судебной медицины ФГБОУ ВО СПбГПМУ. E-mail: ttg.tral@yandex.ru; ORCID: 0000-0001-8948-4811

Савичева Алевтина Михайловна – д-р мед. наук, проф., засл. деятель науки РФ, зав. отд. медицинской микробиологии ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта»; зав. каф. клинической лабораторной диагностики ФП и ДПО ФГБОУ ВО СПбГПМУ. E-mail: savitcheva@mail.ru; ORCID: 0000-0003-3870-5930

Глушаков Руслан Иванович – д-р мед. наук, доц. каф. фармакологии с курсом клинической фармакологии и фармакоэкономики ФГБОУ ВО СПбГПМУ; нач. научно-исследовательского отд. (медико-биологических исследований) научно-исследовательского центра ФГБОУ ВО «ВМА им. С.М. Кирова»; доц. каф. фармакологии медицинского фак-та ФГБОУ ВО СПбГУ. E-mail: glushakovruslan@gmail.com; ORCID: 0000-0002-0161-5977

Садикова Гавхар Алишер кызы – аспирант отд. репродукции ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта». E-mail: iagmail@ott.ru

Будилова Ольга Викторовна – науч. сотр. отд. медицинской микробиологии ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта»; ассистент каф. клинической лабораторной диагностики ФП и ДПО ФГБОУ ВО СПбГПМУ. E-mail: o.budilovskaya@gmail.com; ORCID: 0000-0001-7673-6274

[✉]**Natalia I. Tapilskaya** – D. Sci. (Med.), Prof., Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Saint Petersburg State Pediatric Medical University. E-mail: tapnatalia@yandex.ru; ORCID: 0000-0001-5309-0087

Gulruksor Kh. Tolibova – D. Sci. (Med.), Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Mechnikov North-Western State Medical University. E-mail: gulyatolibova@yandex.ru; ORCID: 0000-0002-6216-6220

Tatiana G. Tral – Cand. Sci. (Med.), Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Saint Petersburg State Pediatric Medical University. E-mail: ttg.tral@yandex.ru; ORCID: 0000-0001-8948-4811

Alevtina M. Savicheva – D. Sci. (Med.), Prof., Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Saint Petersburg State Pediatric Medical University. E-mail: savitcheva@mail.ru; ORCID: 0000-0003-3870-5930

Ruslan I. Glushakov – D. Sci. (Med.), Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg State University. E-mail: glushakovruslan@gmail.com; ORCID: 0000-0002-0161-5977

Gavkar A. Sadikova kyzy – Graduate Student, Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology. E-mail: iagmail@ott.ru

Olga V. Budilovskaya – Res. Officer, Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Saint Petersburg State Pediatric Medical University. E-mail: o.budilovskaya@gmail.com; ORCID: 0000-0001-7673-6274

Virus-associated chronic endometritis: treatment options

Natalia I. Tapilskaya^{1,2}, Gulruksor Kh. Tolibova^{1,3}, Tatiana G. Tral^{1,2}, Alevtina M. Savicheva^{1,2}, Ruslan I. Glushakov^{2,4,5}, Gavkar A. Sadikova¹, Olga V. Budilovskaya^{1,2}, Anna A. Krysanova^{1,2}, Alexander M. Gzgzyan^{1,5}, Olesya N. Beshalova¹

¹Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Saint Petersburg, Russia;

²Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Saint Petersburg, Russia;

³Mechnikov North-Western State Medical University, Saint Petersburg, Russia;

⁴Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia;

⁵Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

Abstract

Aim. To evaluate the effectiveness of Alloferon (Allokin-alfa®) in the complex treatment of virus-associated chronic endometritis (CE) in patients with infertility, papillomavirus infection (PVI) persisting in the uterine cavity, and recurrent herpes-virus infection localized in the genital area.

Materials and methods. A prospective (n=33) open randomized (2:1) study was conducted to assess the efficacy of Alloferon (Allokin-alfa®) in the complex treatment of CE in patients with infertility, PVI, and recurrent herpes-virus infection, aged 25 to 37 years (median age 31 [29; 32.5] years). All patients received valacyclovir therapy at 500 mg once daily for 30 days from the day of randomization. Patients in the main group (n=21) simultaneously with the start of antiviral therapy received Allokin-alfa® as 9 subcutaneous injections once every two days (one injection every other day). The uterine cavity microbiota of the patients was assessed 3 months after treatment, and histological and immunohistochemical studies of endometrial biopsy specimens were performed.

Results. The microbiological data analysis showed HPV elimination in 71.4% vs 16.7% of patients in the alloferon and control groups, respectively ($\chi^2 - 7.102, p=0.008$). Also, in the main group, a significant decrease in the severity of CE ($\chi^2 - 27.586, p<0.001$) and p16^{ink4a} protein expression levels ($\chi^2 - 6.17, p=0.013$) were observed.

Conclusion. In the treatment of virus-associated CE, the addition of alloferon to virus-suppressive therapy leads to higher rates of HPV elimination from the uterine cavity and significantly reduces the severity of CE.

