

*На правах рукописи*

**ДОВГАНЬ**

Алина Анатольевна

**РЕПРОДУКТИВНОЕ ЗДОРОВЬЕ ЖЕНЩИН И  
ВАКЦИНОПРОФИЛАКТИКА ОТ COVID-19:  
КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ**

3.1.4. – Акушерство и гинекология

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

МОСКВА – 2022

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научные руководители:**

доктор медицинских наук, профессор **Долгушина Наталия Витальевна**  
доктор медицинских наук **Менжинская Ирина Владимировна**

**Официальные оппоненты:**

**Доброхотова Юлия Эдуардовна** – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии лечебного факультета ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России

**Артымук Наталья Владимировна** – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии имени профессора Г.А. Ушаковой ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава России, главный внештатный специалист Минздрава России по акушерству и гинекологии в Сибирском федеральном округе

**Ведущая организация:**

федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится 27.09.2022 года в 13:00 часов на заседании диссертационного совета 21.1.022.01 на базе ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России по адресу 117997, г. Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России

<https://science.ncagp.ru/upfiles/pdf/Dovgan%20A.A.-dissertation.pdf?1480080424>

Автореферат разослан « \_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2022г.

Ученый секретарь

диссертационного совета

доктор медицинских наук, профессор Калинина Елена Анатольевна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность и степень разработанности темы исследования

COVID-19 (Coronavirus disease 2019) является опасной острой респираторной вирусной инфекцией, вызываемой РНК-вирусом SARS-CoV-2. Вспышка инфекции, возникшая в конце 2019 г. на территории Китайской Народной Республики, стремительно приобрела характер пандемии и за два с половиной года распространения охватила более 500 млн человек по всему миру, унеся свыше 6 млн жизней. Заболевание, вызванное SARS-CoV-2, протекает в различных формах - от бессимптомного течения до тяжелых форм, сопровождающихся развитием полиорганной недостаточности и сепсиса [Chen N. et al., 2020], повышая частоту неблагоприятных исходов у беременных [Доброхотова Ю.Э. и соав., 2022].

Наиболее эффективным методом борьбы с новой коронавирусной инфекцией является вакцинопрофилактика. В настоящее время используется более 30 вакцин от COVID-19, еще около 150 вакцин проходят клинические испытания [ВОЗ, 2022]. Вакцины от COVID-19 по своему составу классифицируются на комбинированные векторные вакцины, содержащие рекомбинантные аденовирусные частицы, мРНК-вакцины, однокомпонентные адъювантные пептидные вакцины и инактивированные цельно-вирионные вакцины [Стома И.О., 2022].

До пандемии COVID-19 влияние вакцин на репродуктивную систему человека изучалось недостаточно, имелись единичные исследования, оценивающие влияние введения разных видов вакцин на фертильность и репродуктивные исходы у животных [Nusinovici S. et al., 2011; Segal L. et al., 2011] и человека [Wacholder S. et al., 2010; Panagiotou O.A. et al., 2015]. Одним из возможных механизмов нарушения репродуктивной функции под действием вакцинации может быть развитие аутоиммунного процесса с вовлечением гонад, других эндокринных органов или развитие антифосфолипидного синдрома [Carp H.J.A. et al., 2012]. Наиболее часто избыточный аутоиммунный ответ описывается при применении вакцин, содержащих адъюванты [Perricone C. et al., 2013], возникающий в результате

поликлональной активации В-лимфоцитов, взаимодействия с Toll-like рецепторами, транслокации антигенов и перекрестной реактивности [Kanduc D. et al., 2012]. Иммунизация вакцинами, не содержащими в своем составе адьюванты, также может приводить к развитию аутоиммунных реакций. Транзиторное повышение аутоантител в ответ на вакцинацию может быть связано с неспецифической активацией Т-лимфоцитов у здоровых людей без последующего развития аутоиммунного заболевания [Toplak N. et al., 2015].

В связи с массовой вакцинопрофилактикой населения от COVID-19 значительно возрос научный интерес к изучению влияния вакцин от новой коронавирусной инфекции на репродуктивное здоровье, однако к настоящему времени опубликовано всего несколько работ, в которых не выявлено негативного влияния вакцинации от COVID-19 на сперматогенез у мужчин [Safraï M. et al., 2022], гормональный профиль, исходы программ вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) и течение беременности у женщин [Bentov Y. et al., 2021; Orvieto. R et al., 2021, Артымук Н.В. и соав., 2022]. При этом не проводились исследования по изучению влияния отечественных вакцин на репродуктивное здоровье женщин.

### **Цель исследования**

Изучить влияние комбинированной векторной вакцины для профилактики коронавирусной инфекции, вызываемой вирусом SARS-CoV-2, на репродуктивное здоровье женщин на основании оценки овариальной и менструальной функции, аутоиммунного ответа и иммунного статуса.

### **Задачи исследования**

1. Проанализировать клиничко-anamнестические данные пациенток, включенных в исследование.
2. Оценить иммунный ответ к SARS-CoV-2 (уровень антител класса G к S-белку) после иммунизации комбинированной векторной вакциной для профилактики коронавирусной инфекции, вызываемой вирусом SARS-CoV-2.
3. Определить частоту побочных проявлений после иммунизации (ПППИ) комбинированной векторной вакциной для профилактики коронавирусной инфекции, вызываемой вирусом SARS-CoV-2.

4. Изучить параметры овариального резерва и менструального цикла у женщин до и после вакцинации, а также репродуктивные исходы у пациенток, обратившихся после вакцинации для лечения бесплодия с помощью программ ВРТ.

5. Провести анализ изменения уровня аутоиммунных антител (антифосфолипидных антител, антител к ядерным антигенам, к антигенам щитовидной железы, яичников, трофобласта, гормонам) до и после вакцинации и корреляционной связи между уровнями аутоантител и гормонов, отражающих овариальный резерв.

6. Сопоставить показатели уровня аутоиммунных антител, специфического иммунного ответа к SARS-CoV-2 и параметры иммунограммы после иммунизации комбинированной векторной вакциной для профилактики коронавирусной инфекции, вызываемой вирусом SARS-CoV-2.

### **Научная новизна**

В работе впервые проведено изучение влияния отечественной комбинированной векторной вакцины от COVID-19 на репродуктивную функцию у женщин (овариальную и менструальную функции, наступление и исходы беременности).

Изучен возможный механизм влияния вакцины на овариальный резерв, опосредованный изменением профиля аутоантител (антифосфолипидных, антител к ядерным антигенам, антигенам щитовидной железы, яичников, трофобласта, гормонам).

Исследованы специфический иммунный ответ на вакцинацию с оценкой параметров клеточного и гуморального звеньев иммунитета, особенности иммунного статуса и аутоиммунного ответа на вакцинацию от COVID-19.

### **Практическая значимость**

Результаты проведенного исследования позволили обосновать безопасность вакцинопрофилактики от COVID-19 в отношении репродуктивного здоровья женщин. Разработаны практические рекомендации по планированию беременности с учетом иммунного статуса и аутоиммунного

ответа на вакцинопрофилактику. Результаты исследования могут быть использованы врачами-акушерами-гинекологами женских консультаций, центров репродукции и планирования семьи, центров ВРТ, а также врачами медицинских организаций, в которых проводится вакцинация взрослого населения.

