

Ковалык Владимир Павлович

**Этиопатогенетическое и клиническое значение вирусов герпеса и папилломы человека в развитии у мужчин урогенитальных инфекций и бесплодия. Принципы лечения**

3.1.23. Дерматовенерология

Автореферат  
диссертации на соискание учёной степени  
доктора медицинских наук

Москва - 2023

Работа выполнена на кафедре дерматовенерологии и косметологии Академии постдипломного образования Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий Федерального медико-биологического агентства».

**Научный консультант:**

доктор медицинских наук, профессор

**Потекаев Николай Николаевич**

**Официальные оппоненты:**

**Хрянин Алексей Алексеевич**, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России», профессор кафедры дерматовенерологии и косметологии лечебного факультета.

**Спивак Леонид Григорьевич**, доктор медицинских наук, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации», профессор института урологии и репродуктивного здоровья человека.

**Летяева Ольга Ивановна**, доктор медицинских наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры дерматовенерологии.

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится 19 декабря 2023 г. в 15 час. 30 мин. на заседании диссертационного совета ПДС 0300.019 при федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» по адресу: 119071, г. Москва, Ленинский проспект, дом 17.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке РУДН по адресу по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6. и на сайтах <https://www.rudn.ru/science/dissovet> и <http://vak.ed.gov.ru/>

Автореферат диссертации разослан « \_\_\_\_ » октября 2023 года.

Ученый секретарь

диссертационного совета ПДС 0300.019  
кандидат медицинских наук

Острцова Мария Николаевна

## **ВВЕДЕНИЕ**

### **Актуальность**

Вирусы герпеса (ВГЧ) и папилломавирусы (ВПЧ) человека являются наиболее распространенными инфекциями, передаваемыми половым путем (ИППП). Особое место занимают герпесвирусы человека IV-VI типов, присутствие которых в разных отделах мужского уrogenитального тракта показано при различных нарушениях мужского здоровья [Yas A. et al., 2023; Gupta M. et al., 2023; Teixeira T.A. et al., 2021].

В поиске этиологических факторов, влияющих на развитие уrogenитальной патологии у мужчин, а именно инфекций добавочных половых желез (ИДПЖ), хронического простатита/синдрома хронической тазовой боли (ХП/СХТБ) и бесплодия исследователи высказывают мнение о роли ВГЧ IV-VI типов и ВПЧ в развитии данных патологических процессов [Afrakhteh H. et al., 2021; Duan L.L. et al., 2022; Isagulians M. et al., 2021].

По данным ВОЗ до 15% сексуально активных пар не достигают беременности в течение года, а в глобальном масштабе по разным оценкам у 9-15% пар репродуктивного возраста выявляется бесплодие, однако эти цифры остаются приблизительными, т.к. распространенность бесплодия оценить очень сложно [Agarwal A. et al., 2021]. В России частота бесплодных браков колеблется от 8% до 20% в различных регионах [Клинические рекомендации МЗ РФ «Мужское бесплодие», 2021; Лебедев Г.С. с соавт., 2019].

Изложенное указывает на необходимость дальнейшего изучения роли вирусных этиологических агентов, включая ВГЧ IV-VI типов и ВПЧ, в генезе бесплодия и воспалительных заболеваний уrogenитальной системы, что будет лежать в основе дальнейшей разработки подходов к терапии.

### **Степень разработанности темы**

В научной литературе имеется достаточное количество сведений о роли вируса простого герпеса (ВПГ) 1 и 2 типа в развитии уrogenитальной патологии [Mtshali A. et al., 2021]. В то же время другие герпесвирусы – вирус Эпштейна Барр (ВЭБ), цитомегаловирус (ЦМВ) и вирус герпеса человека 6 типа (ВГЧ-6), хотя и обнаруживаются в сперме бесплодных мужчин с ИДПЖ до 62,5% случаев, но их роль при этих заболеваниях широко не изучалась [Jafari H. et al., 2021].

Приводятся данные о выявлении ВПЧ в эякуляте у 10-36% мужчин, однако до настоящего времени имеются противоречивая информация о роли ВПЧ в развитии мужского бесплодия [Goulart ACX et al., 2020]. Так, имеются данные, что ВПЧ высокого канцерогенного риска способны снизить качество спермы [Moghimi M, et al., 2019]. Однако, по другим данным, высокая распространенность ВПЧ (в том числе ВПЧ-16) среди пациентов клиники репродуктивной

медицины не влияла на параметры эякулята по сравнению с неинфицированными пациентами [Vives A et al., 2020].

Хронический простатит/синдром хронической тазовой боли (ХП/СХТБ) имеет различную распространённость на континентах: от 8,4% до 28%, а всего от 35% до 50% мужского населения, отмечают в течение жизни симптомы, характерные для этого заболевания [Dydyk AM et al., 2023, Zhang J. et al., 2019]. При этом этиология и патофизиология ХП/СХТБ достаточно полно изучена лишь в случае бактериального простатита, доля которого не превышает 10% от всех случаев заболевания, а этиология «абактериального» простатита – синдрома хронической тазовой боли остается недостаточно изученной [Clemens J.Q. et al., 2019].

Ранее электронная микроскопия эякулята позволила обнаружить сперматозоиды, содержащие нуклеокапсиды ВГЧ различной степени зрелости. Установлено, что вирус простого герпеса может инфицировать сперматозоиды, нарушать сперматогенез, следствием чего является резкое уменьшение концентрации сперматозоидов и их подвижности, увеличение патологических форм, в том числе патологии головки. Среди супружеских пар, имеющих генитальный герпес, наблюдается большая частота невынашивания беременности, по сравнению со здоровыми супругами [Брагина Е.Е., 2020]. Необходимы дальнейшие исследования по изучению роли герпесвирусов в патоспермии.

Анализ имеющихся данных литературы показывает, что тема недостаточно разработана. Если роль вирусов простого герпеса 1 и 2 типа и вируса варицелла- зостер изучена неплохо, то значение инфицирования урогенитальных локусов герпесвирусами IV-VI типов не установлено. Также недостаточно веских доказательств роли герпесвирусов IV-VI типов и вирусов папилломы человека высокого канцерогенного риска при мужском бесплодии и при хроническом простатите/синдроме хронической тазовой боли. Данные о патоспермическом действии ВГЧ IV-VI типов и ВПЧ ВКР противоречивы, а влияние этих вирусов на основные параметры качества спермы изучено мало. Недостаточно полно охарактеризована клиническая картина урогенитальных заболеваний, ассоциированных с ВЭБ, ЦМВ, ВГЧ-6 типа и вирусами папилломы человека, а лечебные стратегии требуют совершенствования.

Вышеизложенное свидетельствует об актуальности проведения дальнейшего изучения этиопатогенетического и клинического значения герпесвирусов человека и вирусов папилломы человека в развитии ХП/СХТБ и инфекции добавочных половых желез, как причин мужского бесплодия и разработки оптимальных схем их лечения.

### **Цель**

Установить этиопатогенетическое и клиническое значение герпесвирусов человека IV-VI типов и вирусов папилломы человека высокого канцерогенного риска в развитии

урогенитальных заболеваний и бесплодия у мужчин и разработать принципы лечения ХП/СХТБ и инфекций добавочных половых желез, ассоциированных с этими вирусами.

### **Задачи исследования**

1. Провести качественную и количественную оценку распространенности ВГЧ IV-VI типов у пациентов с ХП/СХТБ и ИДПЖ в группах фертильных и инфертильных мужчин в сравнении с группой контроля с помощью количественных молекулярно-генетических исследований
2. Исследовать возможность *in vitro* инфицирования интактных эякулятов цитомегаловирусами с помощью иммуноцитохимического исследования, изучить локализацию протеинов ЦМВ в сперматозоидах для определения их патоспермического потенциала.
3. Провести качественную и количественную оценку распространенности ВПЧ ВКР (A5/6, A7, A9 и их сочетаний) у пациентов с ХП/СХТБ и ИДПЖ в группах фертильных и инфертильных мужчин в сравнении с группой контроля с помощью количественных молекулярно-генетических исследований.
4. Оценить влияние ВГЧ IV-VI типов и ВПЧ ВКР на основные показатели качества спермы в сравнении с неинфицированными пациентами путем проведения статистического анализа спермограмм в группах инфицированных и интактных пациентов.
5. Охарактеризовать клиническую картину ХП/СХТБ, качество жизни и психосоциальный статус пациентов с ХП/СХТБ, ассоциированного с ВПЧ IV-VI типов и ВПЧ ВКР.
6. Для оценки особенностей вирус-индуцированного воспаления изучить уровни цитокинов спермоплазмы у пациентов с ВПЧ IV-VI типов и ВПЧ ВКР в сравнении с пациентами контрольной группы. Оценить уровни ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ФНО- $\alpha$  и ИНФ- $\gamma$  в спермоплазме у пациентов с ВГЧ IV-VI типов и ВПЧ ВКР до и после лечения для контроля эффективности противовирусной терапии.
7. Провести оценку клинической и вирусологической эффективности комплексного лечения пациентов с ХП/СХТБ, ассоциированных с ВГЧ IV-VI типов и ВПЧ ВКР с использованием интерферона  $\alpha 2\beta$  и валацикловира в сравнении со стандартными схемами лечения. Оценить репродуктивные исходы лечения бесплодных пациентов с ХП/СХТБ ассоциированными с ВГЧ IV-VI типов и ВПЧ ВКР. Оценить результаты электронно-микроскопического исследования пациентов с вирус-ассоциированным ХП/СХТБ и бесплодием до и после лечения.

### **Научная новизна**

Диссертационная работа является новаторским научным исследованием роли ВЭБ, ЦМВ, ВГЧ-6 и ВПЧ ВКР при урогенитальной патологии у мужчин.

Проведена качественная и количественная оценка распространенности ВГЧ IV-VI типа и

ВПЧ ВКР у пациентов с ХП/СХТБ и ИДПЖ у фертильных и инфертильных мужчин в сравнении с группой контроля с помощью количественных молекулярно-генетических исследований. Для оценки влияния вирусов на качество эякулята использована концентрация вирусов на 100 тыс. сперматозоидов, а не на 1 миллилитр эякулята. Это позволяет сравнивать концентрацию вирусов в половых клетках, содержащихся в клеточной фракции эякулята и в семенной жидкости.

Установлено, что ВГЧ IV-VI типов и ВПЧ ВКР на фоне воспаления добавочных половых желез приводят к снижению концентрации сперматозоидов и доли форм сперматозоидов с нормальным строением.

Проведено экспериментальное *in vitro* инфицирование эякулята ЦМВ, а также изучена локализация вируса внутри сперматозоидов с использованием иммуноцитохимического исследования.

Установлено, что высокая концентрация ВГЧ IV-VI типов ассоциирована с идиопатическим бесплодием, а высокая концентрация ВПЧ ВКР – с инфекцией добавочных половых желез и ХП/СХТБ. В то же время коинфекция различными генотипами ВПЧ ВКР ассоциирована с мужским бесплодием на фоне воспаления добавочных половых желез.

Охарактеризована клиническая картина ХП/СХТБ, ассоциированного с ВГЧ IV-VI типов и ВПЧ ВКР. Установлено, что в сравнении с мужчинами, страдающими ХП/СХТБ без вирусов, эти пациенты достоверно чаще имеют в анамнезе уретрит, вызванный ИППП (45,6%) и данные о предыдущем лечении хронического простатита (36,9%). Также с помощью шкалы HADS обнаружено, что при вирус-ассоциированном ХП/СХТБ у мужчин достоверно чаще наблюдаются депрессия (70,9%) и тревога (28,1%).

Установлено, что комплексное лечение с использованием валацикловира и/или интерферона  $\alpha 2\beta$  у пациентов с ХП/СХТБ, ассоциированных с ВГЧ IV-VI типов и ВПЧ ВКР приводит к разрешению выраженности симптомов заболевания (на 50,5-67,0%) в сравнении со стандартными схемами лечения (на 31,7%). В результате лечения наблюдали элиминацию ВГЧ IV-VI типов из урогенитальных проб в 56,2-77,5% случаев, а также достоверное снижение вирусной нагрузки минимум на один порядок у лиц, у которых полной элиминации вируса не произошло.

Дана характеристика цитокиновому профилю пациентов с бесплодием и ХП/СХТБ. Установлено повышение уровней IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$  в спермоплазме у всех больных, а при наличии вирусной инфекции – снижение концентрации IFN $\gamma$ . Показан противовоспалительный потенциал противовирусной терапии.

## **Теоретическая и практическая значимость работы**

Полученные в ходе исследования данные позволяют расширить знания об этиопатогенезе мужской инфертильности и воспалительных заболеваний уrogenитального тракта.

Внедрение в клиническую практику полученных данных имеет большое научно-практическое значение, поскольку позволяет совершенствовать диагностические алгоритмы для поиска этиологических агентов таких социально значимых заболеваний, как мужское бесплодие и хронический простатит. Включение в диагностический алгоритм ХП/СХТБ и бесплодия исследований уrogenитальных проб на ВГЧ IV-VI типов и ВПЧ ВКР позволяет верифицировать этиологию вирус-ассоциированных случаев и назначать прецизионную терапию.