Keywords: chronic endometritis, human papillomavirus, herpes simplex virus (HPV), alloferon, Allokin-alfa

For citation: Tapilskaya NI, Tolibova GK, Tral TG, Savicheva AM, Glushakov RI, Sadikova GA, Budilovskaya OV, Krysanova AA, Gzgzyan AM, Beshalova ON. Virus-associated chronic endometritis: treatment options. *Gynecology*. 2022;24(5):348–354. DOI: 10.26442/20795696.2022.5.201693

Введение

Вирус простого герпеса (ВПГ), а также вирус папилломы человека (ВПЧ) и парвовирус В19 в отношении влияния на репродуктивную функцию относятся к группе инфекционных агентов, значимо влияющих на риск потери беременности [1]. Их персистенция ассоциирована с неблагоприятными последствиями для реализации репродуктивной функции для обоих полов [2, 3]. Снижение репродуктивного потенциала заключается в следующем:

- 1) снижении мужской фертильности, характеризующемся качественными и количественными нарушениями сперматогенеза;
- 2) возможной активации апоптоза бластоцисты и/или снижении инвазивного потенциала эмбриона в эндометрий;
- 3) высоким риском самопроизвольного выкидыша [4].

С другой стороны, отечественными и зарубежными исследователями доказана роль вирусов в этиологии хронического эндометрита (ХЭ) [5]. Исследователи находили в биоптатах эндометрия у пациенток с ХЭ ВПГ 1 и 2-го типов, цитомегаловирус, вирус Эпштейна–Барр, адено- и энтеровирусы, а также ВПЧ [6]. Все перечисленные вирусы обладают широкой тропностью к различным тканям организма и могут поражать как слизистые оболочки, так и органы репродук-

тивной системы, при этом основное местонахождение вирусных агентов – базальный слой эндометрия, стромальный компонент и эпителий маточных желез [7]. При инфицировании клеток данными вирусами, за исключением ВПЧ, развивается цитотоксический эффект: генерация нового поколения вирионов путем лизиса разрушает клетку хозяина и вызывает воспалительный ответ за счет попадания в межклеточное пространство внутриклеточных антигенов. ВПЧ прежде всего оказывает иммуноопосредованное действие на эндометрий и имплантирующийся эмбрион, так как данный вирус в процессе эволюционного взаимодействия с макроорганизмом приобрел способность ускользания от иммунологической защиты за счет отсутствия реакции презентации антигена, представляющего вирус, в результате чего не происходит формирование адаптивного иммунного ответа [8]. Белки E5 и E7 ВПЧ снижают уровень экспрессии HLA-G и молекул главного комплекса гистосовместимости I класса (MCH I) на клеточной поверхности, делая эти клетки нечувствительными к лизису NK-клетками [4].

Одна из тактик, направленная на разрыв порочного круга иммунологического парадокса, заключается в активации тканевых макрофагов для полноценной презентации лимфоцитам измененного антигена и завершеного фагоцитоза [9]. Препаратом, способным к активации иммунных кле-

Крысанова Анна Александровна – науч. сотр. отд. медицинской микробиологии ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта»; ассистент каф. клинической лабораторной диагностики ФП и ДПО ФГБОУ ВО СПбГМУ. E-mail: krusanova.anna@mail.ru

Гзгзян Александр Мкртичевич – д-р мед. наук, зав. отд. репродукции ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта»; проф. каф. акушерства, гинекологии и репродуктологии медицинского фак-та ФГБОУ ВО СПбГУ. E-mail: iagmail@ott.ru; ORCID: 0000-0003-3917-9493

Бешалова Олеся Николаевна – д-р мед. наук, проф., зам. дир. по науке ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта». E-mail: shiggerra@mail.ru; ORCID: 0000-0002-6542-5953

Anna A. Krysanova – Res. Officer, Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Saint Petersburg State Pediatric Medical University. E-mail: krusanova.anna@mail.ru

Alexander M. Gzgzyan – D. Sci. (Med.), Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, Saint Petersburg State University. E-mail: iagmail@ott.ru; ORCID: 0000-0003-3917-9493

Olesya N. Beshalova – D. Sci. (Med.), Prof., Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology. E-mail: shiggerra@mail.ru; ORCID: 0000-0002-6542-5953

ток, является Аллокин-альфа® с действующим веществом аллофероном [10].

Целью исследования явилась оценка эффективности применения олигопептида аллоферона (препарат Аллокин-альфа®) в сочетании с ациклическими нуклеозидами в комплексном лечении ХЭ у пациенток с бесплодием на фоне рецидивирующей герпес-вирусной инфекции (ГВИ).

Материалы и методы

Общий дизайн исследования. С октября 2020 по ноябрь 2021 г. включительно проведено проспективное открытое рандомизированное сравнительное исследование по оценке эффективности применения препарата Аллокин-альфа® – лиофилизат для приготовления раствора для подкожного введения 1,0 мг (олигопептид гистидил-глицил-валил-серил-глицил-гистидил-глицил-глутаминил-гистидил-глицил-валил-гистидил-глицин, rlsnet.ru) в комплексном лечении ХЭ у пациенток с идиопатическим бесплодием, рецидивирующей ГВИ. В исследование включены 33 пациентки репродуктивного возраста (от 25 до 38 лет, медиана возраста – 31 [29; 32,5] год), соответствующие критериям включения и не имеющие критериев не включения. Исследование состояло из периодов скрининга, рандомизации, лечения и наблюдения. В период скрининга проводилась селекция и обследование пациенток из базы больных с рецидивирующей ГВИ, локализованной в области гениталий. За период скрининга выполнялось морфологическое и иммуногистохимическое (ИГХ)-исследование аспират-биопсии эндометрия на предмет наличия ХЭ. Также проводилось исследование микробиоты эндометрия. После завершения лечения через 3 мес повторно оценивали микробиоту полости матки пациенток, а также проводили гистологическое и ИГХ-исследование биоптатов эндометрия, при этом забор материала из полости матки до и после лечения проводили на 19–21-й день менструального цикла. Наблюдение за пациентками составило не менее 6 мес, медиана наблюдения – 8,8 мес.

