

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

На правах рукописи

Ардинцева Оксана Александровна

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

3.1.4 – акушерство и гинекология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель
доктор медицинских наук, профессор
Дубровина Светлана Олеговна

Уфа – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
ГЛАВА 1 ЗНАЧИМОСТЬ ХЛАМИДИЙНОЙ ИНФЕКЦИИ В ПАТОГЕНЕЗЕ БЕСПЛОДИЯ	24
1.1 Связь хламидийной инфекции с бесплодием.....	24
1.2 <i>Chlamydia trachomatis</i> как причина патологии маточных труб.....	28
1.3 Диагностика хламидийной инфекции.....	36
ГЛАВА 2 КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ, МЕТОДЫ ОБСЛЕДОВАНИЯ И ЛЕЧЕНИЯ	45
2.1 Общая клиническая характеристика пациенток, включенных в исследование.....	45
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	56
3.1 Результаты молекулярно-генетического исследования	56
3.2 Результаты бактериологического исследования	56
3.3 Уровень иммуноглобулинов HSP60, МОМР к <i>S. Trachomatis</i> в исследуемых группах	57
ГЛАВА 4 РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНА NOD 1 и NOD 2	78
ГЛАВА 5 ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	89
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	102
ВЫВОДЫ	103
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	105
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	106
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	108

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

В структуре бесплодного брака воспалительные заболевания органов малого таза (ВЗОМТ), приводящие к возникновению патологических изменений в виде спаечного процесса [16, 39, 37, 54] и повреждения маточных труб, занимают лидирующее место [1, 7]. *Neisseria gonorrhoeae* и *Chlamydia trachomatis* являются возбудителями, наиболее часто вызывающими ВЗОМТ [197]. Проблема топической диагностики и лечения генитальной хламидийной инфекции - одна из актуальных задач гинекологии [47, 50, 54], имеющая не только медицинское, но и социальное значение. Благодаря лабораторной диагностике возможно осуществлять контроль над распространением генитальных инфекций, передающихся половым путем (ИППП), в связи с высоким уровнем заболеваемости и особенностями клинического течения [10, 11, 53]. Диагностика хламидийной инфекции во многом затруднена [2, 41], что приводит к позднему выявлению возбудителя и, как следствие, необратимым последствиям в виде патологии эпителия маточных труб [1, 102].

Таким образом, верификация ИППП и назначение адекватного лечения без лабораторного подтверждения в настоящее время не представляется возможным. Приоритетным методом лабораторной диагностики урогенитальной хламидийной инфекции является полимеразная цепная реакция (ПЦР) [38]. В рекомендациях Европейского общества по инфекциям, передаваемым половым путем (IUSTI), подтверждается обязательность детекции распространенных генотипов и вариантов *Chlamydia trachomatis* [130, 190].

Есть предположение, что генетические вариации генов TLR и нуклеотидсвязывающие олигомеризационные доменные белки (NOD) могут влиять на функцию паттерн-распознающих рецепторы (PRR) рецепторов [88, 128, 129], что приводит к неадекватному распознаванию *Chlamydia trachomatis*, недостаточному иммунному ответу и, как следствие, повышенному риску

осложнений в виде трубного бесплодия. Ключевым элементом нормального иммунного ответа на хламидийную инфекцию является адекватное распознавание патогена с помощью PRR на эпителиальных клетках половых путей и инициирование иммунного ответа [23, 175]. Поскольку *Chlamydia trachomatis* является внутриклеточным патогеном, содержащим липополисахарид (LPS) и пептидогликан, предполагается определенная роль внутриклеточных NOD в распознавании *Chlamydia trachomatis*, что подтверждено результатами недавних исследований [76, 111, 127, 176, 220]. Однако ограниченное количество исследований связано с трудностями при наборе адекватных размеров выборки.

Степень разработанности темы

Патологический процесс, приводящий к поражению маточных труб и бесплодию после перенесенной хламидийной инфекции, до сих пор до конца не известен, лабораторные исследования на основании серодиагностики показывают, что хламидии могут отвечать за значительную часть трубного бесплодия, эктопической беременности, нежелательных исходов беременности [19, 24, 43, 105]. 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*. Однако доступность определения этих антител для широкого использования в рутинной клинической практике сомнительна в ближайшем будущем [108].

Значимость исследования антител к *Chlamydia trachomatis* — один из самых спорных, но при этом дискуссионных вопросов. По мнению В.И. Покровского [33], хламидийная инфекция может носить бессимптомный характер и своевременно не диагностируется, проведение скрининговых программы является основной частью стратегии по предупреждению хламидийной инфекции [6, 47, 48, 195].

Если в анамнезе было указание на предшествующую хламидийную инфекцию, то уровень IgG1 и G3 также выше по сравнению с пациентками с первичной инфекцией. Причем серологический ответ не зависит от возраста и приема гормональных контрацептивов. В связи с отсутствием кросс-реакции с антителами к *Chlamydia trachomatis*, у женщин с неизвестным статусом в отношении наличия генитальной хламидийной инфекции повышение титра антител к *Chlamydia trachomatis* может быть объяснено только реакцией на перенесенную или текущую инфекцию. HSP60, CT376, CT557 и CT443 в совокупности могут распознавать группы с нормальной фертильностью и трубным фактором бесплодия с чувствительностью 63% и специфичностью 100% [14]. В то же время, эти антигены не способны отличить женщин с острой инфекцией от тех, у кого имеется трубный фактор бесплодия. IgG3 серопозитивность ассоциирована с малой вероятностью наступления спонтанной беременности (в данном исследовании серопозитивность отмечена при снижении частоты наступления беременности на 35%), а также с повышением риска трубной беременности [14, 78].

С 2001 года научные разработки в области последовательности генома человека проложили путь для многих исследований, в том числе в сфере репродукции человека [82, 85]. Точная роль белков *NOD* во внутриклеточном распознавании *Chlamydia trachomatis* в половых путях на сегодняшний день не установлена, хотя несколько исследований предполагают, что *NOD* участвуют в иммунном ответе на инфицирование *Chlamydia trachomatis* [85, 111, 176]. Если эта связь будет подтверждена, генетические вариации *NOD* могут рассматриваться факторами риска неадекватного распознавания и персистенции *Chlamydia trachomatis* в организме хозяина [117]. Что касается хламидийной инфекции, точную роль *PRR* и их генетических вариаций еще предстоит выяснить. До тех пор, пока это не будет прояснено, отсутствует возможность клинического применения иммуногенетических анализов при скрининге патологии маточных труб. Необходимости сопоставить результаты обследования на ИППП из верхних отделов генитального тракта с данными тех пациенток, у которых не выявлено спаечного процесса во время операции, но при этом в анамнезе также были

указания на перенесенные ИППП, отвечает исследование, проведенное исследование в Complejo Hospitalario San Jose (Santiago, Chile) [87]. ПЦР ДНК *Trichomonas vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Ureaplasma urealyticum* показало наличие возбудителей у пациенток без патологии маточных труб и отсутствие таковой при спаечном процессе и облитерации фимбриального отдела [24]. Это поразительное открытие предположительно можно объяснить защитным механизмом иммунной системы FASL-FAS, индуцирующей систему апоптоза активированных лимфоцитов, что приводит к гибели эпителия маточных труб с элиминацией возбудителя [13]. Недостатком работы было крайне малое количество исследований. Несколько исследований продемонстрировали, что бесплодие трубного генеза в значительной степени было связано с сывороточными антителами к *Chlamydia trachomatis* [126, 200]. Общая цель проведенных исследований заключалась в идентификации антигенов *Chlamydia trachomatis*, которые можно использовать для выявления группы риска женщин с бесплодием трубного генеза и имеющим предшествующий контакт с *Chlamydia trachomatis*.

Идентификация биомаркеров, связанных с патологией маточных труб, может не только обеспечить более безопасные средства для диагностики или прогноза хронической хламидийной инфекции, но также может способствовать нашему пониманию механизмов патогенеза *Chlamydia trachomatis*.

Широко распространено мнение, что белок теплового шока (HSP60) или иммунные ответы хозяина на HSP60 могут играть важную роль в патологии маточных труб [63, 81, 119]. 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 [4, 186].

Цель исследования

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

Для достижения цели исследования были поставлены следующие задачи:

1. Исследовать 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 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, связанного с хламидийной инфекцией.

Научная новизна исследования

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 rs6958571 гена *NOD1* (A>C) и s2066847 гена *NOD2* (CCC>CC)) с результатами исследования антител к *Chlamydia trachomatis* у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием и без видимого повреждения маточных труб 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 исследования

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 rs6958571 гена *NOD1* (A>C) и s2066847 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 перенесенной хламидийной инфекцией в анамнезе, позволяющий выбрать оптимальную лечебную тактику, направленную на преодоление бесплодия.

Методология и методы исследования

Дизайн исследования

Настоящее исследование проведено в период с 2017 по 2020 гг. на базе гинекологического отделения научно-исследовательского института акушерства и педиатрии ФГБОУ ВО РостГМУ. 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 № 18/17, от 26.10.2017г).

В исследование были включены 93 пациентки репродуктивного возраста отс жалобами на бесплодие.

I этап исследования включал в себя оценку жалоб, клиничко-анамнестических данных, соблюдения критериев включения и исключения пациенток из исследования, оформление медицинской документации, статистическую обработку полученных данных, анализ полученных результатов. В соответствии с поставленными целью и задачами разработан порядок исследований, предусматривающий клиничко-анамнестические и лабораторные методы диагностики, статистическую обработку полученных результатов.

Проведенное исследование было ретроспективным, когортным в сравниваемых группах.

Критерии включения:

1. наличие письменного информированного согласия пациента на участие в исследовании,
2. возраст женщин от 18 до 40 лет,
3. установленный диагноз женское бесплодие,
4. наличие письменного информированного согласия пациентки на проведение лапароскопии,
5. отсутствие лабораторно подтвержденной генитальной инфекции на момент госпитализации.

Критерии невключения пациентов в исследование:

1. возраст до 18 лет или старше 40 лет,
2. наличие онкопатологии или подозрение на нее,
3. пациентки с сопутствующими гинекологическими заболеваниями – миома матки, генитальный эндометриоз, пороки развития внутренних органов, острые и подострые хронические заболевания органов малого таза.

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

На **II этапе** исследования всем пациенткам была выполнена лечебно-диагностическая лапароскопия. После выполнения лапароскопии женщины были распределены на 2 группы. I 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 хронических 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 ВЗОМТ.

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

Методы и условия клинико-лабораторных и инструментальных исследований

Общеклиническое исследование

Общеклиническое исследование включало сбор анамнестических данных, изучение соматической и гинекологической заболеваемости, репродуктивного здоровья женщин. У всех пациенток при поступлении в стационар анализировались жалобы. Изучали характер менструальной (возраст менархе, особенности менструального цикла) и репродуктивной функции (число беременностей, их течение, исход). Анализировали наличие экстрагенитальных заболеваний, перенесенных гинекологических заболеваний. Отмечали наличие в анамнезе

ИППП, их излеченность, возраст начала половой жизни.

При гинекологическом исследовании производился осмотр наружных половых органов, оценивали тип и характер оволосения, развитие больших и малых половых губ, состояние половой щели. При осмотре с помощью инструментального и бимануального исследования матки и придатков определяли положение, размер, консистенцию и подвижность тела матки, наличие tuboовариальных образований и спаечного процесса в малом тазу. При поступлении всем женщинам проводилось общеклиническое обследование, лабораторная диагностика - взятие общего анализа крови, группа крови, резус-фактор, биохимического анализа крови, коагулограммы, мазок на флору.

Инструментальные методы исследования

Ультразвуковое исследование (УЗИ)

Ультразвуковое сканирование органов малого таза осуществляли в первую фазу менструального цикла при помощи аппарата ультразвуковой диагностики «Toshib (Eccocce) SSA340» с использованием конвексного трансвагинального датчика с частотой 4,5-6,5 МГц (Япония). Во время проведения исследования оценивали размеры матки, наличие аномалий её развития, структуру миометрия, эндометрия [50]. Оценивали анатомическое строение органов малого таза, размер и форму шейки матки, функциональное состояние яичников (подробное описание фолликулярного аппарата), а также присутствие в них патологических образований, косвенные признаки спаечного процесса органов малого таза.

Эндоскопический метод

Лечебно-диагностическую лапароскопию проводили с использованием медицинского оборудования фирмы «Karl Storz» (Германия) под общей анестезией в положении пациентки на спине с наклоном в 45 градусов головой вниз – положении Тренделенбурга. При помощи инсуффлятора обеспечивалась подача

газа в брюшную полость для поддержания необходимого пространства и создания заданного давления. Лапароскопия производилась в условиях пневмоперитонеума 12-16 мм. рт. ст. Для гинекологической операции использовали оптические трубки диаметром 5 мм и 6 мм. Лапароскоп диаметром 5 мм применяли для проведения диагностической лапароскопии во избежание степени инвазивности оперативного вмешательства. При помощи аквапураатора осуществлялась подача стерильной жидкости в брюшную полость и удаление ее электроотсосом. Во время проведения лечебной лапароскопии использовался электрохирургический аппарат, обеспечивающий электротомию и электрокоагуляцию в монополярном или биполярном режиме. Дополнительно использовалась пункционная игла при необходимости эвакуации жидкости из полостных образований. На начальном этапе производился обзор органов брюшной полости: большого сальника, петель кишечника, печени. В последующем при помощи манипулятора бережно отодвигают петли кишечника для наилучшего доступа к органам малого таза. Оценка органов малого таза включала в себя тело матки, придатки, связочный аппарат, переднематочное и позадиматочное пространства. При наличии спаечного процесса тактика осмотра менялась. Определяли границы между спайками и нормальными тканями, степень спаечного процесса, что позволяло определить дальнейшую тактику оперативного вмешательства с учетом анатомических изменений. Стадию поражения и оценку степени спаечного процесса определяли в соответствии с классификацией Американского общества по репродуктивной медицине (r-AFS) градация спаек, покрывающих яичники и маточные трубы. Лапароскопия производилась по стандартной методике в первую фазу менструального цикла. После проведения ревизии органов малого таза и брюшной полости у всех пациенток был взят аспират перитонеальной жидкости (20 мл) и содержимого маточных труб с целью исследования ДНК диагностики *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma species*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis*, определение ДНК возбудителей производилась методом полимеразной цепной реакции согласно инструкции.

Часть аспирата (10 мл) перитонеальной жидкости помещали в стерильную пробирку с жидкой питательной средой для транспортировки в бактериологическую лабораторию. При заборе соблюдались правила, которые предотвращали контаминацию перитонеальной жидкости кровью. Доставляемый в лабораторию материал подвергался исследованию с использованием бактериологического анализатора Vitek 2 Compact 30. Производилась оценка проходимости маточных труб, всем пациенткам при помощи хромогидротубации, после забора материала на исследование. Во всех случаях хирургическое лечение было выполнено с использованием лапароскопического доступа в органосберегающем объеме.

Основной целью оперативного лечения являлось: разъединение спаек органов малого таза, восстановление и реконструкция внутренних половых органов. Для проведения исследования на наличие антител к *Chlamydia trachomatis*, а также для выполнения молекулярно-генетического исследования с целью оценки распределения полиморфозмов rs6958571 гена *NOD1* (A>C) и s2066847 гена *NOD2* (CCC>CC) осуществлялся забор крови пациенток накануне оперативного вмешательства.

Гистероскопия

При помощи оборудования фирмы «Karl Storz» (Германия), вначале оперативного вмешательства общепринятым методом выполнялась гистероскопия в фазе ранней пролиферации (до 7 дня менструального цикла). Перед началом процедуры производилась обработка наружных половых органов и влагалища раствором антисептика. Через наружный маточный зев проводили гистероскоп под контролем зрения, во время поступления жидкости под давлением для расширения полости матки. Во время гистероскопии производили оценку состояния цервикального канала, полость матки, область устьев маточных труб. Для проведения хромогидротубации использовали изотонический раствор натрия хлорида окрашенный метиленовым синим. При выявлении патологии эндометрия производилось отдельное диагностическое выскабливание цервикального канала

и стенок полости матки с последующим гистологическим анализом.

Бактериологический метод исследования

Бактериологическое исследование проводилось в лаборатории клинической микробиологии на базе научно-исследовательского института акушерства и педиатрии г. Ростова-на-Дону (заведующая лабораторией к.б.н. Бичуль О.К.) Материалом для исследования являлся аспират перитонеальной жидкости полученный интраоперационно. Во время проведения лапароскопии после введения лапароскопа и инструментов производили забор перитонеальной жидкости при помощи введения атравматической иглой для аспирации Monovolume. Игла заканчивается канюлей позволяющая соединить ее со стерильным шприцем, а также легко ее удерживать. Содержимое аспирата (10 мл) помещали в стерильную пробирку с питательной средой и отправляли в лабораторию клинической микробиологии. Для верификации аэробных, анаэробных микроорганизмов использовали бактериологический анализатор Vitek 2 Compact 30.

Молекулярно-биологические методы исследования

ПЦР-диагностику проводили с использованием тест систем «НПФ ДНК-ТЕХНОЛОГИЯ», Москва, Россия. В клиническом материале определяли наличие маркеров ДНК к *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma species*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis*. Материалом для исследования являлась смывы из маточных труб в объеме 10 мл. ДНК выделяли сорбентным методом с использованием наборов «ДНК-сорб. В» (фирма «АмплиСенс» производства ФГУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва).

Пробы перемешивали на вортексе и затем около 100 мкл каждого образца смешивали с 300 мкл буфера и 10 мкл внутреннего контрольного образца (ВКО). В последующем смесь инкубировали при 65°C в течение 5 минут и центрифугировали. В каждый образец добавляли 25 мкл силикагеля, инкубировали

при температуре 22-23 °С в течение 10 мин, встряхивая каждые 2 мин. Образцы центрифугировали при 12000g, осадок промывали двукратно в 1000 мкл отмывающих растворов 1 и 2, сушили при 65°С в течение 10 мин. ДНК элюировали ТЕ буфером и использовали для постановки ПЦР. В амплификацию брали по 5 мкл очищенных проб изучаемых образцов, а также проба-контроль и отрицательные образцы для оценки качества прохождения процедуры выделения.

Определение ДНК *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma* species, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis*, проводили методом полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени на приборе ДТ-96 производства «НПФ ДНК-ТЕХНОЛОГИЯ», Москва, Россия. В каждую реакцию были включены контрольные положительный и отрицательный образец, входящие в состав тест-систем.

Молекулярно-генетические методы исследования

Выделение ДНК

Исследование было выполнено на базе Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Южный федеральный университет» Министерства образования и науки Российской Федерации.

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:

1. В пробирку типа «Эппендорф» с замком вносили 500 мкл цельной крови и центрифугировали со скоростью 3000 об/мин. при комнатной температуре в течение 5 минут. Затем пипеткой удаляли плазму, не захватывая лейкоциты, закрывали пробирку и оставляли ее на хранение в морозильной камере при 70°С.

В микропробирку вносили 200 мкл цельной крови.

2. Добавляли 20 мкл протеиназы К и 20 мкл РНКазы А. Перемешивали содержимое пробирки и инкубировали при комнатной температуре в течение 2 минут.

3. Вносили 200 мкл PureLink Genomic Lysis/Binding Buffer и тщательно перемешивали содержимое микропробирки. Инкубировали микропробирку при 55С в течение 10 минут.

4. Добавляли к лизату 200 мкл 96% этанола и тщательно перемешивали.

5. Все содержимое микропробирки (640 мкл) переносили в PureLink Spin Column (микропробирки с колонками). Центрифугировали микропробирки с колонками при 12000 оборотах в минуту в течение 1 минуты при комнатной температуре.

6. Колонку переносили в чистую микропробирку и добавили 500 мкл промывочного буфера I. Центрифугировали микропробирку с колонкой при 12000 оборотах в минуту в течение 1 минуты.

7. Колонку перенесли в чистую микропробирку и добавили 500 мкл промывочного буфера II. Центрифугировали микропробирку с колонкой при 13000 оборотах в минуту в течение 3 минут.

8. Переносили колонку в стерильную микропробирку на 1,5 мл. Добавляли 110 мкл PureLink Genomic Elution Buffer. Инкубировали при комнатной температуре в течение 1 минуты.

9. Центрифугировали пробирки при 13000 оборотах в минуту в течение 1 минуты. Полученный в микропробирке раствор – готовый образец ДНК.

Полимеразная цепная реакция

Анализ проводился с использованием TaqMan MGB зондов.

Приготовление ПЦР смеси:

1. Приготовить реакционную смесь из расчета на 1 пробу: 12,5 мкл TaqMan Genotyping Master Mix (2x) (Applied Biosystems)

2. 0,625 мкл TaqMan genotyping assay mix (40x) (Applied Biosystems)
3. 0,625 мкл воды свободной от DNA-ase, RNA-ase
4. К реакционной смеси добавить 11,25 мкл раствора ДНК. Смесь аккуратно перемешать. Программа амплификации: 95С 10 минут; 40 циклов – 95С15 секунд, 60С 1 минута. ПЦР в реальном времени проводили на термоциклере RotorGene. Анализ флуоресценции проводили по каналам Green, Yellow.

TaqMan MGB зонды – это аллель-специфичные олигонуклеотиды с флуоресцентной меткой на 5'-конце. Флуорофор 6FAM химически присоединен к олигонуклеотиду, специфичному для полиморфного варианта гена; флуорофор VIC химически присоединен к олигонуклеотиду, специфичному для аллели 1. Это позволяет по наличию флуоресцентного сигнала определить генотип образца по исследуемому SNP (таблица 1).

Таблица 1 – Анализ полиморфизма генов проводился с использованием TaqMan MGB зондов методом ПЦР RealTime

Наличие флуоресценции	Генотип
Только для флуорофора VIC	Гомозигота по аллели 1
Только для флуорофора 6FAM	Гомозигота 2
Флуоресцентный сигнал для обоих флуорофоров	Гетерозигота

Иммуноферментный анализ (сокращённо ИФА, англ. enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) — лабораторный иммунологический метод выявления антигенов и антител, основанный на определении комплекса «антиген-антитело». Иммуноферментный анализ сыворотки крови определяли на наличие Ig классов G к *Chlamydia trachomatis*, IgG к MOMP *Chlamydia trachomatis* и IgG к HSP60.

Принцип метода: использовали твердофазный ИФА с помощью микропланшет, покрытых антителами к исследуемому антигену. В лунки микропланшет последовательно добавляют стандарты, контроли и определяемые образцы, а затем вторые, биотинилированные антитела. При первой инкубации антиген связывается с иммобилизованными в лунках антителами одним из сайтов связывания, а с биотин-антителами- вторым сайтом связывания. После промывки и удаления избытка вторых антител в лунки добавляют стрептавидин-пероксидазу, которая связывается с биотин-антителами с формированием сэндвич-комплекса из 4 реагентов. После второй инкубации и промывания удаляют несвязанный фермент. Далее добавляют субстрат фермента, содержащий хромоген. Фермент и субстратный раствор реагируют с образованием цветного комплекса. Интенсивность окраски раствора прямо пропорциональна концентрации цитокина, присутствующего в опытном образце сыворотки.

Этапы выполнения (набор ЗАО «БиохимМак»).

1. В лунки микропланшет вносят 200 мкл стандартов, контролей или опытных образцов.
2. Добавляют 50 мкл биотинового конъюгата и инкубируют 3 ч при комнатной температуре. Содержимое лунок 4-кратно промывают.
3. Добавляют 100 мкл рабочего раствора стрептавидинового конъюгата и инкубируют 30 минут при комнатной температуре. Содержимое лунок 4-кратно промывают.
4. В лунки микропланшета добавляют по 100 мкл хромоген, инкубируют при комнатной температуре в течение 15-25 минут, затем останавливают реакцию добавлением стоп-реагента.
5. Оптическую плотность в лунках со стандартами и опытными образцами измеряли на фотометре TECAN SUNRISE (Швейцария) при 450 нм. В память прибора вводили известные концентрации стандартных растворов и получали концентрацию искомого антигена в исследуемых лунках. При необходимости умножали данную величину на фактор разведения и в результате получали концентрацию антигена в опытном образце.

Статистический анализ

По материалам данного исследования была проведена статистическая обработка с использованием методики параметрического и непараметрического анализа. Статистический анализ проводился с использованием программы IBM SPSS Statistics v.26 (разработчик - IBM Corporation) и программы STATISTICA 12.5 (разработчик - StatSoft.Inc). Совокупности количественных показателей, распределение которых отличалось от нормального, описывались при помощи показателей медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1-Q3). Номинальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей.

Для сравнения независимых совокупностей в случаях отсутствия признаков нормального распределения данных использовался U-критерий Манна-Уитни. Рассчитанные значения U-критерия Манна-Уитни сравнивались с критическими при заданном уровне значимости: в том случае, если рассчитанное значение U было равно или меньше критического, определялась статистическая значимость различий. При сравнении нескольких выборок количественных данных, имеющих распределение, отличное от нормального, использовался критерий Краскела-Уоллиса, являющийся непараметрической альтернативой однофакторного дисперсионного анализа.

Сравнение номинальных данных проводилось при помощи критерия χ^2 Пирсона. С целью изучения связи между явлениями, представленными количественными данными, распределение которых отличалось от нормального, использовался непараметрический метод – расчет коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Оценка статистической значимости корреляционной связи проводилась с помощью t-критерия. При рассчитанном значении t меньше критического при заданном числе степеней свободы и уровне значимости, проводилось заключение об отсутствии статистической значимости взаимосвязи. Корреляционная связь считалась статистически значимой, если рассчитанное значение t больше критического. В соответствии со значениями шкалы Чеддока определяли значения коэффициента корреляции.

Оценка диагностической значимости количественных признаков при прогнозировании определенного исхода, была рассчитана с помощью регрессионной модели и применения метод анализа ROC-кривых. При помощи ROC-анализа определялось оптимальное значение количественного признака, позволяющее классифицировать пациентов по степени риска исхода, обладающее преобладающим сочетанием чувствительности и специфичности. Качество прогностической модели, оценивалось исходя из показателя значений площади под ROC-кривой со стандартной ошибкой и 95% доверительным интервалом (ДИ) и уровня статистической значимости.

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 МОМР *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 гена *NOD1* (A>C) и гена *NOD2*(CCC>CC) с целью прогноза

трубно-перитонеального бесплодия не показано у пациенток с указанием на перенесенную хламидийную инфекцию в анамнезе.

Степень достоверности и апробация результатов

Для выполнения настоящей работы в исследование включена выборка пациентов, в полном объеме по количеству пациентов и однородная по клинико-анамнестическим показателям. Использовались современные лабораторные, инструментальные и статистические методы исследования с применением доказательной медицины. Результаты, полученные автором, свидетельствуют о решении поставленных задач. Выводы объективно и полностью отражают результаты проведенного исследования.

Основные положения и полученные результаты диссертационной работы доложены с положительной оценкой 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-я 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, входящих в перечень изданий, рекомендованных ВАК РФ.

Собственный вклад автора

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). Личный вклад автора заключается в непосредственном участии на всех этапах исследования.

Структура и объём диссертации

Диссертационная работа изложена на 131 страницах машинописного текста, включает в себя введение, обзор литературы, клиническую характеристику больных, материалы и методы обследования и лечения, результаты собственных исследований, главу особенности распределения полиморфных вариантов, обсуждение полученных результатов, заключение, выводы, практические рекомендации, список литературы. Рукопись информативно иллюстрирована 23 таблицами, 20 рисунками, 1 схемой. Указатель литературы включает 227 источников, из которых 172 источника зарубежной литературы.

ГЛАВА 1. ЗНАЧИМОСТЬ ХЛАМИДИЙНОЙ ИНФЕКЦИИ В ПАТОГЕНЕЗЕ БЕСПЛОДИЯ

1.1 Связь хламидийной инфекции с бесплодием

Бесплодие в браке – не только медицинская, но важная социально-экономическая проблема [34, 37, 39]. Во всем мире 10% пар, желающих наступления беременности, страдают от бесплодия. Неспособность к зачатию не только создает значительное бремя расходов для пациентов и системы здравоохранения, но и является главным психологическим стрессом для миллионов пар [29, 35, 41]. В структуре бесплодных браков среди возможных факторов женского бесплодия хронические заболевания органов малого таза занимают лидирующее положение [9, 47, 25, 44].

Частота трубно-перитонеального фактора бесплодия варьирует, по разным оценкам, от 14 до 38% [10, 40].

Среди всех пациентов с ВЗОМТ около 50% случаев приходится на острую хламидийную инфекцию, несмотря на отмеченную в 2021 CDC тенденцию к увеличению роли неспецифической флоры в этиологии ВЗОМТ [194]. Повторные инфекции, вызванные *S. trachomatis*, способствуют повышенному риску развития воспалительных заболеваний малого таза [15]. Вероятность трубного бесплодия значительно выше у пациенток с предшествующей хламидийной инфекцией [107, 191]. Среди женщин основное внимание в рамках профилактики репродуктивных осложнений, должно уделяться выявлению хламидийной инфекции, а также, тестированию и лечению половых партнеров [2, 113, 136, 140, 227]. Но даже изучение факторов передачи и анализ ценности различных вариантов диагностики ИППП не позволяет измерить истинную распространенность заболевания среди населения, поскольку хламидийная инфекция часто протекает бессимптомно и диагностируется с погрешностями [38, 115, 137, 187].

Антигены могут сохраняться в течение некоторого времени после гибели микроорганизмов, инициируя пролонгированный локальный воспалительный ответ,

что создает риск для развития трубного фактора бесплодия [25, 121, 223]. Существует повышенный риск развития трубного бесплодия у женщин, имеющих положительный тест на *Chlamydia trachomatis*, по сравнению с женщинами отрицательным тестом, но нет единого мнения относительно эквивалентного риска внематочной беременности.

На сегодняшний день нет шкалы оценок риска развития трубного фактора бесплодия [27]. Тем не менее, сила связи между инфицированием хламидийной инфекцией и неблагоприятными исходами репродуктивного здоровья является частью продолжающейся научной дискуссии. В крупном Датском ретроспективном когортном исследовании Davies с соавторами отметили, что риск развития воспалительных заболеваний малого таза, внематочной беременности или трубного фактора бесплодия был по меньшей мере на 30% выше у женщин с одним или более случаев инфицирования *Chlamydia trachomatis*, в сравнении с женщинами с отрицательными диагностическими тестами на хламидийную инфекцию [91].

В Британском исследовании Price с соавторами оценили 171 случай воспалительных заболеваний малого таза, 73 случая сальпингита и 2 случая внематочной беременности на каждые 1000 женщин с нелеченной хламидийной инфекцией [181]. Представленные исследования, как и многие им подобные, демонстрируют факт того, что предупреждение репродуктивных неудач как следствие перенесенной хламидийной инфекции остается одной из наиболее важных проблем в области репродуктивного здоровья [53, 70, 80, 140, 162, 224].

Распространенность *Chlamydia trachomatis* широко варьируется среди различных групп населения [199, 221]. Хламидийная инфекция - заболевание преимущественно молодых, сексуально активных людей с высоким уровнем заражения, достигающим 3000 на 100000 в группах риска. По данным Public Health England, например, в 2013 году в Великобритании было зарегистрировано 208755 случаев заболевания хламидийной инфекцией [195]. Хламидийная инфекция непропорционально поражает женщин репродуктивного возраста с распространенностью 4,0% по сравнению с 2,8% среди мужчин. Исследования

показывают, что 10-30% женщин испытывают один или несколько эпизодов реинфекции *Chlamydia trachomatis*. Поскольку хламидийная инфекция зачастую протекает бессимптомно, многие женщины остаются без лечения и имеют риск развития спаечного процесса [99, 102, 116, 155].

Нередкая ассоциация хламидийной инфекции с другими генитальными инфекциями, приводит к усугублению течения воспалительного процесса, увеличивает частоту осложнений и приводит к неблагоприятным репродуктивным исходам [1, 3, 62, 67].

