

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**  
федеральное государственное бюджетное учреждение  
**«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ЦЕНТР АКУШЕРСТВА, ГИНЕКОЛОГИИ  
И ПЕРИНАТОЛОГИИ ИМЕНИ АКАДЕМИКА В.И. КУЛАКОВА»**

*На правах рукописи*

**МИТЮРИНА**  
Елена Викторовна

**ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЕ РЕПРОДУКТИВНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ У  
СУПРУЖЕСКИХ ПАР С ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ**

**3.1.4. - акушерство и гинекология**

**Диссертация на соискание ученой степени  
доктора медицинских наук**

**Научный консультант:**

**доктор медицинских наук, доцент  
Перминова С. Г**

**Москва**

**2024**

## ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	5
<b>ГЛАВА 1. РЕПРОДУКТИВНАЯ ФУНКЦИЯ И МЕТОДЫ ЕЕ РЕАЛИЗАЦИИ У ПАЦИЕНТОВ, ИНФИЦИРОВАННЫХ ВИЧ.</b>	
1.1. Эпидемиология ВИЧ-инфекции.....	15
1.2. Этиология и патогенез ВИЧ-инфекции.....	20
1.3. Лабораторная диагностика ВИЧ-инфекции.....	22
1.4. Антиретровирусная терапия.....	23
1.5. Контрацепция и планирование беременности в парах с ВИЧ-инфекцией.....	24
1.6. Заболевания женских половых органов и репродуктивное здоровье ВИЧ-инфицированных пациенток.....	27
1.7. Параметры спермограммы у ВИЧ-инфицированных мужчин.....	34
1.8. Методы вспомогательных репродуктивных технологий в дискордантных парах с ВИЧ-инфекцией у женщины.....	37
1.9. Методы вспомогательных репродуктивных технологий в дискордантных парах с ВИЧ-инфекцией у мужчины.....	40
1.10. Методы вспомогательных репродуктивных технологий в конкордантных по ВИЧ-инфекции парах.....	44
1.11. Морфологические характеристики ооцитов.....	45
1.12. Роль митохондрий в обеспечении компетентности ооцитов и сперматозоидов.....	49
1.12.1 Митохондриальная ДНК кумулюсных клеток.....	53
1.13. Митохондриальная токсичность антиретровирусных препаратов.....	55

<b>ГЛАВА 2. Материал и методы.....</b>	<b>59</b>
<b>ГЛАВА 3. Результаты</b>	
3.1. Социально-демографические характеристики и пути инфицирования ВИЧ у пациентов, обратившихся для проведения программы ЭКО.....	84
3.2. Иммунный статус и характеристика ВИЧ-инфекции у женщин .....	90
3.3. Клинико-anamнестические данные и лабораторные показатели в дискордантных парах с ВИЧ-инфекцией у женщины.....	93
3.3.1. Маркеры овариального резерва у женщин с ВИЧ-инфекцией, принимающих АРТ.....	103
3.4. Иммунный статус и характеристика ВИЧ-инфекции у мужчин.....	108
3.4.1. Характеристика спермограмм ВИЧ-инфицированных пациентов....	111
3.5. Клинико-anamнестические данные и лабораторные показатели в дискордантных парах с ВИЧ-инфекцией у мужчины.....	121
3.6. Показатели овариальной стимуляции, эмбриологический этап и результативность программ ВРТ в дискордантных парах с ВИЧ-инфекцией у женщины.....	127
3.7. Показатели овариальной стимуляции, эмбриологический этап и результативность программ ВРТ в дискордантных парах с ВИЧ-инфекцией у мужчины.....	133
3.8. Показатели овариальной стимуляции, эмбриологический этап и результативность программ ВРТ в конкордантных по ВИЧ-инфекции парах.....	138
3.9. Морфологические характеристики ооцитов у ВИЧ-инфицированных пациенток, принимающих АРТ.....	143

3.10. Копийность мтДНК в кумулюсных клетках у ВИЧ-инфицированных женщин, принимающих АРТ.....	149
3.11. Копийность мтДНК в сперматозоидах у ВИЧ-инфицированных мужчин, принимающих АРТ.....	154
3.12. Безопасность программ ВРТ у пациентов, инфицированных ВИЧ...	158
<b>ГЛАВА 4. Обсуждение.....</b>	<b>160</b>
<b>ВЫВОДЫ.....</b>	<b>195</b>
<b>ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....</b>	<b>200</b>
<b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....</b>	<b>202</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>	<b>204</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ.....</b>	<b>236</b>

## **ВВЕДЕНИЕ**

### **Актуальность исследования**

ВИЧ-инфекция – длительно текущее инфекционное заболевание, развивающееся в результате инфицирования вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), которое в настоящее время приобрело характер глобальной эпидемии (пандемии). Так, по данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) около 40 млн. человек в мире инфицированы ВИЧ [1]. В Российской Федерации (РФ) по состоянию на 31 декабря 2022 проживало 1 168 076 человек с лабораторно подтвержденным диагнозом ВИЧ-инфекции [2]. Среди лиц, живущих с ВИЧ, преобладают мужчины (62%), однако в последнее время отмечается «феминизация» эпидемии, что является следствием увеличения случаев инфицирования при гетеросексуальных контактах. Инфекция поражает людей всех возрастов, но особенно часто (86%) встречается у лиц репродуктивного возраста, многие из которых планируют рождение детей [3].

Разработка и внедрение в клиническую практику высокоактивной антиретровирусной терапии (АРТ) привели к пересмотру прежних взглядов, и в настоящее время ВИЧ-инфекцию рассматривают не как фатальную патологию, а как терапевтически контролируемое хроническое заболевание. Своевременное назначение АРТ наряду с увеличением продолжительности и улучшением качества жизни позволяет пациентам с ВИЧ-инфекцией реализовать репродуктивную функцию [4], а при сохраненной фертильности у обоих супругов существует возможность самостоятельного зачатия [5]. Однако результаты большинства исследований показывают снижение фертильности, как женщин, так и мужчин с ВИЧ-инфекцией [4,6,7]. По данным Parsons и соавт. (2000) распространенность бесплодия среди пациенток с ВИЧ-инфекцией на 37% больше, чем у серонегативных по ВИЧ женщин [8]. Патофизиология снижения фертильности в данной группе больных не изучена. Обсуждается роль инфекций, передаваемых половым путем (ИППП) и, как результат, воспалительных заболеваний органов малого

таза, которые в 10 раз чаще встречаются среди пациенток с ВИЧ-инфекцией по сравнению с женщинами того же возраста без ВИЧ-инфекции [6]. Другие исследователи снижение фертильности связывают с негативным влиянием некоторых антиретровирусных препаратов (АРВП) на липидный обмен и резистентность к инсулину, что оказывает воздействие на фолликулогенез и процесс овуляции [9,10].

На сегодняшний день также нет однозначных данных относительно воздействия ВИЧ-инфекции и/или АРТ на параметры сперматогенеза. В ряде исследований показано, что у мужчин, инфицированных ВИЧ, наблюдается снижение объема эякулята, концентрации и общей подвижности сперматозоидов [11,12,13]. В других работах, напротив, не было выявлено существенных различий в показателях спермограммы у ВИЧ-положительных и ВИЧ-отрицательных мужчин [14,15], за исключением тех случаев, когда ухудшалось общее состояние пациентов в связи с прогрессирующей иммуносупрессией [15]. Вместе с тем имеются данные о том, что назначение АРВП способствует нарушению целостности ДНК сперматозоидов, а также приводит к снижению количества мтДНК [6,16]. Теоретически, проникновение в сперматозоиды препаратов группы нуклеотидных ингибиторов обратной транскриптазы (НИОТ), используемых для терапии ВИЧ-инфекции, может оказывать митохондриальную токсичность на сперматозоиды, что, в свою очередь, приводит к снижению их подвижности [17]. Данная точка зрения требует дальнейшего подтверждения.

Методы вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) являются одним из способов реализации репродуктивной функции у пациентов с ВИЧ-инфекцией, а также мерой профилактики инфицирования здорового партнера в дискордантных парах. Исследования, посвященные анализу ВРТ в дискордантных парах при ВИЧ-инфекции у женщины немногочисленны и противоречивы. В ряде из них было показано, что у женщин, инфицированных ВИЧ, наблюдается снижение параметров овариального резерва и, как результат, повышение потребности в больших дозах гонадотропинов и более

высокая частота отмены цикла стимуляции [4,7,18]. Другие авторы, напротив, не выявили значимых различий в параметрах овариального резерва, стимуляции функции яичников, оо- и эмбриогенеза в данной группе пациенток по сравнению с женщинами без ВИЧ-инфекции [19,20,21]. Вместе с тем, большинство исследователей едины во мнении о низкой эффективности программ ВРТ у женщин, инфицированных ВИЧ. По разным данным частота наступления беременности колеблется от 6,7 до 24,1%, что существенно ниже по сравнению с женщинами без ВИЧ-инфекции [4,7,23].

Причина низкой эффективности программ ВРТ в данной категории больных остается до конца неясной. Обсуждается негативное влияние ВИЧ и/или АРТ на качество ооцитов. В исследовании Lopez (2008) было показано, что в ооцитах ВИЧ-инфицированных женщин с бесплодием, принимающих комбинированную АРТ, в 32% случаев наблюдалось истощение митохондриальной ДНК (мтДНК) [23]. Именно этим большинство исследователей объясняют снижение частоты клинической беременности в программе экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) у пациенток с ВИЧ-инфекцией, так как ооциты с меньшим количеством копий мтДНК имеют более низкую частоту оплодотворения [24]. Качество ооцитов определяется и их морфологическими характеристиками. Однако сведения об исследованиях по изучению дисморфизмов ооцитов у ВИЧ-инфицированных женщин, принимающих АРТ, в научной литературе отсутствуют.

Исследования по оценке эффективности ВРТ в дискордантных парах при наличии ВИЧ-инфекции у мужчины противоречивы. По разным данным частота наступления беременности варьирует от 22 % до 53,6 % [6,26], а в некоторых исследованиях – сопоставима с серонегативными по ВИЧ контролем [27].

Отсутствие однозначных данных о влиянии ВИЧ и/или АРТ на фертильность, качество гамет и эффективность программы ЭКО/ICSI создает предпосылки для дальнейшего изучения этой проблемы, что позволит

разработать систему мероприятий по подготовке и проведению программ ВРТ у супружеских пар с ВИЧ-инфекцией.

**Цель настоящего исследования** - повышение эффективности реализации репродуктивной функции в программах ВРТ у супружеских пар с ВИЧ – инфекцией.

Для достижения указанной цели были сформулированы следующие задачи.

**Задачи исследования:**

1. Изучить социально-демографические характеристики и пути инфицирования ВИЧ у пациентов, обратившихся для проведения ВРТ
2. Провести оценку клинико–anamnestических данных (длительность заболевания, продолжительность АРТ, принимаемые АРВП) и лабораторных параметров (иммунный статус, вирусная нагрузка) у пациентов с ВИЧ-положительным статусом, обратившихся для проведения ВРТ.
3. Оценить состояние репродуктивной системы и параметров овариального резерва у пациенток с ВИЧ – инфекцией, принимающих АРТ.
4. Оценить показатели спермограммы у мужчин с ВИЧ – инфекцией, принимающих и не принимающих АРТ.
5. Провести программу ЭКО и оценить параметры овариальной стимуляции, эмбриологические показатели и эффективность у пациентов с ВИЧ – инфекцией.
6. Исследовать качество ооцитов у женщин, инфицированных ВИЧ, принимающих АРТ, на основании определения распространенности и структуры дисморфизмов.
7. Уточнить патогенетические механизмы влияния АРТ на качество гамет пациентов, инфицированных ВИЧ, на основании оценки копийности митохондриальной ДНК кумулюсных клеток и сперматозоидов.
8. Оценить безопасность ВРТ в супружеских парах с ВИЧ-инфекцией.
9. Разработать систему мероприятий реализации репродуктивной функции у пациентов, инфицированных ВИЧ.



## Научная новизна

1. Изучены социально-демографические характеристики и пути инфицирования ВИЧ у пациентов, обратившихся для проведения ВРТ.
2. Проведен анализ стадии заболевания, состояния иммунного статуса, длительности АРТ, комбинаций антиретровирусных препаратов у пациентов с ВИЧ-инфекцией, планирующих беременность с использованием методов ВРТ.
3. Выявлены патогенетические механизмы снижения репродуктивного потенциала у пациентов, инфицированных ВИЧ.
4. Получены данные об изменении состояния овариального резерва у женщин с ВИЧ-инфекцией в зависимости от «стажа» заболевания, продолжительности АРТ и митохондриальной токсичности, используемых антиретровирусных препаратов.
5. Представлены данные об отсутствии неблагоприятного воздействия коинфекции ВИЧ/ВГС на показатели овариального резерва и параметры спермограммы по сравнению с моноинфекцией ВИЧ.
6. У женщин, инфицированных ВИЧ, выявлена низкая частота клинической беременности и родов, как в «свежих», так и в криоциклах с собственными ооцитами, что обусловлено негативным влиянием длительности заболевания ВИЧ и продолжительности АРТ на качество ооцитов.
7. Впервые выполнен анализ морфологических характеристик ооцитов у женщин, инфицированных ВИЧ, и выявлена высокая частота встречаемости дисморфизмов, которая зависела от продолжительности АРТ.
8. Выявлено существенное снижение числа копий мтДНК в кумулюсных клетках ооцитов, что обусловлено кумулятивным эффектом длительного использования АРВП с митохондриальной токсичностью.
9. Получены данные о том, что у мужчин с ВИЧ-инфекцией, которые не принимают АРВП, все показатели спермограммы находятся в пределах нормативных значений, а в случае повышения вирусной нагрузки и состоянии

умеренного иммунодефицита снижается объем эякулята и подвижность сперматозоидов.

10. Показано, что у ВИЧ-инфицированных мужчин, длительно использующих АРТ увеличивается число патологических форм и повышается индекс фрагментации ДНК сперматозоидов.

11. Выявлено, что параметры спермограммы у мужчин, инфицированных ВИЧ, не зависят от митохондриальной токсичности используемых в составе схемы АРТ препаратов группы НИОТ.

12. Показано, что у мужчин, инфицированных ВИЧ, с тяжелой патозооспермией, которые длительно принимают АРВП, снижается содержание всего пула мтДНК.

13. Получены данные о безопасности проведения программ ВРТ у пациентов, инфицированных ВИЧ.

### **Практическая значимость**

Доказана значимость ранней диагностики ВИЧ-инфекции у пациентов репродуктивного возраста и целесообразность своевременного назначения АРВП, имеющих минимальную митохондриальную токсичностью.

Обоснована ранняя оценка фертильности, скрининг АМГ и оценка показателей спермограммы при выявлении ВИЧ-инфекции у пациентов репродуктивного возраста, планирующих рождение детей.

У женщин, инфицированных ВИЧ, которые откладывают рождение детей, обоснована оценка овариального резерва, и при наличии неопределяемой вирусной нагрузки после назначения АРТ – проведение программы ЭКО и криоконсервация ооцитов/эмбрионов.

У женщин с бесплодием и ВИЧ-инфекцией обоснована оценка овариального резерва, и раннее проведение программы ЭКО.

Обосновано использование ооцитов донора при повторных неэффективных программах ЭКО у женщин с длительным «стажем» ВИЧ – инфекции и/или продолжительной АРТ.

В дискордантных парах с ВИЧ-инфекцией у мужчины, которые откладывают рождение детей, обоснована оценка спермограммы, а при наличии изменений – криоконсервация спермы.

Доказана безопасность программ ВРТ у пациентов с ВИЧ-инфекцией.

Разработаны практические рекомендации по реализации репродуктивной функции у пациентов с ВИЧ-положительным статусом.

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

1. Пациенты с ВИЧ-инфекцией, обратившиеся для проведения программ вспомогательных репродуктивных технологий, характеризовались социальным благополучием: наличием брака, высшего и среднего специального образования, активной трудовой деятельности и стабильного дохода. ВИЧ-инфекция выявлялась в молодом репродуктивном возрасте (Me 28 лет), у женщин на 2,5 года раньше, чем у мужчин. Преобладал половой путь инфицирования ВИЧ: у женщин-69,6% и у мужчин-45,5%, а использование инъекционных наркотиков у мужчин (23%) отмечено в два раза чаще, чем у женщин (10,3%).

2. Женщин, инфицированных ВИЧ, характеризуют ранний дебют половой жизни и неблагоприятный акушерско-гинекологический анамнез: высокая частота ИППП, гнойно-воспалительных заболеваний органов малого таза, дисплазии и рака шейки матки, большая распространенность абортов, поздних самопроизвольных выкидышей, внематочной беременности и антенатальной гибели плода, а также вторичное бесплодие трубно-перитонеального генеза. Длительный «стаж» ВИЧ-инфекции (Me 9,8 лет) и кумулятивный эффект продолжительной антиретровирусной терапии (более 5 лет) негативно влияли на овариальный резерв, снижая репродуктивный потенциал пациенток.

3. Как ВИЧ-инфекция, так и антиретровирусная терапия у мужчин негативно влияют на показатели спермограммы. Умеренный иммунодефицит (CD4+ 350-499 кл/мкл) и средний уровень вирусной нагрузки (10 000-50 000 кп/мл) у мужчин с ВИЧ-инфекцией, не принимающих антиретровирусную терапию, ассоциированы со снижением объема эякулята и подвижности сперматозоидов. Длительный «стаж» заболевания (Me 6 лет) приводит к снижению концентрации сперматозоидов и увеличению числа их неподвижных форм, а кумулятивный эффект продолжительной антиретровирусной терапии (Me 3 года) – к увеличению числа патологических форм и повреждению ДНК-сперматозоидов.

4. Низкая эффективность программы ЭКО у женщин с ВИЧ-инфекцией, а также в конкордантных парах обусловлена наличием «ооцитарного» фактора, что проявляется высокой частотой дисморфизмов ооцитов, истощением мтДНК в клетках кумулюса и снижением показателей раннего эмбриогенеза при приеме антиретровирусной терапии более 5 лет. Исходы программы ЭКО при использовании ооцитов донора, сопоставимые со здоровыми пациентками, подтверждают гонадотоксичные эффекты антиретровирусной терапии. В дискордантных парах с ВИЧ-инфекции у мужчины эффективность программы ЭКО, сопоставимая со здоровым контролем, обусловлена использованием антиретровирусных препаратов с меньшей митохондриальной токсичностью. Гонадотоксичные эффекты АРТ на содержание мтДНК в сперматозоидах ассоциированы только с тяжелой патозооспермией.

5. Ранняя диагностика ВИЧ, своевременное назначение АРТ, неопределяемая вирусная нагрузка в крови, перенос одного эмбриона в случае ВИЧ-инфекции у женщины, обработка спермы методом двойного градиента и флотацией, а также оплодотворение методом ICSI при ВИЧ-инфекции у мужчины обеспечивают безопасность женщины и рождение здорового ребенка в программе ЭКО.

**Личный вклад автора**

Автор непосредственно участвовал в выборе научного направления исследования, разработке цели и задач, анализе и статистической обработке полученных данных, обследовании и ведении пациентов на всех этапах лечения бесплодия методом ЭКО и переноса эмбрионов.

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 3.1.4 – «акушерство и гинекология». Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 1,3,4,5 и 6 паспорта акушерства и гинекологии.

### **Апробация результатов**

Основные положения диссертации и результаты работы представлены на межклинической конференции сотрудников Института репродуктивной медицины (22.06.2023 г.), а также заседании апробационной комиссии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (25.09.23 г., протокол № 10).

### **Внедрение результатов исследования в практику**

Разработанный на основании полученных результатов данной работы алгоритм по обследованию, подготовке и проведению методов ВРТ в дискордантных и конкордантных по ВИЧ-инфекции парах используется в лекционном курсе Образовательного центра «Бесплодный брак и вспомогательные репродуктивные технологии» им. Фредерика Паулсена-старшего, а также практической деятельности врачей Института репродуктивной медицины ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России. Результаты исследования представлены на российских и международных конференциях/конгрессах в виде тезисов, устных и/или постерных докладов: 25-я ежегодная конференция COGI (Вена, 2017), международная научно – практическая конференция «Актуальные вопросы ВИЧ-инфекции» (г. Санкт – Петербург, 2017), VI Дальневосточной научно – практической конференция «Дискуссионные вопросы акушерства и

гинекологии» (г. Благовещенск, 2018), Всероссийский конгресс «Амбулаторно-поликлиническая помощь в эпицентре женского здоровья» (г. Москва, 2018), конференция «Краеугольные аспекты репродуктивной медицины» (г. Москва, 2018), XXVIII Ежегодная Международная конференция РАРЧ "Репродуктивные технологии сегодня и завтра» (г. Уфа, 2018), XII Международный конгрессе по репродуктивной медицине (г. Москва, 2018), 34 ежегодная конференция ESHRE (Барселона, 2018), 35-я ежегодной конференция ESHRE (Вена, 2019), XX юбилейный Всероссийский научно – образовательный форум «Мать и дитя» (г. Москва, 2019), XXI Всероссийский научно – образовательный форум «Мать и дитя» (г. Москва, 2020), Регионарный научно – образовательный форум «Мать и дитя» (г. Москва, 2021), XXXI Ежегодная Международная конференция Российской Ассоциации Репродукции Человека (г. Сочи, 2021), Всероссийский конгресс «Амбулаторно-поликлиническая помощь в эпицентре женского здоровья» (г. Москва, 2022). По теме диссертации опубликовано 15 статей в ведущих научных журналах, рекомендуемых ВАК.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена на 245 страницах компьютерного текста, состоит из введения и 4 глав (обзор литературы, материал и методы исследования, результаты собственных исследований, обсуждение), выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Работа иллюстрирована 44 таблицами и 28 рисунками. Использованная литература включает 266 источника, в том числе 28 на русском и 238 источников на английском языках.

## **ГЛАВА 1. РЕПРОДУКТИВНАЯ ФУНКЦИЯ И МЕТОДЫ ЕЕ РЕАЛИЗАЦИИ У ПАЦИЕНТОВ, ИНФИЦИРОВАННЫХ ВИЧ**

Важной особенностью ВИЧ является способность поражать и вызывать гибель некоторых клеток иммунной системы, в результате чего развивается и медленно прогрессирует иммунодефицитное состояние. При отсутствии лечения, как результат выраженного иммунодефицита, развиваются вторичные заболевания инфекционного, паразитарного или онкологического генеза (то есть развивается синдром приобретенного иммунодефицита), что приводит к гибели больного [28]. Следует отметить, что большинство ВИЧ-позитивных – это люди молодого возраста, которые имеют трудовую занятость, социальный статус и планируют рождение детей в настоящее время или в будущем. Использование АРТ и своевременное ее назначение способствует восстановлению иммунной системы и предупреждению развития оппортунистических заболеваний, а также увеличению продолжительности и улучшению качества жизни. Наряду с этим, снижается контагиозность пациентов с ВИЧ-инфекцией, что позволяет им планировать беременность, как самостоятельно, так и с использованием ВРТ.

ВРТ в данных супружеских парах используются не только для лечения бесплодия, но и являются мерой профилактики инфицирования здорового партнера. Однако, несмотря на имеющиеся достижения в диагностике, лечении и профилактики ВИЧ-инфекции, проблема остается крайне актуальной, в особенности у пациентов репродуктивного возраста.

### **1.1. Эпидемиология ВИЧ-инфекции**

По данным объединенной программы ООН по ВИЧ/СПИД (ЮНЭЙДС) около 38 миллионов человек в мире проживают с ВИЧ-инфекцией, а число новых случаев инфицирования ежегодно достигает 1,7 миллиона человек [31]. Несмотря на то, что в настоящее время сокращается число новых случаев инфицирования (после пика в 2,9 миллиона человек в 1997 г.), пораженность

ВИЧ-инфекцией неуклонно растет за счет широко использования АРТ, увеличивающей продолжительность жизни людей с ВИЧ.

В РФ по состоянию на 31 декабря 2022 г. кумулятивное число подтвержденных в иммунном блоте случаев ВИЧ-инфекции составило 1 629 955 человек. На 31 декабря 2022 г. в стране проживало 1 168 076 человек с лабораторно подтвержденным диагнозом ВИЧ-инфекции, исключая 461 879 больных, умерших за весь период наблюдения (1987-2022гг.). В 2022 г. было зарегистрировано 63 150 новых случаев заболевания, в том числе 615 случая среди детей. Поскольку ВИЧ-инфекция является неизлечимым заболеванием, а число новых случаев превышает число умерших, продолжает расти общее число лиц, живущих с ВИЧ [2].

Наиболее высокий уровень пораженности ВИЧ-инфекцией наблюдается в возрастной группе 30–44 года. В последние годы в РФ ВИЧ-инфекция чаще диагностируется в более старших возрастных группах. Так, в 2001 г. у 87% пациентов ВИЧ-инфекция впервые была выявлена в возрасте 15-29 лет, а в 2021 г – у 86 % в возрасте старше 30 лет, преимущественно в возрастной группе 30-50 лет (71,3% случаев). Более 80% ВИЧ-инфицированных находятся в возрасте от 15 до 44 лет, большинство из них планируют беременность [32]. В многоцентровом исследовании Panozzo L. и соавт. (2003) при опросе пациентов с ВИЧ-положительным статусом 45% женщин и 38% мужчин выразили желание иметь детей [33]. В другой работе репродуктивные планы были у 25,8% женщин, живущих с ВИЧ, что было сопоставимо с населением в целом (37%). Более того, желание иметь детей не зависело от наличия/отсутствия клинических проявлений ВИЧ, состояния иммунной системы и использования АРТ [34].

В гендерной структуре преобладают мужчины (62,4%), однако последние годы наблюдается рост числа женщин, инфицированных ВИЧ, что обусловлено увеличением гетеросексуального пути заражения. Так, по данным ЮНЭЙДС в 2022 году во всем мире 46% всех новых случаев ВИЧ-



инфекции пришлось на женщин и девочек [35]. По некоторым данным, в России к концу 2019 г. диагноз ВИЧ-инфекции имели около 500 000 женщин. Среди мужчин репродуктивного возраста (15–49 лет) 1,4% инфицированы ВИЧ, тогда как среди подгруппы мужчин 35–39 лет в 2,5 раза больше (3,3%) живут с диагнозом ВИЧ-инфекция [2]. Несмотря на то, что среди когорты ВИЧ-позитивных преобладают мужчины, риск инфицирования у женщин в 4–7 раз выше [6], что обусловлено анатомическими особенностями и длительным нахождением во влагалище семенной жидкости с высокой концентрацией вирусных частиц. Фактором, увеличивающим вероятность инфицирования у мужчин, является необрезанная крайняя плоть полового члена, поскольку она содержит большое количество клеток, имеющих сродство к ВИЧ [29].

В последние годы значительно снизился риск передачи ВИЧ от матери ребенку, инфицирование которого может произойти в любой период беременности и родов, а также при грудном вскармливании. Наибольшая вероятность вертикальной (трансплацентарной) передачи ВИЧ наблюдается в третьем триместре беременности и/или в случае травматических родов. В развитых странах, частота передачи ВИЧ от матери ребенку, при использовании АРТ, составляет менее 1–2%, в сравнении с 14–42% при отсутствии профилактики. В РФ в период с 1987 г. по 30 сентября 2021 г. родилось 229 097 живых детей от ВИЧ-инфицированных матерей, из них у 12 020 была подтверждена ВИЧ-инфекция (5,2%). В настоящее время частота передачи ВИЧ-инфекции от матери к ребенку в нашей стране составляет 1,1% [2], что обусловлено внедрением в клиническую практику ряда мер по профилактике вертикальной передачи вируса, к которым относят: использование АРТ, плановое кесарево сечение при высокой вирусной нагрузке у матери, постэкспозиционную профилактику антиретровирусными препаратами у новорожденных, отказ от грудного вскармливания. Риск

вертикальной передачи ВИЧ в случае несоблюдения данных принципов достигает 30% [36].

Частота горизонтальной передачи вируса при однократном половом контакте невысока и составляет 0,2-0,8%. Наиболее часто заражение происходит при повторных контактах. Среди серодискордантных по ВИЧ пар, которые сообщили, что «всегда» используют презервативы было зарегистрировано 1,14 случаев передачи ВИЧ на 100 человеко-лет (95% ДИ 0,56–2,04) [37]. Расчетный уровень передачи через любой незащищенный половой акт с ВИЧ-положительным партнером, получающим АРТ, и вирусной нагрузкой менее 200 копий/мл, равен нулю [37]. Передача ВИЧ наиболее вероятна при его максимальной концентрации, то есть при поздней стадии и/или в период первичных клинических проявлений заболевания [15].

Прогностическими критериями вероятности инфицирования при половом контакте являются уровень вирусной нагрузки в крови у больного, а также наличие факторов, влияющих на заражение ВИЧ, к ним относят:

- количество вирусов в биологических средах половых органов;
- количество клеток, пораженных ВИЧ;
- наличие ИППП, как причины воспалительных процессов половых органов;
- состав микрофлоры влагалища;
- индивидуальные характеристики штамма вируса;
- физиологические условия, усиливающие время контакта ВИЧ со слизистой оболочкой шейки матки (например, гормональные контрацептивы);
- травматичные сексуальные контакты.

Наличие некоторых ИППП увеличивает вероятность инфицирования ВИЧ, что можно объяснить снижением уровня лактобактерий в вагинальной флоре, стимуляцией репликации ВИЧ, а также рекрутированием клеток,

которые могут быть инфицированы из-за персистирующего воспаления [38]. Наличие большого количества лейкоцитов при воспалительных процессах гениталий приводит к увеличению клеток-мишеней и продукции цитокинов, хемокинов, которые активируют экспрессию вируса. При заболеваниях, проявляющихся изъязвлениями слизистой оболочки (сифилис, генитальный герпес, шанкرويد) происходит проникновение вируса в порталную систему, наблюдается активация иммунных клеток, связывающиеся с ВИЧ, вследствие чего инфекция распространяется. Изменение физиологических свойств эпителия цервикального канала при хламидийной инфекции также способствует увеличению восприимчивости к ВИЧ-инфекции. Таким образом, ИППП могут не только повышать риск заражения, но и способствовать передаче ВИЧ с помощью различных механизмов, включая снижение целостности эпителиального барьера, хроническое воспаление и увеличение количества клеток-мишеней для ВИЧ в половых путях.

Описаны случаи инфицирования ВИЧ при медицинских манипуляциях. Так, в первом полугодии 2021 г. в нашей стране зарегистрировано 3 случая подозрения на инфицирование ВИЧ, связанное с оказанием медицинской помощи и 1 случай инфицирования ВИЧ ребенка при оказании медицинской помощи за пределами РФ [32].

ВИЧ-инфекция вышла за рамки уязвимых к заражению ВИЧ групп (потребители инъекционных наркотиков (ПИН), МСМ, работники коммерческого секса, заключенные), и стремительно распространяется среди общей популяции россиян. Подтверждением этому является рост числа выявленных новых случаев ВИЧ-инфекции в общей популяции, а также снижение инфицирования при употреблении наркотиков и гомосексуальных контактах. Так, частота инфицирования ВИЧ при употреблении наркотиков в 2021 г. составила 28,3%, а при гомосексуальных контактах инфицировались 2,5% впервые выявленных больных. Несмотря на то, что в настоящее время частота инфицирования ВИЧ среди ПИН снижается, за период с 1987 г. по

2021 г. 57,3% среди всех инфицированных ВИЧ россиян были заражены именно при употреблении наркотиков [32].

В настоящее время программой ЮНЭЙДС рекомендована стратегия «95-95-95», которая подразумевает следующее:

- 95% людей, живущих с ВИЧ, знают свой статус;
- 95% людей, знающих свой статус, получают лечение;

• 95% людей, получающих лечение от ВИЧ-инфекции, имеют неопределяемую вирусную нагрузку [39]. Данная стратегия направлена на сокращение новых случаев инфицирования на 90% к 2030 году, а ее реализация возможна при условии оптимизации методов диагностики на ВИЧ, расширения доступа к обследованию и консультированию, особенно в группах повышенного риска инфицирования ВИЧ. Так, по состоянию на 2020 г. 84% лиц, живущих с ВИЧ, знали свой статус, 73% - имели доступ к лечению и 66% - достигли неопределяемой вирусной нагрузки [40].

Среди ВИЧ-инфицированных пациентов менее 0,5% составляют так называемые «элитные контроллеры» или «непрогрессоры», у которых без использования вирусная нагрузка в крови не определяется, а заболевание длительное время сохраняется в бессимптомной форме. Тот факт, что у некоторых людей отсутствует прогрессирование заболевания без применения АРТ, предполагает существование эволюционно выработанных защитных механизмов, которые обеспечивают противодействие патогенным эффектам ВИЧ [29].

## **1.2. Этиология и патогенез ВИЧ-инфекции**

ВИЧ является РНК-содержащим ретровирусом, который относится к подсемейству лентивирусов. Характерными особенностями ретровирусов являются уникальное строение генома и присутствие обратной транскриптазы (РНК-зависимая ДНК-полимераза), обеспечивающей обратную

направленность потока генетической информации: от РНК к ДНК [41]. Вирус содержит две нити РНК; ферменты, необходимые для его репликации (обратная транскриптаза, интегразы, протеазы); белки и гликопротеиды (gp41 и gp 120), образующие оболочки вируса. В настоящее время известны два типа вируса иммунодефицита человека, имеющие некоторые антигенные различия – ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Штамм ВИЧ-1 был идентифицирован первым, он является наиболее распространенным и изученным штаммом. При ВИЧ-2 наблюдается более низкая вирусная нагрузка, как в крови, так и в сперме, что приводит к снижению вероятности передачи вируса половым путем в 4 раза по сравнению с ВИЧ-1.

Инфицирование ВИЧ происходит при его попадании непосредственно в кровь или на слизистые оболочки. Вирус проникает в клетки, имеющие на поверхности рецептор CD4<sup>+</sup> (Т-хелперы, моноциты, макрофаги, клетки Лангерганса, фолликулярные дендритные клетки лимфатических узлов, микроглия, астроциты мозга, эпителиальные клетки кишки, шейки матки) путем связывания его гликопротеидов с молекулой CD4<sup>+</sup> и хемокиновыми рецепторами. В клетке происходит преобразование РНК ВИЧ в ДНК (обратная транскрипция), которая в ядре клетки-хозяина встраивается в ДНК при помощи вирусного фермента интегразы. Образующиеся в клетке белки ВИЧ подвергаются воздействию фермента протеазы, который делает их функционально способными. После сборки вирионы покидают клетку. Таким образом, клетка – хозяин превращается в «машину» для производства новых вирионов (ВИЧ обладает очень высокой репликативной активностью).

По мере того, как вирус разрушает и нарушает функцию иммунных клеток, инфицированные люди постепенно становятся иммунодефицитными. Состояние иммунной системы оценивают числом клеток CD4<sup>+</sup> лимфоцитов в крови. Самая поздняя стадия ВИЧ-инфекции - СПИД, развитие которого может занять много лет, определяется развитием определенных видов рака, инфекций или других тяжелых долгосрочных клинических проявлений [37].

Течение ВИЧ-инфекции у женщин и мужчин, не использующих АРТ, является различным. Причина заключается в том, что одной из мишеней для ВИЧ являются дендритные клетки, которые реагируют на вирус путем высвобождения интерферона-альфа, а его продукция усиливается под действием прогестерона. Как результат, у женщин в ранней фазе ВИЧ-инфекции наблюдается более выраженная иммунная активация, что приводит к менее выраженной репликации вируса и более низкой вирусной нагрузке. В постменопаузе данные отличия от мужчин отсутствуют [40].

### **1.3. Лабораторная диагностика ВИЧ-инфекции**

После инфицирования в крови появляются ВИЧ-1-специфические маркеры в хронологическом порядке: РНК ВИЧ-1, антиген р24, антитело IgM к ВИЧ-1 и антитело IgG к ВИЧ-1. Для стандартного скринингового обследования проводится одновременное определение антител к ВИЧ 1,2 и антигена р25/24 с помощью диагностических тестов: иммуноферментного (ИФА), иммунохемилюминесцентного (ИХЛА) анализа не ниже четвертого поколения, разрешенных к применению в РФ. При положительном результате на первом этапе обследования выполняются подтверждающие тесты (иммунный блот) и/или определение нуклеиновой кислоты ВИЧ-1 [36,42]. В случае подозрения на раннее инфицирование ВИЧ (менее 14 дней), возможно проведение теста на наличие нуклеиновой кислоты (НАТ) для обнаружения РНК ВИЧ через 5-10 дней после инфицирования, в зависимости от чувствительности пробы [37].

Новая стратегия в диагностике ВИЧ – самотестирование и использование экспресс-тестов, что можно использовать в качестве первого этапа тестирования и вне клинических условий. Экспресс-тесты (в основном это мазки из полости рта) – это, в первую очередь ELISA-тесты, которые дают результат через 20-30 минут. Однако результаты должны быть верифицированы подтверждающим тестом.

## 1.4. Антиретровирусная терапия

Основная задача АРТ состоит в максимальном подавлении размножения ВИЧ, что выражается в снижении вирусной нагрузки до неопределяемого уровня (<20-50 копий/мл). Следует отметить, что в настоящее время АРТ назначают всем людям, живущим с ВИЧ, независимо от числа клеток CD4+ или тяжести заболевания [43], но оговаривается, что в приоритетном порядке она должна назначаться пациентам с клиническими проявлениями вторичных заболеваний или числом CD4+ < 350 клеток/мкл. Кроме этого, в приоритетном порядке АРТ назначают беременным женщинам, пациентам, планирующим беременность, перед проведением ВРТ, инфицированному ВИЧ, имеющему постоянного ВИЧ-отрицательного партнера [28].

Антиретровирусные препараты нацелены на уязвимые этапы жизненного цикла ВИЧ и тем самым препятствуют его размножению. Подавление репликации ВИЧ останавливает гибель CD4+ лимфоцитов, что приводит к восстановлению их популяции и функциональной активности. Это предотвращает развитие вторичных заболеваний или способствует их излечению [28]. В настоящее время в международной клинической практике разрешено к применению более 30 отдельных и комбинированных препаратов. Эти препараты принадлежат к следующим фармакологическим группам в зависимости от их молекулярного механизма и профилей резистентности:

1) нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы (НИОТ) ВИЧ – блокируют процесс обратной транскриптазы (синтез вирусной ДНК на матрице вирусной РНК);

2) ненуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы (ННИОТ) - блокируют необходимый для осуществления обратной транскрипции фермент – обратную транскриптазу ВИЧ;

3) ингибиторы протеазы (ИП) - блокируют процесс формирования полноценных белков ВИЧ и, в конечном итоге, сборку новых вирусов;

4) препараты, воздействующие на рецепторы, используемые вирусом для проникновения ВИЧ в клетку хозяина (ингибиторы фузии или слияния и ингибиторы хемокиновых рецепторов – CCR5);

5) ингибиторы интегразы (ИИ) блокируют процесс встраивания провирусной ДНК в ДНК человека с помощью фермента ВИЧ – интегразы.

При назначении терапии используют комбинацию различных групп препаратов, направленных как минимум на две различные молекулярные мишени, что является основой для предотвращения развития лекарственной устойчивости. Наиболее часто используют трехкомпонентную комбинацию из 2-х препаратов группы НИОТ в сочетании с ИП, ННИОТ или ИИ. В большинстве исследований не было обнаружено существенной разницы в эффективности схем АРТ. В то же время схемы АРТ отличаются по профилю безопасности, то есть частоте встречаемости и степени выраженности тех или иных нежелательных явлений, одним из которых является митохондриальная токсичность препаратов [28]. В настоящее время в некоторых случаях используют двухкомпонентные схемы лечения, что является одним из способов снизить негативное воздействие АРВП, сохраняя при этом преимущества подавления вируса. Другим вариантом снижения токсичности от длительного применения препаратов группы НИОТ являются двухкомпонентные схемы АРТ с использованием инъекционных препаратов длительного действия, например, каботегравир в сочетании с рилпивирином, безопасность и эффективность которых подтверждена рядом исследований [44].

### **1.5. Контрацепция и планирование беременности в парах с ВИЧ-инфекцией**

В дискордантных по ВИЧ-инфекции парах презерватив защищает здорового партнера от инфицирования, но его контрацептивное действие относительно слабое: индекс Перля (количество беременностей,



наступивших за 100 пациенто-лет) составляет 2-12, в то время как для комбинированных оральных контрацептивов – 0,1-0,9. Вместе с тем имеются данные о том, что использование гормональных контрацептивов при ВИЧ-инфекции у женщины повышает риск заражения здорового партнера в связи с повышенными концентрациями РНК ВИЧ-1 в секрете цервикального канала [45]. Hargood J. P. и соавт. (2018) полагают, что в большей степени это относится к инъекционным гестаген-содержащим препаратам [46]. Использование же комбинированных оральных контрацептивов (КОК) для ВИЧ-инфицированных пациенток, принимающих некоторые препараты группы ИП и ННИОТ, нельзя назвать надежным с точки зрения вероятности наступления беременности [47]. Это обусловлено тем, что при приеме некоторых АРВП группы ИП и ННИОТ наблюдаются выраженные колебания концентрации этинилэстрадиола/гестагенов и снижение контрацептивного эффекта [35]. В связи с чем, при выборе КОК пациентке с ВИЧ-инфекцией, которая в схеме АРТ использует препараты группы ИП или ННИОТ, предпочтение следует отдавать препаратам с высоким содержанием эстрогенов/гестагенов, а наиболее оптимальным средством контрацепции в дискордантных парах является комбинация оральных контрацептивов и использование презерватива [48]. Применение медь – содержащей, а также левоноргестрел-содержащей внутриматочной спирали (Мирена®), действие которой характеризуется повышением вязкости цервикальной слизи, является безопасным и эффективным методом контрацепции для ВИЧ-инфицированных пациенток [49].

Планирование беременности, как самостоятельной, так и с использованием методов ВРТ у ВИЧ-инфицированных пациентов оказалось доступным только с внедрением в клиническую практику высокоактивной комбинированной АРТ. Ранее реализация репродуктивной функции являлась предметом этических споров и не была доступна для пациентов с ВИЧ-инфекцией. В настоящее время при условии приема АРТ, наличии

неопределяемой вирусной нагрузки и отсутствии ИППП в данных парах допустимо самостоятельное зачатие [5], поскольку при снижении вирусной нагрузки в крови менее 200 копий/мл

В дискордантных по ВИЧ-инфекции парах с высокими требованиями к безопасности возможны половые отношения без презерватива с выбором оптимального времени зачатия или в сочетании с предэкспозиционной (доконтактной) профилактикой [40]. По мнению Safier L.Z. (2017), использование АРТ у инфицированного партнера в сочетании с доконтактной профилактикой у ВИЧ-серонегативного партнера снижает передачу ВИЧ на 96% [36]. Кроме этого, не выявлено увеличения частоты невынашивания беременности и врожденных аномалий у ВИЧ-отрицательных женщин, использующих доконтактную профилактику в период зачатия [50].

По некоторым данным, в связи с тем, что изменение вирусной нагрузки может происходить спонтанно или вследствие нарушения в режиме АРТ, в парах с ВИЧ-инфекцией у мужчины предпочтение следует отдавать ВМИ обработанной спермой [51]. В дискордантных парах с ВИЧ-инфекцией у женщины беременность может наступить как самостоятельно, так и с использованием аутоинсеминации или ВМИ спермой партнера/донора в перiovуляторные дни менструального цикла [52,53].

В случае отсутствия беременности в течение 6-12 месяцев показано обследование для уточнения причин бесплодия и определения дальнейшей тактики в достижении беременности.

В конкордантных по ВИЧ-инфекции парах естественное зачатие возможно, если партнеры инфицированы одним штаммом ВИЧ. При инфицировании разными штаммами вируса существует вероятность развития суперинфекции. Как результат, ухудшается течение инфекции и создаются дополнительные трудности с подбором эффективной АРТ [54]. В связи с этим, именно в конкордантных парах, вне зависимости от статуса фертильности,

некоторые специалисты считают оправданным вместо попыток естественного зачатия использовать обработку спермы с последующим применением ВМИ или, по показаниям, других методов ВРТ [30].

### **1.6. Заболевания женских половых органов и репродуктивное здоровье ВИЧ-инфицированных пациенток**

Высокая частота инфицирования ВИЧ в молодом возрасте обуславливает необходимость изучения заболеваний репродуктивной системы женщин в данной группе больных.

Репродуктивное здоровье женщин с ВИЧ-инфекцией определяется стадией заболевания. При этом некоторые гинекологические заболевания могут быть первым проявлением ВИЧ-инфекции [29]. Следует отметить, что для ВИЧ-инфицированных пациенток характерно повышение риска развития дисплазии и рака шейки матки, язвенных поражений половых органов, вагинальных инфекций и генитальных кондилом [40]. ИППП у ВИЧ-инфицированных пациенток не только встречаются чаще, но и редко наблюдаются изолированно друг от друга, причем каждая из них способствует заражению ВИЧ или другими венерическими заболеваниями. При наличии ВИЧ клиническая картина, течение и терапевтический ответ некоторых ИППП могут отличаться, а частота и тяжесть данных заболеваний коррелирует с иммунным статусом и уровнем вирусной нагрузки [40]. В исследовании Politch J.A (2012) было показано, что наличие ИППП способствует появлению ВИЧ в генитальном секрете (в количестве, достаточном для заражения), даже в случаях достижения длительно неопределяемой вирусной нагрузки в крови на фоне АРТ [56]. И напротив, своевременная диагностика и лечение ИППП снижает риск передачи ВИЧ-инфекции. В связи с этим, неинфицированного полового партнера необходимо обследовать на ИППП и пролечить при необходимости [48].

Бактериальный вагиноз (БВ) – это заболевание, обусловленное патологической колонизацией влагалища смешанной бактериальной флорой, включающей, в том числе, анаэробы, с вытеснением нормальных лактобактерий. Распространенность БВ среди пациенток с ВИЧ-инфекцией варьирует от 36 до 43% [38], а персистенция и тяжесть данного состояния напрямую зависит от состояния иммунной системы. В исследовании Aralata T. И соавт. (2021) было показано, что снижение количества лактобактерий и рост *M. hominis* приводит к повышению экспрессии ВИЧ в половых путях, что способствует более чем 3-кратному увеличению риска передаче ВИЧ-инфекции здоровому партнеру [57].

ВИЧ-инфицированные женщины чаще страдают от проявлений генитального герпеса, вызываемого вирусом простого герпеса 2 типа (ВПГ). По некоторым данным, частота встречаемости данного заболевания варьирует от 52 до 95% и характеризуется тяжелым, нередко атипичным течением с высокой частотой рецидивов [38]. Назначение АРТ приводит к снижению частоты и степени тяжести течения генитального герпеса, тем не менее, латентное выделение вируса при этом продолжается [40].

Распространенность хламидийной и гонококковой инфекций среди ВИЧ-инфицированных женщин колеблется от 9,7% до 16,2% и от 1,3% до 2,7% соответственно. Известно, что данные заболевания протекают бессимптомно, но в 10-20% случаев приводят к развитию острого воспаления различной степени тяжести [38], а также увеличивают риск вертикальной передачи ВИЧ.

Вульвовагинальный кандидоз – одна из наиболее распространенных грибковых инфекций, часто рецидивирующая у ВИЧ-инфицированных женщин. Частота встречаемости составляет 51-61,9% и зависит от состояния иммунной системы. Снижение количества CD4+ лимфоцитов менее 200 клеток/мкл и/или наличие вирусной нагрузки в крови более 100 000 копий/мл ассоциированы с высоким риском развития вагинального кандидоза.

Широкое использование антибиотиков в данной группе женщин также приводит к повышению заболеваемости вагинальными микозами [38].

Высокая распространенность ИППП у пациентов с ВИЧ-инфекцией обуславливает большую частоту встречаемости воспалительных заболеваний органов малого таза и их осложненных форм (пиоальпинкс, пиовар, абсцесс и т.д), которые наблюдаются в 10 раз чаще в сравнении с сексуально активными серонегативными по ВИЧ женщинами того же возраста [6]. Состояние иммунодефицита, которое ассоциировано с ВИЧ-инфекцией способствует более длительному и тяжелому течению этих заболеваний. Наблюдается снижение фагоцитоза лейкоцитами, а также нарушение гуморальных иммунных ответов на бактериальную инфекцию, что приводит к ослаблению воспалительной реакции, более позднему появлению симптомов и диагностике заболевания.

У ВИЧ-инфицированных женщин значительно чаще встречается инфекция, вызванная вирусом папилломы человека (ВПЧ) [58]. Основным фактором, предрасполагающим к инфицированию ВПЧ в данной группе женщин является иммуносупрессия, а характерной особенностью течения заболевания - высокая вирусная нагрузка вируса, длительная его персистенция и большая распространенность онкогенных подтипов [59]. В то время как у здоровых лиц эти инфекции чаще всего протекают бессимптомно и постепенно разрешаются, у ВИЧ-инфицированных пациентов они часто персистируют и вызывают образование остроконечных кондилом. При этом, использование АРТ не снижает риск инфицирования ВПЧ [60], а длительное течение заболевания приводит к развитию предраковых заболеваний, интраэпителиальных неоплазий и инвазивного рака шейки матки.

Риск развития инвазивного рака шейки матки у ВИЧ-позитивных женщин повышается почти в 9 раз по сравнению с ВИЧ-негативными женщинами [61]. Более того, злокачественные новообразования шейки матки считаются СПИД-индикаторными, а использование АРТ не снижает вероятность их

возникновения [62]. Существует обратная зависимость между низким числом CD4+ лимфоцитов и риском развития рака шейки матки [63]. Так, риск возникновения злокачественных низкокодифференцированных и высококодифференцированных поражений шейки матки снижается на 13% и 18%, соответственно, при увеличении числа CD4+ лимфоцитов на каждые 100 клеток/мкл. Отличительной особенностью данного заболевания у женщин с ВИЧ-инфекцией является высокая частота рецидивов, а также метастазирование нетипичной локализации и низкая эффективность лечения [63].

Распространенность бесплодия среди женщин, живущих с ВИЧ, по некоторым данным достигает 60% [64,65]. По результатам исследования Parson и соавт. частота его выявления у женщин с ВИЧ-инфекцией на 37% выше, чем у пациенток без ВИЧ-инфекции [8]. По данным систематического обзора и мета-анализа, проведенного Barnes A. и соавт. (2014), у пациенток с ВИЧ-инфекцией, принимающих АРТ, в 32 – 75% случаев отмечено трубное бесплодие, в 8 – 12,5% - эндокринное, а неясный генез отсутствия беременности встречался в 12 – 20% наблюдений [66]. Следует отметить, что изучение естественной фертильности и частоты встречаемости бесплодия в данной группе пациентов затруднительно в связи с имеющимся изменением сексуального поведения. Так, по некоторым данным, после постановки диагноза наблюдается снижение частоты половых контактов, а также использование контрацепции для защиты партнера от инфекции [67].

Оценка влияния ВИЧ-инфекции на фертильность в данной группе пациенток, проведенная до введения АРТ, показала снижение частоты наступления беременности у ВИЧ-положительных женщин по сравнению с серонегативными пациентками [68], а снижение фертильности коррелировало с более низким количеством CD4+ лимфоцитов и прогрессированием ВИЧ-инфекции [69]. Несмотря на то, что ВИЧ-инфекция не является основной причиной бесплодия, прогрессирование заболевания, высокий уровень

вирусной нагрузки и низкое количество CD4+ лимфоцитов несомненно связаны со снижением наступления самостоятельной беременности [6,70]. Анализ оценки фертильности ВИЧ-инфицированных пациенток в Соединенных Штатах показал, что частота самостоятельной беременности в данной группе женщин составляет 7,4% против 15,2% у ВИЧ-негативных на 100 человеко-лет [71].

Рассматривают следующие причины развития бесплодия у пациентов, инфицированных ВИЧ:

- воздействие сопутствующих заболеваний (ИППП, злоупотребление наркотиками);
- психосоциальные факторы (снижение сексуальной активности, аборты);
- негативное влияние антиретровирусной терапии.

Снижение фертильности у ВИЧ-инфицированных происходит посредством различных механизмов. Высокая частота встречаемости ИППП и, как результат, воспалительных заболеваний органов малого таза обуславливают развитие трубно-перитонеального фактора бесплодия. Распространенность данного фактора бесплодия варьирует от 32 до 75% среди пациенток с ВИЧ-инфекцией, в сравнении с 8% у ВИЧ-негативных женщин [37].

Другие механизмы, влияющие на возможность самостоятельного зачатия, включают потенциальное прямое воздействие ВИЧ на гипоталамо-гипофизарно-яичниковую систему, иммунной дисфункции и АРТ [70].

Воздействие ВИЧ-инфекции на репродуктивную систему проявляется высокой частотой развития дисфункции яичников. При изучении особенностей полового созревания в случаях перинатального инфицирования ВИЧ была показана существенная задержка полового развития, степень которой была более выражена при наличии высокой вирусной нагрузки и

низких показателях CD4+ лимфоцитов, то есть в случаях отсутствия АРТ. В случаях же использования АРТ возраст полового созревания был сопоставим со здоровыми девочками [70]. Такие нарушения менструальной функции как аменорея, олигоменорея и аномальные маточные кровотечения в 3 раза чаще встречаются у женщин с ВИЧ-инфекцией по сравнению с ВИЧ-негативными пациентками той же возрастной группы. Имеются данные о том, что частота аномальных маточных кровотечений у женщин с ВИЧ-положительным статусом достигает 70% [72]. Clark R.A. и соавт. (2001) при изучении уровней гормонов у ВИЧ-инфицированных женщин в возрасте 20-42 лет обнаружили изменения, характерные для ановуляции, которые коррелировали низким количеством CD4+ лимфоцитов в крови [73]. Вторичная аменорея у ВИЧ-инфицированных пациенток может быть обусловлена потерей жировой массы, иммунной дисфункцией, а также использованием внутривенных наркотических веществ [70]. В недавнем мета-анализе (2019) была показана существенная связь между ВИЧ-статусом и аменорей (ОШ 1,68 [1,29–2,20];  $p=0,0001$ ). Авторы показали, что частота встречаемости аменореи у пациенток с ВИЧ-инфекцией не зависела от употребления психоактивных веществ, социально-экономического статуса, а была связана с низким ИМТ [74]. Следует сказать, что нарушения менструального цикла наблюдается реже при нормальных показателях иммунного статуса [40,73]. Существует мнение, что эндокринные нарушения также являются следствием влияния АРВП группы ИП на липидный обмен и резистентность к инсулину, что, в свою очередь, оказывает негативное воздействие на фолликулогенез и процесс овуляции.

ВИЧ-инфекция и иммуносупрессия связаны с более ранним возрастом наступления менопаузы, что может являться еще одним из механизмов развития бесплодия в данной группе больных [6,75]. По некоторым данным у пациенток с ВИЧ-инфекцией менопауза наступает на 4-5 лет раньше, чем у женщин без ВИЧ-инфекции [75]. Распространенность преждевременной менопаузы (до 40 лет) среди ВИЧ-инфицированных женщин составляет от 8



% до 12 % [18]. Yalamanchi и соавт. (2014), напротив, полагают, что существует мало доказательств того, что ВИЧ-инфекция вызывает раннюю менопаузу. Авторы считают, что у пациенток с поздней стадией ВИЧ-инфекции скорее встречается длительная аменорея, а не ранняя менопауза. Свою точку зрения исследователи объясняют тем, что у пациенток с аменореей более 12 месяцев наблюдался уровень ФСГ менее 25 мМЕ/мл [70]. Seifer и соавт. (2007) оценивая маркеры овариального резерва у 187 ВИЧ-инфицированных фертильных женщин, не выявили изменений таких параметров овариального резерва, как уровень АМГ и ингибина В [54]. Напротив, по данным Ohl и соавт. (2010) у пациенток с ВИЧ-инфекцией уровни ФСГ были на 36% выше, а концентрация ингибина В и АМГ на 57% и 23% ниже, чем у женщин с ВИЧ-отрицательным статусом [18]. Эти данные свидетельствуют о том, что наличие ВИЧ – инфекции связано с преждевременной недостаточностью яичников. Более того, имеются данные о том, что значения АМГ на 16% ниже при неопределяемой вирусной нагрузке и на 26% ниже при наличии таковой [76]. В ряде работ показано, что низкое количество CD4+ лимфоцитов, повышение маркеров воспаления, а также употребление опиоидов коррелирует с меньшим уровнем АМГ [77]. Merlini E. и соавт. (2021) полагают, что ВИЧ оказывает сильное и прямое влияние на овариальный резерв, поскольку в своем исследовании при построении модели логистической регрессии ВИЧ-статус был единственным независимым предиктором низкого уровня АМГ. Авторы считают, что связанное с ВИЧ хроническое воспаление и повышенные уровни воспалительных цитокинов, а также окислительный стресс могут оказывать негативное влияние на овариальный резерв. АРТ при этом играет защитную роль в сохранении овариального резерва, возможно за счет восстановления количества CD4+ лимфоцитов и/или подавления репликации вируса [78].

Около трети пациентов с ВИЧ имеют хроническую инфекцию ВГС, что обусловлено общими путями передачи вирусов [79]. Имеются

неподтвержденные данные о том, что гепатит приводит к более быстрому прогрессированию ВИЧ-инфекции и развитию симптомов СПИДа [80]. В связи с чем, большинство исследований посвящены решению именно этих вопросов, а информации о сочетанном влиянии вирусных гепатитов и ВИЧ-инфекции на репродуктивное здоровье пациентов крайне мало. Кроме этого, имеются отдельные работы по оценке течения и исходов беременности при коинфекции ВИЧ/ВГС. Колесникова Л.И. и соавт. (2016) при анализе репродуктивной системы у пациенток с коинфекцией ВИЧ/ВГС по сравнению с моноинфекцией ВИЧ не обнаружили статистически значимых различий по частоте нарушений менструального цикла и бесплодия. Авторы продемонстрировали лишь увеличение числа пациенток с недостаточностью лютеиновой фазы в группе с коинфекцией ВИЧ/ВГС по сравнению с таковым у женщин с моноинфекцией ВИЧ (46 и 78%, соответственно;  $p=0,0354$ ) [80].

Таким образом, ВИЧ-инфекцию у женщины следует рассматривать, как фактор, негативно влияющий на состояние репродуктивной системы. В связи с этим, на раннем этапе оказания помощи женщинам, живущим с ВИЧ, следует учитывать их желание иметь детей. Следует предоставлять исчерпывающую информацию о шансах на наступление беременности, а также проводить более раннюю оценку фертильности и не откладывать использование ВРТ.

### **1.7. Параметры спермограммы у ВИЧ-инфицированных мужчин**

Помимо прямого влияния ВИЧ на фертильность мужчин, обсуждается негативное воздействие АРТ на показатели спермы и способность к зачатию. Имеется точка зрения, что показатели спермы зависят от стадии заболевания ВИЧ и ухудшаются по мере прогрессирования заболевания и развития состояния иммунодефицита. Так, в ряде работ было показано, что у мужчин со стадией СПИДа наблюдалось развитие орхита, гипогонадизма, олигозооспермии или азооспермии. Кроме этого, для ВИЧ-инфицированных мужчин с данной стадией заболевания характерно наличие лейкоспермии и увеличение аномальных форм сперматозоидов [81,82,83]. Согласно другим

данным, у пациентов с ВИЧ-инфекцией независимо от стадии заболевания наблюдается более высокое содержание сперматозоидов с цитоплазматической каплей, незрелых клеток и спермиофагов. Кроме того, отмечена значительная положительная корреляция между числом CD4+ лимфоцитов в крови и подвижностью сперматозоидов, а также существенная обратная корреляция между количеством CD4+ лимфоцитов и аномалиями сперматозоидов [84].

В исследовании Wang и соавт. (2014) было обнаружено, что жизнеспособность сперматозоидов и их подвижность были существенно выше у пациентов с числом CD4+ лимфоцитов более 350 клеток/мкл по сравнению с теми, у кого количество CD4+ лимфоцитов было менее 350 клеток/мкл [85]. Более того, пациенты, получавшие АРТ, не имели существенных различий в параметрах спермы, таких как объем эякулята, подвижность, жизнеспособность сперматозоидов и их морфология [85]. В других работах, напротив, было показано уменьшение объема эякулята, концентрации и общей подвижности сперматозоидов у ВИЧ-инфицированных мужчин, принимающих АРТ [11,12,86]. Авторы полагают, что основной причиной изменения метаболизма сперматозоидов является митохондриальная токсичность АРВП группы НИОТ [11,12,87]. Аналогичной точки зрения придерживаются Brinkman K. и соавт. (1998), Lewis W. и соавт. (1995) [88,89]. Образование активных форм кислорода (АФК) увеличивает перекисное окисление липидов и приводит к повреждению хроматина сперматозоидов и нарушению целостности ДНК сперматозоидов [90], что уменьшает частоту наступления как самостоятельной беременности, так и при проведении программы ЭКО, увеличивает вероятность самопроизвольного выкидыша [91,92,93,94]. Кроме этого, АФК повреждают мембрану сперматозоидов, в результате чего снижается их подвижность и способность оплодотворять яйцеклетку [95,96]. Frapsauce C. и соавт. (2015) полагают, что нарушение подвижности сперматозоидов является результатом дисфункции жгутиков,

сокращения которых зависят от нескольких метаболических механизмов и контролируются множеством факторов регуляции. Энергия, необходимая для биения жгутиков, поступает от гидролиза АТФ, образующегося в результате митохондриального окислительного фосфорилирования и гликолиза [97]. Снижение подвижности сперматозоидов, как результат митохондриальной токсичности НИОТ, обусловлено уменьшением продукции АТФ, которая является фундаментальной молекулой в движении сперматозоидов [97,98].

