

АРДИНЦЕВА ОКСАНА АЛЕКСАНДРОВНА

**ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫЙ ПОДХОД К ДИАГНОСТИКЕ ТРУБНОГО
БЕСПЛОДИЯ ПОСЛЕ ПЕРЕНЕСЕННОЙ ХЛАМИДИЙНОЙ ИНФЕКЦИИ**

3.1.4 – акушерство и гинекология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

УФА – 2023

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Дубровина Светлана Олеговна

Официальные оппоненты:

Селихова Марина Сергеевна – доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, профессор кафедры акушерства и гинекологии.

Сулима Анна Николаевна – доктор медицинских наук, профессор, «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный Университет им. В.И. Вернадского», профессор кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии №1.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Дальневосточный государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита диссертации состоится «_____» _____ 2023 года в _____ часов на заседании диссертационного совета 21.2.004.02 на базе ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России (450008, г. Уфа, ул. Ленина д. 3).

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России по адресу: 450008, г. Уфа, ул. Ленина д.3; на сайте (<https://www.bashgmu.ru>).

Автореферат разослан «_____» _____ 2023 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета 21.2.004.02

доктор медицинских наук, профессор

Валеев Марат Мазгарович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность и степень разработанности темы исследования

В структуре бесплодного брака воспалительные заболевания органов малого таза (ВЗОМТ), приводящие к возникновению патологических изменений в виде спаечного процесса [Радынова С.Б., 2019; Рищук С.В., 2016] и повреждения маточных труб, занимают лидирующее место [Авраменко Н.В., 2014; Абдуллаев Р.Н., 2020]. *Neisseria gonorrhoeae* и *Chlamydia trachomatis* являются возбудителями, наиболее часто вызывающими ВЗОМТ [CDC. Sexually transmitted diseases, 2021]. Проблема топической диагностики и лечения генитальной хламидийной инфекции - одна из актуальных задач гинекологии [Дубровина С.О., 2017], имеющая не только медицинское, но и социальное значение.

Степень разработанности темы

Механизм, приводящий к поражению маточных труб и бесплодию при хламидийной инфекции, до сих пор до конца не известен [Касимова Ш.О., 2019]. Эпидемиологические исследования на основании серодиагностики показывают, что хламидии могут отвечать за значительную часть трубного бесплодия, эктопической беременности, неблагоприятных исходов беременности [Дубровина С.О., 2019]. По-прежнему актуален поиск антител, свидетельствующих о персистенции хламидийной инфекции. Речь идет не столько о тех антителах, которые мы используем в клинической практике, а об антителах к 895 протеинам *Chlamydia trachomatis*.

Значимость исследования антител к *Chlamydia trachomatis* — один из самых спорных, но при этом дискуссионных вопросов. Поскольку большинство случаев хламидийной инфекции бессимптомны и не диагностируются, скрининговые программы стали необходимым компонентом стратегии по предупреждению хламидийной инфекции. Без эффективной антибиотикотерапии бессимптомная инфекция может персистировать длительный период и приводить к серьезным осложнениям и последующей «легкой» трансмиссии половым партнерам [Public Health England 2014].

Несколько исследований продемонстрировали, что бесплодие трубного генеза в значительной степени было связано с сывороточными антителами к *Chlamydia trachomatis* [Сафаров А.Т., 2020; Mriima D.P., 2018; Moses A., 2016]. Общая цель проведенных исследований состояла в том, чтобы идентифицировать антигены *Chlamydia trachomatis*, которые можно использовать для выявления группы риска женщин с бесплодием трубного генеза и имеющим предшествующий контакт с *Chlamydia trachomatis*.

Широко распространено мнение, что белок теплового шока (HSP60) или иммунные ответы хозяина на HSP60 могут играть важную роль в патологии маточных труб [Рубина Е.В.,

2019; Menon S. и соавт., 2015]. Вопрос о том, могут ли ассоциированные с бесплодием трубного генеза сывороточные антитела к *Chlamydia trachomatis* внести вклад в понимание механизмов иммунного ответа на хламидийную инфекцию, несомненно заслуживает дальнейшего исследования.

Вышеупомянутые исследования послужили мотивацией к изучению роли NOD в качестве PRR для *Chlamydia trachomatis*. Необходимо установить, играет ли роль наличие множественных генетических вариаций в двух генах PRR в развитии патологии маточных труб, ассоциированной с *Chlamydia trachomatis*, а также, оценить увеличивают ли генетические вариации риск aberrантного иммунного ответа и, как следствие, длительному нахождению патогена в организме хозяина. Разработка и подбор современных диагностических тестов, проведение тщательного обследования, установление причины бесплодия в паре, позволит определить наилучшую стратегию лечения, избегая при этом ненужной инвазивности [Low N., и соавт., 2016].

Цель исследования:

Разработать тактику ведения пациенток с трубно-перитонеальным бесплодием воспалительного генеза на основании расширенного обследования с использованием бактериологического, иммунологического и иммуногенетического методов исследования.

Задачи исследования:

1. Изучить анамнестические данные и клинические особенности бесплодных пациенток с патологическими изменениями маточных труб и бесплодия неуточненного генеза с исключенным трубно-перитонеальным фактором.
2. Оценить значимость антител к *Chlamydia trachomatis* в прогнозировании трубного фактора бесплодия.
3. Исследовать содержимое маточных труб и перитонеальной жидкости, полученных интраоперационно, на наличие ДНК к *Trichomonas vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Ureaplasma urealyticum* в смывах с маточных труб методом ПЦР у пациенток с патологией маточных труб и без во время проведения лечебно-диагностической или диагностической лапароскопии.
4. Оценить бактериологическое исследование содержимого маточных труб на наличие аэробной, анаэробной микрофлоры у женщин с патологией маточных труб и без видимого повреждения маточных труб.
5. Определить роль полиморфных вариантов rs6958571 гена NOD1 (A>C) и rs2066847 гена NOD2 (CCC>CC) генома женщин с бесплодием в восприимчивости к хламидийной инфекции и потенцировании восходящего пути распространения *Chlamydia trachomatis*.
6. Разработать персонализированный подход к стратификации пациенток с бесплодием

на основании оценки риска трубно-перитонеального фактора, ассоциированного с перенесенной хламидийной инфекцией.

Научная новизна.

Впервые проведено одномоментное исследование сыворотки крови на антитела к *Chlamydia trachomatis*, смывов с маточных труб и перитонеальной жидкости на содержание ДНК *Trichomonas vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Ureaplasma urealyticum* в совокупности с бактериологическим исследованием на наличие аэробной и анаэробной микрофлоры у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием, без видимого повреждения маточных с ИППП в анамнезе, а также у пациенток группы контроля.

Впервые сопоставлены данные исследования полиморфных вариантов rs6958571 гена *NOD1* (A>C) и rs2066847 гена *NOD2* (CCC>CC) с результатами исследования антител к *Chlamydia trachomatis* у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием и без видимого повреждения маточных с ИППП в анамнезе и пациенток группы контроля.

Усовершенствован и внедрен в клиническую практику алгоритм ведения бесплодных пациенток с перенесенной хламидийной инфекцией.