Особенностью инфицирования *Chlamydia trachomatis* является достаточно частое бессимптомное течение заболевания, затрудняющее раннюю диагностику, в результате чего диагноз устанавливается при наличии трубно-перитонеального бесплодия [1, 19, 21]. Вследствие сальпингита хламидийной этиологии повреждается реснитчатый эпителий маточных труб, при этом у двух третей пациентов симптомы отсутствуют, и только у одной трети имеются клинические проявления ВЗОМТ [151, 204, 212].

По другим данным, хламидийная инфекция протекает бессимптомно у порядка 50% мужчин и 80% женщин. Отсутствие симптоматики при наличии хламидийной инфекции приводит и к другим проблемам, а именно «легкости» передачи половым партнерам [54, 20, 156, 154, 185]. В связи с частым бессимптомным течением, истинная распространенность инфицирования *Chlamydia trachomatis* неизвестна. Великобритания - единственная страна, где реализуется программа скрининга урогенитальной хламидийной инфекции. При этом попытки выполнения тотального скрининга групп населения, наиболее подверженных заражению и передаче данной сексуально-трансмиссионной инфекции, в Соединенном королевстве принесли отрицательные плоды – избыточный скрининг населения по анализу антител к *Chlamydia trachomatis* привел к необоснованной антибактериальной терапии и, как следствие, растущей резистентности к антибиотикам [145]. С другой стороны, результаты скрининговой программы, рассчитанной на лиц моложе 25 лет, позволяют судить о текущей распространенности тестируемых заболеваний.

Согласно результатам тестирования, инфицированность *Chlamydia trachomatis* в популяционной группе 18-25 лет составляет до 60%. В ряде других стран были рекомендованы или осуществлены скрининговые программы с целью предупреждения распространения хламидийной инфекции, но их эффективность не была подтверждена рандомизированными контролируемыми испытаниями [132, 117, 121, 152, 163, 172].

Как свидетельствуют результаты многоцентровых исследований, 25% супружеских пар с установленным трубно-перитонеальным фактором бесплодия не отмечают в анамнезе генитальных инфекций [92, 105, 188, 195].

Chlamydia trachomatis может длительно сохраняться в организме хозяина до того момента, пока не произойдет элиминация возбудителя, и/или не будет проведена антибактериальная терапия. Систематический обзор показал, что от 11 до 44% случаев хламидийной инфекций у женщин элиминировались в относительно короткий промежуток времени между тестированием на хламидийную инфекцию и лечением в течение одного года от 43 до 54% [112, 114, 115, 169]. Может пройти много времени после инфицирования, прежде чем патология маточных труб как причина бесплодия станет очевидной. Поэтому до сих пор диагностическая лапароскопия остается рекомендуемым способом диагностики трубно-перитонеального фактора бесплодия [13, 55, 75, 191].

Вопрос значимости хламидийной инфекции в женской репродукции остается дискуссионным, несмотря на широкое распространение высокоспецифичных методов диагностики (полимеразная цепная реакция (ПЦР), иммуноферментный анализ (ИФА)). Благодаря ряду исследований последних десятилетий, направленных на изучение особенностей патогенных свойств *Chlamydia trachomatis* и индивидуальных иммунологических особенностей ответа организма хозяина, появились предпосылки к разработке персонализированного подхода к ведению пациенток на основании молекулярно-генетических методов диагностики [14].

1.2 *Chlamydia trachomatis* как причина патологии маточных труб

Существуют прямые доказательства того, что хламидийная инфекция может распространяться за пределы шейки матки, однако неизвестно, в каком случае воспаление протекает без развития патологии маточных труб. Свидетельство о распространении *Chlamydia trachomatis* за пределы нижних отделов генитального тракта включает в себя обнаружение хламидий ДНК в образцах маточных труб при сальпингэктомии у женщин с внематочной беременностью и в образцах эндометрия и шейки матки от женщин с последующей внематочной беременностью [19, 20, 24, 126]. ДНК *Chlamydia trachomatis* идентифицирована в эндометрии, маточных трубах и яичниках у 56% женщин с внематочной беременностью или подтвержденным трубным бесплодием при выполнении лапароскопии [24]. Небольшое исследование, проведенное в Соединенном Королевстве, выявило наличие *Chlamydia trachomatis*, в верхних отделах генитального тракта у 4 из 10 женщин, причем все они не имели никаких симптомов [162, 171].

Вероятно, механизм персистенции возбудителя и неадекватный иммунный ответ хозяина позволяет *Chlamydia trachomatis*, оставаться жизнеспособной в эпителиальных клетках [137]. Не менее важными являются генотипические факторы, коинфекции и состав микробиома репродуктивного тракта [17, 58, 69, 72, 144, 158, 215]. К сожалению, нет никаких опубликованных свидетельств об этих факторах или прямых доказательствах того, в каком случае происходит распространение *Chlamydia trachomatis* в верхние отделы генитального тракта, а в каком случае не происходит. Кроме того, широко распространено мнение о том, что в развитии патологии маточных труб участвуют распространение и присутствие патогена, а не опосредованный процесс, такой как молекулярная мимикрия [89]. Тем не менее, создается впечатление, что распространение хламидийной инфекции может происходить без патологии маточных труб, а выявление возбудителя не являться главной детерминантой необратимых

изменений [86].

Геномные вариации микробных патогенов напрямую связаны с эволюционной "гонкой вооружений", которая происходит между микробом и хозяином в ходе инфекционного процесса в результате антагонистического взаимодействия. Они являются следствием полиморфизмов, накопленных после селективного давления со стороны воспалительного или иммунного ответа хозяина [130, 173, 177]. Клеточная парадигма патогенеза *Chlamydia trachomatis*, утверждает, что ответ организма-хозяина на хламидии инициируется и поддерживается эпителиальными клетками, являющиеся мишенью для хламидийной инфекции [89, 105, 108, 143, 169, 201].

Chlamydia trachomatis, является членом семейства грамтрицательных бактерий *Chlamydia*, состоящего из одного класса патогенов животных и человека *Chlamydia* и одного порядка *Chlamydiales*. Семейство *Chlamydiaceae* состоит из 16 видов хламидий [208]. *Chlamydia pneumoniae* вызывает легочные инфекции у человека и заболевания широкого спектра у животных. Другие представители – *Chlamydia abortus*, *Chlamydia caviae*, *Chlamydia felis* и *Chlamydia psittacci* - имеют зоонозный потенциал [12, 15, 16, 180, 189, 208, 217]. *Chlamydia trachomatis* характеризуется облигатным ростом внутри эукариотических клеток.

Патогенность *Chlamydia trachomatis* обусловлена сложной системой взаимодействия между организмом-хозяина за счет стратегически направленных действий микроорганизма на адаптацию к условиям обитания внутри макроорганизма, подавления иммунных реакций организма-хозяина, и обеспечения длительного выживания и персистенции бактерий [17, 31, 58]. Адаптируясь к облигатному внутриклеточному образу жизни, *Chlamydia trachomatis* эволюционно значительно уменьшила свой размер генома для облегчения использования клетки-хозяина в реализации метаболических потребностей [18, 57].

Фундаментальным для понимания внутриклеточного бактериального патогенеза является знание механизма прикрепления бактерий и последующего проникновения в клетки. Существуют два основных процесса, посредством которых бактерии стимулируют свое проникновение в нефагоцитарные клетки: за

счёт бактериального контакта, опосредованного активацией рецептора поверхности клетки, или путем введения бактериальных белков в цитозоль клетки [71, 207]. Для клеточного входа и интернализации *Chlamydia trachomatis* необходим апикальный эпителиальный канал CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator) - регулятор трансмембранной проводимости [56, 58].

Способность организма элиминировать *Chlamydia trachomatis* зависит, прежде всего, от бактериальной нагрузки и выраженности иммунного ответа [69]. Необходимым условием репликации хламидий является способность патогена предотвращать апоптоз клетки-хозяина [161]. Иммунный ответ на HSP60 *Chlamydia trachomatis* тесно связан с хронической хламидийной инфекцией и бесплодием трубного генеза. Длительное хроническое воспаление органов малого таза может привести к повреждению эпителия маточных труб [20, 196]. После инфицирования *Chlamydia trachomatis* развивается определенная степень защитного иммунного ответа против повторного заражения, однако проявляется он лишь частично [19]. Главный антигенный источник *Chlamydia trachomatis* - 50 мембранно-локализованных белков, 22 из которых располагаются в мембране телец включения [14, 64].

Многие внутриклеточные бактерии, в том числе хламидии, создают внутри клетки-хозяина паразитическую мембранно-связанную органеллу, необходимую для выживания бактерий. *Chlamydia trachomatis* образует белки мембраны включения (inclusion membrane proteins, Inc-белки), известные, как Incs, которые определялись в крови женщин, зараженных *Chlamydia trachomatis* [85, 160, 163]. Обнаружение Inc-белков *Chlamydia trachomatis* на цитоплазматической мембране включения как механизме, обеспечивающем взаимодействие с белками клетки-хозяина, позволяет предполагать у *Chlamydia trachomatis* полноценного секреторного аппарата для транспортировки Inc-белков в цитоплазму клетки-хозяина [62]. Решающее значение для антихламидийного ответа имеет способность CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток секретировать провоспалительный цитокин интерферон- γ [202, 138].

Есть данные, что не все белки *Chlamydia trachomatis* формируют антитело-

опосредованный иммунитет [23, 68]. Современные коммерчески доступные, готовые к использованию тест-системы позволяют достаточно точно определять методом иммунофлуоресценции и ИФА серологические маркеры хламидийной инфекции - антитела как к антигенам *Chlamydia trachomatis* [214]. Между уровнем антител к *Chlamydia trachomatis* в сыворотке крови и степенью поражения маточных труб у субфертильных женщин существует определённая корреляция [24, 61, 196]. Протеины теплового шока *Chlamydia trachomatis* (HSP60) аналогичны белкам человека. Механизм персистенции позволяет *Chlamydia trachomatis* оставаться жизнеспособным в эпителиальных клетках хозяина, несмотря на генерацию антихламидийного иммунного ответа. Последствия хронической инфекции, по-видимому, зависят в значительной степени от продолжающегося образования и высвобождения хламидийного HSP60 [81, 196, 227].

Представленные R.G. Rank и J.A. Whittum-Hudson (2010) результаты иммуногенетического исследования механизмов приобретенного иммунитета объясняют индивидуальные различия организма-хозяина в реакции на хламидийную инфекцию [182].

Применение антибактериальной терапии может привести к последующему увеличению частоты урогенитальных инфекций из-за вмешательства в развитие эффективного иммунного ответа [28, 110, 221]. Особенностью инфицирования *Chlamydia trachomatis* является наличие бессимптомной фазы заболевания, затрудняющей диагностику. В результате этого диагноз устанавливается только при наличии последствий в виде бесплодия трубно-перитонеального генеза. Основной целью скрининга хламидийной инфекции, является снижение заболеваемости у пациенток за счет раннего выявления и проведения своевременного лечения, что позволяет снизить общую распространенность хламидийной инфекции [99, 218, 213]. До настоящего времени все модели экономической эффективности основывались на предположениях о распространенности осложнений хламидийной инфекции. Нет никаких проспективных контролируемых исследований о том, как часто у женщин, имеющих положительный результат теста на хламидийную инфекцию, развивается

трубное бесплодие. Количественная оценка причинно-следственной связи между инфицированием *Chlamydia trachomatis* и трубным бесплодием является сложной задачей в связи с бессимптомным течением хламидийной инфекции [36, 79, 102, 225]. ПЦР-обследование на *Chlamydia trachomatis* не проводится с регулярными интервалами, поэтому положительный тест не дает информации о сроках заражения. Проспективное исследование для мониторинга долгосрочных нежелательных явлений у женщин с леченными и нелечеными хламидийными инфекциями в настоящее время считается неэтичным, поскольку в случаях выявления хламидийной инфекции обычно рекомендуется лечение [57, 96].

Попытки использовать антитела к *Chlamydia trachomatis* как инструмент тотального скрининга населения в Великобритании привели только к неадекватному использованию антибиотикотерапии и, как следствие к антибиотикорезистентности, как было цитировано выше. В итоге, в 2019 году принято решение о «scale back» - отмене данного варианта скринирования. Кроме того, ни одно научное исследование до сих пор не продемонстрировало, что скрининг на хламидии может значительно снизить распространенность трубного бесплодия [166, 171, 195].

Исследования естественного течения инфекции нижних отделов генитального тракта, вызванного *Chlamydia trachomatis*, при отсутствии специфического лечения, показывают спонтанную элиминацию в некоторых случаях в течение 2-3-х лет [78, 98, 102, 107, 114].

Таким образом, сегодня, к сожалению, мы не имеем окончательного понимания «правильной» тактики ведения пациенток, инфицированных *Chlamydia trachomatis*. С одной стороны, тотальное серологическое скринирование и раннее лечение приводят к необоснованной антибиотикотерапии и не дают возможности макроорганизму распознать возбудителя и «справиться» с ним самостоятельно. С другой стороны, неадекватно лечение может привести к восходящей инфекции и необратимым последствием. Мы не знаем сегодня, у кого и какая по продолжительности должна быть «экспозиция» возбудителя для того, чтобы сформировался иммунный ответ, необходимый еще и для формирования ответа

при повторном инфицировании. Однако поиски в этом направлении неуклонно продолжаются. Клинические проявления инфицирования хламидийной инфекцией неспецифичны, проявляются цервицитом, сальпингитом, бессимптомной восходящей инфекцией верхних отделов генитального тракта, приводящей к бесплодию и трубной беременности [4, 8, 30, 46, 62, 101, 109]. При этом, не у всех женщин, инфицированных *Chlamydia trachomatis*, развивается повреждение маточных труб. Кроме того, фертильные женщины без патологических изменений маточных труб при лапароскопии могут иметь высокие титры антител к *Chlamydia trachomatis* [86, 157, 167].

Хламидийная инфекция приводит к минимальным или даже отсутствующим симптомам примерно у двух третей женщин, оставаясь не диагностированной [42, 225]. Если хламидийная инфекция не подавляется иммунной системой или остается нелеченной, *Chlamydia trachomatis* «поднимается» в верхние отделы генитального тракта, вызывая воспаление и в последующем повреждение маточных труб, приводящее к бесплодию трубного генеза. Патогенез поражения маточных труб с необратимыми изменениями или отсутствиями в результате инфекционного процесса, вызванным *Chlamydia trachomatis*, является следствием врожденных и адаптивных иммунных реакций организма-хозяина на продолжающийся воспалительный процесс или повторяющуюся хламидийную инфекцию [165, 197].

Врожденная иммунная система — общая неспецифическая система, являющаяся первой линией защиты от патогенов. Эпителиальные и иммунокомпетентные клетки организма, такие как макрофаги, лимфоциты и дендритные клетки, имеют паттерн-распознающие рецепторы (PRRs) - компоненты врожденной иммунной системы. Ключевым элементом нормального иммунного ответа на инфицирование *Chlamydia trachomatis* является адекватное распознавание патогена с помощью PRR на эпителиальных клетках половых путей и инициирование иммунного ответа [60, 152].

Генетические факторы, регулирующие воспаление через сигнальные пути Toll-подобного рецептора (TLR) во время инфицирования *Chlamydia trachomatis*, полностью не охарактеризованы [60]. На данный момент идентифицировано 11

различных TLR [94]. Известны патоген-ассоциированные молекулярные структуры (PAMP) всех TLR, кроме TLR10 [100, 102, 160]. Вероятно, TLR играют значимую роль в механизме защиты хозяина от хламидийной инфекции, т.к. некоторые TLR экспрессируются в эпителиальных клетках генитального тракта и распознают PAMP *Chlamydia trachomatis*, обеспечивая адекватный иммунный ответ путем регулирования экспрессии провоспалительных цитокинов: фактора некроза опухоли, интерлейкинов 1, 6, 8 и др. (TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8) [95, 134, 154].

Эти трансмембранные рецепторы 1 типа характеризуются богатым лейцином внеклеточным доменом и сохранным внутриклеточным активационным доменом, гомологичным рецептору интерлейкина-1. Они обозначены как Toll-interleukin-1 receptor domain. TLR 2 типа активируется широким спектром патоген-ассоциированных молекулярных паттернов, включая пептидогликан грамположительных бактерий и бактериальных липопротеинов, белок теплового шока и др. TLR2 наиболее сильно экспрессируется в маточных трубах и шейке матки, при этом более низкие уровни присутствуют в эндометрии и экзоцервиксе. TLR4 в сочетании с CD14 характеризуется как рецептор для липополисахарида (ЛПС), компонента клеточной стенки грамотрицательных бактерий, и белка теплового шока. Хламидийные ЛПС и белки теплового шока (HSP60) являются лигандами для TLR4. Наиболее высокая экспрессия TLR4 наблюдается в верхних отделах генитального тракта (маточных трубах и эндометрии) и значительно меньше (или вообще не экспрессируется) в эндоцервиксе. Защита от микробных патогенов обеспечивается скоординированной системой, в которой врожденные иммунные реакции обеспечивают первую линию защиты и стимулируют формирование более специализированных адаптивных иммунных реакций [139, 150].

Белки NOD – это внутриклеточные паттерн-распознающие рецепторы (PAMP – Pathogen Associated Molecular Patterns), получившими название PRR (Pattern Recognition Receptors). Семейство белков NOD содержит по крайней мере 25 белков, включая NOD1 и NOD2 [76, 129, 175, 219]. NOD1 и NOD2 также называют доменом 4 рекрутирования каспаз (CARD4) и CARD15, соответственно.

NOD способны распознавать внутрицитоплазматические бактериальные PAMP, такие как ЛПС и пептидогликан. Связывание NOD с бактериальным PAMP активирует каскад передачи сигнала NF- κ B, инициирующего иммунный ответ [83, 111].

В дополнение к роли белков NOD врожденных иммунных реакций на бактериальные инфекции существует все больше доказательств того, что сигнализация NOD1 и NOD2 влияет на адаптивные иммунные реакции. Дальнейшее изучение механизмов, посредством которых происходит активация рецепторов NOD1 и NOD2, должно обеспечить новое понимание патогенеза заболевания и разработку стратегии лечения воспалительных и инфекционных заболеваний [76, 175]. Прежние усилия по выяснению механизмов вирулентности *Chlamydia trachomatis* в значительной степени затруднялись отсутствием генетических методов диагностики. Экспериментальные исследования позволили получить представление о разнообразной роли этого класса белков врожденного иммунитета в защите организма-хозяина и воспалительных заболеваниях. Еще предстоит определить полный спектр клеточных механизмов, ответственных за регуляцию активности NOD1/NOD2 [111, 128, 219].

Регуляция иммунных реакций имеет решающее значение для контроля воспаления, а нарушение этого процесса может привести к повреждению тканей [22, 52, 209]. Задолго до активации адаптивного иммунного ответа инфицированные эпителиальные клетки продуцируют провоспалительные цитокины и хемокины, в том числе интерлейкин ИЛ-6, ИЛ-8 и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, которые вовлекают нейтрофилы в очаг инфекции и активируют другие иммунные эффекторные клетки.

Однако во многих случаях иммунная система не может противостоять хламидийной инфекции, и хроническое высвобождение цитокинов становится главным фактором образования спаечного процесса и повреждений эпителия в маточных трубах [68]. Что касается хламидийной инфекции, точную роль PRR и их генетических вариаций еще предстоит выяснить. До тех пор, пока это не будет прояснено, отсутствует возможность клинического применения

иммуногенетических анализов при скрининге патологии маточных труб.

1.3 Диагностика хламидийной инфекции

Эффективный контроль хламидийной инфекции в пределах популяции требует ранней диагностики и своевременного лечения бессимптомных лиц. Приоритетным методом диагностики урогенитальной хламидийной инфекции являются полимеразная цепная реакция (ПЦР) [163]. В связи с бессимптомным течением заболевания диагностика широко распространенной хламидийной инфекции затруднена, что приводит к позднему выявлению возбудителя и, как следствие, необратимым последствиям в виде патологии эпителия маточных труб [74, 77, 89, 108, 112, 115, 141, 151, 152, 153, 221]. Однако мы не можем точно определить, когда произошло первичное заражение *Chlamydia trachomatis*, поскольку наблюдаемая продолжительность инфицирования начинается с даты постановки теста, а не с даты заражения, следовательно, не оценивается истинный срок «нахождения» хламидийной инфекции в организме хозяина [32, 59, 194]. Существует пробел в знаниях о механизмах, способствующих распространению хламидийной инфекции, что, в конечном итоге, может привести к повреждению эпителия маточных труб.

Помимо усиления воспаления, инфекция *Chlamydia trachomatis* непосредственно индуцирует потерю микроворсинок и ресничек в эпителиальных клетках маточных труб, вызывая нарушения в гомеостазе эпителия [74]. Степень повреждения маточных труб различается в зависимости от выраженности спаечного процесса, анатомического расположения или характера поражения. Функция маточных труб может быть нарушена без видимой окклюзии маточных труб. Растущая заболеваемость *Chlamydia trachomatis* вызывает озабоченность во всем мире из-за ее потенциально пагубного воздействия на репродуктивное здоровье.

Современный диагностический процесс выявления ИППП как основной причины женского бесплодия включает анамнестические данные, ПЦР

диагностику и серологический анализ на предшествующие ИППП [56]. Женщины с указанием в анамнезе на перенесенную хламидийную инфекцию, хирургическое лечение, использование внутриматочных контрацептивов подвергаются повышенному риску повреждения маточных труб. Все эти факторы риска могут быть выявлены на основании сбора анамнеза [69, 84, 91].

Физиологический барьер шейки матки - один из компонентов защиты от инфицирования *Chlamydia trachomatis*. Существует также вероятность наличия иммунологического компонента в цервикальном барьере. Генетические полиморфизмы в генах Toll-подобных рецепторов (TLR), по-видимому, повышают риск инфицирования верхних половых путей [95, 106]. При выявлении хламидийной инфекции в нижних отделах половых путей для лечения можно эффективно и легко применять антибиотикотерапию. Отсутствие выявления *Chlamydia trachomatis* в эндоцервиксе не отражает того, что происходит в верхних отделах половых путей, поэтому необходимо проводить целенаправленный поиск инфицирования этим возбудителем у женщин с подозрением на бесплодие [103, 105].

Систематический анализ последних международных клинических исследований показал, что от 5 до 30% инфицированных женщин являются носительницами экстрагенитальной хламидийной инфекции, которая может не выявляться в генитальном тракте.

Отсюда вытекает вывод, что комбинированные схемы генитального и экстрагенитального тестирования, возможно, повысят чувствительность обнаружения *Chlamydia trachomatis* [93]. Ректальные инфекции, по-видимому, связаны с недостаточностью антибактериального лечения, они обеспечивают резервуар для повторного инфицирования генитального тракта, а повторное инфицирование связано с повышенным риском развития таких осложнений, как воспаление органов малого таза [26, 49, 98, 120, 146]. У женщин нет четкой связи между анальным сексом и ректальной хламидийной диагностикой в отличие от мужчин, имеющих половые контакты с мужчинами (МСМ), где целевые диагностические протоколы эффективны. В недавно опубликованном

Национальном руководстве британской ассоциации сексуального здоровья и ВИЧ (BASHH) по ведению инфекции *Chlamydia trachomatis* говорится о том, что "необходимы дальнейшие исследования с большим числом пациентов для определения полезности целенаправленного и рутинного ректального отбора проб у женщин» [120, 171]. Однако в данной работе не преследовали цель оценить значимость точек забора материала на ПЦР диагностику хламидийной инфекции у женщин. Представленный фрагмент процитирован с целью показать, что наше представление о диагностике *Chlamydia trachomatis* далеко от окончательного понимания.

На начальном этапе обследования часто используется исследование антител к *Chlamydia trachomatis* [214, 145]. Разработка иммуноферментного анализа (ИФА) на основе определения антител к HSP60 *Chlamydia trachomatis* позволила повысить специфичность и установить роль серологии [15, 81, 179, 196] в скрининге трубного фактора бесплодия среди субфертильных женщин. В когортном рандомизированном исследовании, проведенном Cooperative Reproductive Medicine Network, было обследовано 1250 женщин в возрасте от 18-40 лет с бесплодием и документировано подтвержденной непроходимостью маточных труб. Серопозитивность к *Chlamydia trachomatis* была определена с использованием антител IgG1 и IgG3.

Результаты исследования показали, что из этих двух тестируемых подклассов антител IgG3 являются сильным предиктором трубного бесплодия и внематочной беременности. IgG3 участвует в ранней воспалительной реакции на инфекцию, вызванную *C. trachomatis*. Обнаружение IgG3 может свидетельствовать об элиминации *Chlamydia trachomatis* либо указывает на сохраняющуюся инфекцию, способствующую повреждению маточных труб, хотя еще не приводящую к полной или частичной трубной или перитонеальной патологии. Даже при наличии проходимости маточных труб серопозитивность к IgG3 ассоциируется с меньшей вероятностью наступления беременности [14, 108, 126]. S.F. Corpus и его коллеги предполагают, что исследование антител к *Chlamydia trachomatis* может быть ценным предиктором не только проходимости маточных труб, но и риска развития

внематочной беременности, и ранних репродуктивных потерь [86].

Прогностическая ценность может быть улучшена путем объединения серологических результатов с результатами трансвагинального ультразвукового исследования [193]. Трансвагинальное ультразвуковое исследование (УЗИ) широкоиспользуется в диагностике бесплодия. Маточная труба обычно не видна при трансвагинальном ультразвуковом исследовании (ТВУ), но воспалительные процессы в маточной трубе, такие как гидросальпинкс, пиосальпинкс или тубоовариальный абсцесс, имеют типичные сонографические признаки [194]. Однако для перенесенной хламидийной инфекции из всего вышеперечисленного характерно развитие гидросальпинкса в небольшом количестве случаев.

Из всех проблем, связанных с нарушением репродуктивной функции у женщин, повреждение маточных труб является основной причиной бесплодия, возникающей в результате инфекции, эндометриоза или предыдущих операций. В настоящее время диагностическая процедура для адекватной оценки и исключения трубно-перитонеального фактора бесплодия выполняется с помощью гистеросальпингографии, фертилоскопии или лапароскопии. Эталонным стандартом диагностики патологии маточных труб у субфертильных женщин является лапароскопия. Однако лапароскопия имеет ряд недостатков. Во-первых, это инвазивная, дорогостоящая процедура, требующая общей анестезии и в 1,5% сопровождающаяся хирургическими осложнениями (кровотечение, инфекция) [51]. Не всегда лапароскопия носит манипуляционный характер, зачастую ограничиваясь констатацией отсутствия изменений в малом тазу [75].

Таким образом, возникает необходимость определения оптимальных неинвазивных методов диагностики больных с трубным фактором бесплодия [119]. Успехи молекулярной биологии, в частности, недавнее появление метагеномного анализа, а также разработка стабильной системы геномной трансформации хламидий существенно способствовали расширению нашего понимания патогенеза хламидий [186]. Для изучения взаимосвязи результатов серологического исследования *Chlamydia trachomatis* и тяжести течения ассоциированных с хламидийной инфекцией заболеваний используются иммунологические методы

диагностики. Наиболее часто изучаемые антитела – к хламидийному IgG и HSP60. Ряд сероэпидемиологических исследований показал распространенность антител к HSP60 *Chlamydia trachomatis* у женщин с лапароскопически подтвержденной патологией маточных труб или при выполнении гистеросальпингографии [77].

Результаты каждого из этих исследований следует толковать с осторожностью, поскольку используемые для выявления антител методы различаются по своей значимости, а изучаемые популяции могут различаться по генетической предрасположенности к иммунной реактивности и продуцированию и персистенции антител. Тем не менее, результаты, по-видимому, имеют схожую тенденцию. Повышенный уровень антихламидийных антител можно обнаружить более, чем у 70% женщин с окклюзией маточных труб [200]. Антитела к *Chlamydia trachomatis* HSP60 высоко ассоциированы с бесплодием трубного генеза. Пациенты с установленным трубным бесплодием направляются на экстракорпоральное оплодотворение. Этой когорте пациенток характерны неблагоприятные акушерские исходы, такие как самопроизвольный аборт, преждевременные роды, преждевременный разрыв плодных оболочек [20]. Бессимптомный характер заболевания и увеличение спектра инфекционных поражений, вызванных *Chlamydia trachomatis*, подчеркивают необходимость применения чувствительных и надежных лабораторных методов диагностики.

Было показано, что как чувствительность, так и специфичность диагностических тестов для *Chlamydia trachomatis* напрямую связаны с адекватным забором материала. Культуральный метод является технически сложным, трудоемким, громоздким и дорогостоящим и не получил широкого распространения в качестве рутинного теста, проводимого в общеклинических лабораториях. ИФА доступен для обнаружения антигена к *Chlamydia trachomatis*. Несколько коммерчески доступных наборов доступны для этой цели. Большинство из них обнаруживают липолисахаридный антиген *Chlamydia trachomatis*. Было сообщено, что тесты иммуноферментного анализа (ELISA) имеют чувствительность 62-96% и специфичность 86-99% по сравнению с клеточной культурой. Эти тесты подходят для лабораторий, не имеющих доступа к культуре

клеток [125, 214]. Разработка тестов на основе технологии амплификации нуклеиновых кислот (НААТ) является значимым достижением в области диагностики хламидийной инфекции. Наиболее широко известной из технологий амплификации ДНК является ПЦР. Гены, предназначенные для диагностики *Chlamydia trachomatis* - МОМР, эндогенная плазмида, ген фосфолипазы, гены 16S и 23S рРНК. Поскольку все технологии амплификации нуклеиновых кислот обнаруживают мишени нуклеиновых кислот, они не зависят ни от жизнеспособности, ни от интактного состояния целевого организма для получения положительного результата. Следовательно, транспортировка образца не является критическим вопросом [159].

Хламидийный протеазоподобный фактор (СРАФ), белок теплового шока 60 (HSP60) и основной белок наружной мембраны (МОМР) - три хламидийных антигена с мощными иммунопатогенными реакциями. СРАФ (chlamydial protease/proteasome-like activity factor) является протеосомным белком и, хотя функция СРАФ остается в значительной степени неясной, последние экспериментальные данные указывают на его вероятную роль в патогенезе хламидий путем подавления иммунных реакций хозяина через деградацию антимикробных пептидов хозяина и компонентов комплемента, а также ингибирование провоспалительных факторов транскрипции [100, 209, 170].

Белки наружной мембраны микробных патогенов играют важную роль в вовлечении окружающей среды хозяина и могут быть важными иммуно-терапевтическими мишенями. МОМР представляет собой поверхностный белок с молекулярной массой 4 кД, богатый цистеином и кодируемый геном *ompA*. МОМР составляет почти 60% от общей массы белков. Белок внешней мембраны (МОМР) на поверхности клеток *Chlamydia trachomatis* считается видоспецифичным с минимальной перекрестной реактивностью с антителами к *S. pneumoniae*. МОМР представляет собой иммунодоминантный белок, участвующий в поддержании жесткости хламидийной мембраны, прикреплении к эпителиальной клетке человека, функционирует как пора, обеспечивающая бактерии питательными веществами после того, как она проникла в клетку человека [191, 221].

Первичная последовательность МОМР состоит из пяти постоянных доменов, чередующихся с четырьмя иммуннодоминантными переменными доменами (VS1–4). Эпитопы в пределах VS1-4 обеспечивают специфичность серовара [104]. Последовательность МОМР представляется специфичной для рода *Chlamydia* и не была обнаружена в геноме других бактериальных генов. Первичная структура МОМР содержит 8-10 остатков цистеина, что является необычным для мембранных белков.