Кроме нарушения подвижности сперматозоидов, у мужчин с ВИЧ-инфекцией наблюдали повышенную вязкость и снижение объема эякулята, что может быть связано с функциональными изменениями в семенных пузырьках и простате [99], как результат перенесенного воспалительного процесса, колонизации вирусными клетками или действием препаратов АРТ, присутствующих в половых путях [12].

Данные о негативном влиянии препаратов группы ННИОТ, а именно эфаверенза (EFV), были получены в исследовании Frapsauce C. и соавт. (2015). Авторы провели анализ спермограммы ВИЧ-инфицированных мужчин в зависимости от используемых для АРТ препаратов и разделили 378 пациентов на четыре группы: а) в первой группе 66 больных, не получали никакого лечения; б) во вторую группу вошли 49 пациентов, получавших только НИОТ; в) в третьей группе 144 пациента получали НИОТ + ИП и, наконец, г) в четвертой группе 119 пациентов получали ННИОТ + НИОТ. Подвижность сперматозоидов значительно различалась между группами, процентное содержание прогрессивно-подвижных сперматозоидов категории «а» в группе, получавшей схему ННИОТ, было вдвое меньше, чем в других группах. Не было различий в подвижности сперматозоидов между пациентами, не получавшими лечения, и теми, кто получал только НИОТ или НИОТ + ИП. Исследователи обсуждают несколько гипотез неблагоприятного воздействия препаратов ННИОТ на подвижность сперматозоидов. Одна из них основана на высокой скорости накопления EFV в клетках и его высоком сродстве к

связыванию с белками, что может влиять на функции сперматозоидов, нарушая их подвижность [97].

Существует и другая точка зрения относительно эффектов ART на параметры спермы. Так, Drobnis E. и соавт. (2017) считают, что высокая вирусная нагрузка у мужчин с длительным «стажем» ВИЧ-инфекции и наличием клинических проявлений неблагоприятно влияет на показатели спермограммы, а назначение АРВП улучшает качество спермы в данной группе больных [98].

По некоторым данным около четверти мужчин с ВИЧ-инфекцией коинфицированы ВГС [99]. Оценка показателей спермы у мужчин с коинфекцией ВИЧ/ВГС в сравнении с моноинфекцией ВИЧ не выявила статистически значимых отличий [99, 100].

Таким образом, наличие поздних стадий ВИЧ-инфекции или выраженного снижения показателей иммунного статуса следует рассматривать, как факторы, оказывающие неблагоприятное воздействие на фертильность мужчин. Однако данные о влиянии ART на параметры сперматогенеза у ВИЧ-инфицированных пациентов требуют дальнейшего изучения.

## **1.8. Методы вспомогательных репродуктивных технологий в дискордантных парах с ВИЧ-инфекцией у женщины**

Возможность реализовать репродуктивную функцию, в том числе с использованием методов ВРТ, имеет большое медико-социальное значение для женщин, инфицированных ВИЧ. Научные работы по изучению индуцированных циклов, эмбриологических показателей и результативности программы ЭКО в данной группе пациентов немногочисленны, имеют противоречивые результаты. В некоторых исследованиях было показано, что у ВИЧ-инфицированных пациенток используются более высокие дозы гонадотропинов, что, по мнению ряда авторов, является следствием

неблагоприятного воздействия АРТ на рецептивность ткани яичника [7,101,102]. В исследовании Vianna C. и соавт. (2021) было выявлено, что показатели овариального резерва у женщин с ВИЧ-инфекцией были сопоставимы с пациентками без ВИЧ-инфекции, а количество полученных ооцитов, дробящихся эмбрионов и бластоцист отличного качества – существенно ниже. Кроме этого, у женщин, инфицированных ВИЧ, наблюдалась более высокая частота отмены лечебных циклов в связи с отсутствием эмбрионов для переноса [20,21]. В качестве возможной причины обсуждается негативное влияние АРТ и ВИЧ-инфекции на процесс фолликулогенеза [10, 103]. Действительно, АРТ и особенно использование препаратов группы ИП связаны с изменениями липидного обмена и инсулинорезистентности, что может влиять на регуляцию овуляции и фолликулогенез. Инфекция, системные эффекты ВИЧ также могут вызывать эндокринные нарушения, такие как дефицит гормонов [10]. Напротив, Martinet и соавт. (2006) не выявили значимых различий при оценке ответа яичников на гонадотропную стимуляцию между ВИЧ-инфицированными пациентками и здоровыми женщинами. При этом авторы полагают, что необходимы дальнейшие исследования на большей выборке пациенток [19].

Частота наступления клинической беременности в программе ЭКО/ICSI у женщин с положительным тестом на ВИЧ варьирует от 9,1% до 63%, что существенно ниже в сравнении с ВИЧ – серонегативными пациентками [37]. Более того, в исследовании Bourdon M. и соавт. (2021) было показано, что у пациенток с ВИЧ-инфекцией кумулятивная частота живорождений после 4-х циклов ЭКО/ICSI была существенно ниже, чем у женщин с другими гемоконтактными инфекциями, такими как хронические вирусные гепатиты В и С. Полученные данные исследователи связывают с исходно более низкими показателями овариального резерва у ВИЧ-инфицированных пациенток [104]. Vianna A. и соавт. (2021) сравнили параметры овариальной стимуляции и исходы программы ЭКО/ICSI в дискордантных и конкордантных по ВИЧ-

инфекции парах со здоровой контрольной группой. Было показано, что у женщин с ВИЧ-положительным статусом отмечена длительная стимуляция с использованием больших доз индуктора, низкая кумулятивная частота наступления беременности и живорождений. При этом в дискордантных парах с ВИЧ-инфекцией у мужчины данные показатели были сопоставимы с контрольной группой [20]. В проспективном исследовании случай-контроль Coll и соавт. (2006) получены аналогичные данные. Частота клинической беременности в группе женщин с ВИЧ-инфекцией составила 6%, а в контрольной – 30% ( $p=0,02$ ) [25]. Terriou и соавт. (2005) отметили, что общая доза гонадотропина, продолжительность стимуляции и частота отмены циклов у пациенток с ВИЧ-инфекцией были значительно выше, а частота наступления клинической беременности существенно ниже по сравнению с контрольной группой [105]. Stora и соавт. (2016) и Vankerken и соавт. (2017) в исследованиях случай-контроль получили аналогичные результаты [7,20]. Другие исследователи не выявили существенной разницы в частоте наступления беременности у ВИЧ-положительных женщин по сравнению со здоровым контролем [19,106,107].

Причина низкой частоты клинической беременности и живорождений у ВИЧ-инфицированных женщин остается до конца неизученной. Обсуждается роль митохондриальной токсичности препаратов АРТ на качество ооцитов, как результат, снижается их способность к оплодотворению последующей имплантации эмбриона [20]. Косвенным подтверждением этого является более высокая частота наступления беременности при использовании ооцитов донора у пациенток с ВИЧ-инфекцией [7].

Другой причиной низкой эффективности программы ЭКО/ICSI у женщин с положительным тестом на ВИЧ является нарушение рецептивности эндометрия, как следствие воспалительного процесса, обусловленного ВИЧ [108]. Изменение коагуляционных свойств крови, активация моноцитов, а также повышение уровня интерлейкинов приводят к нарушению

взаимодействия между эндометрием и эмбрионом. Результатом этого являются неудачи имплантации [108,109], самопроизвольные выкидыши и задержка внутриутробного развития плода [110]. Kala S. и соавт. (2020) полагают, что процесс децидуализации эндометрия и имплантации эмбриона зависит и от используемых препаратов АРТ. Исследователи показали, что применение препарата лопинавир/ритонавир (группа ИП) препятствует нормальной инвазии трофобласта, ремоделированию спиральных артерии и плацентации, а данные изменения приводят к неблагоприятным исходам беременности у пациенток с ВИЧ-инфекцией [111].

При оценке исходов программ ВРТ важным является число переносимых эмбрионов. Одним из требований при проведении программы ЭКО/ICSI у ВИЧ-инфицированных женщин является перенос одного эмбриона, что снижает риск многоплодной беременности и вероятность вертикальной передачи вируса. Однако известно, что селективный перенос эмбриона снижает частоту клинической беременности и живорождений в общей популяции [112], а также является одной из возможных причин низкой эффективности ВРТ при наличии ВИЧ-инфекции у женщины [30].

### **1.9. Методы вспомогательных репродуктивных технологий в дискордантных парах с ВИЧ-инфекцией у мужчины**

Наиболее важным аспектом при проведении программ ВРТ в дискордантных парах с ВИЧ-инфицированным мужчиной является профилактика заражения женщины и рождение здорового ребенка. В связи с этим, особое внимание в исследованиях, посвященных данной теме, уделяется эффективным способам обработки эякулята и тестированию на РНК ВИЧ.

Известно, что на поверхности сперматозоидов отсутствуют рецепторы CD4, CXCR4 и CCR5, которые необходимы для проникновения ВИЧ в клетку [37]. ВИЧ содержится в сперме инфицированного мужчины в виде: 1) свободных РНК – частиц; 2) CD4+ лимфоцитах и макрофагах, которые



являются основным резервуаром вируса. Вирусные частицы можно обнаружить в сперматозоидах между плазматической мембраной и внешней акросомной мембраной в головке сперматозоида, шейке, а также в митохондриальных областях. Однако эти частицы вируса не имеют нуклеидоподобную структуру, то есть представляют собой нереплицирующие вирионы. В настоящее время отсутствуют данные об интеграции нуклеиновой кислоты ВИЧ в геном сперматозоидов человека [37].

Основной принцип, лежащий в основе методов ВРТ для мужчин, живущих с ВИЧ, заключается в отделении подвижных сперматозоидов от семенной плазмы и других клеток, которые могут содержать вирус. Наиболее часто используемая технология подготовки спермы включает три этапа: градиентное центрифугирование→отмыв средой→флотация (swim up) [6]. На первом этапе получают взвесь сперматозоидов, на втором - освобождают полученные сперматозоиды от семенной плазмы и гиперосмотических градиентов, на третьем - получают фракцию активно подвижных сперматозоидов, очищенных от примеси лейкоцитов, оставшихся на предыдущих этапах. При исходном недостаточном количестве сперматозоидов в эякуляте может быть использована 2-этапная (без swim up) технология их приготовления [12] или модификация Anderson D.J. et al. [113] с применением прерывистого градиента, формируемого внутри пробирки (двойной пробирочный градиент). При наличии азооспермии, когда сперматозоиды приходится получать путем их аспирации из эпидидимиса (MESA) или экстракции из яичка (TESE), методы их приготовления на основе градиентного центрифугирования и «swim up» непригодны в связи с малым количеством выделяемых мужских гамет. В таких ситуациях их следует отмывать с применением микроманипулятора, перемещая каждый сперматозоид не менее 4 раз из капли в каплю стерильной отмывочной среды, содержащей 8% поливинилпирролидона [114]. Использование указанной технологии расширяет возможности по оказанию помощи ВИЧ-

инфицированным мужчинам, поскольку она позволяет достаточно надежно отмывать сперму даже при получении единичных сперматозоидов, что актуально для пациентов с крайне тяжелыми формами мужского бесплодия.

Вместе с тем, большинство исследователей считают, что невозможно гарантировать полное отсутствие вирусных частиц в обработанной сперме. Так, частота выявления РНК ВИЧ методом ПЦР, по разным данным, колеблется от 4 до 10 % при двухградиентном (классическом) методе, и составляет 1,86 % при трехградиентном способе обработки спермы [115]. Persico и соавт. (2016) после обработки спермы в градиенте плотности (90%-47%) и «swim up» выявили РНК ВИЧ-1 в 2% образцов после градиента плотности и не обнаружили после процедуры «swim up» [116]. Кроме этого, имеются исследования, в которых после аналогичной обработки эякулята РНК ВИЧ обнаруживали в семенной плазме и не выявляли во фракции сперматозоидов [37]. Вместе с тем, анализ 11 585 циклов ВРТ у 3994 пар с ВИЧ-инфицированным партнером не выявил случаев передачи ВИЧ-инфекции здоровой женщине (0/11 585, 95% ДИ = 0-0,0001) [117]. В литературе также отсутствуют сведения о случаях диагональной передачи вируса в парах с ВИЧ-инфекцией у мужчины [37]. Возможно, именно, в связи с этим, тестирование обработанного эякулята на РНК ВИЧ в настоящее время не является обязательным [37].

Важным является вопрос о том, возможна ли интеграция ВИЧ в ооцит при проведении оплодотворения методом ICSI? Теоретически такой риск существует. В экспериментальном исследовании Steenvoorden M. и соавт. (2012) было показано, что 11% ооцитов человека оказались инфицированы после инъекции чрезвычайно большого количества (40 000) копий ВИЧ-1. На модели кошек при введении аналогичных доз вируса 16 – 49% ооцитов были инфицированы, а при инъекции промежуточной (400 копий) и низкой дозе (40 копий) были заражены 2 – 7% и 0,6 – 1,8% ооцитов соответственно. На

основании этих данных было рассчитано, что шансы на интеграцию вируса при оплодотворении методом ICSI составят 0,00002% [118].

Представленные в литературе данные об эффективности программы ЭКО/ICSI в дискордантных парах с наличием ВИЧ-инфекции у мужчины весьма неоднозначны. Частота наступления беременности в циклах ВРТ варьирует от 22 % до 53,6 % [26]. Kashima К. и соавт. (2009) наблюдали более высокие показатели частоты наступления беременности и имплантации в дискордантных парах с ВИЧ-инфекцией у мужчины [119], а Melo М. и соавт. (2008), Р. Vankerken и соавт. (2017) обнаружили сопоставимую эффективность программы ЭКО/ICSI у ВИЧ-инфицированных пациентов, несмотря на более низкий уровень фертильности в основной группе исследования [21,27]. Prisant и соавт. (2010), напротив, показали более низкую, но статистически незначимую разницу в частоте наступления клинической беременности (10,8% и 22,2%) и живорождений между дискордантными парами с ВИЧ-инфекцией у мужчины и контрольной группой [107]. В случаях коинфекции ВИЧ/ВГС по сравнению с моноинфекцией ВИЧ характеристики эмбрионов и результативность программы ЭКО также были сопоставимы между группами [99].

В одном из исследований, при анализе исходов циклов ВРТ были полученные неожиданные результаты, а именно, частота наступления беременности была выше при более низких показателях CD4+ лимфоцитов в крови. Авторы объяснили это тем, что программа ЭКО у мужчин с более поздней стадией заболевания проводилась для снижения риска инфицирования женщины, тогда как у пациентов с менее поздней стадией ВИЧ-инфекции – в связи с имеющимся в паре бесплодием [66].

Таким образом, исходы циклов ВРТ в парах с ВИЧ-инфекцией у мужчины скорее всего определяются причиной бесплодия и возрастом женщин, а не наличием ВИЧ и/или использованием АРТ.

### **1.10. Методы вспомогательных репродуктивных технологий в конкордантных по ВИЧ-инфекции парах**

ВРТ в конкордантных по ВИЧ-инфекции парах изучены мало. В исследовании Vianna A. и соавт. (2021) показано, что результаты циклов ВРТ в конкордантных парах были аналогичны таковым в дискордантных парах с ВИЧ-инфекцией у женщины. Так, в основной группе стартовая и суммарная доза гонадотропинов, длительность стимуляции были существенно выше, а число полученных ооцитов и частота оплодотворения были существенно ниже, чем в группе женщин без ВИЧ-инфекции. Однако, несмотря на это, значимых отличий в частоте наступления беременности и живорождений выявлено не было, что авторы связывают с небольшой выборкой пациентов. [20]. Vankerkem P. и соавт. также не обнаружили статистически значимой разницы в исходах циклов ВРТ в конкордантных парах по сравнению с ВИЧ-отрицательными парами. При этом в группе с ВИЧ-инфекцией у обоих партнеров частота прогрессирующей беременности была в 3 раза ниже по сравнению со здоровыми парами, а кумулятивная частота живорождений и ранних репродуктивных потерь составляют 6% и 44% соответственно [21]. В работе Santulli и соавт. (2011) напротив показано, что в конкордантных парах в сравнении со здоровым контролем наблюдалась более высокая частота отмены циклов и низкая частота клинической беременности [120]. Одним из объяснений низкой эффективности программ ВРТ является тот факт, что, хотя бы у одного из партнеров, но были ранее диагностированы такие заболевания, как Саркома Капоши, туберкулез или регистрировали существенное снижение количества CD4+ лимфоцитов (менее 350 клеток/мкл). Таким образом, у данных пациентов имело место более тяжелое течение ВИЧ-инфекции, что значительно снижало фертильность супружеской пары. Еще одной возможной причиной снижения частоты наступления беременности при проведении ВРТ в конкордантных парах может быть то, что ЭКО в таких парах проводится в

связи с реальным бесплодием, в отличие от пар, где ВИЧ-инфицирован один партнер, а ЭКО используют с целью профилактики заражения ВИЧ.

Вопрос относительно необходимости определения РНК ВИЧ в сперме в конкордантных парах остается открытым. Возможно, в этом и есть необходимость для профилактики развития суперинфекции в случаях инфицирования партнеров разными штаммами вирусов. Однако исследований, посвященных данной теме в доступной научной литературе, мы не нашли.

Таким образом, наличие ВИЧ-инфекции у обоих партнеров ухудшает прогноз для наступления беременности при использовании ВРТ. Можно предположить, что в конкордантных парах наиболее неблагоприятным фактором в отношении исходов ВРТ является именно серопозитивность женщины, а не тот факт, что инфицированы оба партнера.

### **1.11. Морфологические характеристики ооцитов**

Ключевым фактором успеха в циклах ВРТ является функциональная и морфологическая зрелость гамет, при этом качество ооцита играет более важную роль, чем характеристики сперматозоида [121,122]. Косвенным подтверждением этому являются донорские программы, когда ооциты от одного донора оплодотворялись спермой разных мужчин. Salumets A. и соавт. (2002) продемонстрировали, что фрагментация и однородность бластомеров эмбриона коррелирует с качеством ооцита, а не сперматозоида [123]. Именно в ооците происходят ядерные, цитоплазматические и функциональные перестройки, а также обеспечивается агрегация генетического материала спермы и образование зиготы [124]. Таким образом, оценка качества ооцита – одна из ключевых задач эмбриологии, позволяющая произвести в последующем селекцию лучших эмбрионов с максимальным потенциалом к имплантации. Основным способом определения качества ооцитов является их морфологическая оценка и визуализация различных экстра- и

цитоплазматических аномалий строения. Этот метод является простым, доступным, хотя и субъективным.

Компетентность ооцитов, их способность к оплодотворению и дальнейшее раннее развитие эмбриона определяется синхронностью созревания ядра и цитоплазмы. Нарушение или асинхронность данного процесса может приводить к появлению тех или иных морфологических аномалий строения, частота встречаемости которых при проведении ОС достигает 60-70% [125]. В исследовании Rienzi L. et al (2008) при анализе когорты ооцитов, полученных в 516 циклах ОС было показано, что у 93% пациенток был хотя бы один дисморфный ооцит [126]. В настоящее время нет единого мнения относительно влияния морфологии ооцитов на исход лечения бесплодия методами ВРТ.

Ооцит с нормальными морфологическими характеристиками имеет сферической формы структуру, окруженную однородной прозрачной зоной, с гомогенной и полупрозрачной цитоплазмой без включений, и с полярным тельцем [127]. Принято различать цитоплазматические и экстрацитоплазматические морфологические аномалии яйцеклеток, называемые дисморфизмами.

К цитоплазматическим дисморфизмам относятся повышение гранулярности цитоплазмы, появление вакуолей, скопление аномальных агрегатов гладкого эндоплазматического ретикулума (ГЭР), а также темная цитоплазма и наличие в ней различных включений. Ряд исследователей считают, что появление цитоплазматических аномалий строения свидетельствует о незрелости ооцитов, а эмбрионы, полученные из таких клеток, обладают меньшим потенциалом к имплантации и дальнейшему развитию [126,128].

Среди цитоплазматических дисморфизмов ооцитов наиболее тяжелым морфологическим нарушением считается скопление аномальных агрегатов

ГЭР, поскольку данную аномалию связывают с ранней гибелью плода, а у новорожденных – с врожденными дефектами и некоторыми нарушениями импринтинга [127]. Агрегаты ГЭР появляются в цитоплазме ооцитов в виде плоских дисков, соответствующих большим трубчатым кластерам ГЭР, окруженным митохондриями. Ключевой задачей ГЭР является хранение и высвобождение кальция, который необходим для активации ооцита при оплодотворении. Более того, комплексы ГЭР в ассоциации с митохондриями играют решающую роль в накоплении энергии, производстве белков и липидов и синтезе ядерных мембран на протяжении раннего развития эмбриона [129]. В недавнем систематическом обзоре Bartolacci и соавт. (2022) были представлены результаты исследований, в которых показано, что при визуализации в цитоплазме ооцитов агрегатов ГЭР наблюдается низкая частота оплодотворения и плохое качество эмбрионов [130].

Вакуоли представляют собой цитоплазматические включения, заполненные жидкостью. Предполагается, что вакуоли возникают или как самостоятельные образования, либо являются результатом слияния ранее существовавших везикул, происходящих из ГЭР и/или аппарата Гольджи [130]. Ebner T. и соавт. (2005) обнаружили значительную корреляцию между диаметром вакуоли и оплодотворением. Авторы показали, что при диаметре вакуолей > 14 мкм оплодотворение ооцитов не происходит [131]. В других исследованиях, напротив, наличие вакуолей было связано с нарушением развития эмбрионов и формированием бластоцист [132,133]. Кроме этого, цитоплазматические вакуоли ухудшают выживаемость замороженных ооцитов и развитие компетентных эмбрионов, что, по мнению Rienzi и соавт. (2011), обуславливает низкую частоту клинической беременности и более высокие показатели биохимической беременности [126].

Цитоплазма нормальных ооцитов имеет равномерную мелкую грануляцию за счет присутствия агрегатов различных органелл клетки, а наличие плотной непрозрачной зернистости в центре считается аномальной

[134] и может быть обусловлено возрастом пациентки и стимуляцией гонадотропинами [135]. Данные научных исследований относительно влияния центральной грануляцией цитоплазмы на эмбриологические показатели и исходы программы ЭКО противоречивы. Так, в работах Rienzi L. и соавт (2008), и Ebner T. и соавт (2008) было показано, что ооциты с центральной грануляцией связаны с нарушением морфологии пронуклеусов и снижением качества эмбрионов [126, 136]. Wilding M. и соавт. (2007), напротив, отметили, что ооциты с центрально расположенными грануляциями имели сопоставимую с контрольной группой способность к оплодотворению и развитию эмбрионов *in vitro* [137]. Вместе с тем, в недавнем систематическом обзоре (2022) агрегаты ГЭР, вакуоли и центральная грануляция отнесены к тяжелым дисморфизмам, наличие которых влияет на оплодотворение ооцитов и развитие эмбрионов [125].

Изменение цвета ооплазмы редко наблюдается изолированно от других морфологических аномалий, чаще в сочетании с наличием грануляций, зернистости. В одних исследованиях потемнение цитоплазмы ассоциировано со снижением качества получаемых эмбрионов [138,139], в других – не влияет на эмбриологические показатели и исходы программы ЭКО [140].

К экстрацитоплазматическим дисморфизмам относят изменение ширины и наличие гранулярности в перивителлиновом пространстве, изменение формы или толщины блестящей оболочки, а также аномалии строения 1 – го полярного тельца. Существует мнение, что наличие включений в перивителлиновом пространстве считается аномалией, значение которой для репродуктивных исходов остается неясным, а большие размеры первого полярного тельца ассоциированы с высоким риском анеуплоидий [141]. Тем не менее, экспертами Стамбульского консенсуса по оценке ооцитов и эмбрионов было показано, что экстрацитоплазматические дисморфизмы представляют собой всего лишь фенотипические отклонения (вариации), а некоторые из них являются индикаторами старения ооцитов [127].



Причиной возникновения различных видов дисморфизмов ооцитов являются возраст женщины, состояние овариального резерва и генетические отклонения, например, полиморфизмы гормональных рецепторов. Кроме этого, к их появлению предрасполагают курение и употребление алкоголя, метаболические нарушения и некоторые гинекологические заболевания, например, эндометриоз и синдром поликистозных яичников [128,141, 42,143], а также длительная овариальная стимуляция и большие дозы гонадотропинов [127, 144, 145,146].

### **1.12. Роль митохондрий в обеспечении компетентности ооцитов и сперматозоидов**

Митохондрии — единственные органеллы животных клеток, за исключением ядра, обладающие собственной генетической информацией - мтДНК, которая представляет собой двухцепочечную кольцевую молекулу и кодирует 13 основных субъединиц комплексов дыхательной цепи, 22 тРНК и две рРНК, составляющие часть митохондриального механизма трансляции [147]. Митохондрии являются источником производства энергии для клеток и контролируют внутриклеточный гомеостаз  $Ca^{2+}$  [147,148], а также играют ключевую роль во многих других функциях клеток, включая регуляцию гибели и сигнальных путей, метаболизм железа и биосинтез некоторых органических соединений [149,150,151]. Правильное функционирование митохондрий имеет важное значение для созревания яйцеклетки и приобретения компетентности. Известно, что во время фолликулогенеза ооцит претерпевает серьезные структурные и биохимические преобразования и должен завершить два мейотических деления. Закономерно, что вместе с этим энергозатратным процессом изменяются количество и качество митохондрий, а также характер их распределения в ооците [152], а при уменьшении количества цитоплазматических митохондрий, снижается способность яйцеклетки к оплодотворению сперматозоидом [153].

МтДНК гамет по сравнению с ядерной ДНК обладает уникальной особенностью, а именно мультикопийностью с широким диапазоном от нескольких копий в клетках спермы [154] до нескольких тысяч копий в зрелых ооцитах [155]. Другими словами, разные типы клеток имеют неодинаковое количество копий мтДНК в зависимости от их потребности в АТФ, вырабатываемой путем окислительного фосфорилирования. Во время оогенеза ооцит устанавливает количество копий мтДНК достаточное для поддержки последующих этапов развития. Вместе с тем, единые нормативы копийности мтДНК в ооцитах человека отсутствуют. Так, первичные половые клетки содержат около 200 копий мтДНК, тогда как в зрелом ооците насчитывают около 400 000 копий [156,157]. Содержание копий мтДНК влияет на способность ооцита к развитию, причем более низкое количество мтДНК и/или ухудшение функции митохондрий ассоциировано с более старшим репродуктивным возрастом, преждевременной недостаточностью яичников, снижением оплодотворения и нарушением развития эмбриона [158, 159]. Хотя механизм старения митохондрий остается до конца неясным, некоторые исследователи отмечают уменьшение количества копий мтДНК и увеличение частоты мутаций или делеций мтДНК, обусловленных старением [160,161,162], которые со временем могут снизить качество ооцитов [159]. Данные изменения в дальнейшем приводят к митохондриальной дисфункции (снижению цитоплазматической продукции АТФ и потенциала митохондриальной мембраны, повышению содержания активного кислорода) [163], а в связи с недостаточным обеспечением энергии для митоза [164,165] – ухудшению качества эмбрионов и снижению фертильности [166].

В исследовании May-Panloup P. и соавт. (2005) при снижении овариального резерва наблюдалось более низкое, чем у женщин с нормальным количеством антральных фолликулов и уровнем АМГ (100 000 ± 99 000 и 318 000 ± 184 000 копий соответственно), содержание мтДНК в ооцитах [161]. Существует взаимосвязь между числом копий мтДНК, продукцией АТФ митохондриями и качеством ооцитов, а также потенциалом развития

эмбрионов. Reynier P. и соавт. (2001) обнаружили значительное снижение содержания мтДНК в ооцитах пациенток с повторными неудачами программы ЭКО. Авторы предположили, что нарушение биогенеза митохондрий в сочетании с их недостаточным количеством способны привести к дефектному созреванию ооцитов и, следовательно, к ухудшению эмбриологических показателей и неудачам ВРТ [24].

В литературе имеется два исследования, посвященных изучению мтДНК в ооцитах ВИЧ-инфицированных женщин, принимающих АРТ. В работе Lopez и соавт. (2008) наблюдалось значительное (на 32%,  $p < 0,05$ ) истощение мтДНК у пациенток с бесплодием и ВИЧ-инфекцией. Значимой корреляции, при этом, между уровнем мтДНК ооцитов и кумулятивной дозой препаратов АРТ или иммунологическим статусом выявлено не было [23]. Vostan A. и соавт. (2010) продемонстрировали, что использование ставудина приводит к истощению мтДНК в ооцитах мыши [167].

Роль сперматозоидов заключается в оплодотворении яйцеклетки и передаче отцовского генома потомству. Зрелые сперматозоиды состоят из головки с ядром, шейки и жгутика, который обеспечивает подвижность и в средней части содержит митохондриальную спираль.

Митохондрии играют ключевую роль не только в производстве клеточной энергии, но они также выполняют различные другие функции, такие как окислительно-восстановительные процессы, сигнальные пути и апоптоз. Хотя митохондрии признаны важными для сперматозоидов, их точная патофизиологическая роль и их функционирование сложны. В связи с чем, имеющаяся литература по митохондриям в сперматозоидах многочисленна и в некоторых случаях противоречива. Кроме того, митохондрии лишь косвенно участвуют в цитоплазматической наследственности, поскольку их ДНК, отцовская митохондриальная ДНК, не передается потомкам [168]. Известно, что зрелый сперматозоид человека содержит приблизительно 50–80 митохондрий, в каждой из которых содержится одна копия мтДНК [168,169].

Сравнительные исследования показали, что структура средней части жгутика сперматозоида влияет на его подвижность и метаболизм. В частности, объемы митохондрий коррелируют с продукцией АТФ и скоростью сперматозоидов [168,170]. У человека аномалии сперматозоидов, в том числе более короткие средние части с меньшим количеством митохондриальных изгибов, аномальная сборка митохондрий или структурные дефекты митохондриальных мембран могут быть ассоциированы с астенозооспермией, а частота оплодотворения – с долей сперматозоидов, имеющих нормальную функцию и структуру митохондрий [168].

Следует отметить, что сперматозоиды – это клетки организма с наименьшим количеством мтДНК. В ранних исследованиях было выявлено, содержание мтДНК составляет несколько сотен [168,171], позднее с использованием количественной оценки методом ПЦР был обнаружен еще более низкий показатель — около десяти копий на сперматозоид [157,172]. Относительное содержание мтДНК значительно снижается в сперме мужчин с олиго- и астенозооспермией [173,174,175]. В других работах, напротив, показано, что большое количество копий мтДНК сперматозоидов связано с плохим качеством спермы. Так, Darr С. и соавт. (2017), Guo Н. и соавт. (2017) выявили, что повышенный уровень мтДНК был связан с ухудшением качества спермы у различных видов животных [176,177]. Более того, в исследованиях на мышцах было продемонстрировано, что трехкратное снижение количества копий мтДНК в сперме не нарушает их фертильность [155]. В работе Wu и соавт. (2019) высокий уровень мтДНК в сперматозоидах мужчин был связан с более низкими показателями оплодотворения [178], а также со снижением вероятности наступления спонтанной беременности [179]. Патофизиологию противоречий в результатах представленных исследований объясняют тем, что высокий уровень мтДНК в аномальных сперматозоидах может быть связан с подавлением экспрессии транскрипторного фактора TFAM, которое происходит в процессе сперматогенеза. С другой стороны, нарушение подвижности сперматозоидов, связанное с недостатком энергии, может

способствовать компенсаторному митохондриальному биогенезу и увеличению мтДНК за счет повышенной экспрессии TFAM [168].

Исследования мтДНК у ВИЧ-инфицированных мужчин, принимающих АРТ, немногочисленны и также противоречивы. Так, в работе Pavili L. и соавт. (2010) содержание копий мтДНК на клетку различалось в зависимости от количества используемых в схеме лечения препаратов группы НИОТ. Количество копий значительно снижалось, когда пациенты принимали три токсичных НИОТ по сравнению с одним или двумя ( $3,18 \pm 2,13$  против  $7,64 \pm 8,13$  и  $7,02 \pm 5,10$  соответственно,  $p=0,03$ ). Кроме этого, значимой корреляции между уровнями мтДНК в сперматозоидах и количеством CD4+ лимфоцитов или вирусной нагрузкой в крови выявлено не было. Однако отрицательная корреляционная взаимосвязь ( $r = -0,31$ ) между количеством копий мтДНК и общей продолжительностью лечения только приблизилась к уровню значимости ( $p = 0,07$ ) [180]. La Sala и соавт. (2007), напротив, показали увеличение содержания мтДНК в сперматозоидах у больных ВИЧ на фоне АРТ [181].

Таким образом, нормальное содержание и функционирование митохондрий обеспечивает компетентность ооцитов и сперматозоидов, а также потенциал эмбрионов к имплантации и дальнейшему развитию.

### **1.12.1 Митохондриальная ДНК кумулюсных клеток**

Ооцит становится компетентным, когда завершает мейоз (от профазы I до метафазы II) и становится способным к оплодотворению и развитию жизнеспособного эмбриона [182]. Ключевую роль в этом процессе играют кумулюсные клетки, которые помимо того, что защищают ооцит от микроокружения, обеспечивают его метаболические потребности во время заключительной фазы роста, а также имеют значение для регуляции остановки и возобновления мейоза [159].

Были проведены многочисленные исследования с целью оценки целесообразности анализа мтДНК кумулюсных клеток для определения

компетентности ооцитов. Однако результаты оказались противоречивыми. Так, в ряде работ была продемонстрирована значимая взаимосвязь между митохондриальным статусом кумулюсных клеток и компетентностью ооцитов [183,184,185,186]. Авторы этих работ полагают, что митохондриальная дисфункция ооцитов приводит к снижению качества эмбрионов и их способности к имплантации, а содержание мтДНК в кумулюсных клетках является предиктором качества эмбрионов. В ретроспективном исследовании Li и соавт. (2022) проведена оценка митохондриальной функции кумулюсных клеток у пациенток старше 38 лет по сравнению с женщинами более молодого возраста. Было показано, что у женщин позднего репродуктивного возраста наблюдается снижение количества морфологически нормальных митохондрий и копийности мтДНК в кумулюсных клетках ооцитов [183]. В когортном исследовании Rahmawati и соавт. (2022) была продемонстрирована существенная зависимость числа копий мтДНК и ранней стадией развития эмбрионов, а взаимосвязи с хромосомным статусом выявлено не было [187].

Martínez-Moro A. и соавт. (2022), напротив, представили данные о том, что содержание мтДНК в кумулюсных клетках человека не различалось в зависимости от качества ооцитов. Более того, отсутствовала корреляция содержания мтДНК в ооцитах и соответствующих им кумулюсных клетках. Полученные данные исследователи подтвердили в экспериментах на модели крупного рогатого скота. Авторы сделали вывод, что копийность мтДНК в кумулюсных клетках не является предиктором качества эмбриона и его способности к имплантации [188]. Liu W. и соавт. придерживаются аналогичной точки зрения. В своем исследовании авторы показали, что не было существенной разницы в содержании мтДНК в кумулюсных клетках между эмбрионами, которые имплантировались и теми, которые не имплантировались, а также между эмбрионами высокого и низкого качества. Кроме этого, потенциал митохондриальной мембраны, уровни АФК и содержание АТФ в соответствующих клетках кумулюса существенно не

отличались между группами эмбрионов высокого и низкого качества. Авторы предположили, что любая предполагаемая взаимосвязь между содержанием мтДНК в клетках кумулюса и имплантацией эмбриона требует дальнейшей проверки [189].

Хіе J. и соавт. (2016) опубликовали результаты экспериментального исследования, в котором было показано, что у мышей повторные циклы овариальной стимуляции приводят к уменьшению содержания мтДНК в кумулюсных клетках ооцитов. Авторы полагают, что повторная стимуляция овуляции неблагоприятно влияет на функцию митохондрий в кумулюсных клетках, что может снижать качество ооцитов и полученных эмбрионов [190].

Исследования по изучению копийности мтДНК в клетках кумулюса направлены в основном на оценку их содержания в зависимости от возраста женщин и состояния овариального резерва. В доступной литературе мы обнаружили только одно исследование Hsu A. и соавт. (2015), в котором авторы изучали митохондриальную дисфункцию кумулюсных клеток при эндометриозе. Результаты данной работы показали, что эндометриоз может быть ассоциирован со снижением митохондриальной функции в клетках кумулюса, что отражается в снижении продукции АТФ при неизменном соотношении молекул мтДНК на клетку. Авторы отмечают, что количество мтДНК кумулюсных клеток значимо не коррелировало с возрастом женщины, ИМТ или базальным уровнем ФСГ [191].

### **1.13. Митохондриальная токсичность антиретровирусных препаратов**

АРВП, особенно «старой» генерации обладают токсичностью и рядом побочных эффектов, одним из которых является липодистрофический синдром. Основным механизмом в патогенезе метаболических нарушений и патологического перераспределения жировой клетчатки является токсическое действие препаратов группы НИОТ на митохондрии [192]. Известно, что препараты группы НИОТ, которые используются в схемах АРТ, ингибируя активность обратной транскриптазы ВИЧ, нарушают процесс репликации

вируса. Однако данная группа препаратов также способна подавлять гамма-полимеразу человека, которая необходима для репликации митохондриальной ДНК (мтДНК), что приводит к снижению содержания мтДНК и возникновению мутации [193,194,195,196,197]. МтДНК кодирует субъединицы ферментов дыхательной цепи, которые располагаются на внутренней мембране митохондрий. Таким образом, снижая концентрацию мтДНК, препараты группы НИОТ приводят к нарушению функции дыхательной цепи, нормальное функционирование которой является обязательным условием многих метаболических процессов [48,197]. Следует отметить, что токсическое повреждение митохондрий развивается медленно и напрямую зависит от концентрации токсического вещества. В связи с тем, что митохондриальная токсичность развивается при длительном применении НИОТ, в первые месяцы приема АРТ симптомы повреждения митохондрий обычно не появляются. Снижение уровня мтДНК клинически может проявляться поражением одного или нескольких органов-мишеней. Известны следующие клинические проявления токсического повреждения митохондрий при использовании АРТ: жировая дистрофия печени; печеночная недостаточность и лактоацидоз; гиперлактатемия; миопатия; полинейропатия; липодистрофия; снижение пролиферации лимфоцитов, чаще на фоне иммуносупрессии; отчасти синдром Фанкони и другие нарушения функции почек; остеомалация [48,197,198,199,200,201]. Важно отметить, что препараты группы НИОТ существенно отличаются друг от друга по выраженности токсического действия на митохондрии, а современные лекарственные средства данной группы, рекомендуемые в качестве первой линии терапии, обладают минимальной митохондриальной токсичностью. По степени влияния на уровень мтДНК препараты из группы НИОТ можно расположить в следующем порядке: ставудин> диданозин> зидовудин> фосфазид> абакавир> тенофовир> алафенамид > ламивудин/эмтрицитабин. Кроме этого, митохондриальная токсичность препаратов группы НИОТ тканеспецифична. Это объясняется тем, что захват неактивной формы НИОТ клетками и их



митохондриями, а также переход препарата в активную форму в разных типах клеток различается.

Ооциты и сперматозоиды, так же, как и многие соматические клетки, чувствительны к неблагоприятному воздействию АРТ за счет митохондриальной токсичности препаратов. Известно, что количество мтДНК в ооцитах варьирует от  $10^4$  и  $10^7$  копий на клетку, отличается между яйцеклетками, полученными из одной когорты [24,202,203], и увеличивается по мере созревания ооцита примерно в 50 раз [203,204]. Существует взаимосвязь между числом копий мтДНК, продукцией аденозинтрифосфата и качеством ооцита, то есть его способностью к оплодотворению и дальнейшему развитию раннего эмбриона. В исследовании Bromer J.G. и соавт. (2008) показано, что ооциты с более высокой концентрацией АТФ обладают большей способностью к успешному эмбриогенезу и имплантации, в то время как ооциты с низким числом копий мтДНК, имеют более низкую частоту оплодотворения [205]. В ооцитах ВИЧ-инфицированных женщин с бесплодием, принимающих комбинированную АРТ, в 32% случаев наблюдается истощение мтДНК в ооцитах [23], которое еще более выражено у пациенток с отрицательным исходом программы ЭКО/ICSI. Аналогичные результаты были получены Vostan A. и соавт. (2010) в экспериментах на животных. Авторы отметили, что препарат ставудин из группы НИОТ индуцирует деплецию мтДНК в ооцитах мышей, что нарушает их способность к оплодотворению и влияет на жизнеспособность эмбрионов [167]. Подтверждением того, что АРТ оказывает негативный эффект на компетентность яйцеклеток, является более высокая результативность циклов ЭКО с использованием у пациенток с ВИЧ-инфекцией донорских ооцитов [7].

Главным источником энергии для осуществления двигательной активности в сперматозоидах человека и млекопитающих также являются митохондрии. Зрелый сперматозоид человека содержит около 50–75 митохондрий, в каждой из которых содержится одна копия мтДНК [169].

Проникновение в сперматозоиды препаратов группы НИОТ, могут обуславливать митохондриальную токсичность сперматозоидов, что, в свою очередь, приводит к снижению их подвижности.

Другой проблемой митохондриальной токсичности НИОТ является теория преждевременного старения за счет возникновения тех соматических мутации мтДНК, которые обычно накапливаются в отдельных клетках во время нормального старения человека [193]. Это важный аспект митохондриальной токсичности препаратов данной группы, особенно в контексте изучаемой проблемы репродуктивного здоровья пациентов с ВИЧ-инфекцией.

Таким образом, увеличение числа пациентов репродуктивного возраста, инфицированных ВИЧ, которые в связи с бесплодием и/или необходимостью профилактики заражения здорового партнера обращаются для проведения программы ЭКО, определяет необходимость изучения данной группы больных. Многими исследователями подтверждено неблагоприятное влияние ВИЧ и состояния иммунодефицита, а также антиретровирусной терапии на репродуктивное здоровье пациентов с ВИЧ-инфекцией. Тем не менее, многие вопросы остаются дискуссионными и не до конца решенными. Требуется уточнения воздействия АРТ на параметры овариального резерва и показатели спермограммы в зависимости от митохондриальной токсичности АРВП и длительности их использования. Недостаточно изучены морфологические характеристики ооцитов, содержание мтДНК в кумулюсных клетках ооцитов и сперматозоидах у пациентов с ВИЧ-инфекцией. Остается неясным оказывает ли коинфекция ВИЧ/ВГС дополнительное негативное влияние на состояние овариального резерва и параметры спермограммы. Требуется изучения эффективности и безопасности методов ВРТ в дискордантных и конкордантных по ВИЧ-инфекции парах. Решение этих вопросов послужило основанием для проведения настоящего исследования.

## Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Материал исследования

Настоящая работа была выполнена на базе Института репродуктивной медицины ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России, где в период с 2016 по 2022 гг. было обследовано 832 супружеские пары, из них 320 дискордантных пар с ВИЧ-положительным статусом одного из партнеров, 59 конкордантных (оба партнера ВИЧ-инфицированы) и 453 пары без ВИЧ-инфекции.

На первом этапе работы проведен анализ социально-демографических характеристик, путей инфицирования и клинико-лабораторных данных у 436 пациентов с ВИЧ-инфекцией (рис.1).



**Рисунок 1.** Дизайн исследования (этап 1)

Далее пары были разделены в зависимости от ВИЧ-статуса партнера. В 155 дискордантных парах с ВИЧ-инфекцией у женщины, 166 с ВИЧ у мужчины и в 59 конкордантных парах проведено 508 «свежих» и 367 криоциклов, в контроле 706 и 416 циклов соответственно. Помимо общепринятых эмбриологических показателей была выполнена оценка морфологических характеристик ооцитов и анализ копийности мтДНК в клетках кумулюса и в

сперматозоидах (рис.2).



**Рисунок 2.** Дизайн исследования (этап 2)

У всех пациенток отсутствовали противопоказания для стимуляции овуляции в программе ЭКО и переноса эмбрионов (ПЭ), а также для наступления и вынашивания беременности. Информированное согласие на участие в исследовании было получено у всех пациенток.

Для реализации цели исследования были поставлены следующие задачи:

**Задача 1** – Изучить социально-демографические характеристики и пути инфицирования ВИЧ у пациентов, обратившихся для проведения ВРТ.

Для решения данной задачи проведено анкетирование 436 пациентов с ВИЧ-положительным статусом (анкета см. приложение 1).

**Задача 2** – Провести оценку клинико-анамнестических данных (длительность заболевания, продолжительность АРТ, принимаемые АРВП) и лабораторных параметров (иммунный статус, вирусная нагрузка) у пациентов с ВИЧ-положительным статусом, обратившихся для проведения ВРТ.

Для решения данной задачи включены 214 женщин и 222 мужчины, инфицированных ВИЧ.

Конечные точки: медиана длительности заболевания, продолжительности АРТ, показателей иммунного статуса. Частота использования антиретровирусных препаратов с незначительной и высокой митохондриальной токсичностью.

**Задача 3** – Оценить состояние репродуктивной системы и параметров овариального резерва у пациенток с ВИЧ – инфекцией, принимающих АРТ.

Для решения данной задачи включены 214 пациенток с ВИЧ-инфекцией (основная группа) и 218 женщин без ВИЧ-инфекции (контрольная группа).

Конечные точки: медиана концентрации АМГ, ФСГ, числа антральных фолликулов; коэффициент корреляции с длительностью заболевания ВИЧ, продолжительностью АРТ, показателями иммунного статуса.

**Задача 4** – Оценить показатели спермограммы у мужчин с ВИЧ – инфекцией, принимающих и не принимающих АРТ.

Для решения данной задачи проведена оценка 566 спермограмм ВИЧ-инфицированных мужчин, принимающих АРТ, 38 спермограмм пациентов с ВИЧ-инфекцией, не принимающих АРТ и 595 спермограмм мужчин с ВИЧ-отрицательным статусом, имеющих подтвержденную фертильность.

Конечные точки: медиана показателей спермограммы; корреляция данных показателей с длительностью заболевания, продолжительностью АРТ, показателями иммунного статуса.

**Задача 5** – Провести программу ЭКО и оценить параметры овариальной стимуляции, эмбриологические показатели и эффективность у пациентов с ВИЧ – инфекцией.

Для решения данной задачи включены:

- 155 дискордантных пар с ВИЧ-инфекцией у женщины (основная группа), которым проведено 182 «свежих» и 162 криопротокола. Контрольная группа - 218 супружеских пар с ВИЧ-отрицательным статусом обоих партнеров, которым проведено 271 «свежих» и 195 криопротоколов.
- 166 дискордантных пар с ВИЧ-инфицированным мужчиной и 235

– с ВИЧ-отрицательным статусом у обоих партнеров. Проведено 247 «свежих» и 157 криопротоколов, в контрольной группе - 313 и 193 соответственно.

- 59 конкордантных пар (оба партнера с ВИЧ-положительным статусом) проведено 79 «свежих» циклов и 48 криопротоколов, в контрольной группе (n=96) – 122 и 88 циклов соответственно.

Конечные точки: частота наступления беременности и живорождения; средние показатели/медиана, частоты эмбриологических показателей.

**Задача 6** – Исследовать качество ооцитов у женщин, инфицированных ВИЧ, принимающих АРТ, на основании определения распространенности и структуры дисморфизмов.

Для решения данной задачи включены 210 супружеских пар, из них основную группу составили 113 пациенток с ВИЧ-инфекцией, контрольную – 97 женщин без ВИЧ-инфекции. Проведена морфологическая оценка 2321 зрелых ооцитов (МП), из них 1228 полученных в основной группе и 1093 – в группе контроля.

Конечная точка: частота выявления дисморфизмов ооцитов.

**Задача 7** – Уточнить патогенетические механизмы влияния АРТ на качество гамет пациентов, инфицированных ВИЧ, на основании оценки копийности митохондриальной ДНК кумулюсных клеток и сперматозоидов.

Для решения данной задачи включены:

- 191 пациентка, из них основную группу составили 95 женщин с ВИЧ-инфекцией, контрольную – 96 серонегативных по ВИЧ пациенток. Количественная оценка копийности мтДНК проведена в 78 и 111 образцах кумулюсных клеток соответственно.
- 175 мужчин, из них основную группу составили 79 ВИЧ-инфицированных мужчин, контрольную – 96 пациентов без ВИЧ-инфекции. Количественная оценка мтДНК проведена в 58 и 96 образцах спермы соответственно.

Конечная точка: средние значения/медиана содержания мтДНК;

коэффициент корреляции со «стажем» ВИЧ инфекции, длительностью АРТ, показателями иммунного статуса.

**Задача 8** – Оценить безопасность программы ЭКО в супружеских парах с ВИЧ-инфекцией.

Для решения данной задачи:

- 155 дискордантных пар с ВИЧ-инфекцией у женщины (основная группа), которым проведено 182 «свежих» и 162 криоцикла.

Конечная точка – частота выявления ВИЧ у детей, рожденных от женщин с ВИЧ-инфекцией.

- 165 дискордантных пар с ВИЧ-инфекцией у мужчины, из них 60 «свежих» циклах было выполнено тестирование образцов спермы на наличие РНК ВИЧ, в 187 – тестирование не проводилось.

Конечная точка – частота выявления ДНК/РНК ВИЧ во фракции сперматозоидов, частота положительных результатов на наличие антител к ВИЧ у женщин после переноса эмбрионов.

- 59 конкордантных пар (оба партнера с ВИЧ-положительным статусом) проведено 79 «свежих» циклов и 48 криоцикла.

Конечная точка – частота выявления ВИЧ у детей, рожденных от женщин с ВИЧ-инфекцией.

**Задача 9** – Разработать систему мероприятий реализации репродуктивной функции у пациентов, инфицированных ВИЧ.

**Критерии включения в основную группу исследования:**

1. Пациенты с ВИЧ-инфекцией – 3 субклиническая стадия заболевания, 4А, 4Б, 4В стадии в фазе ремиссии не менее 6 месяцев.
2. Антиретровирусная терапия.
3. РНК ВИЧ в крови менее 50 копий/мл.

**Критерии включения в контрольную группу исследования:**

1. ВИЧ-отрицательный статус.
2. Оплодотворение ооцитов методом ICSI.

3. Селективный перенос 1-го эмбриона (контрольная группа для дискордантных пар с ВИЧ-инфекцией у женщины и конкордантных пар)

**Критерии невключения:**

Имеющиеся противопоказания для вынашивания беременности и/или проведения овариальной стимуляции.

**2.2. Методы исследования**

Согласно действующих на момент включения в исследование приказов Министерства здравоохранения Российской Федерации “О порядке использования вспомогательных репродуктивных технологий, противопоказаниях и ограничениях к их применению” (№ 107н от 30.08.2012 г. и № 803н от 31.08.2020 г.), амбулаторно проводили предварительное обследование супружеской пары в рамках подготовки к программе ЭКО с использованием ряда обязательных и специальных методов обследования.

**2.2.1. Обязательные обследования**

Обязательные исследования для женщины включали:

- клинический и биохимический анализ крови;
- коагулограмма;
- группа крови, резус-фактор;
- общий анализ мочи;
- определение антител класса M, G к вирусу краснухи;
- микроскопическое исследование отделяемого из цервикального канала и влагалища;
- цитологическое исследование соскобов с шейки матки и из цервикального канала;
- ультразвуковое исследование органов малого таза на 5-8 день менструального цикла;
- флюорография или рентгенография грудной клетки;
- электрокардиография;



- заключение терапевта о наличии или отсутствии противопоказаний для вынашивания беременности и/или проведения ВРТ;
- УЗИ молочных желез до 9-10 дня цикла, для женщин старше 40 лет – маммография;
- гормоны крови: фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), эстрадиол (E<sub>2</sub>), антимюллеров гормон (АМГ);
- определение антител к бледной трепонеме в крови, антител к вирусу иммунодефицита человека 1, 2 (ВИЧ 1,2), к вирусу гепатита С, поверхностного антигена вируса гепатита В. Для ВИЧ-инфицированных пациентов антитела к ВИЧ не определяли.
- молекулярно-биологическое исследование отделяемого из цервикального канала на наличие возбудителей ИППП (*neisseria gonorrhoeae*, *trichomonas vaginalis*, *chlamydia trachomatis*, *mycoplasma genitalium*) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Обязательные исследования для мужчины включали:

- спермограмма, при необходимости заключение андролога
- определение антител к бледной трепонеме в крови, антител к вирусу иммунодефицита человека 1, 2 (ВИЧ 1,2), к вирусу гепатита С, поверхностного антигена вируса гепатита В. Для ВИЧ-инфицированных пациентов антитела к ВИЧ не определяли.

### **2.2.2 Обязательные обследования для пациентов с ВИЧ-инфекцией**

Обследование пациентов с ВИЧ-инфекцией по их основному заболеванию проводилось на базе центров по профилактике и борьбе со СПИДом, где они состояли на учете. На основании предоставленных специалистами центра документов проводился анализ результатов обследования.

Учитывали длительность инфицирования (по дате положительного иммуного блота), продолжительность АРТ, используемые препараты (учитывали АРВП, которые пациенты принимали последние 6 месяцев). Оценивали уровень CD4+ лимфоцитов (абсолютные значения и %), CD8+ лимфоцитов (абсолютные значения и %), значения ИРИ (иммунореактивный индекс: соотношение CD4+/ CD8+), вирусную нагрузку в крови дважды с интервалом не менее 3 месяцев.

Степень иммунных нарушений оценивали:

- Отсутствие иммунодефицита – уровень CD4+ лимфоцитов в крови более 500 клеток/мкл.
- Умеренный иммунодефицит – уровень CD4+ лимфоцитов в крови от 350 до 499 клеток/мкл.
- Выраженный иммунодефицит – уровень CD4+ лимфоцитов в крови от 200 до 249 клеток/мкл.
- Тяжелый иммунодефицит – уровень CD4+ лимфоцитов в крови менее 200 клеток/мкл.

Уровень вирусной нагрузки в крови оценивали:

- Неопределяемая вирусная нагрузка – менее 50 копий/мл.
- Невысокая вирусная нагрузка – до 10 000 копий/мл.
- Средняя вирусная нагрузка – от 10 000 до 50 000 копий/мл.
- Высокая вирусная нагрузка – от 50 000 копий/мл.

АРВП различали по их митохондриальной токсичности. К препаратам с высокой митохондриальной токсичностью относили диданозин, ставудин, зидовудин, а с незначительным токсическим эффектом на митохондрии – фосфазид, ламивудин, абакавир, тенофовир, эмтрицитабин.

### 2.2.3. Клиническое обследование

Комплексное обследование включало в себя лабораторные, инструментальные и специальные методы исследования, которые соответствовали поставленным цели и задачам данной работы.

Обследование пациентов начинали со сбора клиничко-анамнестических данных. У пациентов с ВИЧ-положительным статусом проводили анкетирование (приложение 1), результаты которого позволили проанализировать социально-демографические характеристики данной группы больных. Отмечали наследственные факторы, перенесенные ранее экстрагенитальные заболевания, операции, травмы. Отмечали возраст менархе, особенности становления менструального цикла, характер менструаций, их цикличность, а также время появления и характер нарушений, если таковые имелись. Уточняли возраст дебюта сексуальной жизни, количество аборт, способ прерывания беременности (медикаментозный, инструментальный). В случае ранних репродуктивных потерь или прерываний беременности в поздних сроках выясняли их сроки, и возможные причины. Оценивали возможные факторы, предрасполагающие к развитию бесплодия (ИППП, воспалительные заболевания, оперативные вмешательства). Кроме этого, выясняли проводилось ли ранее лечение (медикаментозное, оперативное) бесплодия, его результаты. Наиболее интересным была оценка проведенных циклов овариальной стимуляции и методов ВРТ (ВМИ, ЭКО/ICSI/PICSI), и их исходы.

При общем осмотре отмечали тип телосложения пациентки, ее рост и вес, определяли индекс массы тела (ИМТ). Оценивали характер распределения подкожно-жировой клетчатки, окраску и состояние кожных покровов, особенности оволосения гормонально-зависимых зон, а также наличие и цвет полос растяжения.

Гинекологическое исследование включало в себя проведение осмотра в зеркалах, влагалищное бимануальное исследование. При осмотре с помощью зеркал обращали внимание на состояние слизистой оболочки влагалища и

шейки матки, цвет, наличие изъязвлений и других патологических процессов, характер влагалищных выделений. При бимануальном исследовании определяли положение и размеры тела матки и яичников, их подвижность, консистенцию, болезненность при исследовании, а также определяли наличие образований в малом тазу.

#### **2.2.4. Ультразвуковое исследование органов малого таза**

Ультразвуковое исследование (УЗИ) органов малого таза осуществляли с помощью серии продольных и поперечных сечений на аппарате «SonoAce R7» («Samsung Medison») с использованием трансвагинального датчика с частотой 6,5 МГц.

Эхографическое исследование органов малого таза первый раз выполняли в раннюю фолликулярную фазу цикла, предшествующую овариальной стимуляции. Определяли размер матки, наличие миоматозных узлов, признаков аденомиоза и других патологических состояний; оценивали эхогенность, структуру, толщину эндометрия. При исследовании яичников определяли их размеры, объем, количество антральных фолликулов, а также соотношение фолликулярного аппарата и стромы. Следующее УЗИ выполняли на 2-й – 5-й день менструального цикла при назначении индуктора для овариальной стимуляции, далее на 6-й день проводимой стимуляции – для коррекции дозы препаратов, при назначении триггера овуляции, выполнении трансвагинальной пункции яичников (ТВП) и при переносе эмбриона в полость матки. При проведении подготовки эндометрия для переноса размороженного после криоконсервации эмбриона эхографическое исследование органов малого таза также выполняли на 2-й – 5-й день менструального цикла (оценка толщины эндометрия, наличие функциональных кист в яичниках), далее – на 10-й – 12-й день использования эстрогенных препаратов с целью назначения микронизированного прогестерона и определения дня переноса эмбриона в полость матки.

В случае положительного анализа крови на  $\beta$ -хорионический гонадотропин эхографию выполняли на 21-й – 23-й день после

эмбриотрансфера с целью визуализации плодного яйца, а через 2 недели – для определения эмбриона и сердцебиения.

## 2.2.5. Исследование спермиологической жидкости

### 2.2.5.1. Оценка спермограммы

Анализ показателей спермограммы выполняли не менее двух раз на этапе обследования для определения причин бесплодия в супружеской паре, а также в день ТВП яичников и аспирации ооцитов. Сбор эякулята осуществлялся в стерильный пластмассовый контейнер путем мастурбации после полового воздержания от 2 до 7 дней. Оценка параметров спермограммы производилась в соответствии с нормативами ВОЗ (2010) (таб. 1) [206].

Таблица 1

#### Нормативные показатели спермограммы

Показатель	Норматив, единицы измерения
Общий объем эякулята	>1,5 мл
pH	≥7,2
Вязкость	0,1 – 2,0 см
Время разжижения	<60 мин
Концентрация лейкоцитов	<1 млн/мл
Концентрация сперматозоидов	>15 млн/мл
Общее количество сперматозоидов	>40 млн
Подвижность сперматозоидов	Общая подвижность сперматозоидов ≥ 40 % Сперматозоиды с прогрессивным движением ≥ 32 %
Морфология	≥ 4 % нормальных форм
Жизнеспособность сперматозоидов	≥ 58 % живых сперматозоидов
Агглютинация	Отсутствует
Клетки сперматогенеза	2 – 4 кл/100

В случаях патологических изменений спермограммы выделяли субфертильную и тяжелую патозооспермию. Критериями субфертильной спермы явились: концентрация сперматозоидов 12-15 млн/мл, наличие более 29% сперматозоидов с прогрессивным движением (А+В) – 30-32% и 97% патологических форм, а тяжелой патологии спермы: концентрация сперматозоидов до 12 млн/мл, сперматозоиды с прогрессивным движением (А+В) - менее 29%, количество патологических форм – более 97%.