Критерии включения в исследование:

- возраст пациентки от 20 до 38 лет в момент включения в протокол;
- первоначально идиопатическое бесплодие, выставленное в течение не менее одного года до включения в исследование, далее (после обследования эндометрия) – бесплодие, ассоциированное с маточным фактором;
- две и более неудачные попытки имплантации;
- рецидивирующая ГВИ, локализованная в области гениталий, в анамнезе;
- морфологически и ИГХ подтвержденный ХЭ;
- идентификация ВПЧ в отделяемом из полости матки;
- подписание письменного информированного согласия на участие в исследовании.

Критерии не включения в исследование:

- возраст пациентки моложе 20 лет, 38 лет и старше;
- менее 36 мес после родов, аборта или завершения лактации в момент начала прохождения обследования;
- наличие любых других факторов бесплодия за исключением маточного;
- прием ациклических нуклеозидов ранее чем за 3 мес до проведения скрининга;
- наличие любых инфекций, передаваемых половым путем, идентифицированных в отделяемом из полости матки;
- наличие любого значимого гинекологического заболевания, требующего лечения;
- наличие хронического болевого синдрома;

Рис. 1. Селекция и рандомизация пациенток в исследовании.

Fig. 1. Selection and randomization of patients in the study.



- наличие злокачественных новообразований любой локализации, в том числе *ca in situ* шейки матки, в анамнезе;
 - наличие сахарного диабета или любых других эндокринных заболеваний за исключением аутоиммунного тиреоидита, требующих назначения системной терапии и/или хирургического лечения;
 - индекс массы тела (по Кетле) более 34,9 кг/м² в момент включения в исследование;
 - положительные результаты анализа на поверхностный антиген вируса гепатита В, антитела к вирусу гепатита С и антитела к ВИЧ-1/2;
 - наличие психиатрических заболеваний, избыточное потребление алкоголя или психотропных веществ в анамнезе;
 - любое состояние организма, которое, по заключению исследователя, может повлиять на прохождение процедур протокола и других мероприятий в рамках исследования.
- Критерии исключения из исследования:**
- наступление беременности во время проведения исследования;
 - наличие любого значимого клинического события, которое способно отразиться на данных исследования;
 - отзыв информированного согласия.

Селекция и рандомизация пациенток, назначение лечения. Скрининг пациенток проводился после подписания информированного согласия в течение 1–2 менструальных циклов. После отбора пациенток с учетом критериев включения и исключения рандомизация проводилась в 1–2-й день менструального цикла методом закрытых конвертов в соотношении 2:1 (рис. 1). Все женщины со дня проведения рандомизации получали терапию ациклическими нуклеозидами в вирус-супрессивном режиме: валацикловир (препарат Валцикон®) 500 мг 1 раз в сутки в течение 30 дней. Пациентки основной группы (n=21) одновременно с началом противовирусной терапии получали препарат Аллокин-альфа® в количестве 9 подкожных инъекций 1 раз в 2 дня (по одной инъекции через день) со дня рандомизации.

Молекулярно-генетические исследования. Этап выделения ДНК из биоптатов эндометрия проводили с использованием комплекта реагентов «ДНК-сорб-АМ» (ООО «НекстБио», Москва, Россия), для постановки реакции амплификации

Таблица 1. Клиническая и социальная характеристики пациенток			
Table 1. Clinical and social characteristics of patients			
Показатель	Все пациентки	Основная группа	Группа сравнения
Число пациенток, n	33	21	12
Возраст средний [минимальный; максимальный], лет	30,8±3,38, 25–37	30,6±3,6, 25–37	31,1±2,8, 27–37
Медиана [25-й перцентиль; 75-й перцентиль], лет	31 [29; 32,5]	31 [28; 32,5]	30 [29,75; 32,75]
W-критерий (p)	0,94 (0,09)	0,95 (0,36)	0,92 (0,25)
Социальный статус, n (%)			
Замужем	19 (57,6)	12 (57,1)	7 (58,3)
Не замужем (постоянный партнер)	14 (42,4)	9 (42,9)	5 (41,7)
Индекс массы тела (кг/м²), n (%)			
[18,5–19,9)	2 (6,1)	0	2 (16,7)
[20,0–25,0)	13 (39,4)	9 (42,9)	4 (33,3)
[25,0–29,9)	16 (48,5)	10 (47,6)	6 (50,0)
[30,0–34,9)	2 (6,1)	2 (9,5)	0
Курение, n (%)			
Да	10 (30,3)	6 (28,6)	4 (33,3)
Нет	23 (69,7)	15 (71,4)	8 (66,7)
Акушерско-гинекологический анамнез, n (%)			
<i>Беременность в анамнезе</i>			
1	9 (27,3)	6 (28,6)	3 (25,0)
2 и более	14 (42,4)	9 (42,9)	5 (41,7)
<i>Роды в анамнезе</i>			
1	19 (57,6)	12 (57,1)	7 (58,3)
<i>Артифициальные аборт в анамнезе</i>			
Не было	30 (90,9)	19 (90,5)	11 (91,7)
1	3 (9,1)	2 (9,5)	1 (8,3)
<i>Выкидыши в анамнезе</i>			
Не было	10 (30,3)	6 (28,5)	4 (33,3)
1 и более	23 (69,7)	15 (71,5)	8 (66,7)