Показано, что остатки цистеина в МОМР образуют меж- и внутримолекулярные дисульфидные связи с другими белками, богатыми цистеином. Дисульфидные связи образуют обширную межмолекулярную сеть, которая повышает структурную жесткость наружной мембраны. МОМР играет жизненно важную роль в хламидийной биологии, действуя, в первую очередь, как адгезионный агент, способствующий прикреплению к клетке хозяина во время инфекции. В качестве порина МОМР облегчает селективное прохождение питательных веществ через мембрану хламидийных клеток [104].

Генотипы А, В и С инфицируют конъюнктиву человека, что приводит к активной и рубцовой трахоме и, в конечном итоге, к слепоте. Генотипы D-K и L1-L3 преимущественно поражают урогенитальный тракт, приводя к воспалению, спаечному процессу в малом тазу и бесплодию, а также повышая риск внематочной беременности [132, 148]. Существует более 100 полных последовательностей генома штаммов *Chlamydia trachomatis*, архивированных и общедоступных в онлайн базах данных Национального центра биотехнологической информации (NCBI), Института Сангера или Европейской лаборатории молекулярной биологии (EMBL) [64, 142, 173].

Безусловно, серовар-определяющий основной белок наружной мембраны (МОМР) является ярким примером накопления точечных мутаций, приводящих к генетическим вариантам, особенно в поверхностно-экспонированных сегментах этой молекулы [104]. МОМР является частью внешней оболочки двух различных проявлений хламидийного жизненного цикла: не реплицирующиеся элементарные тельца (ЭТ) и ретикулярные тельца (РТ) - метаболически активная,

реплицирующаяся форма бактерии [159]. MOMP *Chlamydia trachomatis* обладает высокой иммуногенностью и представляет большой биологический и клинический интерес [220]. Серологическое исследование IgG к MOMP и IgG к HSP60 *Chlamydia trachomatis* с использованием ИФА является надежным инструментом для оценки прошлой инфекции. Повышенное количество HSP60, синтезируемого *Chlamydia trachomatis*, индуцирует провоспалительный иммунный ответ в эпителии маточных труб, что в последующем приводит к образованию фиброза и периаднексальным спайкам [195, 205]. Серология в качестве скринингового теста для выявления признаков перенесенной хламидийной инфекции может помочь выявить женщин с высоким риском повреждения маточных труб, а также снизить необоснованное и неизбирательное применение лапароскопии [78].

Хроническое продуцирование хламидийного HSP60 индуцирует локальный провоспалительный иммунный ответ в эпителии маточных труб, что приводит к формированию спаек и рубцовому повреждению с последующей окклюзией. В довершение к всему, длительный контакт женской иммунной системы с HSP60 *Chlamydia trachomatis*, в конечном счете, реализуется в толерантности и генерации такого иммунного ответа, который распознает участки хламидийного HSP60 как собственные, человеческие HSP60, имеющие в макроорганизме. Выработка кросс-антител и клеточного иммунитета к человеческому HSP60 является пагубной для исходов последующей беременности и может способствовать увеличению восприимчивости к аутоиммунным заболеваниям [142, 143]. При реинфекции высвобождение хемокинов клетками хозяина приводит к рекрутированию специфичных к хламидиям иммунных клеток, которые быстро усиливают ответ [178]. Высвобождение протеаз, факторов свертывания и роста тканей из инфицированных клеток хозяина и инфильтрирующих воспалительных клеток приводит к повреждению тканей и образованию периаднексальных спаек [145, 147, 148]. Таким образом, определение генетических полиморфизмов, приводящих к повышенному врожденному иммунному ответу организма - хозяина на хламидийную инфекцию, может способствовать выявлению пациенток с высоким риском развития осложнений [181]. Воспалительная реакция на хламидийную

инфекцию начинается и поддерживается активно инфицированными невоспалительными клетками эпителия хозяина. Определение специфических реакций, способствующих повреждению тканей, и их дифференциация от тех, которые приводят к доброкачественному разрешению инфекции, является важной постоянной целью научных исследований [149, 150, 152].

Как было указано выше, генетические характеристики организма-хозяина играют определенную роль в развитии осложнений в репродуктивном тракте после инфицирования *Chlamydia trachomatis*. При персонализированном медицинском подходе диагностический инструмент на основе генетического профиля женщины может быть использован для выбора группы, которая должна быть нацелена на конкретные эффективные мероприятия, такие как повторное серологическое тестирование, дополнительное антибактериальное лечение и при необходимости инструментальные вмешательства [94, 99, 135, 184]. Определение антител IgG к *C. trachomatis* в сыворотке крови широко применяется в репродуктивной медицине при исследовании фертильности, но не имеет места в ранней диагностике хламидийной инфекции. Кроме того, сывороточные антитела являются продуктами гуморального иммунного ответа, тогда как именно клеточно-опосредованный иммунный ответ в основном участвует в процессе фиброза тканей, вызывая патологию маточных труб [132, 187, 190]. В этой связи не только расширение спектра возможных диагностически значимых для патологии маточных труб антител имеет значение для верификации последствий хламидийной инфекции, но и изучение генома хозяина, отвечающего за иммунный ответ.

ГЛАВА 2 КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БОЛЬНЫХ, МЕТОДЫ ОБСЛЕДОВАНИЯ И ЛЕЧЕНИЯ

2.1 Общая клиническая характеристика пациенток, включенных в исследование

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 ВЗОМТ. 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. 2-я 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 хронические заболевания органов малого таза. Бесплодие в этой группе пациенток было неуточненного генеза, лапароскопия выполнялась с лечебно-диагностической целью. Все женщины, поступавшие в стационар, до операции были обследованы с целью выявления перенесенных ранее ИППП (*Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoea*) [193]. Условием выполнения планового оперативного вмешательства было отсутствие генитальной инфекции согласно результатам ПЦР диагностики. При сборе анамнеза заболевания особое внимание уделялось указанию на ВЗОМТ, что позволило нам определить группу риска развития спаечного процесса в малом тазу. При проведении исследования строго соблюдались критерии включения в исследование и исключения из него.

Согласно данным лапароскопии, у пациенток IA подгруппы был обнаружен спаечный процесс малого таза III-IV степени в сочетании с непроходимостью

маточных труб. У 25 женщин в IB подгруппе был обнаружен спаечный процесс 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 составлял от 19 до 40 лет, медиана 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 (рисунок 1).

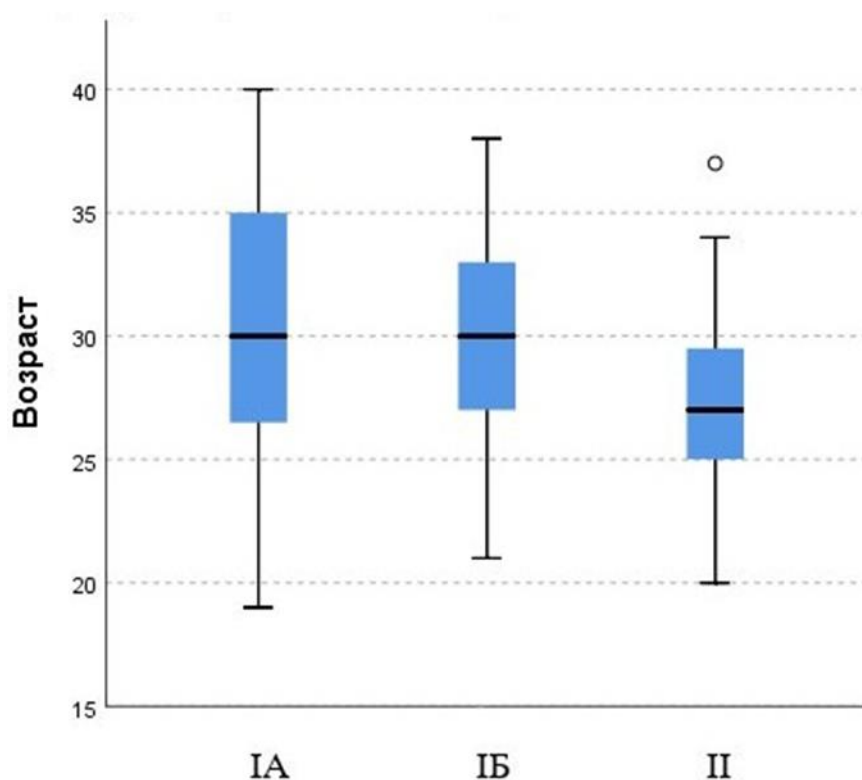


Рисунок 1 – Распределение возраста пациенток в исследуемых группах.

Исследование антропометрических данных основывалось на вычислении индекса массы тела (ИМТ), 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.

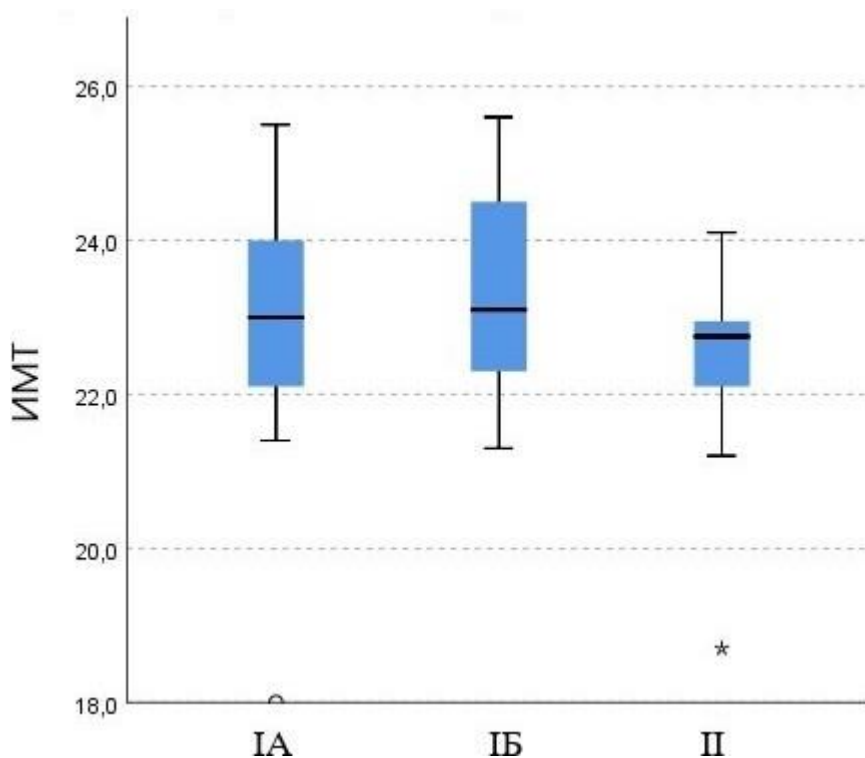


Рисунок 2 – Распределение ИМТ в исследуемых группах.

Согласно полученным данным, все обследованные пациентки были правильного телосложения и нормального физического развития. Статистически достоверных различий по этому показателю выявлено не было ($p > 0,05$). Распределение женщин обследованных групп по значениям ИМТ представлено на рисунке 2.

В ходе сбора анамнеза оценивали показатели менструальной функции у пациенток с бесплодием. 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.

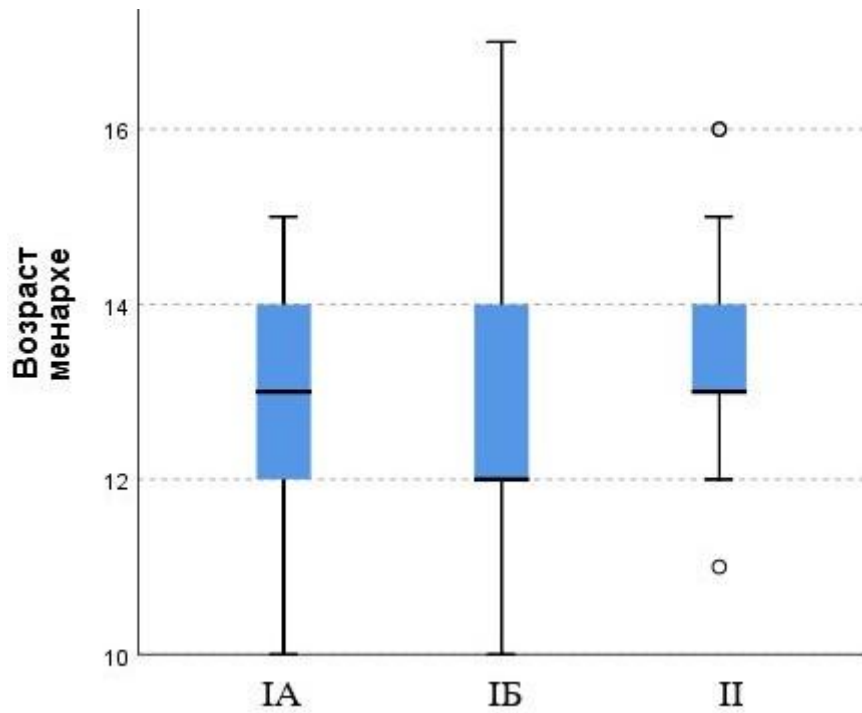


Рисунок 3 – Распределение возраста менархе в исследуемых группах.

При изучении возраста менархе между исследуемыми группами достоверных различий не обнаружено ($p > 0,05$), что отображено на рисунке 3.

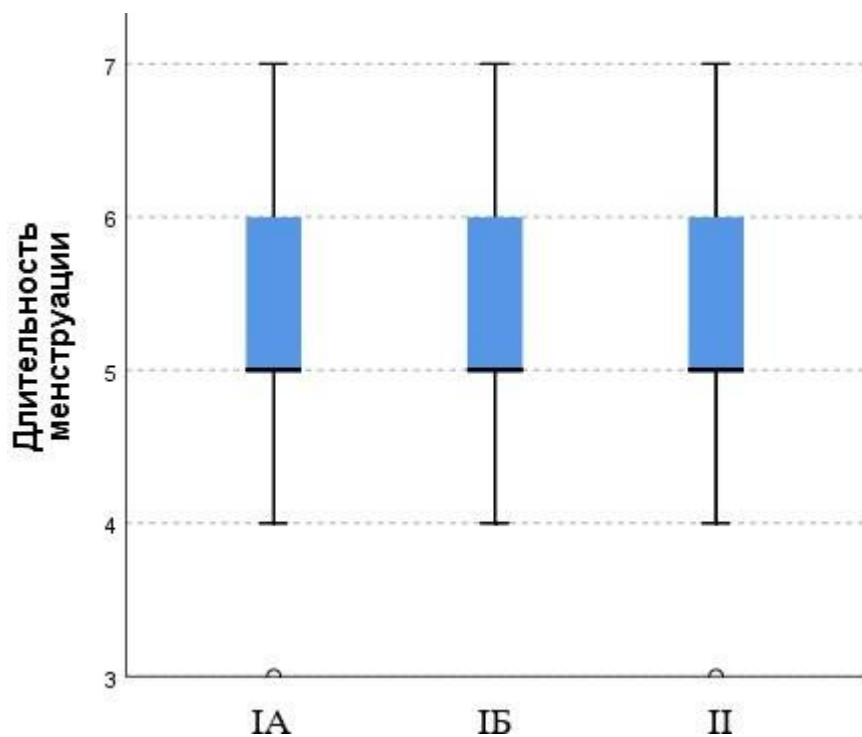


Рисунок 4 – Распределение длительности менструации в исследуемых группах.

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 ($p>0,05$) (рисунок 4).

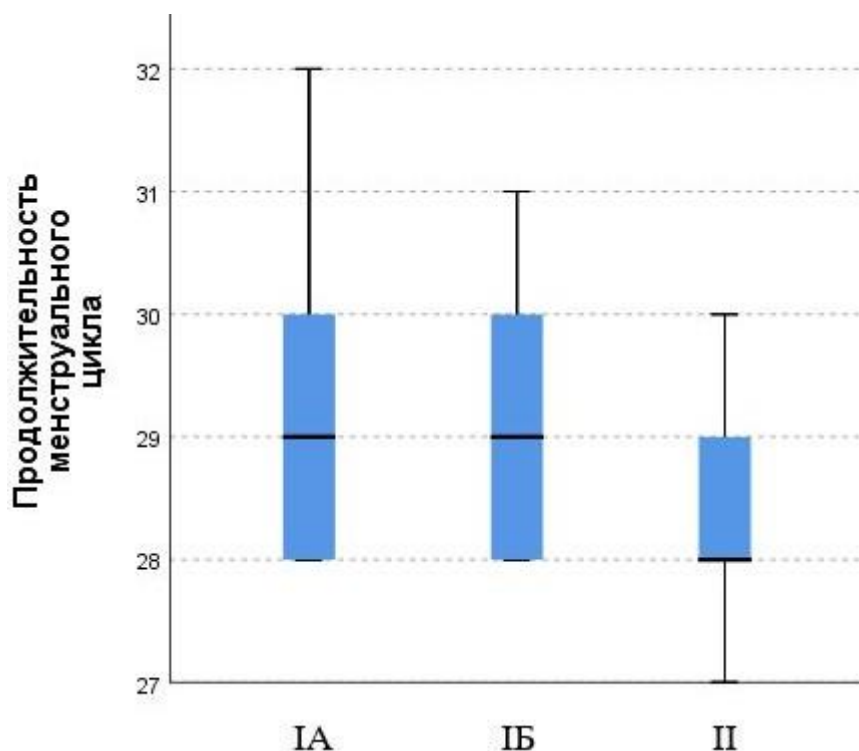


Рисунок 5 – Распределение продолжительности менструального цикла в исследуемых группах.

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 ($p>0,05$) (рисунок 5).

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, что

отображено на рисунке 6. Обследованные группы однородны по данному признаку, значимых отличий групп не выявлено ($p > 0,05$) (рисунок 6).

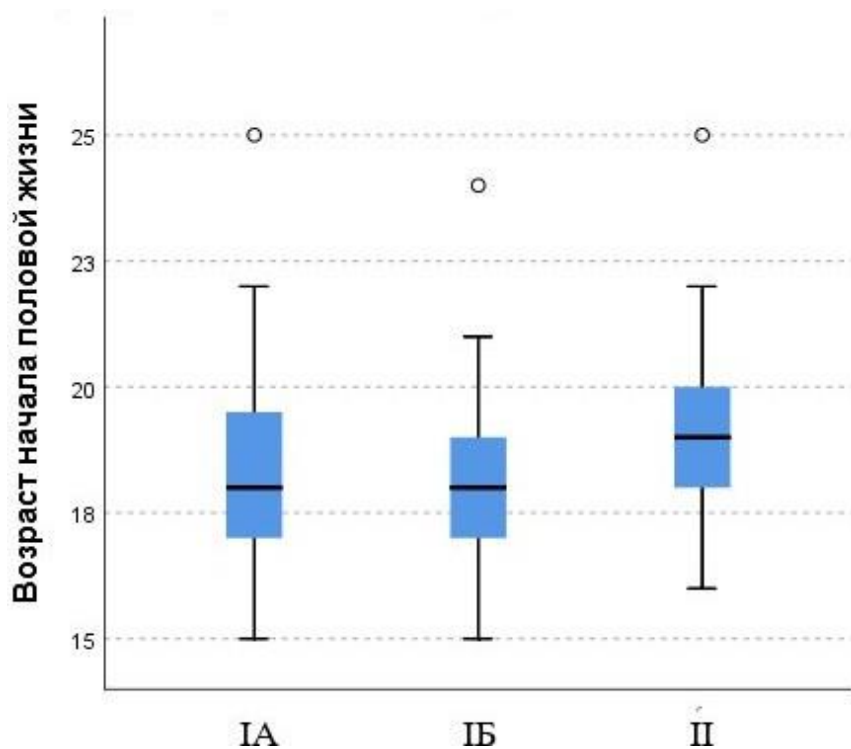


Рисунок 6 – Распределение возраста начала половой жизни исследуемых групп.

Основные клинические и анамнестические данные пациенток представлены в таблице 2 и на рисунке 7.

Таблица 2 – Клинические и анамнестические данные пациенток обследуемых групп

	группа IA				группа IB				группа II			
	N	Me	Q1	Q3	N	Me	Q1	Q3	N	Me	Q1	Q3
Возраст	32	30,0	26,5	35,0	25	30,0	27,0	33,0	36	27,0	25,0	29,5
ИМТ	32	23,0	22,1	24,0	25	23,1	22,3	24,5	36	22,8	22,1	23,0
Возраст менархе	32	13,0	12,0	14,0	25	12,0	12,0	14,0	36	13,0	13,0	14,0
Длительность менструации	32	5,0	5,0	6,0	25	5,0	5,0	6,0	36	5,0	5,0	6,0
Длительность менструального цикла	32	29,0	28,0	30,0	25	29,0	28,0	30,0	36	28,0	28,0	29,0
Возраст начала половой жизни	32	18,0	17,0	19,5	25	18,0	17,0	19,0	36	19,0	18,0	20,0

Примечание:

- Me – медиана.
- Q1 - верхний квартиль.
- Q3 - нижний квартиль.

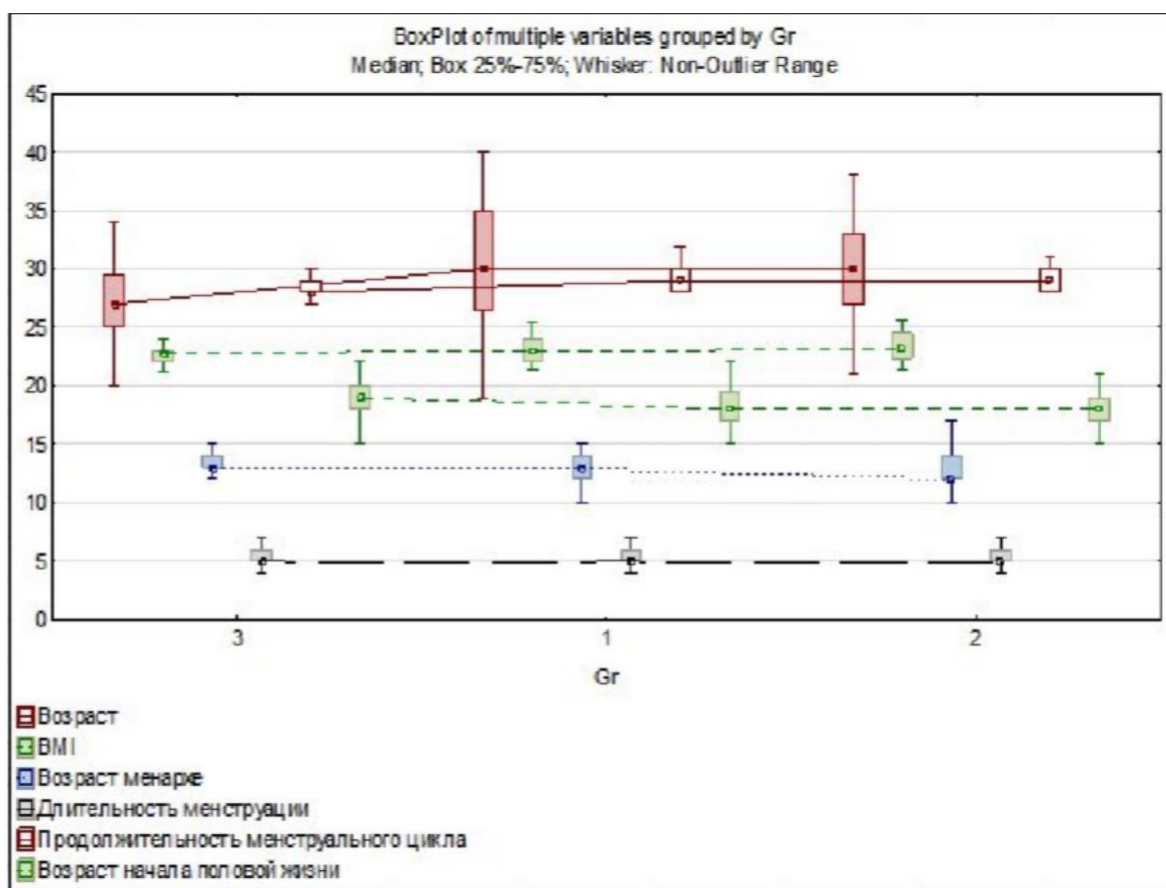


Рисунок 7 – Основные характеристики обследованных групп пациенток.

Таким образом, при проведении сравнительного анализа клинических групп не было установлено различия по возрасту, индексу массы тела, анализу менструальной функции, что свидетельствует о том, что группы сопоставимы между собой по данным параметрам.

Таблица 3 – Основные характеристики репродуктивной функции обследованных групп пациенток

Параметр	Группы женщин (число наблюдений (%))			p
	IA (n=32)	IB (n=25)	II (n=36)	
Самопроизвольный выкидыш	2 (6%)	3 (12%)	-	p IA/IB=0,43
Роды	10 (31%)	5 (20%)	5 (14%)	p IA/IB=0,35 I/II=0,09 p IA/IB =0,54
Артифициальный аборт	10 (31%)	5 (20%)	-	p IA/IB =0,35
Эктопическая беременность	3 (9%)	4 (16%)	-	p IA/IB =0,42
Неразвивающаяся беременность	1 (3%)	1 (4%)	-	p IA/IB =0,84

Примечание: достоверных различий в сравниваемых группах нет ($p > 0,05$). 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 (таблица 3).

Таблица 4 – Основные характеристики обследованных групп пациенток (гинекологическая патология)

Параметр	IA подгруппа (n=32)	IB подгруппа (n=25)	II группа (n=36)	P
Бесплодие I	16 (50%)	11 (44%)	31 (86%)	p 1A/1B=0,66 p 1A/2=0,002 p 1B/2=0,0006
Бесплодие II	16 (50%)	14 (56%)	5 (14%)	p 1A/1B=0,66 p 1A/2=0,002 p 1B/2=0,0006
Хронические заболевания органов малого таза	32 (100%)	25 (100%)	-	-
Дисплазия шейки матки легкой степени	5 (16 %)	5 (20%)	-	p 1A/1B=0,7
Оперативные вмешательства	9 (28 %)	23 (92%)	-	p1A/1B=0,0001
Спаечный процесс I-II Степени	2 (6%)	25 (100%)	-	p1A/1B=0,0001
Спаечный процесс III- IV степени	30 (94%)	-	-	-

p – статистически значимые различия ($p < 0,05$)

При изучении репродуктивного анамнеза у пациенток в контрольной группе наличие первичного бесплодия значительно выше в сравнении с первыми двумя группами. Различия между исследуемыми группами являлись значимыми ($p < 0,05$).

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 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 (таблица 4).

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.

Резюме

Клинико-anamnestическая оценка двух групп исследуемых больных показала, что по таким анамnestическим показателям как – возраст, ИМТ, характер менструальной и репродуктивной функций и возраст начала половой жизни - достоверных различий между исследуемыми группами не выявлено. Из перенесенных заболеваний репродуктивной системы наиболее часто встречались ВЗОМТ у пациенток IA и IB подгрупп. Во время лапароскопии спаечный процесс малого таза наблюдался в IA и IB подгруппах чаще по сравнению с пациентками II группы. Однако различие между первой и второй группой заключалось именно в том, что при наличии спаечного процесса и перенесенной хламидийной инфекции в анамнезе поражение маточных труб отмечено было именно в первой A подгруппе.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 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.

3.2 Результаты бактериологического исследования

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 [223]. 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 *C. trachomatis* в анамнезе нельзя быть уверенным, что хламидийная инфекция верхних отделов половых путей обязательно вызывает активный воспалительный ответ, имеющий необратимое воздействие на репродуктивную функцию. 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.

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

Данные о результатах антител представлены в таблице 5.

Таблица 5 – 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%)	$P_{IA-IB} < 0,001$ $P_{IA-II} < 0,001$ $P_{IB-II} < 0,001$

Для решения практических и теоретических задач был проведен анализ «Дерева решений», для определения правил классификации по всем парам подгрупп (IB-II; IA-II; IA-IB; IA-IB-II).

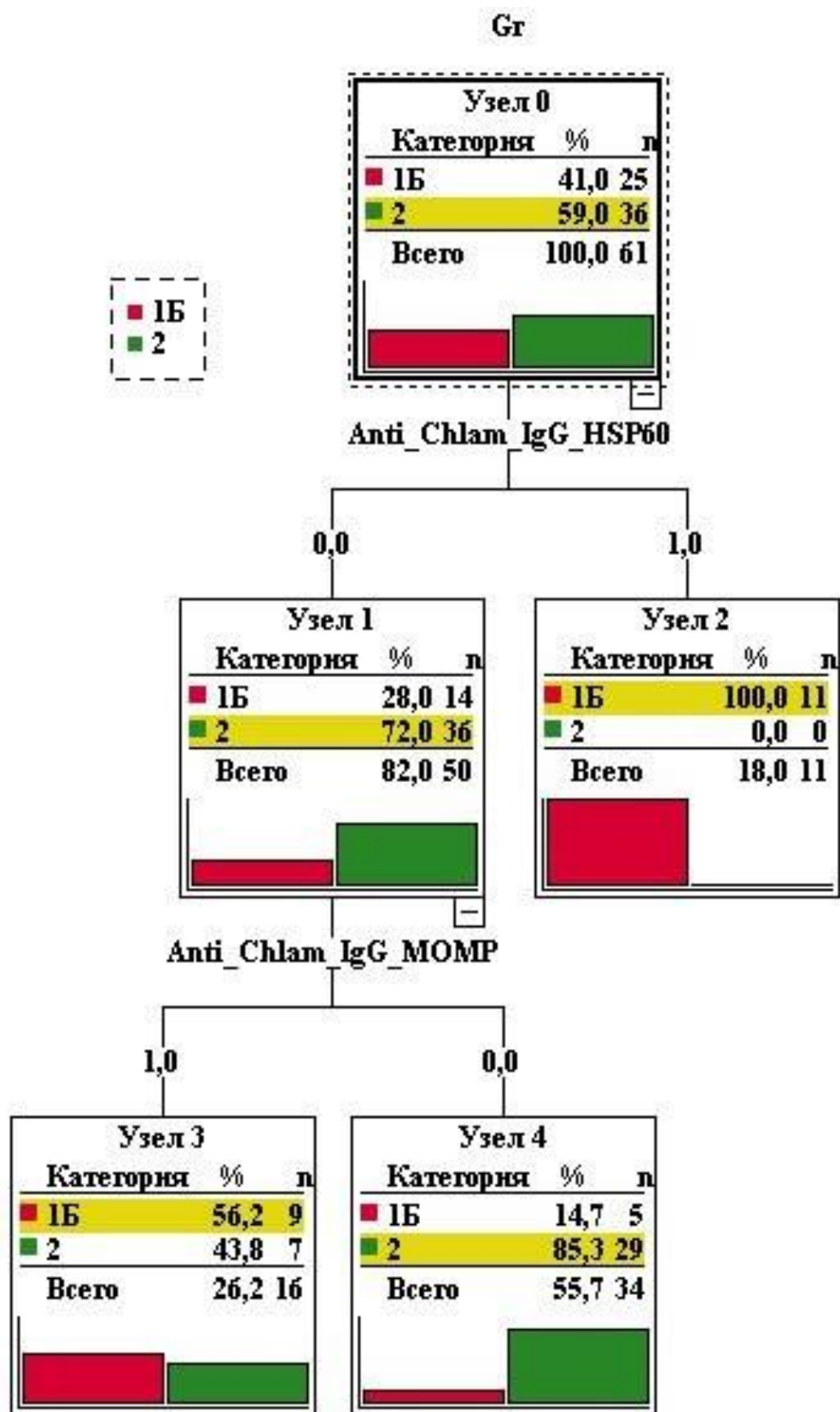


Рисунок 8 – Дерево классификации для подгруппы 1Б и 2 группы.

Из рисунка 8 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%.

Диагностическая точность решений 80,3%.