### **Методология и методы исследования**

Исследование было проведено на базе ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (директор – академик РАН Г.Т. Сухих). Обследование и ведение пациенток осуществлялось в научно-поликлиническом отделении (заведующий – д.м.н., профессор В.Н. Прилепская) и в отделении вспомогательных технологий в лечении бесплодия имени профессора Б.В. Леонова Института репродуктивной медицины (заведующий – д.м.н., профессор Е.А. Калинина). Лабораторная часть исследования была проведена в лаборатории клинической иммунологии (заведующий – д.м.н. Л.В. Кречетова) и в клинко-диагностической лаборатории (заведующий – д.м.н. Т.Ю. Иванец). Набор пациенток и вакцинация проводились в период с декабря 2020 г. по декабрь 2021 г. Критерии включения в исследование: подписанное информированное согласие, возраст 18-49 лет, сохраненная менструальная функция, отрицательные результаты исследования на РНК и антитела (АТ) классов М и G к SARS-CoV-2 перед вакцинацией, отсутствие в анамнезе заболевания COVID-19 и контакта с заболевшими в течение не менее 14 дней до начала исследования, отсутствие в анамнезе выраженных ПППИ. Критерии исключения: противопоказания к вакцинации согласно инструкции по применению вакцины, беременность и период лактации, острые воспалительные и инфекционные заболевания, ревматические и онкологические заболевания, гормональная терапия, влияющая на менструальный цикл, иммуномодулирующая терапия или вакцинация в течение последних 3-х месяцев до включения в исследование. Всего в проспективное исследование были включены 220 женщин. Пациентки были стратифицированы по возрасту: группа 1 – пациентки раннего

репродуктивного возраста (РРВ) <37 лет (n=148), группа 2 – пациентки позднего репродуктивного возраста (РРВ) ≥37 лет (n=72).

Вакцинацию от COVID-19 проводили вакциной Гам-КОВИД-Вак, комбинированной векторной вакциной для профилактики коронавирусной инфекции, вызываемой вирусом SARS-CoV-2, согласно методическим рекомендациям Минздрава России и в строгом соответствии с официальной инструкцией по применению препарата.

После вакцинации 26 женщин с бесплодием обратились в Центр для проведения программ ВРТ. У всех забеременевших пациенток были проанализированы акушерские и перинатальные исходы.

Исследования были проведены дважды: до вакцинации и через 90-100 дней после введения 1-го компонента вакцины. У всех женщин оценивали овариальный резерв по уровню фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), антимюллерова гормона (АМГ), общего эстрадиола (Е2) в сыворотке крови на 2-5 день менструального цикла и количеству антральных фолликулов (КАФ), определенных с помощью ультразвукового исследования (УЗИ). Исследование аутоиммунитета и иммунного статуса было выполнено у 120 пациенток. У пациенток с повышением уровня аутоантител (аутоАТ) выше референсных значений (РЗ) было проведено дополнительное исследование их уровня через 6 месяцев после введения 1-го компонента вакцины.

Специальные методы исследования включали определение с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) уровня антифосфолипидных антител (АФА) классов М и G: к кардиолипину (анти-КЛ), β2-гликопротеину-1 (анти-β2-ГП-1), аннексину V (анти-АнV), фосфатидилсерину (анти-ФС) (ORGENTEC Diagnostika GmbH, Германия), фосфатидилэтаноламину (анти-ФЭ), комплексу фосфатидилсерин/протромбин (анти-ФС/ПТ) (AESKU Diagnostics, Германия); к ядерным антигенам (АГ) класса G: антинуклеарных антител (АНА), АТ к двуспиральной ДНК (анти-дсДНК), рибонуклеопротеину RNP-70 (анти-RNP-70), к антигенам (АГ) SS-A(Ro) (анти Ro/SS-A) и SS-B(La) (анти-La/SS-B) (ORGENTEC Diagnostika GmbH, Германия); АТ к АГ щитовидной железы класса G: к тиреоглобулину (анти-ТГ), тиреопероксидазе

(анти-ТПО) (ORGENTEC Diagnostika GmbH, Германия), к рецептору ТТГ (анти-рТТГ) (Medipan GmbH, Германия); АТ класса G к трофобласту (анти-ТБ), зоне пеллюцида (анти-ZP) (QAYEE-BIO for Life Science, Китай), овариальным АГ (анти-ОВ) (DRG, Германия); АТ классов М и G к ФСГ (анти-ФСГ) и прогестерону (анти-ПГ) с использованием препарата ФСГ и конъюгата ПГ-БСА (Sigma-Aldrich, США) и реагентов для ИФА (ООО ХЕМА, Москва). Исследование иммунного статуса проводили посредством фенотипирования лимфоцитов периферической крови с помощью проточной цитофлуометрии с использованием моноклональных АТ, меченных FITC или PE, против АГ CD3(FITC), CD4(PE), CD5(PE), CD8(PE), CD16+CD56(PE), CD19(FITC), CD56(PE), CD25(FITC), HLA-DR(FITC), CD147(APC) (Becton Dickinson и eBioscience, США).

Статистическую обработку полученных данных осуществляли с помощью таблиц «Microsoft Excel» и пакета статистической программы «Statistica V10» (США). Для сравнения связанных бинарных данных в одной группе пациентов до и после вакцинации использовался критерий Мак-Немара. Распределение количественных данных в группах оценивали с помощью теста Колмогорова-Смирнова и графического анализа данных. При распределении данных, не соответствующем нормальному, определяли медианы с интерквартильным размахом ( $Me(Q25-Q75)$ ), применяли методы и показатели непараметрической статистики, критерий знаков (Sign тест) для сравнения связанных данных в связанных совокупностях, коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Различия между статистическими величинами считали статистически значимыми при уровне значимости  $p < 0,05$ .

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

1. Иммунизация комбинированной векторной вакциной для профилактики коронавирусной инфекции, вызываемой вирусом SARS-CoV-2, не влияла на овариальный резерв и менструальный цикл у женщин репродуктивного возраста. При этом у женщин позднего репродуктивного возраста в 5,4% наблюдений отмечалось изменение уровня ФСГ и АМГ более чем на 30% от



исходного уровня, свидетельствующее о вариабельности уровня гормонов яичников и гипофиза в период менопаузального перехода. Также вакцинация не влияла на частоту наступления беременности и частоту живорождения в программах ВРТ, которые соответствовали общепопуляционным данным.

2. После иммунизации комбинированной векторной вакциной для профилактики коронавирусной инфекции, вызываемой вирусом SARS-CoV-2, у женщин отмечалось разнонаправленное изменение уровня аутоантител разной специфичности, при этом у большинства женщин содержание антител соответствовало референсным значениям. Наиболее часто у вакцинированных женщин обнаруживалось повышение выше референсного значения уровня IgM-антител к фосфатидилэтаноламину и IgG-антител к двухспиральной ДНК, которое носило транзиторный характер. Отмечалось отсутствие значимых корреляционных связей между изменениями уровня гормонов, отражающих овариальный резерв, и уровня аутоантител.

3. Специфический противовирусный гуморальный иммунный ответ на вакцинацию не коррелировал с аутоиммунным ответом. Между уровнями аутоантител и содержанием в периферической крови активированных Т-лимфоцитов ( $CD3^+CD25^+$ ), стимулирующих антителообразование и цитотоксичность, NK-клеток ( $CD3^-CD56^+CD16^+$ ), NKT-лимфоцитов ( $CD3^+CD56^+CD16^+$ ) и В-лимфоцитов ( $CD19^+$ ), продуцирующих антитела, выявлялись слабые и умеренные корреляционные связи. После вакцинации наблюдалось повышение содержания в крови количества активированных Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов, снижение содержания NK-клеток и NKT-лимфоцитов в пределах референсных значений, что могло быть обусловлено проведением вакцинации. Отсутствие повышения содержания субпопуляции В1-лимфоцитов ( $CD19^+CD5^+$ ), способных продуцировать аутоантитела, подтверждало транзиторный характер образования аутоиммунных антител.