нуклеиновых кислот использовали детектирующие амплификаторы «DT-96» и «DTprime» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия). Молекулярно-генетическое исследование микробиоты в эндометриальном биоптате проводили с использованием модифицированного мультиплексного теста на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени («ДНК-Технология», Москва), который позволяет определить количество ДНК искомого микроорганизма в образце, выражаемое в геномных эквивалентах (ГЭ). Количество ГЭ пропорционально количеству клеток микроорганизма. С помощью данного теста проводилась идентификация патогенных бактерий (*Neisseria gonorrhoeae*), простейших (*Trichomonas vaginalis*), внутриклеточных агентов (*Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*) и вирусов (ВПГ 1/2-го типа), цитомегаловируса, вируса герпеса человека 6-го типа, вируса Эпштейна–Барр. ВПЧ определяли системой КВАНТ-21 («ДНК-Технология», Москва), выявляющей методом ПЦР в реальном времени ВПЧ высокого онкогенного (16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82 типы) и низкого (6, 11, 44 типы) онкогенного риска с определением вирусной нагрузки. Определялся как абсолютный результат – количество копий ДНК ВПЧ в образце, так и относительный результат – количество копий ДНК ВПЧ на количество геномной ДНК человека, т.е. с учетом контроля взятия материала.

Гистологическое и ИГХ-исследование. На этапе селекции у всех пациенток морфологически верифицирован ХЭ. Гистологическое исследование проводили по классической методике на микроскопе Olympus CX31 (Япония) при увеличении $\times 100$, $\times 400$. Для обзорной окраски использовали гематоксилин и эозин. Для диагностики ХЭ использовали антитела CD8+ [клон CD 8/144B] в стандартном разведении 1:50; CD20+ [клон L26] в стандартном разведении 1:40; CD4 [клон 4 B12] в стандартном разведении 1:50 и CD138+ [клон M115] в стандартном разведении 1:50 производством Dako Cytomation. Для количественной и качественной оценки экспрессии ингибитора циклинзависимой киназы p16^{ink4a} использовали набор CINtec p16^{ink4a} Histology Kit (Roche, Germany). Степень выраженности ХЭ определяли по совокупности гистологического и ИГХ-исследований (фибропластические изменения, склероз сосудов, мононуклеарная инфильтрация в строме) и количественной оценке комбинации антител цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8+), В-лимфоцитов (CD20+), Т-хелперов (CD4+), плазмочитов (CD138+) по шкале, разработанной Г.Х. Толибовой и соавт. [11].

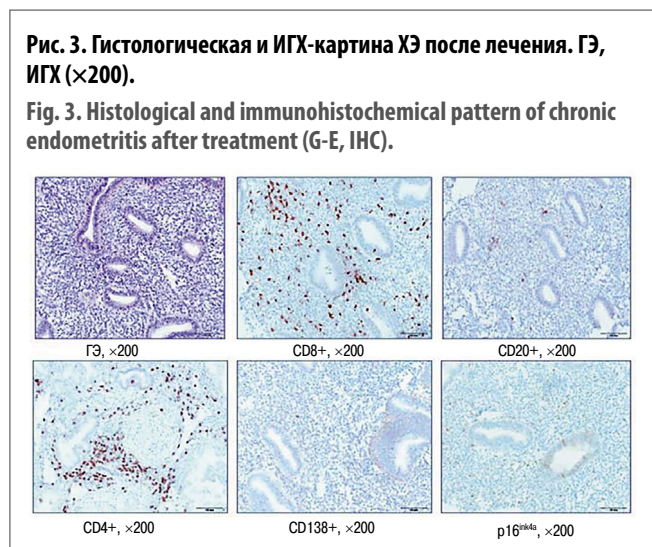
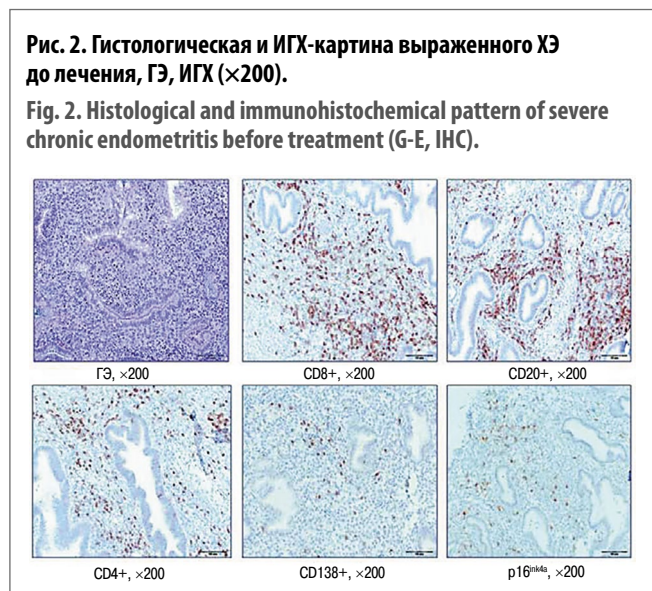
Статистический анализ результатов исследования. Качественные признаки представлены в виде абсолютных (число) и относительных (удельный вес/частота в %) данных, количественные – в зависимости от варианта распределения признака (по W-критерию С.С. Шапиро и М. Уилка) в виде среднего значения \pm стандартное отклонение (нормальное распределение) или в виде медианы с границами 25 и 75-го перцентилей (отличное от нормального распределение). Значимость различий проверяли в зависимости от вида распределения с использованием t-теста Стьюдента или U-критерия Манна–Уитни соответственно. Соотношение частот при расщеплении признаков в группах проводили с использованием критерия хи-квадрат К. Пирсона (χ^2). Критический уровень достоверности нулевой статистической гипотезы (об отсутствии значимых различий или факторных влияний) принимали равным 0,05.