Таблица 6 – Характеристики метода деревьев решений для IB и контрольной II группы

Абсолютный риск в основной группе (EER)	0,800
Абсолютный риск в контрольной группе (CER)	0,194
Относительный риск (RR)	4,114
Стандартная ошибка относительного риска (S)	0,354
Нижняя граница 95% ДИ (CI)	2,057
Верхняя граница 95% ДИ (CI)	8,229
Снижение относительного риска (RRR)	3,114
Разность рисков (RD)	0,606
Чувствительность (Se)	0,741
Специфичность (Sp)	0,853
Возможность определения риска в основной группе	4,000
Возможность определения риска в контрольной группе	0,241
Отношение шансов (OR)	16,571
Стандартная ошибка отношения шансов (S)	0,654
Нижняя граница 95% ДИ (CI)	4,602
Верхняя граница 95% ДИ (CI)	59,678

Таблица 7 – Критерии оценки значимости различий исходов в зависимости от воздействия фактора риска для IB подгруппы и группой сравнения

Наименование критерия	Значение критерия	Уровень Значимости
Критерий Хи-квадрат	21,930	<0,001
Критерий Хи-квадрат с поправкой Йейтса	19,544	<0,001
Критерий Хи-квадрат с поправкой на Правдоподобие	23,271	<0,001
Точный критерий Фишера (двусторонний)	0,00000	p<0,05

Примечание - Минимальное значение ожидаемого явления – 11,07

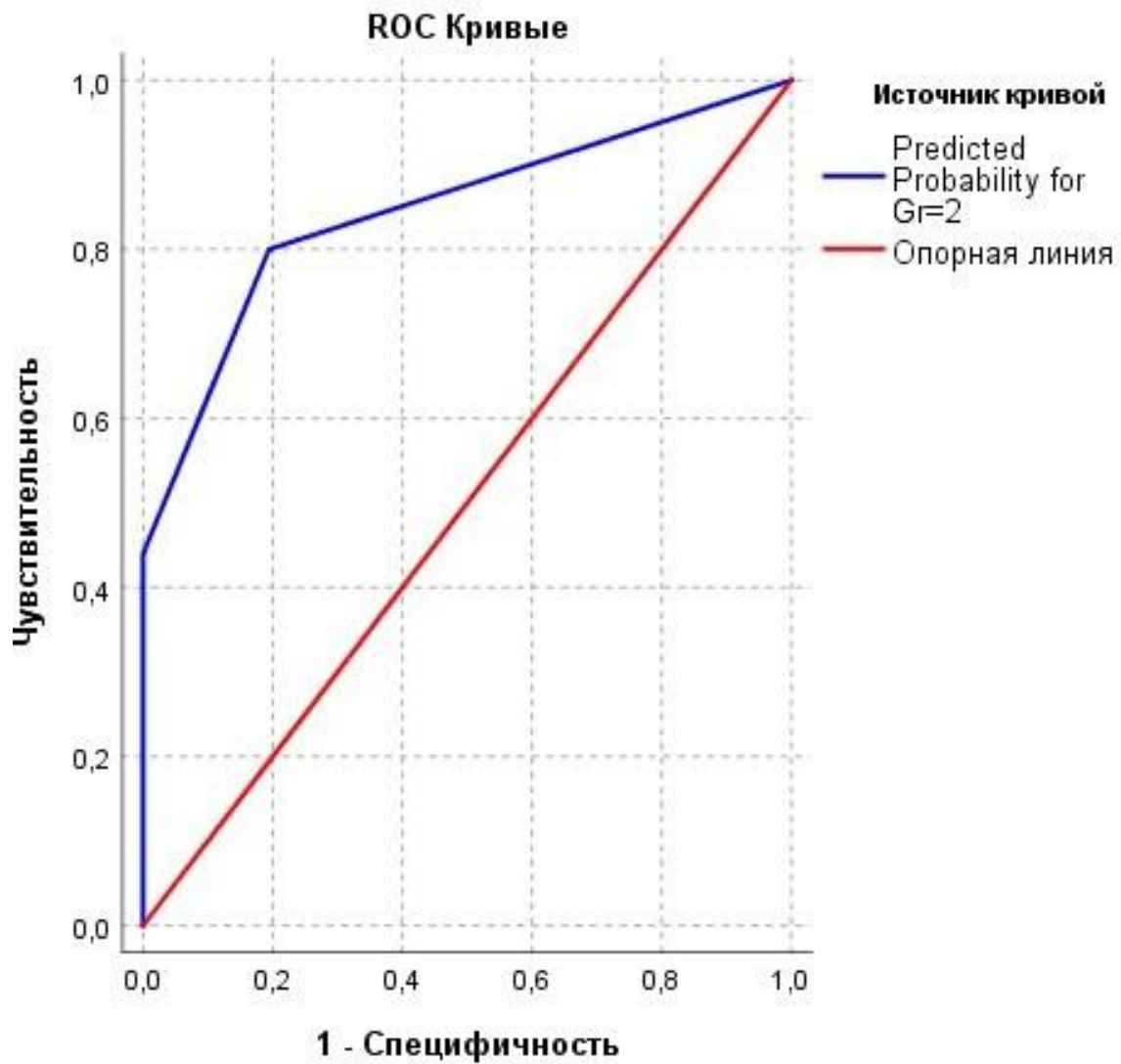
Статистическая значимость (4 различных способа расчёта) и сила связи между фактором риска и исходом этих оценок (3 различных способа расчёта) характеризуется таблицей для IB и группой II (таблицы 7 и 8).

Таблица 8 – Критерии оценки силы связи между фактором риска и исходом

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

Примечание - * - интерпретация полученных значений статистических критериев согласна рекомендациям Rea & Parker

Диагностическая мощность алгоритма подтверждается ROC анализом, вытекающим из этого дерева решений (рисунок 9).



Площадь под кривой 0,85

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

Аналогичным образом находим правила классификации для подгруппы IA-II (рисунок 10).

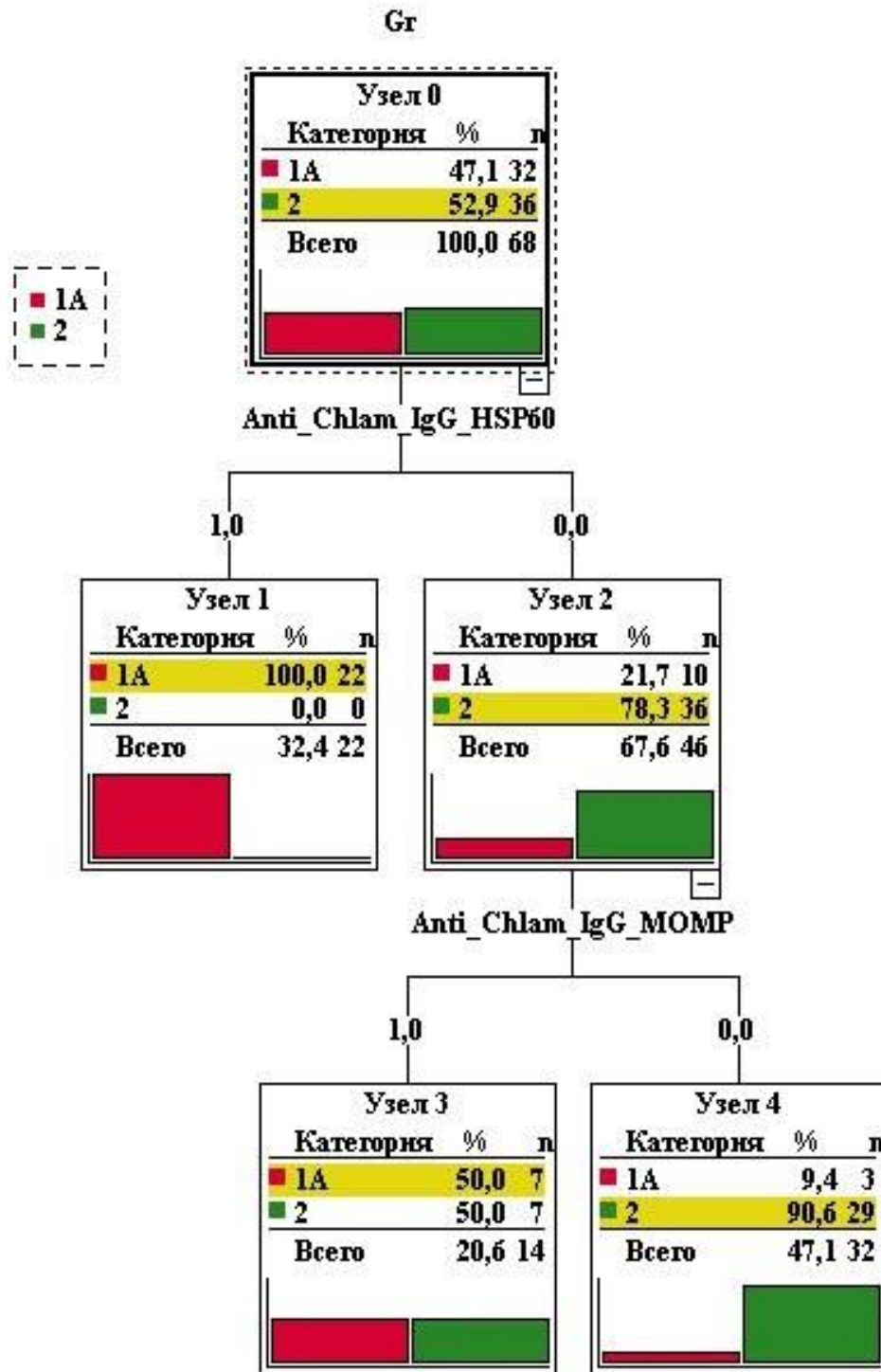


Рисунок 10 – Дерево классификации для подгрупп IA и II групп.

Из рисунка 10 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%.
 Диагностическая точность решений 85,3%.

Таблица 9 – Эпидемиологические характеристики метода деревьев решений для IA подгруппы и группы сравнения

Абсолютный риск в основной группе (EER)	0,906
Абсолютный риск в контрольной группе (CER)	0,194
Относительный риск (RR)	4,661
Стандартная ошибка относительного риска (S)	0,344
Нижняя граница 95% ДИ (CI)	2,375
Верхняя граница 95% ДИ (CI)	9,146
Снижение относительного риска (RRR)	3,661
Разность рисков (RD)	0,712
Чувствительность (Se)	0,806
Специфичность (Sp)	0,906
Возможность определения риска в основной группе	9,667
Возможность определения риска в контрольной группе	0,241
Отношение шансов (OR)	40,048
Стандартная ошибка отношения шансов (S)	0,738
Нижняя граница 95% ДИ (CI)	9,421
Верхняя граница 95% ДИ (CI)	170,243

Из таблицы 9 следует, что доверительные интервалы для отношения шансов и относительного риска не включают в себя единицу, соответственно, являются статистически значимыми.

Таблица 10 – Критерии оценки значимости различий исходов в зависимости от воздействия фактора риска для IA подгруппы и группы сравнения

Наименование критерия	Значение критерия	Уровень значимости
Критерий Хи-квадрат	34,453	<0,001
Критерий Хи-квадрат с поправкой Йейтса	31,655	<0,001
Критерий Хи-квадрат с поправкой на Правдоподобие	38,653	<0,001
Точный критерий Фишера (двусторонний)	0,00000	p<0,05

Примечание - Минимальное значение ожидаемого явления – 15,06.

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 контрольной II группы (таблицы 10 и 11).

Таблица 11 – 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

Примечание - * - интерпретация полученных значений статистических критериев согласна с рекомендациями Rea & Parker

Диагностическая мощь алгоритма подтверждается ROC анализом, вытекающим из этого дерева решений (рисунок 11).

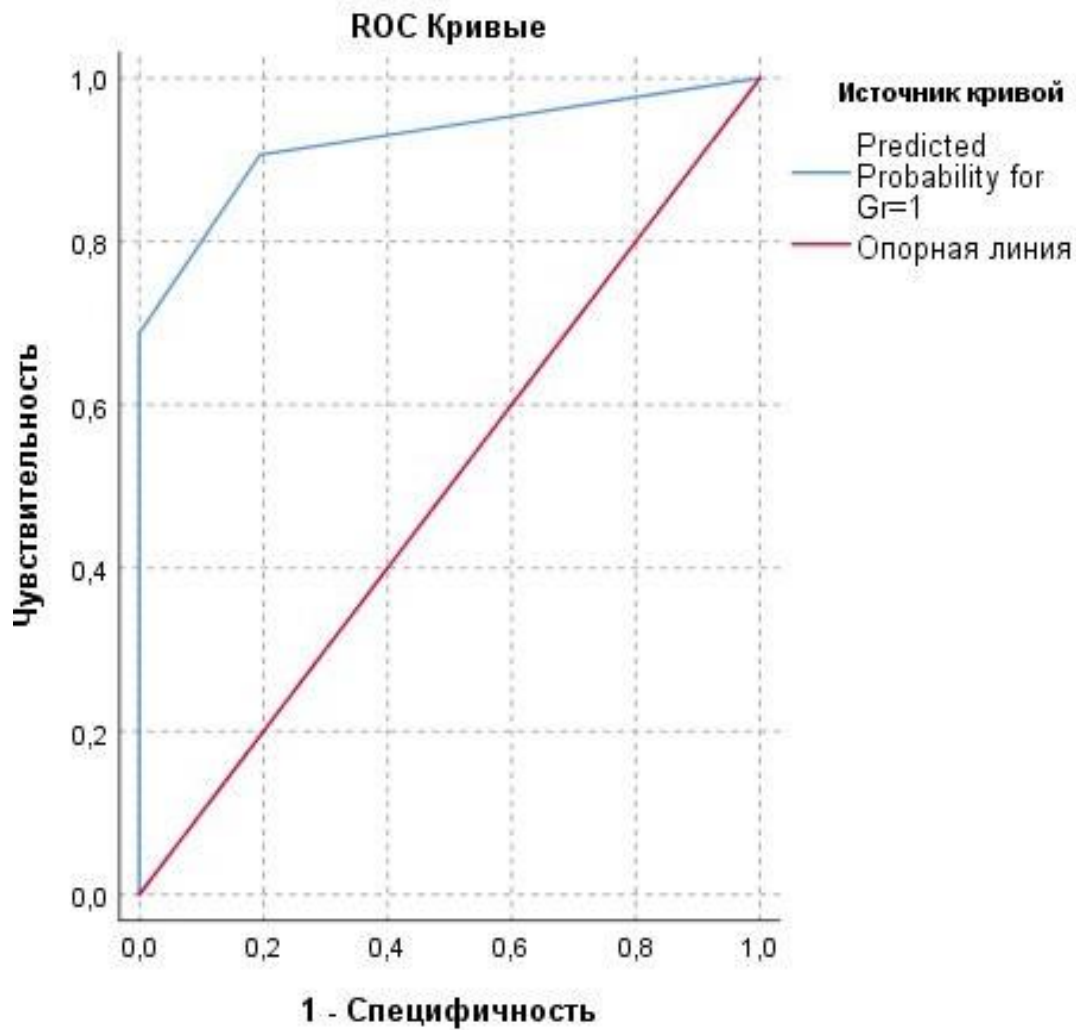


Рисунок 11 – ROC кривая, классифицирующая подгруппу IA и группу сравнения.

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 12.

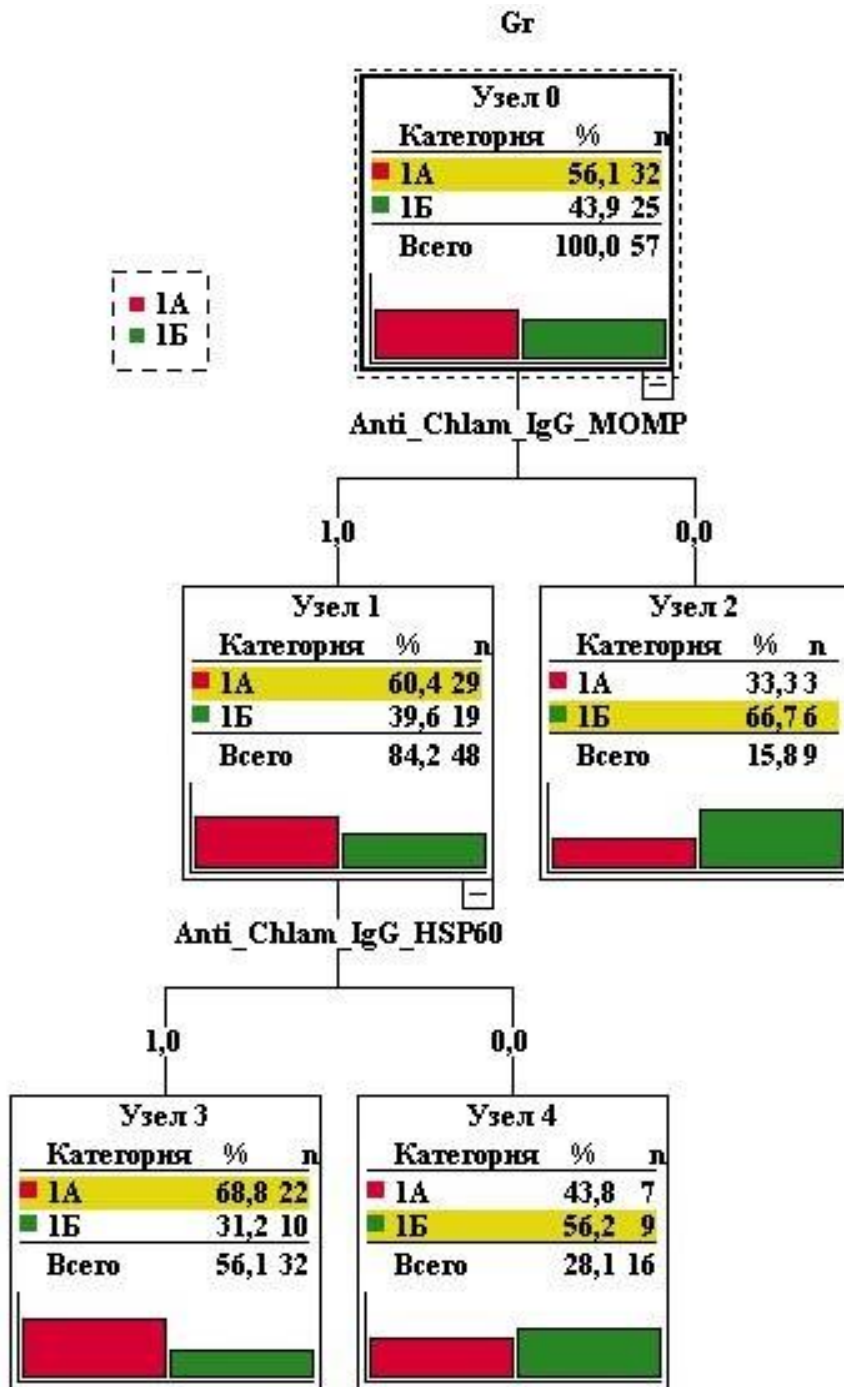


Рисунок 12 – Дерево классификации для подгрупп 1А и 1Б.

Выделяем решающее правило для 1А подгруппы:

$$\text{IgG_MOMP} = 1 \text{ и } \text{IgG_HSP60} = 1$$

Выделяем решающее правило для 1Б подгруппы:

Если $\text{IgG_MOMP} = 0$

(3)

Если $\text{IgG_MOMP} = 1$ и $\text{IgG_HSP60} = 0$

На основе которых из входного потока пациентов можно выделить подгруппу IA с чувствительностью (Se) 69% и специфичностью (Sp) 60%, или, т. к. групп две, прогнозируем (выделяем) группу IB с чувствительностью (Se) 60% и специфичностью (Sp) 69% (таблица 12).

Здесь мы видим, что обе группы патологий слабо различимы (разделяемы), что неудивительно ввиду сходства патологических процессов и небольшой исходной базы.

Диагностическая точность решений 64,9%.

Таблица 12 – Эпидемиологические характеристики метода деревьев решений для IA и IB подгрупп

Абсолютный риск в основной группе (EER)	0,688
Абсолютный риск в контрольной группе (CER)	0,400
Относительный риск (RR)	1,719
Стандартная ошибка относительного риска (S)	0,272
Нижняя граница 95% ДИ (CI)	1,008
Верхняя граница 95% ДИ (CI)	2,931
Снижение относительного риска (RRR)	0,719
Разность рисков (RD)	0,287
Чувствительность (Se)	0,688
Специфичность (Sp)	0,600
Возможность определения риска в основной группе	2,200
Возможность определения риска в контрольной группе	0,667
Отношение шансов (OR)	3,300
Стандартная ошибка отношения шансов (S)	0,559
Нижняя граница 95% ДИ (CI)	1,104
Верхняя граница 95% ДИ (CI)	9,864

Таблица 13 – Критерии оценки значимости различий исходов в зависимости от воздействия фактора риска для IA и IB подгрупп

Наименование критерия	Значение критерия	Уровень значимости
Критерий Хи-квадрат	4,711	0,030
Критерий Хи-квадрат с поправкой Йейтса	3,616	0,058
Критерий Хи-квадрат с поправкой на Правдоподобие	4,757	0,030
Точный критерий Фишера (двусторонний)	0,03592	p<0,05

Примечание - Минимальное значение ожидаемого явления – 10,96.

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 (таблицы 13 и 14).

Таблица 14 – 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

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

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

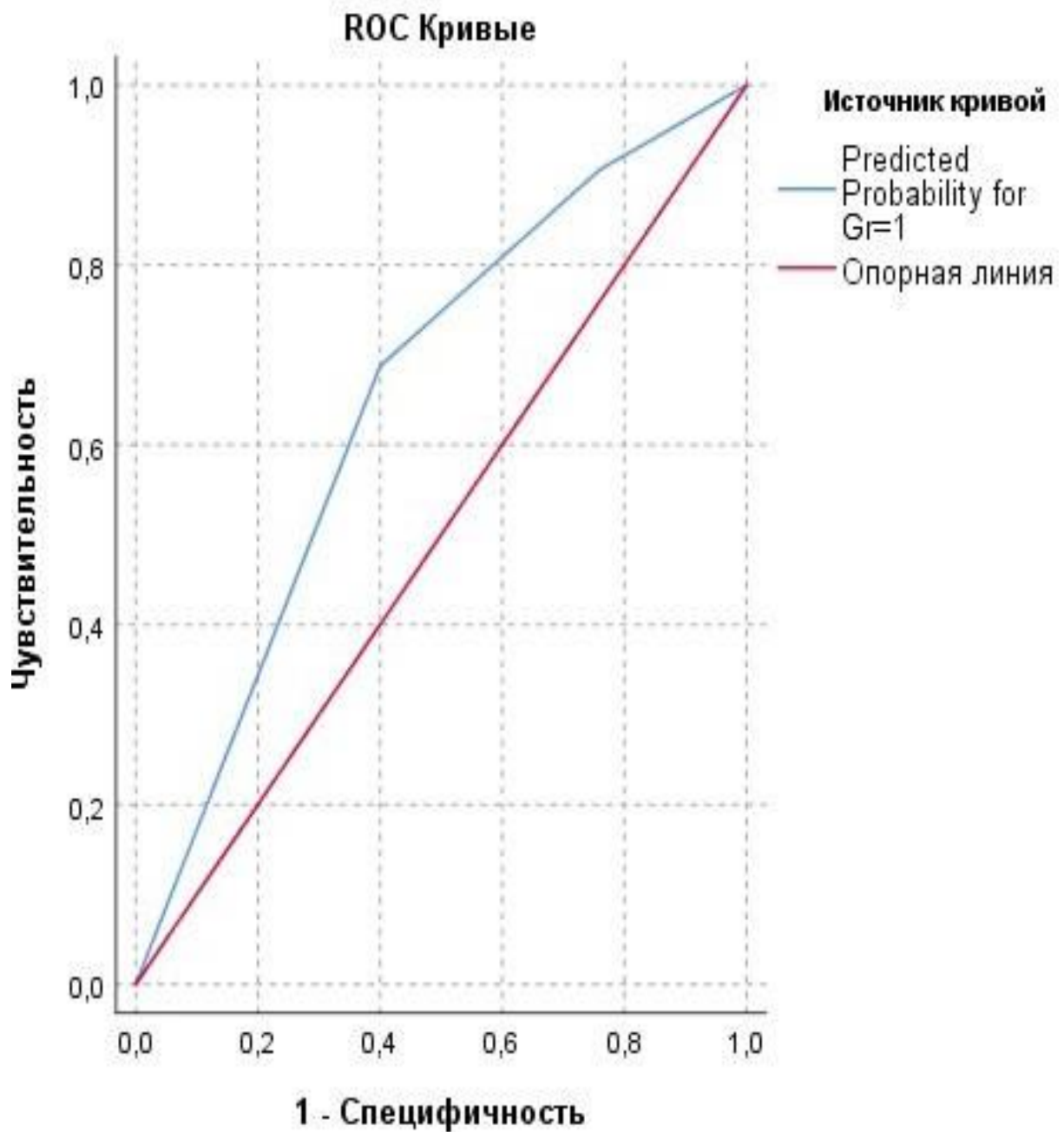


Рисунок 13 – ROC кривая, классифицирующая подгруппу IA и IB.

Площадь под кривой 0,65.

Теперь исследуем возможности прогноза сразу всех групп патологий. Этот подход имеет большую клиническую и прогностическую значимость, т.к. выдаёт решения без учёта разделения входного потока данных как по пациентам, так и по переменным. Дополнительно проводилась кроссвалидация или перекрёстная проверка.

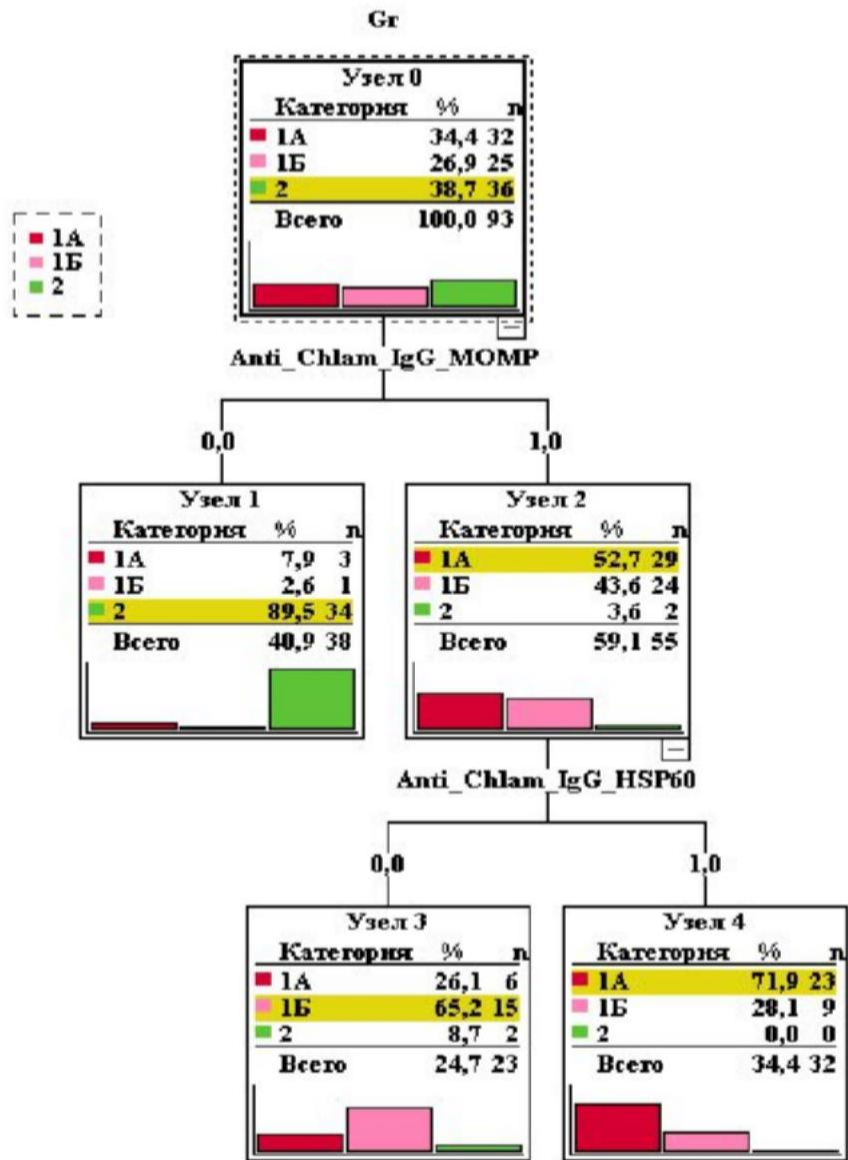


Рисунок 14 – Дерево классификации для подгрупп IA и IB и группы контроля.

Выделяем решающее правило для IA подгруппы: $IgG\ MOMP = 1$ и $IgG\ HSP60 = 1$

Выделяем решающее правило для II группы:

Если $Ig\ GMOMP = 0$ (3)

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% (рисунки 13 и 14, таблица 15).

Таблица 15 – Эпидемиологические характеристики метода деревьев решений для IA подгруппы

Абсолютный риск в основной группе (EER)	0,870
Абсолютный риск в контрольной группе (CER)	0,014
Относительный риск (RR)	60,926
Стандартная ошибка относительного риска (S)	1,406
Нижняя граница 95% ДИ (CI)	3,872
Верхняя граница 95% ДИ (CI)	958,620
Снижение относительного риска (RRR)	59,926
Разность рисков (RD)	0,856
Число больных, которых необходимо лечить (NNT)	1,168
Чувствительность (Se)	0,979
Специфичность (Sp)	0,908
Возможность определения риска в основной группе	6,714
Возможность определения риска в контрольной группе	0,014
Отношение шансов (OR)	463,286
Стандартная ошибка отношения шансов (S)	1,535
Нижняя граница 95% ДИ (CI)	22,853
Верхняя граница 95% ДИ (CI)	939,875

Таблица 16 – Критерии оценки значимости различий исходов в зависимости от воздействия фактора риска для IA подгруппы

Наименование критерия	Значение Критерия	Уровень значимости
Критерий Хи-квадрат	48,773	<0,001
Критерий Хи-квадрат с поправкой Йейтса	45,103	<0,001
Точный критерий Фишера (двусторонний)	0,00000	p<0,05
<i>Минимальное значение ожидаемого явления - 9.97</i>		

Таблица 17 – Критерии оценки силы связи между фактором риска и исходом

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

Примечание - * - интерпретация полученных значений статистических критериев согласнорекомендациям Rea & Parker

При анализе таблиц 9, 12 и 15 видно, что в последнем случае чувствительность и специфичность значительно возросли. Это доказывает предпочтительность прогнозных решений по всей базе данных.

Диагностическая мощьность алгоритма подтверждается ROC анализом, вытекающим из этого дерева решений (рисунок 15).