Определены клинические особенности ХП/СХТБ, ассоциированного с герпес- и папилломавирусами, заключающиеся в более частых депрессивных и тревожных расстройствах, а также анамнестических данных о перенесенных ИППП и проведенных курсах лечения воспалительных заболеваний предстательной железы.

Результаты проведенного научного исследования позволяют усовершенствовать схемы лечения ХП/СХТБ и мужского бесплодия. Разработанные методы лечения направлены на супрессию этиологически значимых герпесвирусов и приводят к улучшению качества жизни этих больных.

Применение дифференцированного подхода к терапии ХП/СХТБ замедлит развитие антибиотикорезистентности за счет рационального применения их применения с учетом этиологии заболевания. Лечение вирус-ассоциированных случаев заболевания противовирусными препаратами позволит персонализировать лечение.

Сформулированные в работе подходы к диагностике и лечению данной категории больных имеют большую практическую значимость и могут быть применены в специализированных медицинских учреждениях, занимающихся лечением уrogenитальной патологии у мужчин.

## **Ожидаемый социально-медицинский эффект**

Детекция вирусных агентов, ассоциированных с хроническим простатитом/синдромом хронической тазовой боли и бесплодием позволит проводить этиологически- направленную терапию и добиваться лучшего клинического результата. Наличие вирусного агента при отсутствии бактерий в значимых концентрациях не потребует назначения антибактериальной терапии, что благоприятно скажется на профилактике антибиотикорезистентности бактерий, в т.ч. ИППП. Уточнение этиологии заболевания наилучшим образом отвечает важному принципу современной медицины – персонализации лечения. Конечный итог внедрения результатов

исследования – оптимизация терапии социально-значимых заболеваний: синдром хронической тазовой боли и мужское бесплодие.

### Методология и методы исследования

1. Общеклиническое исследование: анализ жалоб, анамнеза, данных шкал NIH-CPSI, IPSS, HADS, физикальное исследование.
2. Экспериментальное исследование по инфицированию интактных проб эякулята цитомегаловирусом с помощью флуоресцентного, интерференционного контрастного, а также иммуноцитохимического исследований
3. Микроскопическое, молекулярно-биологическое (в реальном времени), бактериологическое, спермиологическое, электронно-микроскопическое исследования, иммуноферментный анализ.
4. Инструментальные исследования: ультразвуковое сканирование, урофлоуметрия.

### Основные положения диссертации, выносимые на защиту

1. Герпесвирусы IV-VI типов выявляются у 19,7% бесплодных мужчин и у 18,3% мужчин с ХП/СХТБ при том, что в контрольной группе здоровых мужчин этих вирусов не выявляли. Наблюдали тенденцию к более частому обнаружению ВГЧ IV-VI типов в группе мужчин с бесплодием и ХП/СХТБ (22,8%). Из всех герпесвирусов наиболее часто встречался ВГЧ-6 типа (10,3%). ВГЧ IV-VI типов были достоверно чаще ( $p=0,049$ ) связаны с клеточной фракцией эякулятов. Наибольшая суммарная концентрация ВГЧ IV-VI типов выявлена у мужчин с идиопатическим бесплодием. Из трех изученных герпесвирусов ЦМВ обнаруживался в наиболее высокой концентрации ( $>2$  тыс. копий на 100.000 сперматозоидов) и приводил к достоверному ухудшению качества спермы.
2. При проведении *in vitro* инфицирования ЦМВ сперматозоидов путем совместного инкубирования интактного эякулята с ЦМВ доля инфицированных сперматозоидов составила 2%. При этом в клинических образцах ЦМВ обнаруживали в 6% сперматозоидов. Вирусные белки ЦМВ pp65 были визуализированы иммуноцитохимическим методом в головке, шейке и хвосте сперматозоидов, наблюдали иммунное окрашивание экваториальных областей головок сперматозоидов. При этом, в контрольных образцах вирусный белок не обнаружен. Серия оптических срезов, взятых вдоль оси z, продемонстрировала внутриклеточную локализацию ЦМВ.
3. ВПЧ ВКР обнаружены в эякуляте у 12,2 и 12,4% пациентов с бесплодием и с ХП/СХТБ соответственно. ВПЧ ВКР не выявляли у мужчин группы контроля. При этом коинфекция различными генотипами ВПЧ ВКР достоверно чаще ( $p=0,036$ ) обнаруживается в группе мужчин с бесплодием на фоне воспалительного ХП/СХТБ. Наиболее распространенным

ВПЧ ВКР среди мужчин с бесплодием и ХП/СХТБ является генотип А9. ВПЧ ВКР обнаруживается в наибольшей концентрации в группе мужчин с ХП/СХТБ (около 2,5 тыс копий на 100.000 сперматозоидов).

4. Обнаружение ВГЧ IV-VI типов и ВПЧ ВКР ассоциировано со снижением концентрации сперматозоидов и снижением доли морфологически нормальных форм в группах, где имелся ХП/СХТБ. Раздельный анализ герпесвирусов показал, что наличие цитомегаловируса приводило к достоверному двукратному снижению концентрации сперматозоидов ( $p=0,035$ ), а наличие вируса Эпштейна-Барр – парадоксальному увеличению их подвижности ( $p=0,011$ ).
5. Отличительными особенностями мужчин с ХП/СХТБ, ассоциированных с герпесвирусами IV-VI типов и ВПЧ ВКР является достоверно более частый ( $p=0,003$ ) анамнез инфицирования уретральными ИППП (45.6% против 27.7%) и проведенных курсов лечения «хронического простатита» (36.9% против 22.2%,  $p=0,008$ ), а также более частые психо-социальные нарушения в виде депрессивных (70.9% против 45.1%,  $p<0.001$ ) и тревожных расстройств (28.1% против 16.8%,  $p=0.02$ ).
6. Схема лечения группы IA (валацикловир 500 мг х2 раза в день – 3 мес и интерферон  $\alpha 2\beta$  1 млн МЕ – 30 дней) в лечении ХП/СХТБ, ассоциированного с ВГЧ IV-VI типов и ВПЧ ВКР приводила к значимому разрешению симптомов, что сопровождалось достоверным уменьшением числа герпесвирус-положительных проб к концу лечения с 80 до 18 (на 77,5%). Через 6 месяцев исследуемые пациенты имели достоверно лучшие показатели эффективности: балл CPSI  $7,2\pm 2,2$  против  $12,5\pm 2,6$  в контрольной группе ( $p=0.018$ ).

Схема лечения группы IB (интерферон  $\alpha 2\beta$  1 млн МЕ – 20 дней, тамсулозин 0,4 мкг – 3 мес и суппозитории диклофенак 50 мг – 10 дней) не отличалась по эффективности от стандартного лечения. Ее преимуществом перед схемой лечения группы IA состояло в достоверно лучшем ближайшем результате: мужчины группы IB через 1 месяц от начала лечения имели NIH CPSI  $8,3\pm 2,2$  против  $14,9\pm 4,1$  в группе IA ( $p=0.024$ ). Терапия в группе IB сопровождалась уменьшением герпесвирус-положительных проб с 48 до 21 (на 56,2%). Различия вирусологической эффективности между группами IA и IB являются статистически значимыми ( $p=0.028$ ). Противовирусное лечение с помощью интерферона  $\alpha 2\beta$  1 млн МЕ не приводило ни к сокращению числа ВПЧ-положительных проб, ни к достоверному снижению концентрации ВПЧ ВКР.

Схемы противовирусного лечения пациентов группы IA (валацикловир 500 мг х2 раза в день – 3 мес и интерферон  $\alpha 2\beta$  3 млн МЕ 2 раза в день — 10 дней, затем 3 раза в неделю (также 2 раза в день) в течение последующих 3 недель) и IB (только интерферон  $\alpha 2\beta$  по той же схеме) приводят к лучшему репродуктивному результату в виде достоверно более частого наступления беременностей у партнерш пациентов ( $p=0,026$ ).

Электронно-микроскопическое исследование подтвердило, что противовирусное лечение эффективно в случае инфицирования цитоплазмы сперматозоидов. Так, в результате лечения наблюдали более чем двукратное снижение числа герпес-положительных эякулятов с 12% до 5%, а также снижение количества сперматозоидов с вирусными капсидами.

- У мужчин с ХП/СХТБ, ассоциированным с ВГЧ IV-VI типов и ВПЧ ВКР наблюдали повышенное содержание ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и сниженное - ИНФ- $\gamma$ . При этом у пациентов без вирусной инфекции наблюдали повышение ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ФНО- $\alpha$  без снижения ИНФ- $\gamma$ . Комплексная противовирусная терапия герпес-ассоциированного ХП/СХТБ приводит к нормализации этих показателей, что клинически сопровождалось разрешением симптомов и элиминацией/снижением титров ВГЧ IV-VI типов.

### **Внедрение результатов исследования**

Результаты исследования внедрены в практику ФГБУ «Клинико-диагностический центр федерального клинического центра высоких медицинских технологий ФМБА России» (акт внедрения №50 от 11.03.2021), ГБУЗ «Московский научно-практический Центр дерматовенерологии и косметологии ДЗМ»: модифицированный алгоритм диагностического поиска, назначение этиопатогенетических средств с учетом выявляемых вирусных агентов (акт внедрения от 9.11.2021), медицинский научный центр «Скрин Доктор» (акт внедрения от 08.08.2022). Теоретические положения диссертации используются в учебном процессе кафедры дерматовенерологии и косметологии Академии постдипломного образования ФНКЦ ФМБА России (справка о внедрении от 29.11.2021 г). Данные исследования использовали в работе над Клиническими рекомендациями «Аногенитальная герпетическая вирусная инфекция», 2022 г. и «Аногенитальные (венерические) бородавки» 2022 г.

### **Личный вклад автора**

Основной вклад соискателя заключается в планировании, разработке дизайна исследования, организации и проведении исследований по всем разделам диссертации, в постановке целей и задач, определении объема и методов исследования, обработке первичных данных, сборе клинических данных, проведении диагностических и терапевтических мероприятий, статистической обработке результатов, подготовке публикаций, написанных по теме диссертации. Автор проводил анализ научных публикаций по теме исследования, осуществлял анализ данных, обследование и лечение 776 мужчин с синдромом хронической тазовой боли и бесплодием.

Автором опубликовано монография «Негонококковые уретриты», монография (в соавторстве) «Простатит и заболевания-имитаторы. Клинические разборы», разработаны (в

соавторстве) Клинические рекомендации «Аногенитальная герпетическая вирусная инфекция» и Клинические рекомендации «Аногенитальные (венерические) бородавки» (утвержденные МЗ РФ в 2020-21 гг). Таким образом, личный вклад автора в диссертационной работе составляет не менее 90%.

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

Тема и научные положения диссертации соответствуют пунктам 1-5 паспорта научной специальности 3.1.23. Дерматовенерология (медицинские науки).

### **Связь работы с научными программами, планами, темами**

Работа выполнена в Академии постдипломного образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА России в соответствии с основными направлениями программы научных исследований.

Исследования одобрены локальным этическим комитетом Академии постдипломного образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА России (протокол № 21 от 25.12.2020 г.). У всех участников исследования было получено добровольное письменное согласие.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Достоверность результатов данного исследования подтверждается достаточным для анализа количеством пациентов, включенных в него. Для решения поставленных задач в работе использованы современные методы исследования. Различия признавались статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Результаты исследования подтверждают положения, выносимые на защиту, найдя свое отражение в выводах и практических рекомендациях, сформулированных на основании полученных данных.

Основные положения доложены и обсуждены на всероссийских и международных научно-практических конференциях, в том числе: научно-практическая конференция «XII Московская Ассамблея здоровье столицы» 2013 г., Москва; VII Международный форум дерматовенерологов и косметологов «Новое в дерматовенерологии и косметологии», 2014 г., Москва; VIII Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Молекулярная диагностика 2014», Москва; Научно-практическая конференция «XIII Московская Ассамблея Здоровье Столицы» 2014 г., Москва; XIII Российский научно-образовательный Форум «Мужское здоровье и долголетие» 2015 г., Москва; IX научно-практическая конференция «Международный форум дерматовенерологов и косметологов» 2016 г., Москва; IX Междисциплинарная научно-практическая конференция "Урогенитальные инфекции и репродуктивное здоровье: клиничко-лабораторная диагностика и терапия" 2016 г., Санкт-Петербург; XI Международный форум дерматовенерологов и косметологов 2018 г.,

Москва; XVII Ассамблея «Здоровье Москвы», 2018 г., Москва; научно-практическая конференция, посвященная 30-летию Академии последиplomного образования ФНКЦ ФМБА России, 2019 г., Москва; 34 IUSTI European Congress on sexually transmitted infections and HIV/AIDS, 2020, Bucharest; STI&HIV World congress 2021, Netherlands; XIV Международный форум дерматовенерологов и косметологов, 2021, Москва; II Всероссийский онлайн конгресс по ИППП IUSTI-2021, Москва; 15 Международный форум дерматовенерологов и косметологов «Синтез науки и практики», 2022 г., Москва; 12 Всероссийский Форум Национального Альянса дерматовенерологов и косметологов «Дерматовенерология и косметология: синтез науки и практики», 2022 г., Москва; XVI Всероссийский съезд национального альянса дерматовенерологов и косметологов 2023 г., Москва.