Этические правила и нормы. Исследование выполнено в полном соответствии с принципами Хельсинкской декларации Всемирной ассоциации «Этические принципы научных и медицинских исследований с участием человека», Действующими порядками и стандартами оказания медицинской помощи и другими регуляторными требованиями к проведению клинических исследований и наблюдательных программ в Российской Федерации. При соотношении пользы и рисков от введения аллоферона локальным этическим комитетом рекомендовано соотношение пациентов основной и группы сравнения 2:1.

Результаты

Для участия в исследовании из базы данных отобрана в исследование 91 пациентка, из которых 79 согласились на участие в исследовании. По результатам обследования эндометрия у 47 пациенток диагностирован ХЭ. У 33 из них по клиническим критериям установлено тяжелое течение рецидивирующей ГВИ – 6 и более рецидивов в год. У 8 из 33 женщин методом ПЦР был определен ВПЧ в материале эндометрия. Таким образом, в исследование включены 33 пациентки, клиническая и социальная характеристики которых приведены в табл. 1.

Результаты гистологического исследования. Гистологические признаки ХЭ с наличием мононуклеарной инфильтрации, фибропластических изменений стромального компонента верифицированы во всех 33 (70,2%) образцах до начала терапии, при этом в 14 (29,8%) случаях присутствовал перигландулярный фиброз, склероз сосудистой стенки



спиральных артерий и полиморфные фолликулоподобные мононуклеарные инфильтраты. При ИГХ-исследовании эндометрия в 27 (81,8%) случаях верифицирован выраженный ХЭ с 5–8-кратным увеличением цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8+), В-лимфоцитов и плазмоцитов CD138+ (рис. 2). В 6 (18,1%) случаях верифицирован умеренно выраженный ХЭ с 3-кратным увеличением провоспалительных маркеров. Выраженная экспрессия p16^{ink4a} диагностирована во всех биоптатах независимо от степени выраженности ХЭ. В 21 (63,6%) случае верифицирована мультифокальная экспрессия в стромальном компоненте, в 12 (36,3%) случаях экспрессия верифицирована в обоих гистогенетических структурах (железах и стромальном компоненте) эндометрия.

После проведения терапии в основной группе (n=21) гистологическая картина ранней-средней стадии фазы секреции диагностирована в 8 (38,1%) случаях, средняя стадия фазы секреции – в 12 (57,1%), в одном (4,8%) случае верифицирована слабо секреторная трансформация эндометрия. Наличие мононуклеарной инфильтрации диагностировано в 7 (33,3%) случаях в виде диффузно расположенных мононуклеаров. При ИГХ-исследовании верифицировано диагностически значимое (7-кратное) снижение количества провоспалительных маркеров – цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8+), В-лимфоцитов (CD20+) и плазмоцитов в стромальном компоненте эндометрия в 15 (71,4%) случаях

Таблица 2. Показатели ИГХ-исследования эндометрия до и после лечения

Table 2. Endometrial immunohistochemical examination findings before and after treatment

	Основная группа (n=21)		Группа сравнения (n=12)	
	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
<i>Степень выраженности ХЭ, абс. (%)</i>				
Выраженный	19 (90,5)	1 (4,8)*	8 (66,7)	7 (58,3)
Умеренный	2 (9,5)	15 (71,4)	4 (33,3)	5 (41,7)
Слабо выраженный	0	5 (23,8)	0	0
<i>Мононуклеарная инфильтрация, абс. (%)</i>				
Есть	10 (47,6)	7 (33,3)	4 (33,3)	3 (25,0)
Нет	11 (52,4)	14 (66,7)	8 (66,7)	9 (75,0)
<i>Экспрессия p16^{ink4a}, абс. (%)</i>				
Есть	21 (100)	14 (66,7)**	12 (100)	11 (91,7)
Нет	0	7 (33,3)	0	1 (8,3)

* $\chi^2=27,586$, $p<0,001$; ** $\chi^2=6,17$, $p=0,013$.