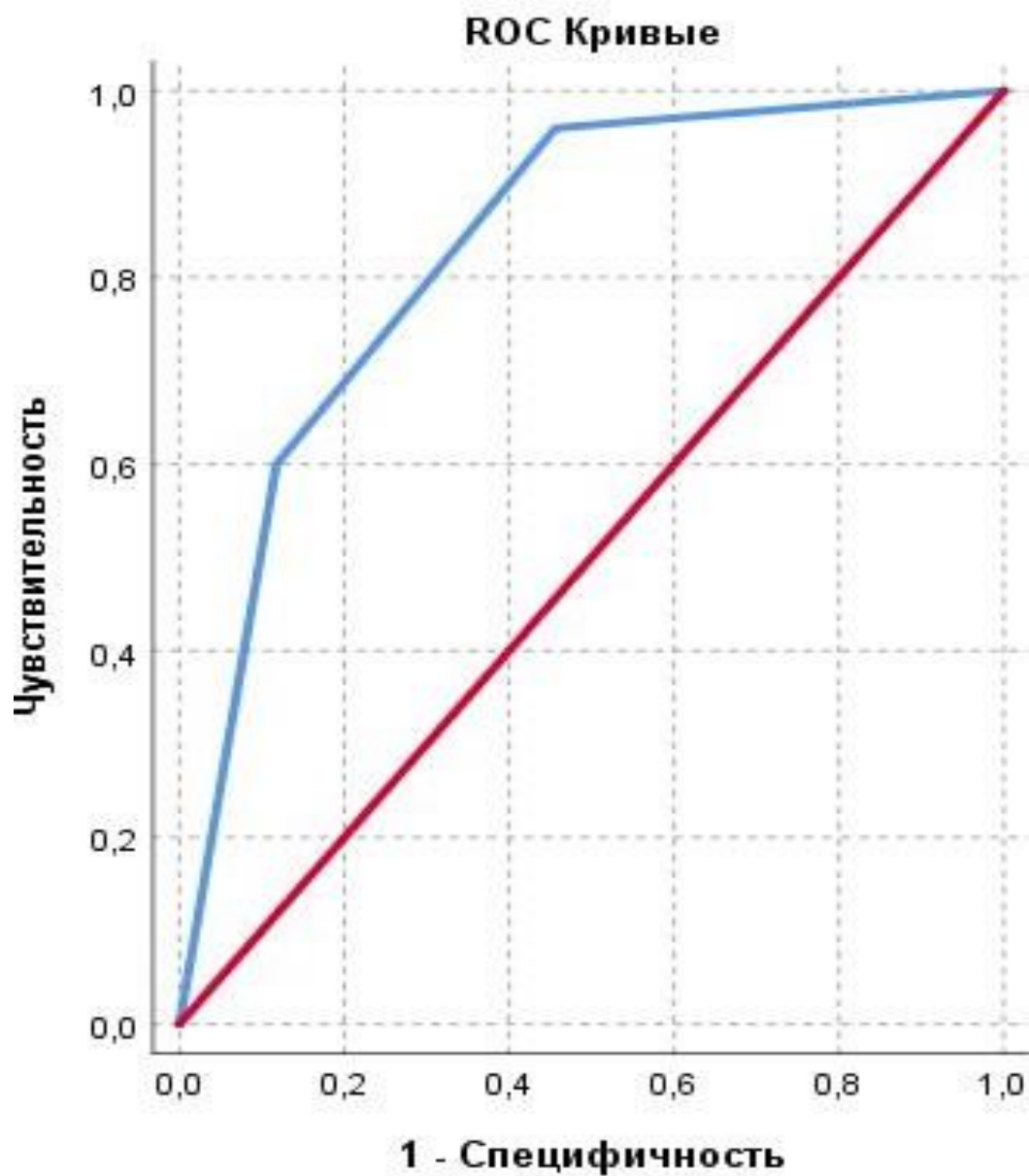


Рисунок 15 – ROC кривая, классифицирующая подгруппу IA и II группы.
Площадь под кривой 0,83

Таблица 18 – Эпидемиологические характеристики метода деревьев решений для IB подгруппы

Абсолютный риск в основной группе (EER)	0,667
Абсолютный риск в контрольной группе (CER)	0,056

Продолжение таблицы 18

Относительный риск (RR)	12,000
Стандартная ошибка относительного риска (S)	0,726
Нижняя граница 95% ДИ (CI)	2,889
Верхняя граница 95% ДИ (CI)	49,840
Снижение относительного риска (RRR)	11,000
Разность рисков (RD)	0,611
Число больных, которых необходимо лечить (NNT)	1,636
Чувствительность (Se)	0,750
Специфичность (Sp)	0,919
Возможность определения риска в основной группе	2,000
Возможность определения риска в контрольной группе	0,059
Отношение шансов (OR)	34,000
Стандартная ошибка отношения шансов (S)	1,015
Нижняя граница 95% ДИ (CI)	4,654
Верхняя граница 95% ДИ (CI)	248,384

Таблица 19 – Критерии оценки значимости различий исходов в зависимости от воздействия фактора риска для IB подгруппы

Наименование критерия	Значение критерия	Уровень значимости
Критерий Хи-квадрат	18,395	<0,001
Критерий Хи-квадрат с поправкой Йейтса	14,459	<0,001
Точный критерий Фишера (двусторонний)	0,00025	p<0,05
<i>Минимальное значение ожидаемого явления -1,60</i>		

Таблица 20 – 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

Примечание - * - интерпретация полученных значений статистических критериев согласна рекомендациям Rea & Parker

Диагностическая мощность алгоритма подтверждается ROC анализом, вытекающим из дерева решений (рисунок 16).

Согласно литературным данным, для анализа значений используется следующая экспертная шкала AUC, по которой можно судить о качестве модели (<https://loginom.ru/blog/logistic-regression-roc-auc>).

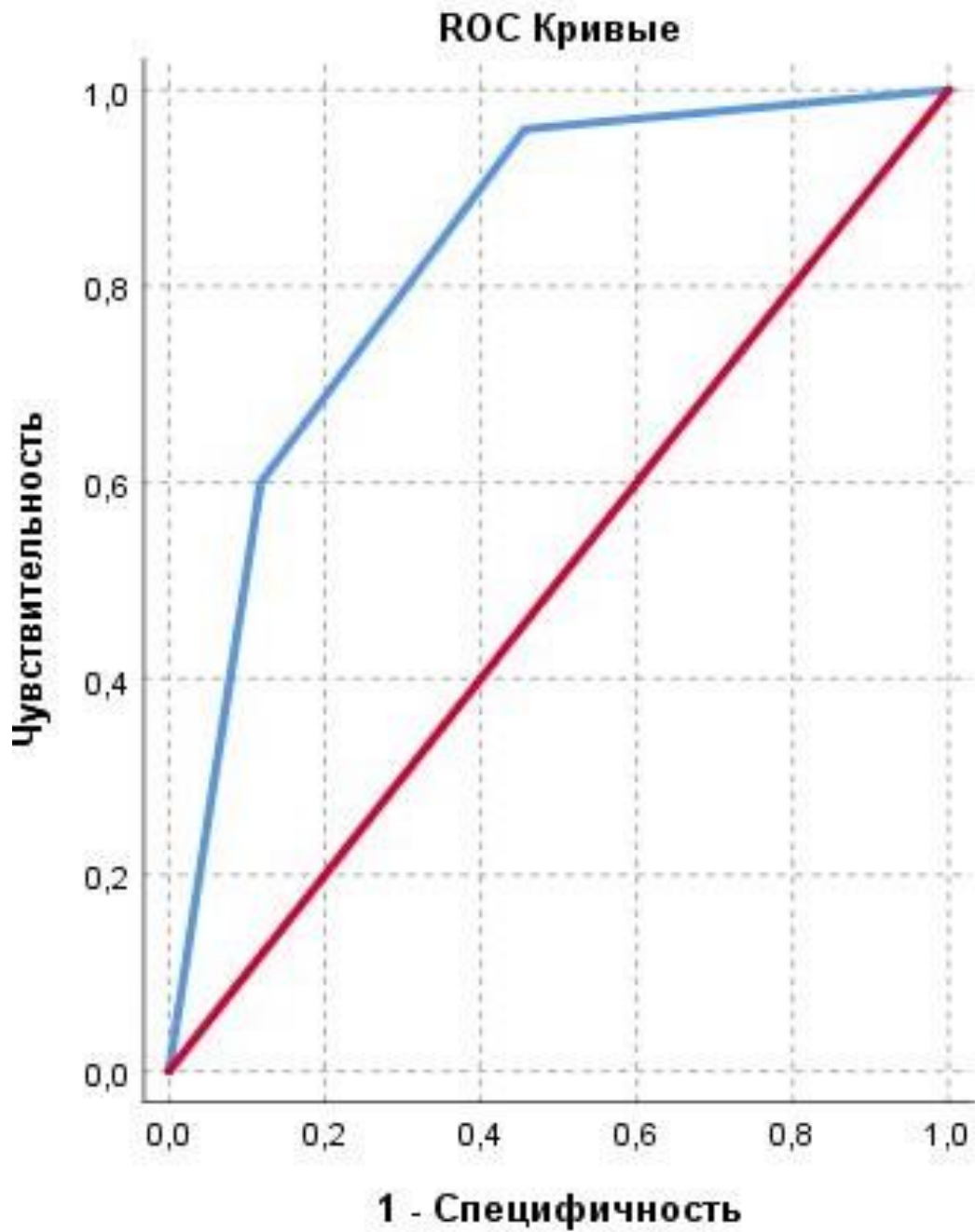


Рисунок 16 – ROC кривая, классифицирующая подгруппу IB и II группы.
Площадь под кривой 0,84

Таблица 21 – Экспертная шкала AUC

Интервал AUC	Качество модели
0,9-1,0	Отличное
0,8-0,9	очень хорошее
0,7-0,8	Хорошее
0,6-0,7	Среднее
0,5-0,6	Неудовлетворительное

Резюме

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* [29, 41], 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 [119, 187].

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*.

ГЛАВА 4. ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ГЕНА *NOD1* (*A>C*) и ГЕНА *NOD2* (*CCC>CC*) У ПАЦИЕНТОВ ПОДГРУПП *IA*, *IB* И *II* ГРУППЫ

Проведен сравнительный анализ распределения полиморфизмов rs6958571 гена *NOD1* (*A>C*) и s2066847 гена *NOD2* (*CCC>CC*).

У 32 пациентов с ранее перенесённой хламидийной инфекцией в анамнезе и патологией маточных труб, 25 пациентов с проходимыми трубами и положительными антителами к *Chlamydia trachomatis*. Группу контроля составили женщины без указаний на перенесенную хламидийную инфекцию в анамнезе с бесплодием неуточненного генеза, направленные на диагностическую лапароскопию (35 женщин). Для анализа построили таблицы сопряжения (частот).

Таблица 22 – Частоты генотипов по полиморфизму rs6958571 гена *NOD1* и rs2066847 гена *NOD2* среди пациенток *IA* и *IB* подгрупп в сравнении *II* группой

Генотип	Контроль (группа2), абс. (%)	Группа <i>IA</i> , абс. (%)	χ^2 (p)	Группа <i>IB</i> , абс. (%)	χ^2 (p)
	n=36	n=32		n=25	
rs6958571 - <i>NOD1</i> (<i>A>C</i>)					
<i>AA</i>	22 (61,1)	23 (71,9)	0,42 (0,49)	13 (52,0)	0,19 (0,66)
<i>AC</i>	14 (38,9)	9 (28,1)		12 (48,0)	
<i>CC</i>	0	0		0	
<i>PXB</i> (χ^2 (p))	2,09 (p>0,05)	0,86 (p>0,05)		2,49 (p>0,05)	
rs2066847 - <i>NOD2</i> (<i>CCC>CC</i>)					
<i>CCC/CCC</i>	31 (81,6)	30 (93,8)	0,4 (0,52)	24 (96,0)	0,7 (0,4)
<i>CCC/CC</i>	5 (13,9)	2 (6,2)		1 (4,0)	
<i>CC/CC</i>	0	0		0	
<i>PXB</i> (χ^2 (p))	0,2 (p>0,05)	0,03 (p>0,05)		0,01 (p>0,05)	

Примечание - *PXB* - равновесие Харди-Вайнберга

Таблица 23 – Частоты аллелей по полиморфизму rs6958571 гена *NOD1* и rs2066847 гена *NOD2* среди пациенток IA и IB подгрупп в сравнении с II группой

Аллель	Контроль (группа 2), абс. (%)	Группа IA, абс. (%)	χ^2 (p)	Группа IB, абс. (%)	χ^2 (p)
	n=35	n=32		n=25	
rs6958571 - <i>NOD1</i> (A>C)					
A	0,81	0,86	0,37 (0,54)	0,76	0,14 (0,70)
C	0,19	0,14		0,24	
rs2066847 - <i>NOD2</i> (CCC>CC)					
CCC	0,93	0,97	0,38 (0,54)	0,98	0,67 (0,41)
CC	0,07	0,03		0,02	

На основе таблиц 22, 23 построены диаграммы Финетти (рисунок 17). Они графически иллюстрируют частоты генотипов для биаллельного локуса в популяции. На этой диаграмме используется трехугольный график (также известный как тернарный) для представления распределения трех частот генотипа по отношению друг к другу. Кривая линия на приведенной выше диаграмме называется параболой Харди-Вайнберга. Эта кривая представляет собой точку, в которой аллели находятся в состоянии равновесия Харди-Вайнберга.

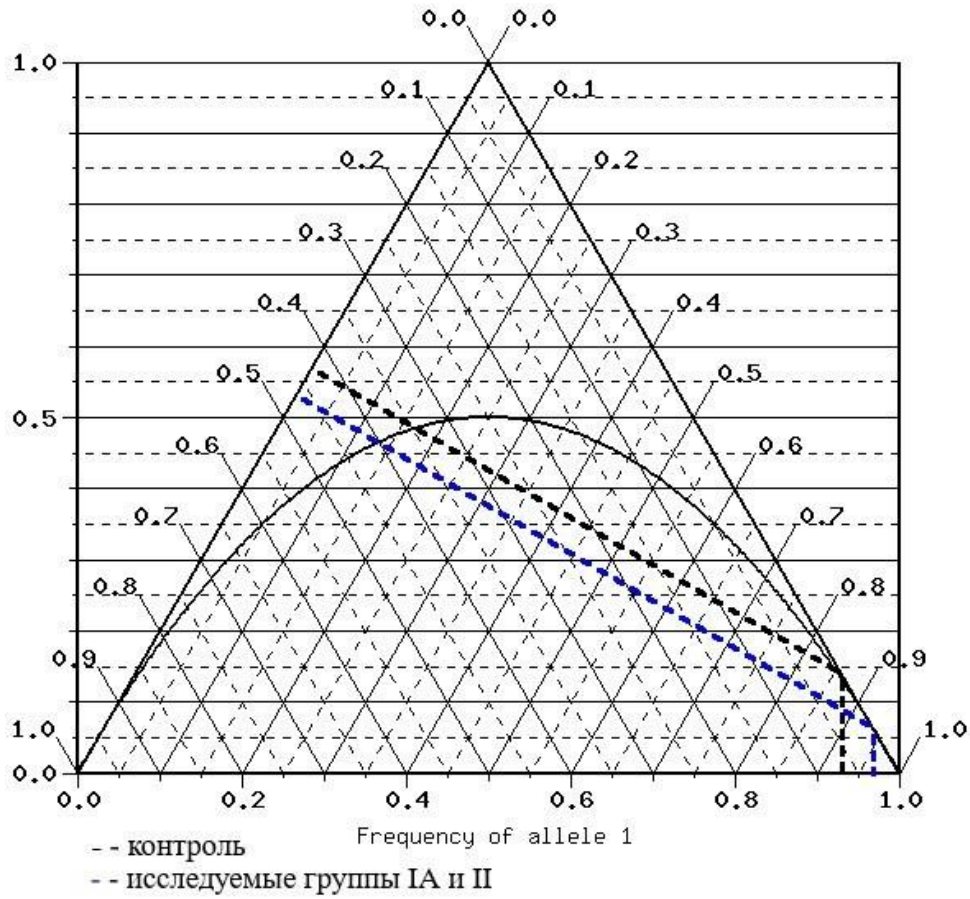


Рисунок 17 – Диаграмма Финетти с параболой Харди-Вайнберга для полиморфизма гена *rs2066847 NOD2(CCC>CC)* групп IA и II *rs2066847 NOD2(CCC>CC)*.

Группа II (контрольная)

Генотип 11: n=31 (31,17) [наблюдаемые (ожидаемые)], $\chi^2 = 0,001$

Генотип 12: n=5 (4,65) [наблюдаемые (ожидаемые)], $\chi^2 = 0,026$

Генотип 22: n=0 (0,17) [наблюдаемые (ожидаемые)], $\chi^2 = 0,174$ Ожидаемые частоты аллелей и стандартное отклонение:

Аллель 1: $67/72 = 0,931 \pm 0,0288$

Аллель 2: $5/72 = 0,069 \pm 0,0288$

Отклонение от равновесия Харди-Вайнберга:

Хи-квадрат Пирсона (df=1): $\chi^2 = 0,200$, p-value = 0,65433

Подгруппа 1A

Генотип 11: $n=0$ (30,03) [наблюдаемые (ожидаемые)], $\chi^2 = 0,000$

Генотип 12: $n=2$ (1,94) [наблюдаемые (ожидаемые)], $\chi^2 = 0,002$

Генотип 22: $n=0$ (0,03) [наблюдаемые (ожидаемые)], $\chi^2 = 0,031$

Ожидаемые частоты аллелей и стандартное отклонение:

Аллель 1: $62/64 = 0,969 \pm 0,0214$

Аллель 2: $2/64 = 0,031 \pm 0,0214$

Отклонение от равновесия Харди-Вайнберга:

Хи-квадрат Пирсона (df=1): $\chi^2 = 0,033$, p-value = 0,85521 Легенда:

- Длина вертикальной линии: частота генотипа 12.
- Длина левой перпендикулярной линии: частота генотипа 11.
- Длина правой перпендикулярной линии: частота генотипа 22.
- Ось X: частота аллеля 1.
- Пересечение параболы Харди-Вайнберга частота генотипа 12 в случае и вертикальной линии: равновесия Харди-Вайнберга.

В большинстве случаев частоту аллелей и генотипов вычисляют, взяв за основу частоту гомозиготных особей по рецессивному аллелю. Это единственный генотип, который однозначно распознается по фенотипическому проявлению. Тогда как отличить доминантные гомозиготы от гетерозигот часто не представляется возможным, поэтому их долю вычисляют, пользуясь уравнением Харди-Вайнберга.

Из приведённых расчётов видим, что равновесие Харди-Вайнберга выполняется **p-value = 0,65** для группы II и для подгруппы IA **p-value = 0,86**. Данный факт позволяет использовать закон для проведения расчетов.

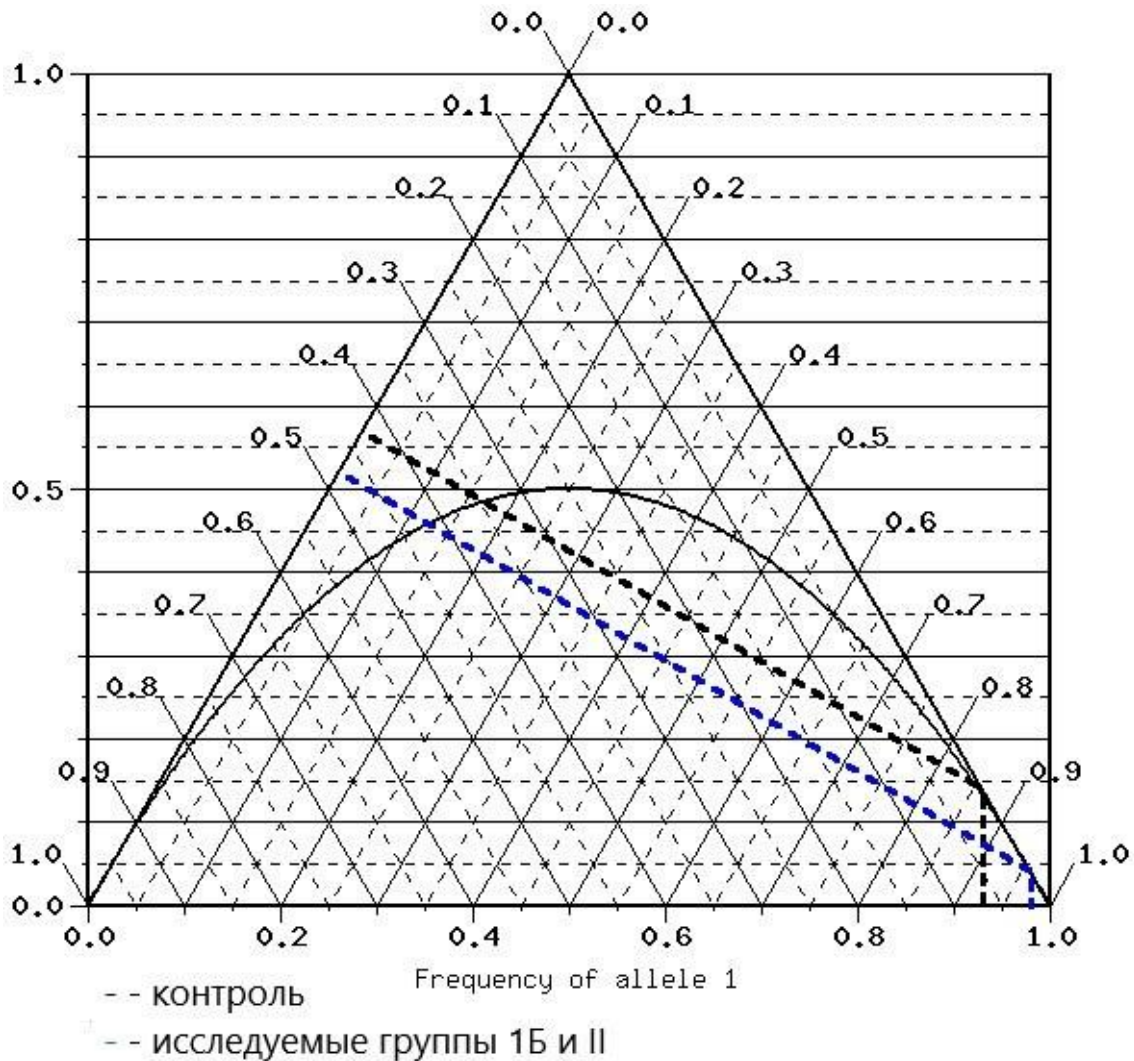


Рисунок 18 – Диаграмма Финетти с параболой Харди-Вайнберга для полиморфизма гена rs2066847 *NOD2*(CCC>CC) подгруппы IB и II группы rs2066847 *NOD2*(CCC>CC).

Группа II (сравнения)

Генотип 11: n=31 (31,17) [наблюдаемые(ожидаемые)], $\chi^2 = 0,001$

Генотип 12: n=5 (4, 65) [наблюдаемые(ожидаемые)], $\chi^2 = 0,026$

Генотип 22: n=0 (0,17) [наблюдаемые(ожидаемые)], $\chi^2 = 0,174$

Ожидаемые частоты аллелей и стандартное отклонение:

Аллель 1: 67/ $72 = 0,931 \pm 0,0288$

Аллель 2: 5/ $72 = 0,069 \pm 0,0288$

Отклонение от равновесия Харди-Вайнберга:

Хи-квадрат Пирсона (df=1): $\chi^2 = 0,200$, p-value = 0,65433

Подгруппа IB:

Генотип 11: n=24 (24,01) [наблюдаемые (ожидаемые)], $\chi^2 = 0,000$

Генотип 12: n=1 (0,98) [наблюдаемые (ожидаемые)], $\chi^2 = 0,000$

Генотип 22: n=0 (0,01) [наблюдаемые (ожидаемые)], $\chi^2 = 0,010$

Ожидаемые частоты аллелей и стандартное отклонение:

Аллель 1: $49/50 = 0,980 \pm 0,0196$

Аллель 2: $1/50 = 0,020 \pm 0,0196$

Отклонение от равновесия Харди-Вайнберга:

Хи-квадрат Пирсона (df=1): $\chi^2 = 0,010$, p-value = 0,91872. Легенда:

- Длина вертикальной линии: частота генотипа 12.
- Длина левой перпендикулярной линии: частота генотипа 11.
- Длина правой перпендикулярной линии: частота генотипа 22.
- Ось X: частота аллеля 1.
- Пересечение параболы Харди-Вайнберга частота генотипа 12 в случае и вертикальной линии: равновесия Харди-Вайнберга.

Из приведённых расчётов видим, что равновесие Харди-Вайнберга выполняется **p-value = 0,65** для группы II и для подгруппы IB **p-value = 0,92**. Данный факт позволяет использовать закон для проведения расчетов.

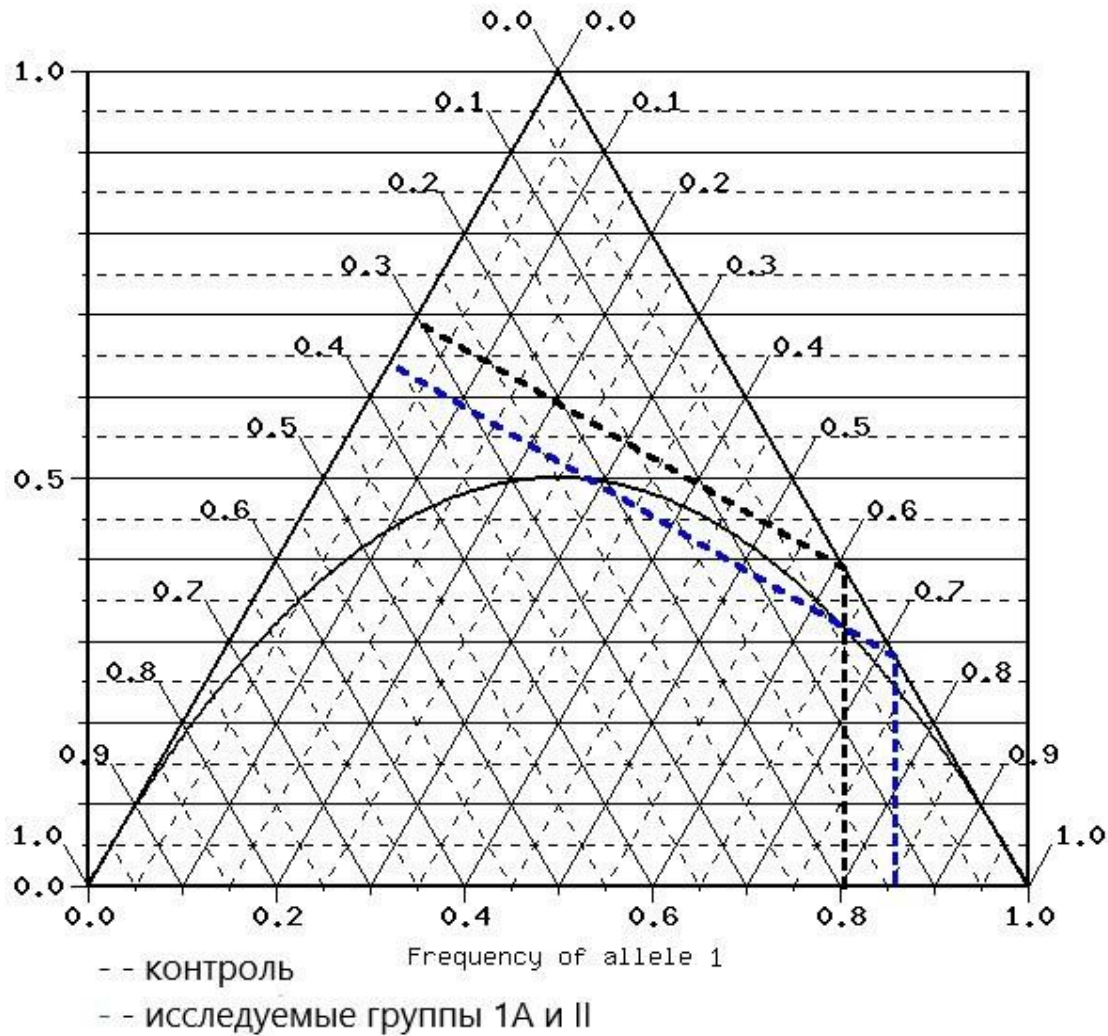


Рисунок 19 – Диаграмма Финетти с параболой Харди-Вайнберга для полиморфизма гена rs6958571 *NOD1* (A>C) групп 1А и 2 rs6958571 *NOD1* (A>C).

Группа II

Генотип 11: n=22 (23,36) [наблюдаемые(ожидаемые)], $\chi^2 = 0,079$

Генотип 12: n=14 (11,28) [наблюдаемые(ожидаемые)], $\chi^2 = 0,657$

Генотип 22: n=0 (1,36) [наблюдаемые(ожидаемые)], $\chi^2 = 1,361$

Ожидаемые частоты аллелей и стандартное отклонение:

Аллель 1: $58/72 = 0,806 \pm 0,0406$

Аллель 2: $14/72 = 0,194 \pm 0,0406$

Отклонение от равновесия Харди-Вайнберга:

Хи-квадрат Пирсона (df=1): $\chi^2 = 2,098$, p-value = 0,14754

Подгруппа А

Генотип 11: $n=23$ (23,63) [наблюдаемые(ожидаемые)], $\chi^2 = 0,017$ Генотип 12: $n=9$ (7,73) [наблюдаемые(ожидаемые)], $\chi^2 = 0,207$

Генотип 22: $n=0$ (0,63) [наблюдаемые(ожидаемые)], $\chi^2 = 0,633$

Ожидаемые частоты аллелей и стандартное отклонение:

Аллель 1: $55/64 = 0,859 \pm 0,0397$

Аллель 2: $9/64 = 0,141 \pm 0,0397$

Отклонение от равновесия Харди-Вайнберга:

Хи-квадрат Пирсона (df=1): $\chi^2 = 0,857$, p-value = 0,35462

Легенда:

- Длина вертикальной линии: частота генотипа 12.
- Длина левой перпендикулярной линии: частота генотипа 11.
- Длина правой перпендикулярной линии: частота генотипа 22.
- Ось X: частота аллеля 1.
- Пересечение параболы Харди-Вайнберга частота генотипа 12 в случае и вертикальной линии: равновесия Харди-Вайнберга.

Из приведённых расчётов видим, что равновесие Харди-Вайнберга выполняется **p-value = 0,15** для группы контроля (Гр.2) и для подгруппы IA **p-value = 0,35**. Данный факт позволяет использовать закон для проведения расчетов.