Результаты диссертационного исследования неоднократно заслушивались на заседаниях кафедры дерматовенерологии и косметологии Академии постдипломного образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА России.

Диссертационная работа апробирована 26 июня 2023 года на совместной научно-практической конференции с участием сотрудников кафедр дерматовенерологии и косметологии, кафедры экономики и маркетинга здравоохранения Академии постдипломного образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА, а также кафедры урологии и кафедры кожных и венерических болезней ФГБОУ ВО МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России (протокол №6 от 26 июня 2023 года).

### **Публикации**

По материалам исследования опубликовано 29 печатных работ, в том числе 7 в изданиях, индексируемых в международных наукометрических базах цитирования (Web of Science, Scopus, PubMed); 7 – в журналах, рекомендуемых ВАК при Минобрнауки России с импакт-фактором не ниже 0,1; 5 - в журналах, рекомендуемых ВАК/РУДН; 2 монографии; 1 справочник; 2 клинические рекомендации; 5 – в сборниках материалов конференций.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 251 страницах машинописного текста в редакторе Microsoft Word 2019 for Windows. Состоит из введения, 5 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, который включает 417 источников, из них 72 – отечественных и 345 зарубежных. Диссертация включает 39 таблиц, 18 рисунков, 4 приложения.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Материалы и методы исследования

Работа выполнялась в период с 2012 по 2023 г на кафедре дерматовенерологии и косметологии Академии постдипломного образования федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий федерального медико-биологического агентства». Лабораторные исследования на вирусы герпеса выполнялись на базе отдела молекулярной вирусологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России. Клинические исследования и лечение выполнялись в хирургическом отделении клинико-диагностического центра Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный клинический центр высоких медицинских технологий федерального медико-биологического агентства».

В **первой части** исследования проводили количественное определение герпесвирусов IV-VI типа с помощью real-time ПЦР проб эякулята 437 пациентов, разделенных на группы: 1 – бесплодие на фоне ХП/СХТБ, 2- идиопатическое бесплодие, 3- фертильные мужчины с ХП/СХТБ. Контрольную группу 4 составили 52 здоровых мужчины. С помощью спермиологического исследования оценивали влияние выявленных вирусных агентов на параметры качества спермы: концентрацию, подвижность, долю патологических форм.

**Экспериментальное исследование.** Для изучения патогенеза цитомегаловирусной инфекции при мужском бесплодии проводили экспериментальное *in vitro* инфицирование AD169 штаммом ЦМВ, полученным из Государственной коллекции вирусов НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи. Вирус размножали и титровали в фибробластах легких эмбриона человека. Предварительно отмытые сперматозоиды из неинфицированных образцов инкубировали с инокулятом ЦМВ в течение 2 ч при 37°C. Множественность инфекции составляла 0,1 бляшкообразующих единиц на клетку. Контрольные неинфицированные сперматозоиды инкубировали с модифицированной по Дульбекко средой Игла в тех же условиях. После инкубации с вирусом проводили иммуноцитохимическое исследование, для чего сперматозоиды промывали и окрашивали. Слайды анализировали с использованием системы конфокальной микроскопии Leica TCS SP5 (Wetzlar, Germany) в тот же или на следующий день. Флуоресцентная и дифференциальная интерференционная контрастная оптика Номарского использовались одновременно для визуализации флуоресцентных сигналов и не флуоресцентных неокрашенных структур сперматозоидов. Иммуноцитохимическое исследование осуществляли при помощи мышиных моноклональных антител, ФИТЦ-конъюгированных кроличьих анти-мышинных поликлональных

антител и флуоресцентного микроскопа Zeiss Axio Scope, Германия. Ряд оптических срезов на расстоянии 0,5 мкм брали вдоль оси z для определения местоположения вируса в инфицированных клетках. С помощью иммуноцитохимического исследования и оптических срезов проводили детекцию ЦМВ белка pp65 в головках, шейках и хвостах сперматозоидов.

Во второй части исследования проводили обследование и лечение 287 мужчин с ХП/СХТБ (в т.ч. 23 мужчин с бесплодием). Тяжесть симптомов, качество жизни и динамику терапии оценивали с помощью шкал NIH-CPSI и IPSS. Уровень депрессии и тревоги оценивали с помощью шкалы HADS. Всем пациентам выполняли до- и пост-массажную пробу мочи для исключения бактериальной инфекции. Количественную детекцию герпесвирусов и ВПЧ ВКР выполняли с помощью real-time ПЦР биопроб из уретры, секрета предстательной железы и спермы. Урофлоуметрию проводили до и после лечения. Ультразвуковое исследование проводили для исключения сопутствующей патологии, измерения объема предстательной железы (трансректально) и объема остаточной мочи. Количественное электронно-микроскопическое исследование сперматозоидов выполняли при помощи электронного микроскопа JEM 1400, JEOL, Япония. Концентрацию цитокинов в пробах эякулята оценивали методом иммуноферментного анализа (ИФА), используя для обнаружения ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ФНО- $\alpha$  и ИНФ- $\gamma$  наборы ЗАО «Вектор-Бест» (Россия) в соответствии с рекомендациями производителя.

Пациенты во второй части исследования были распределены в группы:

- Группа IA включала 64 пациента с ХП/СХТБ и герпесвирусами IV-VI типа и ВПЧ ВКР, которых лечили валацикловиром 500 мг 2 раза в день в течение 90 дней и суппозитории интерферон  $\alpha 2\beta$  с антиоксидантами 1 млн МЕ/сут в течение 30 дней (мужчинам с бесплодием - 3 млн МЕ 2 раза в день — 10 дней, затем 3 раза в неделю (2 раза в день) в течение последующих 3 недель).
- Группа IB включала 39 пациентов с ХП/СХТБ и герпесвирусами IV-VI типа и ВПЧ ВКР, которые получали суппозитории интерферон  $\alpha 2\beta$  с антиоксидантами 1 млн МЕ/сут в течение 20 дней (мужчинам с бесплодием - 3 млн МЕ 2 раза в день — 10 дней, затем 3 раза в неделю (2 раза в день) в течение последующих 3 недель), тамсулозин 0,4 мг/сут внутрь в течение 90 дней (при наличии в домене «мочеиспускание» 2 баллов и более или при снижении максимального потока мочи ниже 15 мл/с) и суппозитории диклофенак 50 мг/сут в течение 10 дней.
- Группа II сравнения, включала 184 пациентов с ХП/СХТБ с отрицательными результатами вирусологических тестов. Эти мужчины получали стандартное лечение левофлоксацин 500 мг/сут в течение 28 дней, тамсулозин 0,4 мг/сут внутрь в течение 90 дней (при наличии в домене «мочеиспускание» 2 баллов и более или при снижении максимального потока мочи ниже 15 мл/с) и суппозитории диклофенак 50 мг/сут в течение 10 дней.

Критерии включения пациентов в исследование:

- анамнез тазовой боли в течение 3 месяцев;
- индекс IPSS более, чем 8;
- уровень ПСА ниже 2,5 нг/мл;
- соответствие критериям ХП/СХТБ IIIA согласно определению Национального

института здоровья США 1995 г;

- возраст от 22 до 65 лет.

Критерии исключения:

- Остаточная моча более, чем 50 мл;
- Аллергические реакции на препараты, назначаемые в исследовании;
- Лица, принимавшие антибактериальные препараты, а-блокаторы или ингибиторы

5 $\alpha$ -редуктазы за последние 4 недели до включения в исследование;

- Изолированное выявление ВПЧ ВКР в урогенитальных пробах (без ВГЧ IV-VI типа).

Результаты лечения оценивали с помощью клинических (шкала «Индекс симптомов хронического простатита» -NIH-CPSI, «Международная шкала оценки простатических симптомов» - IPSS, «Госпитальная шкала оценки депрессии и тревоги» - HADS), инструментальных (урофлоуметрия, УЗИ) и лабораторных исследований.

Дизайн исследования: одноцентровое, наблюдательное, сравнительное открытое.

### **Статистическая обработка результатов**

Накопление, корректировка, систематизация исходной информации и визуализация полученных результатов осуществлялись в электронных таблицах Microsoft Office Excel 2010-16. Выборки с параметрическим распределением представлялись как среднее арифметическое  $\pm$  стандартное отклонение, а выборки с непараметрическим распределением – как медиана (минимум; максимум).

Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению, для этого использовался критерий Шапиро-Уилка (при числе исследуемых менее 50) или критерий Колмогорова-Смирнова (при числе исследуемых более 50), а также показатели асимметрии и эксцесса.

При сравнении средних величин в нормально распределенных совокупностях количественных данных рассчитывался t-критерий Стьюдента. При сравнении средних показателей, рассчитанных для связанных выборок (например, значений показателя до лечения и после лечения), использовался парный t-критерий Стьюдента. Для сравнения независимых совокупностей в случаях отсутствия признаков нормального распределения данных

использовался U-критерий Манна-Уитни. Для сравнения связанных выборок при непараметрическом их распределении использовали парный тест Уилкоксона.

Статистическая значимость различий количественных показателей, имеющих нормальное распределение, между группами оценивалась при помощи однофакторного дисперсионного анализа путем расчета критерия F Фишера. Сравнение номинальных данных проводилось при помощи критерия Хи-квадрат ( $\chi^2$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Результаты изучения ВГЧ IV-VI типов и ВПЧ ВКР у мужчин с бесплодием и ХП/СХТБ: клинико-лабораторная характеристика

Суммарная частота обнаружения герпесвирусов IV-VI типа и ВПЧ ВКР составила 32,5%. В то же время в контрольной группе герпесвирусы и ВПЧ ВКР не выявляли. Данные о частоте обнаружения каждого вируса и их сочетаний представлены в Таблице 1.

С учетом сочетанных инфекций частота выявления ВЭБ, ЦМВ, и ВГЧ-6 составляла 3,9%, 6,4%, и 10,3% соответственно. В группе 1 (мужчины с бесплодием и ХП/СХТБ) наблюдали тенденцию к наиболее частому обнаружению герпесвирусов – 22,8%. Для сравнения: в группах 2 и 3 выявляли 17,1% и 16,5% соответственно. Однако различия не достигали статистической значимости ( $p > 0.05$ ).

Всего в группах 1-3 выявлено 64 (14,6%) пациентов с общим числом генотипов ВПЧ ВКР -78. Анализ результатов суммарной оценки встречаемости ВПЧ ВКР при моно- и сочетанных инфекциях эякулятов показал, что в группе 1 ВПЧ ВКР всех генотипов было выявлено больше 40/180 (22,2%), чем в группе 2 (13/82-15,8%) и группе 3 (25/175-14,3%). Разница между группами не достигала статистической значимости ( $p > 0.05$ ). Генотипы А9 преобладали во всех группах и суммарно составили 8,9% (39/437). Всего ВПЧ ВКР всех изученных генотипов были выявлены в 78/437 (17,8%) эякулятах.

Также выполнен анализ значимости одновременного микст-инфицирования несколькими генотипами ВПЧ ВКР. Сочетанные генотипы выявили у 7 пациентов группы 1 (3,9%) и у 1 пациента группы 2 (0,6%), различие между группами имеет статистическую значимость ( $\chi^2=4,43$ ,  $p=0,036$ ). Таким образом, одновременное инфицирование эякулята несколькими типами ВПЧ было достоверно ассоциировано с бесплодием и ХП/СХТБ.

Таблица 1 - Частота встречаемости герпесвирусов и вирусов папилломы человека высокого канцерогенного риска в сперме мужчин с бесплодием и воспалительными заболеваниями урогенитального тракта

Вирусы	Частота выявления ДНК герпесвирусов				Частота выявления ДНК ВПЧ ВКР				Сочетание ВГЧ+ВПЧ ВКР	Всего
	ВЭБ	ЦМВ	ВГЧ-6	Сочетания вирусов	A5/6	A7	A9	Сочетания генотипов		
Пациенты										
Группа 1 бесплодие + ХП/СХТБ, n=180	6 (3,3)*	11 (6,1)	13 (7,2)	6 (3,3)	5 (2,8)	4 (2,2)	10 (5,6)	7 <sup>a</sup> (3,9)	5 (2,5)	67 (37,2)
Группа 2 идиопатическое бесплодие n=175	5 (2,8)	7 (4,0)	13 (7,4)	3 (1,7)	5 (2,8)	6 (3,4)	10 (5,7)	1 <sup>b</sup> (0,6)	1 (0,6)	51 (29,1)
Группа 3 фертильные мужчины + ХП/СХТБ, n=82	2 (2,4)	3 (3,6)	6 (7,3)	3 (3,6)	1 (1,2)	1 (1,2)	4 (4,9)	3 <sup>b</sup> (3,6)	1 (1,2)	24 (29,3)
Всего n=437	13 (2,9)	21 (4,8)	32 (7,3)	12 (2,7)	11 (2,5)	11 (2,5)	24 (5,5)	11 (2,5)	7 (1,6)	142 (32,5)
P	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	0.036/0.063	>0.05	>0.05

$p^{a-b}=0,036$  ( $\chi^2=4,43$ )  $p^{b-b}=0,063$  ( $\chi^2=3,47$ )

\*количество инфицированных пациентов, (%)

Представляло интерес определить вирусную нагрузку в пробах обследованных пациентов. Данные Таблицы 2 показали, что концентрация ЦМВ и ВЭБ в группе 2 была выше, чем в группах 1 и 3 ( $p < 0,0001$ ), и среди герпесвирусов ЦМВ встречался в большей концентрации, чем ВЭБ и ВГЧ-6.