#### **2.2.5.2. Определение повреждений ДНК сперматозоидов**

Оценка процента сперматозоидов с ДНК-фрагментацией проводилась с использованием методики TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferases (TdT) dUTP end labeling). Для этой цели использовали набор реактивов фирмы MILLIPORE (США) ApopTag In Situ Apoptosis Detection Kits. Методика данного исследования состояла в следующем: на предметное стекло, покрытое Polysine (Thermo), наносился препарат сперматозоидов, отмытых от спермальной жидкости. Препарат высушивали и фиксировали в 1% растворе параформальдегида в течение 10 минут. Затем дважды препарат промывался в фосфатном буфере и был помещен в раствор этанол/уксусная кислота (2:1) на 5 минут при -20о С. Далее вновь дважды промывался в фосфатном буфере. На следующем этапе исследования на препарат наносился раствор фермента TdT ENZYME (время инкубации 60 минут) и раствор ANTY-DIGOXIGENIN CONJUGATE, содержащий флюоресцентный краситель (rhodamine) и инкубировался в течении 30 минут. В последующем образец спермы вновь дважды промывался в фосфатном буфере и инкубировался в растворе ядерного флюоресцентного красителя DAPI в течение 5 минут. Затем препарат четырежды промывался в фосфатном буфере и покрывался покровным стеклом. Анализ проводился на флюоресцентном микроскопе Olympus с двумя фильтрами - длиной волны 350нм и 560нм. Препарат просматривался в нескольких полях зрения и проводилась оценка 1000 клеток. Полученные изображения анализировались в программе Imedge Pro для подсчета

количества ядер сперматозоидов с фрагментацией ДНК и общего количества неповрежденных ядер. В конечном счете, проводился подсчет процентов (среднее значение) фрагментированных ядер в препарате данного пациента.

### **2.3. Экстракорпоральное оплодотворение и перенос эмбриона/эмбрионов в полость матки**

#### **2.3.1. Овариальная стимуляция у пациенток исследуемых групп**

Овариальную стимуляцию проводили в протоколе с антагонистами гонадотропин релизинг-гормона (антГнРГ) или в «длинном» протоколе с использованием препаратов человеческого менопаузального гонадотропина (ЧМГ) и/или рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона (рФСГ). Дозу индуктора подбирали индивидуально в зависимости от возраста пациентки, данных гормонального исследования, количества антральных фолликулов при УЗ-исследовании и ИМТ.

При проведении протокола с антГнРГ введение экзогенных гонадотропинов начинали со 2-го – 5-го дня менструального цикла. При достижении лидирующим фолликулом диаметра 14 мм начинали введение антГнРГ с целью предупреждения эндогенных паразитарных пиков лютеинизирующего гормона (ЛГ). Затем препарат антГнРГ вводили ежедневно, включая день назначения триггера овуляции, который назначали при достижении лидирующими фолликулами диаметра 17-18 мм. Для финального созревания ооцитов использовали человеческий хорионический гонадотропин человека (ХГЧ) в дозе 5 000 – 10 000 МЕ, а при риске развития синдрома гиперстимуляции яичников (при наличии более 15 доминантных фолликулов в обоих яичниках в день назначения триггера овуляции) – агониста гонадотропин релизинг-гормона (аГнРГ) в дозе 0,2 мг. При использовании «длинного» протокола предварительная десенситизация гипоталамо-гипофизарной системы достигалась ежедневным подкожным введением аГнРГ с 18-21 дня менструального цикла по 0,1 мг до дня введения

овуляторной дозы ХГЧ. Введение гонадотропинов начинали со 2-3 дня менструального цикла; триггер овуляции назначали при достижении лидирующими фолликулами диаметра 17-18 мм, с этой использовали ХГЧ в дозе 10 000 МЕ.

**2.3.2. Трансвагинальная пункция яичников и аспирация ооцитов** проводилась через 35-37 часов после введения овуляторной дозы ХГЧ/а-ГнРГ под кратковременным внутривенным наркозом в асептических условиях малой операционной с контролем УЗИ и использованием вагинального датчика, снабженного адаптером для крепления пункционной иглы. Фолликулярную жидкость аспирировали под отрицательным давлением (160-170 мм водного столба) в стерильные пробирки и передавали эмбриологу для идентификации ооцит-кумулюсных комплексов (ОКК), последующего их оплодотворения и культивирования.

ТВП яичников у женщин с ВИЧ-инфекцией производили в последнюю очередь или в специально выделенные для этого часы/дни.

### **2.3.3. Идентификация и оценка качества ооцитов**

Аспирированную фолликулярную жидкость переливали в чашки Петри и оценивали под стереомикроскопом или инвертированным микроскопом при небольшом увеличении. Найденные ОКК переносили в центральную лунку чашки со средой G-MOPS PLUSE пипеткой 100-1000 мкл. и чашку с ОКК помещали в CO<sub>2</sub> – инкубатор, указав на нем фамилию пациентки, количество ОКК и дату пункции. Оплодотворение проводилось методом ICSI, в связи с проводилась денудация ооцитов (строго через 39-41 часов после введения ХГЧ или аГнРГ). Процедура энзиматического и механического поэтапного отделения клеток, окружающих ооцит (клетки кумулюса и лучистой короны). В чашку с ОКК добавляли 200мкл раствора гиалуронидазы и с помощью пипетки с внутренним диаметром 150-175мкм. ооциты освобождали от клеток кумулюса. Обработка ооцитов гиалуронидазой не превышала 30 секунд. После денудации оценивали степень зрелости яйцеклеток, что было выполнено согласно следующим критериям (таб.2):



## Оценка степени зрелости яйцеклеток

	Характеристика ооцита
Ооцит МШ	Зрелая гаплоидная (n) яйцеклетка на стадии метафазы II деления мейоза. Четко различается одно (первое) полярное тельце.
Ооцит МI	Незрелый ооцит на стадии метафазы I деления мейоза. В нем не видно первого полярного тельца, не визуализируется ядро GV.
GV	<u>Герминальный везикул</u> – незрелая диплоидная (2n) яйцеклетка. Клетки характеризуются наличием видимого большого ядра, обычно содержащего 1-2 <u>крупные нуклеолы</u> .

Следующим этапом работы явилась оценка морфологических характеристик ооцитов и идентификация дисморфизмов. Выделяли цитоплазматические и экстрацитоплазматические аномалии строения яйцеклеток. Центральная гранулярность представляет собой темную губчатую зернистую область в цитоплазме ооцита. Вакуоли – это цитоплазматические включения, содержащие жидкость и окруженные мембраной. Аномальные агрегаты ГЭР располагаются в центральной части ооцита и представляют собой круглые полупрозрачные образования. Темный цвет цитоплазмы – значительное изменение цвета всей цитоплазмы ооцита. К экстрацитоплазматическим дисморфизмам относили изменение ширины перивителлинового пространства и наличие в нем гранулярности, аномалии первого полярного тельца, а также деформацию или утолщение зоны пеллюцида ооцита.

#### 2.3.4. Оплодотворение ооцитов

Параллельно с денудацией ооцитов и оценкой их степени зрелости и морфологических характеристик производили обработку спермы супруга (алгоритм см. далее). Во всех случаях оплодотворение проводилось методом

ICSI. Микроинъекцию сперматозоидов проводили сразу после момента денудации. Процедура выполнялась на подогреваемом столике микроскопа, который обеспечивает температуру приблизительно  $36.5-37.0^{\circ}\text{C}$  в инъекционной чашке. Сразу же после инъектирования ооциты переносили в культуральные чашки с предварительно эквилибрированной средой G-TL, помещали в инкубатор культивирования с температурой  $(37.0\pm 0.1^{\circ}\text{C})$  и концентрацией  $\text{CO}_2$  6.0% для поддержания оптимального pH в пределах 7.28-7.33.

Все манипуляции с биологическим материалом пациентов, инфицированных ВИЧ, проводились в ламинарах с высокой степенью защиты (2-ой класс), а культивирование ооцитов и эмбрионов – в отдельном маркированном инкубаторе.

### **2.3.5. Подготовка спермиологической жидкости для оплодотворения**

После сдачи эякулята производилась его оценка по критериям ВОЗ (2010). Для подготовки эякулята использовали метод центрифугирования в градиенте плотности и «swim up». В день ТВП готовили две фракции градиента: верхний слой – градиент разводили культуральной средой до концентрации 50%; нижний слой – градиент разводили до концентрации 90%.

Далее 1 мл приготовленного 50% раствора градиента помещали в коническую полипропиленовую пробирку 15 мл и под него 1 мл 90% раствора градиента. Пробирку с приоткрытой крышкой устанавливали в штатив в инкубатор на 15 мин. После разжижения эякулята (обычно 30 мин) весь его объем (но не более 3х мл) одноразовой пипеткой наслаивали на градиент и центрифугировали при 300g (1500 об/мин) в течение 20 минут. По окончании центрифугирования супернатант отбирали пипеткой, а к осадку добавляли 4 мл культуральной среды. Осадок ресуспензировали на шейкере и помещали в центрифугу при 300g (1500 об/мин) 10 мин. После центрифугирования супернатант вновь отбирали пипеткой, а на полученный осадок наслаивали

0,1-0,5 мл культуральной среды, оставляли в штативе в ламинарном шкафу до использования. Далее проводилась процедура «swim up» – «всплытие». После последней отмывки и удаления надосадочной жидкости, на относительно твердый осадок наслаивали 1,0–2,0 мл. среды для обработки спермы. Пробирку под углом 45° помещали в инкубатор или термостат и ждали 1–1,5 ч. Активные сперматозоиды из осадка, которые диффундировали вверх в среду отбирали пипеткой и помещали в другую чистую пробирку и концентрировали мягким центрифугированием 300g (1500 об/мин) в течение 10 минут.

### **2.3.6. Обработка криоконсервированной спермы**

Виалу/соломину с криоконсервированным биоматериалом извлекали из сосуда Дьюара с жидким азотом и помещали в заранее подготовленный контейнер с водопроводной водой 25-37С<sup>0</sup> на 5-7 минут. Во всех случаях случае был использован предварительно обработанный в двойном градиенте плотности эякулят. Материал наслаивали на 4 мл среды культуральной среды в конической пробирке, далее центрифугировали при 300g (1500 об/мин) в течение 10 минут. Далее см. пункт 2.2.5.

### **2.3.7. Работа с биоматериалом мужчин, инфицированных ВИЧ**

Обработка эякулята по вышеописанной методике с использованием двойного градиента и «swim up», осадок делили на аликвоты и замораживали. Одну из аликвот направляли на исследование для определения РНК вируса в очищенных сперматозоидах. Данное исследование проводили методом ПЦР в лаборатории Центрального НИИ Эпидемиологии СМД (Центр молекулярной диагностики). При получении отрицательного результата (вирус не обнаружен в сперме), замороженные образцы использовали для оплодотворения в программе ЭКО, если вирус обнаруживали, то оставшуюся часть спермы погружали в 3% раствор Самаровки с экспозицией 60 минут, с последующей утилизацией материала в установленном порядке, согласно требованиям СанПиН 2.1.7.2527-09 [207].

### **2.3.8. Культивирование эмбрионов и их перенос в полость матки**

На следующие сутки после оплодотворения ооциты переносили в чашку со свежей средой для культивирования и оценивали наличие/количество пронуклеусов, количество полярных телец. В случае визуализации 2-х пронуклеусов оплодотворение считали нормальным, а при наличии 1-го или более 2-х – аномальным. Нормально оплодотворившиеся ооциты помещали в специальную среду для дробления, где эмбрионы культивировали до 3-х суток развития. На 3-и сутки оценивали количество бластомеров и перемещали в новую 4-х луночную чашку со средой для культивирования до стадии бластоцисты. На 5-е сутки развития эмбрионов проводилась оценка внутренней клеточной массы и трофобластической оболочки по классификации Gardner и соавт. (1994) (таб. 3) [208].

**Таблица 3**

**Оценка внутренней клеточной массы и трофобластической оболочки**

<b>Оценка внутриклеточной массы</b>	<b>Описание</b>
A	много плотно упакованных клеток
B	несколько свободно сгруппированных клеток
C	очень мало <u>несгруппированных</u> клеток.
<b>Оценка трофобластической оболочки</b>	<b>Описание</b>
A	много клеток, формирующих связанный эпителий
B	несколько клеток, формирующих свободный эпителий
C	только несколько клеток (2-3) серповидной формы

Были использованы следующие критерии для анализа эмбриологического этапа данной работы: бластоциста «отличного» качества (эмбрионы класса AA, AB и BA), бластоциста «хорошего» качества (эмбрионы класса BB, AC и CA) и бластоциста «удовлетворительного» качества (CB, BC, CC).

Перенос эмбрионов осуществляли на 3-и - 5-е сутки культивирования *in vitro*. Подготовка чашек для переноса эмбрионов в полость матки проводилась накануне в ламинарном шкафу с холодной рабочей поверхностью при включенном потоке с соблюдением условий стерильности. В чашку с центральной лункой наливали 1,5-2 мл холодной культуральной среды и оставляли на ночь в CO<sub>2</sub> -инкубаторе. Утром в день переноса во время оценки качества эмбрионов (при увеличении не менее x200 крат) выбирали 1 или 2 (по согласованию с лечащим врачом) эмбриона. Поршень шприца сдвигали на 3 мм, создавая в катетере столбик воздуха, набрали в катетер культуральную среду (столбик жидкости примерно 5 мм), забрали эмбрионы, далее снова набирали культуральную среду (столбик жидкости примерно 5 мм) и завершали заполнение катетера столбиком воздуха (3 мм). Перенос эмбрионов в полость матки осуществляли с использованием одноразового катетера под контролем УЗ-сканирования, после чего катетер промывался средой для визуального контроля эмбриона.

Всем пациенткам с ВИЧ-инфекцией и соответствующим им женщинам контрольной группы проводился перенос одного эмбриона. В дискордантных парах с ВИЧ-инфекцией у мужчины количество переносимых эмбрионов определялось клинической ситуацией.

### **2.3.9. Ведение посттрансферного периода**

Лекарственную поддержку посттрансферного периода осуществляли с использованием микронизированного прогестерона в суточной дозе 600 мг/сутки, начиная его введение со следующего после ТВП яичников дня до момента оценки концентрации  $\beta$  – субъединицы ХГЧ (14 – 15 день после переноса эмбрионов), после чего определяли дальнейшую тактику ведения пациентки.

### **2.3.10. Витрификация эмбрионов**

Набор сред для размораживания эмбрионов, специальный планшет и носители для витрификации оставляли на ламинарном боксе при комнатной температуре. Аккуратно дважды переворачивали каждый флакон с

равновесным раствором ES и раствор для витрификации VS для перемешивания содержимого. Используя пипетку, капали по 250мкл каждого раствора в планшет. Аспирировали эмбрион на кончик наконечника диаметром 170 мкм или 300 мкм (в зависимости от стадии развития эмбриона, затем эмбрион перемещали с минимальным количеством среды в центр на поверхность равновесного раствора ES. В первом растворе (ES) эмбрион должен эквilibрироваться от 10 до 15 мин. После завершения данного процесса аспирировали эмбрион из равновесного раствора ES на кончик наконечника диаметром 170 мкм или 300 мкм (в зависимости от стадии развития эмбриона) и перенести эмбрион с минимальным количеством равновесного раствора ES в центр на поверхность раствора для витрификации VS1. Далее аспирировали эмбрион из раствора для витрификации VS1 и выдували его обратно в раствор для витрификации VS1, быстро перемешивали 5 раз раствор вокруг эмбриона. Повторяли аспирацию, выдувание и перемешивание 3 раза, меняя положение эмбриона в растворе для витрификации VS1. Выдували из пастеровской пипетки остаток раствора для витрификации VS1 за пределы лунки, аспирировать свежий раствор для витрификации VS2, затем аспирировали на кончик наконечника эмбрион в растворе для витрификации VS1. Эмбрион с минимальным количеством раствора для витрификации VS1 переносили в раствор для витрификации VS2. Аспирировали погрузившийся в растворе для витрификации VS2 эмбрион на кончик наконечника, затем помещали его с минимальным количеством (менее 0,1 мкл) раствора для витрификации VS2 за черной меткой на носителе.

### **2.3.11. Размораживание эмбрионов**

При проведении процедуры размораживания эмбрионов соломинку CryoTip перемещали в резервуар с подогретой до 37°C дистиллированной водой на 3 секунды, при этом медленно помешивая (скорость размораживания +24000°C/мин). Содержимое соломины помещали в чашку в виде капли и промывали соломинку до отметки №3 и располагали новую каплю рядом с каплей, подготовленной ранее. После этого капли объединяли, позволив им

самопроизвольно смешиваться в течение 1-й минуты. Далее эмбрион переносили эмбрионы на дно капли TS – время экспозиции 1 минута. Затем эмбрионы переносили эмбрионы на дно капли DS1 и DS2 – время экспозиции 2 минуты (в каждой капле). Во время 2-х минутной экспозиции в капле DS2, готовили три капли WS (WS1, WS2, и WS3), расположенные в ряд, эмбрионы переносили из капли в каплю WS1, WS2 и WS3 со временем экспозиции в каждой капле 3 минуты. Затем эмбрионы переносили в чашку с заранее подготовленной средой, подходящей для дальнейших манипуляций.

**2.3.12. Подготовка эндометрия для переноса в полость матки размороженного после криоконсервации эмбриона** проводилась с использованием препаратов эстрогенов (эстрадиола валерат в дозе 6 мг/сутки) и микронизированного прогестерона (утрожестан в дозе 600 мг/сут). На 6-е сутки использования микронизированного прогестерона осуществляли перенос размороженных после криоконсервации эмбрионов в полости матки пациентки.

При работе с пациентами, инфицированными ВИЧ, руководствовались рекомендациями СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами». Отходы класса Б собирали в одноразовую мягкую (пакеты) или твердую (непрокальваемую) упаковку (контейнеры) имеющую красную маркировку. Выбор упаковки зависел от морфологического состава отходов. Жидкие биологические отходы, использованные одноразовые колющие (режущие) инструменты и другие изделия медицинского назначения помещали в твердую (непрокальваемую) влагостойкую герметичную упаковку (контейнеры).

#### **2.4. Оценка сероконверсии в дискордантных парах с ВИЧ-инфицированным мужчиной.**

Безопасность циклов ВРТ для женщин в парах с ВИЧ-инфекцией у партнера оценивали на основании сероконверсии через 21 день после переноса

эмбрионов. В крови женщины определяли наличие антигена/антител к ВИЧ иммуноферментным методом с использованием реагентов фирмы “Abbott” (США). В случае наступления беременности тестирование на антитела к ВИЧ проводили каждые 3 месяца, а при отсутствии беременности – через 3 и 6 месяцев после переноса эмбрионов.

## **2.5. Диагностика ВИЧ-инфекции у новорожденных**

Лабораторное исследование крови на ДНК/РНК ВИЧ было выполнено не позднее 48 часов после рождения у всех детей, рожденных ВИЧ-инфицированными женщинами.

## **2.6. Специальные методы исследования**

### **2.6.1. Исследование копийности мтДНК в клетках кумулюса**

В асептических условиях с использованием инвертированного микроскопа клетки кумулюса отмывали в стерильном фосфатно-солевом буфере, а затем помещали в индивидуальные пробирки, содержащие данный буфер. Определение абсолютного числа копий мтДНК осуществляли с помощью метода ПЦР в реальном времени. Для этого из клеток кумулюса выделяли ДНК. Клетки лизировали буфером с гуанидин тиоцианатом в течение 10 минут при температуре 65°C. После этого осуществляли осаждение ДНК изопропанолом в присутствии соосадителя путем центрифугирования образцов при 13 тыс. об/мин в течение 10 мин (Набор Проба-НК-плюс, ООО «ДНК-Технология», Россия). Далее осадок промывали двумя промывочными растворами, высушивали, и ресуспендировали в 50 мкл элюирующего раствора.

Для подсчёта копий мтДНК проводили ПЦР в реальном времени с использованием олигонуклеотидов и TaqMan-проб для амплификации и количественного определения специфических фрагментов мтДНК (ген МТ-ND2-mitochondrially encoded NADH dehydrogenase 2 и ген МТ-ND4 - mitochondrially encoded NADH dehydrogenase 4). Использование праймеров к гену МТ-ND2 позволило оценить содержание тотального пула мтДНК



(mtDNAtotal), а праймеров к гену MT-ND4 - содержание пула полноразмерной мт ДНК, лишенной делеций (mtDNA<sup>del-</sup>), в частности del mtDNA4977. TaqMan-пробы для фрагментов митохондриальной и геномной ДНК были помечены разными флуорофорами (FAM и HEX), что позволило проводить реакцию в одной пробирке (мультиплексная ПЦР) в двух повторах для каждого образца. Для обеспечения «горячего старта» использован парафин. В работе использованы реактивы, олигонуклеотиды и TaqMan-пробы и детектирующие амплификаторы «ДТпрайм» (ООО «ДНК-Технология», Россия). Режим амплификации: 80 °С в течение 1 мин, инкубирование при 95 °С в течение 1 мин, а затем 50 циклов: 94 °С в течение 15с и 64°С в течение 20с с измерением уровня флуоресценции на каждом цикле. Нормировка осуществлялась на геномную ДНК (ген LTC4S - leukotriene C4 synthase).

Количество мтДНК относительно геномной определяли методом сравнения пороговых циклов ( $2^{\Delta C_p}$ ) и представляли в относительных единицах (о.е.) по формуле 1:

$mtDNA/gDNA = 2^{C_p gDNA - C_p mtDNA}$  (формула 1), где  $C_p gDNA$  - значение порогового цикла амплификации геномной ДНК,  $C_p mtDNA$  - значение порогового цикла амплификации мт ДНК.

### **2.6.2. Исследование копийности мтДНК в сперматозоидах**

В асептических условиях с использованием инвертированного микроскопа сперматозоиды отмывали в стерильном фосфатно-солевом буфере, а затем помещали в индивидуальные пробирки, содержащие данный буфер. Определение абсолютного числа копий мтДНК осуществляли с помощью метода ПЦР в реальном времени. Для этого из образца спермы выделяли ДНК. Клетки лизировали буфером с гуанидин тиоцианатом в течение 10 минут при температуре 65°С. После этого осуществляли осаждение ДНК изопропанолом в присутствии соосадителя путем центрифугирования образцов при 13 тыс. об/мин в течение 10 мин (Набор Проба-НК-плюс, ООО «ДНК-Технология», Россия). Далее осадок промывали двумя промывочными растворами, высушивали, и ресуспендировали в 50 мкл элюирующего

раствора. Для подсчёта копий мтДНК проводили ПЦР в реальном времени с использованием олигонуклеотидов и TaqMan-проб для амплификации и количественного определения специфических фрагментов мтДНК (ген MT-ND2-mitochondrially encoded NADH dehydrogenase 2 и ген MT-ND4 - mitochondrially encoded NADH dehydrogenase 4). Использование праймеров к гену MT-ND2 позволило оценить содержание тотального пула мтДНК (mtDNAT), а праймеров к гену MT-ND4 - содержание нормальной мтДНК без делеций, затрагивающих регион гена MT-ND4 (mtDNAN), в частности без del mtDNA4977. TaqMan-пробы для фрагментов митохондриальной и геномной ДНК были помечены разными флуорофорами (FAM и HEX), что позволило проводить реакцию в одной пробирке (мультиплексная ПЦР) в двух повторах для каждого образца. Для обеспечения «горячего старта» использован парафин. В работе использованы реактивы, олигонуклеотиды и TaqMan-пробы и детектирующие амплификаторы «ДТпрайм» (ООО «ДНК-Технология», Россия). Режим амплификации: 80 °С в течение 1 мин, инкубирование при 95 °С в течение 1 мин, а затем 50 циклов: 94 °С в течение 15с и 64°С в течение 20сек. с измерением уровня флуоресценции на каждом цикле.

Количество мтДНК относительно геномной определяли методом сравнения пороговых циклов ( $2\Delta C_p$ ) и представляли в относительных единицах (о.е.) по формуле 1:

$$\text{mtDNA/gDNA} = 2^{C_p \text{ gDNA} - C_p \text{ mtDNA}} \text{ (формула 1), где}$$

$C_p \text{ gDNA}$  - значение порогового цикла амплификации геномной ДНК,

$C_p \text{ mtDNA}$  - значение порогового цикла амплификации митохондриальной ДНК.

## **2.7. Статистическая обработка и анализ полученных результатов исследования**

Статистическая обработка данных выполнена на индивидуальном компьютере с использованием программы IPM SPSS Statistics, версия 26. Все полученные количественные анамнестические, клинические, лабораторные и инструментальные данные обработаны методом вариационной статистики. Для каждого количественного параметра были определены: среднее значение (M), среднеквадратичное отклонение ( $\delta$ ), ошибка среднего (m), медиана (Me), 95% доверительный интервал, для качественных данных - частоты (%).

При нормальном характере распределения данных результаты представлены как среднее (стандартное отклонение), а для оценки различий в группах применяли методы параметрической статистики (t-тест для сравнения данных в 2-х группах). При распределении данных, отличных от нормального (значение теста Колмогорова – Смирнова менее 0,05), исследованные количественные показатели представлены в виде медианы (Me) и квартилей (Q1; Q3), а для сравнения применяли метод Манна-Уитни (для 2-х групп) для несвязанных совокупностей; критерий  $\chi^2$  для таблиц сопряженности признаков 2\*2, 2\*3 и 2\*4 (для сравнения частот встречаемости признаков в анализируемых группах). Для сравнения бинарных данных мерой сравнения явилось отношение шансов (ОШ) с доверительным интервалом 95% (95% ДИ). Связь между изучаемыми показателями оценивалась по результатам корреляционного анализа с вычислением коэффициента корреляции Спирмена (R) и последующим установлением его значимости по критерию t. Показатель корреляции от 0 до 0,2 расценивали как очень слабую корреляцию; если коэффициент был равен 0,2-0,5 – корреляционная связь считалась слабой; от 0,5 до 0,7 - средней, от 0,7 до 0,9 – высокой и от 0,9 до 1 – очень высокой. Учитывали все статистически значимые значения, включая очень слабые. Статистически значимыми считали отличия при  $p < 0,05$  (95% уровень значимости).

## ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 3.1. Социально-демографические характеристики и пути инфицирования ВИЧ у пациентов, обратившихся для проведения программы ЭКО

На первом этапе данной работы проведено анкетирование пациентов с ВИЧ-инфекцией, которые обратились для оценки фертильности и/или проведения программы ЭКО.

Медиана возраста пациентов с ВИЧ-инфекцией составила 36 (33;40) лет, а медиана возраста постановки диагноза - 28 (24;32) лет. При этом ВИЧ-инфекция у женщин была выявлена в более молодом возрасте, чем у мужчин (26,5 лет (22;30) и 29 лет (25;30) соответственно;  $p=0,0001$ ). При первичном обращении для проведения программы ЭКО 29 из 436 (6,6%) пациентов не получали АРТ.

Условия обнаружения ВИЧ-инфекции представлены в таблице 4.

Таблица 4.

#### Эпидемиологический статус пациентов с ВИЧ-инфекцией

Показатель	Пациенты с ВИЧ-инфекцией n=436	Женщины ВИЧ «+» n=214	Мужчины ВИЧ «+» n=222	p-value*
Диагноз установлен при медицинском осмотре	25,7% 112/436	24,3% 52/214	27% 60/222	0,515
Диагноз установлен при появлении жалоб	19,7% 86/436	20,1% 43/214	19,4% 43/222	0,849

Диагноз установлен перед плановой операцией	10,6% 46/436	12,6% 27/214	8,6% 19/222	0,168
Диагноз установлен по контакту с ВИЧ-инфицированным	14,7% 64/436	13,1% 28/214	16,2% 36/222	0,356
Обследование при планировании беременности	5,7% 25/436	3,7% 8/214	7,7% 17/222	0,078
Обследование при бесплодии	9,4% 41/436	11,2% 24/214	7,7% 17/222	0,203
Обследование перед ЭКО	10,3% 45/436	7% 15/214	13,5% 30/222	<b>0,026</b>
Во время беременности	3,9% 17/436	7,9% 17/214	-	-

\*  $p < 0,05$  (95% уровень значимости) – статистически значимые отличия между группами женщина ВИЧ «+» и мужчина ВИЧ «+».

Наиболее часто ВИЧ-инфекцию выявляли случайно при плановом медицинском осмотре (25,7%), при этом одинаково часто у женщин и мужчин (24,3% и 27% соответственно;  $p=0,515$ ). В 19,7% (86 из 436) случаев диагноз был поставлен при появлении тех или иных жалоб и обращении к различным специалистам, а в 10,6% (46 из 436) наблюдений – перед плановым оперативным вмешательством. Следует отметить, что 13,1% женщин и 16,2% мужчин узнали о своем диагнозе после обследования в связи с выявленной ВИЧ-инфекцией у партнера ( $p=0,356$ ). В 5,7% случаев (25 из 436) диагноз ВИЧ-инфекция был поставлен при обследовании супружеской пары на этапе планирования беременности, в 9,4% (41 из 436) – при установленном

бесплодии и в 10,3% (45 из 436) – при обследовании перед проведением программы ЭКО. Следует отметить, что ВИЧ-инфекция непосредственно перед программой ЭКО была обнаружена чаще у мужчин (13,5%), чем у женщин (7%;  $p=0,026$ ). В 17 из 214 наблюдений (7,9%) диагноз ВИЧ – инфекция был поставлен во время беременности.

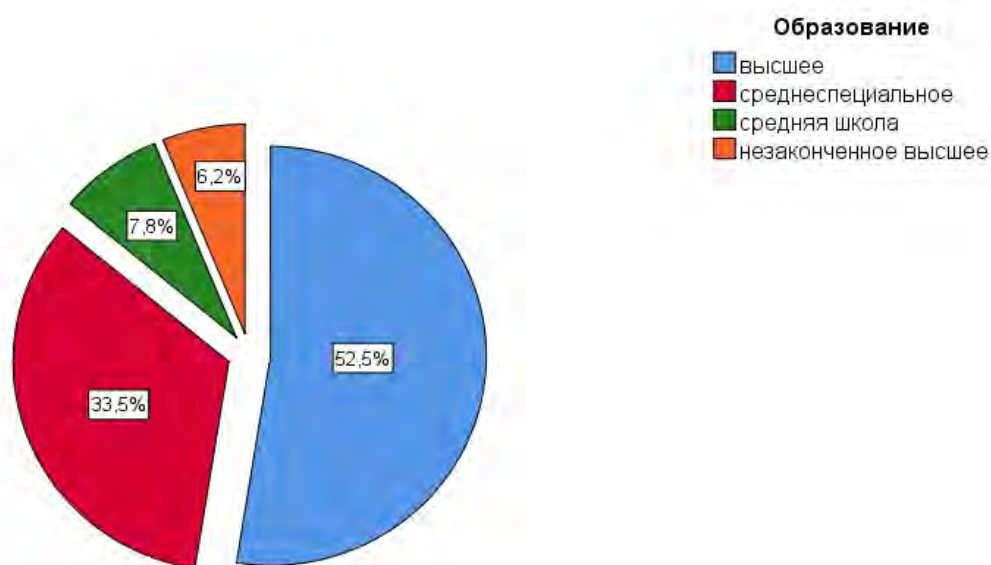
У подавляющего большинства (85,5%) супружеских пар диагностировано бесплодие, а в остальных случаях (10,5%) планировалось проведение программы ЭКО по эпидемиологическим показаниям. При этом презерватив для профилактики инфицирования здорового партнера использовали 119 из 436 (27,3%) супружеских пар, а 19 из 436 (4,4%) – имели незащищенные половые контакты только в перiovуляторный период.

На рисунке 3. представлены пути инфицирования ВИЧ в исследуемой группе пациентов. Анализ полученных данных показал, что в изучаемой когорте женщин и мужчин, живущих с ВИЧ, преобладал половой путь инфицирования (69,6% и 45,5%;  $p= 0,0001$ ), однако мужчины (51 из 222 (23%)) существенно чаще, чем женщины (22 из 214 (10,3%)), отмечали употребление инъекционных наркотиков в прошлом, как возможную причину заражения ВИЧ ( $p=0,0001$ ). При переливании крови в младенческом возрасте была инфицирована 1 (0,5%) пациентка. У 42 из 214 женщин (19,6%) и у 70 из 222 мужчин (31,5%) путь заражения ВИЧ не был установлен ( $p=0,004$ ).



**Рисунок 3.** Распределение пациентов в зависимости от пути инфицирования ВИЧ

Анализ социально-демографического статуса пациентов с ВИЧ-инфекцией показал, что большинство из них (52,3%) имели высшее, а треть (33,5%) – среднее специальное образование (рисунок 4).



**Рисунок 4.** Распределение пациентов, инфицированных ВИЧ, в зависимости от уровня образования

Только среднюю школу окончили 7,8% (34 из 436) пациентов и у 6,2% (27 из 436) было незаконченное высшее образование. Не были трудоустроены или имели случайные заработки 97 из 436 (22,2%) лиц, живущих с ВИЧ. При этом женщины не работали значимо чаще (33,6%), чем мужчины (11,3%;  $p=0,0001$ ). Сфера деятельности пациентов среди работающих представлена в таблице 5.

**Таблица 5.**

**Сфера трудовой деятельности лиц, живущих с ВИЧ**

	Пациенты ВИЧ+ n=339
Менеджер	18,6 % (63 из 339)
Медицинская сестра/фельдшер	1,8% (6 из 339)
Рабочий	16,2% (55 из 339)
Юрист	10,6 % (36 из 339)
Врач	3,2% (11 из 339)
Экономист/бухгалтер	10,3% (35 из 339)
Руководящая должность	9,4% (32 из 339)
Продавец	5,3% (18 из 339)
Инженер	5% (17 из 339)
Бизнесмен	11,2% (38 из 339)



Педагог	2,7% (9 из 339)
IT - специалист	1,8% (6 из 339)
Строитель	3,8% (13 из 339)

При анализе сфер деятельности обращает на себя внимание, что многие пациенты (20,6%) имели собственный бизнес и/или занимали руководящие должности, другие работали в медицине (5%) и в сфере образования (2,7%). В 10,6% (36 из 339) случаев это были юристы, в 10,3% (35 из 336) – экономисты, а различные рабочие профессии имели 16,2% (55 из 339) пациентов.

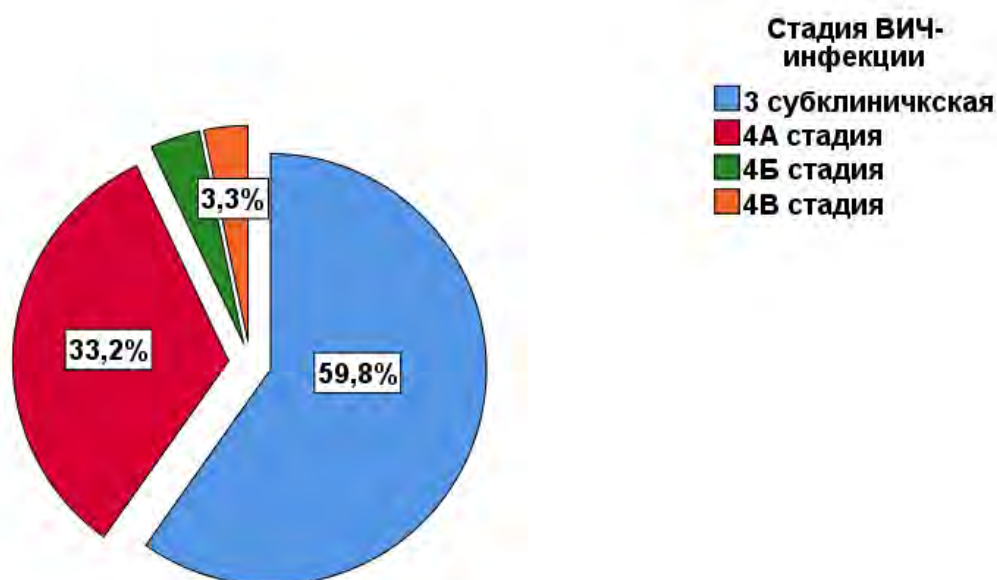
Официальный или незарегистрированный брак имели 97,9 % (427 из 436) пациентов. В 86,4% (377 из 436) наблюдений ВИЧ-статус партнера был отрицательный. В 2,1% случаев (9 из 436) полового партнера не было в связи с положительным ВИЧ статусом. У 70 из 436 (16,1%) пар были дети, в 11,7% (51 из 436) наблюдений рожденные до ВИЧ-положительного статуса и только в 5% (22 из 436) – после выявления ВИЧ-инфекции ( $p=0,0001$ ).

Таким образом, ВИЧ-инфекция у женщин выявлялась в более молодом, чем у мужчин возрасте, наиболее часто при плановом медицинском осмотре. У мужчин чаще, чем у женщин ВИЧ выявляли при обследовании непосредственно перед программой ЭКО, что свидетельствует о недостаточном внимании к обследованию мужчин на гемоконтактные инфекции при обращении супружеских пар на этапе планирования беременности или при установленном бесплодии. Преобладал половой путь инфицирования, мужчины же чаще отмечали употребление инъекционных наркотиков в прошлом, как причину заражения ВИЧ. Большинство ВИЧ-инфицированных, как мужчин, так и женщин имели высшее или среднее

специальное образование, занимали активную социальную позицию, работая во всех сферах деятельности.

### 3.2. Иммунный статус и характеристика ВИЧ-инфекции у женщин

Дальнейшая оценка полученных результатов показала, что у женщин медиана «стажа» ВИЧ-инфекции составила 9,8 (5,7;12,4) лет. Преобладала 3 субклиническая стадия заболевания (59,8%), в каждом третьем случае встречалась 4А (33,2%), а 4Б (3,7%) и 4В (3,3%) стадии были установлены одинаково часто (рис.5). Пациентки со стадией вторичных заболеваний (4А, Б, В) находились в фазе ремиссии не менее 6 месяцев перед программой ЭКО.

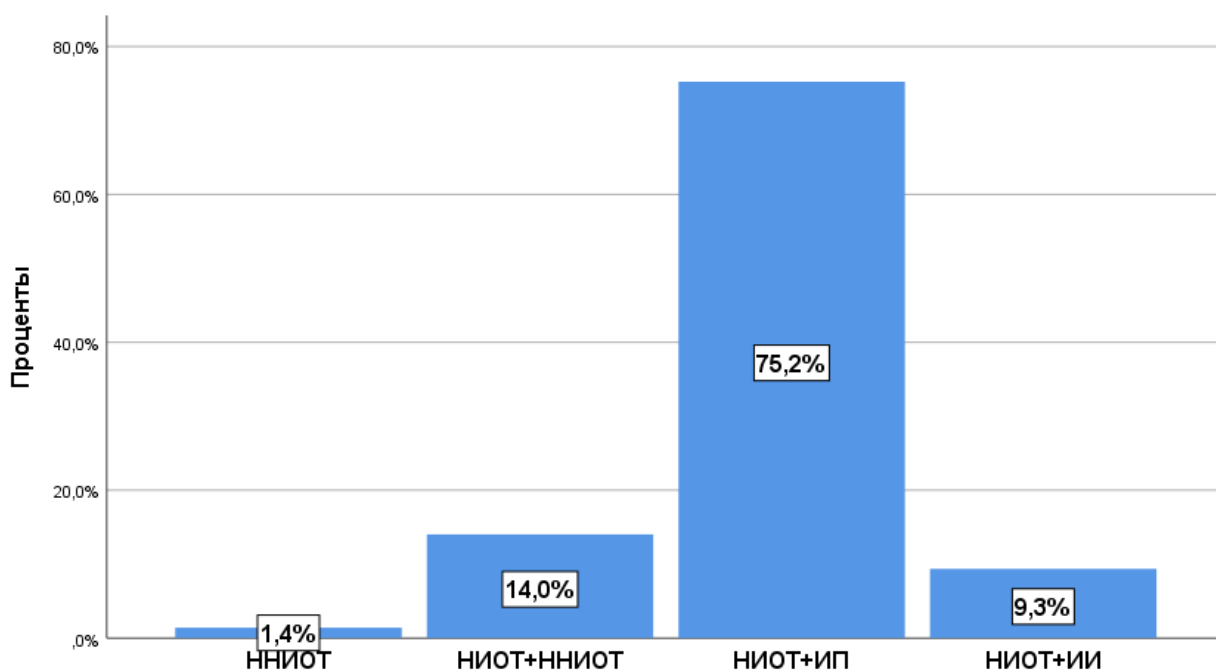


**Рисунок 5.** Распределение женщин, инфицированных ВИЧ, по стадиям заболевания

При первичном обращении для проведения программы ЭКО 9 из 214 (4,2%) женщин не получали АРТ. Медиана уровня вирусной нагрузки составила 2206,5 (86,75;9133,7) копий/мл. Пациентки были направлены к специалистам центра СПИД для назначения АРТ. У всех была достигнута

неопределяемая вирусная нагрузка в крови, что позволило этим женщинам планировать беременность.

Перед проведением программы ЭКО все пациентки получали комбинированную АРТ, в том числе 161 (75,2%) – препараты группы НИОТ в сочетании с ИП, 30 (14%) - НИОТ и ННИОТ, 20 (9,3%) – НИОТ и ИИ, 3 (1,4%) – три препарата группы НИОТ (рисунок 6). Наиболее часто в комбинированной терапии использовались 2 препарата группы НИОТ в сочетании с ИП, ННИОТ или ИИ. В 3 из 214 (1,4%) наблюдений была использована схема с применением 1-го препарата группы НИОТ в сочетании с ИИ, и в 6 из 214 (2,8%) – в сочетании с ИП. Важно отметить, что у 143 (66,8%) пациенток были назначены АРВП из группы НИОТ с известной высокой митохондриальной токсичностью (диданозин, ставудин, зидовудин), а другие 71 (33,2%) – получали препараты с незначительным токсическим эффектом на митохондрии (фосфазид, ламивудин, абакавир, тенофофир, эмтрицитабин). Среди высокотоксичных препаратов наиболее часто применяли зидовудин (31,8%), диданозин использовали 3 (1,4%) пациентки и 1 (0,4%) – ставудин. Медиана продолжительности АРТ составила 4,5 (2,4;8) года, а вирусная нагрузка в крови была неопределяемая в 100% случаев.



**Рисунок 6.** Распределение женщин, инфицированных ВИЧ, в зависимости от назначенной схемы АРТ

Иммунный статус пациенток с ВИЧ-инфекцией перед программой ЭКО представлен в таблице 6. Медиана количества Т-лимфоцитов хелперов (CD3+/CD4+ (630(496;791)) и Т-лимфоцитов супрессоров (CD3+/CD8+ - (756 (569;1031)), а также показатели иммунореактивного индекса (CD4+/CD8+ - 0,89 (0,54;1,1)) свидетельствовали об относительно «благополучном» состоянии иммунной системы, что обусловлено приемом эффективной АРТ. Тот факт, что уровень Т-супрессоров эффекторов (CD3+/CD8+) превышал показатель Т-лимфоцитов хелперов индукторов (CD3+/CD4+) можно объяснить активацией иммунной системы вследствие остаточной репликации вируса.

Таблица 6.

**Показатели Т-клеточного иммунитета у пациенток с ВИЧ-инфекцией**

Показатели	ВИЧ-инфицированные пациентки n=214
Т-лимфоциты хелперы (CD3+/CD4+), абс.	630 (496;791)
Т-лимфоциты хелперы (CD3+/ CD4+), %	35 (30;40)
Т-лимфоциты супрессоры (CD3+/CD8+), абс.	756 (569;1031)
Т-лимфоциты супрессоры (CD3+/CD8+), %	38 (32;48)
Иммунорегуляторный индекс (CD4+/ CD8+)	0,89 (0,54;1,1)

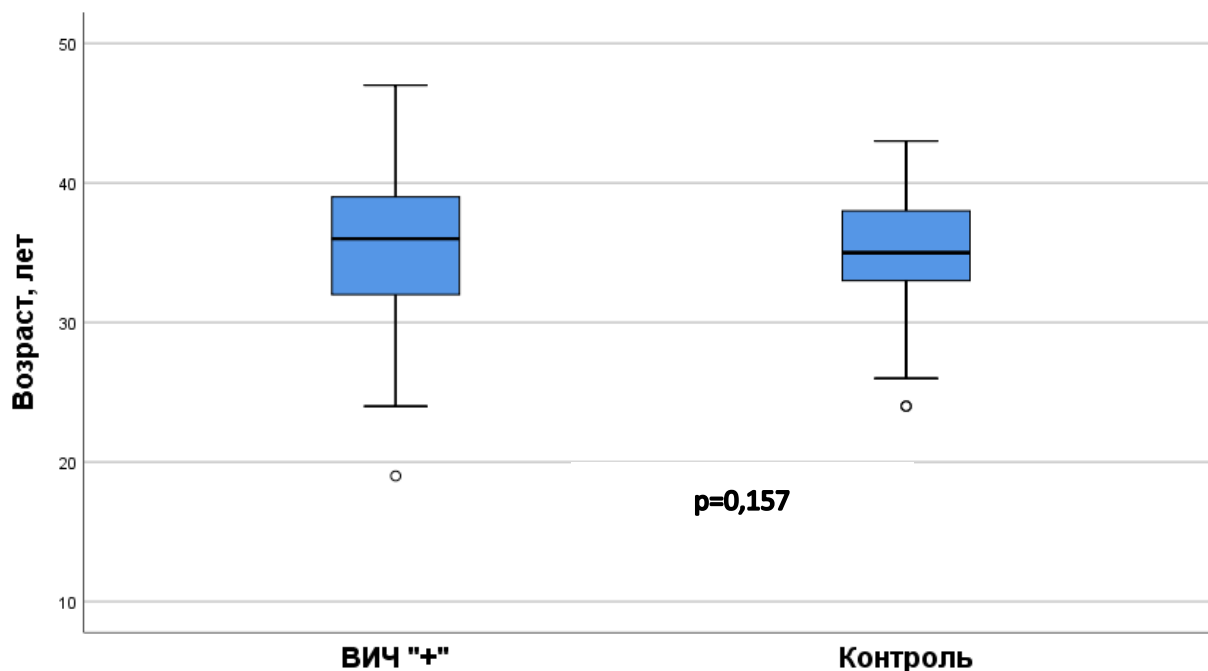
\* показатели представлены в виде Me (Q1;Q3), где Me – медиана, Q1 – 25 (нижний) квартиль, Q3 – 75 (верхний) квартиль.

У 58 из 214 (27,1%) пациенток с ВИЧ-инфекцией были обнаружены антитела IgG к ВГС.

Исходя из вышеизложенного, в изучаемой когорте женщин, инфицированных ВИЧ, наблюдался длительный «стаж» заболевания, небольшая продолжительность АРТ, неопределяемая вирусная нагрузка в крови и относительно «благополучное» состояние иммунной системы.

### **3.3. Клинико-anamнестические данные и лабораторные показатели пациенток с ВИЧ-инфекцией**

Анализ клинико-anamнестических данных показал, что ВИЧ-инфицированные пациентки и женщины без ВИЧ-инфекции были сопоставимы по возрасту (36 (32;39) и 35 (33;38) лет соответственно;  $p=0,157$ ) (рис. 7), возрасту менархе (13,3 (1,3) и 13,2 (1,1) лет;  $p=0,681$ ), длительности менструации (4,85 (1,7) и 4,86 (0,8) дня;  $p=0,893$ ) и продолжительности менструального цикла (29,2 (9) и 28,7 (2,7) дней;  $p=0,452$ ) (таблица 7).



**Рисунок 7.** Возраст женщин, включенных в исследование

**Таблица 7.**

**Менструальная функция в исследуемых группах пациенток**

Показатели	ВИЧ «+» n=214	ВИЧ «-» n=218	p-value**
Возраст менархе, лет	13,3 (1,3)	13,2 (1,1)	0,681
Длительность менструации, дни	4,45 (1,7)	4,86 (0,8)	0,893
Продолжительность цикла, дни	29,2 (9,0)	28,7 (2,7)	0,452

\*Данные представлены в виде среднего значения (стандартное отклонение)

\*\*p <0,05 (95% уровень значимости) – статистически значимые отличия, t-test

Показатели ИМТ также были сопоставимы между пациентками обеих групп (Me 23 (20;26) и 22 (21;24,5) кг/см<sup>2</sup>; p=0,346). В структуре соматической патологии у женщин, инфицированных ВИЧ, преобладали воспалительные заболевания мочевыделительной системы (таб. 8). Существенных отличий в

структуре экстрагенитальной патологии в исследуемых группах выявлено не было.

**Таблица 8.**

**Соматические заболевания в исследуемых группах пациенток**

Соматическая патология	ВИЧ «+» n=214	ВИЧ «-» n=218	p-value*
Заболевания мочевыделительной системы	44,8% (96/214)	37,6% (82/218)	0,234
Заболевания сердечно-сосудистой системы	8,4% (18/214)	9,6% (21/218)	0,486
Заболевания желудочно-кишечного тракта	13% (28/214)	11,9% (26/218)	0,376
Заболевания эндокринной системы	4,6% (10/214)	5% (11/218)	0,786
Заболевания органов дыхания	4,6% (10/214)	6,8% (15/218)	0,652

\*p <0,05 (95% уровень значимости) – статистически значимые отличия

Обращает на себя внимание более раннее начало половой жизни у женщин в основной группе исследования (17,4±2,5 и 18,3±2,6 лет; p <0,0001). Как результат, у пациенток с ВИЧ-инфекцией существенно чаще по сравнению с женщинами контрольной группы имело место искусственное прерывание беременности (таблица 9) (37,9% и 12,8%; p <0,0001). Частота ранних репродуктивных потерь (17,8% и 15,6%; p=0,547) и живорождений (16,4% и 10,6%; p=0,077) были сопоставимы между группами, а трубная беременность чаще наблюдалась в основной группе исследования (22,4% и 13,7%; p=0,041). Следует отметить, что самопроизвольное прерывание в поздних сроках беременности (16-20 недель) статистически значимо чаще встречалось у ВИЧ-инфицированных пациенток в сравнении с группой контроля (4,7% и 0,9%; p=0,018). Кроме этого, в 1,4% (3 из 214) наблюдений у

ВИЧ-инфицированных женщин была антенатальная гибель плода при доношенной беременности. Все случаи позднего самопроизвольного прерывания беременности и антенатальной гибели плода наблюдались после постановки диагноза ВИЧ-инфекция (таб.9).

В основной группе исследования живорождения после выявления ВИЧ-инфекции были в 6,5% (14 из 214) случаев, при этом все рожденные дети были ВИЧ-отрицательными, что обусловлено наличием неопределяемого уровня РНК ВИЧ у женщины вследствие приема АРТ и назначением химиопрофилактики ВИЧ новорожденному.

**Таблица 9**

**Репродуктивный анамнез в исследуемых группах пациенток**

Параметры	ВИЧ «+» n=214	ВИЧ «-» n=218	p-value*
Искусственный аборт	37,9% (81/214)	12,8% (28/217)	<b>0,0001</b>
Ранние репродуктивные потери (неразвивающаяся беременность, самопроизвольный выкидыш)	17,8% (38/214)	15,6% (34/218)	0,547
Поздний самопроизвольный выкидыш	4,7% (10/214)	0,9% (2/218)	<b>0,018</b>
Трубная беременность	22,4% (48/214)	13,7% (30/218)	<b>0,041</b>
Роды	16,4% (35/214)	10,6% (23/218)	0,077
Антенатальная гибель плода	1,4% 3 из 214	-	0,493

\*p <0,05 (95% уровень значимости) – статистически значимые отличия

Анализ структуры гинекологических заболеваний (таб. 10) в изучаемых группах показал, что у пациенток с ВИЧ-инфекцией в сравнении с женщинами без ВИЧ-инфекции существенно чаще диагностировали остроконечные кондиломы половых органов (7,5% и 3,2%; p=0,048), урогенитальный хламидиоз (6,5% и 1,9%; p<0,0001), сифилис (5,6% и 0,9%; p<0,0001), а также вирус папилломы человека (ВПЧ) высокого онкогенного типа (8,8% и 3,6%;



p=0,048). Лейкоплакия (2,8% и 1,4%; p=0,299) и поражение эпителия шейки матки типа LSIL (2,3% и 1,4%; p=0,459) наблюдались одинаково часто в обеих группах исследования, а HSIL (3,7%) и рак шейки матки (2,3%) - только у ВИЧ-инфицированных пациенток. Рак эндометрия был диагностирован у 1 (0,4%) женщины в основной группе данного исследования. В обеих группах одинаково часто наблюдались воспалительные заболевания придатков матки, а именно хронический сальпингоофорит (19,2% и 23,9%; p=0,235) и гидросальпинкс (22,9% и 20,2%; p=0,493). При этом, осложненные формы воспалительных заболеваний придатков матки (пиовар, пиосальпинкс) встречались, как правило, в основной группе (5,1% и 0,9%; p=0,01) исследования. Распространенность миомы матки (15,9% и 11%; p=0,137) и наружного генитального эндометриоза (8,4% и 9,6%; p=0,546) не имела статистически значимых отличий между группами. Доброкачественные кисты яичников встречались у 8,4% (18/214) ВИЧ-инфицированных пациенток и у 9,6% (21/218) женщин без ВИЧ-инфекции (p=0,326). Частота встречаемости нарушений менструального цикла по типу олигоменореи также была сопоставима между группами (2,3% и 0,9%, p=0,245).

**Таблица 10**

**Гинекологические заболевания в исследуемых группах пациенток**

Заболевания	ВИЧ «+» n=214	ВИЧ «-» n=218	p-value*
Остроконечные кондиломы	7,5% (16/214)	3,2% (7/218)	<b>0,048</b>
ИППП: Хламидиоз	6,5% (14/214)	1,9% (4/218)	<b>&lt;0,0001</b>
Сифилис	5,6% (12/214)	0,9% (2/218)	
ВПЧ 16,18 тип	8,8% (19/214)	3,6% (8/218)	<b>0,048</b>
Лейкоплакия шейки матки	2,8% (6/214)	1,4% (3/218)	0,299
LSIL	2,3% (5/214)	1,4% (3/218)	0,459

HSIL	3,7% (8/214)	-	<b>0,004</b>
Рак шейки матки	2,3% (5/214)	-	<b>0,023</b>
Рак эндометрия	0,4% (1/214)	-	0,176
Хронический сальпингоофорит	19,2% (41/214)	23,9% (52/218)	0,235
Гидросальпинкс	22,9% (49/214)	20,2% (44/218)	0,493
Гнойно-воспалительные заболевания придатков матки (пиосальпинкс, пиовар)	5,1% (11/214)	0,9% (2/218)	<b>0,010</b>
Миома матки	15,9% (34/214)	11% (24/218)	0,137
Наружный генитальный эндометриоз	8,4% (18/214)	9,6% (21/218)	0,546
Доброкачественные кисты яичников	8,4% (18/214)	9,6% (21/218)	0,326
Олигоменорея	2,3% (5/214)	0,9% (2/218)	0,245

\*  $p < 0,05$  (95% уровень значимости) – статистически значимые отличия

Хирургическое лечение гинекологических заболеваний проводились одинаково часто в обеих группах исследования ( $p=0,398$ ): у 124 из 214 (57,9%) женщин с ВИЧ-инфекцией и у 135 из 218 (61,9%) – без ВИЧ-инфекции (таб.11). В обеих группах исследования преобладала тубэктомия, но чаще выполнялась у пациенток с ВИЧ-инфекцией (43,4% и 31,2%;  $p=0,03$ ). Оперативные вмешательства на яичниках были проведены у каждой восьмой ВИЧ-инфицированной пациентки (12,6%) и у каждой пятой женщины без ВИЧ-инфекции (18,3%;  $p=0,08$ ). В гистологической структуре доброкачественных образований яичников, которые явились показанием к оперативному вмешательству, существенных различий не было обнаружено.

В обеих группах преобладала эндометриоидная киста яичника (4,7% и 6%), серозная цистаденома наблюдалась у 2 (0,9%) женщин с ВИЧ-инфекцией и у 6 (2,8%) пациенток контрольной группы, а киста желтого тела у 5 (2,3%) - в основной группе и у 2 (0,9%) женщин без ВИЧ-инфекции.

Реконструктивно-пластические операции на маточных трубах (5,1% и 4,6%;  $p=0,789$ ), сальпингоовариолизис/адгезиолизис (17,3% и 21,6%;  $p=0,262$ ) и аднексэктомия (3,3% и 0,9%;  $p=0,087$ ) были выполнены одинаково часто в обеих группах. У 18 из 214 (8,4%) пациенток с ВИЧ-инфекцией и у 21 из 218 (9,6%;  $p=0,546$ ) женщин без ВИЧ проведена коагуляция очагов эндометриоза, а миомэктомия - у 18 из 214 (8,4%) пациенток в основной и у 10 из 218 (4,6%) контрольной группах данного исследования.

Хирургический метод лечения патологии шейки матки в объеме конизации/эксцизии был выполнен у 9 из 214 (4,2%) пациенток с ВИЧ-инфекцией и у 6 из 218 (2,8%) женщин контрольной группы, а трахелэктомия проводилась только в группе женщин с ВИЧ-инфекцией в 2,3% (5/214) наблюдений в связи с выявленным злокачественным заболеванием.

Оперативные вмешательства на органах брюшной полости в связи с острой кишечной непроходимостью (1,4% и 1,3%;  $p=0,777$ ) и перитонитом (1,4% и 0,9%;  $p=0,986$ ) были у 6 (2,8%) пациенток основной группы и у 5 (2,3%) женщин контрольной группы.

**Таблица 11**

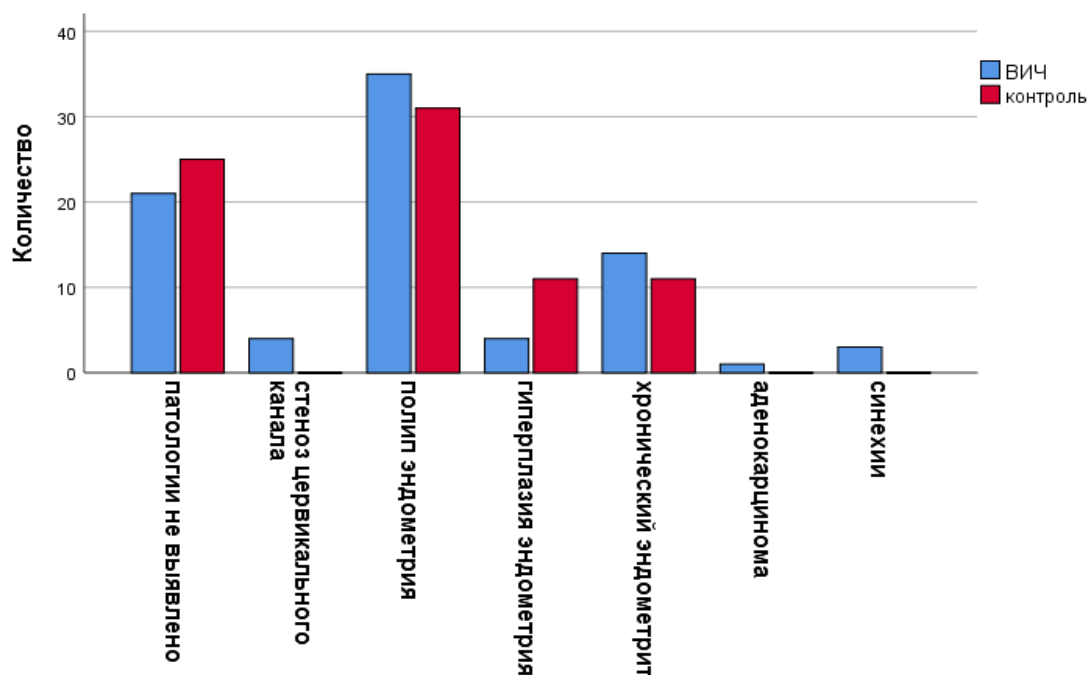
**Хирургическое лечение гинекологической патологии  
в исследуемых группах пациенток**

Объем хирургического лечения	ВИЧ «+» n=214	ВИЧ «-» n=218	p-value *
Конизация/эксцизия шейки матки	4,2% (9/214)	2,8% (6/218)	0,409
Ампутация шейки матки	2,3% (5/214)	-	<b>0,023</b>
Сальпингоовариолизис/адгезиолиз	17,3% (37/214)	21,6% (47/218)	0,262
Реконструктивно-пластические операции на маточных трубах	5,1% (11/214)	4,6% (10/218)	0,789

Тубэктомия	43,4% (93/214)	31,2% (68/218)	0,03
Аднексэктомия	3,3% (7/214)	0,9% (2/218)	0,087
Резекция яичника/яичников, диатермокоагуляция, овариоэктомия	12,6% (27/214)	18,3% (40/214)	0,080
Миомэктомия	8,4% (18/214)	4,6% (10/218)	0,107
Коагуляция очагов эндометриоза	8,4% (18/214)	9,6% (21/218)	0,546

\* $p < 0,05$  (95% уровень значимости) – статистически значимые отличия

Гистероскопия была выполнена у 81 из 214 (37,8%) ВИЧ-инфицированных пациенток и у 78 из 218 (35,7%) женщин группы контроля. В 9,8% (21/214) наблюдений в основной и в 12,3% (27/218) - контрольной группах патологии выявлено не было ( $p=0,306$ ) (рисунок 8). Наиболее часто выявляемой при гистероскопии патологией был полип эндометрия, который встречался в 15,8% случаев у пациенток с ВИЧ-инфекцией и в 16,4% ( $p=0,903$ ) случаев у женщин контрольной группы. Гиперплазия эндометрия (1,8% и 2,7%;  $p=0,475$ ) и хронический эндометрит (7% и 5,9%;  $p=0,759$ ) наблюдались одинаково часто в обеих группах, а стеноз цервикального канала (1,8%), внутриматочные синехии (1,4%) и аденокарцинома эндометрия (0,46%) – только у ВИЧ-инфицированных пациенток.