Теоретическая и практическая значимость работы.

В результате анализа данных ПЦР диагностики смывов с маточных труб и перитонеальной жидкости на содержание ДНК *Trichomonas vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Ureaplasma urealyticum* и бактериологического исследования на наличие аэробной и анаэробной микрофлоры у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием и без видимого повреждения маточных с ИППП в анамнезе, а также у пациенток группы контроля показано отсутствие какой-либо флоры в указанных локализациях во всех группах.

Доказано, что для пациенток с перенесенной хламидийной инфекцией в анамнезе характерно повышение IgG к HSP60 *Chlamydia trachomatis* и IgG к MOMP *Chlamydia trachomatis* в сыворотке крови.

Подтверждена прогностическая значимость антител к HSP60 *Chlamydia trachomatis* в предекции трубно-перитонеального бесплодия у пациенток с перенесенной хламидийной инфекцией. Диагностическая ценность исследования этих иммуноглобулинов в совокупности с IgG к MOMP подтверждена математическим анализом на основе «дерева решений» и ROC.

Исследование полиморфных вариантов rs6958571 гена *NOD1* (A>C) и rs2066847 гена *NOD2* (CCC>CC) не показало эффективность данных маркеров в прогнозе повреждения маточных труб до оперативного вмешательства у бесплодных женщин с перенесенной хламидийной инфекцией в анамнезе.

Разработан алгоритм ведения бесплодных пациенток с указанием на перенесенную хламидийную инфекцию в анамнезе, позволяющий выбрать оптимальную лечебную тактику, направленную на преодоление бесплодия.

Положения, выносимые на защиту:

1. Анализ анамнестических данных и клинических особенностей бесплодных пациенток с патологическими изменениями маточных труб и с исключенным трубно-перитонеальным фактором бесплодия не позволяет прогнозировать степень повреждения маточных труб и выраженность спаечного процесса.

2. Бактериологическое исследование и ПЦР диагностика свидетельствуют об отсутствии ИППП (*Trichomonas vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*), а также аэробной и анаэробной микрофлоры в содержимом маточных труб и перитонеальной жидкости пациенток с трубно-перитонеальным бесплодием и отсутствием патологии маточных труб.

3. Прогностическим фактором непроходимости маточных труб после перенесенной хламидийной инфекции является повышение титра иммуноглобулинов G к HSP60 *Chlamydia trachomatis*. Увеличенный титр IgG к HSP60 и MOMP *Chlamydia trachomatis* свидетельствуют не только о ранее перенесенной хламидийной инфекции, но и наличии спаечного процесса разной степени тяжести с чувствительностью (Se) 81% и специфичностью (Sp) 91%.

4. Определение полиморфных вариантов rs6958571 гена *NOD1* (A>C) и rs2066847 гена *NOD2* (CCC>CC) с целью прогноза трубно-перитонеального бесплодия не показано у пациенток с указанием на перенесенную хламидийную инфекцию в анамнезе.

Апробация, внедрение и личный вклад автора.

Для выполнения настоящей работы в исследование включена выборка пациентов, в достаточном объеме по количеству и однородная по клинико-анамнестическим показателям. Использованы современные лабораторные, инструментальные и статистические методы исследований с применением критериев доказательной медицины. Результаты, полученные автором, свидетельствуют о решении поставленных задач. Выводы объективно и полноценно отражают результаты проведенных исследований.

Основные положения и полученные результаты диссертационной работы докладывались и получили положительную оценку на научно-практических конференциях и конгрессах: Международный конгресс «Proceeding of the Fourteenth International Symposium on Human Chlamydial Infection» (Zeist, The Netherlands, 2018 г.); VI Межрегиональная научно-практическая конференция «Приоритетные задачи репродуктивного здоровья и пути их

решения» Ростовского государственного медицинского университета (г. Ростов-на-Дону, 2018 г.); Межрегиональная научно-практическая конференция «Современные методы диагностики и лечения акушерской и гинекологической патологии» (г. Нижний Новгород, 2018 г.); 2-й научный конгресс с международным участием «Инновации в акушерстве и гинекологии и репродуктологии» (г. Санкт-Петербург, 2019 г.); Международный конгресс STI&HIV 2019 World Congress Joint Meeting of the 23rd ISSTD and 20th IUSTI (Vancouver, Canada, 2019 г.); Межрегиональная научно-практическая конференция «Здоровье женщины- здоровье нации» (г. Краснодар, 2020 г.); 86 Региональная образовательная школа РОАГ (г. Ростов-на-Дону, 2022 г.)

Результаты диссертационного исследования внедрены в лечебную работу гинекологического отделения МБУЗ «Городской больницы №6 г. Ростова-на-Дону. По теме работы опубликованы 11 научных статей, из них 6 - в рецензируемых журналах, включенных в перечень изданий, рекомендованных ВАК РФ.

Автором лично проведено обследование пациенток по установленному плану исследования, а также анализ медицинской документации. Самостоятельно выполнен сбор, обработка и анализ полученного материала, формулировка основных положений диссертационной работы. Автором разработан алгоритм ведения пациенток с перенесенной хламидийной инфекцией, позволяющий сократить необоснованные манипуляции в связи с неэффективностью и определить группу пациенток, направленных на экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО). Вклад автора является определяющим и заключается в непосредственном участии на всех этапах исследования

Структура диссертации.

Диссертация изложена на 131 страницах печатного текста, состоит из введения, 5 глав, заключения, выводов и практических рекомендаций, содержит 23 таблиц, 1 схемы и 20 рисунков. Библиографический указатель включает 227 источников, из которых 172 источника зарубежной литературы.

Содержание работы

Материалы исследования

Обследование и наблюдение за пациентками осуществлялось согласно приказу Министерства здравоохранения РФ от 01.11.2012 № 572-н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)». Обязательным условием для включения в исследование было наличие информированного согласия на его проведение. Научное исследование было одобрено локальным Этическим комитетом (Протокол № 8, от 14.12.2022г).

В исследование были включены 93 пациентки репродуктивного возраста от 19 до 40 лет с жалобами на бесплодие.

I этап исследования включал в себя оценку жалоб, клинико-анамнестических данных, разработку критериев включения и исключения пациенток из исследования, регистрацию медицинской документации, статистическую обработку полученных данных, анализ и обобщение полученных результатов. В соответствии с поставленными целью и задачами разработан алгоритм исследований, предусматривающий клинико-анамнестические и лабораторные методы диагностики, статистическую обработку полученных результатов. Настоящее исследование было ретроспективным, когортным в сравниваемых группах. Критерии включения: наличие письменного информированного согласия пациента на участие в исследовании, возраст женщин от 18 до 40 лет, установленный диагноз женское бесплодие, наличие письменного информированного согласия пациентки на проведение лапароскопии, отсутствие лабораторно подтвержденной генитальной инфекции на момент госпитализации. Критерии исключения пациентов в исследование: возраст до 18 лет или старше 40 лет, наличие онкопатологии или подозрение на нее, пациентки с сопутствующими гинекологическими заболеваниями - миома матки, генитальный эндометриоз, пороки развития внутренних органов, острые и подострые воспалительные заболевания органов малого таза, пациентки с тяжелой экстрагенитальной патологией, острые воспалительные заболевания любой другой локализации.