(рис. 3). В 6 случаях (28,6%) отмечено 3-кратное снижение экспрессии провоспалительных маркеров. Слабо выраженная мультифокальная экспрессия p16^{ink4a} диагностирована в 14 (66,7%) случаях. Данные динамики проявлений ХЭ в группе сравнения представлены в табл. 2.

Результаты молекулярно-генетического исследования. По данным ПЦР-теста системой «КВАНТ-21» согласно критериям включения в полости матки определялся не менее чем один тип ВПЧ, при этом в двух случаях идентифицировано сочетание 31 и 58 типов ВПЧ, в остальных случаях выделялся только один тип ВПЧ.

При исследовании эндометрия после лечения элиминация ВПЧ диагностирована у 5 (83,3%) пациенток основной группы. У пациенток из группы сравнения (3) элиминации не произошло.

После проведенного противовирусного лечения пациенткам обеих групп проводились протоколы экстракорпорального оплодотворения с антагонистами с переносом «свежих» эмбрионов. В 1-й группе обследованных клиническая беременность наступила у 9 (42,8%) женщин, во 2-й группе – у 3 (25%) женщин.

Обсуждение

В лечении и профилактике репродуктивно важных генитальных инфекций существует назревший, но не решенный вопрос. Связан он с генитальным герпесом (ГГ). Это инфекционный процесс, обусловленный ВПГ 1 и 2-го типов. Эпидемиология данного заболевания чрезвычайно обширна и клинически многообразна.

Источником заражения всегда является инфицированный человек. Передача ВПГ может осуществляться в контакте – бытовым (как прямым, так и не прямым), половым, воздушно-капельным и парентеральным путями (трансплантация органов и тканей, оплодотворение инфицированной донорской спермой).

В гинекологической практике одним из осложнений герпетической инфекции следует считать нарушение репродуктивной функции. Выражается это наиболее часто в привычной потере беременности на фоне патологического состояния эндометрия. Оно выражается в различных морфофункциональных изменениях, в том числе потере рецептивности [12].

В одном из недавних исследований у пациенток с верифицированным ХЭ вирусная интервенция эндометрия обнаружена у 97,3% наблюдаемых женщин, в том числе и ГГ [12].

Клинически герпетический эндометрит чаще проявляется себя во II фазу менструального цикла или во время беременности, что, возможно, обусловлено супрессией Т-клеточного звена иммунитета, обеспечивающей персистенцию ВПГ в эндометрии [13].

Согласно действующим клиническим рекомендациям, если у пациентки с подозрением на ГГ диагноз подтверждается клинико-лабораторными данными (ПЦР), необходимо начать противовирусную терапию [14]. Она включает анормальные нуклеозиды и иммуномодуляцию.

К настоящему времени накоплены данные, демонстрирующие иммуноопосредованное влияние ВПГ на персистенцию ВПЧ [15]. Прямое взаимодействие данных вирусов представляется маловероятным, так как рассматриваемые инфекционные агенты занимают различные экологические ниши, однако иммунопатологический процесс, вызванный возможным вирусомыделением ВПГ, может поддерживать персистенцию папилломавирусной инфекции [16]. В нашем исследовании сформирована когорта пациенток с рецидивирующей ГВИ, локализованной в области гинеталий, в анамнезе. У части из них (8 пациенток) в полости матки идентифицирован ВПЧ. Данные критерии позволили провести обследование эндометрия на фоне назначения ациклических нуклеозидов как в качестве монотерапии, так и в сочетании с аллофероном в рамках сравнительного рандомизированного исследования.

Необходимость элиминации ВПЧ в рамках прегравидарной подготовки обусловлена способностью ВПЧ активировать иммунологическую агрессию в отношении развивающегося эмбриона, в том числе за счет изменения уровней экспрессии молекул МСН I [17]. Метаанализ 12 исследований, включающих 15 450 женщин, продемонстрировал взаимосвязь между наличием ВПЧ и риском женского бесплодия, при этом по данным 6 исследований с включением 11 869 респондентов установлена значительная корреляция между положительным тестом на ВПЧ и наличием женского бесплодия (отношение рисков 2,33, 95% доверительный интервал 1,42–3,83; $p=0,0008$) [3].

Аллоферон вызывает индукцию синтеза эндогенных интерферонов (ИФН), в основном за счет продукции ИФН- γ , а также активацию цитотоксических Т-клеток CD3+HLA-DR+ даже на фоне снижения абсолютного числа CD3+CD8+ клеток, что важно для реализации противовирусного иммунного ответа. В свою очередь ИФН- γ активирует эффекторные функции нейтрофилов, макрофагов, цитотоксических Т-лимфоцитов и естественных киллеров, что заключается в усилении цитотоксичности за счет продуцирования нитрооксидных и супероксидных радикалов, а также противомикробных пептидов. Также ИФН- γ увеличивает экспрессию антигенов МСН I и II классов, что приводит к возрастанию эффективности презентации антигенов и способности распознавания антигенов Т-лимфоцитами и натуральными киллерами [18]. В ряде исследований продемонстрировано, что при использовании Аллокина-альфа происходит эффективное подавление репликации вирусов к 3–6-му месяцу без применения противовирусных средств, что согласуется с клиническими данными об отсутствии рецидивов у пациентов [19].