**Рисунок 8. Патология, выявленная при гистероскопии**

У женщин с ВИЧ-инфекцией статистически значимо чаще наблюдалось вторичное (57,9% и 37,8%;  $p < 0,0001$ ), а у пациенток без ВИЧ-инфекции – первичное (34,1% и 62,2%;  $p < 0,0001$ ) бесплодие. Следует отметить, что ВИЧ-инфицированные пациентки имели более длительное бесплодие в сравнении с женщинами без ВИЧ-инфекции (5 (3;9) и 4 (2,5;7) лет соответственно;  $p=0,013$ ). При этом длительность бесплодия в основной группе исследования имела очень слабую положительную корреляцию со «стажем» ВИЧ-инфекции ( $r=0,149$ ;  $p=0,042$ ) и не зависела от продолжительности АРТ ( $r=0,087$ ;  $p=0,248$ ).

**Таблица 12**  
**Факторы бесплодия в исследуемых группах пациенток**

Фактор бесплодия	ВИЧ «+» n=214	ВИЧ «-» n=218	p-value
Трубно-перитонеальный	48,1% (103/214)	44,2% (96/218)	0,418
Мужской	22% (47/214)	28,1% (61/218)	0,141
Сочетанный	11,7%	18,4%	0,052

	(25/214)	(40/218)	
Эндокринный	2,3% (5/214)	0,9% (2/218)	0,245
Неясный генез бесплодия	8,4% (18/214)	8,3% (18/218)	0,965
Бесплодия нет (контрацепция)	7,9% (17/214)	-	-

$p < 0,05$  (95% уровень значимости) – статистически значимые отличия

Анализ причин бесплодия (таб. 12) показал, что в обеих группах преобладал трубно-перитонеальный фактор (48,1% и 44,2%;  $p=0,141$ ); распространенность мужского бесплодия составила 22% (47/214) в основной и 28,1% (61/218;  $p = 0,141$ ) - контрольной группах исследования. В 11,7% (25/214) случаев в основной группе и в 18,4% (40/218) в группе контроле показанием для проведения программы ЭКО был сочетанный фактор (трубно-перитонеальный и мужской) бесплодия. Ановуляция была выявлена у 5 из 214 (2,3%) пациенток с ВИЧ-инфекцией и у 2 из 218 (0,9%) женщин без ВИЧ-инфекции. Причина бесплодия не была установлена (неясный генез) в 8,4% (18/214) наблюдений в основной и в 8,3% (18/218) случаев контрольной группах. У 17 из 214 (7,9%) ВИЧ-инфицированных пациенток бесплодия не было, в связи с чем, проведение программы ЭКО осуществлялось по эпидемиологическим показаниям.

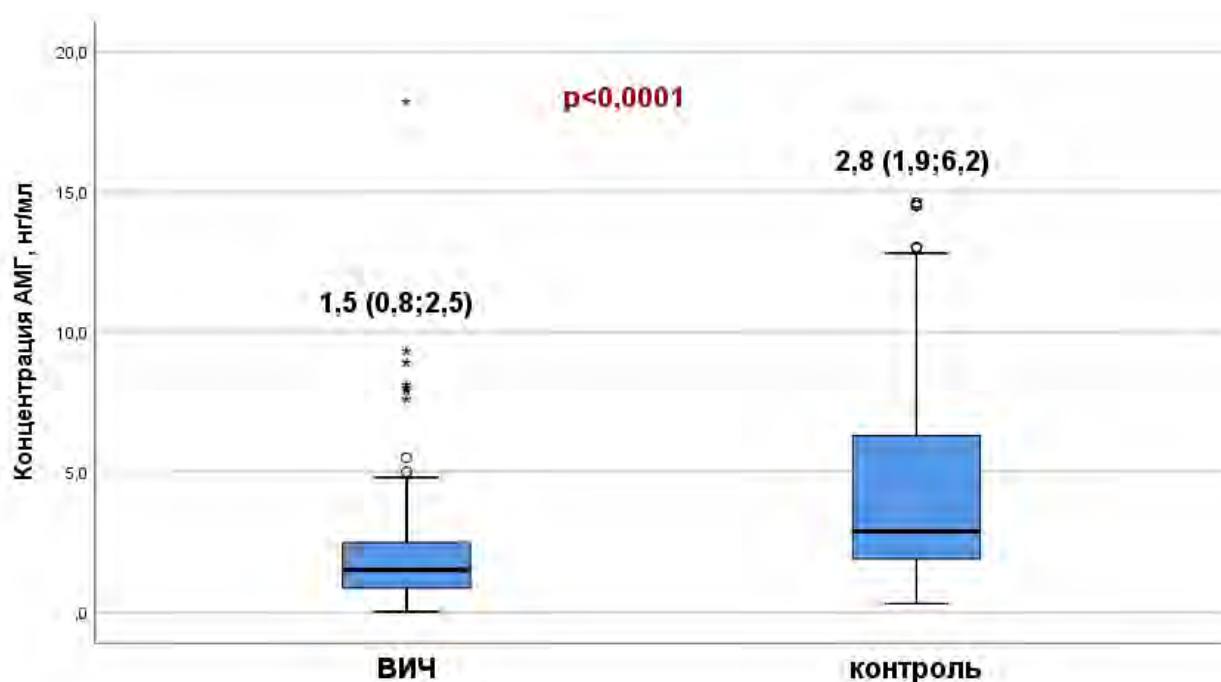
У 35 из 214 (16,4%) ВИЧ-инфицированных пациенток и у 42 из 218 (19,3%;  $p=0,429$ ) женщин без ВИЧ-инфекции были неэффективные программы ВРТ в анамнезе. Следует отметить, что частота эффективных программ ЭКО у пациенток в основной группе была существенно ниже, чем у женщин группы контроля (2,8% и 6,9% соответственно;  $p=0,049$ ). При этом у 5 (83,3%) ВИЧ-инфицированных женщин была диагностирована неразвивающаяся беременность и только у 1-й (16,7%) исходом программы ЭКО были роды, в группе пациенток с ВИЧ-отрицательным статусом: у 6 (37,5%) – роды, в 9

(56,3%) случаях – неразвивающаяся беременность и у 1-й (6,3%) – внематочная беременность.

Таким образом, полученные результаты показали, что у женщин, инфицированных ВИЧ, имел место более ранний дебют половой жизни, отмечено большее число медицинских аборт, поздних самопроизвольных выкидышей и трубной беременности. Только в данной группе пациенток диагностировали стеноз цервикального канала и внутриматочные синехии, поражение эпителия шейки матки типа HSIL и рак шейки матки, а в структуре гинекологических заболеваний существенно чаще встречались ИППП, ВПЧ, остроконечные кондиломы и осложненные формы воспалительных заболеваний органов малого таза. У женщин, инфицированных ВИЧ, чаще встречалось вторичное, обусловленное трубно-перитонеальным фактором бесплодие, а его длительность имела очень слабую положительную корреляцию со «стажем» ВИЧ-инфекции и не зависела от продолжительности АРТ.

### **3.3.1. Маркеры овариального резерва у женщин с ВИЧ-инфекцией, принимающих АРТ**

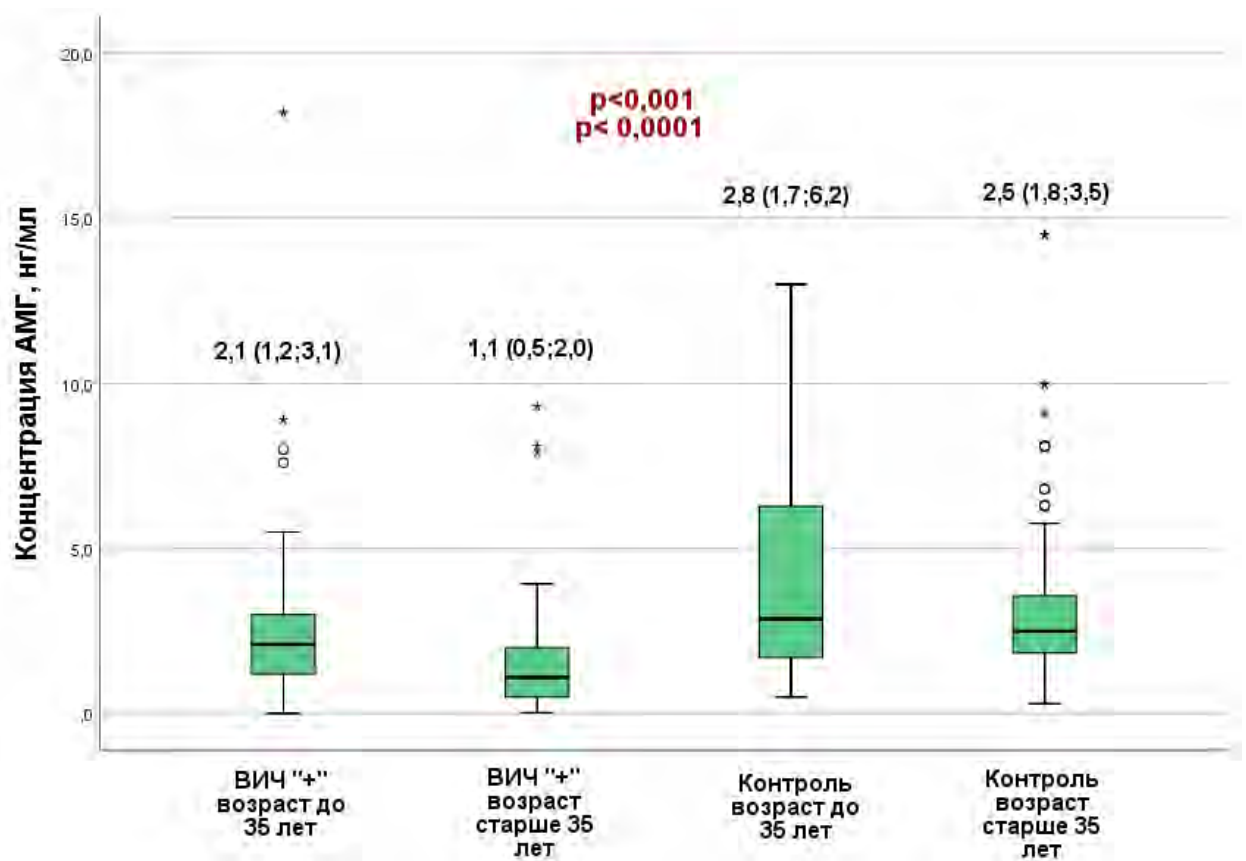
Гормональные показатели овариального резерва у пациенток с ВИЧ-инфекцией были в пределах нормативных значений (рис.7), но концентрация АМГ у пациенток с ВИЧ-инфекцией была существенно ниже (Ме 1,5 (0,8;2,5) и 2,8 (1,9;6,2) нг/мл;  $p < 0,0001$ ) (рис.7), а уровни ФСГ - значимо выше (Ме 7,8 (6,1;10,1) и 6,3 (5,2;7,4) МЕ/л;  $p < 0,0001$ ), чем у женщин без ВИЧ-инфекции (рис. 9). Существенных различий в концентрациях  $E_2$  (Ме 157,5 (107,9;242,4) и 162 (122;201,5) пмоль/л;  $p=0,509$ ) у пациенток исследуемых групп выявлено не было.



**Рисунок 9. Концентрация АМГ в исследуемых группах**

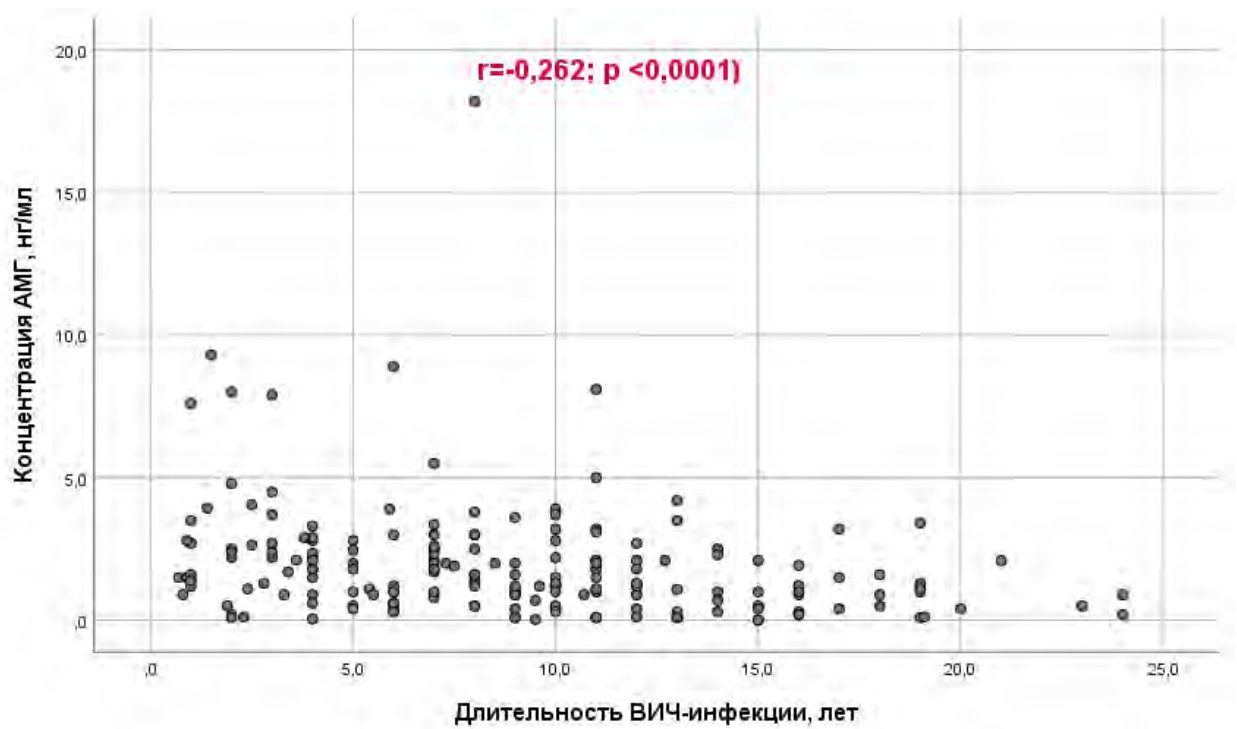
При оценке силы взаимосвязи концентрация АМГ положительно коррелировала со значением ИМТ: в основной группе исследования коэффициент корреляции ( $r$ ) составил 0,248 ( $p = 0,001$ ), в группе контроля -  $r = 0,398$  ( $p < 0,0001$ ). Кроме этого, была выявлена обратная статистически значимая зависимость между уровнем АМГ и возрастом, как в основной группе ( $r = - 0,338$ ;  $p < 0,0001$ ) исследования, так и в группе контроля ( $r = - 0,406$ ;  $p < 0,0001$ ). При стратификации пациенток исследуемых групп по возрасту, концентрация АМГ у женщин с ВИЧ-инфекцией также была существенно ниже, чем у пациенток без ВИЧ-инфекции, как в возрасте до 35 лет (Me 2,1 (1,2;3,1) и 2,8 (1,7;6,2) нг/мл;  $p < 0,001$ ), так и старше (Me 1,1 (0,5;2,0) и 2,5 (1,8;3,5) нг/мл;  $p < 0,0001$ ) (рис. 10).



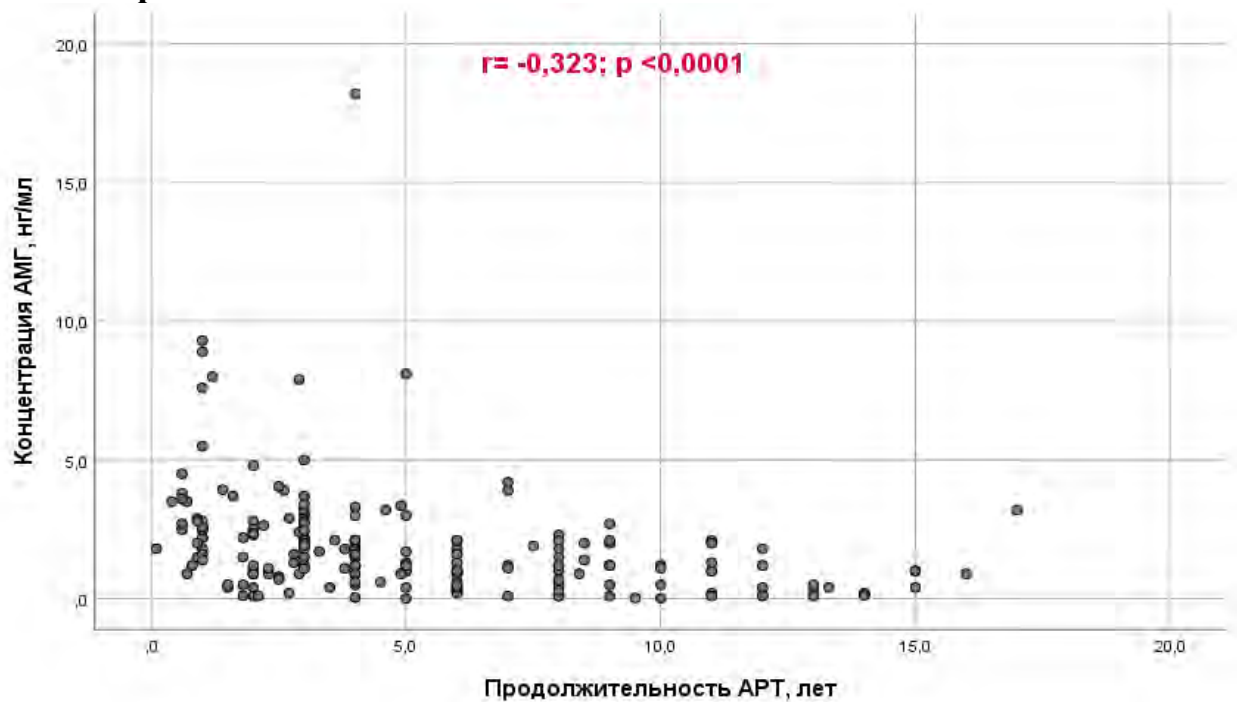


**Рисунок 10. Концентрация АМГ в зависимости от возраста пациенток**

В основной группе исследования уровень АМГ отрицательно коррелировал с длительностью заболевания ( $r = -0,262$ ;  $p < 0,0001$ ) и продолжительностью АРТ ( $r = -0,323$ ;  $p < 0,0001$ ) (рис. 11,12) и не зависел от показателей CD+4 лимфоцитов ( $r = 0,101$ ;  $p = 0,181$ ).



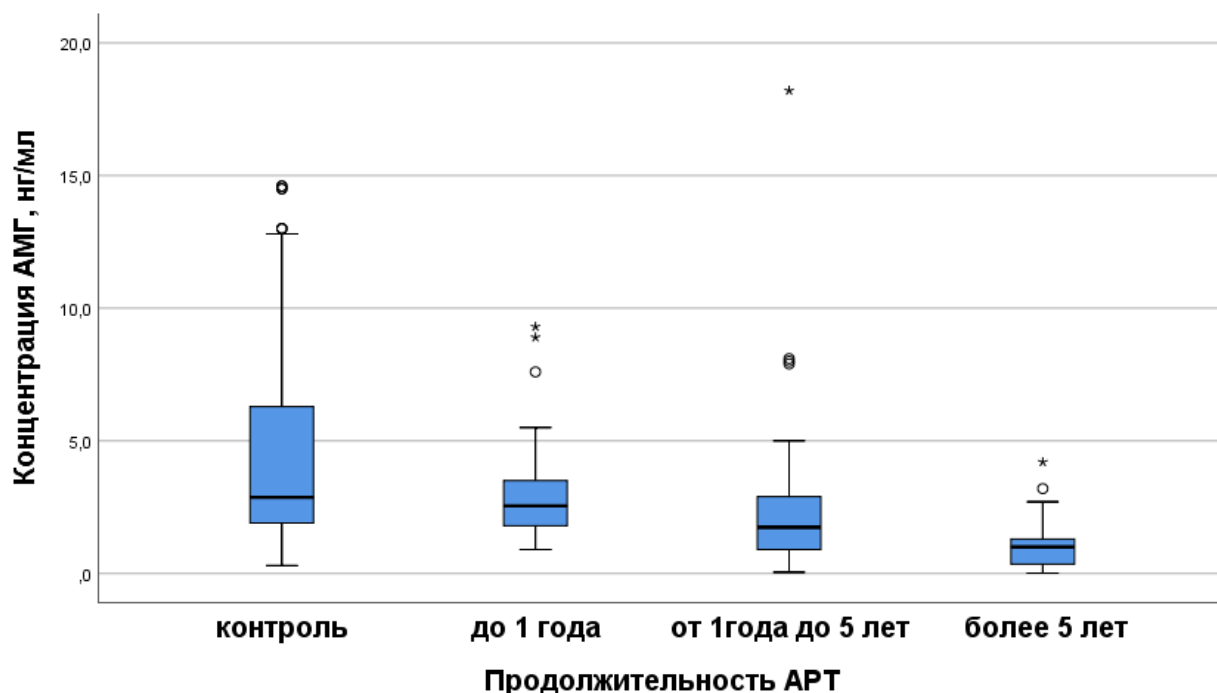
**Рисунок 11. Корреляционная зависимость концентрации АМГ и «стажа» ВИЧ -инфекции**



**Рисунок 12. Корреляционная зависимость концентраций АМГ и продолжительности АРТ**

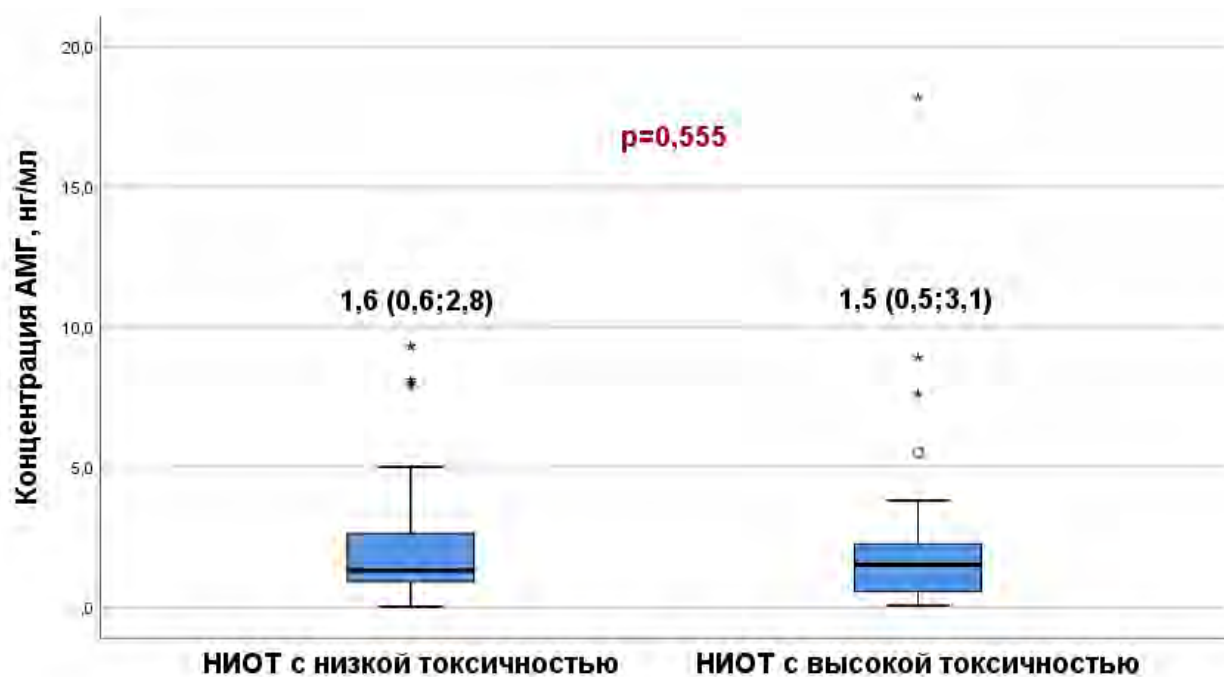
Следует отметить, что при продолжительности приема АРТ до 1 года уровни АМГ у ВИЧ-инфицированных женщин были сопоставимы с группой

контроля (Ме 2,5 (1,8;3,5) и 2,8 (1,9;6,2) нг/мл;  $p=0,251$ ). Вместе с тем, прием АРТ от 1 года до 5 лет ассоциировался со снижением концентрации АМГ снижалась (1,7 (0,9;2,9) нг/мл), что было статистически значимо ниже, чем в контрольной группе (2,8 (1,9;6,2;  $p < 0,0001$ ). В случаях использования АРТ более 5 лет наблюдали еще более существенное уменьшение показателей АМГ, медиана уровня которого в данной группе пациентов составляла 1,0 (0,3;1,3) нг/мл ( $p < 0,0001$ ) (рис.13).



**Рисунок 13.** Концентрация АМГ в зависимости от продолжительности АРТ

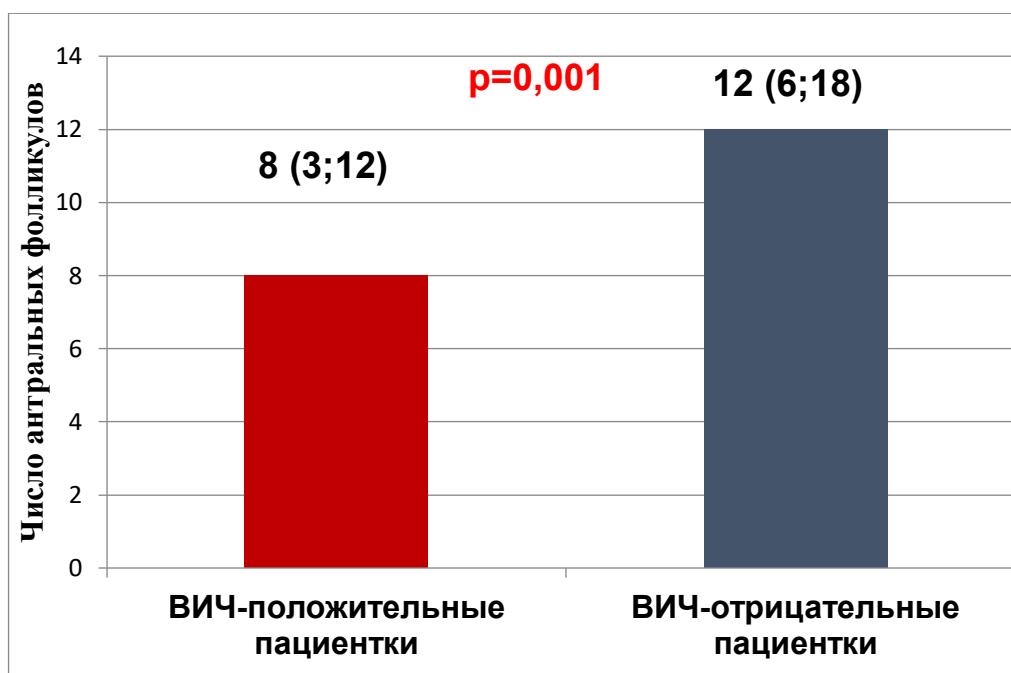
Далее был проведен анализ концентраций АМГ в зависимости от используемых в схемах АРТ препаратов группы НИОТ с учетом их митохондриальной токсичности (рис. 14). Было показано, что при применении НИОТ с доказанной низкой токсичностью на митохондрии (фосфазад, ламивудин, абакавир, тенофовир, эмтрицитабин) концентрация АМГ была сопоставима с таковой при использовании высокотоксичных препаратов (диданозин, ставудин, зидовудин) (Ме 1,6 (0,6;2,8) и 1,5 (0,5;3,1) нг/мл;  $p=0,555$ ). Другими словами, большее негативное влияние на концентрацию АМГ имеет кумулятивный эффект длительной АРТ, а не выраженность митохондриальной токсичности АРВП.



**Рисунок 14.** Концентрация АМГ в зависимости от токсичности используемых препаратов группы НИОТ

Важно отметить, что сочетание ВИЧ и ВГС не ухудшало показатели АМГ по сравнению с моноинфекцией ВИЧ. Концентрация АМГ у ВИЧ-инфицированных пациенток с коинфекцией ВГС были сопоставимы с его концентрацией у женщин с ВИЧ-инфекцией без сопутствующего ВГС (Ме 1,7 (0,9;2,6) и 1,4 (0,6; 2,4) нг\мл;  $p=0,244$ ).

Оценка числа антральных фолликулов, как еще одного маркера овариального резерва, показала существенное их снижение у женщин с ВИЧ-инфекцией по сравнению с ВИЧ – отрицательными пациентками (8 (3;12) и 12 (6;18);  $p=0,001$ ) (рис. 15).

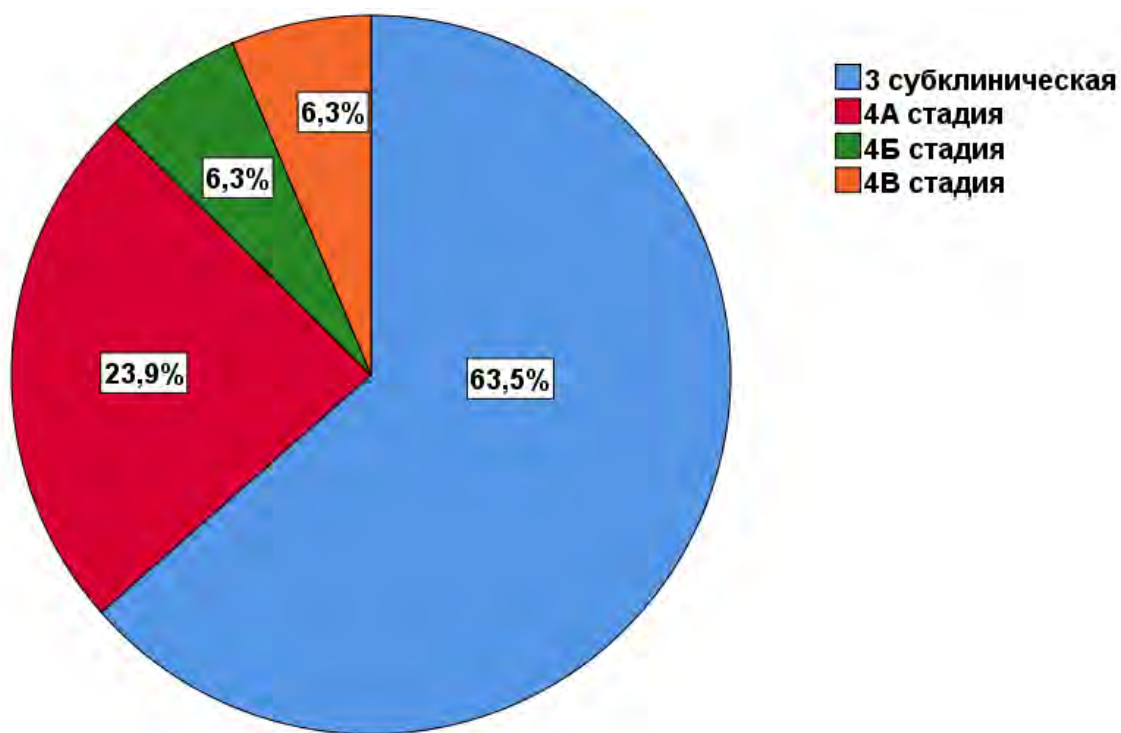


**Рисунок 15.** Число антральных фолликулов у пациенток исследуемых групп

Таким образом, в исследуемых группах концентрация АМГ зависела от возраста и ИМТ пациенток. Хотя уровень АМГ у женщин с ВИЧ-инфекцией находился в пределах нормативных значений, он был существенно ниже в сравнении с пациентками контрольной группы и обратно зависел не только от длительности заболевания, но и от продолжительности АРТ. Использование терапии более 5 лет приводило к существенному снижению показателей АМГ – основному маркеру овариального резерва. Концентрация данного гормона не зависела от токсичности используемых в схемах АРТ препаратов группы НИОТ, а также не изменялась в случаях коинфекции с ВГС.

### **3.4. Иммунный статус и характеристика ВИЧ-инфекции у мужчин**

Медиана возраста ВИЧ-инфицированных мужчин, включенных в данное исследование, составила 37 (34;40) лет, а продолжительность заболевания - 6 лет (3;13). Наиболее часто встречалась 3 субклиническая стадия (63,5%) заболевания, 4А - у 53 из 222 (23,9%) пациентов, а 4Б (6,3%) и 4В (6,3%) стадии наблюдались одинаково часто (рис. 16).

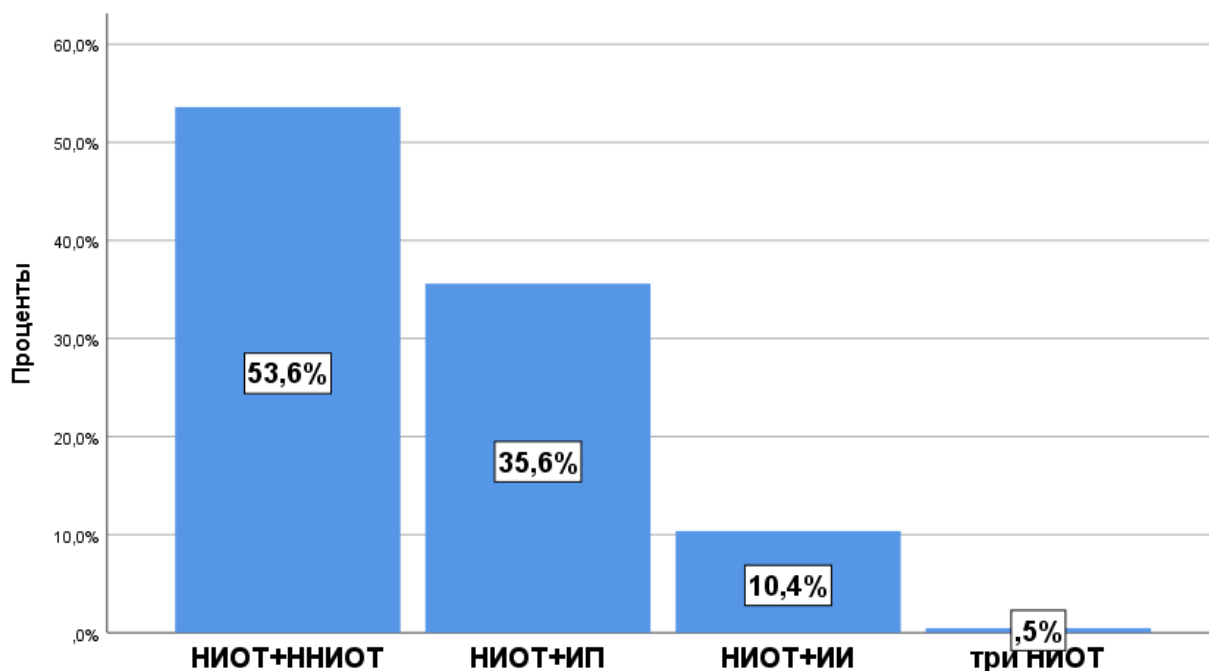


**Рисунок 16.** Распределение мужчин, инфицированных ВИЧ, по стадиям заболевания

При первичном обращении на консультативный прием 20 из 222 (9,4%) мужчин с ВИЧ-инфекцией не принимали АРТ. Медиана уровня вирусной нагрузки при этом составляла 35141 (1900;43000) копий/мл, а уровень CD4+ лимфоцитов 452 (382;663) кл/мкл. Пациенты были направлены к специалистам центра СПИД для назначения терапии, что позволило снизить вирусную нагрузку в крови и планировать беременность, в том числе с использованием ВРТ.

Все пациенты перед программой ЭКО в течение не менее 6 месяцев получали комбинированную терапию, в том числе 119 (53,6%) – АРВП из группы НИОТ + ННИОТ, 79 (35,6%) - НИОТ+ИП, 23 (10,4%) – НИОТ +ИИ, 1 (0,5%) – три препарата НИОТ (рисунок 17). Важно отметить, что большинство пациентов (75,2%) использовали НИОТ с низкой митохондриальной токсичностью, другие 55 (24,8%) – получали препараты с высоким токсичным влиянием на митохондрии. Среди высокотоксичных препаратов группы

НИОТ чаще использовали зидовудин, а диданозин применяли 3 из 222 (1,3%) ВИЧ-инфицированных мужчин.



**Рисунок 17.** Распределение ВИЧ-инфицированных мужчин, включенных в исследование, по частоте использования различных схем АРТ

Медиана продолжительности приема препаратов составила 3 (1,5;6) года. Вирусная нагрузка в крови перед программой ЭКО была неопределяемая в 100% случаев. Показатели Т-клеточного иммунитета у мужчин, инфицированных ВИЧ, представлены в таблице 13.

**Таблица 13.**

**Показатели Т-клеточного иммунитета у мужчин с ВИЧ-инфекцией**

Показатели	ВИЧ-инфицированные пациенты n=222
Т-лимфоциты хелперы (CD3+/CD4+), абс.	562 (433;750)
Т-лимфоциты хелперы (CD3+/ CD4+), %	28 (24;34)
Т-лимфоциты супрессоры (CD3+/CD8+), абс.	822 (638;1034)

Т-лимфоциты супрессоры (CD3+/CD8+), %	41 (35;48,7)
Иммунорегуляторный индекс (CD4+/ CD8+)	0,69 (0,54;0,92)

\* показатели представлены в виде Me (Q1;Q3), где Me – медиана, Q1 – 25 (нижний) квартиль, Q3 – 75 (верхний) квартиль.

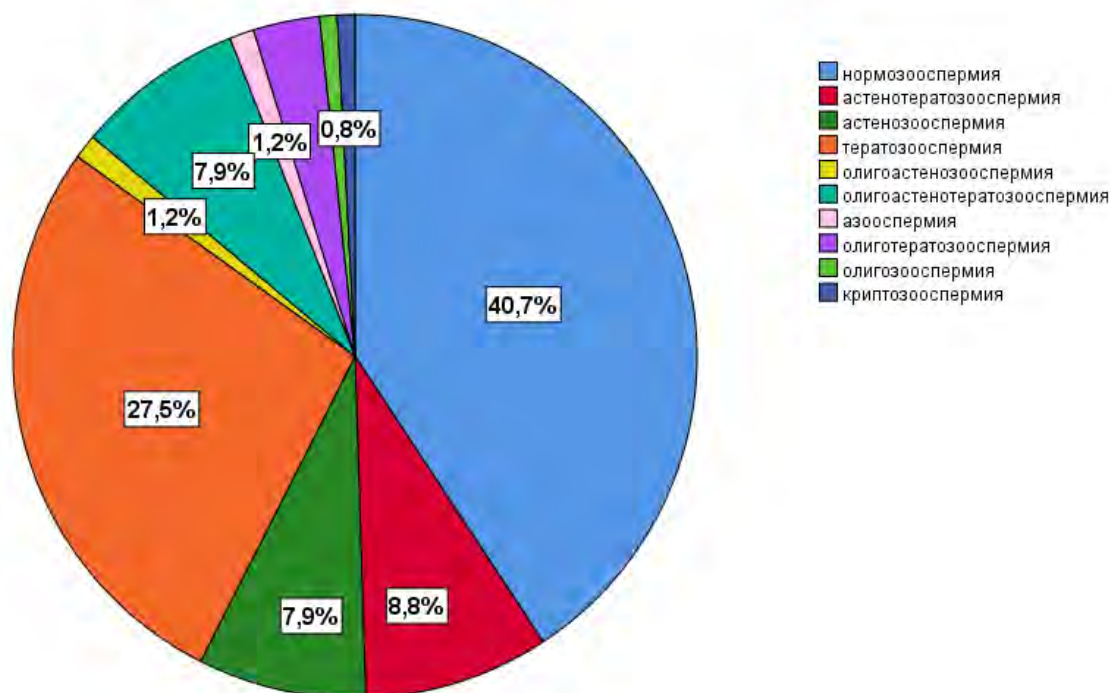
Показатели Т–лимфоцитов хелперов (CD3+/CD4+ (562(433;750)) и Т–лимфоцитов супрессоров (CD3+/CD8+ - (822 (638;1034)), а так же значение ИРИ (CD4+/CD8+ - 0,69 (0,5;0,92)) свидетельствовали скорее об удовлетворительном состоянии иммунной системы ВИЧ-инфицированных мужчин. Более чем у каждого третьего пациента (36,9%) регистрировали сочетание ВИЧ с ВГС и у 2 из 222 (0,9%) ВИЧ-инфицированных мужчин в анамнезе был сифилис.

Таким образом, у мужчин был относительно небольшой «стаж» заболевания ВИЧ и длительности АРТ. Большинство пациентов принимали препараты НИОТ в сочетании с ННИОТ, у всех перед программой ЭКО была неопределяемая вирусная нагрузка в крови и удовлетворительное состояние иммунной системы.

#### **3.4.1. Характеристика спермограмм ВИЧ-инфицированных пациентов**

Далее был проведен анализ показателей спермограмм (n=604) у мужчин с ВИЧ-положительным статусом (рис. 18).





**Рисунок 18.** Распределение мужчин с ВИЧ-инфекцией в зависимости от характеристики спермограммы.

Следует отметить, что нормозооспермия в данной группе пациентов наблюдалась менее чем в половине случаев (246 из 604 (40,7%)). В структуре патозооспермии преобладала тератозооспермия (166 из 604 (27,5%)). В 8,8% (53 из 604) наблюдений была астентератозооспермия, а астенозооспермия (48 из 604 (7,9%)) и олигоастентератозооспермия (48 из 604 (7,9%)) встречали одинаково часто. Реже наблюдали такие изменения показателей спермограммы как олиготератозооспермия (19 из 604 (3,1%)), олигоастенозооспермия (7 из 604 (1,2%)), азооспермия (7 из 604 (1,2%)), олигозооспермия (5 из 604 (0,8%)) и криптозооспермия (5 из 604 (0,8%)).

Далее оценили характеристики семиологической жидкости ВИЧ-инфицированных мужчин, не использующих АРТ, сравнив полученные данные с теми, кто получал АРВП и со здоровым контролем (таб.14). Количество лейкоцитов, круглых клеток и уровень рН были сопоставимы между группами.

Таблица 14.

**Спермограмма мужчин, инфицированных ВИЧ,  
принимающих/непринимающих АРВП**

Параметры	ВИЧ «+» с АРТ n= 566	ВИЧ «+» без АРТ n=38	ВИЧ «-» n= 595	P
Объем	3 (2,1;3,8)	2,9 (2;3,5)	3,1 (2,4;4,1)	0,679* <b>&lt;0,001**</b> <b>&lt;0,001***</b>
Лейкоциты	0,2 (0,1;0,4)	0,1 (0,1;0,4)	0,2 (0,1;0,6)	0,998* 0,247** 0,512***
Круглые клетки	0,4 (0,2;1,1)	0,3 (0,1;0,7)	0,4(0,3;1,3)	0,886* 0,322** 0,102***
Общее количество	118 (53;213,1)	154 (95;269,7)	188 (128,7;282,9)	<b>0,032*</b> 0,280** <b>&lt;0,001***</b>
Концентрация в 1 мл	43(24;67,7)	66 (44;100)	62(47;82)	<b>&lt;0,001*</b> 0,406** <b>&lt;0,001***</b>
pH	7,5(7,3;7,8)	7,5 (7,2;7,5)	7,6(7,3;7,8)	0,254* 0,138** 0,356***
Подвижность сперматозоидов (категория А)	10(4;16)	14 (6,2;21)	16(10;20)	0,105* 0,104** <b>&lt;0,001***</b>
Подвижность сперматозоидов (категория В)	31(22;39)	31,5 (21,2;36)	39(32;43)	0,390* <b>&lt;0,001**</b> <b>&lt;0,001***</b>
А+В	42(30;53)	44,1 (32,5;52,3)	55(48;62)	0,713* <b>&lt;0,001**</b> <b>&lt;0,001***</b>
Непрогрессивно- подвижные (категория С)	8,1(5;13)	7,5 (5;11,7)	7(5;9,5)	0,447* 0,895** <b>0,012***</b>
PR+NP (А+В+С)	52(42;62)	55,5 (45,5;62,7)	62 (57;69)	0,349* <b>&lt;0,001**</b> <b>&lt;0,001***</b>
Неподвижные (категория D)	47(37;57)	45 (38;56)	38(31;42)	0,966* 0,017** <b>&lt;0,001***</b>

Жизнеспособные	76(66;82)	82,5 (77,5;84,7)	84(82;87)	0,017* 0,030** <0,001***
Аномальные формы сперматозоидов	97(96;98)	96 (94;97)	96(95;96)	<0,001* 0,329** <0,001***
MAR	7(2;15)	6,5 (0,2;16,8)	8(2;18)	0,133* 0,498** 0,47***
Фрагментация ДНК сперматозоидов	15,8% (12,4;21,6)	14% (11,7;19,4)	10,6% (7,5;12,4)	0,506* 0,006** <0,001***

\* р между группой ВИЧ «+», принимающие АРТ и между ВИЧ «+», не принимающие АРТ

\*\* р между группой ВИЧ «+», не принимающих АРТ и здоровым контролем

\*\*\* р между ВИЧ «+», принимающие АРТ и здоровым контролем

При оценке объема эякулята статистически значимых отличий между ВИЧ-инфицированными пациентами, принимающими и не принимающими АРТ (3 (2,1;3,8) и 2,9 (2;3,5) мл;  $p=0,679$ ) не было выявлено, однако данный показатель у тех и у других оказался статистически значимо ниже по сравнению с мужчинами без ВИЧ-инфекции (3,1 (2,4;4,1) мл;  $p < 0,001$ ). Более того, у мужчин с ВИЧ-инфекцией, которые не получают АРВП, была выявлена высокая положительная взаимосвязь между объемом эякулята и уровнем CD4+ лимфоцитов ( $r=0,778$ ;  $p=0,014$ ) и отрицательная корреляция с уровнем вирусной нагрузки ( $r = -0,669$ ;  $p=0,03$ ) (таблица 15).

Общее количество ((154 (95;269,7) и 118 (53;213,1) млн;  $p=0,032$ ) и концентрация сперматозоидов (66 (44;100) и 43(24;67,7) млн/мл;  $p < 0,001$ ) у мужчин с ВИЧ-инфекцией, которые не принимали АРВП были существенно выше, чем у пациентов, использующих терапию и сопоставимы со здоровым контролем (188 (128,7;282,9) млн;  $p=0,280$  и 62(47;82) млн/мл;  $p=0,406$ ). При этом у ВИЧ-инфицированных мужчин, не использующих АРТ, общее количество сперматозоидов и их концентрация не зависели от длительности заболевания ( $r=0,127$ ;  $p=0,494$  и  $r=0,158$ ;  $p=0,358$ ), уровня вирусной нагрузки

в крови ( $r=-0,340$ ;  $p=0,237$  и  $r=-0,121$ ;  $p=0,754$ ) и количества CD4+ лимфоцитов ( $r=0,524$ ;  $p=0,183$  и  $r=0,273$ ;  $p=0,416$ ) (таблица 15).

Количество прогрессивно-подвижных сперматозоидов (44,1 (32,5;52,3) и 42(30;53);  $p=0,713$ ), общая подвижность (55,5 (45,5;62,7) и 52(42;62);  $p=0,349$ ) и число неподвижных форм (45 (38;56) и 47(37;57);  $p=0,966$ ) у ВИЧ-инфицированных пациентов, не использующих терапию были сопоставимы с пациентами, принимающими АРТ. Вместе с тем, число сперматозоидов категории «А» (14 (6,2;21) и 16 (10;20);  $p=0,104$ ) и непрогрессивно-подвижных форм категории «С» (7,5 (5;11,7) и 7(5;9,5);  $p=0,895$ ) было сопоставимо со здоровым контролем, а содержание сперматозоидов категории «В» (31,5% (21,2;36) и 39% (32;43);  $p<0,001$ ) и «А+В» (44,1% (32,5;52,3) и 55% (48;62);  $p<0,001$ ) оказалось ниже, чем у мужчин с подтвержденной фертильностью без ВИЧ-инфекции. Содержание прогрессивно-подвижных сперматозоидов категории «В» напрямую зависело от количества CD4+ лимфоцитов ( $r=0,667$ ;  $p=0,04$ ).

Число жизнеспособных сперматозоидов у мужчин с ВИЧ, не принимающих АРТ было существенно выше, чем у тех, кто ее использовал (82,5 (77,5;84,7) и 76(66;82);  $p=0,017$ ).

Количество аномальных форм сперматозоидов у мужчин с ВИЧ-инфекцией, которые не принимали АРВП было в пределах нормативных значений и сопоставимо со здоровым контролем 96 (94;97) и 96(95;96);  $p=0,329$ ), а у мужчин с ВИЧ, принимающих АРТ – значимо выше (97(96;98);  $p<0,001$ ).

Оценка процента фрагментации ДНК сперматозоидов показала, что данный показатель был существенно выше в группе ВИЧ-инфицированных пациентов и не отличался в зависимости от использования АРТ (15,8% (12,4;21,6) и 14% (11,7;19,4);  $p=0,506$ ).

#### Таблица 15

**Корреляционная зависимость параметров спермограммы у мужчин с ВИЧ-инфекцией, не принимающих АРВП, с длительностью заболевания, уровнями CD4+лимфоцитов, вирусной нагрузкой**

Показатель	«Стаж» ВИЧ- инфекции*	р	Число CD4+*	р	вирусная нагрузка	р- value
Объем	0,182	0,302	0,778	<b>0,014</b>	-0,328	<b>0,03</b>
Общее количество	0,127	0,494	0,524	0,183	-0,340	0,237
Концентрация	0,158	0,358	0,273	0,416	-0,121	0,754
Прогрессивно- подвижные (категория А)	0,191	0,33	-0,033	0,932	-0,540	0,128
Прогрессивно- подвижные (категория В)	-0,121	0,541	0,667	<b>0,04</b>	0,543	0,432
А+В	-0,069	0,691	0,418	0,201	0,131	0,562
NP (непрогрессивно- подвижные)	-0,535	0,354	0,012	0,977	0,167	0,402
PR+NP	-0,275	0,567	0,407	0,317	-0,182	0,254
Неподвижные	0,354	0,463	-0,436	0,312	-0,184	0,145
Жизнеспособные	-0,122	0,554	0,138	0,254	0,225	0,198
Патологические	-0,205	0,259	0,525	0,149	-0,287	0,092
Фрагментация ДНК сперматозоидов	-0,321	0,482	0,400	0,60	-0,198	0,487

\*коэффициент корреляции Спирмена

Далее была выполнена оценка спермограмм ВИЧ-инфицированных мужчин, которые принимали АРТ в сравнении с нормативами ВОЗ (2010) (таб.14).

Было выявлено, что параметры спермограммы у мужчин с ВИЧ-инфекцией, принимающих АРТ, также были в пределах референсных значений, но объем эякулята (3 (2,1;3,8) и 3,1 (2,4;4,1) мл;  $p < 0,001$ ), общее содержание сперматозоидов (118 (53;213,1) и 188 (128,7;282,9) млн;  $p < 0,001$ ), концентрация в 1 мл (43(24;67,7) и 62(47;82) млн/мл;  $p < 0,001$ ), число сперматозоидов категории «А» + «В» (42% (30;53)) и (55% (48;62);  $p < 0,001$ ), а также жизнеспособных форм (76% (66;82) и 84% (82;87);  $p < 0,001$ ) оказалось существенно ниже, а непрогрессивно-подвижных (8,1% (5;13) и 7%

(5;9,5); $p=0,012$ ) и неподвижных (47% (37;57) и 38%(31;42);  $p<0,001$ ) сперматозоидов значимо выше, по сравнению со здоровыми мужчинами в группе контроля.

Количество аномальных форм сперматозоидов у мужчин, инфицированных, а также фрагментация ДНК сперматозоидов (15,8% (12,4;21,6) и 10,6% (7,5;12,4%);  $p <0,001$ ) выходили за пределы референсных значений и были существенно выше в сравнении с ВИЧ-отрицательными мужчинами группы контроля.

Далее в группе ВИЧ-инфицированных мужчин выполнена оценка силы взаимосвязи между различными показателями спермограммы и длительностью заболевания, продолжительностью АРТ, состоянием иммунной системы (табл. 16). Было показано, что количество прогрессивно-подвижных форм категории «В» ( $r=-0,248$ ;  $p=0,021$ ) и их общая подвижность ( $r=-0,278$ ;  $p=0,014$ ) имели обратную зависимость с длительностью заболевания. Кроме этого, содержание в эякуляте неподвижных форм сперматозоидов напрямую зависело от «стажа» ВИЧ-инфекции. Относительно использования АРВП, число сперматозоидов категории «В» ( $r=-0,225$ ;  $p=0,033$ ) и общая их подвижность ( $r=-0,248$ ;  $p=0,024$ ) отрицательно коррелировали с продолжительностью АРТ. Следует отметить, что число сперматозоидов категории «в» ( $r=0,298$ ;  $p=0,031$ ) и категории «А+В» ( $r=0,218$ ;  $p=0,016$ ), а также число жизнеспособных форм сперматозоидов ( $r=0,224$ ;  $p=0,006$ ) напрямую зависели от количества CD4+ лимфоцитов. Кроме этого, выявлена отрицательная статистически значимая корреляция количества неподвижных ( $r=-0,111$ ;  $p=0,045$ ) и патологических форм сперматозоидов ( $r=-0,263$ ;  $p=0,021$ ) с числом Т-лимфоцитов хелперов (CD3+/CD4+).

Показатели фрагментации ДНК сперматозоидов положительно коррелировали только с длительностью АРТ ( $r=0,510$ ;  $p=0,041$ ).

Таблица 16

**Корреляционная зависимость параметров спермограммы с  
длительностью ВИЧ-инфекции, АРТ, количеством CD4+лимфоцитов**

Показатель	«Стаж» ВИЧ- инфекции*	р- value	Длитель- ность АРТ*	р	Число CD4+*	р- value
Объем	0,038	0,423	-0,136	0,124	0,228	0,679
Общее количество	-0,223	0,06	0,063	0,215	-0,081	0,153
Концентрация	-0,219	<b>0,03</b>	-0,003	0,946	-0,098	0,064
Прогрессивно- подвижные (категория А)	-0,113	0,125	-0,081	0,115	-0,097	0,089
Прогрессивно- подвижные (категория В)	-0,248	<b>0,021</b>	-0,225	<b>0,033</b>	0,298	<b>0,031</b>
А+В	-0,111	0,118	-0,092	0,252	0,218	<b>0,016</b>
NP (непрогрессивно- подвижные)	-0,053	0,293	-0,044	0,388	0,058	0,308
PR+NP	-0,278	<b>0,014</b>	-0,248	<b>0,024</b>	-0,084	0,159
Неподвижные	0,231	<b>0,041</b>	0,136	0,206	-0,111	<b>0,045</b>
Жизнеспособные	0,123	0,088	0,084	0,255	0,224	<b>0,006</b>
Патологические	0,073	0,612	-0,005	0,932	-0,263	<b>0,021</b>
Фрагментация ДНК сперматозоидов	-0,026	0,849	0,510	<b>0,041</b>	-0,029	0,861

\*коэффициент корреляции Спирмена

Анализ спермограмм у ВИЧ-инфицированных мужчин в зависимости от митохондриальной токсичности, используемых при АРТ препаратов группы НИОТ не выявил статистически значимых отличий в изучаемых показателях (таб.17).

Таблица 17.

**Параметры спермограммы в зависимости от митохондриальной  
токсичности используемого в АРТ препарата группы НИОТ**

Показатель	Низкотоксичные НИОТ	Высокотоксичные НИОТ	Р
------------	------------------------	-------------------------	---

	n= 437	n= 128	
Объем	3 (2;3,8)	3 (2,1;3,8)	0,891
Общее количество	123 (53;219)	102 (48;197)	0,138
Концентрация в 1 мл	45 (24;70)	41 (20,5;63)	0,130
pH	7,6 (7,5;7,8)	7,5 (7,4;7,8)	0,123
Подвижность сперматозоидов (категория А)	10 (5;16)	10 (3;15,5)	0,337
Подвижность сперматозоидов (категория В)	31 (23;39)	31 (21,5;38)	0,329
А+В	42 (31,1;54)	40 (29,2;52,5)	0,269
Непрогрессивно-подвижные	8,8 (5,7;13)	7 (4,7;12)	0,141
PR+NP	52 (42,7;64)	51 (42;59)	0,232
Неподвижные	46 (36;57)	47 (40;58)	0,298
Жизнеспособные	77 (67;82)	73 (50;82)	0,082
Аномальные сперматозоиды	97 (96;98)	97 (96;98)	0,222
MAR - тест	2 (0;6)	2 (1;8,5)	0,199
Фрагментация ДНК сперматозоидов	16,3(12,7;13,8)	13,8 (10,9;18,8)	0,121

\* показатели представлены в виде Me (Q1; Q3), где Me – медиана, Q1 – 25 (нижний) квартиль, Q3 – 75 (верхний) квартиль.

Существенных отличий в показателях спермограммы между пациентами с моноинфекцией ВИЧ и коинфекцией ВГС также выявлено не было (таб.18.).

**Таблица 18**

**Параметры спермограммы у мужчин с коинфекцией ВИЧ/ВГС в сравнении с моноинфекцией ВИЧ**

Параметры спермограммы	ВИЧ n= 405	ВИЧ+ВГС n=199	p-value
Объем	3 (2;3,8)	3 (2,1;3,7)	0,991
Лейкоциты	0,2 (0,1;0,4)	0,1 (0,1;0,4)	0,809
Круглые клетки	0,4 (0,2;1,1)	0,4 (0,2;0,7)	0,905
Общее количество	110 (48,1;219,3)	118 (95;254,7)	0,380
Концентрация в 1 мл	42(21,7;69)	47 (34;78)	0,420



pH	7,5(7,2;7,8)	7,5 (7,2;7,5)	0754
Подвижность сперматозоидов (категория А)	10(4;16)	10 (5;16)	0,252
Подвижность сперматозоидов (категория В)	31(22;38)	32(22,8;40)	0,421
А+В	41(29;52)	42 (30;52,6)	0,767
Непрогрессивно-подвижные	8(5;13)	7 (5;13)	0,721
PR+NP	51(42;61)	53 (44;63)	0,123
Неподвижные	48(37;58)	45 (36;56)	0,09
Жизнеспособные	76(65;82)	79 (70;84)	0,171
Аномальные сперматозоиды	97(96;98)	96 (96;97)	0,529
Фрагментация ДНК сперматозоидов	16,3% (12,7;22,4)	14,2% (12;19,2)	0,272

\* показатели представлены в виде Me (Q1; Q3), где Me – медиана, Q1 – 25 (нижний) квартиль, Q3 – 75 (верхний) квартиль.

Таким образом, полученные результаты показали, что у мужчин, инфицированных ВИЧ, которые не принимали АРВП, все показатели фертильности в спермограмме были в пределах нормативных значений и не зависели от «стажа» заболевания. Количество прогрессивно-подвижных форм сперматозоидов категории «в» напрямую зависело от состояния иммунной системы, а объем эякулята – от уровня вирусной нагрузки и содержания CD4+ лимфоцитов в крови. У ВИЧ-инфицированных мужчин, принимающих АРТ показатели спермограммы также были в пределах нормативных значений. Однако наблюдали незначительное увеличение числа патологических форм и повышение фрагментации ДНК сперматозоидов, что с точки зрения фертильности не имеет существенного значения. Несмотря на то, что другие показатели спермограммы находились в пределах референсных значений, при длительном «стаже» ВИЧ-инфекции концентрация и подвижность

сперматозоидов уменьшались, а количество их неподвижных форм увеличивалось. Продолжительная АРТ приводила к снижению подвижности и увеличению фрагментации ДНК сперматозоидов, а количество аномальных форм было выше при низких показателях CD4+ лимфоцитов. Параметры спермограмм не зависели от митохондриальной токсичности используемых в АРТ препаратов. Наличие коинфекции ВГС не влияло на показатели фертильности в спермограмме у мужчин с ВИЧ-инфекцией.

### 3.5. Клинико-anamнестические данные и лабораторные показатели дискордантных пар с ВИЧ-инфекцией у мужчины в сравнении с контрольной группой

В данную часть исследования были включены 166 дискордантных пар с ВИЧ-инфицированным мужчиной и 235 – с ВИЧ-отрицательным статусом у обоих партнеров.

Анализ клинико-anamнестических данных показал, что пациентки обеих групп были сопоставимы по возрасту (35 (31;39) лет и 34 (30;38) года;  $p=0,38$ ), возрасту менархе (13 (13;14) и 13 (12;14) лет;  $p=0,344$ ), продолжительности менструального цикла (28 (27;30) и 28 (28;30) дней;  $0,438$ ) и ИМТ (23 (20;28) и 23,2 (21;26);  $p=0,827$ ) (таб. 19).