Коды МКБ для всех пациенток, включенных в данное исследование, соответствовали N97.1 и N97.9.

На **II этапе** исследования всем пациенткам была выполнена лапароскопия для исключения трубно-перитонеального фактора бесплодия. После выполнения лапароскопии женщины были распределены на 2 группы. Первая группа была разделена на две подгруппы, IA (32 женщины) составили пациентки с бесплодием трубно-перитонеального генеза, у которых спаечный процесс в малом тазу возник в результате перенесенных воспалительных заболеваний органов малого таза. Во вторую подгруппу IB (25 женщин) были включены пациенты с указанием в анамнезе на перенесенную хламидийную инфекцию, но с отсутствием патологии маточных труб при лапароскопии. II группа сравнения (36 женщины) представлена пациентами с бесплодием и с верифицированным при лапароскопии отсутствием патологии маточных труб. В анамнезе у данной когорты больных не было указаний на перенесенную хламидийную инфекцию и воспалительные заболевания органов малого таза.

На **III этапе** проведен заключительный статистический анализ между исследуемыми группами, определены основные характеристики положительных и отрицательных сторон молекулярно-генетического, бактериологического, иммуноферментного методов исследования и сформулированы выводы.

Методы и условия клинико-лабораторных и инструментальных исследований

Общеклиническое исследование включало сбор анамнестических данных, изучение соматической и гинекологической заболеваемости, репродуктивного здоровья женщин.

К инструментальным методам исследования относят: ультразвуковое исследование (УЗИ), эндоскопический метод, гистероскопию, бактериологический метод исследования, молекулярно-биологические методы исследования, молекулярно-генетические методы исследования (выделение геномной ДНК, полимеразная цепная реакция), иммуноферментный анализ, статистический анализ.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Общая клиническая характеристика пациенток, включенных в исследование.

Согласно данным лапароскопии, у пациенток IA подгруппы был обнаружен спаечный процесс органов малого таза III-IV степени в сочетании с непроходимостью маточных труб. У 25 женщин в IB подгруппе был обнаружен спаечный процесс органов малого таза I-II степени без патологии маточных труб. Возникновение спаечного процесса было обусловлено ранее перенесенными оперативными вмешательствами. У пациенток третьей группы спаечного процесса и патологии маточных труб обнаружено не было. Пациентки всех групп были сопоставимы по возрасту, менструальному и репродуктивному анамнезу. Возраст исследуемых пациенток варьировал от 19 до 40 лет, медиана (межквартильный размах) возраста составила 29 [25; 32] лет. В IA подгруппе медиана возраста составила 30 [26,5; 35,0] лет. В IB подгруппе медиана возраста составила 30 [27; 33] лет, в группе контроля - 27 [25; 29,5] лет соответственно. Исследование антропометрических данных основывалось на вычислении индекса массы тела (ИМТ) по формуле Кетле. Индекс массы тела оценивался согласно рекомендациям ВОЗ. Дефицит массы тела – ИМТ менее 18,5 кг/м², нормальный ИМТ – 18,5-24,9 кг/м², избыточная масса тела – 25,0-29,9 кг/м², ожирение I степени – 30,0-34,9 кг/м², ожирение II степени – 35,0-39,9 кг/м², ожирение III степени – более 40,0 кг/м². ИМТ = кг/м², где М – масса тела, в кг, Р – рост, в метрах. Медиана массы тела включенных в исследование женщин составила в IA подгруппе равнялась 23 [22,1; 24] кг/м², в IB подгруппе ИМТ – 23,1 [22,3; 24,5] кг/м², во II группе сравнения ИМТ составил 22,8 [22,1; 23,0] кг/м² (p>0,05). Медиана возраста менархе в IA подгруппе составила 13 [12; 14] лет, в IB подгруппе – 12 [12; 14] лет, и во II группе сравнения – 13 [13; 14] лет (p>0,05). Все пациентки, включенные в данное исследование, отмечали регулярный менструальный цикл, не имели эндокринных и других тяжелых соматических заболеваний. Медиана длительности менструального кровотечения составила в IA подгруппе составила – 5 [5; 6] дней, во IB подгруппе – 5 [5; 6] дней, и во II группе сравнения – 5 [5; 6] дней. Пациентки всех групп достоверных отличий по длительности менструации не имели

($p > 0,05$). Медиана продолжительности менструального цикла в IA подгруппе – 29 [28; 30] дней, в IB подгруппе – 29 [28; 30] дней, и во II группе сравнения – 28 [28; 29] дней. При анализе показатели менструальной функции пациенток исследуемых групп достоверных отличий не выявлено ($p > 0,05$). При изучении анамнеза пациенток было выявлено, что возраст начала половой жизни у женщин указанных групп достоверно не отличался. Медиана возраста начала половой жизни в IA подгруппе составила 18 [17; 19,5] лет, в IB подгруппе – 18 [18; 19,5] лет, и во II группе сравнения – 19 [18; 20] лет ($p > 0,05$). При анализе репродуктивной функции пациенток было установлено, что у 86% женщин контрольной группы репродуктивная функция не была реализована, а у пациенток IA и IB подгрупп в 31 % случаев и 20% соответственно, беременность закончилась первыми срочными родами. При анализе репродуктивных потерь у женщин сравниваемых групп (аборты, выкидыш, внематочная беременность) не установлено достоверно значимых различий. Статистически значимые различия между частотой вторичного бесплодия были также выявлены у женщин IA и IB подгруппами по сравнению с пациентками II группы ($p < 0,05$). В отношении ранее перенесенных гинекологических заболеваний между пациентками исследуемых групп значимых отличий не выявлено ($p > 0,05$). При оценке перенесенных ранее оперативных вмешательств были установлены значимые различия у пациенток IA и IB подгруппами ($p = 0,0001$). Спаечный процесс органов малого таза I-II степени в сочетании с отсутствием патологии маточных труб с высоким уровнем значимости встречались в IB подгруппе по сравнению со IA подгруппой пациенток ($p = 0,0001$). Во второй группе указаний в анамнезе на выполнение оперативных вмешательств не было. Поражение маточных труб в первой группе являлось некурабельным при проведении хирургического лечения. Следует отметить, что во второй группе при проведении лапароскопии и выполнении тотального адгезиолизиса маточные трубы были проходимы, несмотря на степень спаечного процесса. Вероятно, формирование спаек в этой группе было обусловлено перенесенными оперативными вмешательствами.

Результаты молекулярно-генетического исследования.

Молекулярно-генетическое исследование методом ПЦР в реальном времени содержимого маточных труб и перитонеальной жидкости, полученных интраоперационно, проводилось с определением ДНК к *Trichomonas vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*. Забор материал осуществлялся у пациенток всех групп. Согласно анализу полученных результатов, ни у одной из обследуемых пациенток всех групп не было выявлено ДНК перечисленных возбудителей инфекций, передаваемых половым путем, ни в перитонеальной жидкости, ни в содержимом маточных труб. Что касается обследования на вышеперечисленные инфекции биологического

материала из цервикального канала, то изначально условием включения в исследование и выполнения хирургического вмешательства были отрицательные результаты обследования.