Накопление научных знаний приводит к осознанию того факта, что существующие режимы противомикробной химиотерапии не всегда являются достаточными для лечения ХЭ и элиминации некоторых патогенов, особенно при персистенции вирусных агентов, которые в процессе эволюционного взаимодействия с макроорганизмом приобрели приспособительные реакции ускользания от иммунного надзора хозяина. Поэтому противомикробная химиотера-

пия не должна заменять комплексный подход с использованием адъювантных методов лечения, к которым относятся иммуномодуляторы. Следует отметить, что начинать лечение аллофероном целесообразно с 1-го дня менструации, т.е. до того момента, когда в обновленном функциональном слое эндометрия начнется повторная контаминация эндометрия вирусами и сформируется В-клеточный ответ [4].

Заключение

Сочетание аллоферона (Аллокин-альфа®) с супрессивной терапией ациклическими нуклеозидами при ХЭ у пациенток с бесплодием, хронической рецидивирующей ГВИ в анамнезе и папилломавирусной инфекцией, выделенной в полости матки, приводит к более высокому удельному весу элиминации ВПЧ из полости матки, достоверно снижает степень выраженности ХЭ и практически в 2 раза увеличивает шансы наступления клинической беременности в протоколах экстракорпорального оплодотворения у пациенток с тяжелым течением герпесвирусной инфекции.

Раскрытие интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Disclosure of interest. The authors declare that they have no competing interests.

Вклад авторов. Авторы декларируют соответствие своего авторства международным критериям ICMJE. Н.И. Тапильская, Г.А. Садилова, Р.И. Глушаков – разработка дизайна исследования, анализ полученных данных, написание текста рукописи; Г.Х. Толилова, Т.Г. Траль – выполнение морфологического исследования; А.М. Савичева, О.В. Будилова, А.А. Крысанова – выполнение молекулярно-генетических исследований; А.М. Гзгзян – редактирование рукописи, координация персонала; О.Н. Беспалова – общее руководство клиническим исследованием.

Authors' contribution. The authors declare the compliance of their authorship according to the international ICMJE criteria. N.I. Tapilskaya, G.A. Sadikova, R.I. Glushakov – development of study design, analysis of the obtained data, writing the text of the manuscript, G.Kh. Tolibova, T.G. Tral – performing a morphological study, A.M. Savicheva, O.V. Budilovskaya, A.A. Krysanova – performing PCR studies, A.M. Gzgyan – manuscript editing and staff coordination, O.N. Bepalova – general management of clinical research.

Источник финансирования. Авторы декларируют отсутствие внешнего финансирования для проведения исследования и публикации статьи.

Funding source. The authors declare that there is no external funding for the exploration and analysis work.

Соответствие принципам этики. Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта» (протокол №115 от 03.02.2022). Одобрение и процедуру проведения протокола получали по принципам Хельсинкской конвенции.

Ethics approval. The study was approved by the local ethics committee of Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology (protocol №115 from 03.02.2022). The approval and procedure for the protocol were obtained in accordance with the principles of the Helsinki Convention.

Информированное согласие на публикацию. Пациенты подписали форму добровольного информированного согласия на публикацию медицинской информации.

Consent for publication. Written consent was obtained from the patients for publication of relevant medical information and all of accompanying images within the manuscript.