Таблица 2 – Концентрации ВГЧ IV-VI типов и ВПЧ ВКР в эякулятах

Пациенты герпесвирус+ (n=98)	Копии ДНК в 100000 кл, медиана (min, max)			
	ВЭБ (n=24)	ЦМВ (n=29)	ВГЧ-6 (n=45)	ВПЧ ВКР (n=78)
Группа 1 бесплодие+ХП/СХТБ n=47	4 (1;27) (n=12)	265 (6;2610) (n=15)	27 (3;20000) (n=20)	154,9 <sup>1</sup> (2,2; 1288249,5) n=40
Группа 2 идиопатическое бесплодие n=33	<b>49<sup>в</sup></b> (10;99) (n=7)	<b>2063<sup>а</sup></b> (15;74125) (n=9)	39 (4;131127) (n=17)	501,2 <sup>3</sup> (7,9; 117489,7) n=25
Группа 3 фертильные+ХП/СХТБ n=18	13 (3;18) (n=5)	104 (14;1549) (n=5)	51 (4;59613) (n=8)	<b>2454,7<sup>2</sup></b> (114,8; 87096,3) n=13
Суммарно	11 (1;99)	388* (6;74125)	27 (3;131127)	380,2 (2,2; 1288249,5)

Значения <sup>а, в</sup>, выделенные жирным шрифтом, статистически значимо отличаются от других в столбцах для ЦМВ и ВЭБ ( $p < 0,001$ ).

\*Различие (U критерий Манна-Уитни) с суммарными значениями для ВГЧ-6 и ВЭБ статистически значимы ( $p < 0,001$ ).

$p^{1-2} < 0,01$ ;  $p^{1-3} < 0,01$ ;  $p^{2-3} < 0,01$

Среди герпесвирусов ЦМВ встречался в большей концентрации, чем суммарная концентрация ВЭБ и ВГЧ-6. Медианная концентрация ДНК ЦМВ (2063 на 100 тыс клеток) в группе 2 (идиопатическое бесплодие) была достоверно выше, чем в группах 1 и 3 ( $p < 0,0001$ ). Обнаружение высокой вирусной нагрузки ЦМВ позволяет сделать важные выводы относительно его повышенной вирулентности.

Концентрация ДНК ВПЧ ВКР статистически значимо различалась между группами 1-3 ( $p < 0,01$ ). Следует отметить, что концентрация этих вирусов достигала максимальных значений – 1 288 250 копий ДНК на 100 тыс. клеток, что соответствует 6,11 lg10. Наибольшей медианная вирусная нагрузка ВПЧ ВКР оказалась в эякулятах пациентов группы 3 (фертильные мужчины с ХП/СХТБ): 2454,7 копии на 100 тыс. кл. ( $p < 0,01$ ). При этом в группе 1 и 3 концентрация составила 154,9 и 501,2 копий на 100 тыс. клеток. Анализ клайдов ВПЧ ВКР показал, что концентрация генотипов А9 статистически значимо превышала значения для генотипов А5/6 и А7 ( $p < 0,05$ ).

### Оценка факторов, влияющих на основные показатели качества спермы

Для оценки влияния ВГЧ IV-VI типов и ВПЧ ВКР на основные показатели качества спермы был проведен статистический анализ спермограмм. Сравнивали средние показатели между инфицированными и неинфицированными эякулятами в каждой группе (Таблица 3).

Таблица 3 – Сравнительный анализ основных показателей спермограмм у инфицированных вирусами и неинфицированных пациентов

Основные показатели спермограммы	Группа 1 бесплодие+ ХП/СХТБ		Группа 2 Идиопатическое бесплодие		Группа 3 Фертильные с ХП/СХТБ	
	вирус+	вирус-	вирус+	вирус-	вирус+	вирус-
Концентрация сперматозоидов ( $10^6$ /мл)	7,1±2,4	26,2±7,7	21,8±6,2	27,3±8,4	24,2±6,7	46,3±12,4
	<b>p=0,017</b>		p>0,05		<b>p=0,037</b>	
Подвижность сперматозоидов (a+b), %	25,6±7,6	33,1±8,5	26,4±7,7	39,2±10,2	31,3±8,7	32,6±9,1
	p>0,05		p>0,05		p>0,05	
Морфологически нормальные формы (%)	11,9±2,5	25±7,9	17,3±5,0	31,9±8,1	17,7±5,2	32,5±9,3
	<b>p=0,011</b>		p>0,05		<b>p=0,021</b>	

Статистический анализ с помощью двухвыборочного t критерия Стьюдента показал, что у пациентов групп 1 и 3 концентрация половых клеток в инфицированных эякулятах была достоверно ниже по сравнению с неинфицированными ( $p<0.05$ ). Наиболее значимые изменения были обнаружены при подсчете морфологически нормальных форм сперматозоидов. Статистически значимые различия выявлены между инфицированными (вирус+) и неинфицированными (вирус-) эякулятами в группах 1 и 3 ( $p<0,05$ ).

Таким образом, анализ инфицированных эякулятов позволил установить, что вирусная инфекция при ХП/СХТБ негативно влияет на морфологию зрелых половых клеток, причем как у пациентов с бесплодием, так и у фертильных мужчин.

Представляется важным оценить влияние каждого из ВГЧ-IV-VI типов (ВЭБ, ЦМВ и ВГЧ-6) на основные параметры эякулятов. Данные для более детальной оценки влияния каждого из изучаемых герпесвирусов на качество спермы представлены в Таблице 4.

Таблица 4 – Основные показатели качества эякулятов при наличии и отсутствии ЦМВ, ВГЧ-6 и ВЭБ

	ВЭБ+	ЦМВ+	ВГЧ-6+	Без вирусов
Концентрация сперматозоидов ( $10^6$ /мл)	28,2±7,3	<b>19,7±5,6<sup>a</sup></b>	34,4±10,4	42,6±12,7 <sup>a</sup>
Подвижность сперматозоидов (a+b), (%)	<b>63,7±12,1<sup>b</sup></b>	29,5±7,7	28,1±8,4	32,5±7,9 <sup>b</sup>
Морфологически нормальные формы, (%)	5,1±1,2	6,2±1,7	6,3±1,8	11,4±2,7

<sup>a</sup>p=0.035, <sup>b</sup>p=0.011 (t критерий Стьюдента)

Анализ данных показал, что наличие ЦМВ был достоверно ассоциирован с сниженной концентрацией сперматозоидов ( $p=0.035$ ). Неожиданным оказалось почти двукратное повышение подвижности сперматозоидов при наличии ВЭБ ( $p=0.011$ ).

Для определения фракции эякулята, в которой находились ВГЧ IV-VI типа проводили исследование с помощью real time - ПЦР клеточной и плазменной части эякулята. Результаты приведены в Таблице 5.

Таблица 5 – Распределение ВЭБ, ЦМВ и ВГЧ-6 в фракциях эякулята

	ВЭБ	ЦМВ	ВГЧ-6	Суммарно
Клеточная фракция (+), %	80	92	86	87,5 <sup>a</sup>
Плазменная фракция (+), %	20	58	86	58 <sup>a</sup>

Разница  $p^{a-a}=0,049$  (точный тест Фишера)

Таким образом, исследование разных фракций одних и тех же инфицированных эякулятов показало, что ВГЧ IV-VI типов достоверно более часто выявляли в клеточной фракции. Два вируса – ВЭБ и ЦМВ обнаруживали в клеточной фракции почти в 2 раза чаще 88% против 47% ( $p=0,026$ ).

Обнаружение исследуемых вирусов в клеточной фракции может свидетельствовать о том, что эти агенты либо прикреплены к сперматозоидам, либо находятся внутри половых клеток, оказывая патоспермическое действие, приводящее к ухудшению параметров спермы и фертильности.

### **Иммуноцитохимическое исследование *in vivo* и *in vitro* инфицирования ЦМВ сперматозоидов (экспериментальное исследование)**

Концентрация ЦМВ была наибольшей среди всех герпесвирусов и превышала концентрации ВЭБ и ВГЧ-6 как минимум на порядок. Самые высокие показатели концентрации ЦМВ наблюдали в группе 2, что свидетельствует о важной роли этого вируса при идиопатическом бесплодии. В связи с этим взаимодействие ЦМВ со сперматозоидами было изучено более подробно.

Для этого проводили инкубирование интактного эякулята с ЦМВ (штамм AD169) в течение двух часов. Иммуноцитохимическое исследование клинических образцов и *in vitro* - инфицированных сперматозоидов выявила положительное окрашивание в 6 и 2% сперматозоидов соответственно. Вирусные белки были визуализированы в головках сперматозоидов, шейках и хвостах. В некоторых клетках наблюдали иммунное окрашивание экваториальных областей головок сперматозоидов. В контрольных образцах вирусный белок не обнаружен. Серия оптических срезов, взятых вдоль оси z, продемонстрировала не только прикрепление вируса к клеточной мембране, но также и внутриклеточную локализацию ЦМВ.

Таким образом, эксперимент продемонстрировал возможность внутрицитоплазматического инфицирования ЦМВ *in vitro*, что подтверждает ранее возникшее предположение о связи вируса с клеточной фракцией сперматозоидов. Насколько нам известно, это первое успешное экспериментальное инфицирование ЦМВ зрелых сперматозоидов.

## **Результаты сравнительного исследования комплексной терапии пациентов с ХП/СХТБ**

### ***Клиническая характеристика пациентов***

Возраст находившихся под наблюдением 287 мужчин с основным диагнозом ХП/СХТБ был от 23 до 65 лет (в среднем  $37,1 \pm 11,2$ ). Анамнез продолжительности заболевания – от 1 до 23 лет (в среднем  $7,5 \pm 2,1$  года). Длительность симптомов на момент обращения – от 3 до 12 месяцев.

У всех мужчин перед включением в исследование была исключена мочевиная инфекция традиционными уропатогенами (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus spp* и т.д.). Содержание лейкоцитов при микроскопии секрета предстательной железы у всех 287 пациентов составляло свыше 10 в поле зрения. Согласно международной классификации, все они имели синдром хронической тазовой боли IIIA. При этом 23 пациента состояли в бесплодном браке.

Пациентов с ВПЧ ВКР включали в исследования только, если эти вирусы выявлялись в дополнение к герпесвирусам IV-VI типа. При выявлении ИППП проводили стандартное антимикробное лечение согласно клиническим рекомендациям МЗ РФ.

Для оценки однородности групп пациентов проведен анализ их клинических данных. Группы были однородными по возрасту, тяжести ХП/СХТБ, интеркуррентным заболеваниям, наличию бесплодия.

Анализ данных с помощью критерия Хи-квадрат показал, что ранее проведенные курсы лечения хронического простатита достоверно чаще отмечали в группах IA и IB 36,9% против 22,2% в группе сравнения 3 ( $p=0.008$ ). Также, статистические расчёты показали, что в анамнезе у пациентов с выявленными герпесвирусами IV-VI и ВПЧ ВКР достоверно чаще имеются «уретральные» ИППП: 45,6% против 27,7% ( $p=0.003$ ).

Полученные данные косвенно свидетельствуют о сексуальной передаче ВЭБ, ЦМВ и ВГЧ-6.

Пациенты предъявляли жалобы на боль в промежности — 192 (66.9%), в мошонке — 58 (20.2%), в половом члене — 36 (12.5%), боль в надлобковой области – 33 (11.5%). Болевые ощущения появлялись или усиливались при (или после) мочеиспускания у 27 мужчин (9,4%) и эякуляции у 16 (5,6%) пациентов. Данные болевые симптомы сопровождалась признаками нарушения мочеиспускания. Так, учащенное мочеиспускание присутствовало у 173 (60,3%) пациентов, а ощущение неполного опорожнения мочевого пузыря у 148 (51.6%).

Таким образом, наиболее часто пациенты предъявляли жалобы на боли, которые не отличались ни по локализации, ни по интенсивности у пациентов различных групп. Второй по частоте была группа жалоб на нарушение мочеиспускания, которые имелись более чем у половины пациентов.

Тяжесть заболевания оценивали по сумме баллов шкалы NIH-CPSI. Среди пациентов всех групп у 89 пациентов имелась легкая симптоматика (индекс NIH-CPSI- ниже 15 баллов), у 186 пациентов - средней степени тяжести (индекс NIH-CPSI 15–29), у 12 — тяжелая (более 30). Среднее значение индекса симптомов составило  $24,3 \pm 4,2$ . Среднее значение суммы доменов «боль» и «нарушение мочеиспускания» составило  $16,9 \pm 4,2$ . Суммарный балл влияния симптомов на повседневную жизнь в среднем составил  $4,1 \pm 1,3$ , а качество жизни  $-4,2 \pm 1,2$  (максимум для обоих показателей составлял 6 баллов). Различий в распределении пациентов с различными степенями тяжести по группам не наблюдалось ( $p > 0,05$ ).