Проведен сравнительный анализ распределения полиморфизмов rs6958571 гена *NOD1* ($A>C$) и rs2066847 гена *NOD2* ($CCC>CC$). Выделение геномной ДНК из клеток крови проводилось с использованием набора реагентов Genomik DNA Mini Kit PureLink (Invitrogen by Thermo Fisher Scientific). ДНК выделяли из лейкоцитов крови с помощью реагента «ДНК-экспресс кровь» (НПФ "ЛИТЕХ", Россия) согласно прилагаемой инструкции.

В результате исследования установлено отсутствие статистически значимых различий в частоте полиморфизма rs6958571 гена *NOD1* ($A>C$) между подгруппами группы I ($p>0,05$) и в сравнении II группы с подгруппами (группа II versus подгруппа IA ($p>0,05$) и группа II versus подгруппа IB ($p>0,05$)). При анализе rs2066847 гена *NOD2* ($CCC>CC$) также не отмечено статистически значимых различий между подгруппами группы I ($p>0,05$) и в сравнении контрольной группы с подгруппами (группа II versus подгруппа IA ($p>0,05$) и группа II versus подгруппа IB ($p>0,05$)).

Результаты бактериологического исследования.

Нами был проведен анализ результатов бактериологического исследования содержимого маточных труб на наличие аэробной, анаэробной микрофлоры и грибов рода *Candida*. Несмотря на то, что женщины IA и IB подгрупп были изначально представлены как пациентки с высокой степенью инфекционного риска, тем не менее, в обеих подгруппах условно-патогенная флора выявлена не была.

Существует мнение, что степень поражения эпителия маточных труб у пациенток, перенесших хламидийную инфекцию, зависит от длительности нахождения патогена в организме хозяина [Rantsi T. et al., 2018]. Однако мы не можем сказать, как долго хламидийная инфекция находилась в организме у пациенток IA и IB подгрупп, поскольку анамнестические данные не всегда свидетельствуют о перенесенной инфекции с клиническими проявлениями и лабораторным подтверждением. При этом даже в отношении пациентов с положительным результатом ПЦР вагинального отделяемого к *S. trachomatis* в анамнезе нельзя быть уверенным, что хламидийная инфекция верхних отделов половых путей обязательно вызывает активный воспалительный ответ, имеющий необратимое воздействие на репродуктивную функцию. До конца остается неясным, могут ли жизнеспособные, метаболически активные хламидии присутствовать в слизистой оболочке маточных труб в течение длительного периода времени, не приводя к окклюзии маточных труб. С другой стороны, мы не знаем, когда макроорганизм начинает активно бороться с инфекцией, что является пусковым механизмом, и когда происходит

элиминация возбудителя, после чего мы имеем отрицательные результаты на ИППП, но необратимые поражения эпителия маточных труб.

Уровень иммуноглобулинов HSP60, MOMP к *C. trachomatis* в исследуемых группах.

В патогенезе бесплодия трубного генеза *Chlamydia trachomatis* отводится центральное место. Одной из задач исследования было изучение прогностической роли основного белка внешней мембраны (MOMP), белка теплового шока 60 (HSP60) и иммуноглобулинов G к *Chlamydia trachomatis*.

Согласно полученным нами данным, IgG к *Chlamydia trachomatis* были обнаружены в IA подгруппе с выявленной при лапароскопии непроходимостью маточных труб у 26 (81%) из 32 пациенток, антитела к HSP60 *Chlamydia trachomatis* были обнаружены у 24 (75%), IgG к MOMP *Chlamydia trachomatis* - у 28 (88%), соответственно. В IB подгруппе с указанием на перенесенную хламидийную инфекцию в анамнезе и проходимыми маточными трубами IgG к *C. trachomatis* были обнаружены у 20 (80%) из 25 пациенток, IgG к HSP60 *C. trachomatis* - у 10 (40%), IgG к MOMP *C. trachomatis* - у 24 (86%) обследуемых пациенток. В группе контроля у 2 (6%) из 36 пациенток были обнаружены IgG к MOMP *C. trachomatis* при отсутствии IgG к *Chlamydia trachomatis* и IgG к MOMP *Chlamydia trachomatis* (табл. 1).

Таблица 1. Частота выявления уровня антител к *Chlamydia trachomatis*.

Определение антител к <i>Chlamydia trachomatis</i>	Группы			P (Хи-квадрат Пирсона)
	IA (n=32)	IB (n=25)	II (n=36)	
IgG к <i>Chlamydia trachomatis</i>	26 (81%)	20 (80%)	0% (0)	$P_{IA-IB} < 0,001$
IgG к HSP60 <i>Chlamydia trachomatis</i>	24 (75%)	10 (40%)	0% (0)	$P_{IA-IB} < 0,001$
IgG к MOMP <i>Chlamydia trachomatis</i>	28 (88%)	24 (86%)	2 (6%)	$P_{IA-IB} < 0,001$ $P_{IA-II} < 0,001$ $P_{IB-II} < 0,001$

В дальнейшем для решения практических и теоретических задач нами был выполнен анализ «Деревья решений», для нахождения правил классификации по всем парам подгрупп (IB-II; IA-II; IA-IB; IA-IB-II).

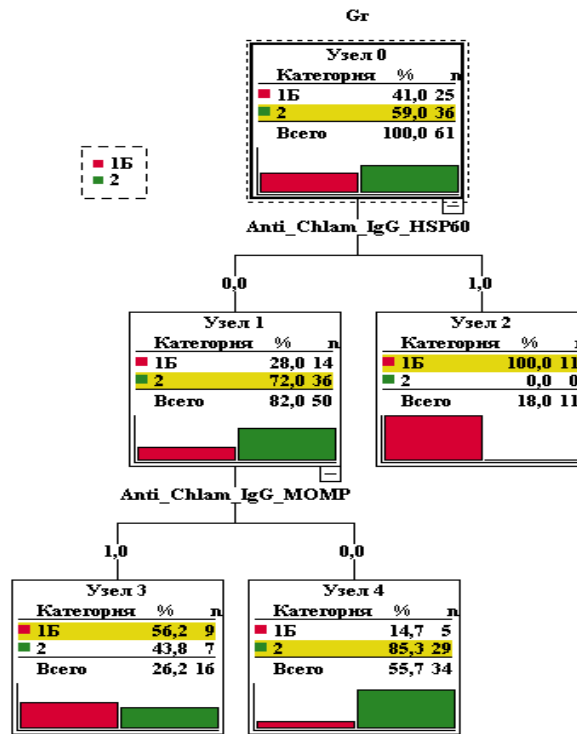


Рисунок 1. Дерево классификации для подгруппы IB и II группы.

Из рисунка 1 можно выделить решающие правила:

Если IgG HSP60=1

Если IgG HSP60=0 и IgG MOMP=1

(1)

На основе этих правил из входного потока пациентов можно выделить подгруппу IB с чувствительностью (Se) 74% и специфичностью (Sp) 85%.