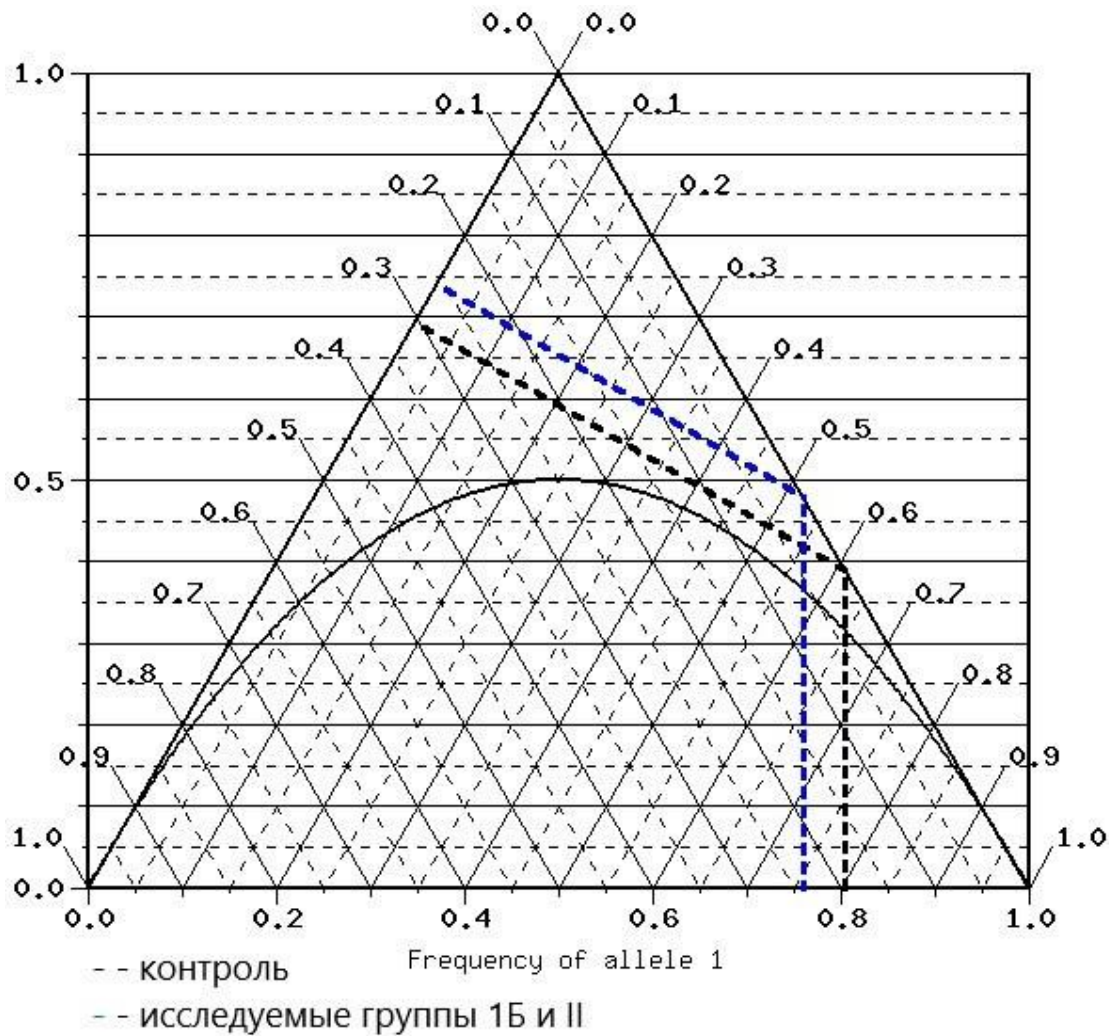


Рисунок 20 – Диаграмма Финетти с параболой Харди-Вайнберга для полиморфизма гена rs6958571 *NOD1* (A>C) групп IB и II.

rs6958571 *NOD1* (A>C)

Группа II

Генотип 11: n=22 (23,36) [наблюдаемые(ожидаемые)], $\chi^2 = 0,079$

Генотип 12: n=14 (11,28) [наблюдаемые(ожидаемые)], $\chi^2 = 0,657$

Генотип 22: n=0 (1,36) [наблюдаемые(ожидаемые)], $\chi^2 = 1,361$

Ожидаемые частоты аллелей и стандартное отклонение:

Аллель 1: $58/72 = 0,806 \pm 0,0406$

Аллель 2: $14/72 = 0,194 \pm 0,0406$

Отклонение от равновесия Харди-Вайнберга:

Хи-квадрат Пирсона (df=1): $\chi^2 = 2,098$, p-value = 0,14754

Подгруппа Б

Генотип 11: n=13 (14,44) [наблюдаемые(ожидаемые)], $\chi^2 = 0,144$

Генотип 12: n=12 (9,12) [наблюдаемые(ожидаемые)], $\chi^2 = 0,909$

Генотип 22: n=0 (1,44) [наблюдаемые(ожидаемые)], $\chi^2 = 1,440$

Ожидаемые частоты аллелей и стандартное отклонение:

Аллель 1: $38/50 = 0,760 \pm 0,0500$

Аллель 2: $12/50 = 0,240 \pm 0,0500$

Отклонение от равновесия Харди-Вайнберга:

Хи-квадрат Пирсона (df=1): $\chi^2 = 2,493$, p-value = 0,11435

Из приведённых расчётов видим, что равновесие Харди-Вайнберга выполняется **p-value = 0,15** для группы II и для подгруппы IA **p-value = 0,11**. Данный факт позволяет использовать закон для проведения расчетов.

Аллельные варианты полиморфных генов подвергались классическому молекулярно-эпидемиологическому анализу-сопоставлению встречаемости аллелей и генотипов у больных и контролей. Тест на соответствие выборки равновесию Харди-Вайнберга проводили с использованием метода χ^2 ($\alpha=0,05$, df=1). Для выявления ассоциации между заболеванием и генотипом использовалась мультипликативная модель. Ассоциацию между заболеванием и генотипом определяли с помощью критерия χ^2 (с коррекцией Йейтса на непрерывность выборки) либо точным двусторонним критерием Фишера, сравнивая распределение генотипов и аллелей по каждому полиморфизму между группами пациентов и группой сравнения.

Статистика. Аллель предрасположенности (возможного риска) против второго аллеля (протекторного). Анализ тенденций проводили с использованием аддитивной модели наследования (тест Кохрана - Армитаж для линейных трендов с одной степенью свободы). Достоверными считали различия при уровне ошибки $p \leq 0,05/3 = 0,017$, то есть допускали 1,7% вероятность того, что найденная в выборке связь между переменными является лишь случайной особенностью данной выборки. Уменьшение уровня значимости связано с наличием

множественных сравнений и, как следствие, – введением поправки Бонферрони.

Показатели «отношения шансов» (OR-odds ratio) с 95% доверительным интервалом (95% CI) рассчитывались для «редкого» аллеля, носителей «редкого» аллеля (гетерозигот + гомозигот по «редкому» аллелю) относительно «частых» аллелей и гомозигот по «частому» аллелю, соответственно. Аналогичный расчет проводился для гомозигот по «редкому» аллелю относительно гетерозигот и гомозигот по «частому» аллелю. Сравнение частот встречаемости сочетаний генотипов проводилось с использованием критерия Краскела-Уоллиса и точного двустороннего критерия Фишера. Отношение рисков (RR-related risk) рассчитано как отношение риска наступления события у лиц, имеющих фактор риска (определенное сочетание генотипов) по отношению к контрольной группе.

Результаты исследования частот полиморфных вариантов гена rs6958571 *NOD1* (A>C), rs2066847 *NOD2* (CCC>CC) у пациентов подгрупп IA, IB и II группы (контрольной выборке) представлены в таблицах 24 и 25.

Тренд-тест Кохрана–Армитажа показал статистически незначимые различия между сравниваемыми генотипами, что свидетельствует об отсутствии тенденции к повышению степени ассоциации генотипа с риском развития патологии IA или IB при увеличении в генотипе количества альтернативных аллелей.

Резюме

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 ($p>0,05$)).

ГЛАВА 5. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Хламидийная инфекция является наиболее диагностируемой инфекцией, передаваемой половым путем во всем мире. Первостепенно заражение примерно 70-80% инфекций у женщин протекают бессимптомно, что может приводить к репродуктивным осложнениям, в виде трубной беременности [3] и трубному бесплодию [1]. Несмотря на расширения тестирования и лечения, тенденция к росту заболеваемости данной инфекцией сохраняется. По оценкам ВОЗ, в 2016 г. зафиксировано 376 миллионов случаев заражения ИППП, при этом хламидийной инфекцией - 127 миллионов случаев, гонореей - 87 миллионов, сифилисом - 6,3 миллиона, трихомониазом - 156 миллионов [210, 211, 227]. Последствия перенесенного ИППП – одна из основных причин бесплодного брака. У пациенток, обращающихся по поводу бесплодия, частота трубно-перитонеальных форм варьируется от 35 до 60% [13] в структуре этой медико-социальной проблемы.

Частота бесплодия трубного генеза составляет (35–40%), а перитонеальная форма встречается в 9,2–34% случаев [14]. Особенностью инфицирования *Chlamydia trachomatis* является наличие бессимптомной фазы заболевания, затрудняющей диагностику. Как следствие, диагноз устанавливается при бесплодии трубно- перитонеального генеза. Поскольку у 50% мужчин [3] и у 80% женщин хламидийная инфекция протекает бессимптомно, обеспечивая легкость передачи половым партнерам [12, 210], истинная распространенность инфицирования *Chlamydia trachomatis* неизвестна [107, 203]. При этом попытки проводить тотальный скрининг определенных групп населения, наиболее подверженных заражению и передаче данной сексуально-трансмиссионной инфекции, в Соединенном королевстве принесли отрицательные плоды – избыточный скрининг населения по анализу антител к *Chlamydia trachomatis* привел к необоснованной антибактериальной терапии и, как следствие, растущей резистентности к антибиотикам.

Клинические проявления инфицирования хламидийной инфекцией неспецифичны и проявляются цервицитом и сальпингитом [17, 18, 19]. Несмотря

на неослабевающий интерес к исследованию хламидийной инфекции как причины сальпингита и бесплодия трубного генеза, до сих пор остаются неизвестными причины развития бесплодия только у части пациенток, перенесших хламидийную инфекцию. Что играет решающее значение – реакция организма хозяина на инфекцию или генетические детерминанты *Chlamydia trachomatis* – в восходящей инфекции и необратимости поражения маточных труб, остается дискуссионным вопросом. Возможно, что инфекционная нагрузка играет определённую роль. Эти знания могут быть полезными в поиске предикторов прогноза последствий перенесенной инфекции, способствовать эффективному ведению пациентов на ранних стадиях инфекции и профилактике восходящей инфекции [20].

В своей работе мы предприняли попытку поиска прогностических паттернов бесплодия трубного генеза, ассоциированного с хламидийной инфекцией. Набор пациентов осуществлялся в период с 2017 по 2020 гг. В исследование включено 93 пациенток репродуктивного возраста с бесплодием (N97.1 и N97.9 - женское бесплодие трубного генеза и женское бесплодие неуточненного генеза). В I группу вошли 57 женщин с указанием на перенесенную хламидийную инфекцию, во II группу (сравнения) были включены 36 бесплодных пациенток без хламидийной инфекции в анамнезе и отсутствием патологии маточных труб, подтвержденной в ходе диагностической лапароскопии. В зависимости от результатов лапароскопии пациенты I группы были разделены на две клинические подгруппы. В подгруппу IA были включены 32 женщины, у которых в ходе лапароскопического вмешательства был выявлен спаечный процесс III-IV степени и патология маточных труб, требующим выполнения разъединения спаек, сальпингооовариолизиса, сальпингонеостомии др. В подгруппу IB вошли 25 женщин с указанием на перенесенную хламидийную инфекцию в анамнезе, но с проходимыми маточными трубами, что позволило ограничиться диагностической лапароскопией.

Возраст женщин варьировал в диапазоне от 19 до 40 лет. В IA и IB подгруппе медианы соответствовали 30 годам с различными размахами [26,5; 35,0 и 27;33, соответственно] лет, в группе контроля - 27 [25; 29,5] лет. Полученные нами данные

совпадают с ранее опубликованными [19, 20, 21, 22]. Самая высокая распространенность хламидийной инфекцией отмечена у пациенток в возрасте 15-24 лет (24,2%) и 25-34 лет (16,8%) со снижением в 35-49 лет (9,6%). Именно поэтому в рамках усилий по сокращению распространения хламидийной инфекции и предупреждения ее последствий центр CDC рекомендует ежегодный скрининг всех сексуально активных женщин в возрасте до 25 лет [193, 194].

Медиана старта начала половой жизни в IA подгруппе составила 18 [17; 19,5], в IB подгруппе - 18 [18;19,5], во группе контроля – 19 [18;20] лет, соответственно.

Возраст начала половой жизни у женщин указанных групп достоверно не отличался между группами ($p>0,05$). Медиана продолжительности менструального цикла в IA подгруппе составила 29 [28; 30] дней, в IB подгруппе – 29 [28; 30] дней и во II группе (контроля) – 28 [28; 29] дней. Медиана возраста менархе в IA подгруппе составила 13 [12;14] лет, в IB подгруппе – 12 [12;14] лет, во II группе – 13 [13;14] лет. Медиана длительности менструального кровотечения составила в IA группе составила – 5 [5; 6] дней, во IB группе – 5 [5; 6] дней, в II – 5 [5; 6] дней. При анализе показателей менструальной функции пациенток исследуемых групп достоверных отличий между группами выявлено не было ($p>0,05$). Медиана индекса массы тела включенных в исследование женщин в IA подгруппе равнялась 23 [22,1; 24] кг/м², в IB подгруппе – 23,1 [22,3; 24,5] кг/м², в группе контроля - 22,8 [22,1; 23,0] кг/м². Статистически достоверных различий по этому показателю не выявлено ($p>0,05$). Ожирение является фактором риска многих неблагоприятных репродуктивных исходов. Среди сексуально активных подростков ожирение может увеличить риск заражения инфекцией, передающейся половым путем.

Серологические исследования, изучающие связь между ожирением и *S. trachomatis*, проводятся редко. В исследовании T. Rantsi [183] с соавторами у субфертильных женщин с повышенным ИМТ были выявлены более высокие титры антител к HSP60 *S. trachomatis* в сравнении с женщинами, имеющими нормальный вес. Связь была прослежена только с протеинами, экспрессируемыми во время персистенции, но не с MOMP и антителами к элементарным тельцам, которые отражают больше предыдущее воздействие. Эти данные убеждают в мысли, что на

течение и осложнения хламидийной инфекции может влиять ИМТ.

При анализе репродуктивного анамнеза выявлено, что у пациенток контрольной группы первичное бесплодие значительно чаще регистрировалось в сравнении с обеими подгруппами первой группы ($p < 0,05$). Статистически значимые различия между частотой вторичного бесплодия были выявлены у женщин IA и IB подгруппы по сравнению с пациентками контрольной группы ($p < 0,05$). Внутри первой группы различий по данным параметрам между подгруппами выявлено не было ($p > 0,05$). В отношении ранее перенесенных гинекологических заболеваний между пациентками исследуемых групп значимых отличий не выявлено ($p > 0,05$). Спаечный процесс органов малого таза I-II степени [8] в сочетании с отсутствием патологии маточных труб достоверно часто встречался в IB подгруппе по сравнению со IA подгруппой ($p = 0,0001$). При оценке перенесенных ранее оперативных вмешательств были установлены значимые различия между IA и IB подгруппами ($p = 0,0001$) с превалированием в подгруппе IB. Спаечный процесс III-IV степени у пациенток IA подгруппы встречался в 94% случаев с достоверно значимыми различиями по сравнению с IB подгруппой.

Как облигатная внутриклеточная бактерия, *Chlamydia trachomatis trachomatis* индуцирует гуморальный и клеточно-опосредованный ответ иммунной системы, который может способствовать устранению патогена или приводить к иммунопатологическим процессам, вызывающим стойкое повреждение эпителия маточных труб и, как следствие, репродуктивным потерям [14, 181]. Хламидийная инфекция может вызывать фиброз маточных труб, формирование гидросальпинкса, также спаечный процесс в малом тазу с необратимой последующей инфертильностью женщины [223]. Из-за бессимптомного течения *Chlamydia trachomatis trachomatis* диагноз бесплодия трубного генеза не может основываться исключительно на наличии или отсутствии в анамнезе воспалительных заболеваний малого таза. Именно этим обусловлена важность скрининга таких пациентов на предмет хламидийной инфекции. Инфекция, вызванная *Chlamydia trachomatis*, приводит к образованию антител, регистрируемых в сыворотке крови инфицированных пациентов [187, 214].

Исследования продемонстрировали факт того, что бесплодие трубного генеза в значительной степени связано с сывороточными антителами к *Chlamydia trachomatis trachomatis* [196]. Женщины с бесплодием и патологией маточных труб в 2–4 раза чаще имеют повышенный уровень антител к *Chlamydia trachomatis*, чем женщины с бесплодием с нормальными трубами [122, 149, 156]. В отличие от лапароскопии или гистеросальпингографии (ГСГ) - общепринятыми методами диагностики патологии маточных труб [51, 55] - серологическое обследование на наличие хламидийных инфекций половых органов является неинвазивным, более простым и быстрым тестом. Его задача заключается в определении группы пациенток, у которых, во-первых, с высокой долей вероятности могут быть изменения маточных труб необратимого характера [119, 161]. Во-вторых, имеет значение, какие именно антитела присущи патологии фаллопиевых труб. Настоящее исследование было направлено на изучение возможной роли серологических маркеров хламидийной инфекции в качестве скринингового теста на трубное бесплодие. При исследовании методом ПЦР в реальном времени содержимого маточных труб и перитонеальной жидкости, полученных интраоперационно, на наличие ДНК к *Trichomonas vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Neisseria gonorrhoeae* и *Ureaplasma urealyticum/parvum*. 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. Несмотря на то, что воспалительные процессы в малом тазу являются признанными осложнениями таких инфекций, как *C. trachomatis* и *N. gonorrhoeae* [32, 33, 92, 184], этиология ВЗОМТ до 70% случаев неизвестна. Анализ результатов бактериологического исследования содержимого маточных труб на наличие аэробной, анаэробной микрофлоры грибов рода *Candida* также не выявил наличия условно-патогенной микрофлоры в брюшной полости. Согласно мнению А. Costoya et al. [87], отсутствие возбудителей в маточных трубах и брюшной полости у женщин с перенесенной хламидийной инфекцией и спаечным процессом различной степени объясняется изменением в местном иммунном ответе хозяина, во время которого

микроорганизмы элиминируются иммунной системой [20]. Экспрессия Fas-рецепторов была выявлена в клетках генитального тракта. Физиологическое значение лигандов Fas-L/Fas-R-рецепторов заключается в активации регуляторных сигналов, модулирующих иммунокомпетентные клетки и активацию апоптоза, что приводит не только к элиминации возбудителей, но и последующему рубцеванию и спаечному процессу [12]. Среди 32 женщин IA подгруппы с бесплодием и указанием на перенесенную хламидийную инфекцию серопозитивность ко всем антихламидийным антителам Ig G была самой высокой среди обследуемых субъектов. У 26 (81%) из 32 пациенток антитела к HSP60 *C. 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 проходимость маточными трубами IgG к *Chlamydia trachomatis* были обнаружены у 20 (80%) из 25 пациенток, IgG к HSP60 *Chlamydia trachomatis* - у 10 (40%), IgG к MOMP *Chlamydia trachomatis* - у 24 (86%) женщин. В группе контроля у 2 (6%) из 36 пациенток были обнаружены IgG к MOMP *Chlamydia trachomatis* при отсутствии IgG к *Chlamydia trachomatis* и IgG к MOMP *Chlamydia trachomatis*.

У пациенток IA подгруппы с непроходимостью маточных труб и спаечным процессом III-IV ст. уровень антител к HSP60 *Chlamydia trachomatis* статистически различался по сравнению с пациентками IB подгруппы. У пациенток группы контроля при проведении диагностической лапароскопии данных за наличие патологии маточных труб не выявлено.

Таким образом, число пациентов с положительными сывороточными хламидийными антителами был значительно выше в подгруппах IA и IB в сравнении со II группой пациенток.

При лапароскопическом вмешательстве в подгруппах IA и IB результаты проходимости маточных труб различались. Тем не менее, даже когда мы не верифицировали видимую патологию маточных труб у пациенток в подгруппе IB, это не исключало нарушение функциональной активности собственно эпителия маточных труб, что, безусловно, снижает шансы на наступление беременности по

сравнению с женщины с отрицательным серологическим анализом на Ig к *Chlamydia trachomatis*.

Последствия хронического процесса, вызванного хламидийной инфекцией, скорее всего, зависят от степени распространения, продолжающей генерации и реализации хламидийного HSP60. Повторяющиеся продолжительные циклы активной инфекции и персистенции с дискретной реализацией хламидийного HSP60 могут, кроме того, способствовать нарушению толерантности к собственным HSP60 и развитию высокого титра анти-HSP60 аутоантител [119, 196]. Было показано, что HSP60 вносит вклад в пролонгированный локальный воспалительный ответ и создает риск для развития трубного фактора бесплодия у женщин [14, 24]. Повреждение маточных труб не просто чаще всего ассоциировано с хламидийной инфекцией, но и связано с врожденной способностью иммунной системы отвечать на воспаление, инициируемое эпителиальными клетками, инфицированными *Chlamydia trachomatis*, так и с адаптивным T-клеточным ответом [45]. При сравнении основной группы с группой контроля были получены статистически значимые отличия по HSP60. Таким образом, чем выше уровень антител, тем больше вероятность необратимого поражения маточных труб, что показывают выявленные нами различия между подгруппами в первой группе – с перенесенной хламидийной инфекцией и визуальным поражением маточных труб или без такового [192]. 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*. Однако это остается на данный момент нашим предположением.

Оценка индивидуального риска поздних осложнений хламидийной инфекции затруднена различием в иммунном ответе организма-хозяина на возбудителя [23, 164, 170, 174] и, как следствие, невозможности определения течения и исхода воспаления, вызванного *Chlamydia trachomatis*. Данная

вариабельность иммунного ответа может в некоторой степени быть объяснена бактериальными факторами микроорганизма (вирулентностью, бактериальной нагрузкой), коинфекцией, микробиомом и факторами организма-хозяина [2]. Генетические вариации хозяина, такие как однонуклеотидные полиморфизмы (SNP), связаны с различиями в реакции на хламидийную инфекцию. Задачей иммуногенетических [168] исследований оценить роль вариаций иммунологически важных генов хозяина, влияющих на течение и исход инфекционных заболеваний. Вариантами генетических вариаций являются однонуклеотидные полиморфизмы (SNP), в которых один нуклеотид был заменен, вставлен или удален, и вариации количества повторяющихся последовательностей ДНК (переменное количество тандемных повторов). Наличие генетической вариации может иметь прямые или косвенные биологические последствия. Возможные прямые биологические последствия наличия генетической вариации – это трансляция aberrантного белка, повышающая или понижающая регуляция трансляции нормального белка [60, 153]. Теоретически SNP могут быть использованы в алгоритме прогнозирования патологии маточных труб. Цель нашей работы состояла, в том числе, в изучении роли SNP в восприимчивости организма хозяина к хламидийной инфекции и, как следствие, и тяжести ее течения. По мнению В.М. Hoenderboom с соавторами, нуклеотид- связывающие белки домена олигомеризации (*NOD1* и *NOD2*) и связанные с ними сигнальные пути необходимы для регуляции воспалительных реакций и защиты хозяина от внутриклеточной хламидийной инфекции [121]. Макрофаги способствуют раннему высвобождению хемокинов и цитокинов. Для эпителиальных клеток и циркулирующих клеток врожденной иммунной системы характерно наличие рецепторов, таких как паттерны распознавания (PRR). Основными представителями семействами PRR являются Toll-подобные рецепторы (TLR) и однонуклеотидные полиморфизмы *NOD1* и *NOD2*. Именно они распознают и связывают антигены патогена - PAMPs (молекулярные паттерны, связанные спатогеном). PRR эпителиальных клеток или циркулирующих клеток обнаруживаются во внеклеточных, во внутриклеточных компартментах (*NOD*) или связаны с клеточной поверхностью (TLR). Наиболее важные SNP для реакции

макроорганизма на *Chlamydia trachomatis* находятся в рецепторах распознавания патогенов (PRR), участвующих в иммунном ответе и модулирующих его после контакта с хламидийной инфекцией [143, 150]. Чтобы понять генетическую основу трубного фактора бесплодия, вызванного хламидийной инфекцией, и различных проявлений повреждения маточных труб, мы изучили полиморфные варианты rs6958571 гена *NOD1* (A>C) и rs2066847 гена *NOD2* (CCC>CC) у пациенток, перенесших хламидийную инфекцию, и у женщин с отсутствием указаний на перенесенную хламидийную инфекцию в анамнезе и отрицательными антителами к *Chlamydia trachomatis*. Все пациенты были протестированы на равновесие Харди–Вайнберга для проверки менделевского наследования. При необходимости использовались точный критерий Фишера и критерий χ^2 , а значения $P < 0,05$ являлись статистически значимыми. Распределение генотипов находилось в соответствии с равновесием Харди–Вайнберга. Однако различия по определению аллелей и генотипов в исследуемых полиморфизмах двух генов между группами не были статистически связаны с тяжестью хламидийной инфекции. У женщин с трубным бесплодием и без патологии маточных труб мы не наблюдали значительных различий в распределении SNP. Таким образом, мы не подтвердили значение SNP в генах *NOD1* и *NOD2* на восприимчивость и тяжесть течения хламидийной инфекции у пациенток. Наши данные не совпадают с ранее опубликованными и подтвердившими роль *NOD1* в индукции клеточных изменений в ответ на хламидийную инфекцию [129]. Полученные нами отрицательные результаты значимости этих генов не исключают необходимости проведения более масштабных исследований для дальнейшего изучения этих двух SNP.

Возможный способ прервать патологический процесс, вызванный *Chlamydia trachomatis*, - выявление пациентов из группы высокого риска по ИППП. Не способствуют снижению распространенности хламидийной инфекции позднее обращение за медицинской помощью, различия в скрининге, методах диагностирования и лечении ИППП [37, 124, 198, 206]. Вероятным решением этой проблемы может быть целевой скрининг женщин из группы риска с

использованием новых и ранее изученных маркеров [39, 41, 131, 133, 152, 162]. Активация клеточного иммунитета хозяина приводит к элиминации хламидийной инфекции, при этом наличие антител в ответ на первичное инфицирование является вероятной защитой от реинфекции [73, 169]. С одной стороны, раннее назначение антибактериальной терапии по поводу выявленной хламидийной инфекции приводит к уменьшению репродуктивных осложнений. С другой стороны, было высказано предположение, что раннее применение антибиотиков при отсутствии клинических симптомов препятствует развитию защитного иммунного ответа макроорганизма [123], что при отсутствии адекватного иммунного ответа увеличивает риск повторного инфицирования - так называемая гипотеза «арестованного» иммунитета [201]. Отсюда вытекает самый важный вопрос о времени начала терапии. В этой связи, возможными «помощниками» могли быть некоторые паттерны иммунной системы, способные выделить группу пациентов с прогнозируемыми осложнениями течения хламидийной инфекции. Лабораторная диагностика урогенитальной *Chlamydia trachomatis* инфекции часто основана на верификации ДНК методом ПЦР, имеющим высокую чувствительность и специфичность. В образцах материалов должна присутствовать ДНК хламидий, но необязательно инфицированные клетки или живые бактерии, хотя *Chlamydia trachomatis* является внутриклеточным возбудителем. В случаях персистенции инфекции глубоко в тканях образцы могут требовать инвазивного забора материала или биопсии пораженных тканей. Поэтому серологический метод может быть полезным для идентификации возможного присутствия *Chlamydia trachomatis* в макроорганизме [165]. Кроме того, серологические маркеры персистирующей инфекции *Chlamydia trachomatis* имеют диагностическое значение в прогнозировании восходящего пути инфицирования и репродуктивных нарушений [187]. Вирулентность *Chlamydia trachomatis* характеризуется измененным профилем транскрипции и экспрессией гена высокоиммуногенных специфических белков, к ним относятся белок теплового шока (сHSP60), хламидийный TroA и HtrA. В персистирующем состоянии *Chlamydia trachomatis* гены сHSP60 активируются, что приводит к усилению их экспрессии [122, 183].

Согласно полученным нами результатам, специфический клеточно-опосредованный иммунный ответ может быть положительным как при наличии патологии маточных труб, так и у субфертильных женщины без повреждения маточных труб. Неосложненная однократная перенесенная хламидийная инфекция с ранним лечением может вызвать клеточно-опосредованный иммунный ответ без патологии маточных труб. Иммунный ответ на HSP60 *Chlamydia trachomatis* тесно связан с хронической хламидийной инфекцией и бесплодием трубного генеза. В нашем исследовании HSP60- индуцированный клеточно-опосредованный иммунный ответ был достаточно высоким, что позволяет высказать предположение о HSP60 как маркере бесплодия трубного генеза, ассоциированного с *Chlamydia trachomatis*. Точные неинвазивные методы прогнозирования бесплодия трубного генеза при обследовании бесплодных пар могут быть клинически полезны во избежание ненужных инвазивных исследований, задержки в лечении или при планировании наиболее эффективного и экономичного лечения у субфертильных пар. Что касается результатов нашего исследования, то при анализе титра антител мы пришли к выводу, что специфичность IgG HSP60 в прогнозировании трубного бесплодия может быть увеличена путем комбинирования MOMP IgG *Chlamydia trachomatis* чувствительностью (Se) 81% и специфичностью (Sp) 91%.

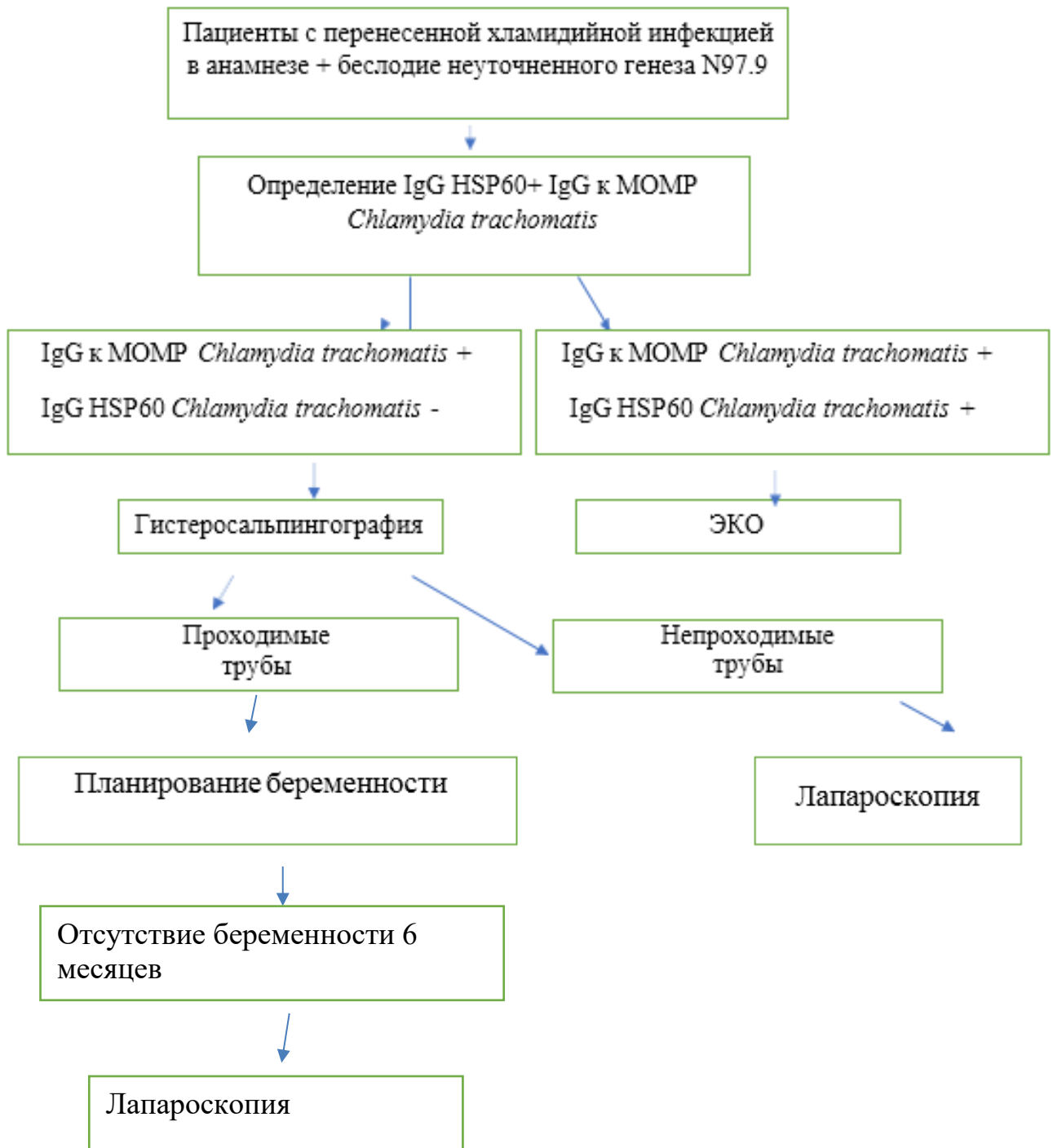
Ранее предложены различные схемы ведения пациенток согласно результатам серологического обследования. Однако унифицированных схем на сегодняшний день не существует. Так, в разных госпиталях в Нидерландах рассматриваются различные варианты ведения. В первом случае при положительном результате любых антител к *Chlamydia trachomatis* в зависимости от возраста (точка отсчета – 39 лет) предлагается ЭКО или лапароскопия. При отрицательном результате выполняется гистеросальпингография (ГСГ), при наличии патологии при ГСГ показана лапароскопия, при отсутствии - рекомендуется попытка спонтанной беременности. В другом госпитале антитела не учитываются, выполняется на первом этапе ГСГ и в зависимости от результатов лапароскопия. В третьем случае наоборот – после исследования антител решается сразу вопрос о лапароскопии при положительном результате независимо от

возраста. В четвёртом варианте схема иная - на первом этапе исследуются антитела, затем при положительном тесте – лапароскопия, либо ГСГ при отрицательном [125].