### **Оценка личностных расстройств**

Помимо боли и нарушения мочеиспускания у пациентов выявляли симптомы сниженного настроения и тревоги. Данные симптомы имеют значительный независимый вклад в ухудшение качества жизни пациентов.

Уровень депрессии и тревоги определяли с помощью госпитальной шкалы тревоги и депрессии - HADS (Таблица 6).

Таблица 6 – Личностные расстройства у пациентов I и II групп

	Группа IA n=64	Группа IB n=39	Группа II n=184
Депрессия*			
• n	46 (71,9%) <sup>a</sup>	27 (69,2%) <sup>b</sup>	83 (45,1%) <sup>c</sup>
• баллы	$7.6 \pm 2.1$	$6.9 \pm 1.7$	$6.8 \pm 1.3$
Тревога*			
• n	17 (26,6%) <sup>d</sup>	12 (30,8%) <sup>e</sup>	31 (16,8%) <sup>f</sup>
• баллы	$5.3 \pm 1.4$	$6.7 \pm 2.1$	$6.1 \pm 1.8$

\*по результатам анкетирования с помощью Госпитальной шкалы тревоги и депрессии (HADS)  
 $p^{(ab-c)} = 0.001$  ( $\chi^2$  составляет 17.669, критическое значение  $\chi^2$  при уровне значимости составляет 6.635),  
 $p^{(ef-g)} = 0.02$  ( $\chi^2$  составляет 5.426, критическое значение  $\chi^2$  при уровне значимости составляет 3.841)

Признаки субклинической депрессии имелись в среднем у 2/3 пациентов, а субклинической тревоги у 16-30%. При этом, анализ данных показал, что признаки субклинической депрессии достоверно чаще имелись у мужчин групп IA и Б (73 из 103 – 70,9%) чем в группе сравнения II (83 из 184 -45,1%). Также субклиническая тревога статистически более часто наблюдалась в группах IA и Б (29 из 103 – 28,1%), чем у группе II (31 из 184 – 16,8%).

Таким образом, обнаружение ВГЧ IV-VI типов и ВПЧ ВКР при ХП/СХТБ оказались достоверно чаще ассоциированными с депрессией и тревогой, что может вносить независимый

вклад в снижение качества жизни пациентов. Схожие данные получены в исследовании Xiao J. et al (2013), в котором обнаружение вирусов в секрете предстательной железы было связано с увеличением тяжести симптомов и качества жизни пациентов.

### ***UPOINT-фенотипирование пациентов с ХП/СХТБ***

Пациентов с хроническим простатитом / синдромом хронической тазовой боли (ХП / СХТБ) фенотипировали согласно классификации UPOINT на шесть составляющих доменов: мочевого (U), психосоциальный (P), органоспецифический (O), инфекционный (I), неврологический/системный (N) и миофасциальный (T).

Пациентов с признаками миофасциальной боли, неврологическими заболеваниями и с проблемами ЖКТ не включали в исследование для того, чтобы сосредоточиться на урологических причинах хронической тазовой боли. В связи с этим домены N и T отсутствуют в составе клинических синдромов пациентов в данном исследовании. Фенотипическая характеристика пациентов ХП/СХТБ приведена в Таблице 7.

Таблица 7 – Фенотипическая UPOINT-классификация пациентов групп IA, IB и II

Домены	Группа IA, n=64	Группа IB, n=39	Группа II, n=184
U мочевого n, (%)	45 (70,3%)	24 (61,5%)	123 (66.8%)
P психо-социальный n, %	47 (73.4%)	27 (69.2%)	90 (48.9%)
O органо-специфический n, %	52 (81.3%)	28 (71.8%)	158 (85.9%)
I инфекционный n, %	5 (7.8%)	2 (5.1%)	17 (9.2%)

Представляется важным, что психосоциальных доменов имелся у 74 пациентов из 103 из группы IA+B, в сравнении с 90 пациентами из 184 из группы сравнения II. Значение критерия  $\chi^2$  составляет 14.179. Критическое значение  $\chi^2$  при уровне значимости  $p=0.01$  составляет 6.635 (уровень значимости  $p<0,01$ )

Таким образом, пациенты с вирус-ассоциированным ХП/СХТБ имели достоверно более частые психосоциальные отклонения в сравнении с пациентами без вирусов.

### ***Оценка вирусологической эффективности в отношении ВГЧ IV-VI у пациентов групп IA и IB***

Детекция ДНК герпесвирусов ВПГ 1-го, 2-го типа, ВЭБ, ЦМВ, ВГЧ 6-го типа и ВПЧ ВКР методом ПЦР в реальном времени проведена в эякулятах у всех 287 пациентов. У 103 из 287 (35,8%) из них была выявлена ДНК ВГЧ и ВПЧ ВКР (последние только в сочетании с герпесвирусами). Данные анализа урогенитальных проб от этих 103 пациентов показали, что ВГЧ встречались как в эякуляте, так и в двух других урогенитальных материалах. При этом из 103 пациентов с ВГЧ у 8 из них эти вирусы были только в эякуляте, у 11 – как в эякуляте, так и в соскобе из уретры, у 31 – в эякуляте и в соке простаты, а у 23 – в эякуляте, в соскобе из уретры и

в секрете простаты. Кроме того, у 30 пациентов ВГЧ отсутствовали в эякуляте, но были выявлены у 9 – в уретре и в секрете простаты и еще у 21 – только в секрете простаты.

Всего от 103 человек с выявленными вирусами (группы IA и IB) получено 309 проб, из которых 128 (41,49%) – положительных. У пациентов группы II (n=184) количество исследованных проб составило 552. Таким образом, доля положительных проб от всех протестированных (n=861) составила 14,9%.

Данные выявления герпесвирусов у пациентов группы IA (n=64) до и после лечения представлены в Таблице 8. Они показали, что до лечения ВГЧ встречались суммарно в 80 пробах: в 39 (48,8%) – эякулята, в 12 (15,0%) - соскобов из уретры и в 29 (36,2%) – в секрете простаты. ЦМВ и ВЭБ обнаружены в 20 и 24 образцах соответственно, включая образцы с сочетаниями 2-х ВГЧ. Значительно чаще встречался ВГЧ-6, суммарно в 47 образцах (58,8%).

Таблица 8 – Сравнительный анализ частоты обнаружения ДНК ВГЧ в клинических образцах у пациентов группы IA

Клинические материалы	ДНК ВГЧ в исследованных образцах до и после лечения									
	ВЭБ		ЦМВ		ВГЧ-6		ВЭБ+ЦМВ		ЦМВ+ВГЧ-6	
	До	После	До	После	До	После	До	После	До	После
Эякулят	8	2	5	1	21	4	3	1	2	0
Уретра	4	1	0	0	7	2	1	0	0	0
СПЖ	5	1	4	1	15	3	3	1	2	1
Суммарно	17	4	9	2	43	9	7	2	4	1

Таким образом, в результате лечения пациентов группы IA валацикловиrom и интерфероном  $\alpha 2\beta$  с антиоксидантами количество положительных на герпесвирусы IV-VI проб уменьшилось с 80 до 18 (на 77,5%).

Данные анализа проб от 39 пациентов группы IB до и после лечения представлены в Таблице 9. Они показали, что до лечения ВГЧ встречались суммарно в 48 образцах: в 10 образцах (20,8%) эякулята, в 19 образцах (39,6%) соскобов из уретры и в 19 (39,6%) - в соке простаты. ЦМВ и ВЭБ обнаружены в 12 и 14 образцах соответственно, включая образцы с сочетаниями 2-х ВГЧ. Как и в группе IA, значительно чаще встречался ВГЧ-6, суммарно в 26 из 48 образцов (54,2%). Различий между группами IA и IB в содержании вирусной инфекции до лечения не наблюдали (Хи-квадрат,  $p > 0.05$ ).

Таблица 9 - Сравнительный анализ частоты обнаружения ДНК ВГЧ в клинических образцах у пациентов группы IB

Клинические материалы	ДНК ВГЧ в исследованных образцах до и после лечения									
	ВЭБ		ЦМВ		ВГЧ-6		ЦМВ+ВЭБ		ЦМВ+ВГЧ-6	
	До	После	До	После	До	После	До	После	До	После
Эякулят	1	1	4	2	3	2	1	0	1	1
Уретра	5	0	0	0	13	7	1	0	0	0
СПЖ	5	1	4	1	9	5	1	1	0	0
Суммарно	11	2	8	3	25	14	3	1	1	1

После лечения ВГЧ были обнаружены в 21 образце. В целом, количество инфицированных ВГЧ образцов после лечения снизилось на 56,2%, что является статистически значимым ( $p < 0.01$ ).

Таким образом, терапия комбинацией валацикловира и  $\alpha 2\beta$  интерферона с антиоксидантами привела к элиминации герпесвирусов IV-VI типов из 77,5% проб, а терапия  $\alpha 2\beta$  интерфероном, тамсулозином и диклофенаком – из 56,2% проб. Различия вирусологической эффективности применяемых схем лечения являются статистически значимыми ( $p = 0.028$ ).

Концентрация вирусов – один из главных показателей патогенного потенциала инфекции и эффективности этиотропного лечения. Представляется важным исследовать динамику вирусной нагрузки в эякуляте, секрете предстательной железы и уретре на фоне противовирусной терапии в исследуемых группах у тех пациентов, у которых не произошла элиминация вирусов.

Количественный анализ ДНК изученных ВГЧ, представленный в Таблице 10, выявил значительную вариабельность значений в исследуемых материалах. Исходно до лечения средние концентрации вирусов не различались у пациентов групп IA и IB ( $p > 0.05$ ). Из трех изученных материалов максимальное медианное значение было определено в соскобе из уретры и оказалось высоким — 3510 копий/100 тыс. кл.

Таблица 10 – Частота встречаемости и концентрация ВГЧ в исследованных клинических материалах **до лечения**

Клинические образцы (n=103)	ДНК ВГЧ, n (%)	Концентрации ВГЧ, копии на 100 тыс.кл.
Эякулят	54 (60,2)	960 (150;16.911.660)
Уретра	24 (23,3)	3510 (50;598.440)
Простата	60 (58,3)	830 (180;6.683.160)

После лечения наблюдали статистически значимое снижение вирусной нагрузки в изучаемых группах (Таблица 11).

Таблица 11 – Концентрации ВГЧ в эякуляте, уретре и секрете предстательной железы у пациентов IA и IB групп **после лечения**

	Группа IA	Группа IB	Достоверность (p)
Эякулят	12 (1;7.510)*	52 (18;13.850)	0.0324
Уретра	18 (3;3.260)	110 (86;24.230)	<0.01
Простата	11 (1;1.140)	83 (62-12.170)	0.0241

Сопоставление результатов динамики вирусной нагрузки демонстрирует статистически значимые различия показателей как до- и после- лечения ( $p < 0.05$ ), так и различия между группами IA и IB. Таким образом, супрессия герпесвирусов оказалась более выраженной в группе пациентов IA, получавшей длительную противовирусную терапию валацикловиrom и интерфероном  $\alpha 2\beta$  с антиоксидантами ( $p < 0.05$ ).

Представляют интерес результаты обследования 18 пациентов групп IA и IB, у которых вирусная нагрузка ВГЧ IV-VI типов в секрете предстательной железы была больше, чем в уретре,

по крайней мере на 2 порядка. В результате лечения произошло минимум 5-кратное снижение вирусной нагрузки, что сопровождалось элиминацией клинической симптоматики, определяемой с помощью шкалы NIH-CPSI. Полученные данные также свидетельствуют в пользу участия ВГЧ IV-VI типов в этиологии ХП/СХТБ.

### **Оценка вирусологической эффективности терапии в группах IA и IB в отношении ВПЧ ВКР**

До лечения в группах IA и IB вирусы папилломы человека высокого канцерогенного риска были выявлены у 20 из 103 человек (19,4%). Средняя концентрация ВПЧ ВКР до лечения составляла  $3.8 \pm 1.2 \lg_{10}$  на 100.000 клеток, а после – 3,3 (0; 5.76). У 4х пациентов после лечения ВПЧ ВКР не выявлялся, у 9 – концентрация понизилась, а у 7 – повысилась. Более того, повторное тестирование ВПЧ ВКР после лечения показало наличие этих вирусов у 6 человек, которые до лечения были ВПЧ негативными.

Анализ данных с помощью определения t-парного критерия Стьюдента для связанных групп показало, что изменения не являются статистически значимы ( $f=19$ , парный t-критерий Стьюдента равен -3.264, критическое значение t-критерия Стьюдента при данном числе степеней свободы составляет 2.093). Таким образом терапия интерфероном- $\alpha 2\beta$  с антиоксидантами, к сожалению, *не влияла* на инфицирование и вирусную нагрузку ВПЧ ВКР в исследуемых группах.