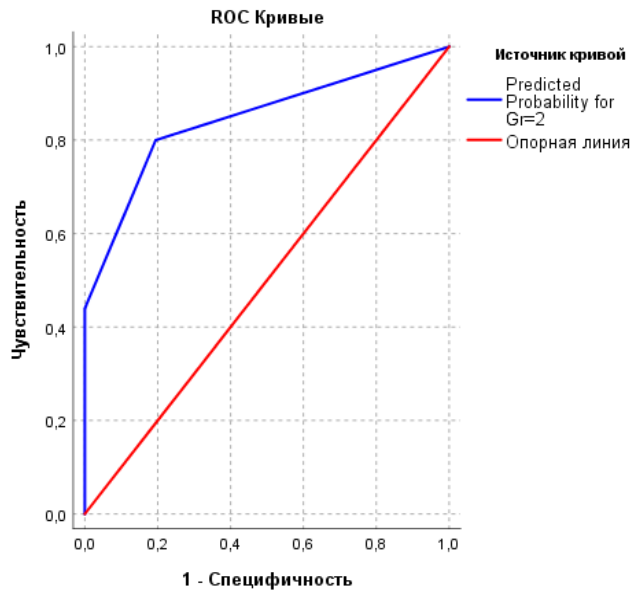
Статистическая значимость (4 различных способа расчёта) и сила связи между фактором риска и исходом этих оценок (3 различных способа расчёта) характеризуется таблицей для IB и группой сравнения (II) (табл. 2).

Таблица 2. Критерии оценки силы связи между фактором риска и исходом.

Наименование критерия	Значение критерия	Сила связи*
Критерий ϕ	0,600	относительно сильная
Коэффициент сопряженности Пирсона (C)	0,514	относительно сильная
Нормированное значение коэффициента Пирсона (C')	0,727	Сильная

* - интерпретация полученных значений статистических критериев согласно рекомендациям Rea&Parker

Диагностическая мощь алгоритма подтверждается ROC анализом, вытекающим из этого дерева решений (рис. 2).



Площадь под кривой 0,85

Рисунок 2. ROC кривая, классифицирующая подгруппу IB и группу II.

Аналогичным образом находим правила классификации для подгруппы IA-II (рис. 3).

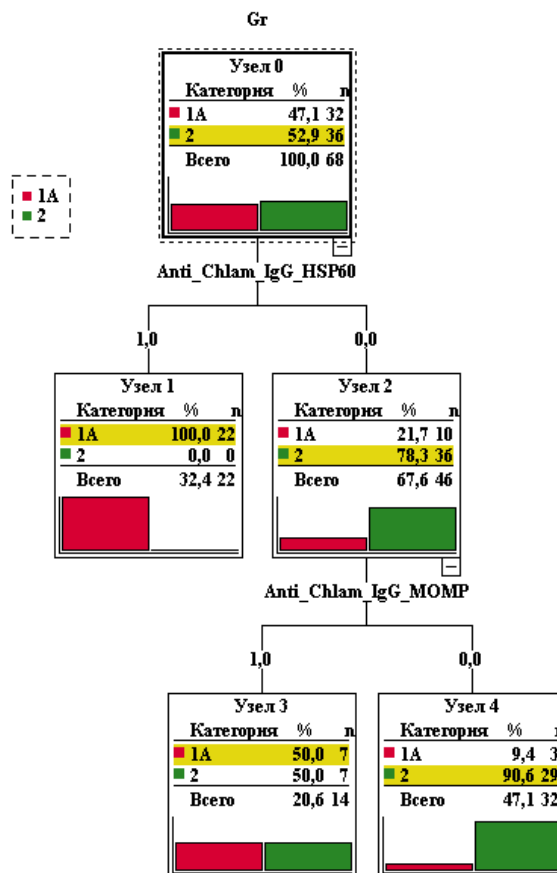


Рисунок 3. Дерево классификации для подгрупп IA и II.

Из рисунка 3 можно выделить решающие правила:

Если IgG HSP60=1

IgG MOMP=1 и если IgG HSP60=0

} (2)

На основе этих правил из входного потока пациентов можно выделить подгруппу IA с чувствительностью (Se) 81% и специфичностью (Sp) 91%.

Статистическая значимость (4 различных способа расчёта) и сила связи между фактором риска и исходом этих оценок (3 различных способа расчёта) характеризуется таблицей для IA и II группы (табл. 3).

Таблица 3. Критерии оценки силы связи между фактором риска и исходом.

Наименование критерия	Значение критерия	Сила связи*
Критерий ϕ	0,712	Сильная
Коэффициент сопряженности Пирсона (C)	0,580	Относительно сильная
Нормированное значение коэффициента Пирсона (C')	0,820	Очень сильная

* - интерпретация полученных значений статистических критериев согласно рекомендациям Rea&Parker

Диагностическая мощь алгоритма подтверждается ROC анализом, вытекающим из этого дерева решений (рис. 4).

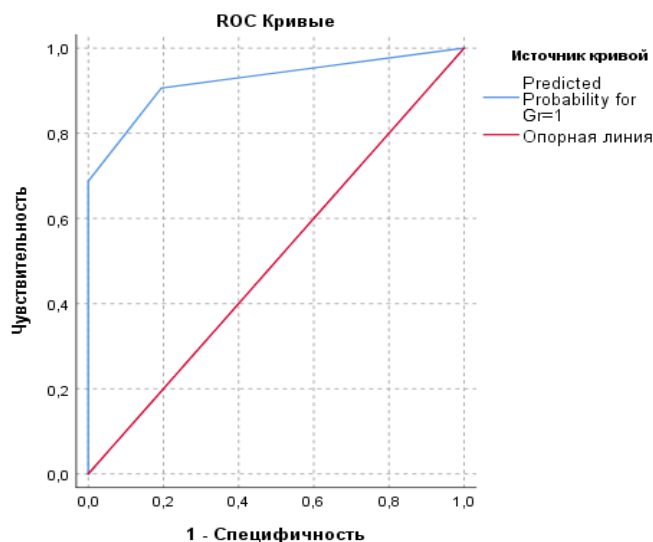


Рисунок 4. ROC кривая, классифицирующая подгруппу IA и группу II.

Площадь под кривой 0,92

А каково взаимодействие переменных (IgG HSP60, IgG MOMP) между 2-мя подгруппами патологий (IA и IB). Результат анализа представленных взаимоотношений обозначен на рисунке 4.

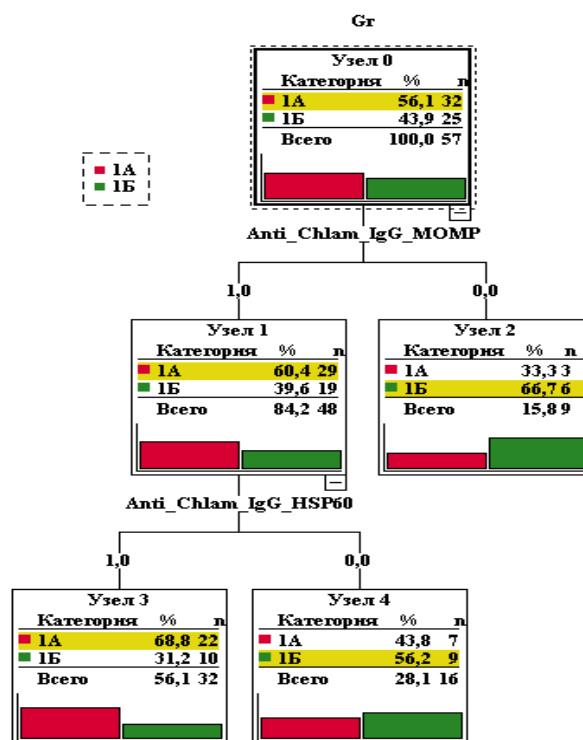


Рисунок 5. Дерево классификации для подгрупп IA и IB.