Нами предпринята попытка расширить точность неинвазивной диагностики за счет исследования генов хозяина, отвечающих за иммунный ответ. Ранее была подтверждена роль *NOD* в активации иммунитета на различные патогены. Однако в нашей работе мы не подтвердили значимость этих генов в прогнозировании маточных труб. Ограничением в нашем исследовании является малая выборка пациентов, что предполагает дальнейшие разработки в этом направлении для получения окончательных результатов.

Однако детальное исследование в разных подгруппах антител, доступных в рутинной практике, позволило нам разработать собственный вариант схемы ведения пациенток с перенесенной хламидийной инфекцией (схема 1).

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



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты анализа анамнестических и клинических данных пациенток с перенесенной хламидийной инфекцией и трубно-перитонеальным бесплодием в сопоставлении с контрольной группой не позволили определить прогностические значимые клинические маркеры трубно-перитонеального бесплодия. Полученные данные ПЦР диагностики и бактериологического исследования смывов маточных труб и перитонеальной жидкости исключили наличия какой-либо флоры у пациенток с трубно-перитонеальным бесплодием и в группе контроля с бесплодием неуточненного генеза.

Проведенный генетический анализ не подтвердил прогностические возможности гена *NOD1* (A>C) и гена *NOD2* (CCC>CC) для выявления пациенток с восходящим путем инфицирования *Chlamydia trachomatis*. Для прогнозирования трубно-перитонеального бесплодия как результата перенесенной *Chlamydia trachomatis* показано определение IgG к HSP60 *Chlamydia trachomatis*. Внедрение алгоритма ведения бесплодных пациенток позволит выявить группы высокого риска по развитию трубно-перитонеального бесплодия для своевременного проведения лапароскопии или программы ЭКО.

ВЫВОДЫ

1. Анализ клинико-анамнестических 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 MOMP *Chlamydia trachomatis* имеет чувствительность (Se) 81% и специфичностью (Sp) 91%.

3. 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.

4. 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.

5. У женщин с бесплодием трубного генеза после перенесенной хламидийной инфекции не выявлены отличия в полиморфных вариантах rs6958571 гена *NOD1* (A>C) и rs2066847 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 MOMP *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 исключенным 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 гистеросальпинграфия. При проходимых маточных трубах рекомендовано спонтанная беременность, при отсутствии которой в течение 6 месяцев показано ЭКО. При отсутствии проходимости маточных труб, подтвержденным при помощи гистеросальпингографии, рекомендовано применение диагностической лапароскопии. В случае непроходимости маточных труб показана лапароскопия.

3. У женщин с положительными титрами IgG к HSP60 и МOMP *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.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ВЗОМТ – воспалительные заболевания органов малого таза

ВИЧ – вирус иммунодефицита человека

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ГСГ – гистеросальпингосонография

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИМТ – индекс массы тела

ИППП – инфекции, передаваемые половым путем

ИФА – иммуноферментный анализ

ЛПС – липополисахарид

РНК – рибонуклеиновая кислота

ТВУ – трансвагинальное ультразвуковое исследование

УГХИ – урогенитальная хламидийная инфекция

ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение

ЭТ – элементарное тельце

CARD – caspase activation and recruitment domain

CD 14 – ген, кодирующий трансмембранный белок CD14

CDC – центр по контролю и предупреждению заболеваний

CFTR – cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (регулятор трансмембранной проводимости)

CPAF – Chlamydial protease/proteasome-like activity factor (хламидийный протеазоподобный фактор)

IgG – иммуноглобулин G

IL – интерлейкин

Inc-белки – inclusion membrane proteins (белки клеточной мембраны)

IUSTI/WHO – Международный союз по борьбе с инфекциями, передающимися половым путем

FASL-FAS – лиганд

HSP60 – heat shock proteins (белок теплового шока)

HtrA/ TroA – high temperature requirement A (индуцируемые тепловым шоком сериновые протеиназы)

Q1 – верхний квартиль

Q3 – нижний квартиль

LPS – липополисахарид

Me – медиана

NOD – nucleotide-binding oligomerization domain

NF- κ B – nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (фактор транскрипции)

OMPА – outer membrane protein A (внешние мембранные белки)

PAMP – pathogen associated molecular patterns (патогенассоциированные молекулярные структуры)

PRRs – pattern recognition receptors (паттернраспознающие рецепторы)

SNP RS - single nucleotide polymorphism (однонуклеотидный полиморфизм)

Th – Т-хелпер

TLR – toll-like receptor (toll-подобные рецепторы)

TNF- α – фактор некроза опухоли

FASL-FAS – Fas-лиганд трансмембранный белок типа II

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авраменко, Н.В. Воспалительные заболевания органов малого таза у женщин как ведущий фактор формирования трубно-перитонеального бесплодия / Н.В. Авраменко // Запорожский медицинский журнал. – 2014. – № 4. – С. 63-68.
2. Анисимова, Н.С. Организация системы эпидемиологического наблюдения за хламидийной инфекцией: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.01 / Анисимова Наталия Сергеевна. – М., 2014. – 210 с.
3. Батыршина, С.В. Урогенитальный хламидиоз: проблемы, возможности и перспективы диагностики, терапии и профилактики / С.В. Батыршина // Практическая медицина. – 2010. – № 41. – С. 73-80.
4. Бондарева, Н.Е. Механизмы персистенции хламидий и совершенствование диагностики хронических хламидийных инфекций: дис. ... канд. мед. наук: 03.02.03 / Бондарева Наталия Евгеньевна. – Москва, 2020. – 172 с.
5. Боровик, А.П. Возбудители инфекций группы torch как возможная причина репродуктивных потерь / А.П. Боровик, И.Г. Кольцова, П.З. Протченко // Успехи современного естествознания. – 2003. – № 6. – С. 39.
6. Боровкова, Л.В. Современные методы диагностики и лечения инфекций, передающихся половым путем (Обзор) / Л.В. Боровкова, Е.В. Челнокова // Медицинский альманах. – 2010. – Т. 11, № 2. – С. 150-156.
7. Бурова, Н.А. Современные особенности патогенеза воспалительных заболеваний органов малого таза у женщин / Н.А. Бурова // Медицинский альманах. – 2016. – Т. 45, № 5. – С. 76-79.
8. Бухарина, Е.В. Роль инфекций, передаваемых половым путем, в патогенезе невынашивания беременности ранних сроков / Е.В. Бухарина // Вестник последиplomного медицинского образования. – 2001. – № 2. – С. 17–18.
9. Воробцова И.Н. Патогенетические особенности нисходящего распространения персистирующей хламидийной инфекции после медицинского аборта / И.Н. Воробцова, М.В. Коновалова, В.В. Васильев [и др.] // International Journal of Medicine and Psychology. – 2020. – Т. 3, № 1. – С. 122-126.

10. Гомберг, М.А. Ведение пациенток с воспалительными заболеваниями органов малого таза / М.А. Гомберг // Гинекология. – 2013. – Т. 15, № 6. – С. 46–49.
11. Довлетханова, Э.Р. Воспалительные заболевания органов малого таза (роль ИППП в развитии ВЗОМТ) / Э.Р. Довлетханова // Медицинский совет. – 2013. – № 8. – С. 62.
12. Дубровина, С.О. Актуальные вопросы хламидийной инфекции / С.О. Дубровина, Л.В. Рубаник, О.А. Ардинцева // Акушерство и гинекология. – 2019. – № 5. – С. 36-42.
13. Дубровина, С.О. Инфекции генитального тракта у женщин с верифицированной при лапароскопии патологией маточных труб и нормальными результатами лапароскопии / С.О. Дубровина, О.А. Ардинцева // Гинекология. – 2018. – Т. 20, № 1. – С. 75-77.
14. Дубровина, С.О. Роль хламидий в этиологии воспалительных заболеваний органов малого таза / С.О. Дубровина / Акушерство и гинекология. – 2017. – № 2. – С. 119-124.
15. Дубровина С.О. Факторы, влияющие на трудности диагностики и профилактики хламидийной инфекции / С.О. Дубровина, Л.В. Рубаник, О. А. Ардинцева, В.С. Гимбут // Гинекология. – 2019. – Т. 21, № 3. – С. 26-29.
16. Зароченцева, Н.В. Воспалительные заболевания органов малого таза у женщин (обзор литературы) / Н.В. Зароченцева, А.К. Аршакян, Н.С. Меньшикова // Гинекология. – 2013. – Т. 15, № 4. – С. 65–69.
17. Караулов, А.В. Колонизационная резистентность слизистых цервикального канала как неотъемлемая составляющая местного иммунитета / А.В. Караулов // Иммунология. – 2011. – Т. 32, № 1. – С. 11-15.
18. Караулов А.В. Хламидийная инфекция. Новые аспекты патогенеза, иммунологии, верификации и лечения инфекции у человека и приматов / А.В. Караулов, С.С. Афанасьева, В.А. Алешкина [и др.]. //– М.: Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, 2012. – 256 с.
19. Касимова, Ш.О. Современные методы лечения и профилактики спаечной болезни малого таза у пациенток с трубно-перитонеальным бесплодием /

Ш.О. Касимова, Ш.Х.Бакиева, А.Х. Каримов // Новый день в медицине. – 2019. – № 2. – С. 113-116.

20. Клинышкова, Т.В. Генитальная инфекция как причина нарушения фертильности у женщин / Т.В. Клинышкова // Омский научный вестник. – 2002. – № 19. – С. 151-154.

21. Кобылянский, В.И. Мукоцилиарный аппарат маточных труб и патогенетические аспекты его нарушений, их роль в бесплодии и перспективы коррекции (Аналитический обзор) / В.И. Кобылянский // Акушерство, гинекология и репродукция. – 2021. – Т. 15, № 5. – С. 586-598.

22. Кузнецов, М.В. Клинико-иммунологические особенности воспалительных заболеваний придатков матки гонорейной этиологии: дис. ... канд. мед. наук 14.01.01 / Кузнецов Михаил Владимирович. – М., 2017. – 111 с.

23. Лебедева О.П. Роль Толл-подобных рецепторов в патогенезе акушерских и гинекологических осложнений: монография / О.П. Лебедева, С.П. Пахомов, М.И. Чурносков [и др.]. // – Белгород: Везелица, 2013. – 181 с.

24. Лесовая, В.Ю. Оптимизация интраоперационной терапии пациенток с трубной беременностью: дис. ... канд. мед. наук 14.01.01 / Лесовая Виктория Юрьевна. – Волгоград, 2012. – 159 с.

25. Лихачева, В.В. Экстракорпоральное оплодотворение: иммунологические характеристики различных форм бесплодия и их влияние на исходы лечения: дис. ... докт. мед. наук: 14.01.01 / Лихачева Виктория Васильевна. – Москва, 2020. – 208 с.

26. Лысенко О.В. Распространенность воспалительных заболеваний мочеполовых органов, ассоциированных с генитальными микоплазмами. Эффективность лечения / О.В. Лысенко, Т.В. Кузнеченкова, В.А. Игликов [и др.] // Вестник дерматологии и венерологии. – 2010. – № 2. – С. 83-88.

27. Магзумова, Н.М. Бесплодный брак: дифференцированный подход к лечению / Н.М. Магзумова. – Ташкент: ТМА. – 2020. – 179 с.

28. Миронов, А.А. Патоморфологическая диагностика заболеваний матки, яичников и маточных труб, приводящих к бесплодию / А.А. Миронов, А.Р. Старова

// Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины: материалы 76-й международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов, Волгоград, 25–28 апреля 2018 года. – Волгоград: Волгоградский государственный медицинский университет, 2018. – С. 465-466.

29. О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению: [приказ № 107 н: принят Министерством здравоохранения Российской Федерации 30 авг. 2012 г.] / Министерство здравоохранения Российской Федерации. – М., 2012. – 58 с.

30. Пахилова, Е.В. Некоторые современные аспекты этиологии, клинической картины и лечения острых воспалительных заболеваний придатков матки // Е.В. Пахилова, С.П. Синчихин, О.Б. Мамиев // Гинекология. – 2010. – Т. 12, № 5 – С. 10-14.

31. Петрунин, Д.Д. Врожденное звено иммунитета при урогенитальной патологии: особенности иммунопатогенеза и подходы к фармакологической коррекции / Д.Д. Петрунин // Эффективная фармакотерапия. – 2009. – № 26. – С. 18-25.

32. Позняк А.Л. Современные аспекты диагностики мочеполовой хламидийной инфекции / А.Л. Позняк, С.Н. Сидорчук, Л.Б. Дрыгина [и др.] // Клинико-Лабораторный Консилиум. – 2009. – Т. 28, № 3. – С. 57-70.

33. Покровский В.И. Инфекционные болезни и эпидемиология: Учебник / В.И. Покровский, С.Г. Пак, Н.И. Брико, Б.К. Данилкин // – 2-е изд. – М.: ГЭОТАР-Медиа 2007. – 816 с.

34. Попова, Е.И. Анализ состава первичных пациентов, обратившихся в 2018 году с диагнозом бесплодие / Е.И. Попова, С. Ю. Царукян // Современные аспекты профилактики заболеваний : Сборник материалов III Межрегиональной с международным участием научно-практической конференции, Самара, 11 декабря 2019 года / Под редакцией А.В. Колсанова, Г.П. Котельникова, И.И. Березина, С.В. Архиповой, Л.В. Чупахиной. – Самара: ООО "Офорт", Самарский государственный медицинский университет, 2019. – С. 267-268.

35. Попова, К.А. Роль экзогенных и эндогенных факторов в формировании

преждевременной недостаточности яичников в структуре бесплодия у женщин / К. А. Попова, А.А. Леонтьев // Синергия наук. – 2020. – № 53. – С. 832-839.

36. Порсохонова, Д.Ф. Особенности течения и диагностики хронических воспалительных заболеваний органов малого таза у женщин на современном этапе / Д.Ф. Порсохонова // Новости дерматологии и венерологии. – 2004. – № 1. – С. 75–79.

37. Радынова С.Б. Характеристика основных причинных факторов развития бесплодия / С.Б. Радынова, М.С. Лодырева, А.Г. Кеняйкина [и др.] // Colloquium-journal. – 2019. – Т. 34, № 10. – С. 70-72.

38. Рахматулина, М.Р. Диагностика инфекционной урогенитальной патологии методом количественной ПЦР / М.Р. Рахматулина, И.С. Галкина // Вестник Российского государственного медицинского университета. – 2019. – № 6. – С. 114-118.

39. Ришук, С.В. Половые инфекции и репродуктивный потенциал семьи / С.В. Ришук, Е.И. Кахиани, В.Е. Мирский, Т.А. Душенкова // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. – 2016. – № 2. – С. 18.

40. Рубина, Е.В. Системный подход к выбору тактики лечения больных с внематочной беременностью: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.01 / Рубина Елена Владимировна. – Москва, 2019. – 135 с.

41. Сафаров, А.Т. Бесплодный брак (Обзор литературы) / А.Т. Сафаров, Я.Н. Аллаяров, Л.К. Хамраева // Журнал репродуктивного здоровья и уронефрологических исследований. – 2020. – Т. 1, № 2. – С. 32-37.

42. Светачев, М.М. Комплексное обследование и дифференцированный подход к ведению больных с хроническими воспалительными заболеваниями органов малого таза: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.01 / Светачев Михаил Михайлович. – Благовещенск, 2005. – 182 с.

43. Сомова, Л.М. Апоптоз и инфекционные болезни / Л.М. Сомова, Н.Н. Беседнова, Н.Г. Плехова // Инфекция и иммунитет. – 2014. – Т. 4, № 4. – С. 303-318.

44. Сулима А. Н. Особенности профилактики и лечения спаечного процесса у пациенток с хроническими воспалительными заболеваниями органов

малого таза / А.Н. Сулима, А.А. Давыдова, А.Н. Рыбалка // Гинекология. – 2018. – Т. 20. – № 1. – С. 62-67.

45. Сухих Г.Т. Бесплодный брак. Современные подходы к диагностике и лечению / под ред. Г.Т. Сухих, Т.А. Назаренко. – 2-е изд., испр. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 774 с.

46. Тапильская, Н.И. Хронический эндометрит - субклиническое воспалительное заболевание органов малого таза / Н.И. Тапильская, С.А. Карпеев, И.В. Кузнецова // Гинекология. – 2014. – № 1. – С. 104-109.

47. Тихомиров, А.Л. Рациональная терапия воспалительных заболеваний органов малого таза / А.Л. Тихомиров // Гинекология. – 2014. – Т. 16, № 1. – С. 115-118.

48. Торчинов, А.М. Смешанные урогенитальные инфекции у женщин: диагностика и комплексная терапия / А.М. Торчинов, М.В. Мазуркевич // Гинекология. – 2008. – Т. 10, № 6. – С. 38-41.

49. Хрянин, А.А. Mycoplasma Genitalium-новый патогенный микроорганизм, передаваемый половым путем? / А.А. Хрянин, О.В. Решетников // Врач. – 2011. – № 13. – С. 27-31.

50. Хрянин, А.А. Хламидийная инфекция в гинекологии и акушерстве: тактика ведения пациенток в соответствии с современными зарубежными и российскими рекомендациями / А.А. Хрянин, И.В. Андреева, О.У. Стецюк // Гинекология. – 2012. – № 3. – С. 45-48.

51. Щербакова, О.Г. Эхогистеросальпингография, как один из методов определения проходимости маточных труб / О.Г. Щербакова, Л.С. Иванова // Новые технологии в акушерстве и гинекологии : Сборник научных трудов Дальневосточной региональной научно-практической конференции, Хабаровск, 24–25 мая 2018 года / Отв. ред. Пестрикова Т.Ю. – Хабаровск: Дальневосточный государственный медицинский университет, 2018. – С. 185- 192.

52. Щербо С.Н. Генетическая предрасположенность и устойчивость к некоторым инфекционным заболеваниям. II. Инфекции, передаваемые половым путем / С.Н. Щербо, Д.С. Щербо, А. Л. Тищенко [и др.] // Медицинский алфавит. –

2020. – № 5. – С. 5-8.

53. Юрасов, И. В. Современные аспекты тактики при воспалительных заболеваниях органов малого таза у женщин: дис. ... докт. мед. наук: 14.01.01 / Юрасов Игорь Владимирович. – Волгоград, 2014. – 267 с.

54. Юрасов, И.В. Воспалительные заболевания органов малого таза: современные аспекты тактики / И.В. Юрасов, Т.Ю. Пестрикова // Дальневосточный медицинский журнал. – 2013. – № 1. – С. 130-133.

55. Яковлева, Н.В. Хирургическое лечение трубного бесплодия: проблемы и решения // Вестник новых медицинских технологий. – 2014. – Т. 20, № 1. – С. 121-127.

56. Abdul-Sater, A.A. Inflammasome-dependent caspase-1 activation in cervical epithelial cells stimulates growth of the intracellular pathogen *Chlamydia trachomatis* / A.A. Abdul-Sater, E. Koo, G. Häcker, D.M. Ojcius // J. Biol. Chem. – 2009. – Vol. 284, № 39. – P. 26789-26796.

57. Abromaitis, S. Attachment and entry of *Chlamydia* have distinct requirements for host protein disulfide isomerase / S. Abromaitis, R.S. Stephens // PLoS Pathog. – 2009. – Vol. 5, № 4. – P. e1000357.

58. Ajonuma, L. C. CFTR is required for cellular entry and internalization of *Chlamydia trachomatis* / L.C. Ajonuma, K.L. Fok, L.S. Ho [et al.] // Cell. Bio Int. – 2010. – Vol. 34, № 6. – P. 593-600.

59. Akande, V. Impact of *Chlamydia trachomatis* in the reproductive setting: British Fertility Society Guidelines for practice / V. Akande, C. Turner, P. Horner // Hum. Fertil. (Camb). – 2010. – Vol. 13, № 3. – P. 115-125.

60. Akira, S. Toll-like receptor signalling / S. Akira, K. Takeda // Nat. Rev. Immunol. – 2004. – Vol. 4, № 7. – P. 499-511.

61. Amadi, L. Usefulness of *Chlamydia* serology in prediction of tubal factor infertility among infertile patients at Federal Medical Centre, Bida, North Central Nigeria / L. Amadi, U. Onwudiegwu, A.B. Adebajo // Int. J. Reprod. Contracept. Obstet. Gynecol. – 2019. – Vol. 2. – P. 412-420.

62. Ammerdorffer, A. *Chlamydia trachomatis* and chlamydia-like bacteria: new

enemies of human pregnancies /A. Ammerdorffer, M. Stojanov, G. Greub [et al.] // *Curr Opin Infect. Dis.* –2017 – Vol. 30, № 3. – P. 289-296.

63. Ausiello, C.M. 60-kDa heat shock protein of *Chlamydia pneumoniae* is a target of T-cell immune response / C.M. Ausiello, R. Palazzo, F. Spensieri // *J. Biol. Regul. Homeost. Agents.* – 2005. – Vol. 19, № 3-4. – P. 136.

64. Bachmann, N.L. *Chlamydia* genomics: providing novel insights into chlamydial biology / N.L. Bachmann, A. Polkinghorne, P. Timms // *Trends microbiol.* – 2014. – Vol. 22, № 8. – P. 464-472.

65. Bailey, R.L. Host genetic contribution to the cellular immune response to *Chlamydia trachomatis*: Heritability estimate from a Gambian twin study / R.L. Bailey, A. Natividad-Sancho, A. Fowler // *Drugs Today (Barc.)*. – 2009. – Vol. 45. – P. 45-50.

66. Balla, E. Distribution of *Chlamydia trachomatis* genotypes in neonatal conjunctivitis in Hungary / E. Balla, F. Petrovay, A. Balazs // *J Med Microbiol.* -2017. – Vol. 66, № 7. – P. 915-918

67. Barta, M.L. Structure of CT584 from *Chlamydia trachomatis* refined to 3.05 Å resolution / M.L. Barta, J. Hickey, K.E. Kemege // *Acta Crystallogr. Sect. F Struct. Biol. Cryst. Commun.* – 2013. – Vol. 69, № 11. – P. 1196-1201

68. Batteiger, B.E. Protective immunity to *Chlamydia trachomatis* genital infection: evidence from human studies / B.E. Batteiger, F. Xu, R.E. Johnson // *J. Infect. Dis.* – 2010. – Vol. 201, № Suppl.2. – P. S178-S189.

69. Batteiger, B.E. Repeated *Chlamydia trachomatis* genital infections in adolescent women / B.E. Batteiger, W. Tu, S. Ofner // *J. Infect. Dis.* – 2010. – Vol. 201, № 1. – P. 42-51.

70. Bavoil, P.M. What's in a word: the use, misuse, and abuse of the word “persistence” in *Chlamydia* biology / P.M. Bavoli // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* – 2014. – Vol. 4, № 4. – P. 27.

71. Becker, E. All subtypes of the Pmp adhesin family are implicated in chlamydial virulence and show species-specific function / E. Becker, J.H. Hegemann // *Microbiologyopen.* – 2014. – Vol. 3, № 4. – P. 544-556.

72. Bjartling, C. The association between *Mycoplasma genitalium* and pelvic

inflammatory disease after termination of pregnancy / C. Bjartling, S. Osser, K. Persson // *B.J.O.G.* – 2010. – Vol. 117, № 3. – P. 361-364.

73. Black, C.M. Chlamydial infection: a clinical and public health perspective / C.M. Black. – Karger Medical and Scientific Publishers, 2013. – 162 p.

74. Bohbot, J.M. Chlamydia trachomatis: The enemy of the Fallopian tube / J.M. Bohbot // *Gynecol. Obstet. Fertil.* – 2011. – Vol. 39, № 11. – P. 636-639.

75. Bonneau, C. Use of laparoscopy in unexplained infertility / C. Bonneau, O. Chanelles, C. Sifer // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2012. – Vol. 163, № 1. – P. 57-61.

76. Brankovic, I. NOD1 in contrast to NOD2 functional polymorphism influence Chlamydia trachomatis infection and the risk of tubal factor infertility / I Brankovic, E.F van Ess, M.P. Noz [et al.] // *Pathog. Dis.* – 2015. – Vol. 1, № 73. – P. 1–9.

77. Broeze, K.A. Are patient characteristics associated with the accuracy of hysterosalpingography in diagnosing tubal pathology? An individual patient data meta-analysis / K.A. Broeze, B.C. Opmeer, N. Van Geloven // *Hum. Reprod. Update.* – 2011. – Vol. 17, № 3. – P. 293-300.

78. Brown, S. Understanding the attitudes and acceptability of extra-genital Chlamydia testing in young women: evaluation of a feasibility study / S. Brown, C. Paterson, N. Dougall [et al.] // *BMC Public Health.* – 2019. – Vol. 19, № 1. – P.1-11.

79. Budrys, N.N. Chlamydia trachomatis antigens recognized by women with tubal factor infertility, normal fertility, and acute Infection / N.M. Budrys, S. Gong, A.K. Rodgers, J. Wang [et al.] // *Obstet. gynecol.* – 2012. – Vol. 119, № 5. – P. 1009-16.

80. Byrne, G.I. Chlamydia trachomatis strains and virulence: rethinking links to infection prevalence and disease severity / G.I. Byrne // *J. Infect. Dis.* – 2010. – Vol. 201, № Suppl. 2. – P. S126-S133.

81. Cappello, F. Chlamydia trachomatis infection and anti-Hsp60 immunity: the two sides of the coin / F. Cappello, E. Conway de Macario, V. Di Felice // *PLoS Pathog.* – 2009. – Vol. 5, № 8. – P. e1000552.

82. Cariati, F. The evolving role of genetic tests in reproductive medicine / F.

Cariati, V. D'Argenio, R. Tomaiuolo // *J. Transl. Med.* – 2019. – Vol. 17, № 1. – P. 1-33.

83. Caruso, R. NOD1 and NOD2: signaling, host defense, and inflammatory disease / R. Caruso, N. Warner, N. Inohara // *Immunity.* – 2014. – Vol. 41, № 6. – P. 898-908.

84. *Chlamydia trachomatis.* – Hinxton, Cambridge: Sanger Institute. – URL: www.sanger.ac.uk/resources/downloads/bacteria/chlamydia-trachomatis.html

85. Cingolani, G. Structural basis for the homotypic fusion of chlamydial inclusions by the SNARE-like protein IncA / G. Cingolani, M. Mc Cauley, A. t. *Commun.* – 2019. – Vol. 10, № 1. – P. 2747.

86. Coppus, S. *Chlamydia trachomatis* IgG seropositivity is associated with lower natural conception rates in ovulatory subfertile women without visible tubal pathology / S.F. Coppus, J.A. Land, B.C. Opmeer // *Hum. Reprod.* – 2011. – Vol. 26, № 11. – P. 3061-3067.

87. Costoya, A. *Mycoplasmateceae* species are not found in Fallopian tubes of women with tubo-peritoneal infertility / A. Costoya, F. Morales, P. Borda [et al.] // *Braz. J. Infect. Dis.* – 2012. – Vol. 16, № 3. – P. 273-278.

88. Damgaard, R.B. The ubiquitin ligase xiap recruits lubac for NOD2 signaling in inflammation and innate immunity / R.B. Damgaard, U. Nachbur, M. Yabal [et al.] // *Mol. Cell.* – 2012. – Vol. 46, № 6. – P. 746-758.

89. Darville, T. Pathogenesis of genital tract disease due to *Chlamydia trachomatis* / T. Darville, T.J. Hiltke // *J. Infect. Dis.* – 2010. – Vol. 201, № Suppl. 2. – P. S114-S125.

90. Darville, T. Pelvic inflammatory disease due to *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis*: immune evasion mechanisms and pathogenic disease pathways / T. Darville // *J. Infect. Dis.* – 2021. – Vol. 224, № Suppl. 2. – P. S39-S46.

91. Davies, B. Heterogeneity in risk of pelvic inflammatory diseases after chlamydia infection: a population-based study in Manitoba, Canada / B. Davies, H. Ward, S. Leung // *J. Infect. Dis.* – 2014. – Vol. 210. – № Suppl. 2. – P. S549-S555.

92. Davies, B. Risk of reproductive complications following chlamydia testing: a population-based retrospective cohort study in Denmark / B. Davies, K.M. Turner, M.

Frølund [et al.] // *Lancet Infect. Dis.* – 2016. – Vol. 16. – P. 1057–64.

93. De Vries, H.J.C. High-resolution typing of *Chlamydia trachomatis*: epidemiological and clinical uses / H.J.C. De Vries, M.F.S. van der Loeff, S.M. Bruisten // *Curr. Opin. Infect. Dis.* – 2015. – Vol. 28, № 1. – P. 61- 71

94. Derbigny, W.A. Pattern recognition molecules activated by *Chlamydia muridarum* infection of cloned murine oviduct epithelial cell lines / W.A. Derbigny, M.S. Kerr, R.M. Johnson // *J. Immunol.* – 2005. – Vol. 175, № 9. – P. 6065-6075.

95. Dolat, L.A Renewed tool kit to explore *Chlamydia* pathogenesis: from molecular genetics to new infection models / L. Dolat, R.H. Valdivia // *F1000Res.* – 2019. – Vol. 8. – P. 935-935.

96. Domeika, M. Guidelines for the laboratory diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infections in East European countries / M. Domeika, A. Savicheva, E. Sokolovskiy [et al.] // *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* – 2009. – Vol. 23, № 12. – P. 1353-1363.

97. Dukers-Muijers, N.H. What is needed to guide testing for anorectal and pharyngeal *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in women and men? Evidence and opinion / N.H. Dukers-Muijers, J. Schachter, G.A. van Liere [et al.] // *BMC Infect. Dis.* – 2015. – Vol. 15, № 1. – P. 1-13.

98. Dukers-Muijers, N.H Spontaneous clearance of *Chlamydia trachomatis* accounting for bacterial viability in vaginally or rectally infected women (FemCure) / N. H. Dukers – Muijers, K.J. Janssen, C.J. Hoebe// *Sex Transm Infect* – 2020. – Vol. 96. № 7. – P. 541-548.

99. Eggleston, E. *Chlamydia trachomatis* infection among 15–35-year-olds in Baltimore, MD, USA / E. Eggleston, S.M. Rogers, C.F. Turner [et al.] // *Sex. Transm. Dis.* – 2011. – Vol. 38, № 8. – P. 743-749.

100. Elwell, C. *Chlamydia* cell biology and pathogenesis / C. Elwell, K. Mirrashidi, J. Engel // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2016. – Vol. 14, № 6. – P. 385-400.

101. Erens, B. Methodology of the third British national survey of sexual attitudes and lifestyles (Natsal-3) / B. Erens, A. Phelps, S. Clifton // *Sex. Transm. Infect.* – 2014. – Vol. 90, № 2. – P. 84-89.