### **Клиническая оценка терапевтической эффективности комплексного лечения**

Терапевтическую эффективность оценивали по результатам анкетирования с помощью шкалы NIH-CPSI.

Данные, полученные после проведения лечения пациентов по схемам, указанным выше, представлены в Таблице 12. Статистическая обработка данных показала, что после лечения статистически значимо снижалась тяжесть симптомов по всем показателям. Снижение общей оценки по шкале NIH-CPSI в баллах после лечения составило в среднем  $10,2 \pm 2,6$  баллов. Улучшение по всем клиническим признакам в группе II произошло более чем на 42%.

Таблица 12 – Динамика **общей оценки** индекса NIH-CPSI в группах исследования

	Группа IA n=64	Группа IB n=39	Группа II n=184
Баллы до лечения	21,8±4,7	19,4±5,1	18,3±4,2
Баллы после лечения (3 мес)	8,7±2,6	10,1±2,7	10,5±2,8
Статистическая значимость различий до и после лечения	p<0,01	p<0,01	p<0,01
Разница в баллах до и после лечения	13,1±1,9	9,3±1,3	7,8±1,2
Улучшение по клиническим признакам, %	60,1	47,9	42,6

Различия в эффективности терапии пациентов трех групп к концу лечения не достигали статистической значимости, однако наблюдали тенденцию к лучшему разрешению симптомов в группе IA (Таблица 13). Представляется важным, что эффективность противовирусных схем лечения у пациентов с выявленными герпесвирусами IV-VI типа не уступает стандартному лечению, применяемому пациентам с ХП/СХТБ.

Таблица 13 – Динамика выраженности боли и нарушений мочеиспускания (по шкале NIH-CPSI)

	Группа IA n=64	Группа IB n=39	Группа II n=184
Баллы до лечения	13,4±3,7	12,5±3,0	11,9±3,2
Баллы к концу лечения (3 мес)	6,2±1,3	6,0±1,7	6,4±1,45
Статистическая значимость различий до- и к концу лечения	p<0,01	p<0,01	p<0,01
Разница в баллах до и к концу лечения	7,2±1,4	6,5±1,3	7,9±2,2
Улучшение по клиническим признакам, %	53,7	52,0	41,2

Боль и нарушения мочеиспускания – наиболее значимые при ХП/СХТБ симптомы, которые имеют наибольшее влияние на показатели качества жизни пациентов. У пациентов групп IA и IB имела тенденция к лучшему разрешению симптомов, однако разница с группой II не достигала статистической значимости (p>0.05).

До лечения более, чем у половины пациентов исследуемых групп имелись расстройства мочеиспускания. Представляется важным проследить их динамику до и к концу лечения с помощью специализированного опросника IPSS (Таблица 14). Следует учитывать, что пациенты групп IB и II получали длительную терапию селективным α1-адреноблокатором тамсулозином.

Таблица 14 – Динамика показателей нарушения мочеиспускания (по шкале IPSS) в группах пациентов

	Группа IA n=64	Группа IB n=39	Группа II n=184
Баллы до лечения	14,2±3,7	15,4±4,1	13,9±3,6
Баллы к концу лечения	10,8±2,6	8,1±2,2	7,7±2,4
Статистическая значимость различия до- и после лечения	p>0.05	<b>p&lt;0.01</b>	<b>p&lt;0.01</b>
Разница в баллах до- и после лечения	3,4±0,6	7,3±1,8	6,2±1,7
Улучшение по клиническим признакам, %*	23,9	47,4	44,6

Примечание: \* отношение разницы в баллах к среднему количеству баллов до лечения, в %.

Таким образом, в результате лечения получили достоверное снижение IPSS в группах IB и II. При этом достоверная разница в эффективности терапии трех групп отсутствовала. Наблюдали лишь тенденцию к более значительному снижению баллов в группах IB и II.

### *Оценка динамики урофлоуметрии в результате лечения пациентов с ХП/СХТБ*

Расстройства мочеиспускания имелись более чем у половины пациентов. Тем из них, которые вошли в группы IБ и II назначала  $\alpha$ 1-блокатор тамсулозин в течение 3 мес. Помимо жалоб представляется важным оценить динамику объективных параметров скорости потока мочи с помощью урофлоуметрии (Таблица 15).

Таблица 15 – Динамика показателей максимальной скорости потока мочи ( $Q_{max}$ ) по результатам урофлоуметрии

	Группа IА	Группа IБ	Группа II
До лечения	11,7±2,9	12,5±2,3	13,8±3,7
Конец лечения (3 мес)	13,1±3,7	19,1±4,2	18,2±4,4
P	p>0.05	<b>p=0.02</b>	<b>p=0.04</b>
Разница скорости до- и после лечения, %	1,4±0,4 12%	6.6±1.4 59,2%	4,4±1,7 40,6%

*Примечание: данные скорости потока мочи в мл/сек*

Данные исследования показали, что максимальная скорость мочеиспускания достоверно увеличилась у пациентов IБ и II групп, в то время как рост  $Q_{max}$  в группе IА был не столь заметным.

### *Динамика индекса симптомов ХП/СХТБ за 6 мес.*

Один из основных показателей эффективности лечения является динамика симптомов согласно индексу NIH CPSI.

Ниже в Таблице 16 представлены средние значения шкалы NIH CPSI по месяцам, где 0 – состояние до лечения, а 1-6 - состояние через соответствующее количество месяцев после начала лечения.

Таблица 16 – Динамика индекса NIH-CPSI до-, в процессе и после курса лечения

Месяцы	Группа IА	Группа IБ	Группа II
0 (до лечения)	21,8±4,7	19,4±5,1	18,3±4,2
1	14,9±4,1 <sup>1</sup>	8,3±2,2 <sup>2</sup>	7,2±1,9 <sup>3</sup>
2	11,2±2,8	8,7±1,7	10,1±3,1
3 (конец лечения)	8,7±2,6	10,1±2,7	10,5±2,8
4	8,2±2,4	10,7±3,1	12,1±2,6
5	7,7±2,1	11,2±2,2	12,2±3,4
6	7,2±2,2 <sup>4</sup>	9,6±2,1 <sup>5</sup>	12,5±2,6 <sup>6</sup>

*Разница достоверна для значений:  $p^{1-2}=0,024$ ;  $p^{1-3}=0,012$  и  $p^{4-6}=0,018$*

Анализ данных шкалы NIH-CPSI демонстрирует, что выбранные этиопатогенетические схемы противовирусного лечения групп IА и IБ по эффективности сопоставимы с результатами лечения стандартной схемой в группе II. Через 3 месяца (к окончанию лечения) достоверной разницы по шкале NIH-CPSI ни в одной группе не наблюдали.

Тем не менее, в динамике возможно отметить некоторые различия:

- Пациенты группы IA, которых лечили валацикловиром 500 – 3 мес и интерфероном  $\alpha 2\beta$  с антиоксидантами имели достоверно лучшие отдаленные результаты через 6 месяцев после начала лечения: NIH-CPSI  $7.2 \pm 2.2$  балла против  $12.5 \pm 2.6$  (в группе сравнения II). В то же время, пациенты группы IA имели достоверно худшие ближайшие результаты (через 1 мес) от начала лечения: NIH-CPSI  $14,9 \pm 4,1$  баллов против  $8,3 \pm 2,2$  (в группе IB) и  $7,2 \pm 1,9$  (в группе сравнения II).
- Пациенты группы IB, которых лечили интерфероном-  $\alpha 2\beta$  с антиоксидантами (20 дней), тамсулозином (3 мес) и диклофенаком (10 дней) имели сопоставимые результаты лечения с группой сравнения II на всем протяжении лечения и наблюдения с некоторой тенденцией к улучшению к концу периода наблюдения (6 месяцев).

### ***Репродуктивный исход у пациентов исследуемых групп***

Изначально бесплодие, в качестве коморбидного состояния верифицировали у 23 мужчин. При этом в группе IA было 5 из 64 человек (7,8%), в группе IB – 3 из 39 человек (7,7%), а в группе II – 15 из 184 человек (8,2%). Различий в частоте бесплодия между группами не наблюдали.

В результате терапии в течение 6 мес наблюдали наступление беременности у партнерш 10 из 23 мужчин, которые распределились по группам следующим образом: 4 из 5 – группа IA, 2 из 3 - группа IB, и 4 из 15 группа II. Статистический анализ показал, что различия в частоте наступления беременности между группами IA и II достоверны (отношение рисков – 11.0, 95% доверительный интервал от 0.93 до 130.33,  $f=0.11$ , Хи-квадрат – 4.44).

Если объединить данные IA и IB групп у которых беременность возникла у 6 из 8 партнерш, то разница с репродуктивными исходами группы II (у 4 из 15) также оказывается достоверной: значение критерия  $\chi^2$  составляет 4.960, критическое значение  $\chi^2$  при уровне значимости  $p=0.05$  составляет 3.841, уровень значимости различий между группами  $p=0.026$

Таким образом, противовирусная терапия, проведенная пациентам с вирус-ассоциированным ХП/СХТБ и бесплодием оказалась более эффективной, чем стандартное лечение ХП/СХТБ с помощью терапии антибиотиком, НПВС и  $\alpha 1$ -блокатором.

### ***Оценка переносимости лечения пациентов исследуемых групп***

В зависимости от назначенного лечения 103 пациента с обнаруженными вирусами были разделены на группу IA ( $n=64$ ) и IB ( $n=39$  чел). Пациентов группы IA лечили валацикловиром 500 мг 2 раза в день в течение 3 мес, свечи интерферон  $\alpha 2\beta$  1 млн. МЕ на ночь в течение 30 дней. Пациенты группы IB получали тамсулозин 0.4 мг – 90 дней, диклофенак 50 мг ректально – 10 дней, свечи интерферон  $\alpha 2\beta$  1 млн. МЕ на ночь в течение 20 дней. В целом переносимость

терапии была приемлемой. Основными нежелательными лекарственными явлениями были со стороны ЦНС, желудочно-кишечного тракта и мочеполовой сферы (Таблица 17).

Таблица 17 – Нежелательные лекарственные явления у пациентов исследуемых групп

	Группа IA n=64	Группа IB n=39	Группа II n=184
Головная боль, головокружение n, (%)	1 (1,6%)	1 (5,1%)	7 (3,8%)
Гипотензия, сердцебиение n, (%)	-	1 (7,7%)	3 (1,6%)
Нарушения сна n, (%)	-	-	4 (2,2%)
Диарея, рвота, тошнота n, (%)	1 (1,6%)	1 (5,1%)	6 (3,3%)
Ретроградная эякуляция n, (%)	-	3 (10,3%)	16 (8,7%)
Всего n, (%)	2 (3,1%) <sup>a</sup>	6 (15,3%) <sup>б</sup>	36 (19,6%) <sup>в</sup>

При анализе четырехпольных таблиц:  $p^{a-b}=0,025$ ,  $p^{a-c}=0,02$ ,  $p^{b-c}>0,05$

Таким образом, комбинация валацикловира и  $\alpha 2\beta$  -интерферона (группа IA) имела достоверно лучший профиль безопасности. Среди пациентов группы II наблюдали наибольшее количество нежелательных лекарственных явлений, сравнимое с таковыми группы IB.

#### ***Электронно-микроскопическое исследование сперматозоидов***

Влияние курса терапии оценивали также методом электронной микроскопии. Изучение сперматозоидов 11 пациентов с бесплодием групп IA, IB и II показало, что если до лечения капсулы ВГЧ IV-VI типов обнаруживали у 8 пациентов, то после лечения – лишь у 4, при том, что у 3 из них количество сперматозоидов с капсулами в среднем уменьшилось более чем в 2 раза: с 12% до 5% инфицированных гамет в эякуляте.

Таким образом, применяемые схемы лечения проводили к элиминации и/или сокращению количества вирусных частиц внутри сперматозоидов, что позволяет рассчитывать на восстановление фертильности спермы.

#### **Исследование динамики уровней цитокинов в эякуляте в исследованных группах**

##### ***Определение роли цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ и IFN $\gamma$ у пациентов с вирусной инфекцией до и после противовирусной терапии***

Для изучения роли цитокинов определяли содержание IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  и IFN $\gamma$  на случайно отобранных пациентах группы IA (n=8), IB (n=8), II (n=9) до и после лечения. Контрольной служила группа 10 здоровых мужчин без вирусной инфекции и клинико-лабораторных признаков воспалительных заболеваний урогенитального тракта. Уровни цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  и IFN $\gamma$  в группах пациентов представлены в Таблице 18.