Выделяем решающее правило для IA подгруппы:

$IgG\ MOMP=1$ и $IgG\ HSP60=1$

Выделяем решающее правило для IB подгруппы:

Если $IgG\ MOMP=0$

Если $IgG\ MOMP=1$ и $IgG\ HSP60=0$

(3)

На основе которых из входного потока пациентов можно выделить подгруппу IA с чувствительностью (Se) 69% и специфичностью (Sp) 60%.

Статистическая значимость (4 различных способа расчёта) и сила связи между фактором риска и исходом этих оценок (3 различных способа расчёта) характеризуется таблицей для IA и IB подгрупп (табл. 4, 5,6).

Таблица 4. Критерии оценки силы связи между фактором риска и исходом

Наименование критерия	Значение критерия	Сила связи*
Критерий ϕ	0,287	Средняя
Коэффициент сопряженности Пирсона (C)	0,276	Средняя
Нормированное значение коэффициента Пирсона (C')	0,391	Средняя

* - интерпретация полученных значений статистических критериев согласно рекомендациям Rea&Parker

Диагностическая мощь алгоритма подтверждается ROC анализом, вытекающим из этого дерева решений.

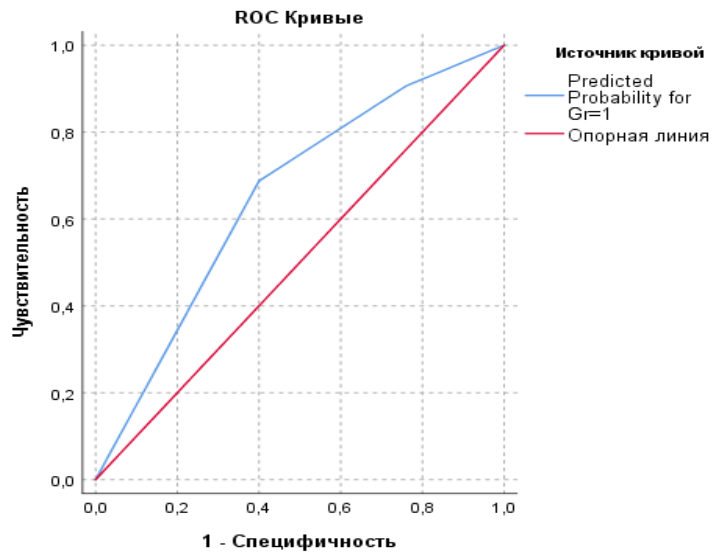


Рисунок 6. ROC кривая, классифицирующая подгруппу IA и IB.
Площадь под кривой 0,65

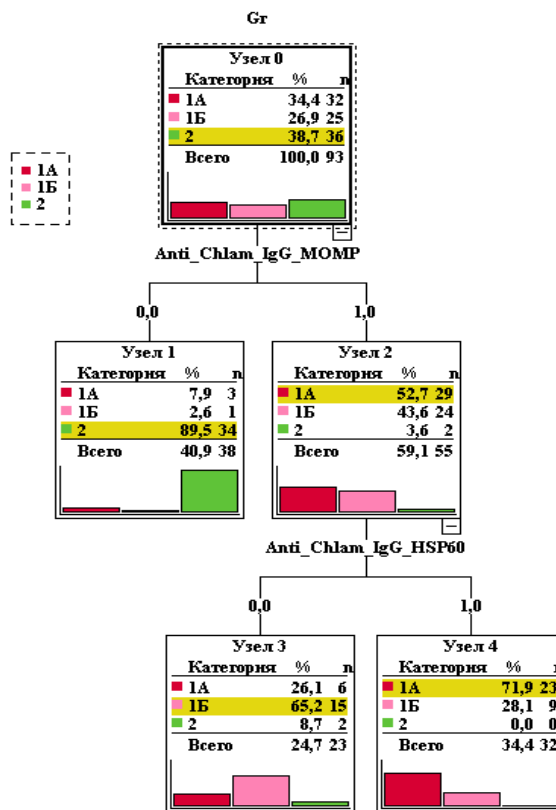


Рисунок 7. Дерево классификации для подгрупп IA и IB и группы контроля.

Выделяем решающее правило для IA подгруппы:

IgG MOMP=1 и IgG HSP60=1

Выделяем решающее правило для II группы:



Если IgG MOMP=0

Выделяем решающее правило для IB подгруппы:

Если IgG MOMP=1 и IgG HSP60=0

На основе решающих правил из входного потока пациентов можно выделить подгруппу IA с чувствительностью (Se) 98% и специфичностью (Sp) 91%, и группу IB с чувствительностью (Se) 75% и специфичностью (Sp) 92%.

Таблица 5. Критерии оценки силы связи между фактором риска и исходом.

Наименование критерия	Значение критерия	Сила связи*
Критерий ϕ	0,902	очень сильная
Коэффициент сопряженности Пирсона (C)	0,670	Сильная
Нормированное значение коэффициента Пирсона (C')	0,947	очень сильная

* - интерпретация полученных значений статистических критериев согласно рекомендациям Rea&Parker

Диагностическая мощь алгоритма подтверждается ROC анализом, вытекающим из этого дерева решений (рис. 8).

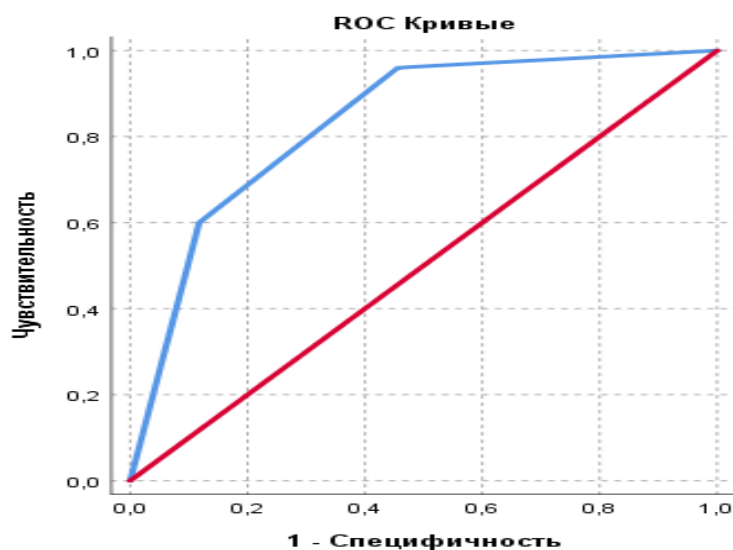


Рисунок 8. ROC кривая, классифицирующая подгруппу IA и II группу.