### **Личный вклад автора**

Автор принимал непосредственное участие в постановке цели и задач исследования, разработке дизайна, систематизации данных научной литературы по теме исследования. Автор лично участвовал в ведении

пациенток, проведении вакцинации, оценке краткосрочных и отдаленных результатов вакцинации, осуществлял забор и подготовку биологического материала к лабораторным исследованиям. Диссертантом проведен анализ медицинской документации, статистическая обработка данных, систематизация полученных результатов и подготовка их к опубликованию.

### **Апробация материалов диссертации**

Работа обсуждена на межклинической конференции 24.03.2022 г. и на заседании апробационной комиссии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (протокол №2 от 18.04.2022).

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

Результаты диссертационного исследования внедрены в работу научно-поликлинического отделения, отделения вспомогательных технологий в лечении бесплодия имени профессора Б.В. Леонова Института репродуктивной медицины ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России.

По теме диссертации опубликовано 5 печатных работ, из них 2 статьи в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК.

Материалы диссертации представлены на 80-й Региональной образовательной школе РОАГ (Якутск, 28.03.2022), на XXVIII Всероссийском Конгрессе с международным участием «Амбулаторно–поликлиническая помощь в эпицентре женского здоровья от менархе до менопаузы» (Москва, 07.04.2022), на 83-й Региональной образовательной школе РОАГ (Сочи, 29.04.2022).

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Результаты собственных исследований и их обсуждение**

В исследование было включено 220 женщин, средний возраст которых составил 33 года, средний ИМТ - 22,4 кг/м<sup>2</sup> (таблица 1). Распространённость вредных привычек была невысокой. У всех пациенток отмечался регулярный менструальный цикл. Беременности в анамнезе были у 48,6% женщин, роды - у 43,6%. Среди гинекологических заболеваний наиболее часто встречались

эндометриоз (10%), миома матки (8,6%) и хронический эндометрит (5,9%). Бесплодием страдали 11,8% пациенток. Из соматической патологии наиболее часто встречались заболевания желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) (19,5%) и ЛОР-органов (13,6%), аллергическими заболеваниями страдали 30% женщин.

**Таблица 1. Характеристика пациенток, включенных в исследование**

<b>Параметр</b>	<b>n=220</b>	
Возраст, лет*	33 (26–39)	
Возраст $\geq 37$ лет**	72 (32,7%)	
ИМТ, кг/м <sup>2</sup> *	22,4 (19,9-25,0)	
ИМТ $\geq 25$ кг/м <sup>2</sup> **	56 (25,4%)	
Курение <1/2 пачки в день**	31 (14%)	44 (20%)
Курение 1/2 -1 пачка в день**	13 (6%)	
Алкоголь >1 раза в неделю**	25 (11,4%)	
Длительность менструального цикла, дней*	28 (26-28)	
Гравидарность $\geq 1$ **	107 (48,6%)	
Паритет $\geq 1$ **	96 (43,6%)	
Эндометриоз**	22 (10%)	
Миома матки**	19 (8,6%)	
Хронический эндометрит**	13 (5,9%)	
Синдром поликистозных яичников**	6 (2,7%)	
Бесплодие**	26 (11,8%)	
Хронические заболевания легких**	9 (4%)	
Сердечно-сосудистые заболевания**	15 (6,8%)	
Хронические заболевания ЖКТ**	43 (19,5%)	
Хронические урологические заболевания**	13 (5,9%)	
ЛОР-заболевания**	30 (13,6%)	
Эндокринные заболевания**	15 (6,8%)	
Аллергические заболевания**	66 (30%)	
Тромбоэмболические осложнения в анамнезе**	3 (1,4%)	

Примечание: \*Me(Q25-Q75), \*\*abc (%)

На 1-м этапе исследования была оценена частота ПППИ и специфический иммунный ответ на вакцинацию. Было выявлено, что ПППИ на введение вакцины были легкой степени выраженности и кратковременные, более часто наблюдались после введения 2-го компонента вакцины. Среди ПППИ отмечались лихорадка, системные реакции в виде недомогания, головной боли или миалгии, а также местная реакция в месте введения вакцины (таблица 2).

Специфические IgG АТ к SARS-CoV-2 были выявлены у 98,6% вакцинированных женщин, что соответствует результатам многоцентровых рандомизированных исследований по изучению эффективности вакцин от COVID-19 [Logunov D.Y. et al., 2021; Bsoul E.A. et al., 2022].

Таблица 2. ПППИ у пациенток, включенных в исследование

ПППИ	Пациентки (n=220)		p-
	после введения 1-го компонента	после введения 2-го компонента	
Общее число пациенток с ПППИ	78 (35,4%)	85 (38,6%)	<b>0,035</b>
Местные реакции (боль, отёк, краснота)	32 (14,6%)	43 (19,5%)	<b>0,049</b>
Лихорадка (> 38 <sup>0</sup> С)	10 (4,5%)	10 (4,5%)	1,000
Лихорадка (37-38 <sup>0</sup> С)	67 (30,5%)	63 (28,6%)	0,346
Лихорадка всего	77 (35%)	73 (33,2%)	0,158
Системные реакции (головная боль, миалгии)	42 (19,1%)	49 (22,3%)	0,435

Примечание: абс (%), критерий Мак-Немара

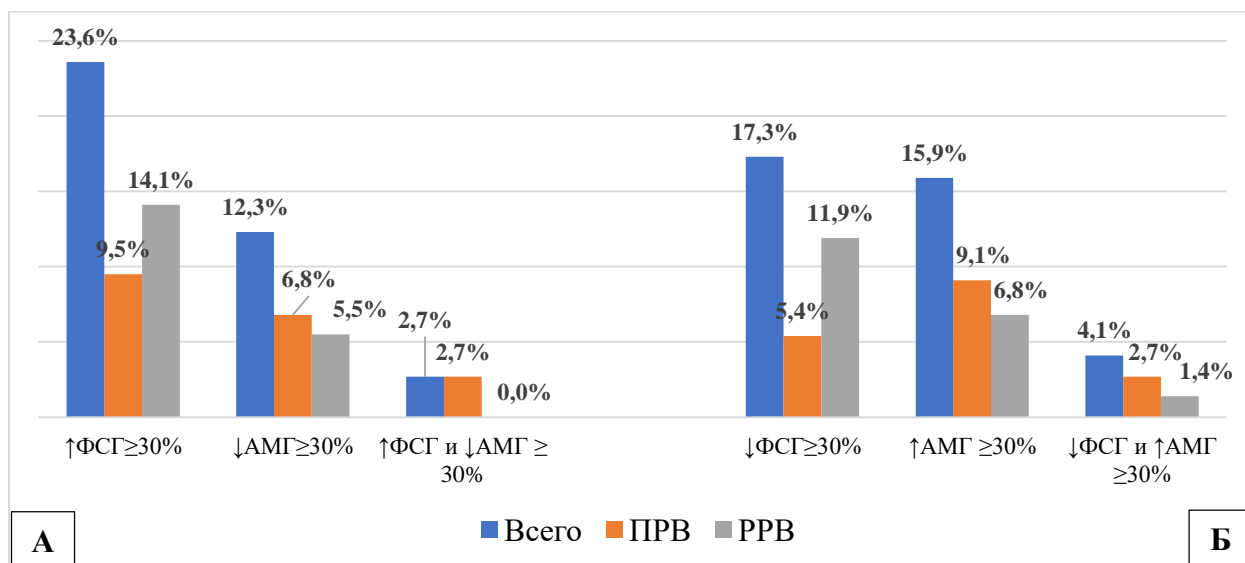
На 2-м этапе исследования проводилась оценка влияния вакцинации на показатели овариального резерва и менструальной функции женщин. После вакцинации не отмечалось значимых изменений гормональных параметров, КАФ, длительности менструального цикла и продолжительности менструального кровотечения. Средние значения с интерквартильным размахом всех исследуемых гормонов были в пределах РЗ (таблица 3). После вакцинации у незначительного числа женщин отмечалось как ухудшение гормональных параметров овариального резерва, так и их улучшение, примерно в равных долях.