**Таблица 19**

#### Менструальная функция и гормональные маркеры овариального резерва

Параметры	ВИЧ «+» n=166	ВИЧ «-» n=235	p-value*
Менархе, возраст	13 (13;14)	13 (12;14)	0,344
Продолжительность цикла, дни	28 (27;30)	28 (28;30)	0,438
Концентрация АМГ, нг/мл	2,05 (1;3,9)	3,02 (1,2;3,9)	0,093
Концентрация ФСГ, МЕ/л	7,4 (5,9;9)	7,1 (5;8,4)	0,128
Концентрация E <sub>2</sub> , пмоль/л	158 (96;220)	162 (112;238)	0,354

\* показатели представлены в виде Me (Q1; Q3), где Me – медиана, Q1 – 25 (нижний) квартиль, Q3 – 75 (верхний) квартиль

Существенных отличий в гормональных показателях овариального резерва в исследуемых группах также выявлено не было (таб. 19).

Анализ акушерского анамнеза показал, что пациентки в дискордантных по ВИЧ парах по сравнению с группой контроля существенно чаще прерывали беременность (22,9% и 10,6%;  $p=0,001$ ), а частота ранних репродуктивных потерь (10,8% и 13,2%;  $p=0,479$ ), трубной беременности (13,3% и 19,1%;  $p=0,119$ ) и живорождений (16,9% и 11,6%;  $p=0,159$ ) были сопоставимы между группами (таб. 20).

**Таблица 20**

**Акушерский анамнез в исследуемых группах пациенток**

Параметры	ВИЧ «+» n=166	ВИЧ «-» n=235	P*
Искусственный аборт	22,9% (38/166)	10,6% (25/235)	0,001
Ранние репродуктивные потери (неразвивающаяся беременность, самопроизвольный выкидыш)	10,8% (18/166)	13,2% (31/235)	0,479
Трубная беременность	13,3% (22/166)	19,1% (45/235)	0,119
Роды	16,9% (28/166)	11,6% (28/235)	0,159

\* $p < 0,05$  (95% уровень значимости) – статистически значимые отличия

**Таблица 21**

**Патология органов малого таза у женщин в дискордантных парах с ВИЧ-положительным партнером**

Заболевания	ВИЧ «+» n=166	ВИЧ «-» n=235	p
Доброкачественная патология шейки матки	9% (15/166)	8,1% (19/235)	0,736
ИППП: Сифилис	0,6% (1/166)	0,8% (2/235)	0,226
Хламидиоз	3,6%	1,2%	

	(6/166)	(3/235)	
Рак шейки матки	0,6% (1/166)	-	0,813
Хронический сальпингоофорит	11,4 % (19/166)	11,1% (26/235)	0,905
Гидросальпинкс	11,4 % (19/166)	6,8% (16/235)	0,105
Миома матки	9% (15/166)	8,5% (20/235)	0,854
Наружный генитальный эндометриоз	11,4 % (19/166)	15,7% (37/235)	0,221
Доброкачественные кисты яичников	10,2% (17/166)	10,6% (25/235)	0,756

\*  $p < 0,05$  (95% уровень значимости) – статистически значимые отличия

В структуре заболеваний органов малого таза (таб. 21) в обеих группах преобладал хронический сальпингоофорит (11,4 % и 11,1%;  $p=0,905$ ), а наружный генитальный эндометриоз при лечебно – диагностической лапароскопии был выявлен в 11,4% (19/166) и 15,7% (37/235) случаев в основной и контрольной группах соответственно. В 10,2% (17/166) наблюдений в основной группе и в 10,6% (25/235) в контрольной – встречались доброкачественные кисты яичников. Миома матки была выявлена в 9% (15/166) и 8,5% (20/235) ( $p=0,854$ ) случаев, а доброкачественные заболевания шейки матки – в 9% (15/166) и 8,1% (19/235) соответственно. Рак шейки матки наблюдался только в группе с ВИЧ-инфицированным партнером (0,6% (1/166);  $p=0,813$ ). У 6 из 166 (3,6%) пациенток основной группы и у 3 из 235 (1,2%) женщин контрольной группы в анамнезе был хламидиоз, а в 0,6% (1/166) и 0,8% (2/235) случаев соответственно – сифилис.

Хирургическое лечение гинекологических заболеваний проведено в 35,5% (59/166) наблюдений в группе женщин с ВИЧ-положительным партнером и в 53,2 % (125/235) – в контрольной группе ( $<0,0001$ ) (таб.22).

**Хирургическое лечение гинекологической патологии у женщин в  
дискордантных парах с ВИЧ-положительным партнером**

Объем оперативного лечения	ВИЧ «+» n=166	ВИЧ «-» n=235	p-value
Ампутация шейки матки	0,6% (1/166)	-	0,846
Диагностическая лапароскопия, хромогидротубация	12% (20/166)	13,6% (32/235)	0,645
Сальпингоовариолизис	15,1% (25/166)	19,6% (46/235)	0,243
Реконструктивно-пластические операции на маточных трубах	3% (5/166)	3,4% (8/235)	0,732
Тубэктомия	21,1% (35/166)	24,7% (58/235)	0,401
Оперативные вмешательства на яичниках	16,8% (28/166)	20,4% (48/235)	0,070
Миомэктомия	3,6% (6/166)	5,1% (12/235)	0,477
Коагуляция очагов эндометриоза	11,4 % (19/166)	15,7% (37/235)	0,221

\* p < 0,05 (95% уровень значимости) – статистически значимые отличия

В структуре объема оперативных вмешательств (таб. 20) в обеих группах преобладала тубэктомия (21,1% и 24,7%; p=0,401), а ампутация шейки матки (0,6%) и реконструктивно-пластические операции на маточных трубах (3%) были выполнены только у пациенток с ВИЧ-положительным партнером. Одинаково часто в обеих группах проводились диагностическая лапароскопия (12% и 13,6%; p=0,645), коагуляция и/или иссечение очагов генитального эндометриоза (11,4% и 15,7%; p=0,221) и миомэктомия (3,6% и 5,1%; p=0,477).

Частота выполнения оперативных вмешательства на органах брюшной полости была сопоставима между группами (1,2% (2/166) и 0,9% (2/235); p=0,770). Показаниями к оперативному вмешательству во всех случаях был перитонит, как осложнение гнойного аппендицита.

Гистероскопия и раздельное выскабливание слизистой цервикального канала и эндометрия проводилась у 47 из 166 (28,3%) пациенток основной группы и у 65 из 235 (27,7%) женщин контрольной группы ( $p=886$ ). Статистически значимых отличий в структуре выявленной патологии обнаружено не было ( $p=0,294$ ). В 27,6% (13/47) случаев в основной группе исследования и в 21,5% (14/65) наблюдений в группе контроля не было выявлено патологии эндометрия и полости матки при проведении гистероскопии. Более чем в каждом втором случае в обеих группах встречался полип эндометрия (57,4% и 60%;  $p=0,294$ ). В 3 из 47 (6,3%) наблюдений в основной группе и в 4 из 65 (6,1%) в контрольной группе была выявлена простая гиперплазия эндометрия, а хронический эндометрит в 6,3% (3/47) и 7,6% (5/65) случаев в соответствующих группах. Стеноз цервикального канала был выявлен в 4,6% (3/65) наблюдений в контрольной группе, а внутриматочные синехии диагностированы в основной группе исследования у 1 из 47 (2,1%) пациенток.

Следует отметить, что в 42 из 166 (25,3%) дискордантных пар с ВИЧ-инфицированным мужчиной не было бесплодия, а первичное (33,7%) и вторичное бесплодие (40,9%) встречалось одинаково часто. В контрольной группе, напротив, преобладало первичное бесплодие (58,7% и 41,3%). Различия были статистически значимы ( $p < 0,0001$ ), при этом длительность бесплодия была сопоставима (4 (2;8) года и 4 (3;6) года;  $p=0,174$ ) между группами.

Анализ структуры причин отсутствия беременности показал, что пациентки основной и контрольной групп были сопоставимы (таб.23), при этом, как в парах с ВИЧ-инфицированным партнером, так и в контрольной группе преобладал трубно-перитонеальный (29,5% и 38,7%;  $p=0,06$ ) и мужской (25,9% и 30,6%;  $p=0,302$ ) факторы бесплодия.

Таблица 23

**Факторы бесплодия в дискордантных парах с ВИЧ-положительным партнером**

Фактор бесплодия	ВИЧ «+» n=166	ВИЧ «-» n=235	p-value
Трубно-перитонеальный	29,5% (49/166)	38,7% (91/235)	0,06
Мужской	25,9% (43/166)	30,6% (72/235)	0,302
Сочетанный	8,4 % (14/166)	12,8% (30/235)	0,172
Эндокринный	2,4% (4/166)	5,5 % (13/235)	0,126
Неясный генез бесплодия	8,4% (14/166)	12,3% (29/235)	0,321
Бесплодия нет (контрацепция)	25,3 % (42/166)	-	-

p < 0,05 (95% уровень значимости) – статистически значимые отличия

Неэффективные попытки программ ВРТ в анамнезе были у 19 из 166 (11,4%) пар с ВИЧ-инфицированным партнером и у 52 из 235 (22,1%; p=0,004) пар с ВИЧ-отрицательным статусом обоих партнеров. Частота эффективных программ ЭКО в основной группе была существенно ниже, чем в контрольной группе (1,8% (3/166) и 6% (14/235) соответственно; p=0,042). При этом в 2 из 3 (66,7%) случаев наступления беременности в дискордантных парах была диагностирована неразвивающаяся и в 1 (33,3%) - внематочная беременность, а в контрольной группе: в 11 из 14 (78,6%) наблюдений – неразвивающаяся беременность и в 3 из 14 (21,4%) случаев эффективных программ ЭКО – роды.

В структуре соматической патологии преобладали заболевания желудочно–кишечного тракта и эндокринной системы (табл. 24). Статистически значимых отличий между группами обнаружено не было.

Таблица 24

**Структура соматических заболеваний в исследуемых группах**

Соматическая патология	ВИЧ «+» n=166	ВИЧ «-» n=235	P*
Заболевания мочевыделительной системы	12,6% (21/166)	14,8% (35/235)	0,146
Заболевания сердечно-сосудистой системы	8,4 % (14/166)	8,9% (21/235)	0,452
Заболевания желудочно-кишечного тракта	27,1% (45/166)	24,6% (58/235)	0,506
Заболевания эндокринной системы	20,4% (34/166)	21,7% (51/235)	0,762
Заболевания органов дыхания	6,02% (10/166)	5,5% (13/235)	0,852

\*p <0,05 (95% уровень значимости) – статистически значимые отличия

Таким образом, в анамнезе и клинико-лабораторных данных в дискордантных парах с ВИЧ-инфекцией у мужчины не наблюдалось каких-либо характерных особенностей. Пациенты основной и контрольной группы были сопоставимы по возрасту, причинам инфертильности, состоянию овариального резерва, гинекологическим заболеваниям и соматической патологии.

### **3.6. Показатели овариальной стимуляции, эмбриологический этап и результативность программ ВРТ в дискордантных парах с ВИЧ-инфекцией у женщины**

В 155 дискордантных парах с ВИЧ-инфекцией у женщины проведено 182 «свежих» и 162 криоцикла, в контрольной группе - 271 и 195 соответственно.

Анализ различных параметров «свежих» циклов ЭКО показал, что при проведении овариальной стимуляции наиболее часто в обеих группах исследования был использован протокол с антГнРГ (95,1% и 94,5%), а в



качестве индуктора – комбинация препаратов рФСГ и ЧМГ (57,7% и 60,1%;  $p=0,772$ ) (таб.25).

**Таблица 25**

**Овариальная стимуляция в изучаемых группах пациенток**

<b>Показатели</b>	<b>ВИЧ «+» n=182</b>	<b>ВИЧ «-» n=271</b>	<b>p</b>
Протокол с антГнРГ	95,1% (173/182)	94,5% (256/271)	0,783
Длинный протокол	4,9% (9/182)	5,5% (15/271)	
Препараты рФСГ, %	34,1% (62/182)	33,2% (90/271)	0,772
Препараты ЧМГ, %	8,2% (15/182)	6,6% (18/271)	
Комбинация рФСГ/ЧМГ, %	57,7% (105/182)	60,1% (163/271)	
Продолжительность овариальной стимуляции, дни*	10 (9;11)	10 (9;10)	0,01
Стартовая доза индуктора, МЕ*	225 (225;300)	225 (225;225)	<0,001
Суммарная доза индуктора, МЕ*	2250 (1875;2700)	1950 (1725;2325)	<0,001

\* показатели представлены в виде Ме (Q1; Q3), где Ме – медиана, Q1 – 25 (нижний) квартиль, Q3 – 75 (верхний) квартиль.

Следует отметить, что стартовая (225 (225;300) МЕ и 225 (225;225) МЕ;  $p=0,01$ ) и суммарная (2250 (1875;2700) МЕ и 1950 (1725;2325) МЕ;  $p<0,001$ ) дозы индукторов, а также длительность овариальной стимуляции (10 (9;11) дней и 10 (9;10) дней;  $p<0,001$ ) были существенно выше у женщин с ВИЧ-инфекцией в сравнении с ВИЧ-отрицательными пациентками, что связано с исходно более низкими показателями овариального резерва (АМГ, число антральных фолликулов).

Оценка эмбриологических показателей показала, что у женщин с ВИЧ-положительным статусом наблюдалось меньшее число полученных ОКК (6,5 (3;12) и 9 (6;15);  $p <0,001$ ), зрелых ооцитов (5 (2;9) и 8 (5;12);  $p <0,001$ ), нормально оплодотворившихся ооцитов (2 PN) (4 (2;8) и 6 (4;10);  $p <0,001$ ),

бластоцист (2(0;2) и 4 (1;6);  $p < 0,001$ ) и витрифицированных эмбрионов (1(0;3) и 2 (0;4);  $p = 0,002$ ) в сравнении с контрольной группой (таб. 26). Частота оплодотворения в основной группе составила 77,8%, в контрольной – 82% ( $p < 0,001$ ). Следует отметить, что у пациенток с ВИЧ-инфекцией количество ооцитов, оплодотворившихся аномально (3 и более PN), было существенно выше, а частота бластуляции (51% и 54,4%;  $p < 0,001$ ) и количество эмбрионов отличного качества (0,68 (1,3) и 0,96 (1,5);  $p = 0,015$ ) ниже, чем в контрольной группе (0,21 (0,7) и 0,09 (0,2);  $p = 0,018$ ).

**Таблица 26**

**Эмбриологический этап программы ЭКО в дискордантных парах с ВИЧ-инфекцией у женщины**

Эмбриологические показатели	ВИЧ «+» n=182	ВИЧ «-» n=271	p-value
Получено ОКК*	6,5 (3;12)	9 (6;15)	<0,001
Ооциты МП*	5 (2;9)	8 (5;12)	<0,001
Нормально оплодотворившиеся ооциты (2PN) *	4 (2;8)	6 (4;10)	<0,001
Частота оплодотворения, %	77,8%	82%	<0,001
Аномально оплодотворившиеся ооциты (3 и более PN) **	0,21 (0,7)	0,09 (0,2)	0,018
Количество бластоцист*	2 (0;2)	4(1;6)	<0,001
Частота бластуляции, %	51%	54,4%	<0,001
Число витрифицированных эмбрионов*	1 (0;3)	2 (0;4)	0,002
Бластоцисты отличного качества**	0,68 (1,3)	0,96 (1,5)	0,015
Бластоцисты хорошего качества**	0,92 (1,4)	1,4(1,6)	<0,001

Бластоцисты удовлетворительного качества**	0,95 (1,5)	1,4 (1,5)	<0,001
--	------------	-----------	--------

\* показатели представлены в виде Me (Q1; Q3), где Me – медиана, Q1 – 25 (нижний) квартиль, Q3 – 75 (верхний) квартиль.

\*\* среднего значения (стандартное отклонение), t тест

Частота отмены цикла у пациенток с ВИЧ-инфекцией составила 14,2% (26 из 182 циклов), что было существенно выше, чем у женщин без ВИЧ-инфекции – 0,7% (2 из 271;  $p < 0,001$ ). Следует отметить, что у пациенток с ВИЧ-инфекцией в 2,7% (5 из 182 циклов) наблюдений не были получены ооциты, в 3,2 % (6 из 182 циклов) – не было признаков их оплодотворения, а в 8,2% (15 из 182) – эмбрионов, пригодных для переноса. Таким образом, более чем в каждом третьем случае (38,8%) поводом для отмены переноса послужили отсутствие ооцитов/эмбрионов (26 случаев на 67 циклов отмены) или 14,2% (26 из 182) на цикл стимуляции. В группе контроля причиной для отмены цикла явилось отсутствие эмбрионов для переноса в 2 из 271 (0,7%) наблюдений.

Перенос эмбрионов был выполнен в 115 из 182 (63,1%) циклов в группе с ВИЧ-положительным статусом женщины и в 232 из 271 (85,6%) – в группе контроля. Селективный перенос эмбриона проводился в 100 % случаев, наиболее часто на 5 сутки культивирования (5 (3;5) и 5 (4;5);  $p=0,546$ ).

Показаниями для сегментации цикла наиболее часто в обеих группах исследования явились: риск развития СГЯ (22,7% и 48,7%) и выполнение ПГТ-А (20,9% и 33,3%). Полип эндометрия во время проведения овариальной стимуляции был выявлен в 3% (2 из 67 циклов отмены) случаев в основной и в 5,1% (2 из 39 циклов отмены) – в контрольной группе, гидросальпинкс в 6% (4 из 67) и 2,6 % (1 из 39) и «тонкий» эндометрий в 9% (6 из 67) и 5,1% (2 из 39) наблюдений соответственно. Показания для отмены переноса в «свежих» циклах в группах сравнения имели статистически значимую разницу ( $p=0,002$ ).

**Эффективность «свежих» циклов ЭКО в дискордантных парах с ВИЧ-инфекцией у женщины и контрольной группе**

Исходы	ВИЧ «+» n=115	ВИЧ «-» n=232	P*
Биохимическая беременность	24,3% (28/115)	39,2% (91/232)	0,006
Клиническая беременность	16,5% (19/115)	32,8% (76/232)	0,001
Ранние репродуктивные потери	4,3% (5/115)	0,9% (2/232)	0,03
Поздний выкидыш	-	0,4% (1/232)	0,481
Роды	12,2% (14/115)	31,5% (73/232)	<0,001

\*p <0,05 (95% уровень значимости) – статистически значимые отличия

Оценка эффективности «свежих» циклов ЭКО//ICSI показала, что у женщин, инфицированных ВИЧ, наблюдалась значимо более низкая частота биохимической (24,3% и 39,2%; p=0,006) и клинической (16,5% и 32,8%; p=0,001) беременности, а также живорождений (12,2% и 31,5%; p <0,001) (таб. 27). Частота ранних репродуктивных потерь также была значимо выше в группе пациенток с ВИЧ-инфекцией по сравнению с ВИЧ-отрицательными женщинами (4,3% и 0,9%; p= 0,03), а поздний выкидыш наблюдался только в 1 (0,4%) случае в контрольной группе (p=0,481). Дети, рожденные ВИЧ-инфицированными матерями, в 100% случаев были ВИЧ-отрицательными, что обусловлено неопределяемым уровнем вирусной нагрузки у женщины в результате приема АРТ, а также проведением химиопрофилактики заражения

Далее проведена оценка эффективности криоциклов в изучаемых группах (таб.28). Следует отметить, что у ВИЧ-инфицированных женщин в 35 из 162 (21,6%) криоциклов эмбрионы были получены с использованием ооцитов донора.

**Эффективность криоциклов ЭКО в дискордантных парах с ВИЧ-инфекцией у женщины и контрольной группе**

Исходы	ВИЧ «+» собственные ооциты n=127	ВИЧ «+» ооциты донора n=35	ВИЧ «-» n=195	P*
Биохимическая беременность	35,4% (45/127)	45,7% (16/35)	50,8% (99/195)	*0,007 **0,583
Клиническая беременность	27,6% (35/127)	40% (14/35)	41% (80/195)	*0,014 **0,910
Ранние репродуктивные потери	11% (14/127)	11,4% (4/35)	12,8% (25/195)	*0,630 **0,820
Поздний выкидыш	-	2,9% (1/35)	0,5% (1/195)	*0,420 **0,170
Роды	16,7% (21/127)	25,7% (9/35)	27,7% (54/195)	*0,021 **0,809

\* р между группами ВИЧ «+» собственные ооциты и контроль

\*\* р между группами ВИЧ «+» ооциты донора и контроль

Анализ эффективности криоциклов показал, что при использовании собственных ооцитов у женщин с ВИЧ-инфекцией частота биохимической (35,4% и 50,8%;  $p=0,007$ ), клинической беременности (27,6% и 41%;  $p=0,014$ ) и родов (16,7% и 27,7%;  $p=0,021$ ) была существенно ниже, чем у пациенток без ВИЧ-инфекции, а в случаях использования ооцитов донора данные показатели были сопоставимы между группами. Частота ранних репродуктивных потерь и позднего выкидыша не зависели от ВИЧ – статуса пациентов и от используемых для оплодотворения ооцитов.

Таким образом, при проведении овариальной стимуляции у пациенток с ВИЧ-инфекцией была использована высокая доза индуктора и отмечена продолжительная стимуляция, что обусловлено исходно низкими показателями овариального резерва. Вместе с тем, у женщин, инфицированных ВИЧ, наблюдалось меньшее число полученных ООК, зигот,

эмбрионов и значимо большее количество ооцитов с аномальным оплодотворением. В основной группе исследования была высокая частота отмены цикла в связи с отсутствием ооцитов/эмбрионов и низкая частота клинической беременности и живорождений, как в стимулированных, так и в криоциклах в случае использования собственных ооцитов.

### **3.7. Показатели овариальной стимуляции, эмбриологический этап и результативность программ ВРТ в дискордантных парах с ВИЧ-инфекцией у мужчины.**

В 165 дискордантных парах с ВИЧ-инфекцией у мужчины выполнено 247 «свежих» и 157 криоциклов, в контрольной группе (n=235) - 313 и 193 соответственно.

При проведении овариальной стимуляции в обеих группах наиболее часто был использован протокол с антГнРГ (235 из 247 (95,1%) и 300 из 313 (95,8%) циклов), а длинный протокол применяли в 4,9 % (12 из 247) случаях в основной и в 4,2% (13 из 213) наблюдений контрольной группах. Пациентки изучаемых групп были сопоставимы по стартовой (225 (150; 300) МЕ и 225 (150; 300) МЕ;  $p=0,360$ ) и суммарной дозе (2250 (1725; 2775) и 2100 (1800; 2625) МЕ;  $p=0,830$ ) используемых гонадотропинов, а также длительности овариальной стимуляции (10 (9;10) и 10 (9;11) дней;  $p= 0,655$ ) (табл. 29).

Таблица 29

## Овариальная стимуляция в изучаемых группах пациенток

Показатели	ВИЧ «+» n=247	ВИЧ «-» n=313	P
Протокол с <u>антГнРГ</u>	95,1% (235/247)	95,8% (300/313)	0,688
Длинный протокол	4,9% (12/247)	4,2% (13/313)	
Препараты <u>рФСГ</u> , %	36,4% (90/247)	43,1% (135/313)	0,227
Препараты ЧМГ, %	4,9% (12/247)	5,4% (17/313)	
<u>Комбинация рФСГ/ЧМГ</u> , %	58,7% (145/247)	51,4% (161/313)	
Продолжительность стимуляции, дни*	10 (9;10)	10 (9;11)	0,655
Стартовая <u>доза</u> индуктора, МЕ*	225 (150;300)	225 (150;300)	0,360
Суммарная доза индуктора, МЕ*	2250 (1725;2531)	2100 (1800;2625)	0,834

\* показатели представлены в виде Me (Q1; Q3), где Me – медиана, Q1 – 25 (нижний) квартиль, Q3 – 75 (верхний) квартиль.

При изучении эмбриологических показателей программы ЭКО (таб. 30) существенных различий в количестве полученных ОКК (7,5 (4;14) и 7 (4;12);  $p=0,349$ ), зрелых ооцитов (6 (3;10) и 6 (3;9);  $p=0,430$ ), зигот (5 (2;8) и 5 (3;8);  $p=0,773$ ), бластоцист (3,18(3,5) и 3,2(2,9);  $p=0,764$ ) и витрифицированных эмбрионов (2,04(2,7) и 2,03(2,2);  $p=0,946$ ) не было выявлено. Пациентки обеих групп также были сопоставимы по числу полученных бластоцист отличного (1,04 (1,6) и 0,93 (1,4);  $p=0,414$ ), хорошего (1,07(1,3) и 1,25(1,3);  $p=0,143$ ) и удовлетворительного качества (1,0(1,5) и 1,07(1,3);  $p=0,603$ ).

Таблица 30

## Характеристика эмбриологических показателей в дискордантных парах с ВИЧ-инфекцией у мужчины и контрольной группе

Эмбриологические показатели	ВИЧ «+» n=247	ВИЧ «-» n=313	P*
-----------------------------	------------------	------------------	----

Получено ОКК*	7,5 (4;14)	7 (4;12)	0,349
Ооциты МП*	6 (3;10)	6 (3;9)	0,430
Нормально оплодотворившиеся ооциты (2 PN)*	5 (2;8)	5 (3;8)	0,773
Аномально оплодотворившиеся ооциты (3и более PN)	0,15(0,5)	0,08(0,3)	0,099
Число бластоцист	3,18(3,5)	3,2(2,9)	0,764
Число витрифицированных эмбрионов	2,04(2,7)	2,03(2,2)	0,946
Бластоцисты отличного качества	1,04(1,6)	0,93(1,4)	0,414
Бластоцисты хорошего качества	1,7(1,3)	1,25(1,3)	0,143
Бластоцисты удовлетворительного качества	1,0(1,5)	1,07(1,3)	0,603

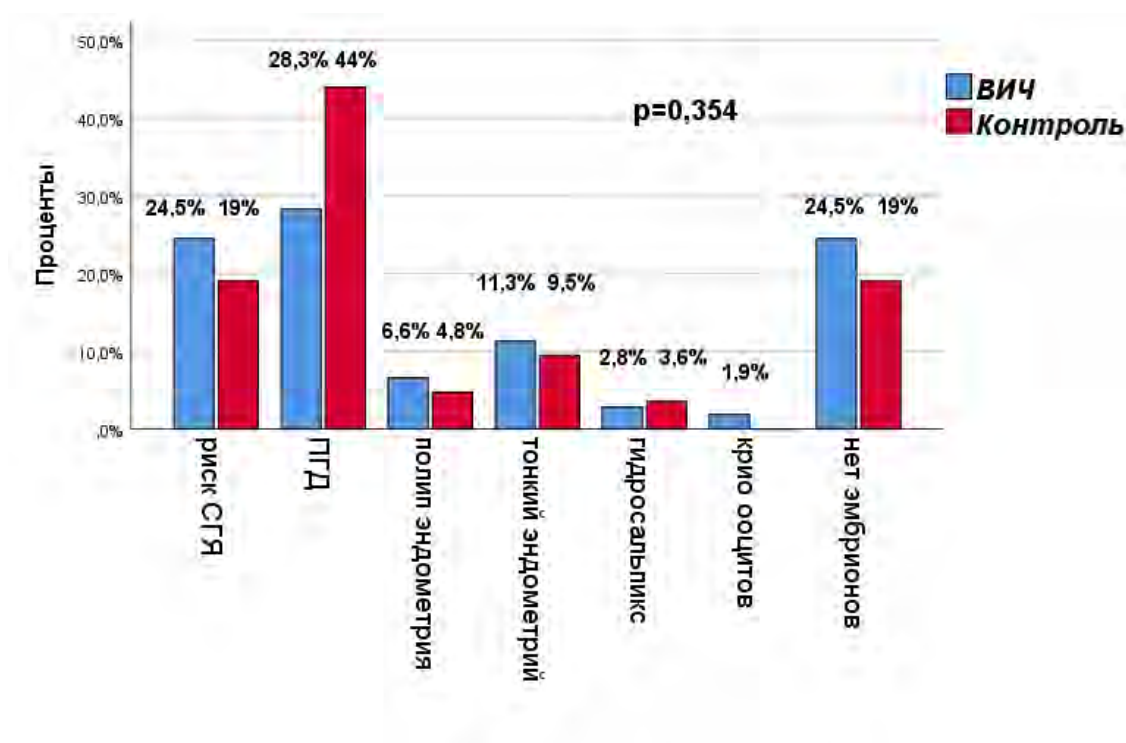
\* показатели представлены в виде Me (Q1; Q3), где Me – медиана, Q1 – 25 (нижний) квартиль, Q3 – 75 (верхний) квартиль.

Эмбриотрансфер был выполнен в 141 из 247 (57%) циклов в группе с ВИЧ-положительным статусом партнера и в 228 из 313 (72,8%) циклов в группе контроля. Пациентки основной и контрольной групп были сопоставимы по числу перенесенных эмбрионов (1,34(0,3) и 1,43(0,4);  $p=0,092$ ). Перенос эмбрионов в обеих группах чаще проводился на 5 сутки культивирования (5 (4;5) и 5 (4;5);  $p=0,121$ ).

Причинами для отмены переноса в изучаемых группах чаще были витрификация эмбрионов для проведения ПГТ-А (28,3% и 44%) и в связи с риском развития СГЯ (24,5% и 19%). Кроме этого, перенос не проводился в случаях выявления при проведении овариальной стимуляции полипа эндометрия (6,6% и 4,8%), гидросальпинкса (2,8% и 3,6%) и «тонкого» эндометрия (11,3% и 9,5%). В основной группе исследования в 2 из 247 (1,9%) проводилась криоконсервация ооцитов, а отсутствие эмбрионов для переноса



встречалось в 24,5 % (26 из 106 циклов отмены) и 19% (16 из 85 циклов отмены) наблюдений (рис. 19).



**Рисунок 19. Причины отмены переносов в дискордантных парах с ВИЧ-инфицированным партнером и контрольной группе**

Оценка эффективности программы ЭКО/ICSI показала, что частота биохимической (37,6% и 33,85;  $p=0,456$ ) и клинической беременности (27,6% и 27,1%;  $p=0,841$ ), а также родов (22% и 20,2%;  $p=0,678$ ) были сопоставимы между группами. Кроме этого, статистически значимой разницы в частоте ранних (3,5% и 5,3%;  $p=0,445$ ) и поздних (0,7% и 0,9%;  $p=0,861$ ) репродуктивных потерь, трубной беременности (1,4% и 0,9%;  $p=0,626$ ) также выявлено не было (таб.31).

**Таблица 31**

**Эффективность «свежих» циклов ЭКО в дискордантных парах с ВИЧ-инфекцией у мужчины и контрольной группе**

Исходы	ВИЧ «+» n=141	ВИЧ «-» n=228	p-value*
Биохимическая беременность	37,6% (53/141)	33,8% (77/228)	0,456
Клиническая беременность	27,6% (39/141)	27,1% (62/228)	0,841
Ранние репродуктивные потери	3,5% (5/141)	5,3% (12/228)	0,445
Трубная беременность	1,4% (2/141)	0,9% (2/228)	0,626
Поздний выкидыш	0,7% (1/141)	0,9% (2/228)	0,861
Роды	22% (31/141)	20,2% (46/228)	0,678

\*p < 0,05 (95% уровень значимости) – статистически значимые отличия

Анализ исходов криоциклов также не выявил значимой разницы в частоте биохимической (44,6% и 45,1%; p=0,927) и клинической беременности (36,3% и 35,8%; p=0,914), а также живорождений (24,2% и 21,8%; p=0,588) в изучаемых группах пациентов (таб.32).

**Таблица 32**

**Эффективность криоциклов ЭКО в дискордантных парах с ВИЧ-инфекцией у мужчины и контрольной группе**

Исходы	ВИЧ «+» n=157	ВИЧ «-» n=193	p-value*
Биохимическая беременность	44,6% (70/157)	45,1% (87/193)	0,927
Клиническая беременность	36,3% (57/157)	35,8% (69/193)	0,914
Ранние репродуктивные потери	10,8% (17/157)	13% (25/193)	0,543
Поздний выкидыш	1,3%	1%	0,835

	(2/157)	(2/193)	
Роды	24,2% (38/157)	21,8% (42/193)	0,588

\*p <0,05 (95% уровень значимости) – статистически значимые отличия

Таким образом, при проведении программы ЭКО в дикордантных парах с ВИЧ – инфицированным мужчиной не было обнаружено особенностей овариальной стимуляции и эмбриологических показателей. Частота клинической беременности и живорождений в обеих группах, как в стимулированных, так и в криоциклах также была сопоставима.

### 3.8. Показатели овариальной стимуляции, эмбриологический этап и результативность программ ВРТ в конкордантных по ВИЧ-инфекции парах.

В 59 конкордантных парах (оба партнера с ВИЧ-положительным статусом) проведено 79 «свежих» циклов и 48 криопротоколов, в контрольной группе (n=96) – 122 и 88 циклов соответственно.

Таблица 33

#### Овариальная стимуляция в конкордантных по ВИЧ-инфекции парах и контрольной группе

Показатели	ВИЧ «+» n=79	ВИЧ «-» n=122	p
Протокол с антГнРГ	89,9% (71/79)	92,6% (113/122)	0,494
Длинный протокол	10,1% (8/79)	7,4% (9/122)	
Препараты рФСГ, %	27,8% (22/79)	33,6% (41/122)	0,571
Препараты ЧМГ, %	10,1% (8/79)	10,7% (13/122)	
Комбинация рФСГ/ЧМГ, %	62% (49/79)	55,7% (68/122)	
Длительность стимуляции, дней*	10 (9;10)	10 (9;10)	0,681

Стартовая доза гонадотропинов, МЕ*	300 (225;300)	225 (225;225)	0,004
Суммарная доза гонадотропинов, МЕ*	2287,5 (1950;3000)	1950 (1650;2325)	<0,001

\* показатели представлены в виде Ме (Q1; Q3), где Ме – медиана, Q1 – 25 (нижний) квартиль, Q3 – 75 (верхний) квартиль.

Овариальная стимуляция в изучаемых группах пациенток наиболее часто проводилась в протоколах с анТГнРГ (89,9% и 92,6%;  $p=0,494$ ) с использованием комбинации препаратов рФСГ и ЧМГ (62% и 55,7%;  $p=0,571$ ). При этом стартовая (300 (225;300) МЕ и 225 (225;225) МЕ;  $p=0,004$ ) и суммарная дозы (2287,5 (1950;3000) МЕ и 1950 (1650;2325) МЕ;  $p<0,001$ ) гонадотропинов были существенно выше в основной группе, а продолжительность индукции овуляции (10 (9;10) и 10 (9;10);  $p=0,681$ ) была сопоставима между пациентками изучаемых групп (таб.33).

Оценка характеристик эмбриологического этапа (таб. 34) показала, что в основной группе исследования получено меньшее количество ОКК (5 (3;9) и 10 (6;15);  $p<0,001$ ), ооцитов МП (4 (2;8) и 8 (5;12);  $p<0,001$ ) и нормально оплодотворившихся ооцитов (2 PN) (3 (2;6) и 6 (4;10);  $p<0,001$ ), а число аномально оплодотворившихся ооцитов было сопоставимо между группами (0,16(0,4) и 0,1(0,2);  $p=0,277$ ). Кроме этого, в конкордантных по ВИЧ-инфекции парах было получено существенно меньшее количество blastocyst (1(0;3) и 3(1;6);  $p<0,001$ ), витрифицированных эмбрионов (1,25(2,4) и 2,16(2,4);  $p=0,012$ ) и blastocyst отличного качества (0,69 (1,0) и 1,4(1,6);  $p<0,001$ ). Количество эмбрионов хорошего качества было сопоставимо между группами (0,8 (1,8) и 0,85(1,4);  $p=0,824$ ), а blastocyst удовлетворительного качества было значимо больше получено в основной группе по сравнению с контролем (1,4(1,5) и 0,7(1,2);  $p=0,001$ ).

**Таблица 34**

**Характеристика эмбриологических показателей в конкордантных по ВИЧ-инфекции парах и контрольной группе**

Эмбриологические показатели	ВИЧ «+» n=79	ВИЧ «-» n=122	p-value *
Получено ОКК*	5 (3;9)	10 (6;15)	<0,001
Ооциты МП*	4 (2;8)	8 (5;12)	<0,001
Нормально оплодотворившиеся ооциты (2 PN) *	3 (2;6)	6 (4;10)	<0,001
Аномально оплодотворившиеся ооциты (3 и более PN)**	0,16(0,4)	0,1(0,2)	0,277
Количество бластоцист*	1(0;3)	3(1;6)	<0,001
Число витрифицированных эмбрионов**	1,25(2,4)	2,16(2,4)	0,012
Бластоцисты отличного качества**	0,69 (1,0)	1,4(1,6)	<0,001
Бластоцисты хорошего качества**	0,8 (1,8)	0,85(1,4)	0,824
Бластоцисты удовлетворительного качества**	1,4(1,5)	0,7(1,2)	0,001

\* показатели представлены в виде Me (Q1; Q3), где Me – медиана, Q1 – 25 (нижний) квартиль, Q3 – 75 (верхний) квартиль.

\*\* среднее значение (стандартное отклонение), t тест

Частота отмены цикла в конкордантных по ВИЧ-инфекции парах составила 12,6% (10 из 79 циклов), что превышало данный показатель в контрольной группе – 2,4% (3 из 122;  $p < 0,001$ ). При этом, в 4 из 79 (5%) циклов основной группы не были получены ооциты, в 1 из 79 (1,2%) – не было признаков оплодотворения, в 1 из 79 (1,2%) – проведена криоконсервация ооцитов в связи с отсутствием сперматозоидов в эякуляте у супруга в день трансвагинальной пункции яичников, а в 4 из 79 (5%) наблюдений – отсутствовали эмбрионы, пригодные для переноса в полость матки. В контрольной группе основанием для отмены цикла явилось отсутствие эмбрионов для переноса в 3 из 122 (2,4%) случаев.

Показаниями для сегментации цикла в конкордантных по ВИЧ-инфекции парах и группе контроля послужили: риск развития СГЯ в 3,7% (3/79) и 5,7% (7/122) случаев, проведение ПГТ-А – 3,7% (3/79) и 6,5% (8/122), полип эндометрия – 2,5% (2/79) и 1,6% (2/122), «тонкий» эндометрий – 2,5% (2/79) и 0,8% (1/122) и гидросальпинкс – 2,5% (2/79) и 0,8% (1/122) наблюдений соответственно ( $p=0,209$ ).

Таким образом, перенос эмбрионов был выполнен в 53 из 79 (67%) циклов в группе с ВИЧ-положительным статусом у обоих партнеров и в 100 из 122 (81,9%) – в группе контроля. В 100% случаев в обеих группах исследования проводился селективный перенос эмбриона, наиболее часто на 5 сутки культивирования (5 (4;5) и 5 (4;5);  $p=0,691$ ).

**Таблица 35**

**Эффективность «свежих» циклов ЭКО в конкордантных по ВИЧ-инфекции парах и контрольной группе**

Исходы	ВИЧ «+» n=53	ВИЧ «-» n=100	p-value*
Биохимическая беременность	24,5% (13/53)	43% (43/100)	0,024
Клиническая беременность	18,9% (10/53)	34% (34/100)	0,040
Ранние репродуктивные потери	5,7% (3/53)	4% (4/100)	0,640
Поздний выкидыш	-	1% (1/100)	0,465
Роды	13,2% (7/53)	29% (29/100)	0,028

\* $p < 0,05$  (95% уровень значимости) – статистически значимые отличия

Оценка эффективности «свежих» циклов ЭКО/ICSI показала, что в конкордантных по ВИЧ-инфекции парах наблюдалась существенно более низкая частота биохимической (24,5% и 43%;  $p=0,024$ ), клинической беременности (18,9% и 34%;  $p=0,040$ ) и родов (13,2% и 29%;  $p=0,028$ ) (таб. 35),

а частота ранних репродуктивных потерь (5,7% и 4%;  $p=0,640$ ) и прерываний беременности на поздних сроках (0 и 1%;  $p=0,465$ ) были сопоставимы между изучаемыми группами. Дети, рожденные в конкордантных по ВИЧ-инфекции парах в 100% случаев были ВИЧ-отрицательными, что обусловлено приемом АРТ и неопределяемой вирусной нагрузкой во время беременности.

Далее проведена оценка эффективности криопротоколов в изучаемых группах (таб. 36). Следует отметить, что в конкордантных по ВИЧ-инфекции парах в 14 из 48 (29,1%) криоциклов эмбрионы были получены с использованием ооцитов донора.

**Таблица 36**

**Эффективность криоциклов ЭКО в конкордантных по ВИЧ-инфекции парах и контрольной группе**

Исходы	ВИЧ «+» собственные ооциты n=34	ВИЧ «+» ооциты донора n=14	ВИЧ «-» n=88	p-value*
Биохимическая беременность	14,7% (5/34)	42,9% (6/14)	50% (44/88)	* <0,001 ** 0,621
Клиническая беременность	14,7% (5/34)	35,7% (5/14)	40,9% (36/88)	* 0,006 ** 0,714
Ранние репродуктивные потери	5,9% (2/34)	7,1% (1/14)	11,4% (25/88)	* 0,364 ** 0,638
Поздний выкидыш	-	-	1,1% (1/88)	* 0,534 ** 0,690
Роды	8,8% (3/34)	28,6% (4/14)	28,4% (25/88)	* 0,022 ** 0,990

\* p-value между группами ВИЧ «+» собственные ооциты и контроль

\*\* p-value между группами ВИЧ «+» ооциты донора и контроль

Анализ эффективности криопротоколов показал, что в конкордантных парах при использовании собственных ооцитов частота биохимической

(14,7% и 50%;  $p < 0,001$ ), клинической беременности (14,7% и 40,9%;  $p=0,006$ ) и родов (8,8% и 28,4%;  $p=0,022$ ) была существенно ниже, чем у пациенток без ВИЧ-инфекции, а в случаях использования ооцитов донора данные показатели были сопоставимы между группами. Частота ранних репродуктивных потерь и позднего выкидыша не зависели от ВИЧ – статуса пациентов и от используемых для оплодотворения ооцитов.

Таким образом, при проведении программы ЭКО/ICSI в конкордантных по ВИЧ-инфекции парах было получено меньшее число ОКК, зигот, бластоцист отличного качества. В данной группе пациентов наблюдалась высокая частота отмены цикла в связи с отсутствием ооцитов/эмбрионов и низкая частота наступления беременности и родов, как в «свежих», так и в криоциклах при использовании собственных ооцитов.

### **3.9. Морфологические характеристики ооцитов у ВИЧ-инфицированных пациенток, принимающих АРТ**

В данную часть исследования было включено 210 супружеских пар, из них основную группу составили 113 пациенток с ВИЧ-инфекцией, контрольную – 97 женщин без ВИЧ-инфекции. Проведена морфологическая оценка 2321 зрелых ооцитов (МII), из них 1228 полученных в основной группе и 1093 – в группе контроля.

Медиана возраста у пациенток с ВИЧ-инфекцией составляла 34 года (31;37 лет). Длительность заболевания и продолжительность АРТ – 8 (5;11) и 3,6 (2;6) лет соответственно. У 65 из 113 женщин (57,5%, 95% ДИ:47,8-66,4) была 3 субклиническая стадия заболевания, у 43 (38,1%, 95% ДИ:29,2-47,8) – 4А стадия, у 2 (1,8%, 95%ДИ:0-4,4) – 4Б и у 3 (2,7%, 95%ДИ:0-6,2) 4В стадия ВИЧ-инфекции. Медиана количества CD4+лимфоцитов составила 582 мкл в 1 кл (432;807), CD8+лимфоцитов – 740 мкл в 1 кл (611;982), а значение ИРИ – 0,87.



Пациентки обеих групп были сопоставимы по возрасту (34 года (31;37) и 33 года (30;36);  $p=0,079$ ), ИМТ (22,5 кг/м<sup>2</sup> (20;24,9) и 22 кг/м<sup>2</sup> (21;24,5);  $p=0,875$ ) и факторам бесплодия, которое в исследуемых группах чаще было обусловлено трубно-перитонеальным фактором. Следует отметить, что у ВИЧ-инфицированных пациенток в сравнении с группой контроля наблюдались значимо более низкие уровни АМГ (1,5 нг/мл (0,8;3,1) и 2,8 нг/мл (1,9;5,7);  $p=0,001$ ). Как результат этого, при проведении овариальной стимуляции в основной группе пациенток была использована большая суммарная доза гонадотропинов (2250МЕ (1875; 2700) и 1950МЕ (1650;2250);  $p=0,001$ ), получено существенно меньшее количество ооцитов (8(4;14) и 10(7;15);  $p=0,010$ ). При этом длительность стимуляции (10 дней (9;10) и 10 дней (9;10);  $p=0,948$ ) и число зрелых ооцитов МП (7 (3;10,5) и 8(6;12); $p=0,14$ ) были сопоставимы между группами.

Далее проведена оценка морфологических характеристик зрелых ооцитов. Частота встречаемости различных видов дисморфизмов ооцитов у ВИЧ-инфицированных женщин была существенно выше, чем у пациенток контрольной группы и составила 29,5% (362/1228) и 14,1% (154/1093) соответственно ( $p < 0,001$ , ОШ 2,092 95% ДИ 1,765-2,480). При этом у женщин с ВИЧ-инфекцией наблюдалась слабая положительная корреляция между частотой встречаемости морфологически аномальных ооцитов и длительностью АРТ ( $r=0,173$ ;  $p < 0,001$ ), а взаимосвязи со «стажем» заболевания выявлено не было ( $r=0,023$ ;  $p=0,429$ ). Частота выявления дисморфизмов ооцитов в данной группе исследования имела прямую зависимость от суммарной дозы индуктора ( $r=0,222$ ,  $p < 0,001$ ) и обратно зависела от количества полученных ооцитов ( $r=-0,152$ ,  $p < 0,001$ ). Корреляции частоты встречаемости морфологических аномалий ооцитов с возрастом пациенток в изучаемых группах выявлено не было ( $r=0,028$ ;  $p=0,432$  и  $r=0,034$ ;  $p=0,459$ ).

**Таблица 37**

### Морфологическая характеристика ооцитов

	ВИЧ «+» n=1228	Контроль n=1093	p	ОШ 95%ДИ
<b>Цитоплазматические дисморфизмы:</b>	26,3% 323/1228	11,7% 128/1093	<0,001	2,26 (1,8-2,7)
Центральная гранулярность	17,3% 213/1228	10% 109/1093	<0,001	1,7 (1,4- 2,199)
Вакуоли	1,4% 17/1228	0,3% 3/1093	0,004	5,0 (1,482- 17,164)
Аномальные агрегаты ГЭР	1,3% 16/1228	-		
Темная цитоплазма	1,1% 13/1228	0,5% 6/1093	0,174	1,9 (0,736- 5,056)
Агомогенная цитоплазма	7% 86/1228	1,7% 19/1093	<0,001	4,0 (2,468- 6,577)
<b>Экстрацитоплазматические дисморфизмы:</b>	9% 111/1228	7,7% 84/1093	0,241	1,1 (0,897- 1,543)
Изменение ширины периветилинового пространства	1,4% 17/1228	3% 32/1093	0,009	0,4 (0,263- 0,844)
Гранулярность в периветилиновом пространстве	6,2% 75/1228	3,4% 37/1093	0,002	1,7 (1,223- 2,642)

Аномалии строения первого полярного тельца	0,9% 11/1228	0,3% 3/1093	0,054	3,2 (0,910- 11,624)
Деформация зоны пеллюцида ооцита	0,7% 8/1228	0,9% 10/1093	0,465	0,7 (0,281- 1,791)
<b>Сочетание цито- и экстрацитоплазматических дисморфизмов</b>	5,6% 69/1228	5,2% 57/1093	0,668	1,0 (0,766- 1,516)

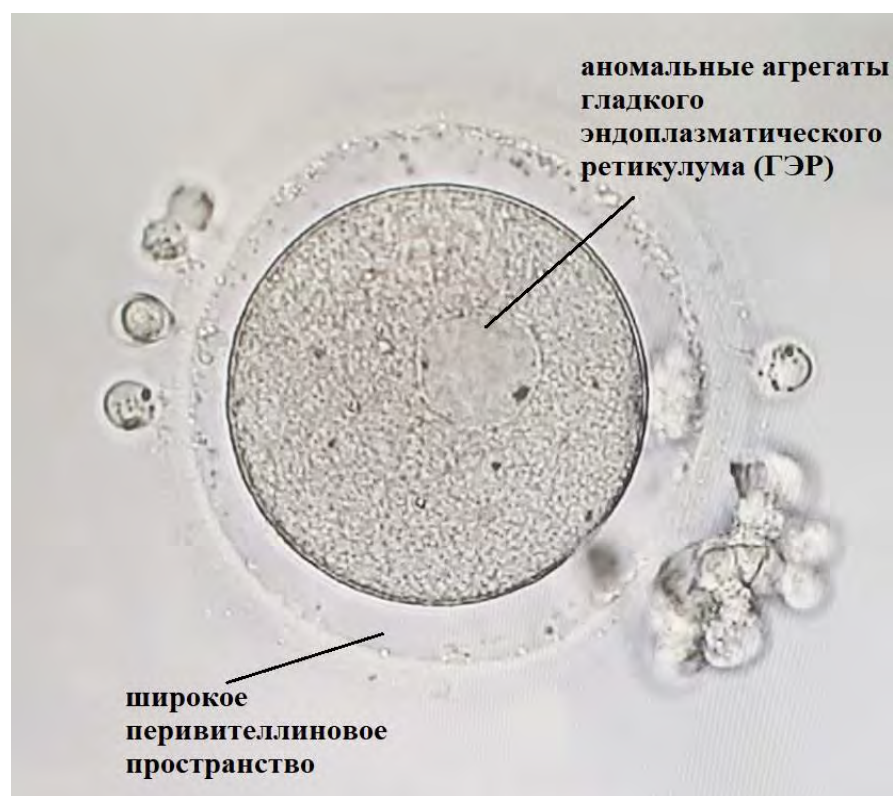
\* $p < 0,05$  (95% уровень значимости) – статистически значимые отличия

Как видно из представленных в таблице 37. данных, цитоплазматические аномалии строения ооцитов статистически значимо чаще встречались в основной группе исследования в сравнении с группой контроля (26,3% и 11,7%;  $p < 0,001$ , ОШ 2,26, 95% ДИ 1,8-2,7). Наиболее распространенной формой цитоплазматических аномалий ооцитов в исследуемой выборке была центральная гранулярность цитоплазмы (рис.20).



**Рисунок 20.** Цитоплазматические дисморфизмы ооцитов.

Частота встречаемости данной аномалии строения яйцеклеток в основной группе составила 17,3% (213/1229), в группе контроля - 10% (109/1093) ( $p < 0,001$ ; ОШ 2,26, 95% ДИ:1,8-2,7). Кроме этого, в ооцитах ВИЧ-инфицированных пациенток существенно чаще, чем в группе контроля наблюдались вакуоли (рис. 20) (1,4% и 0,3%;  $p=0,004$ ; ОШ 5,044, 95%ДИ: 1,482-17,164) и агомогенная цитоплазма (7% и 1,7%;  $p < 0,001$ , ОШ 4,029 95%ДИ: 2,468-6,577), а темная цитоплазма ооцитов встречалась одинаково часто в обеих группах (1,1% и 0,5%;  $p=0,174$ , ОШ 1,9 95% ДИ: 0,736-5,056) исследования. Следует отметить, что аномальные агрегаты ГЭР обнаруживали только в ооцитах ВИЧ-инфицированных женщин (1,3%, 16/1228) (рис.21.).



**Рисунок 21.** Сочетание интра- и экстрацитоплазматических аномалий строения ооцитов.

Частота выявления экстрацитоплазматических аномалий строения ооцитов, а также сочетание форм у ВИЧ-инфицированных пациенток была сопоставима с ВИЧ-серонегативным контролем. При этом в основной группе исследования статистически значимо чаще наблюдались гранулярность в перивителлиновом пространстве (6,2% (75/1228) и 3,4% (37/1093);  $p=0,002$ , ОШ 1,798 95%ДИ: 1,223-2,642, а в группе контроля - изменение ширины перивителлинового пространства (1,4% (17/1228) и 3% (32/1093);  $p=0,009$ , ОШ 0,471 95% ДИ: 0,263-0,844). Аномалии строения первого полярного тельца чаще встречались у пациенток с ВИЧ-инфекцией, однако статистическая значимость различий имела пограничное значение (0,9% (11/1228) и 0,3% (3/1093);  $p=0,054$ , ОШ 3,2 95% ДИ: 0,910-11,624). Деформация зоны пеллюцида ооцита наблюдалась одинаково часто в обеих группах (0,7% (8/1228) и 0,9% (10/1093);  $p=0,465$ , ОШ 0,7 95% ДИ: 0,281-1,791) данного исследования.

Далее был проведен анализ морфологических характеристик ооцитов в зависимости от используемых в схемах АРТ препаратов группы НИОТ с учетом их митохондриальной токсичности (таб.38). Было показано, что при применении НИОТ с доказанной низкой токсичностью на митохондрии (фосфазад, ламивудин, абакавир, тенофовир, эмтрицитабин) частота выявления цитоплазматических (25,3% и 28,1%;  $p=0,275$ ) и экстрацитоплазматических (8,2% и 10,5%;  $p=0,177$ ) дисморфизмов ооцитов была сопоставима с таковой при использовании высокотоксичных препаратов (диданозин, ставудин, зидовудин). При этом аномальные агрегаты ГЭР (0,5% и 2,7%;  $p=0,001$ ), темная цитоплазма (0,3% и 2,5%;  $p < 0,001$ ) и изменение ширины периветилинового пространства (0,8% и 2,6%;  $p=0,010$ ) существенно чаще встречались при применении высокотоксичных на митохондрии НИОТ.

**Таблица 38**

**Морфологическая характеристика ооцитов в зависимости от митохондриальной токсичности используемого в АРТ препарата группы НИОТ**

	Низкотоксичные НИОТ n= 791	Высокотоксичные НИОТ n= 437	p
<b>Цитоплазматические дисморфизмы:</b>	25,3% 200/791	28,1% 123/437	0,275
Центральная гранулярность	16,9% 134/791	18,1% 79/437	0,614
Вакуоли	1,1% 9/791	1,8% 8/437	0,320
Аномальные агрегаты ГЭР	0,5% 4/791	2,7% (12/437)	<b>0,001</b>
Темная цитоплазма	0,3% 2/791	2,5% 11/437	<b>&lt;0,001</b>

Агомогенная цитоплазма	7% 55/791	7,1% 31/437	0,926
<b>Экстрацитоплазматические дисморфизмы:</b>	8,2% 65/791	10,5% 46/437	0,177
Изменение ширины периветилинового пространства	0,8% 6/791	2,6% 11/437	<b>0,010</b>
Гранулярность в периветилиновом пространстве	6,2% 49/791	6,1% 26/437	0,937
Аномалии строения 1-го полярного тельца	0,8% 6/791	1,2% 5/437	0,470
Деформация и утолщение зоны пеллюцида ооцита	0,5% 4/791	0,9% 4/437	0,376
<b>Сочетание цито- и экстрацитоплазматических дисморфизмов</b>	4,4% 35/791	7,8% 34/437	<b>0,014</b>

\* $p < 0,05$  (95% уровень значимости) – статистически значимые отличия

Таким образом, у женщин, инфицированных ВИЧ, различные виды дисморфизмов ооцитов встречались в каждом третьем случае, а частота их выявления напрямую зависела от длительности АРТ и суммарной дозы гонадотропинов, используемых для овариальной стимуляции.

### **3.10. Копийность мтДНК в кумулюсных клетках у ВИЧ-инфицированных женщин, принимающих АРТ**

В данную часть настоящего исследования были включены 191 пациентка, из них основную группу составили 95 женщин с ВИЧ-инфекцией, контрольную – 96 серонегативных по ВИЧ пациенток. Количественная оценка копийности мтДНК проведена в 78 и 111 образцах кумулюсных клеток соответственно. При использовании обоих пар праймеров к генам МТ-ND2 и

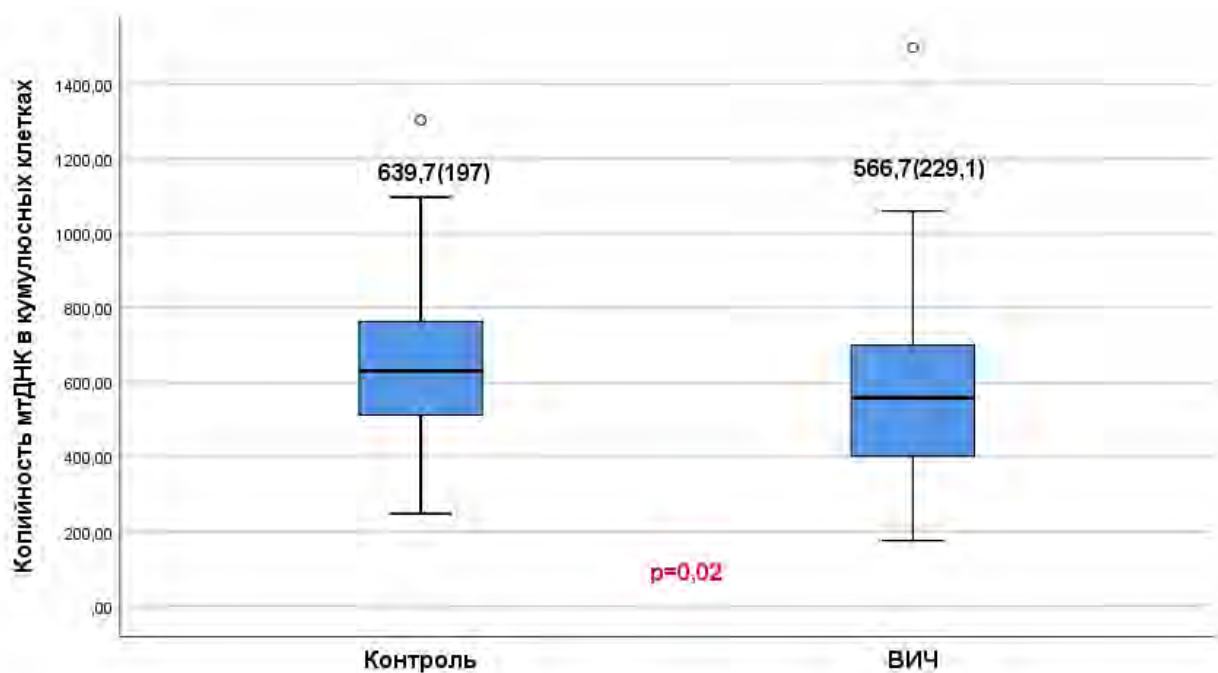
MT-ND4 мтДНК получены идентичные результаты. Таким образом, делеции в регионе MT-ND2 - MT-ND4 мтДНК не были выявлены.

Медиана возраста женщин с ВИЧ-инфекцией составила 34 года (31;37). «Стаж» заболевания - 8 лет (6;11), преобладала 3 субклиническая стадия (61,05%). Пациентки со стадией заболевания 4а (32,63%), 4б (4,21%) и 4в (2,11%) находились в фазе ремиссии не менее 6 месяцев. Все пациентки получали комбинированную АРТ, из них 84 (88,4%) – препараты группы НИОТ в сочетании ИП, 9 (9,5%) – НИОТ+ННИОТ и 2 (2,1%) – три препарата группы НИОТ. У 48 (50,5%) пациенток использовались НИОТ с высокой митохондриальной токсичностью (диданозин, ставудин, зидовудин), другие 52 (49,5%) – получали препараты с незначительным токсическим эффектом на митохондрии (фосфазид, ламивудин, абакавир, тенофовир, эмтрицитабин). Медиана продолжительности приема препаратов составила 4 года (ИР 2-6,5 лет). Вирусная нагрузка в крови была неопределяемая в 100% случаев, а медиана количества CD4+ лимфоцитов составила 622,5 (446,7;808,7) кл/мл.

Пациентки обеих групп были сопоставимы по возрасту (34 и 34 года;  $p=0,16$ ), индексу массы тела (ИМТ) (22 и 22 кг/м<sup>2</sup>;  $p=0,62$ ) длительности (6,9 и 5,2 лет;  $p=0,12$ ) и факторам бесплодия. Пациентки обеих групп были сопоставимы по количеству оперативных вмешательств на органах малого таза (60,9% и 76,5%;  $p=0,21$ ), в том числе по частоте проведения операций на яичниках (21,1% и 24%;  $p=0,63$ ). При этом обращает на себя внимание более низкая концентрация АМГ (1,5 и 3,5 нг/мл;  $p < 0,001$ ) в основной группе по сравнению с серонегативными по ВИЧ пациентками.