Площадь под кривой 0,83

Таблица 6. Критерии оценки силы связи между фактором риска и исходом.

Наименование критерия	Значение критерия	Сила связи*
Критерий ϕ	0,639	Сильная
Коэффициент сопряженности Пирсона (C)	0,539	относительно сильная
Нормированное значение коэффициента Пирсона (C')	0,762	Сильная

* - интерпретация полученных значений статистических критериев согласно рекомендациям Rea&Parker

Диагностическая мощь алгоритма подтверждается ROC анализом, вытекающим из дерева решений (рис. 9).

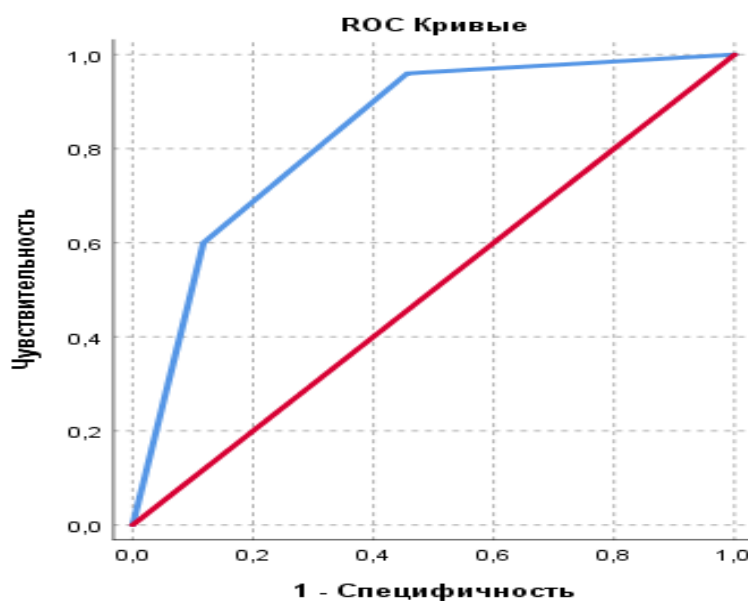


Рисунок 9. ROC кривая, классифицирующая подгруппу IB и II группу.

Площадь под кривой 0,84

Результаты исследования в обеих подгруппах первой группы в сравнении с группой контроля свидетельствуют в пользу того, что так или иначе высокий титр антител с большой долей вероятности подтверждает перенесенную хламидийную инфекцию, вызванную именно *Chlamydia trachomatis*, и не является перекрестной реакцией к другим типам хламидий. Однако судить о поражении маточных труб вследствие инфицирования *Chlamydia trachomatis*, восходящего в верхние отделы гениталий, более достоверно можно по уровню HSP60.

При сравнении основной группы с группой контроля были получены статистически значимые отличия по всем антителам. Однако, несмотря на статистически значимые различия между подгруппами по уровню антител в сыворотке крови, мы не можем со 100% уверенностью прогнозировать наличие патологии маточных труб. И все-таки, чем выше уровень антител, тем больше вероятность необратимого поражения маточных труб, на что указывают выявленные нами различия между подгруппами в первой группе – с перенесенной хламидийной инфекцией с визуальным поражением маточных труб или без такового.

Кроме того, даже когда мы не верифицировали видимую патологию маточных труб у пациенток в подгруппе Б первой группы, это не исключало нарушение функциональной активности непосредственно эпителия маточных труб, что, безусловно, снижает шансы на наступление беременности по сравнению с женщины с отрицательным серологическим анализом на Ig к *Chlamydia trachomatis*.

ВЫВОДЫ

1. Анализ клинико-anamnestических данных пациенток с трубно-перитонеальным бесплодием не позволяет выявить факторы, способствующие восходящему пути инфицирования хламидийной инфекции с формированием необратимых патологических изменений маточных труб и выраженного спаечного процесса.

2. Высокий титр антител к HSP60 *Chlamydia trachomatis* является прогностическим фактором непроходимости маточных труб. Точность неинвазивной диагностики трубно-перитонеального бесплодия на основании исследования повышенного титра HSP60 совместно с IgG к МOMP *Chlamydia trachomatis* имеет чувствительность (Se) 81% и специфичностью (Sp) 91%.

3. У женщин после перенесенной хламидийной инфекции в анамнезе с бесплодием трубного генеза и отсутствием повреждения маточных труб, а также с бесплодием неясного генеза аэробная и анаэробная микрофлора в смывах маточных труб и перитонеальной жидкости бактериологическими методами не определяется.

4. Данные ПЦР диагностики на *Trichomonas vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Neisseria gonorrhoeae* и *Ureaplasma urealyticum/parvum* в смывах маточных труб и перитонеальной жидкости у бесплодных женщин с трубно-перитонеальным фактором бесплодия и отсутствием повреждения маточных труб отрицают наличие ИППП в верхних отделах генитального тракта.

5. У женщин с бесплодием трубного генеза после перенесенной хламидийной инфекции не выявлены отличия в полиморфных вариантах rs6958571 гена *NOD1* (A>C) и s2066847 гена *NOD2* (CCC>CC) при сравнении с пациентками с отсутствием патологии маточных труб.

6. У бесплодных женщин с перенесенной хламидийной инфекцией в анамнезе исследование HSP60 совместно с IgG к МOMP *Chlamydia trachomatis* предложено как маркер неинвазивной диагностики патологии маточных труб, позволяющий предполагать неэффективность манипуляционной лапароскопии и определить дальнейшую тактику ведения бесплодных пациенток в пользу лапароскопии и ЭКО.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Всем женщинам с не исключённым трубно-перитонеальным фактором бесплодия показано определение уровня IgG к МOMP *Chlamydia trachomatis* и IgG к HSP60 *Chlamydia trachomatis*.