Таблица 3. Параметры овариального резерва и менструальной функции пациенток до и после вакцинации

Параметр		До вакцинации	После вакцинации	p-
ФСГ, МЕ/л*		6,22 (4,07-7,63)	6,30 (4,99-8,12)	0,105
Число женщин с ФСГ >10 МЕ/л**		18 (8,2%)	20 (9,1%)	0,850
АМГ, нг/мл*		2,80 (1,23-4,58)	2,81 (1,18-4,21)	0,763
Число женщин с АМГ <1,2 нг/мл**		7 (3,2%)	3 (1,4%)	0,220
Е2, пмоль/л*		275,4 (140,2-586,6)	234,3 (147,3-435,1)	0,202
КАФ***	>15	161 (73,2%)	163 (74,1%)	0,592
	5-15	37 (16,8%)	34 (15,4%)	
	<5	22 (10%)	23 (10,5%)	
Длительность менструального цикла, дней*		28 (26-28)	28 (26-28)	1,00
Продолжительность менструации, дней*		5 (4-6)	5 (4-6)	1,00

Примечание: \*Me(Q25-Q75), Sign тест, \*\* абс (%), критерий Мак-Немара, \*\*\* абс (%), Sign тест

У 2,7% пациенток ПРВ отмечалось одновременное негативное изменение ФСГ и АМГ более чем на 30%, при этом одновременно у такой же доли женщин ПРВ отмечалось позитивное изменение ФСГ и АМГ более чем на 30%. Средний возраст этих женщин составил 44 года, что соответствует периоду менопаузального перехода, характеризующегося вариабельностью гормональной функции яичников и гипофиза (рисунок 1).



**Рис. 1.** Изменение уровня ФСГ и АМГ у пациенток после вакцинации (Б) по сравнению с уровнем до вакцинации (А).

Таким образом, вакцинация не оказывает негативного эффекта на овариальный резерв и менструальный цикл женщин. Полученные результаты согласуются с данными зарубежных исследований, в которых оценивалось влияние мРНК-вакцин от COVID-19 на репродуктивное здоровье женщин [Mohr-Sasson A. et al., 2022; Bentov Y. et al., 2021; Orvieto R. et al., 2021].

На 3-м этапе исследования были проанализированы профиль сывороточных аутоАТ у женщин до и после вакцинации и корреляционные связи между уровнем аутоАТ и содержанием гормонов, отражающих овариальный резерв (АМГ, ФСГ).

Исследование уровня АФА выявило следующий тренд: снижение среднего уровня критериальных АФА и повышение среднего уровня некритериальных АФА класса G (таблица 4).

У 25% женщин повышенный уровень тех или иных АФА наблюдался

изначально, до проведения вакцинации. Чаще всего отмечалось повышение анти-ФЭ IgM (12,5%). После вакцинации уровень выше РЗ тех или иных АФА отмечался у 23,3% женщин, также наиболее часто отмечалось повышение анти-ФЭ IgM (16,7%) (таблица 5, рисунок 2).

Таблица 4. Уровень сывороточных АФА у пациенток до и после вакцинации

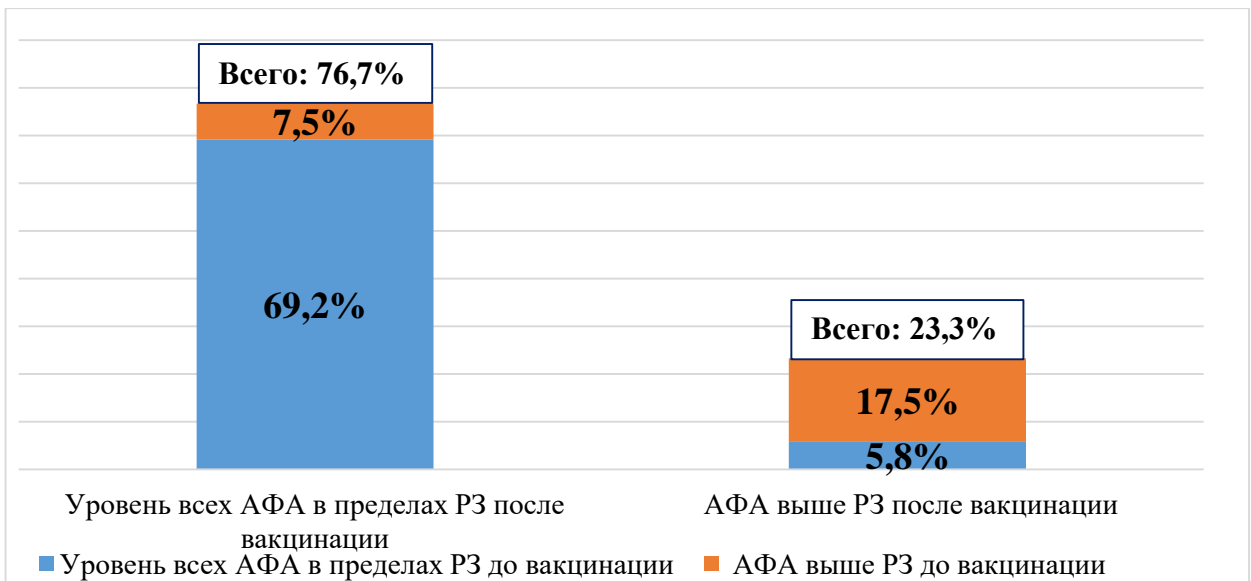
Параметр	РЗ	До вакцинации	После вакцинации	<i>p</i> -
анти-КЛ IgM	<7 Ед/мл	2,2 (1,4-3,5)	2,3 (1,7-3,1)	0,575
анти-КЛ IgG	<10 Ед/мл	2,9 (2,0-4,1)	2,4 (1,8-3,3)	<0,001
анти-β2-ГП-1 IgM	<8 Ед/мл	2,6 (1,7-3,5)	2,3 (1,7-3,2)	0,022
анти-β2-ГП-1 IgG	<8 Ед/мл	1,8 (1,3-2,9)	1,7 (1,3-2,3)	0,003
анти-АнV IgM	<8 Ед/мл	2,9 (2,2-4,1)	3,4 (2,6-4,4)	<0,001
анти-АнV IgG	<8 Ед/мл	2,3 (1,7-3,0)	4,0 (2,2-4,8)	<0,001
анти-ФС IgM	<10 Ед/мл	2,5 (1,8-3,4)	2,5 (1,9-3,2)	0,630
анти-ФС IgG	<10 Ед/мл	2,6 (2,0-3,4)	3,5 (2,8-4,6)	<0,001
анти-ФЭ IgM	<18 Ед/мл	5,2 (2,6-10,4)	6,1 (3,4-13,4)	<0,001
анти-ФЭ IgG	<18 Ед/мл	1,0 (1,0-1,3)	1,5 (1,2-2,1)	<0,001
анти-ФС/ПТИgM	<18 Ед/мл	1,9 (1,3-2,8)	1,9 (1,3-3,2)	0,949
анти-ФС/ПТ IgG	<18 Ед/мл	2,3 (1,7-3,3)	2,8 (1,9-3,7)	0,002