Литература/References

1. Isagulants M, Krasnyak S, Smirnova O, et al. Genetic instability and anti-HPV immune response as drivers of infertility associated with HPV infection. *Infect Agent Cancer*. 2021;16(1):29. DOI:10.1186/s13027-021-00368-1
2. Muscianisi F, De Toni L, Giorato G, et al. Is HPV the novel target in male idiopathic infertility? A systematic review of the literature. *Front Endocrinol*. 2021;12:643539. DOI:10.3389/fendo.2021.643539
3. Yuan S, Qiu Y, Xu Y, Wang H. Human papillomavirus infection and female infertility: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed Online*. 2020;40(2):229-37. DOI:10.1016/j.rbmo.2019.10.019.
4. Тапильская Н.И., Обьедкова К.В., Крихели И.О., и др. Персистирующая папилломавирусная инфекция в генезе репродуктивных потерь. Перспективы терапии. *Медицинский совет*. 2021;3:8-17 [Tapil'skaya NI, Ob'edkova KV, Krikheli IO, et al. Persistent human papillomavirus infection in the genesis of reproductive losses. Prospects for therapy. *Meditsinskiy sovet*. 2021;3:8-17 (in Russian)]. DOI:10.21518/2079-701X-2021-3-8-17
5. Puente E, Alonso L, Laganà AS, et al. Chronic endometritis: old problem, novel insights and future challenges. *Int J Fertil Steril*. 2020;13(4):250-6. DOI:10.22074/ijfs.2020.5779
6. Farsimadan M, Motamedifar M. The effects of human immunodeficiency virus, human papillomavirus, herpes simplex virus-1 and -2, human herpesvirus-6 and -8, cytomegalovirus, and hepatitis B and C virus on female fertility and pregnancy. *Br J Biomed Sci*. 2021;78(1):1-11. DOI:10.1080/09674845.2020.1803540
7. Тапильская Н.И., Будилова О.В., Крысанова А.А., и др. Микробиота эндометрия женщин с хроническим эндометритом и идиопатическим бесплодием. *Акушерство и гинекология*. 2020;4:72-81 [Tapil'skaya NI, Budilovskaya OV, Krysanova AA, et al. Endometrial microbiota of women with chronic endometritis and idiopathic infertility. *Akusherstvo i ginekologiya*. 2020;4:72-81 (in Russian)]. DOI:10.18565/aig.2020.4.72-81
8. Günther V, Otte SV, Freytag D, et al. Recurrent implantation failure – an overview of current research. *Gynecol Endocrinol*. 2021;37(7):584-90. DOI:10.1080/09513590.2021.1878136
9. Тапильская Н.И. Роль иммунной системы в патогенезе невынашивания беременности. Предпосылки для фармакологической коррекции. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2002;1(2):15-26 [Tapil'skaya NI. Rol' immunnoi sistemy v patogeneze nevnashivaniia beremennosti. Predposylki dlia farmakologicheskoi korrektsii. *Obzory po klinicheskoi farmakologii i lekarstvennoi terapii*. 2002;1(2):15-26 (in Russian)].
10. Ибишев Х.С., Крахоткин Д.В., Мамедов В.К., Паленый А.И. Эффективность аллоферона в комплексной терапии хронического рецидивирующего папилломавирусного цистита. *Урология*. 2021;4:35-40 [Ibishev KS, Krakhotkin DV, Mamedov VK, Palenyu AI. The effectiveness of alloferon in the complex therapy of chronic recurrent papillomavirus cystitis. *Urologiya*. 2021;4:35-40 (in Russian)]. DOI:10.18565/urology.2021.4.35-40
11. Толибова Г.Х., Траль Т.Г., Клещев М.А. Эндометриальная дисфункция: алгоритм клинко-морфологического исследования. СПб., 2016 [Tolibova GK, Tral' TG, Kleshchev MA. Endometrial'naia disfunktsiia: algoritm kliniko-morfologicheskogo issledovaniia. Saint Petersburg, 2016 (in Russian)].
12. Файзуллина Д.И. Эффективность комплексной терапии хронического эндометрита после неудач ЭКО в анамнезе: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2019 [Faizullina DI. Effektivnost' kompleksnoi terapii khronicheskogo endometrita posle neudach EKO v anamneze: avtoref. dis. ... kand. med. nauk. Moscow, 2019 (in Russian)].
13. Марченко Л.А., Лушкова И.П. Генитальный герпес и его влияние на репродуктивное здоровье женщины. *Качество жизни. Медицина*. 2004;3(6):39 [Marchenko LA, Lushkova IP. Genital'nyi herpes i ego vliianie na reproduktivnoe zdorov'e zhenshchiny. *Kachestvo zhizni. Meditsina*. 2004;3(6):39 (in Russian)].
14. Генитальный герпес. Клинические рекомендации. РОДVK, 2016 [Genital'nyi herpes. Klinicheskie rekomendatsii. RODVK, 2016 (in Russian)].
15. Guidry JT, Scott RS. The interaction between human papillomavirus and other viruses. *Virus Res*. 2017;231:139-47. DOI:10.1016/j.virusres.2016.11.002
16. Тапильская Н.И., Воробцова И.Н., Глушаков Р.И. Спонтанный клиренс вируса папилломы человека в результате супрессивной терапии ациклическими нуклеозидами рецидивирующей герпес-вирусной инфекции, локализованной в области гениталий. *Гинекология*. 2017;19(3):55-61 [Tapil'skaya NI, Vorobtsova IN, Glushakov RI. Spontaneous clearance of the human papilloma virus as a result of suppressive therapy with acyclic nucleosides of a recurrent herpes-viral infection. *Gynecology*. 2017;19(3):55-61 (in Russian)]. DOI:10.26442/2079-5696_19.3.55-61
17. Carbone L, Conforti A, La Marca A, et al. The negative impact of most relevant infections on fertility and assisted reproduction technology. *Minerva Obstet Gynecol*. 2022;74(1):83-106. DOI:10.23736/S2724-606X.21.04870-3
18. Виноградова О.П., Андреева Н.А., Епифанова О.В., Артёмова О.И. Эффективность применения иммунопротивовирусной терапии цервикальных интраэпителиальных неоплазий I степени на фоне папилломавирусной инфекции. *Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева*. 2021;8(3):155-66 [Vinogradova OP, Andreeva NA, Epifanova OV, Artemova OI. Efficacy of immunological antiviral therapy for papillomavirus-associated grade I cervical intraepithelial neoplasia. *Snegirev Archives of Obstetrics and Gynecology*. 2021;8(3):155-66 (in Russian)]. DOI:10.17816/2313-8726-2021-8-3-155-166
19. Липатов И.С., Тезиков Ю.В., Овчинникова М.А. Эффективность профилактической гестационной и перинатальной терапии при частом рецидивирующем герпесе с применением цитокиноподобного пептида на прегравидарном возбуждении. *Акушерство и гинекология*. 2020;1:94-102 [Lipatov IS, Tezikov YuV, Ovchinnikova MA. Efficiency of gestational and perinatal pathology prevention with a cytokine-like peptide in frequently recurring herpes at the pregravid stage. *Akusherstvo i ginekologiya*. 2020;1:94-102 (in Russian)]. DOI:10.18565/aig.2020.1.94-102

Статья поступила в редакцию / The article received: 24.09.2022

Статья принята к печати / The article approved for publication: 25.10.2022



OMNIDOCTOR.RU