Таблица 18 – Динамика уровней цитокинов эякулята в результате терапии ХП/СХТБ в исследуемых группах в сравнении с контрольной группой здоровых мужчин

	Содержание цитокинов в спермоплазме до и после лечения, пг/мл							
	IL-1 $\beta$		IL-6		TNF- $\alpha$		IFN $\gamma$	
	До	После	До	После	До	После	До	После
Группа IA, n=8	28,5 (13,5- 47,3)	22,3 (12,8- 30,7)	29,7*# (17,4- 37,1)	13,5# (7,2- 22,7)	23,1 (11,5- 30,4)	19,1 (7,9- 24,8)	7,3*# (2,1- 13,1)	27,3# (15,3- 34,7)
Группа IB, n=8	31,7 (10,2- 50,8)	24,6 (16,7- 46,2)	26,8*# (17,3- 45,3)	14,5# (5,9- 25,6)	24,6 (12,7- 35,6)	17,9 (7,7- 30,1)	9,3*# (5,1- 21,8)	21,6# (12,4- 31,8)
Группа II n=9	44,1*# (27,7- 61,4)	25,6# (11,6- 40,2)	31,4* (19,7- 41,5)	24,7 (14,3- 33,4)	35,1# (19,7- 50,3)	21,8# (14,3- 32,5)	26,6 (11,2- 45,1)	24,2 (9,1- 32,1)
Группа контроля, n=10	22,1 (12,6- 30,4)		12,4 (4,1- 22,4)		16,7 (7,4- 31,6)		23,8 (11,2- 39,7)	

Примечание: \*  $p < 0,05$  – достоверность различий концентрации цитокинов до лечения в сравнении с группой контроля (тест Манна-Уитни);

#  $p < 0,05$  – достоверность различий показателей в группах до и после лечения (парный тест Уилкоксона)

### Характеристика цитокинового профиля до лечения

**Группа IA** характеризовалась достоверно повышенными в спермоплазме уровнями IL-6, а также тенденцией к повышению IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$  по сравнению с группой здоровых лиц. Также наблюдали достоверно сниженные значения IFN $\gamma$  ( $p=0,017$ ).

**В группе IB** в сравнении с группой контроля наблюдали схожие с группой IA изменения: достоверное повышение уровня IL-6 и тенденцию к повышению IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$ . Уровень IFN $\gamma$  в этой группе имел тенденцию к снижению ( $p=0,07$ ).

Таким образом, в группах, инфицированных вирусами герпеса и папилломавирусами провоспалительный цитокин IL-6 имел достоверно 2х-3хкратно повышенные значения с тенденцией к повышению других провоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$ ). Противовоспалительный и противовирусный цитокин IFN $\gamma$  в этих группах имел достоверно низкие значения. Это может указывать на нарушение кооперации клеток врожденного и адаптивного иммунитета, которые привели к вирусной инфекции.

**Группа II** характеризовалась достоверно более высокими по сравнению с группой здоровых лиц уровнями провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-6 и TNF- $\alpha$ . В отличие от групп IA и IB, содержание IFN $\gamma$  достоверно не отличалось от контрольной группы. Это может косвенно указывать на дисрегуляцию иммунного ответа у исследуемых больных.

### *Динамика уровней цитокинов в группах больных в результате лечения*

В группе **IA** в результате лечения наблюдали достоверное снижение уровней IL-6 ( $p < 0.01$ ) и тенденцию к снижению IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$ .. При этом содержание IFN $\gamma$  значительно повысилось, несколько превышая значения этого показателя в контрольной группе.

В группе **IB** наблюдали схожие изменения: достоверное снижение IL-6 и тенденцию к снижению IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$  ( $p > 0.05$ ). При этом средний уровень IFN $\gamma$  достигал нормального значения (достоверная разница с данными до лечения). Снижение провоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-6 и TNF- $\alpha$ ) и повышение IFN $\gamma$  указывает на противовоспалительный эффект проводимой терапии.

В группе **II** в результате лечения отмечено достоверное снижение уровней IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , а также тенденцию ( $p = 0.07$ ) к снижению IL-6 спермоплазмы, что может отражать противовоспалительный эффект проводимой терапии. Изменений IFN $\gamma$  в отсутствие терапии интерфероном  $\alpha 2\beta$  не наблюдали.

### *Характеристика цитокинового профиля в группах с герпесвирусами и папилломавирусами и без таковых*

Представляется важным проанализировать влияние различных вирусных инфекций на содержание и динамику цитокинов у пациентов с ХП/СХТБ (Таблица 19). Для этого данные всех пациентов, у которых выявлялась вирусная инфекция, разделили на группу А с герпесвирусами ВЭБ, ЦМВ и ВГЧ-6 ( $n = 10$ ) и группу В – теми же герпесвирусами плюс папилломавирусами высокого канцерогенного риса ( $n = 6$ ). Для сравнения представлены ранее полученные данные пациентов с ХП/СХТБ без вирусов и контрольной группы.

Таблица 19 – Динамика уровней цитокинов спермоплазмы в результате терапии у пациентов ХП/СХТБ в сравнении с данными здоровых мужчин

	Содержание цитокинов в спермоплазме до и после лечения, пг/мл							
	IL-1 $\beta$		IL-6		TNF- $\alpha$		IFN $\gamma$	
	До	После	До	После	До	После	До	После
Группа А. Герпесвирусы, $n = 10$	23,9 (10.2- 30.9)	24.7 (18.7- 30.7)	28.7*# (17.3- 41.3)	14.1# (5.9- 25.6)	24.6 (11.5- 32.5)	19.1 (7.7- 21.6)	7,4*# (2.1- 13.1)	21.2# (12.4- 28.4)
Группа В. Герпесвирусы+ папилломавирусы, $n = 6$	38.7* (33.6- 50.8)	22 (18.3- 46.2)	26.8*# (18.5- 31.2)	14.7# (14.3- 33.4)	25.7 (12.7- 35.6)	20.1 (12.8- 30.1)	9,2*# (4.2- 14.7)	28.5# (22.1- 34.2)
ХП/СХТБ без вирусов $n = 9$	44,1*# (27.7- 61.4)	25,6# (11,6- 40,2)	31,4* (19,7- 41,5)	24,7 (14,3- 33,4)	35,1*# (19,7- 50,3)	21,8# (14,3- 32,5)	26,6 (11,2- 45,1)	24,2 (9,1- 32,1)
Контроль $n = 10$	22,1 (12,6- 30,4)		12,4 (4,1- 22,4)		16,7 (7,4- 31,6)		23,8 (11,2- 39,7)	

Примечания: \*  $p < 0,05$  – достоверность различий концентрации цитокинов в сравнении с группой контроля до лечения (тест Манна-Уитни);

#  $p < 0,05$  – достоверность различий показателей в группах до и после лечения (парный тест Уилкоксона)

Группа с ХП/СХТБ и изолированным инфицированием ЦМВ, ВЭБ и/или ВГЧ-6 в сравнении с группой контроля характеризовалась достоверно более высоким уровнем IL-6 и сниженным – IFN $\gamma$ . При этом IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$  имели тенденцию к превышению нормальных значений.

Группа мужчин с ХП/СХТБ и вирусной инфекцией герпес- и папилломавирусами характеризовалась достоверно повышенными уровнями IL-1 $\beta$  и IL-6 и тенденцией к повышению TNF- $\alpha$ . Содержание IFN $\gamma$  у этих пациентов было также достоверно снижен в сравнении с контролем.

Группа мужчин с ХП/СХТБ без вирусной инфекции показала достоверно более высокие уровни IL-1 $\beta$ , IL-6 и TNF- $\alpha$ , при этом значение IFN $\gamma$  не отличалось от контрольной группы.

В ходе терапии наблюдали достоверную динамику цитокинов:

- IL-1 $\beta$  достоверно снизился в группе ХП/СХТБ без вирусов ( $p < 0.05$ );
- IL-6 снизился до близких к нормальному показателю значений в группах с вирусными инфекциями;
- TNF- $\alpha$  снизился до нормальных значений в группе ХП/СХТБ без вирусов;
- IFN $\gamma$  повысил свои значения в группах с вирусными инфекциями и не менялся в группе ХП/СХТБ без вирусов.

Таким образом, вирусная инфекция у пациентов с ХП/СХТБ сопровождалась повышением провоспалительных цитокинов и снижением противовоспалительных. Терапия этих мужчин с включением интерферона  $\alpha 2\beta$  приводила к модуляции уровней цитокинов т.е. высокие IL-1 $\beta$ , IL-6 и TNF- $\alpha$  снижались, а низкие IFN $\gamma$  – повышались. Стандартное антибактериальное лечение мужчин ХП/СХТБ без вирусной инфекции приводило к снижению противовоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-6 и TNF- $\alpha$ .

### **Заключение**

Подводя итоги данного диссертационного исследования, следует констатировать, что ВЭБ, ЦМВ, ВГЧ-6 и ВПЧ ВКР у мужчин с урогенитальной патологией выявляются у 3.9%, 6.4%, 10.3% и 14,6% соответственно при том, что в контрольной группе здоровых мужчин вышеуказанные вирусы не выявляли. Изученные вирусы в 87.5% были локализованы в клеточной фракции эякулята, их наличие приводило к 1,5-2х кратному снижению доли морфологически нормальных форм сперматозоидов. При этом ЦМВ выявляли в наибольшей концентрации (более 2000 на 100.000 тыс клеток), и его обнаружение было связано с более чем двукратным снижением концентрации сперматозоидов. Экспериментальное исследование продемонстрировало, что ЦМВ способен в течение 2х часов инфицировать 2% сперматозоидов, при этом вирус локализовался внутри половых клеток.

Доля выявленных генотипов ВПЧ ВКР оказалось достоверно наибольшей у мужчин с бесплодием и ХП/СХТБ (22,2%), при этом их средняя концентрация (2455 копий на 100.000 клеток) была максимальной в группе фертильных мужчин с ХП/СХТБ.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о негативном влиянии ВГЧ-IV-VI типов и ВПЧ ВКР на фертильность мужчин и их этиопатогенетическую связь с ХП/СХТБ, что требует проведения противовирусного лечения.

Клиническая картина ХП/СХТБ, ассоциированного с ВГЧ-IV-VI типов и ВПЧ ВКР характеризовалась достоверно более частым анамнезом уретральных ИППП (45,6%), курсов лечения «хронического простатита» (36,9%), наличием субклинической депрессии (70,9%) и тревоги (28,1%).

Терапия вирус-ассоциированного ХП/СХТБ с помощью противовирусных агентов и/или симптоматических препаратов приводила к достоверному снижению вирусной нагрузки (минимум в 5 раз) или негативации (в среднем на 69,5%) ЦМВ, ВЭБ и ВГЧ-6, что приводило к значимому разрешению симптомов заболевания. В результате лечения получено снижение индекса NIH CPSI на 9,8-14,6 баллов в группе вирус-ассоциированного ХП/СХТБ в сравнении со снижением на 7,8 баллов в группе стандартного лечения.

Электронно-микроскопическое исследование показало положительный эффект терапии в виде элиминации внутригаметного инфицирования герпесвирусами сперматозоидов с 12 до 5% сперматозоидов. Как следствие, беременность у супруг вирус-ассоциированных бесплодных мужчин наступила в 6 из 8 случаев. Репродуктивные исходы лечения бесплодных пациентов также подтверждают роль изучаемых вирусов при мужском бесплодии и эффективность терапии валацикловиром и  $\alpha 2\beta$ -интерфероном с антиоксидантами.

Проводимая противовирусная терапия оказывала противовоспалительных эффект, который выражался в нормализации уровня спермоплазменных провоспалительных цитокинов ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ФНО-  $\alpha$ , а также противовоспалительных ИНФ $\gamma$ .

Отсутствие эффекта в отношении ВПЧ ВКР заставляет задуматься в отношении применения профилактической квадριвалентной вакцины, которая по данным литературы показала эффективность в элиминации вируса из эякулята.

Результаты исследования имеют важное народно-хозяйственное значение, которое состоит в оптимизации диагностики и лечения таких важных социально-значимых заболеваний как синдром хронической тазовой боли и мужское бесплодие.

## ВЫВОДЫ

1. Вирусы герпеса IV-VI типов являются кофакторами бесплодия, которые реализуют свой этиопатогенетический потенциал посредством ухудшения базовых параметров качества спермы: концентрации и доли сперматозоидов с нормальным строением. Высокая концентрация герпесвирусов IV-VI типов у мужчин может выступать самостоятельным фактором, приводящим к бесплодию. Вирусы герпеса IV-VI типов достоверно ассоциированы с воспалительным ХП/СХТБ.
2. Цитомегаловирус способен инфицировать мужские половые клетки *in vivo* и *in vitro*, прикрепляясь к сперматозоидам и проникая внутрь этих клеток. Внутриклеточная локализация ЦМВ в головке, шейке и хвосте сперматозоидов может приводить к ухудшению подвижности, нарушению функционирования генетического аппарата спермиев с последующим формированием клеток с аномальным строением, что приводит к нарушению фертильности спермы.
3. ВПЧ ВКР являются независимым фактором риска, ассоциированным с бесплодием и воспалительным синдромом хронической тазовой боли (ХП/СХТБ). ВПЧ ВКР при высокой вирусной нагрузке выступает в качестве провоспалительного агента при ХП/СХТБ. При этом коинфекция различными генотипами ВПЧ ВКР на фоне ХП/СХТБ, ассоциирована с бесплодием.
4. ВГЧ IV-VI типов и ВПЧ ВКР при наличии ХП/СХТБ приводит к снижению концентрации сперматозоидов и уменьшению доли морфологически нормальных сперматозоидов. Наибольший вклад в ухудшение качества спермы имеет цитомегаловирус. ВЭБ может быть причиной парадоксального увеличения подвижности сперматозоидов.
5. Пациенты с ХП/СХТБ, ассоциированными с ВГЧ IV-VI типов и ВПЧ ВКР имеют достоверно более частые анамнестические данные об уретральных ИППП и курсах лечения хронического простатита, более частой коморбидностью депрессивными и тревожными расстройствами.
6. Урогенитальная инфекция ВГЧ IV-VI типов и ВПЧ ВКР происходит на фоне сниженного содержания ИНФ- $\gamma$  и приводит к повышению концентраций провоспалительных цитокинов ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6. Терапия с включением ациклических нуклеозидов, интерферона  $\alpha 2\beta$  оказывает противовоспалительное действие и нормализует уровень ИНФ- $\gamma$ .
7. Схема лечения валацикловиром 500 мг 2 раза в день – 3 мес совместно с интерфероном  $\alpha 2\beta$  1 млн МЕ – 30 дней показала наилучший долгосрочный клинический результат при оценке через 6 месяцев. Эта схема имеет наилучший профиль безопасности среди других применяемых в исследовании схем терапии.