Примечание: Me(Q25-Q75), Sign тест

Таблица 5. Число пациенток с уровнем АФА выше РЗ до и после вакцинации

Параметр	РЗ	До вакцинации	После вакцинации	<i>p</i> -
анти-КЛ IgM	<7 Ед/мл	4 (3,3%)	4 (3,3%)	0,683
анти-КЛ IgG	<10 Ед/мл	4 (3,3%)	1 (0,8%)	0,248
анти-β2-ГП-1 IgM	<8 Ед/мл	0	1 (0,8%)	-
анти-β2-ГП-1 IgG	<8 Ед/мл	4 (3,3%)	2 (1,7%)	0,479
анти-АнV IgM	<8 Ед/мл	3 (2,5)	5 (4,2%)	0,723
анти-АнV IgG	<8 Ед/мл	3 (2,5)	3 (2,5)	0,617
анти-ФС IgM	<10 Ед/мл	1 (0,8%)	1 (0,8%)	1,00
анти-ФС IgG	<10 Ед/мл	0	1 (0,8%)	-
анти-ФЭ IgM	<18 Ед/мл	15 (12,5%)	20 (16,7%)	0,043
		ДаДа 15 (12,5%)	НетДа 5 (4,2%)	
		ДаНет 0	НетНет 100(83,3%)	
анти-ФЭ IgG	<18 Ед/мл	0	2 (1,7%)	-
анти-ФС/ПТИgM	<18 Ед/мл	1 (0,8%)	0	-
анти-ФС/ПТ IgG	<18 Ед/мл	0	1 (0,8%)	-
Наличие хотя бы одного АФА выше РЗ		30 (25%)	28 (23,3%)	0,802

Примечание: *p*- критерий Мак-Немара, ДаДа - уровень АФА выше РЗ до и после вакцинации, ДаНет - уровень АФА выше РЗ до вакцинации и отсутствует после вакцинации, НетДа - уровень АФА выше РЗ отсутствовал до вакцинации и появился после вакцинации, НетНет - уровень АФА выше РЗ отсутствовал до и после вакцинации



**Рис. 2.** Динамика АФА у пациенток до и после вакцинации.

Для оценки связи динамики АФА и гормонов до и после вакцинации у женщин были заданы дельты ( $\Delta$ ) данных параметров. Слабая отрицательная корреляционная связь отмечалась лишь между повышением уровня АМГ на фоне повышения уровня анти-ФС/ПТ IgM, что не имеет клинического смысла.

Таким образом, после вакцинации наблюдалось повышение среднего уровня некритериальных АФА, роль которых в развитии антифосфолипидного синдрома до конца не доказана. При этом средние значения и интерквартильные интервалы АФА находились в пределах РЗ. Значимого повышения частоты выявления АФА после вакцинации не было обнаружено, за исключением анти-ФЭ IgM. Однако анти-ФЭ часто повышаются при различных инфекционных процессах и могут длительно персистировать в организме [Takenami I. et al., 2018; Bessis S. et al., 2019].

В настоящем исследовании у 5,8% пациенток с повышением уровня АФА выше РЗ после вакцинации при повторном исследовании через 6 месяцев после введения 1-го компонента вакцины уровень всех АФА был в пределах РЗ, что подтверждает транзитный характер образования антител.

При исследовании аутоАТ другой специфичности после вакцинации было выявлено разнонаправленное изменение их среднего уровня как в сторону повышения, так и в сторону снижения, однако у большинства женщин уровень аутоАТ не выходил за пределы РЗ (таблица 6).

Таблица 6. Уровень сывороточных аутоАТ у пациенток до и после вакцинации

Параметр	РЗ	До вакцинации	После вакцинации	<i>p</i> -
анти-ZP IgG	<250 нг/мл	156,0 (126,5-183,5)	157,0 (133,7-218,2)	0,114
анти-ТБ IgG	<150 нг/мл	101,7 (84,0-117,0)	127,2 (106,0-137,2)	<b>&lt;0,001</b>
анти-ОВ IgG	<10 Ед/мл	4,0 (3,3-5,1)	4,8 (4,0-5,7)	<b>&lt;0,001</b>
анти-ПГ IgM	<0,4 ед. ОП	0,28 (0,22-0,40)	0,29 (0,23-0,35)	0,302
анти-ПГ IgG	<0,4 ед. ОП	0,28 (0,21-0,37)	0,33 (0,25-0,44)	<b>0,002</b>
анти-ФСГ IgM	<0,4 ед. ОП	0,29 (0,22-0,38)	0,25 (0,19-0,30)	<b>&lt;0,001</b>
анти-ФСГ IgG	<0,4 ед. ОП	0,27 (0,20-0,34)	0,29 (0,23-0,35)	0,575
анти-ТПО IgG	<50 МЕ/мл	12,2 (8,7-18,7)	12,4 (9,5-18,9)	1,00
анти-рТТГ IgG	≤1 МЕ/л	0,5 (0,3-0,6)	0,3 (0,2-0,5)	<b>&lt;0,001</b>
анти-ТГ IgG	<100 МЕ/мл	19,4 (15,0-28,5)	20,7 (14,8-31,5)	0,227
АНА IgG	<1 ИП	0,5 (0,4-0,7)	0,45 (0,4-0,65)	<b>&lt;0,001</b>
анти Ro/SS-A IgG	<15 МЕ/мл	3,3 (2,6-5,3)	3,0 (2,6-4,3)	<b>0,032</b>
анти-La/SS-B IgG	<15 МЕ/мл	3,2 (2,1-4,8)	3,3 (2,3-5,1)	<b>0,038</b>
анти-дсДНК IgG	<20 МЕ/мл	11,8 (9,3-14,7)	15,3 (12,8-18,1)	<b>&lt;0,001</b>
анти-RNP-70 IgG	<25 Ед/мл	4,1 (2,8-5,6)	2,3 (1,7-3,1)	<b>&lt;0,001</b>

Примечание: Me(Q25-Q75), Sign тест

Более показательной является оценка числа пациенток с уровнем аутоАТ выше РЗ (таблица 7, рисунок 3). Повышение одного или более вида аутоАТ до вакцинации наблюдалось у 70,8% женщин, после вакцинации - у 75%. Повышение не менее 2-х видов аутоАТ до вакцинации отмечалось у 38,3% женщин, после вакцинации - у 45,8%. При этом частота выявления АТ до и после вакцинации значимо не различалась ( $p=0,47$ ;  $p=0,24$ ). Единственным видом аутоАТ, которые были выше РЗ у значительной части женщин после вакцинации были анти-дсДНК IgG.

Значимых корреляционных связей между изменением уровней гормонов и аутоАТ не было выявлено.

Таким образом, персистенция аутоАТ у женщин является достаточно частым явлением. После вакцинации было отмечено значимое повышение уровня только анти-дсДНК IgG, при повторном исследовании через 6 месяцев после введения 1-го компонента вакцины уровень этих антител соответствовал РЗ.