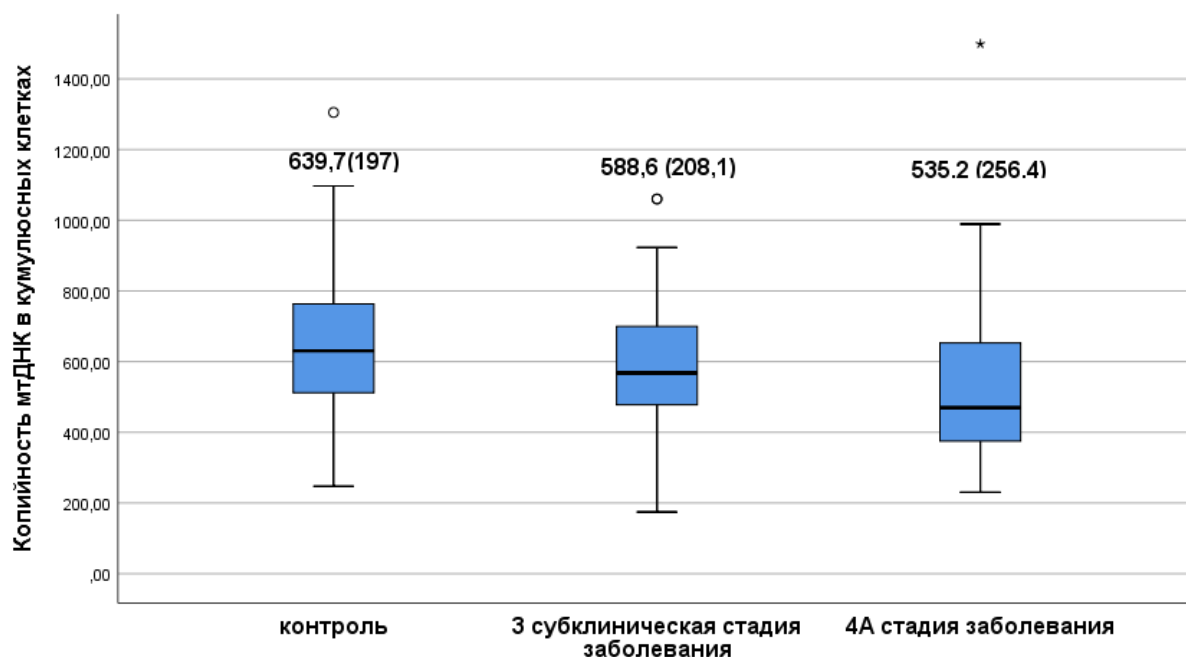
Следует обратить внимание, что число копий мтДНК в клетках кумулюса у ВИЧ-инфицированных пациенток было статистически значимо ниже, чем у женщин без ВИЧ-инфекции (566,7(229,1) и 639,7(197) о.е;  $p=0,02$ ) (рис. 22).





**Рисунок 22. Копийность мтДНК в кумулюсных клетках ооцитов**

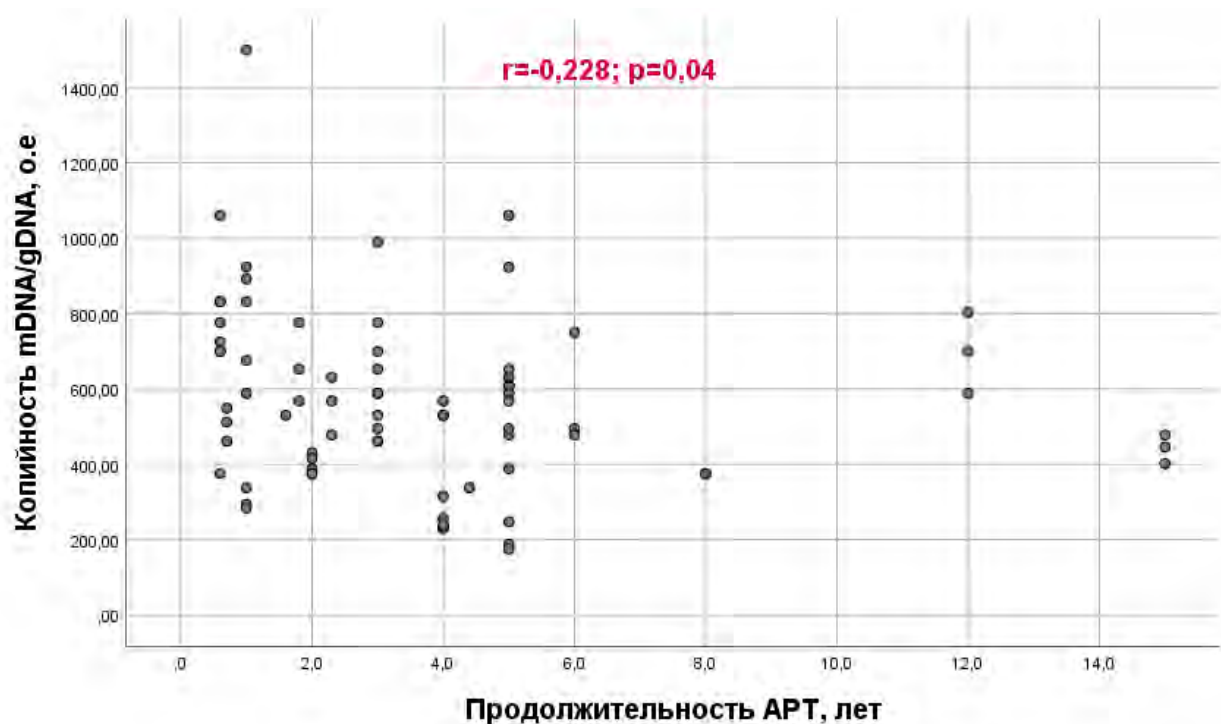
Более того, их содержание различалось в зависимости от стадии ВИЧ-инфекции (рис. 23). Копийность мтДНК в кумулюсных клетках ооцитов у пациенток с 3 субклинической стадией заболевания была сопоставима с таковой у женщин контрольной группы (588,6 (208,1) и 639,7(197) о.е.;  $p=0,534$ ), а в случае 4А стадии – существенно ниже (535,2 (256,4) и 639,7(197);  $p=0,01$ ).



**Рисунок 23. Копийность мтДНК в кумулюсных клетках в зависимости от стадии ВИЧ-инфекции**

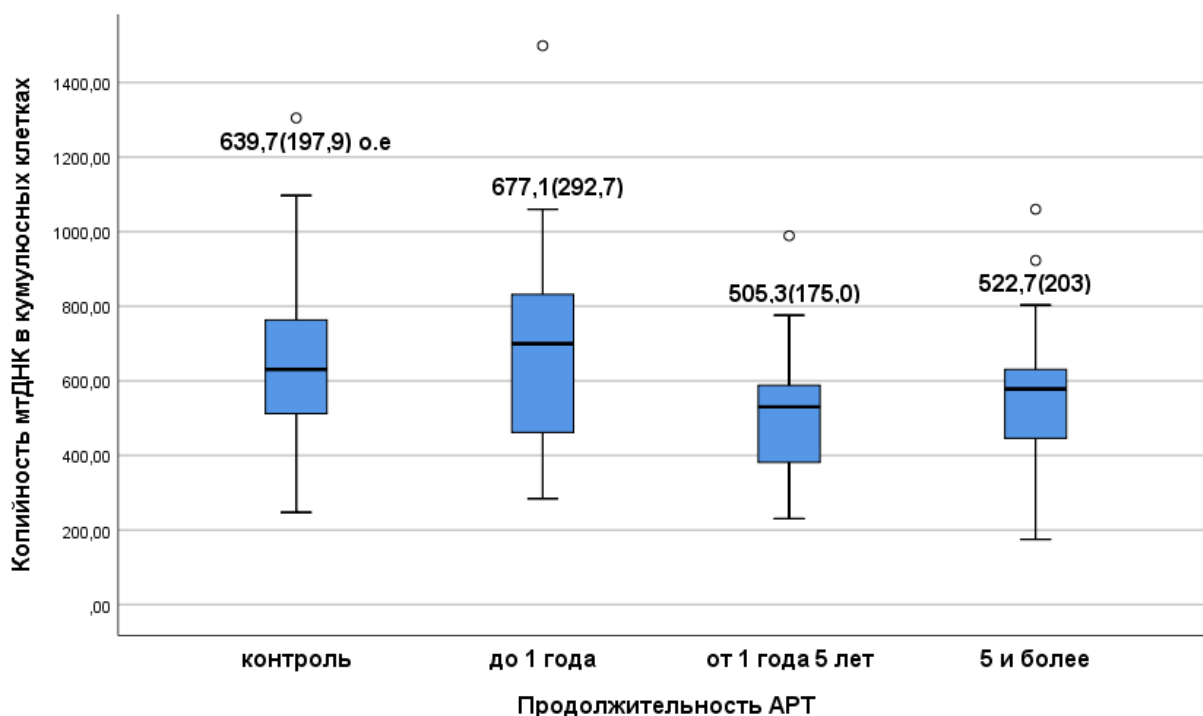
Оценка силы взаимосвязи не выявила корреляционной зависимости копийности мтДНК в кумулюсных клетках с возрастом пациенток в обеих группах ( $r=0,153$ ;  $p=0,18$  и  $r=0,164$ ;  $p=0,08$  соответственно), а также с длительностью бесплодия ( $r=0,300$ ;  $p=0,07$  и  $r=-0,041$ ;  $p=0,67$ ).

В основной группе исследования число копий мтДНК в клетках кумулюса не зависело от «стажа» ВИЧ-инфекции ( $r=-0,132$ ;  $p=0,26$ ), количества CD4+лимфоцитов ( $r=0,037$ ;  $p=0,74$ ), CD8+лимфоцитов ( $r=0,020$ ;  $p=0,91$ ). Вместе с тем, выявлена обратная зависимость копийности мтДНК в клетках кумулюса от длительности АРТ ( $r=-0,228$ ;  $p=0,04$ ) (рис. 24).



**Рисунок 24.** Корреляционный анализ копийности мтДНК и продолжительности АРТ у ВИЧ – инфицированных женщин.

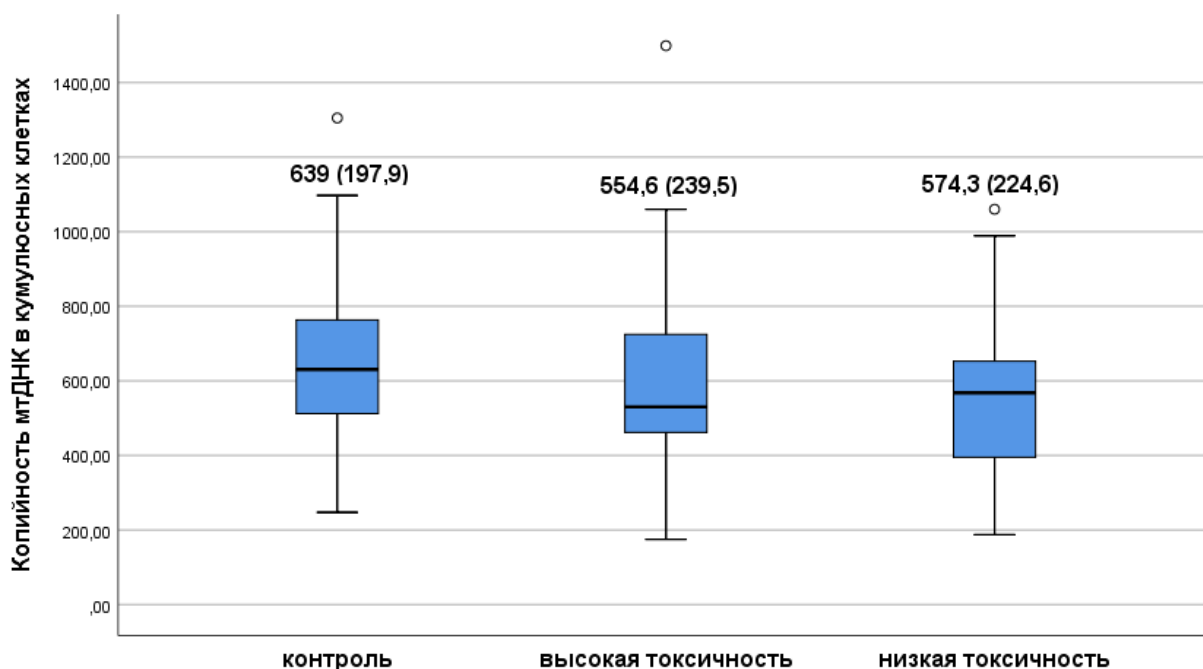
Более того при продолжительности АРТ менее 1 года содержание мтДНК в кумулюсных клетках было сопоставимо с контрольной группой (677,1(292,7) и 639,7(197,9) о.е;  $p=0,46$ ). При приеме АРТ от 1 года до 5 лет копийность мтДНК в кумулюсных клетках составила 505,3(175,0) о.е, что было статистически значимо ниже, чем в контрольной группе (639,7(197,9) о.е;  $p=0,001$ ). В случае длительности терапии более 5 лет этот показатель также был существенно ниже, чем в группе пациенток без ВИЧ-инфекции (522,7(203) о.е;  $p=0,04$ ) (рис. 25).



**Рисунок 25.** Копийность мтДНК в кумулюсных клетках в зависимости от длительности АРТ

Далее мы провели сравнительный анализ уровня мтДНК в кумулюсе в зависимости от токсического эффекта НИОТ на митохондрии (рис.26).

Копийность мтДНК в кумулюсных клетках у пациенток, принимающих НИОТ с высокой митохондриальной токсичностью была существенно ниже (554,6 (239,5) и 639 (197,9);  $p=0,04$ ), а при использовании препаратов с незначительным токсическим эффектом на митохондрии – сопоставима со здоровым контролем (574,3 (224,6) и 639(197,9);  $p=0,06$ ).



**Рисунок 26.** Копийность мтДНК в кумулюсных клетках в зависимости от токсического эффекта на митохондрии

Таким образом, у пациенток с ВИЧ-инфекцией, длительно использующих АРВП с высокой митохондриальной токсичностью, наблюдалось снижение копийности мтДНК в кумулюсных клетках ооцитов.

### 3.11. Копийность мтДНК в сперматозоидах мужчин с ВИЧ-инфекцией, принимающих АРТ

В данную часть настоящего исследования были включены 175 мужчин, из них основную группу составили 79 ВИЧ-инфицированных мужчин, контрольную – 96 пациентов без ВИЧ-инфекции. Количественная оценка мтДНК лишенной делеций (mtDNA<sub>del-</sub>), тотальной мтДНК (mtDNA<sub>total</sub>) и их соотношения (mtDNA<sub>total</sub> / mtDNA<sub>del-</sub>) проведена в 58 и 96 образцах спермы соответственно.

Медиана возраста ВИЧ-инфицированных мужчин составила 37 лет (33;39), «стаж» заболевания – 5 лет (2;11лет). Диагноз ВИЧ-инфекции был поставлен в возрасте 29 лет (26;32 года), преобладала 3 субклиническая стадия заболевания (64,9%). Пациенты со стадией заболевания 4А (23,4%), 4Б (4,3%)

и 4В (7,5%) находились в фазе ремиссии не менее 6 месяцев. Все принимали комбинированную АРТ, из них 38 (48,1%) - препараты группы НИОТ в сочетании с ННИОТ, 35 (44,3%) - НИОТ + ИП, 5 (6,3%) пациентов – НИОТ+ИИ и 1 (1,3%) пациент - три препарата группы НИОТ. Медиана продолжительности приема препаратов составила 2 года (1;5 лет), а количество CD4+ лимфоцитов в крови – 535 (383-679) клеток/мкл.

Анализ копийности мтДНК в эякуляте показал, что количество мтДНК лишенной делеций (1,9 (0,9;5,9) и 2,4 (1,9;5,6) о.е.; p=0,54), уровень тотальной мтДНК (5,4 (3,7;9,8) и 5,5 (3,5;8,2), о.е; p=0,62) и соотношение mtDNA<sup>total</sup> /mtDNA<sup>del-</sup> (2,4(1,5;3,9) и 1,9 (1,3 и 3,0), p=0,09) были сопоставимы между группами (таб. 39).

**Таблица 39.**

**Копийность мтДНК в сперматозоидах в зависимости от ВИЧ-статуса пациентов**

Показатели*	ВИЧ + (n=58)	ВИЧ - (n=96)	p
mtDNA <sup>del-</sup>	1,9 (0,9-5,9)	2,4(1,9-5,6)	0,54
mtDNA <sup>total</sup>	5,4(3,7-9,8)	5,5 (3,5-8,2)	0,62
mtDNA <sup>total</sup> / mtDNA <sup>del-</sup>	2,4(1,5-3,9)	1,9(1,3-3,0)	0,09

\* показатели представлены в виде Me (Q1; Q3), где Me – медиана, Q1 – 25 (нижний) квартиль, Q3 – 75 (верхний) квартиль.

Далее образцы спермы были разделены на нормозооспермию, субфертильную сперму и тяжелую патозооспермию (таблица 40).

**Таблица 40.**

**Частота патозооспермии в зависимости от ВИЧ статуса пациентов**

Показатели	ВИЧ + n=58	ВИЧ - n=96	p
Нормозооспермия	33(56,9%)	63(65,6%)	0,84

Субфертильная сперма	11(19%)	9(9,4%)	0,07
Тяжелая патозооспермия	14(24,1%)	24(25%)	0,89

\* $p < 0,05$  (95% уровень значимости) – статистически значимые отличия

В группе ВИЧ-инфицированных мужчин нормозооспермия встречалась в 56,9% случаев, субфертильная сперма – в 19%, выраженная патология спермы – в 24,1 %; в контрольной группе – 65,6%, 9,4% и 25%, соответственно ( $p=0,22$ ). Статистически значимых различий в структуре патозооспермии выявлено не было, в обеих группах преобладала тератозооспермия (20,7% и 16,7%;  $p=0,56$ ) (табл. 41).

**Таблица 41.**

**Характеристика патологических изменений спермограммы в исследуемых группах пациентов**

	ВИЧ «+» n=25	ВИЧ «-» n=33	p
астенотератозооспермия	3(5,2%)	7(7,3%)	0,45
астенозооспермия	5(8,6%)	4(4,2%)	0,85
тератозооспермия	12(20,7%)	16(16,7%)	0,56
олигоастенозооспермия	-	2(2,1%)	0,89
олигоастенотератозооспермия	4(6,9%)	2(2,1%)	0,12
азооспермия	1(1,7%)	-	0,98
олиготератозооспермия	-	1(1%)	0,78
олигозооспермия	-	1(1%)	0,78

\* $p < 0,05$  (95% уровень значимости) – статистически значимые отличия

На следующем этапе исследования выполнена оценка содержания мтДНК сперматозоидов у пациентов с ВИЧ-инфекцией и без ВИЧ-инфекции в зависимости от имеющихся изменений параметров спермограммы. Было

выявлено, что при отсутствии патологических изменений в спермограмме содержание мтДНК не зависело от ВИЧ-статуса мужчины (таб.42).

**Таблица 42**

**Копийность мтДНК в сперматозоидах при отсутствии патологических изменений эякулята**

Параметры	ВИЧ + n=25	ВИЧ - n=33	p-value
mtDNA <sup>del-*</sup>	2,5 (1,6;5,1)	2,1(1,4;3,5)	0,98
mtDNA <sup>total*</sup>	1,7(0,8;5,5)	2(1,1;3,1)	0,22
mtDNA <sup>total</sup> / mtDNA <sup>del-*</sup>	5,8(3,5;10,2)	4,9(3,2;7,2)	0,27

\* показатели представлены в виде Me (Q1; Q3), где Me – медиана, Q1 – 25 (нижний) квартиль, Q3 – 75 (верхний) квартиль.

Более того, существенных отличий в копийности мтДНК в сперматозоидах у мужчин, имеющих субфертильную и тяжелую патозооспермию, как в группе с ВИЧ-инфекцией, так и без ВИЧ-инфекции также выявлено не было (табл. 43, 44).

**Таблица 43**

**Копийность мтДНК в сперматозоидах при субфертильных показателях спермограммы**

Показатели	ВИЧ + n=11	ВИЧ - n=9	p-value
mtDNA <sup>del-*</sup>	3(1,5;4)	2,1(1,5;3,5)	0,62
mtDNA <sup>total*</sup>	1,8(0,5;4,5)	2,3(0,8;5,1)	0,67
mtDNA <sup>total</sup> / mtDNA <sup>del-</sup>	4,5(4,2;8)	4,2(2,8;7,6)	0,44

\* показатели представлены в виде Me (Q1;Q3), где Me – медиана, Q1 – 25 (нижний) квартиль, Q3 – 75 (верхний) квартиль.

**Таблица 44**

**Копийность мтДНК в сперматозоидах при тяжелых нарушениях сперматогенеза**

Показатели	ВИЧ + n=14	ВИЧ - n=24	p-value
mtDNA <sup>del-*</sup>	1,7(1;2,4)	1,4(1,1;1,8)	0,22
mtDNA <sup>total*</sup>	3,7(1,7;3,7)	5,3(2,5;12,1)	0,24



mtDNA <sup>total</sup> / mtDNA <sup>del-</sup>	5,4(3,7;10,2)	8,2(5,5;15,2)	0,33
--	---------------	---------------	------

\* показатели представлены в виде Me (Q1;Q3), где Me – медиана, Q1 – 25 (нижний) квартиль, Q3 – 75 (верхний) квартиль.

В то же время, у ВИЧ-инфицированных мужчин с тяжелыми нарушениями сперматогенеза была выявлена существенная корреляция между изучаемыми показателями. В данной группе была обнаружена отрицательная корреляция между длительностью АРТ и копийностью mtDNA<sup>total</sup> ( $r=-0,627$ ;  $p=0,01$ ), а также длительностью АРТ и копийностью mtDNA<sup>del-</sup> ( $r=-0,542$ ;  $p=0,04$ ). Выраженная отрицательная корреляция была выявлена между количеством CD4<sup>+</sup> клеток и mtDNA<sup>total</sup> / mtDNA<sup>del-</sup> ( $r=-0,629$ ;  $p=0,03$ ).

Таким образом, не было выявлено статистически значимых различий в копийности мтДНК в сперматозоидах у мужчин с ВИЧ – инфекцией и контрольной группы. Содержание мтДНК в сперматозоидах мужчин, инфицированных ВИЧ, обратно зависело от продолжительности использования АРВП.

### **3.12. Безопасность программ ВРТ у пациентов, инфицированных ВИЧ**

Для оценки безопасности методов ВРТ были включены 165 дискорданных пар с ВИЧ-инфекцией у мужчины, которым проведено 247 «свежих» циклов ЭКО. В 60 циклах было выполнено тестирование образцов спермы на РНК ВИЧ, в 187 – тестирование не проводилось. Во всех случаях обработка эякулята выполнена по методике двойного градиента и флотации, а оплодотворение ооцитов - методом ICSI.

Анализ результатов тестирования образцов спермы показал, что РНК ВИЧ не обнаруживали в 100% случаев, что обусловлено приемом АРТ. Антитела к ВИЧ в крови женщин через 21 день, 3 и 6 месяцев после переноса эмбрионов не выявлялись также в 100% наблюдений, как в группе с выполненным тестированием эякулята на наличие РНК ВИЧ, так и без такового.

Лабораторное исследование крови на ДНК/РНК ВИЧ было выполнено всем детям, рожденным ВИЧ-инфицированными женщинами. Результаты были отрицательными в 100% случаев.

Полученные данные свидетельствует о безопасности методов ВРТ у пациентов, инфицированных ВИЧ.

## **Глава 4.**

### **Обсуждение полученных результатов.**

Достижения в лечении ВИЧ-инфекции привели к снижению смертности и улучшению качества жизни, что позволяет пациентам данной группы планировать беременность, как самостоятельно, так и с применением ВРТ. Однако у ВИЧ-инфицированных больных наблюдается снижение самостоятельной фертильности, что объясняют высокой частотой встречаемости воспалительных заболеваний половых органов, а также негативным влиянием препаратов группы НИОТ на липидный обмен, резистентность к инсулину. Использование ВРТ решило много актуальных проблем пациентов с ВИЧ-инфекцией, включая способ реализации репродуктивной функции и профилактику инфицирования здорового партнера. При этом, рост числа дискордантных по ВИЧ-инфекции пар, которые обращаются для проведения ВРТ, как в случаях бесплодия, так и по эпидемиологическим показаниям, обуславливает необходимость изучения эффективности и безопасности программы ЭКО/ICSI в данной группе пациентов.

Проведено проспективное клиническое исследование, цель и задачи которого основывались на предположении о том, что гонадотоксичный эффект длительной АРТ приводит к снижению частоты клинической беременности и родов при проведении программы ЭКО/ICSI у пациентов, инфицированных ВИЧ.

В исследование были включены 832 супружеских пар, из них 320 дискордантных пар с ВИЧ-положительным статусом одного из партнеров, 59 конкордантных (оба партнера ВИЧ-инфицированы) и 453 пары без ВИЧ-инфекции. В группе с ВИЧ-инфекцией у женщины выполнено 182 «свежих» цикла ЭКО/ICSI и 162 криоцикла, в группе с ВИЧ-инфекцией у мужчины – 247 «свежих» и 157 криоцикла, а в группе с ВИЧ у обоих партнеров – 79 и 48 циклов соответственно.

На первом этапе исследования проведено анкетирование пациентов с ВИЧ-инфекцией, которые обратились для оценки статуса фертильности и/или проведения ВРТ.

Пациенты с ВИЧ-инфекцией были в репродуктивном возрасте (Ме 36 (33;40) лет). Обращает на себя внимание, что ВИЧ-инфекция у женщин была выявлена в более молодом, чем у мужчин возрасте (26,5 лет (22;30) и 29 лет (25;30) соответственно;  $p=0,0001$ ). Полученные данные согласуются с результатами других исследований, в которых также было показано, что женщины инфицируются в более раннем возрасте, чем мужчины [209,210]. Возможно, это обусловлено тем, что у женщин исходно риск инфицирования в 4-7 раз выше по сравнению с мужчинами того же возраста. Некоторые авторы объясняют это анатомическими особенностями и длительным нахождением во влагалище семенной жидкости с высокой концентрацией вирусных частиц [6]. Кроме этого, имеют значение некоторые физиологические условия, усиливающие время контакта ВИЧ со слизистой оболочкой шейки матки (например, гормональные контрацептивы).

Ранняя диагностика ВИЧ – инфекции и своевременное начало АРТ являются не только мерой профилактики инфицирования здорового партнера, но и способом предотвращения перинатальной передачи вируса. Однако не все супружеские пары при планировании беременности, перед отменой контрацепции проходят обследование на ВИЧ. Как результат, у 17 из 214 (7,9%) пациенток данного исследования диагноз ВИЧ – инфекции был поставлен во время беременности. По данным литературы, в последние годы вдвое уменьшилось число женщин, которым диагноз ВИЧ-инфекции впервые был установлен при обращении в женскую консультацию при беременности. Так, если в 2014 г. более трети беременных женщин узнали о своем ВИЧ-статусе при обследовании в момент постановки на учет в женской консультации (34,8%), то в 2017 г. этот показатель снизился в два раза и составил 16,3%. Авторы объясняют это ежегодным увеличением охвата населения тестированием на ВИЧ [211].

При первичном обращении для проведения программы ЭКО 6,2% пациентов не получали АРТ и имели определяемый уровень вирусной нагрузки в крови, то есть не были готовы к зачатию, в том числе с использованием ВРТ. По данным Гордон Е.О. и соавт. (2019) только 37% женщин и 32% мужчин репродуктивного возраста имеют вирусологическую ремиссию и с этой точки зрения готовы к зачатию [212]. Известно, что использование АРТ и, как результат, наличие неопределяемой вирусной нагрузки в крови до наступления беременности является мерой профилактики вертикальной передачи вируса.

В данном исследовании только в 5,7% (25 из 436) наблюдений диагноз ВИЧ был поставлен на этапе планирования беременности, в 9,4% (41 из 436) – при установленном бесплодии и в 10,3% (45 из 436) – при обследовании перед проведением программы ЭКО. Более поздняя диагностика ВИЧ-инфекции непосредственно перед проведением программы ЭКО наблюдалась чаще у мужчин (13,5%), по сравнению с женщинами (7%;  $p=0,026$ ). Полученные данные свидетельствуют о том, что на этапе планирования беременности, а также при обследовании по поводу бесплодия недостаточно внимания уделяется обследованию супруга/полового партнера на наличие ВИЧ-инфекции.

Инфицирование ВИЧ при гетеросексуальных контактах преобладало у женщин (69,6% и 45,5%,  $p=0,0001$ ), тогда как парентеральный путь заражения чаще встречался у мужчин (23% и 10,3%;  $p=0,0001$ ), что соответствовало общероссийским данным. Так, согласно официальным данным Центрального НИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, большинство (71%) мужчин в РФ были инфицированы ВИЧ при инъекционном употреблении наркотиков, а женщины чаще инфицируются половым путем от мужчин, относящихся к уязвимой группе населения [213].

В многоцентровом исследовании при изучении социального статуса 7 тысяч пациентов с ВИЧ из разных регионов РФ, посещающих центры СПИД было показано, что высшее образование имели только 17 % опрошенных [187].

В данной работе напротив, большинство (52,3%) пациентов имели высшее, а треть (33,5%) – среднее специальное образование. Различия в полученных данных можно объяснить тем, что в исследование Покровской А.В. и соавт. (2014) вошли все слои населения, включая уязвимые группы. Данная же работа включила узкую группу ВИЧ-инфицированных, имеющих бесплодие и планирующих реализацию репродуктивной функции.

Не имели трудовую занятость только 22,2% (97 из 436) пациентов, при этом чаще женщины (33,6%), чем мужчины (11,3%;  $p=0,0001$ ). Следует отметить, что многие пациенты (20,6%) имели собственный бизнес и/или занимали руководящую должность, другие работали в медицине (5%) и образовании (2,7%). В 10,6% (36 из 339) случаев это были юристы, в 10,3% (35 из 336) – экономисты, а различные рабочие профессии – в 16,2% (55 из 339) наблюдений. Представленные данные свидетельствуют о том, что в настоящее время лица, живущие с ВИЧ, в большинстве своем являются активно работающей во всех сферах деятельности частью общества.

Официальный или незарегистрированный брак был в 97,9 % (427 из 436) случаев и в 86,4% (377 из 436) наблюдений ВИЧ-статус партнера был отрицательный. Эти данные соответствуют результатам исследования по созданию «портрета» ВИЧ-инфицированных пациентов в РФ, где было показано, что ВИЧ статус полового партнера чаще отрицательный [209]. По результатам этого же исследования – у 30% женщин имелись как минимум 1 роды после постановки диагноза. В данной работе только у 16,1% (70 из 436) супружеских пар были дети, при этом чаще рожденные до ВИЧ-положительного статуса (11,7% и 5%;  $p=0,0001$ ). Различия с результатами других исследований можно объяснить тем, что в данную работу были включены супружеские пары с бесплодием (85,5%) или же использующие барьерные методы контрацепции (27,3%) для профилактики инфицирования здорового партнера. Другие супружеские пары (4,4%) имели незащищенные половые контакты только в перивульторный период, что несомненно уменьшало вероятность наступления самостоятельной беременности. Кроме

этого, имеются исследования, в которых показано, что после выявления ВИЧ-инфекции снижается уровень сексуальной активности и значимое нарушение сексуальной сферы партнеров. Половая дисфункция проявляется уменьшением сексуального влечения, возникновением вагинизма, диспареунии и эректильной дисфункции [214,215,216]. В данном исследовании 2,1% (9 из 436) пациентов не имели полового партнера по ряду причин, в том числе в связи с нарушениями в сексуальной сфере.

На следующем этапе работы был проведен анализ анамнестических данных и клиничко – лабораторных показателей у пациентов, инфицированных ВИЧ.

Женщины с ВИЧ-инфекцией имели длительный «стаж» заболевания (9,8 (5,7;12,4) лет) и относительно непродолжительный (4,5 (2,4;8) лет) период приема АРВП. Вероятно, это связано с тем, что в исследование включены женщины, которым было назначено лечение ВИЧ по ранее принятым показаниям к использованию АРТ, основанным на оценке состояния вирусной нагрузки, иммунного статуса, клинических проявлениях и наличии/отсутствии вторичных заболеваний. В настоящее же время показанием к назначению АРТ является сам факт наличия ВИЧ-инфекции независимо от клинической ситуации [28].

Стандартная схема АРТ включает использование двух препаратов из группы НИОТ («нуклеозидная основа») в сочетании с препаратами ННИОТ, ИП или ИИ [28]. В данном исследовании большинство (75,2%) ВИЧ-инфицированных женщин в схемах АРТ использовали препараты группы НИОТ в сочетании с ИП, несколько реже - НИОТ+ННИОТ (14%) и НИОТ+ИИ (9,3%). Следует отметить, что сочетание данных групп препаратов относится к предпочтительным схемам терапии ВИЧ, поскольку является оптимальным по эффективности, безопасности и переносимости. В 1,4% (3 из 214) случаев была использована тритерапия препаратами из группы НИОТ, что в настоящее время не рекомендовано к применению из-за низкой эффективности и высокой вероятности развития резистентности [28].

Исключением является комбинация препаратов зидовудин + ламивудин + абакавир, которую ранее рекомендовали как альтернативную схему у пациентов с ВИЧ-инфекцией и туберкулезом, имеющих уровень РНК ВИЧ в крови <100 тыс. копий/мл [28]. Все пациентки в настоящем исследовании, использующие данную комбинацию препаратов, имели в анамнезе туберкулез легких. Кроме этого, в данную работу были включены пациентки, которые применяли антиретровирусную дитерапию в комбинации НИОТ+ИИ (1,4%) и НИОТ+ИП (2,8%). По данным литературы режим дитерапии препаратами НИОТ+ИИ (ламивудин+долутегравир) показал высокую эффективность в снижении уровня РНК ВИЧ, а также отсутствие существенных метаболических нарушений [217]. Назначение двойной комбинации НИОТ+ИП, напротив, в настоящее время не рекомендовано к использованию и требует дальнейшего изучения, поскольку применение данной схемы терапии связано с развитием ряда метаболических нарушений и повышенным риском лекарственного взаимодействия [217,218]. Следует отметить, что у большинства пациенток (66,8%) в схеме АРТ были использованы препараты группы НИОТ с подтвержденной высокой митохондриальной токсичностью. Наиболее часто применяли зидовудин (31,8%), но также использовали такие препараты, как диданозин (1,4%) и ставудин (0,4%), которые в настоящее время не рекомендованы к назначению [28], также встречалось. Известно, что именно препарат зидовудин был одобрен FDA для предотвращения вертикальной передачи вируса [219,220]. Возможно, именно с этим связано столь широкое его использование в изучаемой группе ВИЧ-инфицированных женщин, несмотря на подтвержденную токсичность.

В изучаемой когорте ВИЧ-инфицированных женщин с бесплодием преобладала 3 субклиническая стадия заболевания (59,8%), а пациентки со стадиями 4А, Б, В находились в ремиссии не менее 6 месяцев. В каждом третьем случае (27,1%) выявляли коинфекцию ВИЧ-инфекции ВГС. Поскольку пути передачи данных вирусов во многом очень схожи, то и случаи коинфекции встречаются довольно часто, что подтверждается данными



литературы [79]. Вирусная супрессия и отсутствие иммунодефицита (Ме количества CD4+ лимфоцитов - 630 (496;791) мкл/кл) были обусловлены приемом эффективной АРТ, что позволило пациенткам данной группы планировать беременность, в том числе с использованием методов ВРТ.

Далее был проведен анализ гинекологических заболеваний, исходов беременностей и показателей овариального резерва у ВИЧ-инфицированных женщин в сравнении с ВИЧ-отрицательными пациентками.

Среди женщин, живущих с ВИЧ, наблюдался ранний дебют половой жизни ( $17,4 \pm 2,5$  и  $18,3 \pm 2,6$  лет;  $p < 0,0001$ ), чем можно объяснить большую частоту абортов (37,9% и 12,8%;  $p < 0,0001$ ) и преимущественно вторичное бесплодие (57,9% и 37,8%;  $p < 0,0001$ ). В литературе представлены аналогичные данные, согласно которым у женщин, инфицированных ВИЧ, отмечена высокая распространенность прерываний беременности и, как следствие, вторичное бесплодие [108].

Следует отметить, что у пациенток с ВИЧ-положительным статусом значимо чаще в анамнезе отмечали самопроизвольные выкидыши на поздних сроках беременности (4,7% и 0,9%;  $p=0,018$ ), а антенатальную гибель плода наблюдали только в основной группе настоящего исследования (1,4%). Данные исходы беременности у всех пациенток имели место после выявления ВИЧ-инфекции и начала использования АРТ. Неизвестно почему ВИЧ-инфекция является одним из факторов риска позднего прерывания беременности, преждевременных родов и мертворождения. Существует мнение, что неблагоприятные перинатальные исходы могут быть результатом хронического состояния воспаления и иммунной активации, что нарушает нормальные иммунологические процессы поддержания беременности и функцию плаценты [221]. С другой стороны, это может быть обусловлено негативным влиянием АРТ. Так, в литературе имеются сведения о том, что у ВИЧ-инфицированных женщин, принимающих АРТ риск прерывания беременности на поздних сроках в 3-4 раза выше по сравнению с ВИЧ-отрицательными пациентками. Патофизиология также остается неизвестной, но

некоторые исследователи полагают, что возможной причиной является снижение концентрации прогестерона у женщин, использующих в схемах АРТ препараты группы ИП [222]. Другая гипотеза состоит в том, что комбинированная АРТ изменяет цитокиновую среду фетоплацентарной системы и снижает порог инициации родов [220]. Кроме этого, в недавнем систематическом обзоре и мета-анализе 27 исследований, анализирующих перинатальные исходы у ВИЧ-инфицированных пациенток, было показано, что риск преждевременных родов выше у женщин с преконцепционной АРТ по сравнению с началом приема АРВП во время беременности. Полученные результаты авторы объясняют тем, что женщины, использующие АРТ до зачатия, имели более тяжелое заболевание ВИЧ, чем пациентки, которые начали прием АРТ во время беременности [223]. То есть неблагоприятные исходы беременности связаны скорее с течением заболевания, а не со временем начала терапии.

Помимо обсуждаемых выше неблагоприятных исходов беременности у пациенток с ВИЧ-инфекцией значимо чаще, чем в контрольной группе встречалась трубная беременность (22,4% и 13,7%;  $p=0,041$ ). Большинство исследований подтверждают, что у женщин с ВИЧ-инфекцией внематочная беременность встречается чаще, чем у пациенток без ВИЧ-инфекции [224]. Известно, что основными факторами риска в этиологии трубной беременности являются ИППП, воспалительные заболевания и хирургические вмешательства на органах малого таза. В данном исследовании у пациенток с ВИЧ-инфекцией была выявлена более высокая распространенность ИППП (хламидиоз 6,5% и 1,9%;  $p<0,0001$ ) и венерических заболеваний (сифилис 5,6% и 0,9%;  $p<0,0001$ ), чем у здоровых женщин. Аналогичные результаты представлены и другими исследователями. Так, в работе Bhattar S. и соавт. (2013) было показано, что частота выявления хламидиоза у женщин с ВИЧ-инфекцией существенно выше, чем у ВИЧ-отрицательных пациенток (ОШ 4,214; 95% ДИ 0,457-38,865) [225]. Аналогичные данные были получены Ruangtragool L. и соавт. (2016) при изучении частоты выявления сифилиса у

ВИЧ-инфицированных мужчин и женщин в Зимбабве. Авторы отмечают, что вероятность обнаружения сифилиса у ВИЧ-позитивных женщин в 3,7 раза выше, чем у ВИЧ-отрицательных пациенток (ОШ: 3,7, 95% ДИ 2,3–5,9) [226]. Другими словами, пациентки с высоким риском инфицирования ВИЧ подвержены большему риску заражения другими ИППП.

Высокая частота встречаемости ИППП и состояние иммунодефицита обуславливают большую распространенность гнойно-воспалительных заболеваний органов малого таза у женщин с ВИЧ-инфекцией. В данной работе осложненные формы воспалительных заболеваний придатков матки (пиовар, пиосальпинкс) выявляли преимущественно у женщин в основной группе (5,1% и 0,9%;  $p=0,01$ ) исследования. По данным литературы указанные выше заболевания у ВИЧ-инфицированных пациенток встречаются в 10 раз чаще, чем у женщин с ВИЧ-отрицательным статусом [6].

Согласно данным ряда исследований, у ВИЧ-инфицированных женщин значительно чаще встречается инфекция, вызванная ВПЧ [202,203,204]. В данном исследовании были получены аналогичные результаты. Так в когорте ВИЧ-инфицированных женщин значимо чаще, чем в контрольной группе выявляли ВПЧ высокого онкогенного типа (8,8% и 3,6%;  $p=0,048$ ) и остроконечные кондиломы наружных половых органов (7,5% и 3,2%;  $p=0,048$ ). Как результат, поражение эпителия шейки матки типа HSIL (3,7%) и рак шейки матки (2,3%) в данном исследовании наблюдали только у ВИЧ-инфицированных пациенток. Другие исследования также подтверждают высокую частоту встречаемости рака шейки матки у пациенток с ВИЧ-инфекцией [61,62,226].

Частота выявления нарушений менструального цикла по типу олигоменореи в группе ВИЧ-инфицированных женщин была невысокой и сопоставима со здоровым контролем (2,3% и 0,9%;  $p=0,245$ ). Других изменений менструального цикла в обеих группах обнаружено не было. Вопрос о влиянии ВИЧ на характер менструального цикла в настоящее время остается нерешенным. В ранних исследованиях Harlow S. (2000), Sejtin H. и

соавт. (2006) представлена высокая распространенность пройо-, олиго- и аменореи у пациенток с ВИЧ-инфекцией, позднее Santulli и соавт. (2011), напротив, не выявили изменений менструального цикла в данной группе женщин [9,120,227]. Не смотря на противоречия в результатах исследований, большинство ученых едины во мнении о том, что характер менструального цикла у ВИЧ-инфицированных женщин изменяется при наличии высокой вирусной нагрузки и низких показателях иммунного статуса, а также в случаях снижения веса при потере жировой ткани. В настоящем исследовании пациентки с ВИЧ-инфекцией имели сохраненный иммунный статус (Ме CD4+лимфоцитов - 630 (496;791) кл/мл), неопределяемую вирусную нагрузку и нормальный ИМТ (Ме 23 (20;26) кг/см<sup>2</sup>). Возможно, с этим связана сопоставимая со здоровым контролем частота встречаемости нарушений менструального цикла. Данные других исследователей относительно ИМТ у пациенток с ВИЧ-инфекцией противоречивы. Santulli и соавт. (2011) показали, что ВИЧ-инфицированные женщины имели более высокий ИМТ, чем ВИЧ-серонегативные пациентки (24,2 и 22,9,  $p=0,03$ ) [120]. В исследовании Nurudeen и соавт. (2013), напротив, было выявлено, что пациентки с ВИЧ-инфекцией и женщины без ВИЧ-инфекции имели аналогичный ИМТ [106].

В структуре хирургических вмешательств при гинекологических заболеваниях у пациенток обеих групп преобладала тубэктомия (43,4% и 31,2%;  $p=0,03$ ), показанием для проведения которой были гидросальпинксы (22,9% и 20,2%;  $p=0,493$ ), гнойно – воспалительные процессы (5,1% и 0,9%;  $p=0,010$ ) и внематочная беременность (22,4% и 13,7%;  $p=0,041$ ). Тот факт, что у ВИЧ-инфицированных женщин показаниями для тубэктомии наиболее часто были трубная беременность и гнойно-воспалительные заболевания придатков матки можно объяснить более ранним дебютом сексуальных контактов и высокой распространенностью ИППП. Другие исследователи представили аналогичные данные [106,120].

Рак шейки матки (2,3%) в данном исследовании встречался только у ВИЧ-инфицированных пациенток, в связи с чем, оперативные вмешательства в

объеме ампутации шейки матки были выполнены только у женщин данной группе больных. Анализ патологии эндометрия и полости матки, выявленной при проведении гистероскопии показал, что частота встречаемости полипов (15,8% и 16,4%;  $p=0,903$ ), гиперплазии эндометрия (1,8% и 2,7%;  $p=0,475$ ) и хронического эндометрита (7% и 5,9%;  $p=0,759$ ) была сопоставима между группами. В исследовании Медведевой В.В. (2017), напротив, было показано, что у ВИЧ - положительных пациенток чаще, чем у здоровых женщин выявляются хронические воспалительные процессы в эндометрии, а также комбинация воспалительных и гиперпластических процессов [228]. Полученные данные авторы объясняют следствием перенесенных генитальных инфекций и специфическим действием вируса на эндометрий [228]. Аналогичные результаты были представлены и в исследовании Mugo и соавт. (2011) [229]. Противоречия полученных данных можно объяснить различиями в критериях для оценки наличия хронического эндометрита, а также в особенностях течения ВИЧ (стадия заболевания, показатели иммунного статуса) у пациенток, включенных в исследования. Внутриматочные синехии (1,4%) и стеноз цервикального канала (1,8%) встречались только у женщин в основной группе исследования, что было обусловлено большим числом внутриматочных манипуляций и операций на шейке матки.

ВИЧ-инфицированные пациентки имели более длительное бесплодие в сравнении с женщинами без ВИЧ-инфекции (5 (3;9) и 4 (2,5;7) лет соответственно;  $p=0,013$ ). Аналогичные результаты были получены Santulli P. и соавт. (2011) [120]. Кроме этого, в настоящем исследовании длительность бесплодия имела очень слабую положительную корреляцию со «стажем» ВИЧ-инфекции ( $r=0,141$ ;  $p=0,05$ ) и не зависела от продолжительности АРТ ( $r=0,077$ ;  $p=0,304$ ). В исследовании Marston M. и соавт. (2017) также было показано, что более длительная продолжительность инфекции связана со снижением фертильности у ВИЧ-позитивных женщин. Авторы обнаружили, что каждый дополнительный год после сероконверсии ВИЧ был связан с

относительным снижением фертильности на 0,02 (95% ДИ 0,01–0,03) [230,231]. Бесплодие у пациенток с ВИЧ-инфекцией, также, как и у здоровых женщин чаще было обусловлено трубно-перитонеальным фактором (48,1% и 44,2%;  $p=0,141$ ). Аналогичные данные были получены и другими исследователями. Так, в исследовании Santulli P. и соавт (2011) было показано, что у ВИЧ-инфицированных женщин чаще встречается трубно-перитонеальное бесплодие, а мужской фактор наблюдается существенно реже [120]. Высокую распространенность трубного фактора бесплодия у пациенток с ВИЧ-инфекцией можно объяснить большей, чем у здоровых женщин частотой выявления ИППП и осложненных форм воспалительных заболеваний органов малого таза.

Другой обсуждаемой в научной литературе проблемой у женщин с ВИЧ-инфекцией является влияние самого вируса и/или АРТ на овариальный резерв. Одни исследователи полагают, что в данной группе пациенток наблюдается снижение показателей овариального резерва, другие придерживаются абсолютно противоположной точки зрения.

В настоящей работе несмотря на то, что пациентки основной и контрольной групп были сопоставимы по возрасту (Me 36 (32;39) и 35 (33;38) лет;  $p=0,157$ ) и числу оперативных вмешательств на яичниках (12,6% и 18,3%;  $p=0,080$ ) и ИМТ (Me 23 (20;26) и 22 (21;24,5) кг/см<sup>2</sup>;  $p=0,346$ ), у женщин с ВИЧ-инфекцией наблюдалось снижение гормональных маркеров овариального резерва. Количество антральных фолликулов при эхографии на 2-й – 5-й день менструального цикла также свидетельствовало о снижении овариального резерва у пациенток с ВИЧ – положительным статусом (8 (3;12) и 12 (6;18);  $p=0,001$ ). Аналогичные результаты были получены в исследовании Santulli и соавт. (2016) [232].

Представленные данные могут быть обусловлены негативным влиянием как ВИЧ, так и АРТ в изучаемой выборке ВИЧ-инфицированных пациенток. Сложно разделить влияние ВИЧ и АРТ на концентрацию АМГ, так как мы не оценивали его значение до назначения АРВП. Однако тот факт, что

продолжительность ВИЧ ((9,8 (5,7;12,4) лет) существенно превышала длительность АРТ (4,5 (2,4;8) лет), а уровни АМГ отрицательно коррелировали с длительностью заболевания ( $r = -0,262$ ;  $p < 0,0001$ ) позволяют сделать вывод о неблагоприятном воздействии ВИЧ на овариальный резерв. Merlini E. и соавт (2021) у пациенток с ВИЧ-инфекцией обнаружили слабую положительную корреляцию между уровнем АМГ и продолжительностью АРТ, а также отрицательную корреляцию со временем между выявлением ВИЧ и началом АРТ. Авторы полагают, что именно ВИЧ оказывает негативное влияние на овариальный резерв, а АРТ играет защитную роль за счет снижения репликации вируса и восстановления содержания CD4+ лимфоцитов [78]. Другие исследователи делают вывод о негативном влиянии ВИЧ на овариальный резерв на основании того, что уровень АМГ у женщин, инфицированных ВИЧ, ниже при наличии определяемой вирусной нагрузки и напрямую зависит от количества CD4+ лимфоцитов в крови [76]. Поскольку в данном исследовании вирусная нагрузка была неопределяемой у 100% пациентов, возможно, это обусловило отсутствие зависимости уровней АМГ от количества CD4+ лимфоцитов ( $r = 0,101$ ;  $p = 0,181$ ). Отрицательная же взаимосвязь продолжительности АРТ и концентрации АМГ ( $r = -0,323$ ;  $p < 0,0001$ ), а также существенное снижение его значения после 1 года приема АРТ (1,7 (0,9;2,9) и 2,8 (1,9;6,2) нг/мл;  $p < 0,0001$ ) и достижение критического значения при продолжительности лечения более 5 лет (1,0 (0,3;1,3) нг/мл ( $p < 0,0001$ )) подтверждают гонадотоксичные эффекты длительного использования АРВП. В исследовании Медведевой В.В. (2016) также было показано, что прием АРВП более 5 лет приводит к уменьшению концентрации АМГ у женщин, инфицированных ВИЧ [231]. Тот факт, что именно длительность приема АРВП имеет негативное влияние на овариальный резерв, возможно за счет кумулятивного эффекта, подтверждается и тем, что концентрация АМГ в данном исследовании не зависела от митохондриальной токсичности используемых препаратов группы НИОТ (Me 1,6 (0,6;2,8) и 1,5 (0,5;3,1) нг/мл;  $p = 0,555$ ). В доступной научной литературе мы не нашли работ,

посвященных изучению уровней АМГ у ВИЧ-инфицированных женщин в зависимости от митохондриальной токсичности АРВП. Santulli и соавт. (2016) изучали лишь концентрацию АМГ в зависимости от комбинации препаратов, используемых в схеме АРТ (НИОТ+ИП, НИОТ+ННИОТ, только НИОТ), не выявив при этом каких-либо отличий между группами [232].

Плохо изученным вопросом является состояние овариального резерва у пациенток с коинфекцией ВИЧ/ВГС. В данном исследовании уровни АМГ у ВИЧ-инфицированных пациенток с коинфекцией ВГС были сопоставимы с его концентрациями у женщин с ВИЧ-инфекцией без сопутствующего ВГС (Ме 1,7 (0,9;2,6) и 1,4 (0,6; 2,4) нг\мл;  $p=0,244$ ). Полученные результаты согласуются с результатами других исследователей. Так, в работе Santulli и соавт. (2016) было показано, что наличие коинфекции ВИЧ/ВГС не было связано с изменениями уровня АМГ в сыворотке крови ( $2,9 \pm 2,5$  против  $3,1 \pm 3,1$  нг/мл;  $p=0,847$ ) [232].

ВИЧ-инфицированные мужчины имели относительно небольшую длительность заболевания (Ме 6 (3;13) лет) и продолжительность АРТ (Ме 3 (1,5;6) года), назначение которой обеспечило неопределяемую вирусную нагрузку в крови и удовлетворительное состояние иммунной системы (Ме количества CD4+ лимфоцитов - 562 (433;750) мкл/кл), что позволило пациентам данной группы планировать беременность, в том числе с использованием методов ВРТ. Следует отметить, что мужчины с ВИЧ-инфекцией в схемах АРТ чаще использовали комбинацию препаратов группы ННИОТ в сочетании с НИОТ (53,6%), имеющих низкую митохондриальную токсичность (75,2%). Преобладала 3 субклиническая стадия (63,5%) заболевания, а коинфекция ВИЧ/ВГС наблюдалась более чем в каждом третьем случае (36,9%).

Качество спермы мужчин, инфицированных ВИЧ, оценивалось во многих исследованиях. Однако представленные в литературе результаты противоречивы, что обусловлено сложностью анализа данной группы пациентов, их гетерогенностью. Поскольку трудно отделить роль ВИЧ-



инфекции от негативного влияния АРТ, дискуссия по этому вопросу все еще продолжается. Оценка фертильности ВИЧ-инфицированных мужчин в настоящее время приобретает все большее значение, так как в связи с низкой вероятностью заражения в дискордантных парах естественное зачатие стало безопасным вариантом.

В настоящем исследовании на первом этапе была проведена оценка структуры изменений показателей спермы у ВИЧ-инфицированных мужчин. Следует отметить, что в изучаемой когорте пациентов с ВИЧ-инфекцией различные виды патозооспермии наблюдались в 59,3% случаев, а в структуре данных изменений преобладала тератозооспермия (27,5%). Аналогичные результаты представлены и другими исследователями, которые также выявили снижение доли морфологически нормальных сперматозоидов в эякуляте ВИЧ-инфицированных мужчин [12,84,233]. Напротив, Duloust E. и соавт. (2002), показали, что у пациентов с ВИЧ-инфекцией процент морфологически нормальных сперматозоидов был сопоставим с мужчинами без ВИЧ-инфекции [234].

Поскольку в данное исследование были включены пациенты с ВИЧ, не принимающие АРТ, мы сравнили показатели спермограмм тех, кто получал АРВП с теми, кто их не использовал, а также со здоровым фертильным контролем. Было показано, что количество лейкоцитов в эякуляте, круглых клеток и уровень рН сопоставимы между группами ВИЧ-инфицированных мужчин, принимающих и не принимающих АРТ, а также с ВИЧ-отрицательными пациентами. Vujan и соавт. (2007), напротив, обнаружили увеличение уровня рН в спермиологической жидкости у мужчин с ВИЧ-инфекцией, а Dondero и соавт. (1996) – большее число круглых клеток [12, 84]. В работе Vujan и соавт. (2007) наряду с повышенным уровнем рН было выявлено уменьшение объема эякулята в изучаемой группе мужчин с ВИЧ-инфекцией. Полученные результаты авторы объясняют дисфункцией предстательной железы и семенных пузырьков, что может быть связано с

перенесенным воспалительным процессом, а также с колонизацией желез вирусными клетками или действием препаратов АРТ [12].

В настоящем исследовании объем эякулята у мужчин, инфицированных ВИЧ не зависел от того получали ли они АРТ (3 (2,1;3,8) мл и 2,9 (2;3,5) мл;  $p=0,679$ ), но был существенно ниже, чем у здоровых пациентов (3,1 (2,4;4,1);  $p < 0,001$ ), находясь при этом в референсных значениях. Более того, у мужчин с ВИЧ-инфекцией, не принимающих АРТ, чем выше была вирусная нагрузка в крови ( $r = -0,669$ ;  $p=0,03$ ) и ниже количество CD4+ лимфоцитов ( $r=0,778$ ;  $p=0,014$ ), тем меньше объем эякулята. Аналогичные результаты были получены в исследовании Drobnis E. и соавт (2017) [98]. Полученные данные можно объяснить тем, что повышение уровня вирусной нагрузки и снижение числа CD4+ лимфоцитов создают предпосылки для развития инфекционно-воспалительных осложнений, в частности, приводит к обструкции семявыносящих протоков и снижению объема эякулята у ВИЧ-инфицированных пациентов. Это, в свою очередь, оказывает негативное влияние на фертильность мужчин в данной группе пациентов. Kehl и соавт. (2011) показали, что у мужчин с ВИЧ, не получавших АРТ снижается объем семиологической жидкости и, соответственно, концентрации сперматозоидов, что свидетельствует о негативном влиянии на сперматогенез самого вируса [11]. Более того, существует мнение, что наличие высокой вирусной нагрузки оказывает неблагоприятное воздействие на качество спермы у мужчин с длительным анамнезом заболевания и/или наличием симптомов [98].

Основными параметрами спермиологической жидкости, определяющими ее фертильность являются общее число сперматозоидов в эякуляте и их концентрация [12].

В данной работе общее количество ((154 (95;269,7) и 118 (53;213,1) млн;  $p=0,032$ ) и концентрация сперматозоидов (66 (44;100) и 43(24;67,7) млн/мл;  $p < 0,001$ ) в эякуляте мужчин с ВИЧ-инфекцией, которые не принимали АРВП были существенно выше, чем у пациентов, использующих терапию и сопоставимы со здоровым контролем (188 (128,7;282,9) млн;  $p=0,280$  и

62(47;82) млн/мл;  $p=0,406$ ). При этом общее число сперматозоидов в эякуляте и их концентрация не коррелировали с длительностью заболевания ВИЧ, уровнем вирусной нагрузки и состоянием иммунной системы.

Полученные результаты позволяют предположить, что именно использование АРТ оказывает негативное влияние на количество сперматозоидов в эякуляте ВИЧ-инфицированных мужчин. Это подтверждается и тем, что у пациентов с ВИЧ-инфекцией, принимающих АРТ общее количество сперматозоидов (118 (53;213,1) и 188 (128,7;282,9) млн;  $p<0,001$ ), их концентрация (43(24;67,7) и 62(47;82) млн/мл;  $p<0,001$ ) были значимо ниже, чем у ВИЧ-отрицательных фертильных мужчин, хотя данные параметры и соответствовали нормативам ВОЗ. Тот факт, что общее число сперматозоидов ( $r=0,063$ ;  $p=0,215$ ) и их концентрация ( $r=-0,003$ ;  $p=0,946$ ) не зависели от длительности АРТ можно объяснить тем, что в данное исследование были включены пациенты с непродолжительным сроком приема АРВП (Me 3 (1,5;6) года). В исследованиях Dondero F. (1996), Muller C. (1998), Nicoroullous J. (2004) также было показано снижение концентрации сперматозоидов у мужчин, инфицированных ВИЧ [84,233,235].

Подвижность сперматозоидов, их жизнеспособность и морфологические характеристики являются важными факторами, которые определяют функцию спермиологической жидкости. В данном исследовании у мужчин, инфицированных ВИЧ и не принимающих АРТ показатели подвижности сперматозоидов находились в пределах нормативных значений (критерии ВОЗ, 2010), однако по сравнению с ВИЧ-отрицательными пациентами с подтвержденной фертильностью отмечено существенное снижение числа прогрессивно-подвижных форм сперматозоидов «А+В» (44,1% (32,5;52,3) и 55% (48;62);  $p<0,001$ ) за счет категории «В» (31,5% (21,2;36) и 39% (32;43);  $p<0,001$ ). Более того, их содержание напрямую зависело от количества CD4+ лимфоцитов ( $r=0,667$ ;  $p=0,04$ ). Похожие результаты были получены в ряде других исследований, согласно которым более низкое число CD4+

лимфоцитов было связано со значительно меньшим количеством подвижных форм сперматозоидов. [234,236,237].

Показатели подвижности сперматозоидов у ВИЧ-инфицированных мужчин, принимающих АРТ, также находились в пределах нормативных значений, но содержание сперматозоидов с прогрессивно-поступательными движениями (42% (30;53) и 55% (48;62);  $p < 0,001$ ) было ниже, а количество непрогрессивно-подвижных (8,1% (5;13) и 7% (5;9,5);  $p = 0,012$ ) и неподвижных (47% (37;57) и 38% (31;42);  $p < 0,001$ ) сперматозоидов существенно выше, по сравнению со здоровыми мужчинами в группе контроля. Помимо этого, количество прогрессивно-подвижных форм категории «в» ( $r = -0,248$ ;  $p = 0,021$ ) и общая подвижность сперматозоидов ( $r = -0,278$ ;  $p = 0,014$ ) обратно зависели от длительности заболевания ВИЧ и продолжительности использования АРВП ( $r = -0,225$ ;  $p = 0,033$  и  $r = -0,248$ ;  $p = 0,024$ ), а число их неподвижных форм ( $r = 0,231$ ;  $p = 0,041$ ) положительно коррелировало с длительностью заболевания и отрицательная статистически значимая корреляция количества неподвижных ( $r = -0,111$ ;  $p = 0,045$ ) с уровнем Т-лимфоцитов хелперов (CD3+/CD4+). Таким образом, снижение подвижности сперматозоидов у мужчин, инфицированных ВИЧ может быть обусловлено негативным влиянием вируса, наличием иммунодефицита и длительным использованием АРТ. Аналогичные данные были представлены и другими исследователями. Так, в работе Van Leeuwen E. и соавт. (2008), у 34 пациентов, принимающих АРТ, наблюдалось существенное снижение количества сперматозоидов категории «А» и «В» [15]. Аналогичные результаты были получены и в исследовании L. Vujan и соавт. (2007), а другие исследователи обнаружили, что снижение уровня CD4 + лимфоцитов в крови менее 200 клеток/мкл ассоциировано со значительным снижением подвижности сперматозоидов [12,84,100,233]. Снижение подвижности сперматозоидов у мужчин, инфицированных ВИЧ и принимающих АРТ объяснимо, поскольку движение сперматозоидов требует АТФ, а препараты группы НИОТ обладают митохондриальной токсичностью

и способны повреждать митохондрии сперматозоидов, уменьшая тем самым источник энергии.