102. European Centre for Disease Prevention and Control. Sexually transmitted infections in Europe 2011. Surveillance report. – Stockholm: ECDC, 2013. – 108 p.
103. Ezeh, A. Burden of reproductive ill health / A. Ezeh, A. Bankole, J. Cleland [et al.] // *Reproduct. Matern. Newborn Child. Health.* – Washington, 2016. – Vol. 2. – P. 25-51.
104. Feher, A. A 3-dimensional trimeric β -barrel model for Chlamydia MOMP contains conserved and novel elements of Gram-negative bacterial porins / V.A. Feher, A. Randall, P. Baldi [et al.] // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8, № 7. – P. e68934
105. Fertility: assessment and treatment for people with fertility problems / National Collaborating Centre for Women's and Children's Health, National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE). – London, 2013. – 562 p.
106. Finethy, R. Sensing the enemy, containing the threat: cell-autonomous immunity to Chlamydia trachomatis / R. Finethy, J. Coers // *FEMS Microbial. Rev.* – 2016. – Vol. 40, № 6. – P. 875-893.
107. Forhan, S.E. USPSTF Recommendations for STI screening / S.E. Forhan, S. L. Gottlieb, M. R. Sternberg [et al.] // *Am. Fam. Physic.* – 2008. – Vol. 77, № 6. – P. 819–824.
108. Geisler, W.M. Immunoglobulin-specific responses to Chlamydia elementary bodies in individuals with and at risk for genital Chlamydial infection / W.M. Geisler, S.G. Morrison, M.L. Doemland [et al.] // *J. Infect. Dis.* – 2012. – Vol. 206, № 12. – P. 1836-1843.
109. Geisler, W.M. Spontaneous Resolution of Genital Chlamydia trachomatis Infection in Women and Protection from Reinfection / W.M. Geisler, S.Y. Lensing, C.G. Press [et al.] // *J. Infect. Dis.* – 2013. – Vol. 207, № 12. – P. 1850–1856.
110. Geisler, W. M. Azithromycin versus Doxycycline for Urogenital Chlamydia tracomatis infection / W.M. Geisler, A. Uniyal, J.Y. Lee [et al.] // *J. N Engl. Med.* – 2015. – Vol. 373, № 26. – P. 512-521.
111. Girardin, S.E. Accelerated publication nod2 is a general sensor of peptidoglycan through muramyl dipeptide (MDP) detection / S.E. Girardin, I.G. Viala, M. Chamailard [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2003. – Vol. 278, № 11. – P. 8869-8872.

112. Gorwitz, R.J. Population-attributable fraction of tubal factor infertility associated with chlamydia / R.J. Gorwitz, H.C. Wiesenfeld, P.L. Chen [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2017. – Vol. 217, № 3. – P. 336.e1-336.e16.

113. Goulet, V. Prevalence of Chlamydia trachomatis: results from the first national population-based survey in France / V. Goulet, B. de Barbeyrac, S. Raheison [et al.] // *Sex. Transm. Infect.* – 2010. – Vol. 86, № 4. – P. 263- 270.

114. Global health sector strategy on sexually transmitted infections 2016-2021. – Geneva: World Health Organization, 2016. – 64 p.

115. Gottlieb, S.L. Summary: The natural history and immunobiology of Chlamydia trachomatis genital infection and implications for Chlamydia control / S.L. Gottlieb, D. H. Martin, F. Xu // *J. Infect. Dis.* – 2010. – Vol. 201, № 2. – P. S190-S204.

116. Haggerty, C. Risk of sequel after Chlamydia trachomatis genital infection in women / C. Haggerty, S. Gottlieb, B. Taylor [et al.] // *J. Infect. Dis.* – 2010. – Vol. 201, № 2. – P.134-155.

117. Hartog, den J.E. Chlamydia trachomatis-associated tubal factor subfertility: immunogenetic aspects and serological screening / J.E. den Hartog, S.A. Morré, J.A. Land // *Hum. Reprod. Update.* – 2006. – Vol. 12, № 6. – P. 719 -730.

118. Hengel, B. Outreach for chlamydia and gonorrhoea screening: a systematic review of strategies and outcomes / B. Hengel, M.S. Jamil // *BMC Public Health.* – 2013. – Vol. 13, № 1. – P. 1-9.

119. Hjelholt, A. Tubal factor infertility is associated with antibodies against Chlamydia trachomatis heat shock protein 60 (HSP60) but not human HSP60 / A. Hjelholt, G. Christiansen, T.G. Johannesson [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2011. – Vol. 26, № 8. – P. 2069-2076.

120. Hocking, J.S. Treatment of rectal chlamydia infection may be more complicated than we originally thought / J.S. Hocking, F.Y. Kong, P. Timms [et al.] // *J. Antimicrob. Chemother.* – 2015. – Vol. 70, № 4. – P. 961-964.

121. Hoenderboom, B.M. Relation between Chlamydia trachomatis infection and pelvic inflammatory disease, ectopic pregnancy and tubal factor infertility in a Dutch cohort of women previously tested for chlamydia in a chlamydia screening trial / B.M.

Hoenderboom, B.H. van Benthem, J. van Bergen // *Sex. Transm. Infect.* – 2019. – Vol. 95, № 4. – P. 300-306.

122. Hokynar, K. Antibody to *Chlamydia trachomatis* proteins, TroA and HtrA, as a biomarker for *Chlamydia trachomatis* infection / K. Hokynar, S. Korhonen, P. Norja // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* – 2017. – Vol. 36, № 1. – P. 49-56.

123. Horner, P.J. Azithromycin antimicrobial resistance and genital *Chlamydia trachomatis* infection: duration of therapy may be the key to improving efficacy / P.J. Horner // *Sex. Transm. Infect.* – 2012. – Vol. 88, № 3. – P. 154-156.

124. Hosenfeld, C.B. Repeat infection with *Chlamydia* and gonorrhea among females: a systematic review of the literature / C.B. Hosenfeld, K.A. Workowski, S. Berman [et al.] // *Sex. Transm. Dis.* – 2009. – Vol. 36, № 8. – P. 478-489.

125. Hufnagel, K. *Chlamydia trachomatis* whole-proteome microarray analysis of the Netherlands *Chlamydia* cohort study / K. Hufnagel, B. Hoenderboom, C. Harmel [et al.] // *Microorganisms.* – 2019. – Vol. 7, № 12. – P. 703.

126. Huston, W.M. HtrA, RseP, and Tsp proteins do not elicit a pathology-related serum IgG response during sexually transmitted infection with *Chlamydia trachomatis* / W.M. Huston, C.W. Armitage, A. Lawrence // *J. Reprod. Immunol.* – 2010. – Vol. 85, № 2. – P. 168-171.

127. Igietseme, J.U. Role of epithelial-mesenchyme transition in *Chlamydia* pathogenesis / J.U. Igietseme, Y. Omosun, O. Stuchlik [et al.] // *PloS one.* – 2015. – Vol. 10, № 12. – P. e0145.

128. Inohara, N. Human Nod1 confers responsiveness to bacterial lipopolysaccharides / N. Inohara, Y. Ogura, F. F. Chen [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2001. – Vol. 276. – P. 2551-2554.

129. Inohara, N. NODs: intracellular proteins involved in inflammation and apoptosis / N. Inohara, G. Nuñez // *Nat. Rev. Immunol.* – 2003. – Vol. 3, № 5. – P. 371-382.

130. IUSTI-Europe guideline for the management of anogenital warts // 2020. – Vol. 64, № 3. – P. 1-10.

131. Jaiyeoba, O. Recommendations and rationale for management of *Chlamydia*

trachomatis infections / O. Jaiyeoba, G. Lazenby, D.E. Soper // *Expert. Rev. Anti. Infect. Ther.* – 2011. – Vol. 9, № 1. – P. 61-70.

132. Jeffrey, B. M. Genome sequencing of recent clinical *Chlamydia trachomatis* strains identifies loci associated with tissue tropism and regions of apparent recombination / B.M. Jeffrey, R.J. Suchland, K.L. Quinn [et al.] // *Infect. Immune.* – 2010. – Vol. 78, № 6. – P. 2544-2553.

133. Jeremiah, I. The prevalence of serum immunoglobulin G antibody to *Chlamydia trachomatis* in subfertile women presenting at the University of port harcourt teaching Hospital, Nigeria / I. Jeremiah, O. Okike, C. Akani // *Int. J. Biomed. Sci.* – 2011. – Vol. 7, № 2. – P. 120-124.

134. Jiang, J. Interruption of CXCL13-CXCR5 axis increases upper genital tract pathology and activation of NKT cells following chlamydial genital infection / J. Jiang, O. Karimi, S. Ouburg [et al.] // *PloS one.* – 2012. – Vol. 7, № 11. – P. e47487

135. John, J.R. Recommendations for the laboratory-based detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*—2014 // *MMWR. Recommendations and reports: Morbidity and mortality weekly report. Recommendations and reports/* J.R. John, J. Schachter, C.A. Gaydos [et al.] // *MMWR Recomm. Rep.* – 2014. – Vol. 63, № RR-02. – P.1-19.

136. Johnson, A.M. A new role for *Chlamydia trachomatis* serology? / A.M. Johnson, P. Horner // *Sex. Trans. Infect.* – 2008. – Vol. 84, № 2. – P. 79-80.

137. Joki-Korpela, P. The role of *C. trachomatis* infection in male infertility/ P. Joki-Korpela, N. Sahrakorpi, M. Halttunen [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2009. – Vol. 91. – P. 1448–1450.

138. Jordan, S. Investigating the Correlation of *Chlamydia trachomatis*–Specific Cytokines with Risk for *Chlamydia* Reinfection / S. Jordan, R. Bakshi, K. Gupta // *Open Forum Infect. Dis.* – Oxford University Press, 2016. – Vol. 3, № 1. – P. 599.

139. Kapil, R. Investigating the epidemiology of repeat *Chlamydia trachomatis* detection after treatment by using *C. trachomatis* OmpA genotyping / R. Kapil, C. G. Press, M.L. Hwang [et al.] // *J. Clin. Microb.* – 2015. – Vol. 53, № 2. – P. 546-549.

140. Khin, N.O. Case-control study of ectopic pregnancies in Myanmar:

infectious etiological factors / Khin-Nwe-Oo, Wah-Wah-Aung, Moe-Thida [et al.] // Southeast. Asian J. Trop. Med. Public Health. – 2011. – Vol. 42, № 2. – P. 347-354.

141. Kinnunen, A. Heat shock protein 60 specific T-cell response in chlamydial infections / A. Kinnunen, J. Paavonen, H. M. Surcel // Scand. J. Immunol. – 2001. – Vol. 54, № 1-2. – P. 76-81.

142. Klint, M. Mosaic structure of intragenic repetitive elements in histone H1-like protein Hc2 varies within serovars of *Chlamydia trachomatis* / M. Klint, M. Tholleson, E. Bongcam-Rudolff [et al.] // BMC microbiol. – 2010. – Vol. 10, № 1. – P. 1-8.

143. Kumar, H. Pathogen recognition by the innate immune system / H. Kumar, T. Kawai, S. Akira // Int. Rev. Immunol. – 2011. – Vol. 30, № 1. – P. 16-34.

144. Lakshmi, K. Review on infectious vaginitis / K. Lakshmi, J.R. Aishwarya, S. Chitralekha, G.A. Menezes // Res. J. Pharm, Biol. Chem Sci. – 2013. – Vol. 4, № 3. – P. 679-88.

145. Land, J. A. Epidemiology of *Chlamydia trachomatis* infection in women and the cost-effectiveness of screening / J.A. Land, J. van Bergen, S.A. Morré [et al.] // Hum. Reprod. Update. – 2010. – № 16. – P. 189-204.

146. Lanjouw E. 2010 European guideline for the management of *Chlamydia trachomatis* infections / E. Lanjouw, J.M. Ossewaarde, A. Stary [et al.] // Int. J. STD AIDS. – 2010. – Vol. 21, № 11. – P.729–737.

147. Lanjouw E. 2015 European guideline on the management of *Chlamydia trachomatis* infections / E. Lanjouw, S. Ouburg, H.J. de Vries [et al.] // Int. J. STD AIDS. – 2016. – Vol. 27, № 5. – P. 333-348.

148. Li, Z. Characterization of fifty putative inclusion membrane proteins encoded in the *Chlamydia trachomatis* genome / Z. Li, C. Chen, Y. Wu [et al.] // Infect. Immune. – 2008. – Vol. 76, № 6. – P. 2746-2757.

149. Linhares, I.M. Immunopathogenic consequences of *Chlamydia trachomatis* 60 kDa heat shock protein expression in the female reproductive tract / I.M. Linhares, S.S. Witkin // Cell Stress Chaperones. – 2010. – Vol. 15, № 5. – P. 467-473.

150. Liu, Q. The molecular mechanisms of TLR-signaling cooperation in

cytokine regulation / Q. Liu, J. L. Ding // *Immun. Cell Boil.* – 2016. – Vol. 94, № 6. – P. 538-542.

151. Low, N. The POPI trial: what does it mean for chlamydia control now? / N. Low, J. Hocking // *Sex. Transm. Infect.* – 2010. – Vol. 86, № 3. – P. 158-159.

152. Low, N. Screening for genital chlamydia infection / N. Low, S. Redmond, A. Uusküla [et al.] // *Cochrane Database System. Rev.* – 2016. – Vol. 9, № 9. – P. CD010866.

153. Lutter, E. Phylogenetic analysis of *Chlamydia trachomatis* Tarp and correlation with clinical phenotype / E. Lutter, C. Bonner, M. J. Holland [et al.] // *Infect. Immun.* – 2010. – Vol. 78, № 9. – P. 3678-3688.

154. Malhotra, M. Genital *Chlamydia trachomatis*: an update / M. Malhotra, S. Sood, A. Mukherjee [et al.] // *Indian J. Med. Res.* – 2013. – Vol. 138, № 3. – P. 303-316.

155. Malogajski, J. The potential role for host genetic profiling in screening for *Chlamydia*-associated tubal factor infertility (TFI)—new perspectives / J. Malogajski, I. Branković, J.A. Land [et al.] // *Genes.* – 2019. – Vol. 10, № 6. – P. 410.

156. Mania-Pramanik, J. Current *Chlamydia trachomatis* infection, a major cause of infertility / J. Mania-Pramanik, S. Kerkar, S. Sonawane [et al.] // *J. Reprod. Infertile.* – 2012. – Vol. 13, № 4. – P. 204-210.

157. Markos, A.R. The concordance of *Chlamydia trachomatis* genital infection between sexual partners, in the era of nucleic acid testing / A.R. Markos // *Sex. Health.* – 2005. – Vol. 2, № 1. – P. 23-24.

158. Martin, D.H. The microbiota of the vagina and its influence on women's health and disease / D.H. Martin // *Am. J. Med. Sci.* – 2012. – Vol. 343, № 1. – P. 2-9.

159. Mascellino, M.T. Immunopathogenesis in *Chlamydia trachomatis* infected women / M.T. Mascellino, P. Boccia, A. Oliva // *ISRN Obstet. Gynecol.* – 2011. – Vol. 2011. – P. 436936

160. McCiure, E. E. Engineering of obligate intracellular bacteria: progress, challenges and paradigms / E.E. McCiure, A.S. Oliva Chavez, D.K. Shaw [et al.] // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2017. – Vol. 15, № 9. – P. 544-558.

161. Mehlitz, A. Tarp regulates early *Chlamydia*-induced host cell survival

through interactions with the human adaptor protein SHC1/ A. Mehlitz, S. Banhart, A.P. Maurer [et al.] // *J. Cell Biol.* – 2010. – Vol. 190, № 1. – P. 143-157.

162. Menon, S. Human and pathogen factors associated with Chlamydia trachomatis-related infertility in women / S. Menon, P. Timms, J. A. Allan // *Clin. Microbiol. Rev.* – 2015. – Vol. 28, № 4. – P. 969-985.

163. Mishori, R. Chlamydia trachomatis infections: screening, diagnosis, and management / R. Mishori, E.L. McClaskey, V.J. WinklerPrins // *Am. Fam. Phys.* – 2012. – Vol. 86, № 12. – P. 1127-1132.

164. Moore, E.R. Reconceptualizing the chlamydial inclusion as a pathogen-specified parasitic organelle: an expanded role for Inc proteins / E.R. Moore, S.P. Ouellette // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* – 2014. – Vol. 4. – P. 157.

165. Moses, A. A study of serological evidence of prior chlamydia trachomatis infection in patients with ectopic pregnancy in Ilorin Nigeria / A. Moses, A. Munirdeen, J. Abdulgafar // *Europ. J. Scient. Res.* – 2016. – Vol. 16. – P. 461-466.

166. Mpiima, D.P. Association between Prior Chlamydia trachomatis Infection and ectopic pregnancy at a tertiary Care hospital in South Western Uganda / D.P. Mpiima, G.W. Salongo, H. Lugobe // *Obstet. Gynecol. Int.* – 2018. – Vol. 2018. – P. 4827353

167. Muvunyi, C.M. Chlamydia trachomatis infection in fertile and subfertile women in Rwanda: prevalence and diagnostic significance of IgG and IgA antibodies testing / C.M. Muvunyi, N. Dhont, R. Verhelst [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2011. – Vol. 26, № 12. – P. 3319-3326.

168. NCBI genome database // National Library of Medicine. – [Bethesda](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/). – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

169. Newman, L. Global estimates of the prevalence and incidence of four curable sexually transmitted infections in 2012 based on systematic review and global reporting / L. Newman, J. Rowley, S. Vander Hoorn [et al.] // *PLoS ONE*. – 2015. – Vol. 10, № 12. – P. e0143304.

170. Nunes, A. Evolutionary dynamics of ompA, the gene encoding the Chlamydia trachomatis key antigen / A. Nunes, M.J. Borrego, B. Nunes [et al.] // *J. Bacteriol.* – 2009. – Vol. 191, № 23. – P. 7182-7192.

171. Nwokolo, N.C. 2015 UK national guideline for the management of infection with *Chlamydia trachomatis* / N.C. Nwokolo, B. Dragovic, S. Patel [et al.] // *Int. J. STD AIDS*. – 2016. – Vol. 27, № 4. – P. 251-267.
172. Oakeshott, P. Randomised controlled trial of screening for *Chlamydia trachomatis* to prevent pelvic inflammatory disease: the POPI (prevention of pelvic infection) trial / P. Oakeshott, S. Kerry, A. Aghaizu [et al.] // *BMJ*. – 2010. – Vol. 340. – P. c1642.
173. Öhman, H. Cytokine gene polymorphism and *Chlamydia trachomatis*-specific immune responses / H. Öhman, A. Tiitinen, M. Halttunen [et al.] // *Hum. Immun.* – 2011. – Vol. 72, № 3. – P. 278-282.
174. Öhman, H. Immunogenetic risk factors of *Chlamydia*-induced tubal factor infertility / H. Öhman. – Helsinki: National Institute for Health and Welfare, 2012. – 96p.
175. Opitz, B. Nod1-mediated endothelial cell activation by *Chlamydia pneumoniae* / B. Opitz, S. Forster, A.C. Hocke [et al.] // *Circulat. Res.* – 2005. – Vol. 96, № 3. – P. 319-326.
176. Overduin, B. The European Nucleotide Archive (ENA). – San Diego, 2012. – 20 p.
177. Pal, S. Comparison of the nine polymorphic membrane proteins of *Chlamydia trachomatis* for their ability to induce protective immune responses in mice against a *C. muridarum* challenge / S. Pal, A. Favoroni, D.F. Tifrea [et al.] // *Vaccine*. – 2017. – Vol. 35, № 19. – P. 2543-2549.
178. Panzetta, M.E. *Chlamydia* persistence: a survival strategy to evade antimicrobial effects in-vitro and in-vivo / M.E. Panzetta, R.H. Valdivia, H.A. Saka // *Front. Microbial.* – 2018. – № 9. – P. 3101.
179. Peivandi, S. The role of *Chlamydia trachomatis* IgG antibody testing in predicting tubal factor infertility in Northern Iran / S. Peivandi, N. Moslemizadeh, S. Gharajeh, A.A. Gh. Ajami // *Int. J. Fertil. Steril.* – 2009. – Vol. 3, № 3. – P. 143-148.
180. Phillips, S. Seventy years of *Chlamydia* vaccine research—limitations of the past and directions for the future / S. Phillips, B.L. Quigley, P. Timms // *Front. Microbial.* – 2019. – Vol. 10. – P. 70.

181. Price, M.J. The natural history of *Chlamydia trachomatis* infection in women: a multi-parameter evidence synthesis / M.J. Price, A.E. Ades, K. Soldan et al // *Health Technol. Assess.* – 2016. – Vol. 20, № 22. – P. 1-250.
182. Rank, R.G. Protective immunity to chlamydial genital infection: evidence from animal studies / R.G. Rank, J.A. Whittum-Hudson // *J. Infect. Dis.* – 2010. – Vol. 201, № Suppl.2. – P. S168-S177.
183. Rantsi, T. Predictive values of serum *Chlamydia trachomatis* TroA and HtrA IgG antibodies as markers of persistent infection in the detection of pelvic adhesions and tubal occlusion / T. Rantsi, J.A. Land, P. Joki-Korpela [et al.] // *Microorganisms.* – 2019. – Vol. 7, № 10. – P. 391.
184. Rebick, G.W. A 34-year-old man with urethral discharge / G.W. Rebick, V.G. Allen, W.L. Gold // *CMAJ.* – 2013. – Vol. 185, № 5. – P. 414-415.
185. Redmond, S. M. Genital chlamydia prevalence in Europe and non-European high-income countries: systematic review and meta-analysis / S.M. Redmond, K.A. Kisslig, S.C. Woodhall [et al.] // *PLoS One.* – 2015. – Vol. 10, № 1. – P. e0115753.
186. Renault, C.A. Time to clearance of *Chlamydia trachomatis* ribosomal RNA in women treated for chlamydial infection / C.A. Renault, D.M. Israelski, V. Levy [et al.] // *Sex. Health.* – 2011. – Vol. 8, № 1. – P. 69-73.
187. Rodgers, A.K. Genome-wide identification of *Chlamydia trachomatis* antigens associated with tubal factor infertility / A.K. Rodgers, N.M. Budrys, S. Gong // *Fertil. Steril.* – 2011. – Vol. 96, № 3. – P. 715-721.
188. Ross, J. Pelvic inflammatory disease / J. Ross // *Clin. Evid.* – 2005. – № 13. – P. 2031-2037.
189. Sachse, S. Evidence for the existence of two new members of the family Chlamydiaceae and proposal of *Chlamydia avium* sp. nov. and *Chlamydia gallinacea* sp. nov / S. Sachse, K. Laroucau, K. Riege [et al.] // *Syst. Appl. Microbiol.* – 2014. – Vol. 37, № 2. – P. 79-88.
190. Sherrard, J. 2018 European (IUSTI/WHO) International Union against sexually transmitted infections (IUSTI) World Health Organisation (WHO) guideline on the management of vaginal discharge / J. Sherrard, J. Wilson, G. Donders [et al.] // *Int. J.*

STD AIDS. – 2018. Vol. 29, № 13. – P. 1258-1272.

191. Shih, T.Y. Poor provider adherence to the centers for disease control and prevention treatment guidelines in US emergency department visits with a diagnosis of pelvic inflammatory disease / T.Y. Shih, C.A. Gaydos, R.E. Rothman [et al.] // Sex. Transm. Dis. – 2011. – Vol. 38, № 4. – P. 299-305.

192. Schuchardt, L. Chlamydia trachomatis as the cause of infectious infertility: acute, repetitive or persistent long-term infection? / L. Schuchardt, J. Rupp // Curr. Top. Microbiol. Immunol. – 2018. – Vol. 412. – P. 159-182.

193. Sexually transmitted disease surveillance 2014 / U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Center for HIV/AIDS, Viral Hepatitis, STD, and TB Prevention Division of STD Prevention. – Atlanta, 2014. – 177 p.

194. Sexually transmitted disease surveillance 2021 / The MMWR series of publications is published by the Center for Surveillance, Epidemiology, and Laboratory Services, Centers for Disease Control and Prevention, U.S. Department of Health and Human Services. – Atlanta, 2021. – 192 p.

195. Sexually transmitted infections and screening for chlamydia in England, 2019: Health Protection Report / Public Health England. – London, 2020. – 48 p.

196. Singh, S. Chlamydia antibody testing helps in identifying females with possible tubal factor infertility / S. Singh, S. Bhandari, P. Agarwal [et al.] // Int. J. Reprod. Biomed. – 2016. – Vol. 14, № 3. – P. 187-192.

197. Somboonna, N. Clinical persistence of Chlamydia trachomatis sexually transmitted strains involves novel mutations in the functional $\alpha\beta\beta\alpha$ tetramer of the tryptophan synthase operon / N. Somboonna, N. Ziklo, T.E. Ferrin [et al.] // MBio. – 2019. – Vol. 10, № 4. – P. e01464-19.

198. Standard protocol to assess prevalence of gonorrhoea and chlamydia among pregnant women in antenatal care clinics. – Geneva: World Health Organization; 2018. – 42 p.

199. Stefanelli, P. Chlamydia trachomatis genotypes in school adolescents/ P. Stefanelli, G. Sulis, G. Renna, F. Gargiulo [et al.]// Italy. Infection. – 2015. – Vol. 43, №

6. – P. 739-741.

200. Steiner, A.Z. Chlamydia trachomatis immunoglobulin G3 seropositivity is a predictor of reproductive outcomes in infertile women with patent fallopian tubes / A.Z. Steiner, M.P. Diamond, R.S. Legro [et al.] // *F44ertil. Steril.* – 2015. – Vol. 104, № 6. – P.1522-1526.

201. Stephen, R.S. The cellular paradigm of Chlamydia pathogenesis / R.S. Stephen // *Trends. Microbiol.* – 2003. – Vol. 11, № 1. – P. 44–51.

202. Stephen, J. Investigating the correlation of Chlamydia trachomatis-specific cytokines whith risk for Chlamydia Reinfection / J. Stephen, R. Bakshi, K. Gupta [et al.] // *OFID.* – 2016. – Vol. 3, № Suppl. 1. – P. 599

203. Stephens, S.C. The effectiveness of patient-delivered partner therapy and chlamydial and gonococcal reinfection in San Francisco / S.C. Stephens, K.T. Bernstein, M.H. Katz [et al.] // *Sex. Transm. Dis.* – 2010. – Vol. 37, № 8. – P. 525-529.

204. Sturdevant, G. L. Frameshift mutations in a single novel virulence factor alter the in vivo pathogenicity of Chlamydia trachomatis for the female murine genital tract / G.L. Sturdevant, L. Kari, D.J. Gardner [et al.] // *Infect. Immun.* – 2010. – Vol. 78, № 9. – P. 3660-3668.

205. Surana, A. Association of the serum anti-Chlamydial antibodies with tubal infertility / A. Surana, V. Rastogi, P.S. Nirwan // *J. Clin. Dagn. Res.* – 2012. – Vol. 6, № 10. – P. 1692-1694.

206. Tabong, P.T.N. Infertility and childlessness: a qualitative study of the experiences of infertile couples in Northern Ghana / P.T.N. Tabong, P.B. Adongo // *BMC Pregnancy Childbirth.* – 2013. – Vol. 13. – P. 72.

207. Taylor-Robinson, D. Difficulties experienced in defining the microbial cause of pelvic inflammatory disease / D. Taylor-Robinson, J.S. Jensen, H. Svenstrup [et al.] // *Int. J. STD AIDS.* – 2012. – Vol. 23, № 1. – P. 18-24.

208. Tan, M. Intracellular Pathogens I: Chlamydiales / M. Tan, P. Bavoil // *Quart. Rev. Biol.* – 2012. – Vol. 89, № 2. – P. 184.

209. Tang, L. Chlamydia-secreted protease CPAF degrades host antimicrobial peptides / L. Tang, J. Chen, Z. Zhou [et al.] // *Microb. Infect.* – 2015. – Vol. 17, № 6. –

P. 402-408.

210. Tsevat, D.G. Sexually transmitted diseases and infertility / D.G. Tsevat, H.C. Wiesenfeld, C. Parks, J.F. Peipert // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2017. – Vol. 216, № 1. – P. 1-9.

211. Unemo, M. Sexually transmitted infections: challenges ahead / M. Unemo, C.S. Bradshaw, J.S. Hocking [et al.] // *Lancet Infect. Dis.* – 2017. – Vol. 17, № 8. – P. e235-e279.

212. Van Den Broe, I.V. Changes in chlamydia control activities in Europe between 2007 and 2012: a cross-national survey / I.V. Van Den Broe, O. Sfetcu, M.A. van der Sande [et al.] // *Eur. J. Public Health.* – 2016. – Vol. 26, № 3. – P. 382-388.

213. Van Dooremalen W.T.M. Screening of Chlamydia trachomatis and Waddlia chondrophila Antibodies in Women with Tubal Factor Infertility / W.T.M. Van Dooremalen, S.P. Verweij, J.E. den Hartog, [et al.] // *Microorganisms.* – 2020. Vol. 17 № 6. – P. 918.

214. van Ess, E. F. Comparison of the Mikrogen multi-target ELISA with the Mikrogen recom Line immunoblot for the detection of Chlamydia trachomatis IgG antibodies in serum in infertile women / E.F. van Ess, S. Ouburg, J.A. Land, S.A. Morre // *J. Microbiol. Methods.* – 2018. – Vol. 150. – P. 5-8.

215. van Houdt, R. Lactobacillus iners-dominated vaginal microbiota is associated with increased susceptibility to Chlamydia trachomatis infection in Dutch women: a case-control study / R. van Houdt, B. Ma, S.M. Bruisten [et al.] // *Sex. Transm. Infect.* – 2018. – Vol. 94, № 2. – P. 117-123.

216. Venter, J.C. The sequence of the human genome / J.C. Venter, M.D. Adams, E.W. Myers [et al.] // *Science.* – 2001. – Vol. 291, № 5507. – P. 1304-1351.

217. Verweij, S.P. Waddlia chondrophila and Chlamydia trachomatis antibodies in screening infertile women for tubal pathology / S.P. Verweij, C. Kebbi-Beghdadi, J.A. Land [et al.] // *Microbes infect.* – 2015. – Vol. 17, № 11-12. – P. 745-748.

218. Walker, J. Chlamydia trachomatis incidence and re-infection among young women—behavioural and microbiological characteristics / J. Walker, S.N. Tabrizi, C.K. Fairley [et al.] // *PloS one.* – 2012. – Vol. 7, № 5. – P. e37778.

219. Welter-Stahl, L. Stimulation of the cytosolic receptor for peptidoglycan, Nod1, by infection with *Chlamydia trachomatis* or *Chlamydia muridarum* / L. Welter-Stahl, D.M. Ojcius, J. Viala
220. Wen, Z. Recombinant expression of *Chlamydia trachomatis* major outer membrane protein in *E. Coli* outer membrane as a substrate for vaccine research / Z. Wen, M.A. Boddicker, R.M. Kaufhold [et al.] // *BMC Microbiol.* – 2016. – Vol.16, № 1. – P. 165.
221. Workowski, K. Center for disease control and prevention / K. Workowski, S. Berman // *MMWR Recom. Rep.* 2010. – Vol. 59, № RR-12. – P. 1–110.
222. Workowski, K.A. Sexually transmitted diseases treatment guidelines / K.A. Workowski, G.A. Bolan // *MMWR.* – Atlanta, Georgia, 2015. – Vol. 64, № RR3. – P. 1-140.
223. Wiesenfeld, H.C. Subclinical pelvic inflammatory disease and infertility / H.C. Wiesenfeld, S.L. Hillier, L.A. Meyn [et al.] // *Obstetr. Gynecol.* – 2012. – Vol. 120, № 1. – P. 37-43.
224. Wyrick, P.B. *Chlamydia trachomatis* persistence in vitro: an overview / P.B. Wyrick // *J. infect. Dis.* – 2010. – Vol. 201, № Suppl. 2. – P. S88.
225. Yu, Y.Y. *Chlamydia* partner services for females in California family planning clinics / Y.Y. Yu, J.A. Frasure- Williams, E.F. Dunne [et al.] // *Sex. Transm. Dis.* – 2011. – Vol. 38, № 10. – P. 913-918.
226. Zhang, D. Effect of previous *Chlamydia Trachomatis* infection on the outcomes of ivf/icsi treatment: a retrospective study / D. Zhang, Z. Wang, X. Hu [et al.] // *BMC Pregnancy Childbirth.* – 2022. – Vol. 22, № 1. – P. 305.
227. Ziklo, N. *Chlamydia trachomatis* genital tract infections: when host immune response and the microbiome collide / N. Ziklo, W.M. Huston, J.S. Hocking, P. Timms // *Trends Microbial.* – 2016. – Vol. 24, № 9. – P. 750-765.