Таблица 7. Число пациенток с уровнем аутоАТ выше РЗ до и после вакцинации

Параметр	РЗ	До вакцинации	После вакцинации	p-
анти-ZP IgG	<250 нг/мл	17 (14,2%)	19 (15,8%)	0,844
анти-ТБ IgG	<150 нг/мл	7 (5,8%)	13 (10,8%)	0,211
анти-ОВ IgG	<10 Ед/мл	1 (0,8%)	2 (1,6%)	1,00
анти-ПГ IgM	<0,4 ед. ОП	32 (26,7%)	19 (15,8%)	<b>0,012</b>
анти-ПГ IgG	<0,4 ед. ОП	21 (17,5%)	41 (34,2%)	<b>&lt;0,001</b>
анти-ФСГ IgM	<0,4 ед. ОП	23 (19,2%)	11 (9,2%)	<b>0,006</b>
анти-ФСГ IgG	<0,4 ед. ОП	14 (11,7%)	21 (17,5%)	0,190
анти-ТПО IgG	<50 МЕ/мл	12 (10%)	13 (10,8%)	1,00
анти-рТТГ IgG	≤1 МЕ/л	2 (1,6%)	1 (0,8%)	1,00
анти-ТГ IgG	<100 МЕ/мл	6 (5%)	7 (5,8%)	1,00
АНА IgG	<1 ИП	11 (9,2%)	12 (10%)	1,00
анти-Ro/SS-A IgG	<15 МЕ/мл	4 (3,3%)	7 (5,8%)	0,248
анти-La/SS-B IgG	<15 МЕ/мл	1 (0,8%)	1 (0,8%)	-
анти-дсДНК IgG	<20 МЕ/мл	<b>4 (3,3%)</b>	<b>18 (15%)</b>	<b>0,003</b>
		<i>ДаДа</i> 1 (0,8%)	<i>НетДа</i> 17 (14,2%)	
		<i>ДаНет</i> 3 (2,5%)	<i>НетНет</i> 99 (82,5%)	
анти-RNP-70 IgG	<25 Ед/мл	4 (3,3%)	0	-
Наличие хотя бы одного аутоАТ выше РЗ		85 (70,8%)	90 (75%)	0,423
Наличие >1 аутоАТ выше РЗ		46 (38,3%)	55 (45,8%)	0,176

Примечание: p- критерий Мак-Немара, ДаДа - уровень АФА выше РЗ до и после вакцинации, ДаНет - уровень АФА выше РЗ до вакцинации и отсутствует после вакцинации, НетДа - уровень АФА выше РЗ отсутствовал до вакцинации и появился после вакцинации, НетНет - уровень АФА выше РЗ отсутствовал до и после вакцинации

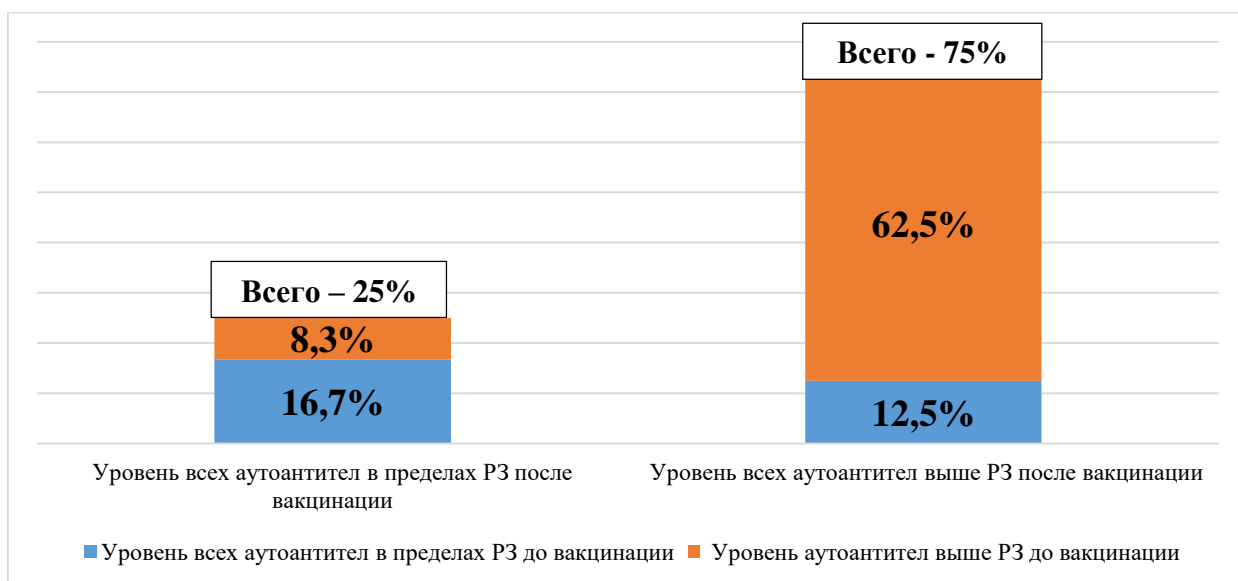


Рис. 3. Динамика уровня аутоАТ у пациенток до и после вакцинации.

Обычно ядерные АГ, такие как ДНК, недоступны для клеток иммунной системы, поскольку находятся внутри ядра и митохондрий и быстро

разрушаются ДНКазы в цитоплазме и эндосомах. Высвобождаемая под воздействием различных факторов ДНК и ее фрагменты могут распознаваться клетками иммунной системы и стимулировать продукцию аутоАТ В-лимфоцитами. Индукция образования аутоАТ, включая транзиторное повышение АНА, без последующего развития аутоиммунного заболевания происходит в ответ на вакцинацию у здоровых людей и может быть связана с неспецифической активацией Т-лимфоцитов [Toplak N. et al., 2015]. В частности, мРНК-вакцины от COVID-19 могут вызывать транзиторное или продолжительное повышение уровня аутоАТ у предрасположенных пациентов [Ursini F. et al., 2022].

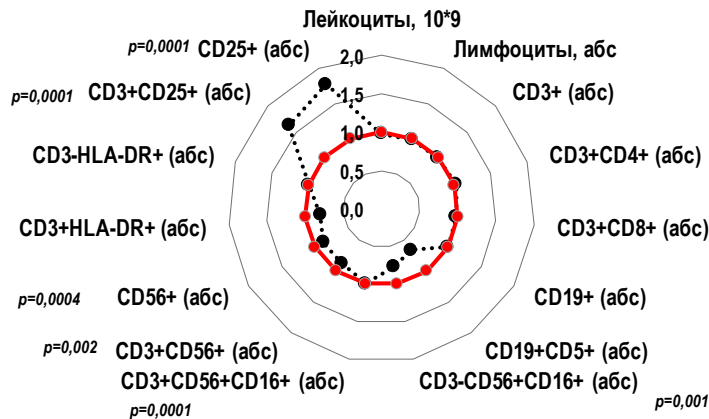
В настоящем исследовании у 12,5% пациенток с повышенным уровнем аутоАТ после вакцинации при повторном исследовании через 6 месяцев после введения 1-го компонента вакцины уровень всех аутоАТ был в пределах РЗ, что подтверждает транзиторный характер их образования.

Значимых корреляционных связей между изменением уровней противовирусных АТ к SARS-CoV-2 и аутоАТ не было выявлено. По-видимому, специфический противовирусный иммунный ответ не влиял на аутоиммунный ответ.