Количество жизнеспособных сперматозоидов в эякуляте мужчин с ВИЧ-инфекцией, которые не принимали АРВП было существенно ниже, чем у здоровых фертильных пациентов (82,5% (77,5;84,7) и 84% (82;87);  $p=0,030$ ), но значительно выше, чем у тех, кто использовал АРТ (82,5 % (77,5;84,7) и 76% (66;82);  $p=0,017$ ). При этом число жизнеспособных форм сперматозоидов ( $r=0,224$ ;  $p=0,006$ ) напрямую зависели от количества CD4+ лимфоцитов. Таким образом, снижение числа жизнеспособных сперматозоидов в когорте изучаемых ВИЧ-инфицированных пациентов было обусловлено как воздействием вируса, так и влиянием АРТ. Lorusso F. и соавт. (2010), напротив, не выявили снижения количества жизнеспособных сперматозоидов в спермограмме мужчин, инфицированных ВИЧ [238].

Количество аномальных форм сперматозоидов у мужчин, инфицированных ВИЧ, которые не принимали АРВП было в пределах нормативных значений и сопоставимо со здоровым контролем (96 % (94;97) и 96% (95;96);  $p=0,329$ ), а у мужчин с ВИЧ, принимающих АРВП – значительно выше (97% (96;98);  $p < 0,001$ ). В настоящем исследовании доля морфологически аномальных сперматозоидов не зависела от длительности заболевания ВИЧ и продолжительности АРТ, а имела обратную зависимость с количеством CD4+ лимфоцитов ( $r=-0,263$ ;  $p=0,021$ ). Аналогичные результаты были получены Dondero F. и соавт. (1996), Queiroz P и соавт. (2008). Исследователи полагают, что у ВИЧ-инфицированных мужчин при снижении числа CD4+ лимфоцитов возникает дефицит тестостерона, что приводит к нарушению созревания сперматозоидов [84,239]. Кроме этого, существует мнение, что у большинства мужчин, инфицированных ВИЧ, имеются нормальные показатели спермограммы, однако в случаях прогрессирования заболевания и ухудшения иммунологических показателей, увеличивается доля патологических форм сперматозоидов [235]. В другом

исследовании при анализе фертильности мужчин, перинатально инфицированных ВИЧ, авторы показали, что увеличение доли аномальных форм сперматозоидов наблюдалось в 44% случаев. В изучаемой группе пациентов был длительный «стаж» ВИЧ (средний возраст составил  $27,1 \pm 4$  года) и вероятно продолжительный период АРТ (не указан), в том числе с использованием препаратов с известной токсичностью (зидовудин, диданозин, ставудин). Исследователи предлагают возможные механизмы снижения репродуктивной способности в изучаемой группе пациентов: хроническое заболевание и воспаление, токсичность препаратов АРТ, а также факторы образа жизни, такие как курение, употребление каннабиса и ожирение [240].

В последние годы большое внимание уделяется изучению роли фрагментации ДНК сперматозоидов как одной из причин мужского бесплодия. Имеются данные о том, что у мужчин с ВИЧ-инфекцией, которые принимают АРВП повреждение ДНК сперматозоидов встречается чаще, чем у тех, кто не получает АРВП [94]. Причиной появления разрывов в ДНК сперматозоидов служит окислительный стресс, который представляет собой процесс повреждения клетки в результате возникновения избыточного уровня свободных радикалов под влиянием АРТ. В ходе настоящей работы мы обнаружили, что процент фрагментации ДНК сперматозоидов был не только выше у ВИЧ-инфицированных пациентов, принимающих АРТ, но и превышал нормативные показатели (15,8% (12,4;21,6) и 10,6% (7,5;12,4);  $p < 0,001$ ). Негативное влияние АРТ на показатели фрагментации ДНК сперматозоидов подтверждаются так же тем, что его значение положительно коррелировало только с длительностью АРТ ( $r=0,510$ ;  $p=0,041$ ).

Анализ спермограмм у ВИЧ-инфицированных мужчин в зависимости от митохондриальной токсичности, используемых при АРТ препаратов группы НИОТ не выявил статистически значимых отличий в изучаемых показателях, что еще раз подтверждает точку зрения о неблагоприятном воздействии на

параметры спермиологической жидкости не конкретных АРВП, а длительности их использования, возможно за счет кумулятивного эффекта.

В научной литературе имеется много исследований, посвященных изучению влияния моноинфекции ВГС, а также вируса гепатита В на параметры сперматогенеза мужчин, но данные относительно коинфекции ВИЧ/ВГС немногочисленны. В настоящей работе не было выявлено существенных отличий в показателях спермограмм у мужчин с моноинфекцией ВИЧ в сравнении с коинфицированными ВИЧ/ВГС. Garrido N. (2005) представили аналогичные данные [100]. Lorusso F. и соавт (2010), напротив, в группе с коинфекцией ВИЧ/ВГС обнаружили существенное снижение прогрессивной подвижности сперматозоидов. Более того, полученные результаты авторы связывают именно с наличием ВГС, так как в группе с моноинфекцией ВИЧ данный показатель был в пределах нормативных значений [238].

На третьем этапе данной работе выполнена оценка показателей овариальной стимуляции, данных эмбриологического этапа и результативность программы ЭКО у пациентов с ВИЧ-инфекцией.

При проведении овариальной стимуляции стартовая (225 (225;300) МЕ и 225 (225;225) МЕ;  $p=0,01$ ) и суммарная (2250 (1875;2700) МЕ и 1950 (1725;2325) МЕ;  $p < 0,001$ ) дозы индуктора, а также продолжительность стимуляции (10 (9;11) дней и 10 (9;10) дней;  $p < 0,001$ ) были существенно выше у женщин с ВИЧ-инфекцией в сравнении с ВИЧ-отрицательными пациентками, что обусловлено исходно более низкими показателями овариального резерва в основной группе исследования. Другие исследователи получили аналогичные результаты, что объяснили возможной резистентностью ткани яичника, обусловленной негативным влиянием АРТ [25,105]. Существует и другая точка зрения. Например, Martinet и соавт. (2006), Stora C. и соавт. (2016) полагают, что при нормальных показателях иммунного статуса наблюдается адекватный ответ яичников на стимуляцию [7,19]. Более того, Stora C. и соавт. (2016) не выявили отличий в длительности

овариальной стимуляции, стартовой и суммарной дозах гонадотропинов между ВИЧ-инфицированными женщинами, принимающими и не принимающими АРТ [7]. В исследовании Terriou P. и соавт. (2005) было показано, что наряду с большей суммарной дозой индуктора и продолжительной овариальной стимуляцией, у пациенток с ВИЧ наблюдалась более высокая частота отмены цикла. Авторы высказали предположение, что причиной этого является плохое качество ооцитов, обусловленное влиянием вирусной инфекции [105]. В настоящей работе частота отмены цикла у пациенток с ВИЧ-инфекцией составила 14,2% (26 из 182 циклов), что было существенно выше, чем у женщин без ВИЧ-инфекции – 0,7% (2 из 271;  $p < 0,001$ ). Причиной для отмены цикла были отсутствие ооцитов (2,8%), оплодотворения (3,2%) или эмбрионов (8,2%). Представленные результаты согласуются с данными литературы. Так, в работе Vianna C. и соавт. (2021) частота отмены переноса в связи с отсутствием эмбрионов была выше у пациенток с ВИЧ-инфекцией по сравнению с женщинами без ВИЧ-инфекции (19,6% и 10,3%;  $p=0,07$ ) [20]. В систематическом обзоре и мета-анализе, проведенном Barnes A. и соавт. (2014), показатель отмены цикла стимуляции у ВИЧ-инфицированных женщин составил 20,8% в сравнении с 8,9% в парах без ВИЧ-инфекции. Авторы полагают, что высокая частота отмены циклов стимуляции в изучаемой группе пациенток является косвенным свидетельством негативного влияния вирусной инфекции и/или АРТ на функцию яичников [66]. Prisant N. и соавт. (2010), напротив, получили противоположные результаты, показав в своем исследовании сопоставимую частоту отмены циклов ЭКО у ВИЧ-инфицированных пациенток и в группе контроля [107].

Stora C. и соавт. (2016) не выявили существенных отличий в числе аспирированных ооцитов, зигот, эмбрионов отличного качества в изучаемой когорте женщин с ВИЧ-инфекцией в сравнении с пациентками без ВИЧ-инфекции [7]. В настоящем исследовании, напротив, у женщин, инфицированных ВИЧ было получено существенно меньшее количество ОКК



(6,5 (3;12) и 9 (6;15);  $p < 0,001$ ), ооцитов МП (5 (2;9) и 8 (5;12);  $p < 0,001$ ), зигот (4 (2;8) и 6 (4;10);  $p < 0,001$ ), бластоцист (2(0;2) и 4 (1;6);  $p < 0,001$ ) и витрифицированных эмбрионов (1(0;3) и 2 (0;4);  $p = 0,002$ ) в сравнении с контрольной группой. Полученные данные также можно объяснить исходно более низкими параметрами овариального резерва у женщин, инфицированных ВИЧ. Аналогичные результаты были получены Vianna C. и соавт. (2021), при этом исследователи не анализировали показатели овариального резерва [20].

В настоящей работе количество ооцитов, оплодотворившихся аномально (3 и более PN), было существенно выше у женщин, инфицированных ВИЧ, по сравнению с ВИЧ-отрицательными пациентками (0,21 (0,7) и 0,09 (0,2);  $p = 0,018$ ). Известно, что триплоидия наиболее часто возникает при оплодотворении методом IVF из-за того, что ооцит не способен активировать блок полиспермии и в яйцеклетку проникает два сперматозоида [241]. В настоящем исследовании в 100% случаев оплодотворение было выполнено методом ICSI. Причина образования 3PN после ICSI в настоящее время является предметом дискуссий. По некоторым данным распространенность полиплоидного оплодотворения при ICSI составляет 1%, чаще обусловлено нарушениями в яйцеклетке и может быть следствием нарушения мейотического деления [241]. Аномальное оплодотворение, связанное с ооцитами, может быть результатом незрелости цитоплазмы, аномалий веретена деления или измененного цитоскелета из-за плохого качества ооцитов [242]. В доступной литературе мы не обнаружили сведений о частоте встречаемости аномального оплодотворения у ВИЧ-инфицированных пациенток.

Снижение овариального резерва, малое число получаемых ооцитов/эмбрионов, а также высокая доля аномального оплодотворения у пациенток, инфицированных ВИЧ, позволяет предположить наличие «ооцитарного» фактора, как ведущей причины низкой эффективности программы ЭКО в данной группе пациенток.

В данной работе у ВИЧ-инфицированных женщин в «свежих» циклах ЭКО/ICSI наблюдалась более низкая частота биохимической (24,3% и 39,2%;  $p=0,006$ ) и клинической (16,5% и 32,8%;  $p=0,001$ ) беременности, а также живорождений (12,2% и 31,5%;  $p < 0,001$ ) по сравнению со здоровыми пациентками контрольной группы. Аналогичные результаты были представлены и другими исследователями [20,25,105,243]. Напротив, в исследованиях Martinet и соавт. (2006), Nurudeen и соавт. (2013), Prisant и соавт. (2010) частота клинической беременности у женщин с ВИЧ-инфекцией была сопоставима с контрольной группой [19, 106, 107], а Stora C. и соавт. (2016) отметили, что частота клинической беременности и живорождения у пациенток с ВИЧ, не получающих АРТ были близки к таковым в контрольной группе здоровых женщин [7]. Причина низкой эффективности программ ЭКО в данной группе пациенток остается до конца неясной. Обсуждается негативное влияние АРВП на компетентность ооцитов, а косвенным подтверждением этого является сопоставимая со здоровым контролем частота наступления беременности при использовании ооцитов донора [7].

Другой обсуждаемой в литературе причиной снижения частоты наступления беременности в программе ЭКО у ВИЧ-инфицированных женщин является изменение рецептивности эндометрия. Моделью для изучения влияния ВИЧ/АРТ на состояние эндометрия являются донорские программы. Так, Mataró D. и соавт (2017) в циклах с использованием ооцитов донора показали более низкую частоту клинической беременности и живорождений у женщин, инфицированных ВИЧ. Поскольку в данной ситуации отсутствует неблагоприятное воздействие ВИЧ/АРТ на ооциты, авторы предположили их влияние рецептивность эндометрия [244].

В настоящем исследовании, напротив, при анализе исходов криоциклов было выявлено, что при использовании собственных ооцитов у женщин с ВИЧ-инфекцией частота биохимической (35,4% и 50,8%;  $p=0,007$ ), клинической беременности (27,6% и 41%;  $p=0,014$ ) и родов (16,7% и 27,7%;  $p=0,021$ ) была существенно ниже, чем у пациенток без ВИЧ-инфекции, а в

случаях использования ооцитов донора данные показатели были сопоставимы между группами. Аналогичные данные были получены и другими исследователями [7,25]. Coll и соавт. (2006) полагают, что влияние ВИЧ-инфекции на частоту клинической беременности является значимым только при использовании собственных ооцитов, а воздействие ВИЧ/АРТ во время имплантации уже не оказывает данного негативного эффекта [25].

Дети, рожденные у ВИЧ-инфицированных матерей, были ВИЧ-отрицательными в 100% случаев, что обусловлено приемом АРТ, неопределяемой вирусной нагрузкой, а также использованием ряда других мер по профилактике вертикальной передачи вируса. По данным литературы частота передачи ВИЧ от матери ребенку в настоящее время составляет менее 1-2% [32,36].

Оценка анамнестических и клиничко – лабораторных результатов дискордантных пар с наличием ВИЧ-инфекцией у мужчины показала, что пациентки основной и контрольной групп были в репродуктивном возрасте (35 (31;39) лет и 34 (30;38) года;  $p=0,38$ ), имели нормальный ИМТ (23 (20;28) кг/м<sup>2</sup> и 23,2 (21;26) кг/м<sup>2</sup>;  $p=0,827$ ) и концентрацию АМГ (2,05 (1;3,9) нг/мл и 3,02 (1,2;3,9) нг/мл,  $p=0,093$ ). В обеих группах преобладал трубно-перитонеальный фактор бесплодия (29,5% и 38,7%;  $p=0,057$ ), а длительность его также не имела значимых различий (4 (2;8) года и 4 (3;6) года;  $p=0,174$ ). Все показатели были сопоставимы между группами. То есть, единственным отличием явилось наличие ВИЧ-инфекции у мужчины в основной группе исследования.

При анализе эмбриологического этапа также не было выявлено значимых отличий в количестве полученных ооцитов, зигот, эмбрионов на стадии дробления и бластоцист. Аналогичные данные были представлены в исследовании Melo и соавт. (2008), в котором авторы также показали, что частота оплодотворения и дробления эмбрионов не зависели от ВИЧ-статуса мужчины. Однако в работе Melo и соавт., в отличие от данного исследования, эмбрионы в серодискордантных по ВИЧ парах чаще останавливались на 5

сутки развития, по сравнению со здоровым контролем. При этом не было выявлено отличий в количестве криоконсервированных и перенесенных эмбрионов, а также в частоте наступления клинической беременности и имплантации [27]. Cito и соавт. (2019) снижение частоты оплодотворения в изучаемой когорте пациентов объясняют снижением уровня антиоксидантной защиты сперматозоидов при наличии у мужчины хронической инфекции. При этом, частота клинической беременности и родов были сопоставимы между группами [245].

В данном исследовании частота биохимической (37,6% против 33,8%,  $p=0,456$  и 44,6% против 45,1%;  $p= 0,927$ ), клинической (27,6% против 27,1%,  $p=0,841$  и 36,3% против 35,8%,  $p=0,914$ ) беременности и родов (22% против 20,2%,  $p=0,678$  и 24,2% против 21,8%,  $p=0,588$ ) была сопоставима между группами, как в «свежих» циклах, так и в криоциклах. Аналогичные данные были представлены в большинстве работ [21,27,107,245]. Queiroz и соавт. (2008), напротив, продемонстрировали более низкую, а Kashima K. и соавт (2009) более высокую частоту наступления беременности в дискордантных по ВИЧ парах по сравнению со здоровым контролем [119,239].

Известно, что при использовании эффективной АРТ происходит параллельное снижение вирусной нагрузки в сперме и крови у подавляющего большинства ВИЧ-позитивных. Однако по данным литературы, у некоторых пациентов, несмотря на неопределяемый уровень вирусной нагрузки в периферической крови, спорадически обнаруживается РНК ВИЧ в сперме. Так, Persico и соавт. (2006) выявили, что 6 из 7 образцов семенной плазмы, в которых обнаружили вирусные РНК ВИЧ, принадлежали пациентам, получавшим АРТ. При этом, у 4-х мужчин был повышен уровень вирусной нагрузки, а у 3-х наблюдалась неопределяемая виремия [116]. Таким образом, неопределяемый уровень вирусной нагрузки в плазме крови не гарантирует отсутствие РНК ВИЧ в семенной плазме, что подтверждает необходимость проведения тщательной обработки и удаления вирусных частиц, а также тестирования спермы инфицированного пациента.

В данной работе при проведении тестирования очищенных сперматозоидов РНК ВИЧ не обнаруживали в 100% случаев. В литературе представлены другие данные. Так, в исследовании Marina S. и соавт. (1998) РНК ВИЧ после обработки определялась в 5,6% образцах спермы [246], Savasi и соавт. (2007) показали, что 4% отмытых образцов спермы остаются ВИЧ-положительными [26], а Garrido N. и соавт. (2004) обнаруживали РНК вируса в 11,5% случаев [100]. Противоречия результатов настоящего исследования и данных других авторов можно объяснить тем, что в работах Marina S. и соавт. (1998), Garrido N. и соавт. (2004) были включены пациенты с определяемой вирусной нагрузкой в крови, которые не получали АРТ. Savasi V. и соавт. (2007) наличие положительных результатов на РНК ВИЧ после обработки объясняют контаминацией образца во время анализа ПЦР [26].

В настоящем исследовании не было зарегистрировано случаев сероконверсии у женщин при проведении ВРТ в дискордантных парах с ВИЧ-инфицированным мужчиной. В литературе также при анализе 11 585 циклов ВРТ среди 3994 женщин не наблюдали случаев передачи ВИЧ (0/11 585, 95% ДИ = 0–0,0001). Более того, среди подгруппы из 1023 пар, в которых ВИЧ-инфицированный мужчина не принимал АРТ случаев сероконверсии также не было [117]. Отсутствие передачи ВИЧ позволяет предположить, что обработка спермы при проведении программ ВРТ даже без тестирования спермы на РНК ВИЧ является безопасным и эффективным способом реализации репродуктивной функции, как при бесплодии, так и для профилактики инфицирования женщины. Данный вывод подтверждается и тем, что в настоящей работе в 187 «свежих» циклов ЭКО/ICSI тестирование спермы на РНК ВИЧ не проводили, тем не менее, сероконверсии отмечено не было.

В конкордантных по ВИЧ-инфекции парах при проведении овариальной стимуляции также как в дискордантных с ВИЧ-инфекцией у женщины были использованы большие стартовые (300 (225;300) МЕ и 225 (225;225) МЕ;  $p=0,004$ ) и суммарные дозы гонадотропинов (2287,5 (1950; 3000) МЕ и 1950 (1650; 2325) МЕ;  $p<0,001$ ), чем в контрольной группе; аспирировано меньшее

число ОКК (5 (3;9) и 10 (6;15);  $p < 0,001$ ), ооцитов МП (4 (2;8) и 8 (5;12);  $p < 0,001$ ), нормально оплодотворившихся ооцитов (3 (2;6) и 6 (4;10);  $p < 0,001$ ), бластоцист (1(0;3) и 3 (1;6);  $p < 0,001$ ) и витрифицированных эмбрионов (1,25 (2,4) и 2,16 (2,4);  $p = 0,012$ ). Кроме этого, в парах с ВИЧ-инфекцией у обоих партнеров также как в дискордантных парах с ВИЧ-инфекцией у женщины наблюдали более высокую, чем в здоровой контрольной группе частоту отмены цикла (12,6% и 2,4%;  $p < 0,001$ ). Все указанные выше показатели в дискордантных парах с ВИЧ-инфицированным мужчиной, напротив, были сопоставимы со здоровым контролем. Эти данные позволяют предположить, что неблагоприятное воздействие на исходы циклов ЭКО/ICSI в конкордантных парах оказывает именно серопозитивность женщины, а не тот факт, что инфицированы оба партнера. Оценка эффективности «свежих» циклов ЭКО/ICSI показала, что в конкордантных по ВИЧ-инфекции парах по сравнению с парами без ВИЧ-инфекции наблюдалась существенно более низкая частота биохимической (24,5% и 43%;  $p = 0,024$ ), клинической беременности (18,9% и 34%;  $p = 0,040$ ) и родов (13,2% и 29%;  $p = 0,028$ ). В криопотоколах при использовании собственных ооцитов частота биохимической (14,7% и 50%;  $p < 0,001$ ), клинической беременности (14,7% и 40,9%;  $p = 0,006$ ) и родов (8,8% и 28,4%;  $p = 0,022$ ) в конкордантных по ВИЧ-инфекции парах была ниже, чем у пациентов без ВИЧ-инфекции, а в случаях использования ооцитов донора данные показатели были сопоставимы между группами.

Исследований, посвященных изучению ВРТ в конкордантных по ВИЧ парах немного. Представленные в литературе данные согласуются с результатами, полученными в настоящем исследовании. Так, Santulli P. и соавт. (2011) в конкордантных парах выявили более высокую частоту отмены циклов (29,1% против 7,3%;  $p = 0,015$ ) и более низкую частоту наступления клинической беременности (12% против 41,2%;  $p = 0,023$ ) по сравнению с ВИЧ-отрицательным контролем [120]. Manigart Y. и соавт. (2006) получили аналогичные результаты. Авторы предположили, что если ВИЧ-инфекция

ухудшает исходы циклов ЭКО/ICSI, то кумулятивный негативный эффект ВИЧ-инфекции от обоих партнеров может быть причиной плохих результатов ВРТ в данной группе пациентов [247]. Vianna и соавт. (2021), Vankerkem P. и соавт. (2017), напротив, не обнаружили статистически значимой разницы в исходах циклов ВРТ в конкордантных парах по сравнению с ВИЧ-отрицательными парами [20,21].

Поскольку основной гипотезой данного исследования явился гонадотоксичный эффект АРТ, на следующем этапе была проведена оценка морфологических характеристик ооцитов и определение содержания мтДНК в кумулюсных клетках и спермиологической жидкости.

В литературе обсуждается негативное влияние АРТ на качество гамет, как ведущей причины низкой результативности методов ВРТ у пациентов с ВИЧ-инфекцией [4,26]. Учитывая доказанную митохондриальную токсичность НИОТ, немногочисленные исследования в основном были направлены на оценку копийности мтДНК гамет. Морфологические же характеристики ооцитов ВИЧ-инфицированных женщин в настоящее время не изучены.

Как было уже сказано, аномалии морфологии ооцитов встречаются более чем в половине циклов ВРТ, и при их наличии снижается частота наступления беременности [248]. В данной работе частота встречаемости различных дисморфизмов у пациенток с ВИЧ-инфекцией составила 29,5%, что было значимо выше по сравнению с ВИЧ-негативными женщинами (14,1%;  $p < 0,001$ ). Следует отметить, что при оценке силы взаимосвязи была выявлена обратная зависимость между частотой выявления морфологически аномальных ооцитов и длительностью АРТ ( $r=0,173$ ;  $p < 0,001$ ). Более высокая частота встречаемости дисморфизмов у ВИЧ-инфицированных женщин, принимающих АРТ, а также корреляция их выявления с длительностью приема препаратов свидетельствуют об ухудшении морфологических характеристик ооцитов в данной группе больных.

При анализе клинико-лабораторных показателей обращает на себя внимание тот факт, что у женщин с ВИЧ-инфекцией наблюдались значимо

более низкие уровни АМГ (1,58 и 2,8 нг/мл;  $p < 0,001$ ), хотя пациентки обеих групп были сопоставимы по возрасту (34 и 33 года;  $p = 0,079$ ). В ряде работ было показано, что концентрации сывороточного АМГ отражают морфологические характеристики ооцитов. Авторы объясняют это тем, что АМГ вырабатывается гранулезными клетками и циркулирует в фолликулярной жидкости, тем самым может оказывать влияние на качество ооцитов за счет своего ауто- и паракринного действия. Остается неясным, связана ли корреляция между значениями АМГ и наличием дисморфизмов ооцитов со снижением его секреции гранулезными клетками в ооцитах низкого качества или, напротив, с возможным негативным влиянием низких уровней гормона на качество ооцитов [249, 250, 251, 252]. В контексте этих данных, более высокую частоту встречаемости дисморфизмов ооцитов у ВИЧ-инфицированных в сравнении с неинфицированными пациентками можно объяснить низкими уровнями сывороточного АМГ (Ме 1,5 (0,8;2,5) и 2,8 (1,9;6,2) нг/мл;  $p < 0,0001$ ).

При проведении овариальной стимуляции в основной группе исследования по сравнению с контрольной была использована значимо большая суммарная доза индуктора (Ме 2250 и 1950 МЕ;  $p = 0,001$ ). Обращает на себя внимание прямая зависимость частоты обнаружения морфологических аномалий ооцитов и суммарной дозы гонадотропинов у ВИЧ-инфицированных женщин ( $r = 0,222$ ,  $p < 0,001$ ). В исследовании Figueira и соавт. (2010) суммарная доза рФСГ положительно коррелировала с появлением экстрацитоплазматических дисморфизмов, а именно с наличием гранулярности в перивителлиновом пространстве ( $r = 0,125$ ;  $p = 0,018$ ) [252].

В структуре цитоплазматических дисморфизмов ооцитов в обеих группах преобладала центральная гранулярность цитоплазмы (17,3% и 10%), существенно чаще у ВИЧ-инфицированных пациенток ( $p < 0,001$ ). По данным литературы, частота встречаемости данной аномалии ооцитов достигает 30-35% [253], а в качестве факторов риска возникновения обсуждается возраст женщины и различные протоколы овариальной стимуляции [126]. Влияние



центральной гранулярности цитоплазмы на исходы циклов ЭКО остается спорным. Так, в исследовании Р. Tulay и соавт. (2019) не было выявлено различий в частоте оплодотворения между ооцитами с нормальной цитоплазмой и ооцитами с центральной грануляцией цитоплазмы. Более того, частота дробления, бластуляции и доля анеуплоидных эмбрионов также была сопоставима между группами. Однако частота наступления клинической беременности была существенно ниже в группе пациенток с центральной грануляцией цитоплазмы ооцитов в сравнении с группой контроля. Авторы делают вывод, что эмбрионы, полученные из ооцитов с центральной грануляцией цитоплазмы, имеют меньший потенциал к имплантации [251]. Другие исследователи, напротив, низкую частоту наступления беременности в данной группе пациенток объясняют более высокой частотой анеуплоидий (52%) в бластомерах эмбрионов, полученных после оплодотворения ооцитов с центральной грануляцией цитоплазмы [253].

Вакуоли (1,4% и 0,3%;  $p=0,004$ ) и темная цитоплазма (1,1% и 0,5%;  $p=0,174$ ) выявлялись не столь часто как в основной, так и контрольной группах. По данным других исследователей распространенность вакуолизации ооцитов также невысока, и составляет не более 3-4% [126]. Факторы риска возникновения данного дисморфизма неизвестны, а частота оплодотворения ооцитов с вакуолями зависит от их количества и размера. Существует мнение, что крупные вакуоли смещают веретено деления и нарушают архитектуру цитоплазмы, что препятствует нормальному движению пронуклеусов. Как результат, полученные эмбрионы реже достигают стадии бластоцисты и имеют меньший потенциал к имплантации [137]. Наличие темной цитоплазмы ооцита также увеличивает вероятность получения эмбрионов низкого качества и может быть связано с цитоплазматической незрелостью клетки [138].

В основной группе исследования по сравнению с контрольной существенно чаще наблюдалась агомогенная цитоплазма ооцитов (7% и 1,7%;  $p<0,001$ ). Большинство исследователей полагают, что агомогенная цитоплазма

имеет неизвестное биологическое значение, то есть остается неясным ни генез, ни влияние данного дисморфизма ооцитов на исход циклов ЭКО [126,127].

Интересным в данной работе является то, что аномальные агрегаты ГЭР встречались только в группе пациенток с ВИЧ-инфекцией (1,3%, 16/1228) и существенно чаще при использовании в схемах АРТ препаратов группы НИОТ с доказанной высокой митохондриальной токсичностью. Данная морфологическая аномалия ооцитов является наиболее серьезной с точки зрения отрицательных эмбриологических, клинических и неонатальных исходов. В этой связи экспертами Стамбульского консенсуса по оценке ооцитов и эмбрионов рекомендовано не использовать для оплодотворения яйцеклетки с аномальными агрегатами ГЭР [127]. Фактором риска появления данного дисморфизма является овариальная стимуляция, длительность и доза вводимых гонадотропинов [255]. Поскольку в настоящей работе у женщин с ВИЧ-инфекцией по сравнению с группой контроля была использована значимо большая суммарная доза индуктора (Ме 2250 и 1950 МЕ;  $p=0,001$ ), полагаем, что это один из факторов появления аномальных агрегатов ГЭР в данной группе пациенток.

Частота выявления экстрацитоплазматических дисморфизмов ооцитов была сопоставима между группами (9% и 7,7%;  $p=0,241$ ). Полученные данные подтверждаются результатами других исследователей, в которых показано, что данные морфологические аномалии – это фенотипические отклонения, отражающие гетерогенность полученных ооцитов [255].

Механизм действия препаратов группы НИОТ, используемых при лечении ВИЧ-инфекции основан на подавлении гамма-полимеразы человека, необходимой для репликации мтДНК, как результат наблюдается снижение копийности мтДНК, увеличение уровня ее мутаций [193,194,195]. Данный эффект приводит к возникновению митохондриальной дисфункции и нарушению нормального функционирования многих органов и систем.

В данной работе выявлен существенно более низкий уровень мтДНК в клетках кумулюса у женщин с ВИЧ-инфекцией по сравнению со здоровым

контролем (566,7(229,1) и 639,7(197) о.е;  $p=0,02$ ). Возможно, именно этим можно объяснить снижение овариального резерва, получение меньшего количества эмбрионов отличного качества и низкую частоту наступления беременности в изучаемой когорте ВИЧ-инфицированных женщин. Поскольку имеются данные о том, что меньшее количество копий мтДНК в ооцитах и кумулюсных клетках ассоциировано с более низкими показателями овариального резерва [186,256], плохим качеством эмбрионов [256], а также со снижением частоты имплантации при проведении программ ВРТ [257]. Относительно снижения овариального резерва у женщин, инфицированных ВИЧ, интересна теория преждевременного репродуктивного старения за счет накопления мутаций мтДНК. Можно предположить, что длительный прием АРВП с митохондриальной токсичностью приводят к снижению мтДНК гамет, накоплению мутации мтДНК, что и является причиной снижения овариального резерва. Нами показана обратная зависимость числа копий мтДНК в кумулюсных клетках с длительностью АРТ ( $r=-0,228$ ;  $p=0,04$ ). Полученные данные подтверждают сведения о том, что токсическое повреждение митохондрий зависит от продолжительности воздействия препаратов [258]. Более того, число копий мтДНК в клетках кумулюса начинало снижаться после 1 года АРТ. Аналогичные результаты были представлены в исследовании Z. Dai et al. (2015). Авторами было показано снижение мтДНК после 12 месяцев АРТ препаратами НИОТ [259].

Следует отметить, что препараты группы НИОТ существенно отличаются друг от друга по выраженности токсического действия на митохондрии. Так, абакавир и ламивудин значимо менее токсичны, чем зидовудин, ставудин или диданозин, а зальцитабин, ввиду высокой токсичности, вовсе перестали применять [260]. У более современных НИОТ, рекомендованных в первой линии терапии (тенофовир, абакавир, эмтрицитабин, ламивудин) проявления митохондриальной токсичности минимальны. Важно подчеркнуть, что антиретровирусные препараты с высокой митохондриальной токсичностью специалисты в области лечения ВИЧ-инфекции в настоящее время не

рекомендуют к использованию в схемах АРТ. Исключение – зидовудин, который пока остается рекомендованным в некоторых случаях [253,254].

В данной работе более чем каждая вторая пациентка (66,8%) принимала препараты НИОТ с известной высокой токсичностью на митохондриях. Как результат, в этой группе женщин копийность мтДНК в клетках кумулюса была значительно ниже, чем в контроле (554,6(239,5) и 639(197,9);  $p=0,04$ ), а при использовании препаратов с незначительным токсическим эффектом на митохондриях – сопоставима со здоровым контролем (574,3(224,6) и 639(197,9);  $p=0,06$ ).

Анализ копийности мтДНК в эякуляте показал, что у мужчин, инфицированных ВИЧ, уровень мтДНК лишенной делеций (1,9 (0,9;5,9) и 2,4 (1,9;5,6) о.е.; ( $p=0,54$ )), тотальной мтДНК (5,4 (3,7;9,8) и 5,5 (3,5; 8,2), о.е.; ( $p=0,62$ )) и соотношение  $mtDNA_{total} / mtDNA_{del-}$  (2,4(1,5; 3,9) и 1,9 (1,3;3,0), ( $p=0,09$ )) были сопоставимы со здоровым ВИЧ-отрицательным контролем. Возможно, отсутствие изменений в содержании мтДНК у ВИЧ-инфицированных связано с тем, что в данное исследование включены пациенты с недлительным приемом препаратов (2 года (1;5 лет)), имеющих низкую митохондриальную токсичность. Поскольку в настоящую работу были включены пациенты с различными показателями спермограммы, мы разделили образцы спермы на нормозооспермию, субфертильную сперму и тяжелую патозооспермию. Существенных различий в содержании тотальной мтДНК и мтДНК лишенной делеций между группами также не было выявлено. Однако, при тяжелых нарушениях сперматогенеза у мужчин с ВИЧ-инфекцией было показано, что чем длительнее АРТ, тем меньше содержание тотальной мтДНК ( $r=-0,627$ ;  $p=0,01$ ) и мтДНК лишенной делеций ( $r=-0,542$ ;  $p=0,04$ ). Более того, чем ниже уровень CD4+ лимфоцитов в крови, который отражает состояние иммунной системы, тем больше делеций мтДНК в сперме, определяемое по соотношениям  $mtDNA_{total} / mtDNA_{del-}$  ( $r=-0,629$ ;  $p=0,03$ ). Wu H. et al (2019) полагают, что увеличение количества делеций мтДНК в сперматозоидах является маркером патозооспермии и отражает негативные

изменения показателей спермы [172]. Таким образом, в данном исследовании снижение тотальной мтДНК и увеличение делецией мтДНК отражало именно выраженные изменения в сперме у ВИЧ-инфицированных мужчин, длительно принимающих АРТ. Известно, что у мтДНК, в отличие от геномной, отсутствуют защитные гистоны и богатая антиоксидантами цитоплазма [261], которые способствуют репарации ДНК, что делает мтДНК более уязвимой для делеций и повреждений [262]. Препараты АРТ могут ингибировать репарацию дефектов, возникающих в структуре мтДНК, тем самым приводя к повышению содержания копий мтДНК и mtDNA<sub>del</sub>+ [263]. Кроме этого, АРВП способствуют образованию АФК и увеличивают перекисное окисление липидов, приводя к развитию окислительного стресса и повреждению хроматина сперматозоидов, что в свою очередь приводит к повышению mtDNA<sub>del</sub>+ и развитию митохондриальной дисфункции в сперматозоидах [264]. В литературе представлены противоречивые данные. Так, исследования Diehl S. и соавт. (2003), свидетельствуют об отсутствии различий в содержании мтДНК между пациентами с ВИЧ-инфекцией, получающими и не получающими АРВТ по сравнению с ВИЧ-отрицательными мужчинами [265]. В исследовании White D.J. и соавт. (2010), напротив было показано, что у пациентов, длительно принимающих АРТ, определяются делеции в мтДНК сперматозоидов, в отличие от пациентов с ВИЧ, никогда не получавших терапию [266].

Таким образом, полученные при выполнении данного исследования результаты показали, что пациенты с ВИЧ-инфекцией, которые обращаются для лечения бесплодия или проведения ВРТ по эпидемиологическим показаниям имеют благополучный социальный статус, что во многом определяет их стремление к рождению детей. Однако заражение ВИЧ в раннем репродуктивном возрасте, длительный период без лечения и состояние иммунодефицита обусловили развитие ряда гинекологических заболеваний и осложнений беременности, что свидетельствует о необходимости раннего назначения АРТ при выявлении ВИЧ-инфекции у женщин репродуктивного

возраста, планирующих беременность. Вместе с тем, применение АРВП может быть сопряжено со снижением овариального резерва, поскольку препараты группы НИОТ, обладая митохондриальной токсичностью приводят к истощению мтДНК, а меньшее количество копий мтДНК в ооцитах ассоциировано с более низкими показателями овариального резерва. Тот факт, что концентрация АМГ обратно зависит от «стажа» ВИЧ – инфекции и продолжительности приема АРВП и не зависит от их митохондриальной токсичности свидетельствует о том, что именно кумулятивный эффект от длительной АРТ приводит к снижению овариального резерва. Продолжительная АРТ у мужчин ассоциирована с увеличением аномальных форм и повреждением ДНК сперматозоидов, что снижает фертильность ВИЧ-инфицированных мужчин. Другими словами, пациентам с ВИЧ-инфекцией показана ранняя реализация репродуктивной функции. Данная стратегия подтверждается и результатами проведенных программ ВРТ. Овариальная стимуляция у пациенток с ВИЧ-инфекцией характеризовалась использованием больших доз гонадотропинов, высокой частотой отмены цикла, эмбриологический этап – меньшим числом полученных ооцитов и эмбрионов, большим количеством ооцитов с диморфизмами и аномальным оплодотворением, исходы – низкой частота клинической беременности и родов, как в «свежих», так в криоциклах при использовании собственных ооцитов. Таким образом, полученные результаты подтвердили гипотезу данного исследования о гонадотоксичном влиянии АРТ. В дискордантных парах с ВИЧ-инфекцией у мужчины, напротив, параметры овариальной стимуляции, эмбриологические показатели и результативность циклов ВРТ не отличались от таковых в группе пациентов без ВИЧ-инфекции, поскольку гонадотоксичные эффекты АРВП на сперматозоиды ассоциированы только с тяжелыми нарушениями сперматогенеза.

Полученные данные о безопасности ВРТ свидетельствуют о предпочтении данных методов при реализации репродуктивной функции у

супружеских пар с ВИЧ-инфекцией, как в случае бесплодия, так и по эпидемиологическим показаниям.

Алгоритм реализации репродуктивной функции у супружеских пар с ВИЧ-инфекцией представлен на рис 27, 28.



## АЛГОРИТМ РЕАЛИЗАЦИИ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ У СУПРУЖЕСКИХ ПАР С ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ У ЖЕНЩИНЫ



Рисунок 27. Алгоритм реализации репродуктивной функции у супружеских пар с ВИЧ-инфекцией у женщины





## АЛГОРИТМ РЕАЛИЗАЦИИ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ У СУПРУЖЕСКИХ ПАР С ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ У МУЖЧИНЫ



Рисунок 28. Алгоритм у реализации репродуктивной функции супружеских пар с ВИЧ-инфекцией у мужчины.

## ВЫВОДЫ

1. ВИЧ-инфекция у женщин была выявлена в более молодом, чем у мужчин возрасте (26,5 (22;30) лет и 29 (25;30) лет;  $p=0,0001$ ). Антитела к ВИЧ в 36,2% случаев обнаруживали при медицинском осмотре или перед оперативным вмешательством, в 19,7% - при манифестации клинических проявлений, в 14,7% - по контакту с ВИЧ-инфицированным партнером, в 5,7% - при обследовании на этапе планирования беременности, в 9,4% – при установленном бесплодии и в 10,3% – перед программой ЭКО. Превалировал половой путь инфицирования (57,3%), однако употребление инъекционных наркотиков мужчины отмечали существенно чаще, чем женщины (23% и 10,3%;  $p=0,0001$ ).

2. Социально-демографический статус пациентов, живущих с ВИЧ и планирующих беременность, характеризовался наличием у большинства из них высшего (52,3%), а у трети - среднего специального образования (33,5%). Имели собственный бизнес и/или занимали руководящие должности 20,6% пациентов, работали в медицине - 5% и в сфере образования - 2,7%; официальный или незарегистрированный брак имел место у 97,9% пациентов. ВИЧ-статус партнера чаще отрицательный (86,4%), у 16,1% пар есть дети, в 11,7% наблюдений рожденные до ВИЧ-положительного статуса и только в 5% – после выявления ВИЧ-инфекции ( $p=0,0001$ ).

3. Женщины, инфицированные ВИЧ, были в репродуктивном возрасте (36 (32;39) лет), имели длительный «стаж» заболевания (9,8 (5,7;12,4) лет), преимущественно 3 субклиническую стадию (59,8%), неопределяемую вирусную нагрузку и относительно «благополучное» состояние иммунной системы ( $Me\ CD4+$  - 630 (496;791) мкл/кл.), что обусловлено приемом АРТ (4,5 (2,4;8) года). Комбинированная АРТ в большинстве (66,8%) наблюдений представлена препаратами группы НИОТ с высокой митохондриальной токсичностью. Медиана возраста мужчин с ВИЧ-инфекцией составила 37 (34;40) лет, длительность заболевания - 6 (3;13) лет, преобладала 3

субклиническая стадия (63,5%), а отсутствие иммунодефицита ( $CD4^+$  562 (433;750) мкл/кл) и неопределяемая вирусная нагрузка были обусловлены использованием АРВП (3 (1,5;6) года). В схемах АРТ чаще были использованы АРВП с низкой митохондриальной токсичностью (53,6%). В 27,1% случаев у женщин и в 36,9% наблюдений у мужчин наблюдалась коинфекция ВИЧ-инфекции с ВГС.

4. Гинекологический анамнез пациенток, инфицированных ВИЧ и планирующих беременность, характеризовался ранним началом половой жизни ( $17,4 \pm 2,5$  и  $18,3 \pm 2,6$  лет;  $p < 0,0001$ ), высокой частотой ИППП (6,5% и 1,9%;  $p < 0,0001$ ), осложненных форм воспалительных заболеваний органов малого таза (5,1% и 0,9%;  $p = 0,01$ ), ВПЧ высокого онкогенного типа (8,8% и 3,6%;  $p = 0,048$ ), дисплазии (3,7%) и рака шейки матки (2,3%), вторичным бесплодием (57,9% и 37,8%;  $p < 0,0001$ ) трубно-перитонеального генеза (48,1% и 44,2%;  $p = 0,141$ ), длительность которого коррелировала со «стажем» ВИЧ-инфекции ( $r = 0,141$ ;  $p = 0,05$ ) и не зависела от продолжительности АРТ ( $r = 0,077$ ;  $p = 0,304$ ). В структуре исходов беременности преобладали аборт (37,9% и 12,8%;  $p < 0,0001$ ), поздние самопроизвольные выкидыши (4,7% и 0,9%;  $p = 0,018$ ), антенатальная гибель плода (1,4%) и внематочная беременность (22,4% и 13,7%;  $p = 0,041$ ).

5. Показатели овариального резерва у женщин с ВИЧ-инфекцией характеризовались низким уровнем АМГ (1,5 (0,8;2,5) и 2,8 (1,9;6,2) нг/мл;  $p < 0,0001$ ), концентрация которого отрицательно коррелировала с длительностью заболевания ( $r = -0,262$ ;  $p < 0,0001$ ) и продолжительностью АРТ ( $r = -0,323$ ;  $p < 0,0001$ ) и не зависела от показателей  $CD4^+$  лимфоцитов ( $r = 0,101$ ;  $p = 0,181$ ). Снижение концентраций АМГ наблюдалось после 1 года приема АРТ (1,7 (0,9;2,9);  $p < 0,0001$ ), достигало критического уровня при длительности терапии более 5 лет (1,0 (0,3;1,3) нг/мл;  $p < 0,0001$ ) и не зависело от митохондриальной токсичности используемых в терапии препаратов ( $p = 0,555$ ).

6. У ВИЧ-инфицированных мужчин, не использующих АРТ, все показатели спермограммы были в пределах нормативных значений и не зависели от «стажа» заболевания, однако при высоких уровнях вирусной нагрузки ( $r=-0,669$ ;  $p=0,03$ ) и низких показателях CD4+ лимфоцитов в крови ( $r=0,778$ ;  $p=0,014$ ) снижался объем эякулята (2,9 (2;3,5) мл и 3,1 (2,4;4,1), а количество прогрессивно-подвижных форм сперматозоидов категории «в» напрямую зависело от уровня CD4+ лимфоцитов ( $r=0,667$ ;  $p=0,04$ ).

7. Использование АРТ оказывало негативное влияние на показатели спермограммы мужчин, инфицированных ВИЧ, что проявлялось увеличением числа патологических форм (97% (96;98) и 96% (95;96);  $p < 0,001$ ) и повышением индекса фрагментации ДНК сперматозоидов (15,8% (12,4;21,6) и 10,6 % (7,5;12,4);  $p < 0,001$ ). Количество прогрессивно-подвижных форм категории «в» ( $r=-0,248$ ;  $p=0,021$ ) и общая подвижность сперматозоидов ( $r=-0,278$ ;  $p=0,014$ ) обратно зависели от «стажа» ВИЧ-инфекции, а число их неподвижных форм ( $r=0,231$ ;  $p=0,041$ ) положительно коррелировало с длительностью заболевания. Продолжительная АРТ приводит к снижению общей подвижности сперматозоидов ( $r=-0,248$ ;  $p=0,024$ ) и увеличению показателей фрагментации ДНК сперматозоидов ( $r=0,510$ ;  $p=0,041$ ). Показатели спермограммы не зависели от митохондриальной токсичности используемых при АРТ препаратов группы НИОТ.

8. Эмбриологические показатели программы ЭКО/ICSI у ВИЧ-инфицированных женщин характеризовались снижением числа полученных ОКК (6,5 (3;12) и 9 (6;15);  $p < 0,001$ ), ооцитов МП (5 (2;9) и 8 (5;12);  $p < 0,001$ ), зигот (4 (2;8) и 6 (4;10);  $p < 0,001$ ), бластоцист (2(0;2) и 4 (1;6);  $p < 0,001$ ) и витрифицированных эмбрионов (1(0;3) и 2 (0;4);  $p=0,002$ ). При использовании собственных ооцитов эффективность программ ВРТ у пациенток с ВИЧ-инфекцией была значимо ниже, чем у здоровых женщин, как в «свежих» циклах ЭКО/ICSI (клиническая беременность (16,5% и 32,8%;  $p=0,001$ ) и живорождения (12,2% и 31,5%;  $p < 0,001$ ), так и в криоциклах (клиническая

беременность (27,6% и 41%;  $p=0,014$ ) и живорождения (16,7% и 27,7%;  $p=0,021$ ), а при использовании ооцитов донора частота клинической беременности (40% и 41%;  $p=0,91$ ) и родов (25,7% и 27,7%;  $p=0,809$ ) была сопоставима со здоровым контролем.

9. В дискордантных парах с ВИЧ-инфекцией у мужчины эффективность программы ЭКО/ICSI была сопоставима со здоровым контролем, как в «свежих» циклах ЭКО/ICSI: клиническая беременность - 27,6% и 27,1%;  $p=0,841$  и живорождения - 22% и 20,2% ( $p=0,678$ ), так и в криоциклах: клиническая беременность - 36,3% и 35,8% ( $p=0,914$ ) и живорождения - 24,2% и 21,8% ( $p=0,588$ ).

10. В конкордантных по ВИЧ-инфекции парах эффективность программы ЭКО/ICSI была значимо ниже, чем у здоровых женщин, как в «свежих» циклах ЭКО/ICSI: клиническая беременность - 18,9% и 34% ( $p=0,040$ ) и живорождения - 13,2% и 29% ( $p=0,028$ ), так и в криоциклах: клиническая беременность - 14,7% и 40,9% ( $p=0,006$ ) и живорождения - 8,8% и 28,4% ( $p=0,022$ ) при использовании собственных ооцитов., а при использовании ооцитов донора частота клинической беременности (35,7% и 40,9%;  $p=0,714$ ) и родов (28,6% и 28,4%;  $p=0,99$ ) были сопоставима со здоровым контролем.

11. Морфологические характеристики ооцитов у пациенток с ВИЧ-инфекцией характеризовались более высокой частотой встречаемости различных видов дисморфизмов (29,5% ( $p < 0,001$ )) и напрямую зависели от суммарной дозы индуктора ( $p < 0,001$ ) и длительности АРТ ( $p < 0,001$ ); преобладали клинически значимые цитоплазматические аномалии строения ооцитов - 26,3% и 11,7% ( $p < 0,001$ , ОШ 2,26, 95% ДИ 1,8-2,7).

12. Копийность мтДНК в кумулюсных клетках у женщин с ВИЧ-инфекцией была существенно ниже, чем у пациенток без ВИЧ-инфекции (566,7(229,1) и 639,7(197) о.е.;  $p=0,02$ ), снижалась по мере прогрессирования заболевания (3 субклиническая стадия - 588,6 (208,1) о.е., 4А стадия - 535,2 (256,4) о.е.;

$p=0,01$ ), продолжительности АРТ более 1 года (505,39(175,0) и 639,7(197,9) о.е;  $p=0,001$ ) и использовании препаратов группы НИОТ с высокой митохондриальной токсичностью (554,6 (239,5) и 639 (197,9);  $p=0,04$ ). У мужчин с ВИЧ – инфекцией и тяжелыми нарушениями сперматогенеза продолжительность приема АРВП отрицательно коррелировала с количеством мтДНК, лишенной делеций ( $r=-0,542$ ;  $p=0,04$ ) и тотальной мтДНК ( $r=-0,627$ ;  $p=0,01$ ). Выраженная отрицательная корреляция выявлена между уровнем CD4+ и mtDNAtotal / mtDNAdel- ( $r=-0,629$ ;  $p=0,03$ ).

13. Тестирование образцов спермы не выявило РНК ВИЧ в 100% случаев, а антитела к ВИЧ в крови женщин через 21 день, 3 и 6 месяцев после переноса эмбрионов также не были обнаружены в 100% наблюдений. Дети, рожденные у ВИЧ-инфицированных матерей, в 100% случаев были ВИЧ-отрицательными.

## **Практические рекомендации:**

1. При первичном обращении на консультативный прием пациентов с бесплодием обязательным является обследование обоих партнеров на наличие антител к ВИЧ, что способствует раннему выявлению заболевания.
2. При выявлении ВИЧ-инфекции у пациентов репродуктивного возраста показана консультация репродуктолога для более ранней оценки статуса фертильности супружеской пары.
3. При назначении АРТ пациентам репродуктивного возраста, планирующим беременность, следует отдавать предпочтение препаратам с меньшей митохондриальной токсичностью.
3. Женщинам репродуктивного возраста, инфицированным ВИЧ, необходимо определять концентрацию АМГ. При показателях АМГ  $\leq 1$  нг/мл и длительности использования АРВП более 1 года следует планировать беременность или использовать ВРТ для сохранения генетического материала.
4. Женщинам репродуктивного возраста, инфицированным ВИЧ, которые не планируют беременность в ближайшее время, следует рекомендовать проведение программы ЭКО с криоконсервацией ооцитов/эмбрионов.
5. Женщинам репродуктивного возраста, инфицированным ВИЧ, которые планируют беременность/имеют бесплодие следует рекомендовать проведение программы ЭКО по эпидемиологическим показаниям и/или с целью лечения бесплодия.
6. В случаях неэффективности программы ЭКО у женщин с длительным «стажем» ВИЧ – инфекции и/или продолжительной АРТ препаратами с высокой митохондриальной токсичностью следует рекомендовать использование ооцитов донора.

7. В дискордантных парах с ВИЧ-инфекцией у мужчины целесообразно рекомендовать проведение программы ЭКО по эпидемиологическим показаниям или с целью лечения бесплодия.

8. В дискордантных парах с ВИЧ-инфекцией у мужчины, которые не планируют беременность в ближайшее время, целесообразно выполнить оценку спермограммы и индекса фрагментации ДНК сперматозоидов, а при наличии изменений - обработка спермы методом двойного градиента и флотацией с последующей криоконсервацией. Возможно проведение предварительного тестирования эякулята на РНК ВИЧ.

9. При проведении программы ЭКО в дискордантных парах с ВИЧ-инфекцией у мужчины обработку эякулята следует проводить методом двойного градиента и флотации. Возможно проведение тестирования спермы на наличие РНК ВИЧ. При отсутствии РНК ВИЧ в сперме – проведение программы ЭКО/ICSI. При наличии РНК ВИЧ в сперме – направление к инфекционисту для продолжения АРТ или использование спермы донора. Если тестирование спермы на наличие РНК ВИЧ не проводится, то оплодотворение ооцитов целесообразно проводить методом ICSI.

10. При проведении программы ЭКО в дискордантных парах с ВИЧ-инфекцией у мужчины, в крови женщин следует определять антитела к ВИЧ через 21 день, 3 и 6 месяцев после переноса эмбрионов



## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

аГнРГ – агонист гонадотропин – рилизинг гормона

антГнРГ – антагонист гонадотропин – рилизинг гормона

АРВП – антиретровирусные препараты

АРТ – антиретровирусная терапия

АТФ – аденозинтрифосфорная кислота

АФК – активные формы кислорода

ВПГ – вирус простого герпеса

ВГС – вирус гепатита С

ВИЧ – вирус иммунодефицита человека

ВМИ – внутриматочная инсеминация

ВН – вирусная нагрузка

ВОЗ – всемирная организация здравоохранения

ВПЧ – вирус папилломы человека

ВРТ – вспомогательные репродуктивные технологии

ИИ – ингибиторы интегразы

ИМТ – индекс массы тела

ИП – ингибиторы протеаз

ИППП – инфекции, передающиеся половым путем

КОК – комбинированные оральные контрацептивы

ЛГ – лютеинизирующий гормон

мтДНК – митохондриальная дезоксирибонуклеиновая кислота

МСМ – мужчины, имеющие секс с мужчинами

НИОТ – нуклеотидные ингибиторы обратной транскриптазы

ННИОТ – ненуклеотидные ингибиторы обратной транскриптазы

ОКК – ооцит-кумулюсный комплекс

рФСГ – рекомбинантный фолликулостимулирующий гормон

ПИН – потребители инъекционных наркотиков

РНК – рибонуклеиновая кислота

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Всемирная организация здравоохранения. Информационный бюллетень от 25.07.2019 <https://apps.who.int/iris/>
2. Справка ВИЧ-инфекция в Российской Федерации на 31 декабря 2022г. ФБУН Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора <http://www.hivrussia.info/wp-content/uploads/2023/09/Spravka-VICH-v-Rossii-na-31.12.2022.pdf>
3. Ethics Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Human immunodeficiency virus (HIV) and infertility treatment: a committee opinion // *Fertility Sterility*. – 2015. – Vol. 104. – P. 1–8.
4. Lights and Shadows about the Effectiveness of IVF in HIV Infected Women: A Systematic Review / C. Marques, K. Guerreiro, S. Soares [ et al.] // *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology*. -2015. – P. 1069-1089.
5. Bujan, L. People living with HIV and procreation: 30 years of progress from prohibition to freedom? / L. Bujan, C. Pasquier // *Human Reproduction*. – 2016. – Vol.31, N 5. – P.918–925.
6. Reproductive assistance in HIV serodiscordant couples / V. Savasi, L. Mandia, A. Laoreti [ et al.] // *Human Reproduction Update*. – 2013. – Vol.19, N 2. – P.136–150.
7. Women infected with human immunodeficiency virus type 1 have poorer assisted reproduction outcomes: a case-control study / C. Stora, S. Epelboin, E. Devouche [ et al.] // *Fertility Sterility*. – 2016. – Vol. 105, N 5. – P. 1193-1201.
8. Parsons, T. Fertility Rate of HIV-infected Women Is 37 Percent Less Than That of Healthy Women. 2000.

9. Effects of human immunodeficiency virus on protracted amenorrhea and ovarian dysfunction / H. E. Cejtin, A. Kalinowski, P. Bacchetti [et al.] // *Obstetrics Gynecology*. – 2006. – Vol. 108. – P. 1423–1431.
10. Medically assisted reproduction in the presence of chronic viral diseases / Y. Englert, B. Lesage, J. P. Van Vooren [et al.] // *Human Reproduction Update*. – 2004. – N 10. – P. 149–162.
11. HIV-1 infection and modern antiretroviral therapy impair sperm quality / S. Kehl, M. Weigel, D. Muller [et al.] // *Arch Gynecology Obstetrics*. – 2011. – Vol. 284, N 1. – P.229–233.
12. Decreased semen volume and spermatozoa motility in HIV-1-infected patients under antiretroviral treatment / L. Bujan, M. Sergerie, N. Moinard [et al.] // *J Andrology*. – 2007. – Vol. 28, N 3. – P.4.
13. Показатели качества спермы у мужчин с ВИЧ-инфекцией / Ф.Н. Селимова, С. Г. Перминова, Е. В. Митюрин [и др.] // *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии*. – 2019. – Т. 11, N. – P. 94-102.
14. Semen quality in HIV patients under stable antiretroviral therapy is impaired compared to WHO 2010 reference values and on sperm proteome level / A. Pilatz, A. Discher, G. Lochnit [et al.] // *AIDS*. -2014. –Vol.28, N6. – P.875–880.
15. Semen quality remains stable during 96 weeks of untreated human immunodeficiency virus-1 infection / E. Van Leeuwen, F. F. Wit, J. M. Prins [et al.] // *Fertility Sterility*. – 2008. – Vol.9, N 3. – P.636–641.
16. Oneta, M. Does antiretroviral therapy affect DNA integrity in spermatozoa of HIV-1 infected patients? / M. Oneta M. In: 27th Annual Meeting of ESHRE, Stockholm, Sweden; 2014.

17. Reproduction and fertility in human immunodeficiency virus type-1 infection. / E. Van Leeuwen, J. M. Prins, S. Jurriaans [ et al.] // Human Reproduction Update. – 2007. – Vol.1, N 2. – P.197-206.
18. Alterations of ovarian reserve tests in human immunodeficiency virus (HIV)-infected women / J. Ohl, M. Parisani, C. Demangeat [ et. al.] // Gynecology Obstetrics Fertility. -2010. – N 38. – P. 313–317.
19. Ovarian response to stimulation of HIV-positive patients during IVF treatment: a matched, controlled study / V. Martinet, Y. Manigart, S. Rozenberg [ et al.] //Human Reproduction. – 2006. – Vol. 21. – P. 1212–1217.
20. Comparison of in vitro fertilization cycles in couples with human immunodeficiency virus type 1 infection versus noninfected couples through a retrospective matched case-control study / C. A. Vianna, C. Dupont, L. Selleret [ et al.] // Fertility Sterility Reports. – 2021. – Vol.2, N 4. – P.376-385.
21. In vitro fertilization when men, women, or both partners are positive for HIV: a case-control study / P. Vankerkem, Y. Manigart, A. Delvigne [et al.] //Arch Gynecology Obstetrics. -2017. – Vol. 295. – P.1493-1507.
22. IVF-ICSI in HIV positive and sero-discordant couples: results of five-years of experience / P. Santulli, N. Chopin, C. Patrat [et al.] // Human Reproduction. – 2009. - 24: Abstract Book 1: 342.
23. Mitochondrial DNA depletion in oocytes of HIV-infected antiretroviral-treated infertile women / S. López, O. Coll, M. Durban [ et al.] // Antiviral Therapy. – 2008. – Vol. 13. – P. 833–838.
24. Mitochondrial DNA content affects the fertilizability of human oocytes / P. Reynier, P. May-Panloup, M. F. Chrétien [ et al.] // Human Reproduction Mol. – 2001. – Vol. 7, N 5. – P. 425–429.