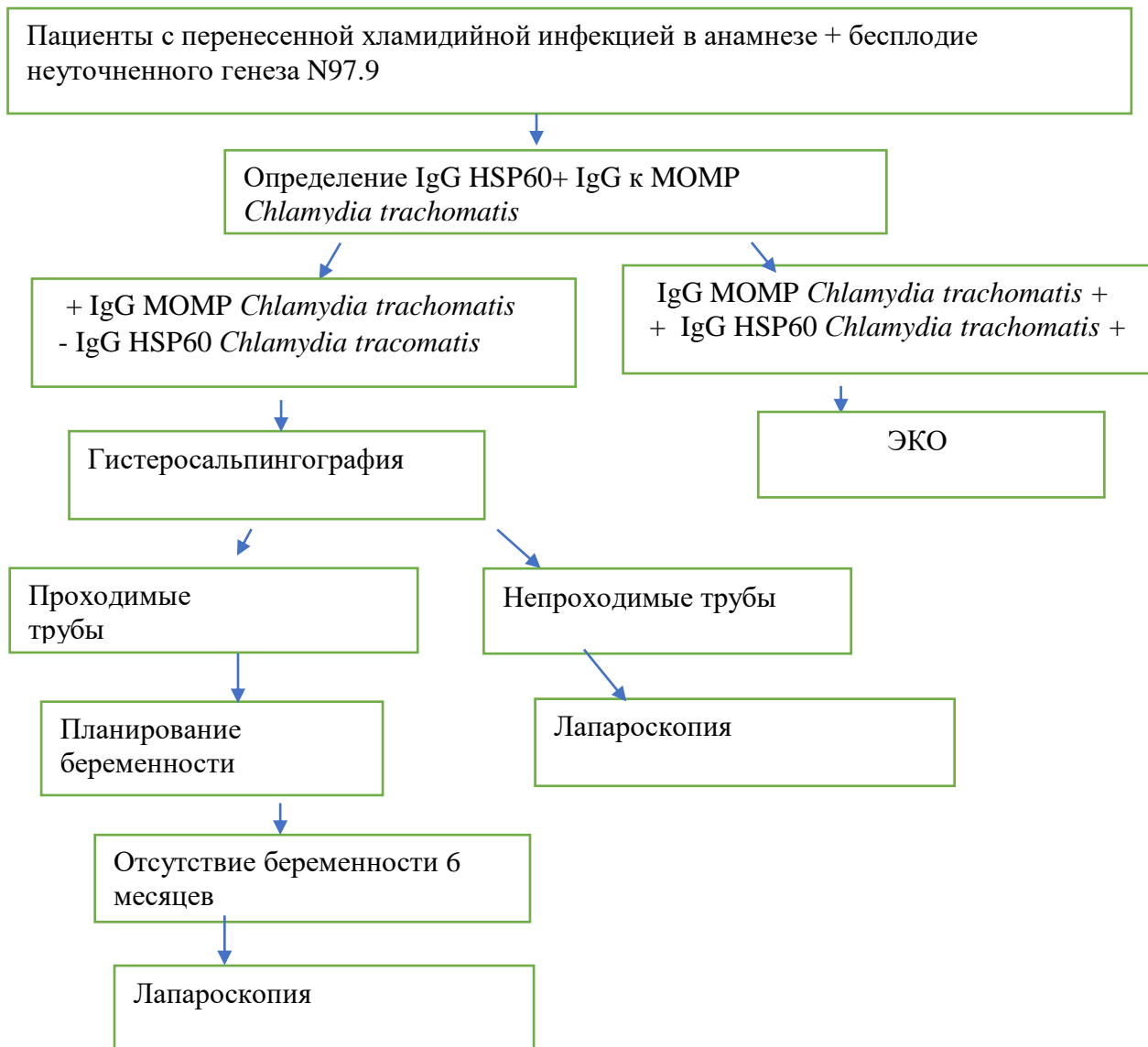
2. При положительном титре IgG к МOMP *Chlamydia trachomatis* и отрицательном результате IgG к HSP60 *Chlamydia trachomatis* показана соногистеросальпингоскопия. При

проходимых маточных трубах рекомендовано спонтанная беременность, при отсутствии которой в течение 6 месяцев показано ЭКО. При отсутствии проходимости маточных труб, подтвержденным при помощи соногистеросальпингоскопия, рекомендовано применение диагностической лапароскопии.

3. У женщин с положительными титрами IgG к HSP60 и MOMP *Chlamydia trachomatis* высока вероятность необратимого повреждения фаллопиевых труб в сочетании с выраженным спаечным процессом. В этом случае целесообразность лапароскопии сомнительна. Пациенткам следует рекомендовать ЭКО.

Внедрение предложенного алгоритма ведения пациенток позволит сократить необоснованные манипуляции в связи с неэффективностью и определить группу пациенток, направленных на ЭКО.

Схема 1. Алгоритм ведения пациенток с бесплодием + перенесенной хламидийной инфекцией.



Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Genital tract infection of women with verified disease by laparoscopy and women with normal laparoscopic results / Dubrovina S., Ardinceva O., Dudareva M., Bichul O., Salnikova O. // Proceeding of the Fourteenth International Symposium on Human Chlamydial Infection. Zeist. The Netherlands, July 1-6, 2018. - P-0012. p.436
2. **Инфекции генитального тракта у женщин с верифицированной при лапароскопии патологией маточных труб и нормальными результатами лапароскопии / Дубровина С.О., Ардинцева О.А. // Гинекология. -2018.- Т. 20, №1. - С. 75-77.**
3. Инфекции генитального тракта у женщин с верифицированной при лапароскопии патологией маточных труб и нормальными результатами лапароскопии / Дубровина С.О., Ардинцева О.А., Берлим Ю.Д. // Сборник тезисов VI Межрегиональной научно-практической конференции «Приоритетные задачи охраны репродуктивного здоровья», Ростов-на-Дону, 2018. – С. 9-10.
4. **К вопросу о диагностике, профилактике и терапии патологии шейки матки / Дубровина С.О., Ардинцева О.А., Красильникова Л.В., Варичева М.В., Африкьян О.А. // Гинекология. – 2018. – Т. 20, №.5. – С. 33-36.**
5. **Возможности эффективной профилактики рака шейки матки / Дубровина С.О., Ардинцева О.А., Варичева М.В., Гимбут В.С. // Акушерство и гинекология. - 2019. - №4. - С. 102-106.**
6. **Актуальные вопросы хламидийной инфекции / Дубровина С.О., Рубаник Л.В., Ардинцева О.А. // Акушерство и гинекология. - 2019. - №5. - С. 36-42.**
7. **Genital tract infection of women with and without tubal pathology / Dubrovina S., Ardinceva O. // Sexually Transmitted infections. - 2019. - P. 233- A146.**
8. **Факторы, влияющие на трудности диагностики и профилактики хламидийной инфекции / Дубровина С.О., Рубаник Л.В., Ардинцева О.А., Гимбут В.С. // Гинекология. – 2019. – Т. 21. – №. 3. – С. 26-29.**
9. Молекулярно-генетические маркеры иммунного ответа после перенесенной хламидийной инфекции / Дубровина С.О., Ардинцева О.А. // Сборник тезисов XV Общероссийского научно-практического семинара «Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии» и VIII Общероссийской конференции «Контраверсии неонатальной медицины и педиатрии», Сочи, 2021. – С. 21-22.
10. Значение хламидийной инфекции в патогенезе развития трубного бесплодия / Дубровина С. О., Ардинцева О. А. // Клинический разбор в акушерстве, гинекологии и репродуктологии. – 2021. - № 2. – С. 15-19.

11. Современные представления о роли генов NOD в патогенезе трубного бесплодия у пациенток с перенесенной хламидийной инфекцией / Дубровина С. О., Ардинцева О. А. // Вопросы практической кольпоскопии. Генитальные инфекции. – 2022. – №1. - С. 78-81.

Список сокращений и условных обозначений

ВЗОМТ - воспалительные заболевания органов малого таза

ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота

ИППП – инфекции, передаваемые половым путем

МКБ – Международная классификация болезней

ПЦР – полимеразная цепная реакция

IgG - иммуноглобулин G

HSP60 - Heat shock proteins (белок теплового шока)

МOMP - Major Outer Membrane Protein (главный белок наружной мембраны)

NOD - nucleotide-binding oligomerization domain