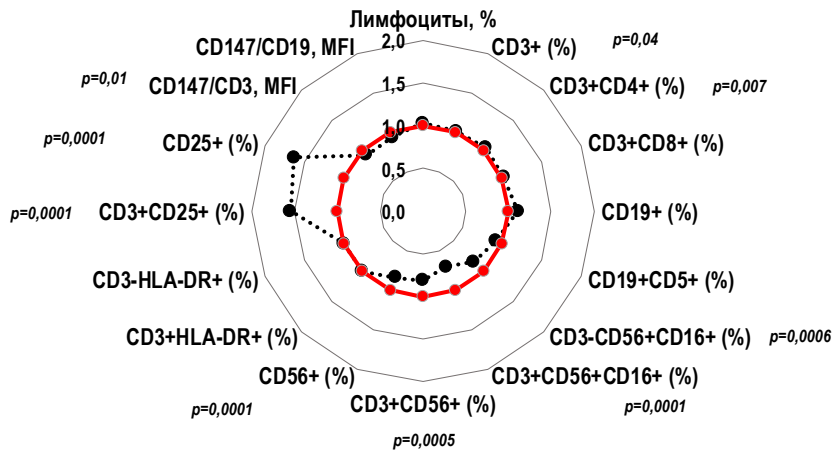
На 4-м этапе исследования были оценены параметры иммунного статуса пациенток до и после вакцинации (рисунок 4) и связь параметров иммунограммы с динамикой уровня аутоАТ.

После вакцинации отмечалось повышение относительного содержания Т-лимфоцитов ( $CD3^+$ ), Т-хелперов ( $CD3^+CD4^+$ ), повышение абсолютного и относительного содержания В-лимфоцитов ( $CD19^+$ ), активированных Т-лимфоцитов ( $CD3^+CD25^+$ ), снижение абсолютного и относительного содержания НК-клеток ( $CD3^-CD56^+CD16^+$ ) и НКТ-лимфоцитов ( $CD3^+CD56^+CD16^+$ ). При этом среднее абсолютное и относительное содержание лимфоцитов в периферической крови до и после вакцинации соответствовало РЗ.

А



Б



**Рис. 4.** Параметры иммунограммы у пациенток до и после вакцинации.

Данные представлены как отношения медиан содержания конкретной субпопуляции в периферической крови женщин после вакцинации к медианам той же субпопуляции до вакцинации: А – отношения медиан абсолютного содержания субпопуляции, Б- отношения медиан относительного содержания. Красной линией указан уровень равенства отношений.

Были проанализированы корреляционные связи между уровнями аутоАТ и параметрами иммунограммы после вакцинации. Отмечалась слабая корреляционная связь между уровнем некоторых АФА и повышением содержания активированных Т-лимфоцитов, стимулирующих антителообразование и цитотоксичность, а также слабая положительная корреляционная связь между уровнями АНА и анти-ТПО и общим содержанием В-лимфоцитов (CD19<sup>+</sup>). Положительная корреляционная связь умеренной силы была выявлена только между уровнем анти-дсДНК и содержанием НК-клеток, способствующих гибели инфицированных клеток

путем апоптоза.

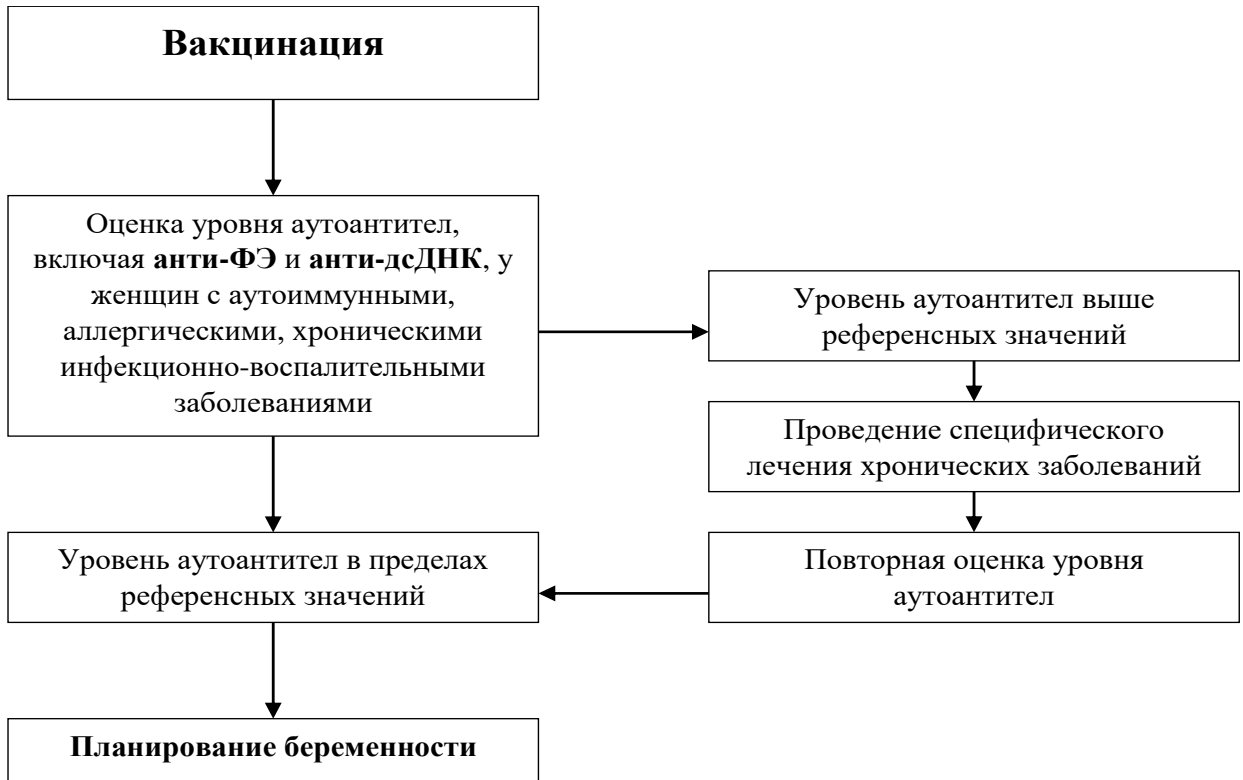
Следует отметить, что CD25<sup>+</sup> является маркером ранней активации субпопуляций Т-лимфоцитов, представляет собой α-цепь рецептора ИЛ2 и характеризует функциональное состояние активированных Т-лимфоцитов. Повышение содержания Т-лимфоцитов с фенотипом CD25<sup>+</sup> после вакцинации может свидетельствовать о формировании субпопуляции супрессорных Т-лимфоцитов с естественной регуляторной функцией и экспрессией транскрипционного фактора FOXP3, способствующих снижению интенсивности воспалительного процесса, вызванного вакцинацией.

Поскольку вакцинация вызывает процесс, аналогичный инфекционному, снижение в периферической крови вакцинированных содержания субпопуляций клеток с естественной киллерной активностью может свидетельствовать о регрессе поствакцинальной реакции.

Отсутствие повышения после вакцинации содержания субпопуляции В-лимфоцитов с фенотипом CD19<sup>+</sup>CD5<sup>+</sup>, так называемых В1-лимфоцитов, способных продуцировать аутоАТ, подтверждает, что образование анти-ФЭ и анти-дсДНК у вакцинированных женщин носит транзиторный характер.

На 5-м этапе исследования был проведен анализ исходов программ ВРТ у 26 пациенток с бесплодием, прошедших вакцинацию от COVID-19. Пациентки, включенные в программы ВРТ, в половине случаев были ПРВ и имели избыточную массу тела. У половины из них были беременности в анамнезе, но только у четверти беременности закончились родами. Гинекологическими заболеваниями страдали 69,5% пациенток. Однако эффективность программ ВРТ была высокой и составила 46,1% по частоте наступления беременности (ЧНБ) и 30,7% по частоте родов. Эти данные превышают среднепопуляционные, согласно которым ЧНБ в программах ВРТ в среднем составляет 33%, а частота родов – 23% [РАРЧ, 2021], и свидетельствуют об отсутствии негативного влияния вакцинации от COVID-19 на репродуктивные исходы.