25. Decreased pregnancy rate after in-vitro fertilization in HIV-infected women receiving HAART/ O. Coll, A. Suy, F. Figueras [et al.] // AIDS. – 2006. – Vol. 20. – P.121–123.
26. Safety of sperm washing and ART outcome in 741 HIV-1-serodiscordant couples/ V. Savasi, E. Ferrazzi, C. Lanzani [ et al.] // Human Reproduction. – 2007. – Vol.22.- P. 772–777.
27. Human immunodeficiency type-1 virus (HIV-1) infection in serodiscordant couples (SDCs) does not have an impact on embryo quality or intracytoplasmic sperm injection (ICSI) outcome / M. Melo, M. Meseguer, J. Bellver [ et al.] // Fertility Sterility. – 2008. – Vol. 89, N 1. – P.141–150.
28. ВИЧ-инфекция и СПИД. Клинические рекомендации/под редакцией В.В. Покровского. М.: ГЭОТАР-Медиа. – 2019. – 160 С.
29. Либман Г., Макадон Х. Дж. ВИЧ-инфекция/пер. с англ. под ред. А.И. Мазуса, Т.П. Бессараба. - М., ГЭОТАР-Медиа, 2012. - 560 С.
30. ЭКО у ВИЧ-инфицированных больных (отбор и подготовка пациентов, особенности проведения программ)/ Т. А. Назаренко, К. В. Краснопольская, К. М. Исакова [и др.] // Пособие для врачей. – 2012. - 40 С.
31. Institute for Health Metrics and Evaluation IHME HIV Atlas. 2019. <https://hiv.ihme.services/trends>.
32. Справка ВИЧ-инфекция в Российской Федерации на 30 сентября 2021г. ФБУН Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора.<http://www.hivrussia.info/wp-content/uploads/2021/11/Spravka-VICH-v-Rossii-9-mes-2021-g..pdf>.
33. High risk behaviour and fertility desires among heterosexual HIV-positive patients with a serodiscordant partner – two challenging issues / L. Panozzo, M.

- Battegay, A. Friedl [ et al.] // Swiss Med. Wkly. – 2003. – Vol.133, N 7–8. – P. 124–147.
34. Fertility intentions of women of reproductive age living with HIV in British Columbia, Canada / G. S. Ogilvie, A. Palepu, V. P. Remale [et al.] // AIDS. – 2007. – Vol.21, N 1. - S83–S88.
35. ЮНЭЙДС <https://www.unaids.org/ru>.
36. Safier, L.Z. Fertility care interventions should be provided as the first line options for HIV+ serodiscordant couples who desire children in settings with affordable access to care, regardless of their fertility status / L. Z. Safier // Journal of the International AIDS society. – 2017. – Vol. 20, N 1. – P.21294.
37. Medically assisted reproduction in patients with a viral infection/disease. ESHRE Viral infection Guideline Group. 2021.
38. Women infected with HIV and the impact of associated sexually transmitted infection / S. Reda, F. A. Gonçalves, M. Mazepa [ et al.] //J Gynecology Obstetrics. – 2018. – Vol. 142. – P. 143–147.
39. HIV infection/ L G. Bekker, C. Beyrer, N. Mgodl [et.al.] // Nat Rev Dis Primers. – 2023. – Vol.9, N 1. – P.42.
40. Хоффман К., Рокшто Ю. Лечение ВИЧ-инфекции. 2009. М.: Р. Валент. – 2010. - 648 С.
41. Леванович В.В., Тимченко В.Н., Архипова Ю.А. ВИЧ-инфекция на рубеже веков: Руководство для врачей всех специальностей / В. В. Леванович, В. Н. Тимченко, Ю. А. Архипова - Спб.: Изд-во Н-Л, 2012Ю - 496 С.
42. ВИЧ-инфекция. Этиология, патогенез, лабораторная диагностика; Учебное пособие / И. И. Долгушин, О. А. Гизингер, Ю. С. Шишкова [и др.] 2015. - 85 С.

43. WHO. Guideline on when to start antiretroviral therapy and on pre-exposure prophylaxis for HIV. Geneva, Switzerland: World Health Organization. -2015.
44. Two-drug regimens for HIV treatment / R. M. Gibas, S. G. Kelly, J. R. Arribas [ et al.] // Lancet HIV. – 2022. – Vol. 9, N 12. - e868–e883.
45. Use of hormonal contraceptives and risk of HIV-1 transmission: a prospective cohort study / R. Heffron, D. Donnell, H. Rees [et al.] // Lancet Infect Dis. – 2012. – Vol.12, N 1. – P.19-26.
46. Hapgood, J.P. Hormonal Contraception and HIV-1 Acquisition: Biological Mechanisms / J. P. Hapgood, C. Kaushic, Z. Hel //Endocrine Reviews. – 2018. – Vol.39, N 1. – P.36–78.
47. Heikinheimo, O. Contraception and HIV infection in women / O. Heikinheimo, P. Lähteenmäki // Human Reproduction Update. – 2008. – P. 1-11.
48. Современные подходы к реализации репродуктивной функции у пациентов с ВИЧ-инфекцией: Учеб. пособие / Е. В. Митюрин, С. Г. Перминова, Т. А. Назаренко [и др.] – М.: Издательство, 2022. – 88 С.
49. Hormonal contraception and HIV disease progression: a multicountry cohort analysis of the MTCT-Plus Initiative / E. M. Stringer, M. Giganti, R. J. Carter [ et al.] // AIDS. – 2009. – Vol. 23, N 1. – P.69-77.
50. PrEP as peri-conception HIV prevention for women and men / R. Heffron, J. Pintye, L. T. Matthews [ et al.] // Curr HIV/AIDS Rep. – 2016. – P.131-139.
51. ВИЧ-инфекция у взрослых. Клинические рекомендации. 2020. МЗ РФ, 2020. -86 С.
52. Relation between HIV viral load and infectiousness: a model-based analysis. / D. P. Wilson, M. G. Law, A. E. Grulich [ et al.] //Lancet. – 2008. – Vol. 372. – P.314–320.



53. Pre-exposure prophylaxis and timed intercourse for HIV-discordant couples willing to conceive a child / P. L. Vernazza, I. Graf, U. Sonnenberg-Schwan [ et al.] // AIDS. -2011. –Vol. 25. – P. 2005–2008.
54. Biologic markers of ovarian reserve and reproductive aging: application in a cohort study of HIV infection in women/ D.V. Seifer, E. T. Golub, G. Lambert-Messerlian [et al.] // Fertility Sterility. – 2007. – Vol.88, N 6. – P.1645-1652.
55. Исакова К.М. Особенности применения методов вспомогательной репродукции у ВИЧ-инфицированных больных. Дис... канд. мед. наук. – М. – 2018. – 71 С.
56. Highly active antiretroviral Therapy does not completely suppress HIV in semen of sexually active HIV-infected men who have sex with men / J. A. Politch, K. H. Mayer, S. L. Welles, W. H. O'Brien [ et al.] // AIDS. – 2012. – Vol. 26. – P.1535-1543.
57. Characterizations of Bacterial Vaginosis among HIV-Positive and HIV-Negative Women in Rural Eastern Cape Province, South Africa / T. Apalata, S. Nojaholo, I. D. Seipone [ et al.] // Int J Microbiology. – 2021. –P. 9913878.
58. Watts, D. Occurrence of vaginal infections among HIV-Infected and high-risk HIV- uninfected women: longitudinal findings of the Women's Interagency HIV Study / D. Watts, G. Springer, H. Minkoff // J AIDS. – 2006. –Vol.43. – P.161-168.
59. Depletion and activation of mucosal CD4 T cells in HIV infected women with HPV-associated lesions of the cervix uteri / W. Mbuya, R. Mcharo, J. Mhizde [et al.] // PLoS One. – 2020. – Vol.15, N 10. -e0240154.
60. Association of antiretroviral therapy with high-risk human papillomavirus, cervical intraepithelial neoplasia, and invasive cervical cancer in women living with HIV: A systematic review and meta-analysis / H. Kelly, H. A. Weiss, Y. Benavente [ et al.] // Lancet HIV. -2018. - N 5. – P.45-58.

61. Women with HIV are more commonly infected with non-16 and -18 high-risk HPV types /N. D. McKenzie, E. N. Kobetz, J. Hnatyszyn [ et al.] // *Gynecology Oncology*. – 2010. – Vol.116, N 3. – P.572-577.
62. Low incidence of invasive cervical cancer among HIV-infected US women in a prevention program / L. S. Massad, E. C. Seaberg, D. X. Watts [et al.] // *AIDS*. – 2004. – Vol.18, N1. – P.109-113.
63. Rahatgaonkar, V.G. Screening for cervical cancer in HIV-infected women: A review of literature / V. G. Rahatgaonkar, A. A. Deshpande, G. A. Oka // *Indian J Cancer*. – 2021. – Vol. 58. – P.317-325.
64. Sauer, M. American physicians remains low to embrace the reproductive needs of human immunodeficiency virus-infected patients / M. Sauer // *Fertility Sterility*. – 2006. – Vol. 85, N 2. – P.295-297.
65. Delayed entry into HIV medical care in a nationally representative sample of HIV-infected adults receiving medical care in the USA / M. Robertson, S. C. Wei, L. Beer [et al.] // *AIDS Care*. – 2015. – Vol. 23. – P.1-9.
66. Efficacy and safety of intrauterine insemination and assisted reproductive technology in populations serodiscordant for human immunodeficiency virus: a systematic review and meta-analysis / A. Barnes, D. Riche, L. Mena [ et al.] // *Fertility Sterility*. – 2014. – Vol.102, N 2. – P.424-434.
67. Wekesa, E. Living with HIV postdiagnosis: a qualitative study of the experiences of Nairobi slum residents/ E. Wekesa, E. Coast // *BMJ Open*. - 2013. - n 3. - e002399.
68. Stephenson, J.M. The effect of HIV diagnosis on reproductive experience. Study group for the medical research council collaborative study on women with HIV / J. M. Stephenson, A. A. Griffioen // *AIDS*. -1996. - N10. – P.1683–1687.

69. Hinz, S. Endocrine function in HIV-infected women / S. Hinz, D. McCormack, ZM. van der Spuy // *Gynecology Endocrinology*. – 2002. – Vol.16.- P. 33–38.
70. Yalamanchi, S. Gonadal function and reproductive health in women with HIV infection / S. Yalamanchi, A. Dobs, R.M. Greenblatt // *Endocrinology Metabolism Clinical North Am*. – 2014.- Vol. 43, N 3. –P. 731–741.
71. Pregnancy rates and predictors of conception, miscarriage and abortion in US women with HIV / L. S. Massad, G. Springer, L. Jacobson [et al.] // *AIDS*. – 2004. –Vol.18, N 2.- P.281-286.
72. Association of antiretroviral use and abnormal uterine bleeding in women with HIV / C. Valiaveetil, S. Cadd, M. Yudin [et al.] // *Topics Antiviral Medicine*. – 2016. -N 24.- P.405.
73. Frequency of anovulation and early menopause among women enrolled in selected AIDS clinical trials group studies / R. A. Clark, K. Mulligan, E. Stamenovic [ et al.] // *J Infect Dis*.- 2001.- Vol. 184, N 10. –P. 1325–1327.
74. King, E.M. HIV and amenorrhea a meta-analysis / E. M. King. A. Y., Albert, M. C. M. Murray // *AIDS*. -2019. – Vol. 33, N 3. – P.483-491.
75. Early menopause in acquired immunodeficiency syndrome / M. H. Ahmed, S. Bondje, R. Jiwan [et al.] // *J Res Med Sci*. -2021.- Vol. 26. –P.122.
76. Impact of CD4+ Lymphocytes and HIV Infection on Anti-Müllerian Hormone Levels in a Large Cohort of HIV-infected and -uninfected Women / R. Scherzer, P. Bacchetti, G. Messerlian [et al.] // *Am J Reproduction Immunology*. – 2015.- Vol.73, N 3. –P.273–284.
77. King, E.M. Markers of ovarian reserve in women living with HIV: A systematic review /E. M. King, S. A. Swann, M. C.M. Murray // *HIV Med*. – 2023. –Vol.24, N 3. –P.247-259.

78. . Predictors of low ovarian reserve in cART-treated women living with HIV. / E. Merlini, C. Tincati, V. Sacchi [ et al.] // *Medicine*. -2021. – Vol. 100. – P.39.
79. HBV or HCV Coinfection in HIV-1-Infected Pregnant Women in France: Prevalence and Pregnancy Outcome / V. Benhammou, R. Tubiana, S. Matheron [et al.] // *JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*. – 2018. – Vol. 77, N 5. – P. 439-450.
80. Оценка про- и антиоксидантного статуса у женщин с ВИЧ и коинфекцией / Л. И. Колесникова, С. И. Колесников, М. А. Даренская [и др.] // *Терапевтический архив*. – 2016. – N 11. – С. 17-21.
81. Male accessory gland infection and sperm parameters (review) / S. La Vignera, E. Vicari, R. A. Condorelli [ et al.] // *Int J Andrology*. – 2011. - N 34. - e330–e347.
82. Influence of urogenital infections and inflammation on semen quality and male fertility / A. Ruzs, A. Pilatz, F. Wagenlehner [et al.] // *World J Urol*. – 2012. -N 30. – P.23–30.
83. Ochsendorf F.R. Sexually transmitted infections: impact on male fertility / F. R. Ochsendorf // *Andrologia*. – 2008. - N 40. – P. 72–75.
84. Semen analysis in HIV seropositive men and in subjects at high risk for HIV infection / F. Dondero, T. D. Rossi, G, F. OffiziMazzilli [ et al.] // *Human Reproduction*. – 1996. - N 11. – P.765– 768.
85. Factors affecting sperm fertilizing capacity in men infected with HIV / D. Wang, L. Li, Q. Xie [ et ql.] // *J Med Virology*. – 2014. –Vol. 86. – P.1467–1472.
86. Реализация репродуктивной функции у мужчин с ВИЧ-инфекцией. / Ф. Н. Селимова, С. Г. Перминова, Е. В. Митюрин [и др.] // *Акушерство и гинекология*. – 2018. –N 5. – С. 36-43.

87. Thorne, C. Increased risk of adverse pregnancy outcomes in HIV-infected women treated with highly active antiretroviral therapy in Europe/ C. Thorne, D. Patel, ML. Newell // AIDS. -2004. - N 18. – P.2337-2339.
88. Adverse effects of reverse transcriptase inhibitors: Mitochondrial toxicity as common pathway / K. Brinkman, H. J. Hofstede, D. M. Burger [ et al.] // AIDS. – 1998. -N 12. – P. 1735–1744.
89. Lewis, W. Mitochondrial toxicity of antiviral drugs / W. Lewis, M. C. Dalakas // Nature Medicine. -1995. - N 1. – P.417–422.
90. Oxidant stress is increased during treatment of human immunodeficiency virus infection / T. Hulgan, J. Morrow, R. T. D'Aquila [ et AL.] // Clinical Infectious Diseases. – 2003. – Vol. 37. – P.1711–1717.
91. Aitken, R. Apoptosis and DNA damage in human spermatozo / R. Aitken, A. Koppers // Asian J. Andrology. – 2011. - N 13. – P.36–42.
92. Evenson D.P. Sperm Chromatin Structure Assay (SCSA): 30 years of experience with the SCSA / D. P. Evenson // Biological and clinical applications in male infertility and assisted reproduction. – 2011. – Vol. 78. – P.125–149.
93. The effect of sperm DNA fragmentation on miscarriage rates: A systematic review and meta-analysis / R. Robinson, I. D. Gallos, S. J. Conner [ et al.] // Human Reproduction. – 2012. – Vol. 27. – P.2908–2917.
94. Effects of Antiretroviral Therapy on Sperm DNA Integrity of HIV-1-Infected Men / V. Savasi, M. Oneta, A. Laoreti [et al.] // American Journal of Men's Health. – 2018. – Vol.12, N 6. – P.1824–1831.
95. Effect of varicocele on perm function and semen oxidative stress / C. G. Blumer, A. E. Restelli, P. T. Giudice [ et al.] // British Journal of Urology International. – 2012. –Vol. 109. –P. 259–265.

96. Активные формы кислорода и репродуктивная функция мужчин: фундаментальные и клинические аспекты (обзор литературы) / В. А. Божедомов, М. В. Торопцева, И. В. Ушакова [и др.] // Андрология и генитальная хирургия. – 2011. – N 3. – С. 15-21.
97. Impaired sperm motility in HIV-infected men: an unexpected adverse effect of efavirenz? / C. Frapsauce, S. Grabar, M. Leruez-Ville [ et al.] // Human Reproduction. -2015. – Vol. 30. – p.1797–1806.
98. Drobnis, E. Impacts of medications on male fertility/ E. Drobnis, K. Nangia // Adv. Exp. Med. Biol. – 2017. – N 11. – P.163-169.
99. Assessing the reproductive performance of men co-infected with HIV-1 and hepatitis C undergoing assisted reproduction / M. C. Chu, J. E. Pena, G. S. Nakhuda [ et al.] // Archives of Gynecology and Obstetrics. – 2006. – Vol.274. – P.155–159.
100. Semen characteristics in human immunodeficiency virus (HIV) - and hepatitis C (HCV)-seropositive males: predictors of the success of viral removal after sperm washin / N. Garrido, M. Meseguer, J. Remohí [ et al.] // Human Reproduction. – 2005. – Vol. 20, N 4. – P.1028–1034.
101. Краснопольская, К.В. Место вспомогательных репродуктивных технология в реализации репродуктивной функции у ВИЧ-инфицированных. / К. В. Краснопольская, Т. А. Назаренко, Ю. Т. Гафуров // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2013. -N 3. - С. 47-55.
102. Kambin, S. Assisted reproductive technology in HIV serodiscordant couples / S. Kambin, F. Batzer // Sex Reproduction Menopause. -2004. - N 2. – P. 92–100.
103. Bhasin, S. Neuroendocrine abnormalities associated with HIV infection. / S. Bhasin, A. B. Singh, M. Javanbakht // Endocrinology Metab Clinical North Am. – 2001. - N 30. – P.749-764.

104. Assisted reproductive technology outcomes in women with a chronic viral disease / M. Bourdon, A. Garnier, C. Maignien [et al.] // AIDS. – 2021. – Vol.35, N 7. – P.1073-1081.
105. Outcome of ICSI in HIV-1-infected women/ P. Terriou, P. Auquier, V. Chabert-Orsini [et al.] // Human Reproduction. -2005. – Vol. 20. – P.2838-2843.
106. Reproductive outcomes of HIV seropositive women treated by assisted reproduction / S. K. Nurudeen, L. C. Grossman, L. Bourne [ et al.] // J Womens Health (Larchm t). – 2013. – Vol. 22. – P.243-249.
107. HIV-1 or hepatitis C chronic infection in serodiscordant infertile couples has no impact on infertility treatment outcome / N. Prisant, R. Tubiana, G. Lefebvre [ et al.] // Fertility Sterility. – 2010. – Vol. 93. – P. 1020-1023.
108. Markers of inflammation, coagulation, and renal function are elevated in adults with HIV infection / J. Neuhaus, D. R. Jacobs, V. Baker [et al.] // J Infect Dis. – 2010. – Vol. 201. – P.1788-17.
109. Funderburg, N.T. Markers of coagulation and inflammation often remain elevated in ART-treated HIV-infected patients / N. T. Funderburg // Curr Opin HIV AIDS. -2014. - N 9. – P.80-86.
110. European Collaborative Study, Swiss Mother and Child HIV Cohort Study Combination antiretroviral therapy and duration of pregnancy // AIDS. – 2000. – Vol.14, N 18. – P.2913-2920.
111. Kala, S. Periconceptional exposure to lopinavir, but not darunavir, impairs decidualization: a potential mechanism leading to poor birth outcomes in HIV-positive pregnancies / S. Kala, C. Dunk, S. Acosta, L. Serghides // Human Reproduction. -2020; - Vol.35. – P.1781-1796.
112. Single-embryo transfer reduces clinical pregnancy rates and live births in fresh IVF and Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI) cycles: a meta-analysis / R.

Baruffi, A. Mauri, C. G. Petersen [ et al.] // *Reproduction Biology Endocrinology*. – 2009. – N 7. – P.36.

113. Anderson, D.J. Efficacy of conventional semen processing techniques in separation of motile sperm from HIV-1 and HIV-1 host cells / D. J. Anderson, J. A. Politch, M. Oneta // *Abstract book of the 48th annual meeting of American Fertility Society*. -1992. -Vol.107. – P. 213.

114. Development and evaluation of single sperm washing (SSW) for decontamination in extreme oligospermic HIV positive patients / A. Bostan, A. S. Vannin, S. Emiliani [ et al.] // *Hum Reproduction*. -2008. – Vol.23, N 1. - O-210.

115. Semen residual viral load and reproductive outcomes in HIV-infected men undergoing ICSI after extended semen preparation / M. J. Zamora, A. Obradors, B. Woodward [ et al.] // *Reproduction Biomed*. – 2016. – Vol. 32, N 6. – P.584-590.

116. Human Detection of human immunodeficiency virus-1 RNA and DNA by extractive and in situ PCR in unprocessed semen and seminal fractions isolated by semen-washing procedure/ T. Persico, V. Savasi, E. Ferrazzi [et al.] // *Human Reproduction*. – 2006. – Vol. 21. – P.1525–1530.

117. Effectiveness of semen washing to prevent human immunodeficiency virus (HIV) transmission and assist pregnancy in HIV-discordant couples: a systematic review and meta-analysis / M. Zafer, H. Horvath, O. Mmeje [et al.] // *Fertility Sterility*. -2016. – Vol. 105, N 3. – P.645-655.

118. Integration of immunodeficiency virus in oocytes via intracytoplasmic injection: possible but extremely unlikely / M. Steenvoorden, M. Cornelissen, E. van Leeuwen [ et al.] // *Fertility Sterility*. – 2012. – Vol.98, N 1. – P.173-177.

119. Studies of assisted reproduction techniques (ART) for HIV-1-discordant couples using washed sperm and the nested PCR method: a comparison of the pregnancy rates in HIV-1-discordant couples and control couples / K. Kashima, K. Takakuwa, M. Suzuki [et al.] // *Jpn J Infect Dis*. – 2009. – Vol.62. – P. 173-176.



120. . HIV-positive patients undertaking ART have longer infertility histories than age - matched control subjects / P. Santulli, V. Gayet, P. Fauque [ et al] // Fertility Sterility. – 2011. – Vol. 95. – P. 507-512.
121. Contribution of the oocyte to embryo quality / M. A. Sirard, R. François, P. Blondin [ et al.] // Theriogenology. -2006. – Vol. 65. – P.126–136.
122. Temporal patterns of embryonic gene expression and their dependence on oogenetic factors / P. A. De Sousa, A. Caveney, M. E. Westhusin [ et al.] // Theriogenology. – 1998. – Vol. 49. – P.115–128.
123. Influence of oocytes and spermatozoa on early embryonic development / A. Salumets, A. M. Suikkari, T. Mols, V. Soderstrom-Anttila [ et al.] // Fertility Sterility. -2002. – Vol. 78. – P.1082–1087.
124. Oocyte Morphology and Reproductive Outcomes - Case Report and Literature Review / R. M. Guimarães, L. M. Ribeiro, L. P. Sasaki [ et al.] // JBRA Assist. Reproduction. – 2021. – Vol.25, N 3. – P. 500-507.
125. Human Oocyte Morphology and Outcomes of Infertility Treatment: a Systematic Review / D. Nikiforov, M. L. Grøndahl, J. Hreinsson [ et al.] // Reproductive Sciences. – 2022. – Vol. 29. – P.2768–2785.
126. Significance of metaphase II human oocyte morphology on ICSI outcome. / L. Rienzi, F. M. Ubaldi, M. Iacobelli [et al.] // Fertility Sterility. – 2008. – Vol. 90, N 5. – P. 1692-7000.
127. Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology Author Notes// The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting // Human Reproduction. – 2011. Vol. 26, N 6. – P. 1270–1283.
128. Факторы риска развития дисморфизмов ооцитов в программах вспомогательных репродуктивных технологий / А. Г. Горшкова, Н. В.

Долгушина, Н. П. Макарова [и др.] // *Акушерство и гинекология*. – 2015. – N 5. – С. 66-73.

129. Ultrastructure of tubular smooth endoplasmic reticulum aggregates in human metaphase II oocytes and clinical implications/ R. Sá, M. Cunha, J. Silva [et al.] // *Fertility Sterility*. – 2011. – Vol.96, N 1. – P.143–149.

130. Does morphological assessment predict oocyte developmental competence? A systematic review and proposed score / A. Bartolacci, G. Intra, G. Coticchio [ et al.] // *Reproduction Genet*. – 2022. – Vol.39, N 1. – P.3-17.

131. Occurrence and developmental consequences of vacuoles throughout preimplantation development / T. Ebner, M. Moser, M. Sommergruber [et al.] // *Fertility Sterility*. – 2005. – Vol.83, N 6. – P.1635–1640.

132. Balaban, B. Effect of oocyte morphology on embryo development and implantation / B. Balaban, B. Urman // *Reproduction Biomed Online*. – 2006. – Vol.12, N 5. – P.608–615.

133. Ultrastructural and cytogenetic analyses of mature human oocyte dysmorphisms with respect to clinical outcomes / M. Sousa, M. Cunha, J. Silva [et al.] // *J Assist Reproduction Genetic*. – 2016. – Vol.33, N 8. – P.1041–1057.

134. Oocyte morphology predicts outcome of intracytoplasmic sperm injection. / P F. Serhal, DM. Ranieri, A. Kinis [ et al/] // *Human Reproduction*. – 1997. – Vol.12, N 6. – P.:1267–1270.

135. Importance of cytoplasmic granularity of human oocytes in in vitro fertilization treatments / P. Fancsovits, ZC Tóthné, A. Murber [et al.] // *Acta Biology Hung*. – 2012. – Vol.63, N 2. – P.189–201.

136. Blood clots in the cumulus-oocyte complex predict poor oocyte quality and post-fertilization development / T. Ebner, M. Moser, O. Shebl [ et al.] / *Reproduction Biomed Online*. – 2008. – Vol.16, N 6. – P.801–807.

137. An oocyte score for use in assisted reproduction / M. Wilding, L. Di Matteo, S. D'Andretti [ et al.] // *J. Assist Reproduction Genetic.* – 2007. – Vol. 24, N 8. – P. 350.
138. Donor oocyte dysmorphisms and their influence on fertilization and embryo quality/ J. Ten, J. Mendiola, J. Vioque [et al.] // *Reproduction Biomed Online.* - 2007. - N 14. – p. 40–48.
139. Oocyte morphology correlates with embryo quality and pregnancy rate after intracytoplasmic sperm injection / D. Loutradis, P. Drakakis, K. Kallianidis [ et al.] // *Fertility Sterility.* -1999. – Vol.72, N 2. – P.240–244.
140. Severe cytoplasmic abnormalities of the oocyte decrease cryosurvival and subsequent embryonic development of cryopreserved embryos / B. Balaban, B. Ata, A. Isiklar [ et al.] // *Human Reproduction.* – 2008. – Vol.23, N 8. – P.1778–1785.
141. Oocyte Morphology and Reproductive Outcomes - Case Report and Literature Review / R.M. Guimarães, L. M. Ribeiro, L. P. Sasaki [ et al.] // *JBRA Assist. Reproduction.* – 2021. – Vol.25, N 3. – P.500-507, 135.
142. Is the zona pellucida thickness of human embryos influenced by women's age and hormonal levels? /H. Balakier, A. Sojeck, M. Gelareh [ et al.] // *Fertility. Sterility.* -2012. – Vol. 98, N 1. – P. 77-83.
143. Body mass index is negatively correlated with the response to controlled ovarian stimulation but does not influence oocyte morphology in ICSI cycles/ A. S. Setti, D.P. Braga, C. Figueira Rde [ et al.] // *Eur. J. Obstetrics Gynecology Reproduction Biology.* – 2012. –Vol. 163, N 2. – P. 175-179.
144. GnRH agonist versus GnRH antagonist in assisted reproduction cycles: oocyte morphology / A.M. Cota, J. B. Oliveira, C. G. Petersen [et al.] // *Reproduction Biology Endocrinology.* – 2012.- N 10. – P. 33.

145. Importance of cytoplasmic granularity of human oocytes in in vitro fertilization treatments / P. Fancsovits, Z. G. Tóthné, A. Murber [ et al.] // *Acta Biology. Hung.* – 2012. – Vol. 63, N 2. – P. 189-201.
146. Yoldemir, T. Does the duration of gonadotropin stimulation affect embryo quality on post-retrieval day 3? / T. Yoldemir // *Gynecology Endocrinology.* – 2011. – Vol. 27, N 5. 324-30.
147. Rossi, A. Calcium, Mitochondria and Cell Metabolism: A Functional Triangle in Bioenergetics / A. Rossi, P. Pizzo, R. Filadi // *Biochim. Et Biophys. Acta (BBA)—Mol. Cell Res.* 2019. –Vol.1866. – P.1068–1078.
148. Boyman, L. Regulation of Mitochondrial ATP Production: Ca<sup>2+</sup> Signaling and Quality Control / L. Boyman, M. Karbowski, W. J. Lederer // *Trends Molecular Medicine.* – 2020. - N26. – P.21–39.
149. Spinelli, J.B. The Multifaceted Contributions of Mitochondria to Cellular Metabolism / J. B. Spinelli, M. C. Haigis // *Nat. Cell Biol.* – 2018. - N20. – P.745–754.
150. Lill, R. Mechanisms of Mitochondrial Iron-Sulfur Protein Biogenesis /R. Lill, S.-A. Freibert // *Annu. Rev. Biochem.* – 2020. – Vol.89. – P.471–499.
151. Bock, F.J. Mitochondria as Multifaceted Regulators of Cell Death. *Nat. Rev.* / F. J. Bock, S. W.G. Tait // *Mol. Cell Biology.* – 2020. – N 21. – P.85–100.
152. Van Blerkom, J. Mitochondrial Function in the Human Oocyte and Embryo and Their Role in Developmental Competence / J. Van Blerkom// *Mitochondrion.* – 2011.- N 11. – P.797–813.
153. Roth, Z. Symposium review: Reduction in oocyte developmental competence by stress is associated with alterations in mitochondrial function / Z. Roth // *J Dairy Sci.* -2018. - N101. –P. 3642–3654.

154. Song, G.J. Mitochondrial DNA Integrity and Copy Number in Sperm from Infertile Men / G. J. Song, V. Lewis // *Fertility Sterility*. – 2008. - N90. – P.2238–2244.
155. The role of mitochondrial DNA copy number in mammalian fertility/ T. Wai T., F. Ao, X. Zhang [ et al.] // *Biology Reproduction*. -2010.- Vol. 83, N 1. – P.52-62.
156. Jansen, R.P.S. Germline Passage of Mitochondria: Quantitative Considerations and Possible Embryological Sequelae / R.P.S. Jansen // *Human Reproduction*. - . 2000. – N 15. – P.112–128.
157. Santos, T.A. Mitochondrial Content Reflects Oocyte Variability and Fertilization Outcome / T. A. Santos, S. El Shourbagy, J. C. St. John // *Fertility Sterility*. – 2006. – Vol.85. – P.584–591.
158. Mitochondria: emerging therapeutic strategies for oocyte rescue / Z. Jiang, H. Shen // *Reproduction Sci*. – 2022. – Vol. 29, N 3.- P.711-722.
159. Babayev, E. Age-associated changes in cumulus cells and follicular fluid: the local oocyte microenvironment as a determinant of gamete quality / E. Babayev, F. E. Duncan // *Biology Reproduction*. – 2022.- Vol.106, N 2. – P.351-365.
160. Mitochondrial aggregation patterns and activity in human oocytes and preimplantation embryos/ M. Wilding, B. Dale B, M. Marino [ et al.] // *Human Reproduction*. - 2001. – Vol. 16, N 5. -909–917.
161. Ovarian ageing: the role of mitochondria in oocytes and follicles / P. May-Panloup, L. Boucret, JM. Chao de la Barca [ et al.] // *Human Reproduction Update*. – 2016. – Vol.22, N 6. – P.725–743.
162. Mitochondria as a tool for oocyte rejuvenation / E. Labarta, MJ.de Los Santos, MJ. Escriba [ et al.] // *Fertility Sterility*. – 2019. – Vol.;111, N 2. – P.219–226.

163. Deficit of mitochondria-derived ATP during oxidative stress impairs mouse MII oocyte spindles / X. Zhang, XQ Wu, S. Lu [ et al.] // Cell research. – 2006. – Vol.16, N 10. – P.841–850.
164. Chromosomal non-disjunction in human oocytes: is there a mitochondrial connection? / E. A. Schon, SH. Kim, JC. Ferreira [et al.] // Human Reproduction (Oxford, England). – 2000. Vol. 15(Suppl 2). – P.160–172.
165. Selesniemi, K. Prevention of maternal aging-associated oocyte aneuploidy and meiotic spindle defects in mice by dietary and genetic strategies / K. Selesniemi, HJ. Lee, A. Muhlhauser [ et al.] // Proc Natl Acad Sci U S A. – 2011. – Vol.108, N 30. – P.12319–12324.
166. Bentov, Y. The aging oocyte--can mitochondrial function be improved? / Y. Bentov, RF. Casper // Fertility Sterility. – 2013. – Vol.99, N 1. -18–22.
167. Nucleoside analog stavudine depletes mitochondrial DNA with no organelle loss in mouse oocytes / A. Bostan, I. Demeestere, J. M. Vanderwinden [ et al.] // Curr HIV Res. – 2010. – Vol.8, N 2. – P.127-133.
168. Mitochondria: their role in spermatozoa and in male infertility / M. Bogueuet, P-E Bouet, A. Spiers [ et al.] // Human Reproduction Update. – 2021. – Vol. 27, N 4. – P. 697–719.
169. Michaels, G. Mitochondrial DNA copy number in bovine oocytes and somatic cells / G. Michaels, W. Hauswirth, P. Laipis // Dev Biol. – 1982. – Vol. 94. – P.246–251.
170. Comparative analysis of mammalian sperm ultrastructure reveals relationships between sperm morphology, mitochondrial functions and motility/ N-H. Gu W-L. Zhao, G-S. Wang [ et al.] // Reproduction Biology Endocrinology. - 2019. - N 17. – P.66.

171. Mitochondrial DNA content of human spermatozoa / C. Díez-Sánchez, E. Ruiz-Pesini, A. C. Lapenã [et al.] // *Biology Reproduction*. – 2003. – Vol. 68. – 180–185.
172. Sperm mitochondrial DNA measures and semen parameters among men undergoing fertility treatment / H. Wu, A. M. Huffman, B. W. Whitcomb [ et al.] // *Reproduction Bio Med Online*. – 2019. –Vol. 38. – P.66–75.
173. Sun, X. Mitochondria: transportation, distribution and function during spermiogenesis /X. Sun // *Biosci. Biotechnology*. – 2010. – N 1. – P.97–109.
174. Santos, J. Mitochondrial functionality in reproduction: from gonads and gametes to embryos and embryonic stem cells / J. Santos // *Human Reproduction*. – 2009. – N 5. – P.553–572.
175. Pelliccione, F. Altered ultrastructure of mitochondrial membranes is strongly associated with unexplained asthenozoospermia / F. Pelliccione // *Fertility Sterility*. – 2011. – N 2. – P.641–646.
176. The relationship between mitochondrial DNA copy number and stallion sperm function / C. R. Darr, L. E. Moraes, R. E. Connon [et al.] // *Theriogenology*. – 2017. – Vol. 94. – P.94–99.
177. Relationships between mitochondrial DNA content, mitochondrial activity, and boar sperm motility / H. Guo, Y. Gong, B. He [ et al.] // *Theriogenology*. – 2017. – Vol. 87. – P.276–283.
178. Associations of sperm mitochondrial DNA copy number and deletion rate with fertilization and embryo development in a clinical setting / H. Wu, B. W. Whitcomb, A. Huffman [et al.] // *Human Reproduction*. - 2019b. – Vol. 34. – P.163–170.

179. Sperm mitochondrial DNA biomarkers and couple fecundity / A. J. Rosati, B. W. Whitcomb, N. Brandon [et al.] // *Human Reproduction*. – 2020. – Vol. 35. – P.191–2625.
180. Decrease of mitochondrial DNA level in sperm from patients infected with human immunodeficiency virus-1 linked to nucleoside analogue reverse transcriptase inhibitors / L. Pavili, M. Daudin, N. Moinard [ et al.] // *Fertility and Sterility*. – 2010. – Vol. 94, N 6. – P.2151-2156.
181. Dynamics of HIV viral load in blood and semen of patients under HAART: impact of therapy in assisted reproduction procedures / G. B. La Sala, E. Pilotti, A. Nicoli [et al.] // *AIDS*. – 2007. – N 21. – P.377-379.
182. Influence of follicular fluid and cumulus cells on oocyte quality: clinical implications / M. G. Da Broi, V.S.I Giorgi, F. Wang [ et al. ] // *J Assist Reproduction Genet*. – 2018. – Vol. 35, N5. –P. 735–751.
183. Mitochondrial dysfunction in cumulus cells is related to decreased reproductive capacity in advanced-age women / X. Lu, Y. Liu, J. Xu [ et al.] // *Fertility Sterility*. – 2022. – Vol. 118, N 2. – P.0015-0282.
184. Huang, Z. The human oocyte and cumulus cells relationship: new insights from the cumulus cell transcriptome / Z. Huang, D. Wells // *Molecular Human Reproduction*. – 2010. – N 16. – p. 715-725.
185. Dalton, C.M. Measurement of ATP in single oocytes: impact of maturation and cumulus cells on levels and consumption / C. M. Dalton, G. Szabadkai, J. Carroll // *J Cell Physiol*. – 2014. – Vol. 229. – P.353-361.
186. Relationship between diminished ovarian reserve and mitochondrial biogenesis in cumulus cells / L. Boucret, J. M. Chao de la Barca, C. Moriniere [et al.] // *Human Reproduction*. – 2010. – Vol. 30. – P.1653-1664.



187. Rahmawati, P. Mitochondrial DNA copy number in cumulus granulosa cells as a predictor for embryo morphokinetics and chromosome status / P. Rahmawati, B. Wiweko, A. Boediono // *Syst Biol Reproduction Medicine*. – 2023. – Vol. 69, N 2. – P.101-111.
188. Mt DNA content in cumulus cells does not predict development to blastocyst or implantation / A. Martínez-Moro I. Lamas-Toranzo, L. González-Brusi [et al.] // *2022; 6;2022(3): 653-hoac029*
189. Mitochondrial DNA copy number of cumulus cells is not linked to embryo implantation in good prognosis IVF patients / W. Liu, J. Guo, C. Li [ et al.] // *Reproduction Biomed Online*. – 2021. – Vol. 42, N 5. – P.901-908.
190. Repeated superovulation may affect mitochondrial functions of cumulus cells in mice/ J. K. Xie, Q. Wang, T. T. Zhang [ et al.] // 2016. - N 6. – P. 31368.
191. Endometriosis may be associated with mitochondrial dysfunction in cumulus cells from subjects undergoing in vitro fertilization-intracytoplasmic sperm injection, as reflected by decreased adenosine triphosphate production / A. L.Hsu, P. M. Townsend, S. Oehninger [ et al.] // *Fertility Sterility*. – 2015. – Vol.103, N 2. – P.347-352.
192. Lewis, W. Mitochondrial toxicity of NRTI antiviral drugs: an integrated cellular perspective / W. Lewis, B. Day, W. Copeland // *Nature Reviews Drug Discovery*. - 2003. – N2. –P. 2812–2822.
193. Mitochondrial aging is accelerated by anti-retroviral therapy through the clonal expansion of mtDNA mutations / B. A. Payne, I. J. Wilson, C. A. Hateley [ et al.] // *Nat Genetic*. – 2011. – Vol. 43. – P. 806–810.
- 194.. Blood mitochondrial DNA mutations in HIV-infected women and their infants exposed to HAART during pregnancy / M. Jitratkosol, B. Sattha, E. J. Maan [et al.] // *AIDS*. – 2012. – Vol. 26. – P. 675–683.

195. Mitochondrial disturbances in HIV pregnancies / C. Morén, A. Noguera-Julian, G. Garrabou [et al.] // AIDS. -2015. – Vol. 29, N 1. – P. 5–12.
196. Kushnir, V.A. Human immunodeficiency virus/acquired immunodeficiency syndrome and infertility: emerging problems in the era of highly active antiretrovirals / V. A. Kushnir, W. Lewis // Fertility Sterility. -2011. – Vol. 96. – P.546-553;
197. Селимова Ф.Н. Особенности реализации репродуктивной функции в программах вспомогательных репродуктивных технологий у супружеских пар с ВИЧ-инфекцией: Дис... канд. мед. наук. - М, 2020. -149 С.
198. Balcarek, K. Role of Pyrimidine Depletion in the Mitochondrial Cardiotoxicity of Nucleoside Analogue Reverse Transcriptase Inhibitors / K. Balcarek, N. Venhoff, C. Deveaud // J Acquir Immune Defic Syndr. – 2010. – Vol. 55. – P.550–557.
199. Venhoff, N. Oral uridine supplementation antagonizes the peripheral neuropathy and encephalopathy induced by antiretroviral nucleoside analogues. / N. Venhoff, D. Lebrecht, C. Deveaud // AIDS. – 2010. – Vol. 24. – P. 345–352.
200. Mc Comsey, G. Improvement in lipoatrophy associated with highly active antiretroviral therapy in human immunodeficiency virus-infected patients switched from stavudine to abacavir or zidovudine: the results of the TARHEEL study. / G. McComsey, D. Ward, S. Hesselthaler // Clinical Infection Dis. -2004. – Vol. 38. – P. 263–270.
201. Wanner, D. Tenofovir induced osteomalacia / D. Wanner, A. Tyndall, U. Walker // Clinical Exp Rheumatology. -2009. – Vol. 27. – P.1001–1003.
202. Wilding, M. Mitochondria and human preimplantation embryo development / M. Wilding // Reproduction. – 2009. – Vol.137. – P. 619–624.

203. Wai, T. The mitochondrial DNA genetic bottleneck results from replication of a subpopulation of genomes / T. Wai, E. Teoli // *Nat. Genetic.* – 2008. – Vol. 40, N 12. – P.1484–1488.
204. A reduction of mitochondrial DNA molecules during embryogenesis explains the rapid segregation of genotypes / L. Cree, D. Samuels, S. Chuva de Sousa Lopes [ et al.] // *Nat Genetic.* – 2008. – Vol. 40, N 2. – P.249-254.
205. Bromer, J.G. Assessment of embryo viability in assisted reproductive technology: shortcomings of current approaches and the emerging role of metabolomics / J. G. Bromer, E. Seli // *Curr Opin Obstetrics Gynecology.* – 2008. - Vol. 20, N 3. – P.234-413.
206. Руководство ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека / Перевод с англ. Н. П. Макаровой: Научный ред. Л. Ф. Курилою - 2012
207. Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы СанПиН 2.1.7.2790-10 "Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами" от 9 декабря 2010 г.
208. Руководство по клинической эмбриологии. Под редакцией В.С. Корсака. - М.: МК,2011. - С 164-165.
209. Социально-демографический портрет пациента, живущего с ВИЧ и посещающего СПИД в России / А. В. Покровская, Н. В. Козырина, Ю. Ш. Гущина [и др.] // *Терапевтический архив.* -2016. -N11. – С.12-16.
210. Продолжительность течения ВИЧ-инфекции и влияющие на нее факторы /А. В. Покровская, А. А. Попова, Н.Н. Ладная [и др.] // *Терапевтический архив.* -2014. – Т. 86, N 11. – С. 20-23.
211. Мозалева О.А. Социально-демографические и эпидемиологические характеристики ВИЧ-инфицированных беременных женщин в Санкт-Петербурге как фактор риска перинатальной передачи ВИЧ / О. А. Мозалева,

- А. В. Самарина // ВИЧ- инфекция и иммуносупрессия. – 2019. - Т11, N 3. – С.7-15.
212. Обоснование и разработка алгоритма планирования семьи у ВИЧ-дискордантных пар / Е. О. Гордон, Л. А. Посохова, А. С. Подымова [и др.] // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. -2019. – Т. 11, N 1. – С.38-45.
213. ВИЧ-инфекция. Информационный бюллетень № 46, 2020. <http://www.hivrussia.info/wp-content/uploads/2022/05/Byulleten-46-VICH-infektsiya-za-2020-g.-.pdf>
214. Антонова, Д.В. Психологические особенности сексуальности у ВИЧ-положительных лиц: анализ исследований / Д. В. Антонова, В. В. Бочаров, Н. С. Хрусталева // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – 2021. – Т.13, N 4. – С.79-89.
215. Drivers of Sexual Inactivity Among Women Living with HIV and AIDS: Findings of the GENIH Study in São Paulo / Brazil, A.A. Pinho, R. M. Barbosa, S. Brignol [ et al.] //Archives of Sexual Behavior. – 2018. – Vol. 47. – P.1983-1993.
216. Sexuality and Reproduction in HIV-Positive Women: A Meta-Synthesis. / E. Carlsson-Lalloo, M. Rusner, A. Mellgren [ et al.] //AIDS patients care and STDs. – 2016. – Vol. 30, N 2. –P. 56-69.
217. Short Communication: Efficacy and Safety of Dolutegravir Plus Lamivudine as a First-Line Regimen in Clinical Practice / A. Ciccullo, G. Baldin, A. Dusina [et al.] // AIDS Res Hum Retroviruses. – 2021. – Vol. 37, N 6. – P.486-488.
218. Dual antiretroviral therapy for HIV infection / V. Soriano, J. V. Fernandez-Montero, L. Benitez-Gutierrez [ et al.] // Expert Opin Drug Saf. – 2017. – Vol. 16, N 8. – P.923-932.
219. Фармакокинетические и фармакодинамические особенности взаимодействия антиретровирусных препаратов /А. Н. Усеинова, Е. Н.

Егорова, С. П. Марьяненко [и др.] // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – 2022. – Т.14, N3. – С.7-23.

220. Short, C.E.S. Antiretroviral therapy and preterm birth in HIV-infected women / C. E.S. Short, G. P. Taylor // Expert Review of Anti-infective Therapy. – 2014. – Vol.12, N3. – P.293-306.

221. Никитин, С.В. Вспомогательные методы репродукции и ВИЧ // Материалы 3-го Международного конгресса по репродуктивной медицине. / С. В. Никитин, В. Б. Мусатов // Проблемы репродукции. – 2009Ю - Спец. Вып. - 286 С.

222. Systematic review of the effectiveness and safety of assisted reproduction techniques in couples serodiscordant for human immunodeficiency virus where the man is positive/ R. L.K Vitorino, B. G. Grinsztejn, C. Ferreira de Andrade [ et al.] // Fertility Sterility. -2011. – Vol. 95. – P.1684–1690.

223. Perinatal outcomes in women living with HIV-1 and receiving antiretroviral therapy—a systematic review and meta-analysis / S. Shinar, S. Agrawal, M. Ryu [ et al.] // AOGS. – 2022. – Vol. 101, N 2. – P.168-182.

224. Savasi, V Heterotopic pregnancy in HIV women. Pelvic inflammatory disease / V. Savasi, P. Antonazzo, C. Personeni // N. Engl. J. Med. – 2015. – Vol. 372, N1. – P.2039–2048.

225. Chlamydia trachomatis infection in HIV-infected women: need for screening by a sensitive and specific test / S. Bhattar, P. Bhalla, S. Chadha [ et al.] // Infect Dis Obstetrics Gynecology. – 2013. - 2013: 960769.

226. Factors associated with active syphilis among men and women aged 15 years and older in the Zimbabwe Population-based HIV Impact Assessment (2015–2016). / L. Ruangtragool, R. Silver, A. Machiha [et al.] // PLOS ONE. – 2022. – Vol.17, N 3. - e0261057

227. Effect of HIV infection on menstrual cycle length / S.D. Harlow, P. Schuman, M. Cohen [et al.] // *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* – 2000. - N 24. – P.68–75.
228. Медведева, В.В. Клинико-морфологическая характеристика эндометрия у бесплодных пациенток с ВИЧ-инфекцией / В. В. Медведева, Г. Б. Малыгина // *Проблемы репродукции.* – 2017. -N 3. – С. 62-66.
229. Endometrial Histopathology in Patients with Laparoscopic Proven Salpingitis and HIV-1 Infection / N. L. Mugo, J. Kiehlbauch, N. Kiviat [et al.] // *Pelvic Inflammatory Disease.* -2011. -2011:407057/
230. The effects of HIV on fertility by infection duration: evidence from African population cohorts before antiretroviral treatment availability / M. Marston, J. Nakiyingi-Miir, S. Kusemererwa [et al.] // *AIDS.* -2017. – N 1. -S69-S76.
231. Медведева, В.В. Особенности соматического, акушерско-гинекологического анамнеза у ВИЧ-инфицированных пациенток с бесплодием, обратившихся для проведения ВРТ / В. В. Медведев. Г. Б., Малыгина // *Проблемы репродукции.* – 2016. -N 5. – с.70-75.
232. Decreased ovarian reserve in HIV-infected women / P. Santulli, D. de Villardi, V. Gayet [et al.] // *AIDS.* -2016. – Vol. 30, N 7. – P.1083-1088.
233. The effect of human immunodeficiency virus on sperm parameters and the outcome of intrauterine insemination following sperm washing / J. D. Nicopoulos, P. A. Almeida, J. W. Ramsay [et al.] // *Human Reproduction.* – 2004. - N 19. – P.2289–2297.
234. Semen alterations in HIV-1-infected men / E. Dulioust, A.L. Du, D. Costagliola [et al.] // *Human Reproduction.* – 2002. - N 17. – P. 2112–2118.
235. Muller, C.H. Effects of clinical stage and immunological status on semen analysis results in human immunodeficiency virus type 1-seropositive men / C. H.

- Muller, R. W. Coombs, J. N. Krieger // *Andrologia*. – 1998. – Vol. 30, N 1. – P.15–22.
236. Insemination with isolated and virologically tested spermatozoa is a safe way for HIV-1 virus sero-discordant couples with an infected male partner to have a child / L. Bujan, C. Pasquier, E. Labeyrie [et al.] // *Fertility Sterility*. – 2004. – Vol.82. – P.857–862.
237. Impact of freezing/thawing technique on sperm DNA integrity in HIV-1 patients / C. Frainais, F. Vialard, N. Rougier [et al.] // *Assist. Reproduction Genetic*. – 2010. – Vol. 27, N7. –P. 415–421.
238. Impact of chronic viral diseases on semen parameters / F. Lorusso, M. Palmisano, M. Chironna [et al.] // *Andrologia*. – 2010. – Vol. 42, N 2. – P.121-126.
239. Safe gametes acquisition through association of seminal processing techniques with HIV serodiscordant couples / P. Queiroz, C. T. Tanil, C. Madaschi [et al.] // *Rev Bras Gynecology*. – 2008. – Vol.30. – P. 171–176.
240. Outcomes of fertility investigations in a cohort of adults with perinatally acquired HIV-1 infection: a UK cross-sectional observational study / T. J. Pasvol, J. Teh, D. Balfoussia [et al.] // *AIDS*. – 2021. – Vol. 35, N2. – P. 343–345.
241. Атлас эмбриологии. Последовательные покадровые изображения (timelaps-технология) / Под ред. А. Кэмпбел, С. Фишела. - М.: МЕДпресс-информ. – 2018. - С. 44-47.
242. Monopronucleated (1PN) and tripronuclear (3PN) zygotes formation during assisted reproduction in POSEIDON group 4 patients: Emphasizing on polar bodies / N. C. Tsai, Y.T. Su, J. Lin [ et al.] // *Jour of Obstetrics and Gynecology Res*. – 2021. – Vol.47, N 9. – P. 3232-3240.

243. Assisted reproduction techniques for HIV serodiscordant couples: 18 months of experience / J. Ohl, M. Partisani, C. Wittemer [et al.] // Human Reproduction. – 2003. -N 18. – P. 1244–1249.
244. Lower endometrial receptivity in HIV-infected women receiving oocyte donation: a comorbidity of HIV infection? / D. Mataró, D. García, O. Coll [ et al.] // Human Reproduction Open. – 2017. – 2017, N3. - hox019.
245. Influence of male human immunodeficiency virus (HIV) and hepatitis C virus (HCV) infection on the reproductive outcomes in serodiscordant couples: a case–control study / G. Cito, M. E. Coccia. R., Fucci [et al.] // Andrology. – 2019. – Vol. 7, N 6. – P. 852-885.
246. Human immunodeficiency virus type 1 serodiscordant couples can bear healthy children after undergoing intrauterine insemination / S. Marina, F. Marina, R. Alcolea [et al.] // Fertility Sterility. – 1998. – Vol. 70. – P.35–39.
247. ART outcome in HIV-infected patients/ Y. Manigart, S. Rozenberg, P. Barlow [ et al.] // Human Reproduction. – 2006. – Vol. 21, N 11. – P.2935–2940.
248. Relationship between oocyte abnormal morphology and intracytoplasmic sperm injection outcomes: a meta-analysis / A. S. Setti, R. Figueira, D. Braga [ et al.] // J. Obstetrics Gynecology Reproduction. Biology. – 2011. – Vol. 159. – P.364–370.
249. Basal level of anti-Müllerian hormone is associated with oocyte quality in stimulated cycles/ T. Ebner, M. Sommergruber, M. Moser [ et al.] // Human Reproduction. - 2006. – Vol. 21, N 8. – P. 2022-2026.
250. Different serum anti-Müllerian hormone concentrations are associated with oocyte quality, embryo development parameters and IVF-ICSI outcomes / E. Azizi, M. Naji, L. Nazari [et al.] // Arch Gynecology Obstetrics. – 2011. – Vol. 284. – P.1295.



251. Serum anti-Müllerian hormone is associated with oocyte dysmorphisms and ICSI outcomes/ E. Azizi, M. Najj, L. Nazari [ et al.] // *Int. J Gynecology Obstetrics*. – 2019. – Vol. 147. – p. 179–186.
252. A Metaphase II human oocyte morphology: contributing factors and effects on fertilization potential and embryo developmental ability in ICSI cycles / R. Figueira, Daniela Paes de Almeida Ferreira Braga, Luciana Semião-Francisco [ et al.] // *Fertility and Sterility*. – 2010. – Vol. 94, N3. – P.1115-1117.
253. Relationship between granular cytoplasm of oocytes and pregnancy outcome following intracytoplasmic sperm injection/ S. Kahraman, K. Yakin, E. Dönmez [et al.] // *Human Reproduction*. – 2000. – Vol. 15, N 11. – P. 2390–2393.
254. Assessment of successful pregnancy using granular oocytes in ICSI treatments / P. Tulay, H. Arslan. A., Buran [ et al.] // *Zygote*. – 2019. – Vol. 27, N 2. – P. 97 – 100.
255. Can healthy babies originate from oocytes with smooth endoplasmic reticulum aggregates? A systematic mini-review/ C. Shaw-Jackson, N. Van Beirs, A. L. Thomas [ et al.] // *Human Reproduction*. – 2014. – Vol. 29, N 7. –P.1380–1386.
256. The mitochondrial DNA content of cumulus granulosa cells is linked to embryo quality / V. Desquiret-Dumas, A. Clément, V. Seegers [ et al.] // *Human Reproduction*. – 2017. – Vol. 32, N 3. – P. 607–614.
257. The mitochondrial DNA content of cumulus cells may help predict embryo implantation / A. Taugourdeau, V. Desquiret-Dumas, J. F. Hamel [ et al.] // *J Assist Reproduction Genetic*. – 2019. – Vol. 36, N 2. – P.223-228.
258. Mitochondrial DNA content of peripheral blood mononuclear cells in ART untreated & stavudine/zidovudine treated HIV-1-infected patients / D. Subashini, T. R. Dinesha, R. B. Srirama [et al.] // *Indian J Med Res*. – 2018. – Vol. 148, N2. –P. 207–214.

259. Plasma Mitochondrial DNA Levels as a Biomarker of Lipodystrophy Among HIV-Infected Patients Treated with Highly Active Antiretroviral Therapy (HAART) / Z. Dai, W. Cai, F. Hu [et al.] // *Curr Mol Med.* – 2015. – Vol. 15, N 10. – P. 975–979.
260. Bolhaar, M.G. A high incidence of lactic acidosis and symptomatic hyperlactatemia in women receiving highly active antiretroviral therapy in Soweto, South Africa/ M. G. Bolhaar, A. S. Karstaedt // *Clinical Infect Dis.* -2007. – Vol. 45. – p. 254–260.
261. Kao, S.H. Multiple deletions of mitochondrial DNA are associated with the decline of motility and fertility of human spermatozoa / S. H. Kao, H. T. Chao, Y. H. Wei // *Mol. Human Reproduction.* -1998. – Vol. 4, N 7. – P. 657-666.
262. Increase of mitochondria and mitochondrial DNA in response to oxidative stress in human cells / H. C. Lee, P. H. Yin, C.Y. Lu [ et al.] // *Biochemie. J.* – 2000. –Vol.348, N 2. – P. 425.
263. Effects of zidovudine, stavudine and beta-aminoisobutyric acid on lipid homeostasis in mice: possible role in human fat wasting / C. Maisonneuve, A. Igoudjil, K. Begriche [ et al.] // *Antivir. Ther.* – 2004. – Vol. 9, N 5. – P. 801-810.
264. Oxidant stress is increased during treatment of human immunodeficiency virus infection / T. Hulgan, J. Morrow, R. D'Aquila [ et al.] // *Clinical Infectious Diseases.* – 2003. – Vol. 37. – P. 1711–1717.
265. Mitochondrial DNA and sperm quality in patients under antiretroviral therapy / S. Diehl, P. Vernazza, A. Trein [et al.] // *AIDS.* – 2003. – Vol. 17. – p. 450-451.
266. Sperm mitochondrial DNA deletions as a consequence of long term highly active antiretroviral therapy/ D. J. White, D. Mital, S. Taylor [et al.] // *AIDS.* – P. 1061-1062

## Приложение 1

### Анкета для женщин

Вопросы	Ответы
Ваше образование	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Средняя школа</li> <li>• Средне-специальное</li> <li>• Незаконченное высшее</li> <li>• Высшее</li> </ul>
Ваше место работы, должность	<i>пожалуйста напишите</i>
Ваше семейное положение	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Одинокая</li> <li>• Замужем</li> </ul>
Планируете ли Вы беременность?	<ul style="list-style-type: none"> <li>• да, планирую в настоящее время</li> <li>• да, планирую, но не сейчас</li> <li>• нет, не планирую</li> </ul>
Сколько месяцев или лет беременность не наступает?	<i>пожалуйста напишите</i>
Используете ли Вы какой-либо из способов контрацепции:	<ul style="list-style-type: none"> <li>• презерватив</li> <li>• гормональные контрацептивы</li> <li>• внутриматочная спираль</li> <li>• прерванный половой акт</li> <li>• ничего из перечисленного</li> </ul>
Была ли у Вас беременность до выявления ВИЧ?	<ul style="list-style-type: none"> <li>• нет</li> <li>• да, сделала аборт</li> <li>• да, была внематочная беременность</li> <li>• да, была замершая</li> <li>• да, произошел выкидыш на малом сроке</li> <li>• да, произошел выкидыш на большом сроке</li> <li>• да, родился ребенок</li> </ul>
Была ли у Вас беременность после выявления ВИЧ?	<ul style="list-style-type: none"> <li>• нет</li> <li>• да, сделала аборт</li> <li>• да, была внематочная беременность</li> <li>• да, была замершая</li> <li>• да, произошел выкидыш на малом сроке</li> <li>• да, произошел выкидыш на большом сроке</li> <li>• да, родился ребенок</li> </ul>
Вы делали программу ЭКО до выявления ВИЧ?	<ul style="list-style-type: none"> <li>• нет</li> <li>• да, беременность не наступила</li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>• да, была внематочная</li> <li>• да, была замершая</li> <li>• да, произошел выкидыш</li> <li>• да, родился ребенок</li> </ul>
Вы делали программу ЭКО после выявления ВИЧ?	<ul style="list-style-type: none"> <li>• нет</li> <li>• да, беременность не наступила</li> <li>• да, была внематочная</li> <li>• да, была замершая</li> <li>• да, произошел выкидыш</li> <li>• да, родился ребенок</li> </ul>
Имеется ли ВИЧ-инфекция у Вашего супруга/постоянного партнера:	<ul style="list-style-type: none"> <li>• да</li> <li>• нет</li> <li>• не знаю</li> </ul>

### Анкета для мужчин

Вопросы	Ответы
Ваше образование	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Средняя школа</li> <li>• Средне-специальное</li> <li>• Незаконченное высшее</li> <li>• Высшее</li> </ul>
Ваше место работы, должность	<i>пожалуйста напишите</i>
Планируете ли Вы беременность?	<ul style="list-style-type: none"> <li>• да, планируем в настоящее время</li> <li>• да, планируем, но не сейчас</li> <li>• нет, не планируем</li> </ul>
Сколько месяцев или лет беременность не наступает?	<i>пожалуйста напишите</i>
Используете ли Вы какой-либо из способов контрацепции:	<ul style="list-style-type: none"> <li>• презерватив</li> <li>• гормональные контрацептивы</li> <li>• внутриматочная спираль</li> <li>• прерванный половой акт</li> <li>• ничего из перечисленного</li> </ul>
Имеется ли ВИЧ-инфекция у Вашей супруги/постоянной партнерши:	<ul style="list-style-type: none"> <li>• да</li> <li>• нет</li> <li>• не знаю</li> </ul>