На основании проведенного исследования был сформирован алгоритм ведения пациенток, планирующих беременность, в условиях проведения вакцинопрофилактики от COVID-19 (рисунок 5).



**Рис. 5.** Алгоритм ведения пациенток, планирующих беременность, в условиях проведения вакцинопрофилактики от COVID-19.

## ВЫВОДЫ

1. Все включенные в исследование пациентки имели сохраненную менструальную и овуляторную функции, 1/3 из них были позднего репродуктивного возраста ( $\geq 37$  лет), 1/4 пациенток имели избыточную массу тела или ожирение ( $\geq 25$  кг/м<sup>2</sup>), гинекологические заболевания были выявлены у 10% женщин, бесплодием страдали 11,8% пациенток, из соматических заболеваний наиболее часто встречались аллергические заболевания (у 30% женщин), хронические заболевания ЖКТ (у 19,5%) и ЛОР-органов (у 13,6%).

2. Комбинированная векторная вакцина для профилактики коронавирусной инфекции, вызываемой вирусом SARS-CoV-2, имеет высокую эффективность и безопасность. Специфический гуморальный

иммунный ответ (специфические IgG к SARS-CoV-2) сформировался у 98,6% вакцинированных пациенток. Не было отмечено ни одного случая серьезного ПППИ. У 1/3 пациенток отмечалась лихорадка, у 1/5 - системные реакции в виде недомогания, головной боли или миалгии, у 20% - местная реакция в месте введения вакцины, более часто после введения 2-го компонента вакцины.

3. Вакцина не оказывала негативного влияния на показатели овариального резерва (уровень ФСГ, АМГ, КАФ) и менструальную функцию у женщин, при этом у женщин позднего репродуктивного возраста в 5,4% наблюдений отмечалось значимое (более чем на 30%) изменение содержания ФСГ и АМГ, обусловленное вариабельностью уровня гормонов яичников и гипофиза в период менопаузального перехода.

4. В ответ на введение вакцины отмечался разнонаправленный аутоиммунный ответ: снижение среднего уровня критериальных антифосфолипидных антител (к кардиолипину,  $\beta$ 2-гликопротеину-1), некоторых антитиреоидных и антиядерных аутоантител, антител к ФСГ и повышение уровня некритериальных антифосфолипидных антител (к фосфатидилсерину, фосфатидилэтаноламину, аннексину V, комплексу фосфатидилсерин/протромбин), антител к тиреоглобулину, SS-B/La, двуспиральной ДНК и ПГ, при этом у большинства женщин содержание антител соответствовало референсным значениям. После вакцинации наблюдалось повышение частоты выявления IgM-антител к фосфатидилэтаноламину и IgG-антител к двуспиральной ДНК, которое носило транзиторный характер. Не было выявлено значимых корреляционных связей между уровнем аутоантител и содержанием гормонов, отражающих овариальный резерв.

5. Корреляционной связи между специфическим противовирусным гуморальным иммунным ответом и аутоиммунным ответом у женщин после вакцинации не выявлено. В периферической крови наблюдалось повышение содержания активированных Т-лимфоцитов ( $CD3^+CD25^+$ ), снижение содержания НК-клеток ( $CD3^-CD56^+CD16^+$ ) и НКТ-лимфоцитов

(CD3<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>) в пределах референсных диапазонов. Отмечалось повышение общего количества В-лимфоцитов (CD19<sup>+</sup>), при этом не наблюдалось изменения содержания субпопуляции В1-лимфоцитов (CD19<sup>+</sup>CD5<sup>+</sup>), которые ассоциируются с продукцией аутоантител. Между уровнями аутоантител и содержанием активированных Т-лимфоцитов, НК-клеток, НКТ-лимфоцитов, общим количеством В-лимфоцитов выявлялись слабые и умеренные корреляционные связи. Нормальные показатели содержания Т-хелперов и В1-лимфоцитов в периферической крови явились подтверждением транзиторного характера образования аутоиммунных антител.

6. Эффективность программ ВРТ у пациенток с бесплодием после вакцинации была высокой и составила 46,1% по ЧНБ и 30,7% по частоте родов, что свидетельствует об отсутствии негативного влияния вакцинации на репродуктивные исходы.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Женщинам репродуктивного возраста, особенно при планировании беременности, рекомендована вакцинация от COVID-19, что обусловлено высокой эффективностью и безопасностью вакцины: формированием специфического гуморального иммунного ответа у 98,6% пациенток, отсутствием серьезных ПППИ, кратковременностью и легкой степенью выраженности отмеченных ПППИ, отсутствием негативного влияния на овариальный резерв и менструальный цикл, отсутствием негативного влияния на исходы программ ВРТ.

2. Рекомендована оценка уровня аутоантител, в частности антител к фосфатидилэтаноламину и к двухспиральной ДНК, после вакцинации от COVID-19 у женщин с аутоиммунными, аллергическими, хроническими воспалительными и инфекционными заболеваниями.

3. При выявлении после вакцинации от COVID-19 повышенного уровня аутоантител выше референсных значений рекомендовано планировать беременность после нормализации уровня аутоантител, что связано с

потенциально негативным влиянием аутоантител на репродуктивные исходы и транзиторным характером их повышения.

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

1. Исследование профиля аутоантител у женщин с бесплодием, перенесших COVID-19, перед циклом ВРТ. / Ермакова Д.М., Менжинская И.В., **Довгань А.А.** [и др.] // Материалы XXVIII Всероссийского конгресса с международным участием «Амбулаторно-поликлиническая помощь в эпицентре женского здоровья от менархе до менопаузы», Москва, 6-8 апреля, 2022, С. 41-43.

2. Исследование возможного влияния вакцинации против SARS-COV-2 на уровень аутоантител, ассоциированных с репродуктивным здоровьем женщин. / Менжинская И.В., **Довгань А.А.**, Драпкина Ю.С. [и др.] // Материалы XXVIII Всероссийского конгресса с международным участием «Амбулаторно-поликлиническая помощь в эпицентре женского здоровья от менархе до менопаузы», Москва, 6-8 апреля, 2022, С. 82-83.

3. Влияние отечественной комбинированной векторной вакцины для профилактики новой коронавирусной инфекции, вызываемой SARS-COV-2, на овариальный резерв и менструальную функцию у женщин репродуктивного возраста. / **Довгань А.А.**, Драпкина Ю.С., Иванец Т.Ю., Долгушина Н.В. // Материалы XXVIII Всероссийского конгресса с международным участием «Амбулаторно-поликлиническая помощь в эпицентре женского здоровья от менархе до менопаузы», Москва, 6-8 апреля, 2022, С. 146-147.

4. Влияние векторной вакцины от COVID-19 на профиль аутоантител у женщин репродуктивного возраста. / **Довгань А.А.**, Драпкина Ю.С., Долгушина Н.В. [и др.] // **Вестник РГМУ**, №2, 2022, С. 39-46.

5. Влияние отечественной комбинированной векторной вакцины для профилактики новой коронавирусной инфекции, вызываемой SARS-CoV-2, на овариальный резерв и менструальную функцию у женщин репродуктивного возраста. / Долгушина Н.В., **Довгань А.А.**, Драпкина Ю.С. [и др.] // **Акушерство и гинекология**, №4, 2022, С. 115-122.