Схема лечения интерфероном  $\alpha 2\beta$  1 млн МЕ – 20 дней, тамсулозин 0,4 мкг – 3 мес и суппозитории диклофенак 50 мг – 10 дней имела благоприятный профиль клинической эффективности как в ближайшей так и в отдаленной перспективе не уступающий таковой в группе лечения стандартной схемой.

Из двух схем противовирусной терапии, терапия валацикловиrom 500 мг x2 раза в день – 3 мес совместно с интерфероном  $\alpha 2\beta$  1 млн МЕ – 30 дней показала наилучший вирусологический результат в виде сокращения числа мужчин с ВГЧ IV-VI типов и наибольшим снижением их концентрации.

Противовирусное лечение с помощью валацикловира и/или интерферона  $\alpha 2\beta$  обладает преимуществом перед стандартными схемами в восстановлении репродуктивного потенциала у пациентов с бесплодием, ассоциированным с ВГЧ IV-VI типов и ВПЧ ВКР.

Валацикловир и интерферон  $\alpha 2\beta$  оказывают противовирусный эффект при внутриклеточном инфицировании сперматозоидов герпесвирусами IV-VI типов, а иммуноцитохимическое и электронно-микроскопическое исследования сперматозоидов являются надежными инструментами оценки внутриклеточного инфицирования.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

При проведении диагностического поиска этиопатогенетических причин бесплодия и ХП/СХТБ необходимо принимать во внимание возможность урогенитальной инфекции ВГЧ IV-VI типов и использовать количественные молекулярно-генетические методы (ПЦР в реальном времени) их выявления в урогенитальных пробах.

При ведении пациента с патоспермией необходимо учитывать этиопатогенетическую роль цитомегаловирусной инфекции, способной инфицировать сперматозоиды и вызывать снижение фертильности эякулята путем снижения концентрации и доли нормальных форм сперматозоидов.

В диагностический поиск при мужском бесплодии и ХП/СХТБ целесообразно включать количественные молекулярно-генетические методы (ПЦР в реальном времени) для определения вирусной нагрузки ВПЧ ВКР в урогенитальных образцах.

При ведении пациентов с олигозооспермией и тератозооспермией необходимо проводить обследование на ВГЧ IV-VI типов и ВПЧ ВКР, как возможных этиопатогенетических факторов снижения фертильности и бесплодия.

При клиническом исследовании пациентов с ХП/СХТБ необходимо обращать особое внимание на анамнестические данные уретральных ИППП, предшествующего лечения хронического простатита/тазовых болевых синдромов, а также проводить оценку

психосоциального статуса с помощью доступных опросников.

У мужчин с ХП/СХТБ (в т.ч. ассоциированного с ВГЧ IV-VI типами и ВПЧ ВКР) мониторинг ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ФНО- $\alpha$  и ИНФ- $\gamma$  в сперме может применяться для контроля воспалительного процесса органов малого таза. Снижение уровня спермального ИНФ- $\gamma$  может выступать предиктором вирусных инфекций урогенитальной сферы и служить маркером эффективности терапии.

Схемы лечения валацикловиrom 500 мг x2 раза в день – 3 мес совместно с интерфероном  $\alpha 2\beta$  1 млн МЕ – 30 дней или интерфероном  $\alpha 2\beta$  1 млн МЕ – 20 дней, тамсулозин 0,4 мкг – 3 мес и суппозитории диклофенак 50 мг – 10 дней могут быть рекомендованы для лечения пациентов с ХП/СХТБ, ассоциированных с ВГЧ IV-VI типов. При выборе терапии необходимо учитывать особенности динамики разрешения симптомов каждой схемы.

Лечение пациентов с ХП/СХТБ у которых имеется коинфекция различными вирусами герпеса либо высокая вирусная нагрузка ВГЧ IV-VI типов рекомендуется проводить с помощью схемы лечения валацикловиrom 500 мг x2 раза в день – 3 мес совместно с интерфероном  $\alpha 2\beta$  1 млн МЕ – 30 дней. Пациенты с моноинфекцией одним из герпесвирусов невысокого титра может быть пролечен интерфероном  $\alpha 2\beta$  1 млн МЕ – 20 дней, тамсулозин 0,4 мкг – 3 мес и суппозитории диклофенак 50 мг – 10 дней

Ведение бесплодных мужчин на фоне ХП/СХТБ, ассоциированных с ВГЧ IV-VI типов необходимо дополнять противовирусными препаратами: валацикловиrom и интерфероном  $\alpha 2\beta$ , что в подавляющем числе случаев заканчивается наступлением беременности у их партнерш.

Иммуногистохимическое и электронно-микроскопическое исследование сперматозоидов может быть включено в перечень диагностических исследований при ведении пациентов с ХП/СХТБ, ассоциированным с герпесвирусами IV-VI типов и осложненных бесплодием, а также для мониторинга эффективности терапии.

## **ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ**

Результаты исследования положили основание для начала широкого тестирования вирусов герпеса человека и вирусов папилломы человека высокого канцерогенного риска при хроническом простатите/синдроме хронической тазовой боли, а также мужском бесплодии. Полученные результаты позволяют уточнить этиологический спектр воспалительного синдрома и провести этиотропное лечение.

Данные могут быть использованы для ряда работ по оценке эффективности лечения другими противовирусными препаратами, поиск эффективных схем которых вытекает из выводов исследования.

Запланирована научная работа в рамках кандидатской диссертации

ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России «Влияние герпесвирусов на течение хронических гепатитов, воспалительных заболеваний уrogenитального тракта и противовирусная активность вновь синтезированных соединений» с целью оценки роль ГВЧ при хронических воспалительных заболеваниях уrogenитального тракта мужчин и изучения противовирусных свойств фуллерена C60 и его производных в отношении ЦМВ.

## ПЕРЕЧЕНЬ ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

*Публикации в изданиях, индексируемых наукометрическими базами данных*

**(Web of Science, Scopus, PubMed, Springer):**

1. **Ковалык В.П.** Хронический простатит, ассоциированный с герпесвирусами: диагностика и эффективность противовирусной терапии/ В.П. Ковалык, М.А. Гомберг, К.И. Юрлов, А.А. Куш // **Клиническая дерматология и венерология** – 2021. - №6. –с.60-65 [**Scopus**]
2. **Ковалык В.П.** Клинические особенности хронического простатита, ассоциированного с герпесвирусами/ В.П. Ковалык, М.А. Гомберг, К.И. Юрлов, А.А. Куш // **Клиническая дерматология и венерология** – 2022. - №1. – с.41-45 [**Scopus**]
3. **Ковалык В.П.** ВПЧ инфекция уrogenитального тракта мужчин: есть ли связь с бесплодием и хроническим простатитом?/ В.П. Ковалык, М.А. Гомберг, Е.В. Владимирова, К.И. Юрлов, А.А. Куш // **Клиническая дерматология и венерология** – 2023. - №3. [**Scopus**]
4. **Naumenko V.** Detection and quantification of human herpes viruses types 4-6 in sperm samples of patients with fertility disorders and chronic inflammatory urogenital tract diseases/ V. Naumenko, V. Kovalyk, Y. Tyulenev, L. Kurilo, L. Shileiko, T. Sorokina, V. Evdokimov, V. Yakovleva, E. Malolina, A. Kulibin, M. Gomborg, A. Kushch // **Andrology**. 2014 Sep;2(5):687-94. На английском: Детекция ВГЧ 4-6 типов в образцах спермы пациентов с нарушениями фертильности и хроническими воспалительными уrogenитальными заболеваниями. [**Scopus**]
5. **Ковалык В.П.** Мужское бесплодие, ассоциированное с цитомегаловирусной инфекцией: клинический случай/ В.П. Ковалык, В.В. Малиновская, А.Н. Шувалов, Л.Ф. Курило, М.А. Гомберг, А.А. Куш // **Журнал «Андрология и генитальная хирургия»** том 22, №1, 2021 г, стр 85-89 [**Scopus**]
6. **Евдокимов В.В.** Диагностика и лечение абактериального ХП/СХТБ III, ассоциированного с герпесвирусами/ В.В. Евдокимов, В.П. Ковалык, В.В. Малиновская, А.Н. Шувалов, А.А. Куш // **Урология**. 2019;3. Стр.23-30. [**Scopus**]
7. **Евдокимов В.В.** Количественная оценка ДНК вирусов папилломы человека высокого канцерогенного риска и герпесвирусов человека у мужчин при нарушении фертильности/ В.В. Евдокимов, В.А. Науменко, Ю.А. Тюленев, Л.Ф. Курило, В.П. Ковалык, Т.М. Сорокина, А.Л. Лебедева, М.А. Гомберг, А.А. Куш // **Журнал «Вопросы вирусологии»** - 2016; 61 (2): стр.63-68. [**Scopus**]

*Статьи в журналах, рекомендуемых ВАК:*

8. **Ковалык В.П.** Роль атипичных возбудителей урогенитальных инфекций у мужчин/ В.П. Ковалык, Д.Г. Ким, М.А. Гомберг, А.Е. Гушин, Е.В. Владимирова, К.И. Юрлов, А.А. Куш // **Современные проблемы науки и образования.** – 2022. – № 6-2.; URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=32338> (дата обращения: 22.03.2023). [ВАК]
9. **Ковалык В.П.** Роль герпесвирусов при мужском бесплодии/ В.П. Ковалык, М.А. Гомберг, Е.Е. Брагина, К.И. Юрлов, А.А. Куш // **РМЖ. Медицинское обозрение.** 2021;5(3):123–129. [ВАК]
10. **Ковалык В. П.** Анализ результатов комплексного лечения пациентов с хроническим простатитом при обнаружении герпесвирусов в урогенитальном тракте/ В.П. Ковалык, В.В. Евдокимов, В.В. Малиновская, Е.Н. Выжлова, Е.Е. Брагина, О.В. Масалова, Е.И. Леснова, М.А. Гомберг, А.А. Куш // **Журнал «Лечащий врач»** №12, 2016 г, стр. 71-76 [ВАК]
11. **Ковалык В.П.** Цитокиновый профиль спермоплазмы мужчин с хроническим простатитом/синдромом хронической тазовой боли и сопутствующей вирусной инфекцией на фоне комплексной противовирусной терапии/ В.П. Ковалык, Е.В. Сорокина, К.И. Юрлов, А.А. Куш // **Современные проблемы науки и образования.** – 2021. – № 6 URL: <https://science-education.ru/article/view?id=31260> (дата обращения: 06.12.2021). [ВАК]
12. **Ковалык В.П.** Что должен знать дерматовенеролог о инфекционном фенотипе хронической тазовой боли?/ В.П. Ковалык, М.А. Гомберг, Е.В. Владимирова, Г.Л. Колиева, К.И. Юрлов, А.А. Куш // **Врач.** – 2023. - №11 [ВАК]
13. **Ковалык В.П.** Цитомегаловирус, вирус Эпштейна-Барр и вирус герпеса 6 типа в качестве инфекций, передаваемых половым путем: обзор литературы/ В.П. Ковалык, Е.В. Владимирова, Г.Л. Колиева, К.И. Юрлов, М.А. Гомберг, А.А. Куш// **Современные проблемы здравоохранения и медицинской статистики.** – 2023. - №2 [ВАК]
14. **Ковалык В.П.** Ассоциация вируса герпеса человека 6 типа с синдромом хронической тазовой боли/ В.П. Ковалык, М.А. Гомберг, К.И. Юрлов, А.А. Куш // **РМЖ.** - 2021. - №6. - С. 53-55 [ВАК]

*Публикации в других журналах ВАК:*

15. **Владимирова Е.В.** Анализ распространенности вирусных инфекций, передаваемых половым путем по данным Федеральной лабораторной сети/ Е.В. Владимирова, В.П. Ковалык, С.В. Мураков, Ю.А. Маркова, А.А. Владимиров // **Клиническая практика,** №3, том 10, 2019 г, стр 35-41 [ВАК]
16. **Ковалык В.П.** Клиническое значение уреоплазм в урогенитальной патологии/ В.П. Ковалык, Е.В. Владимирова, Н.В. Рубашева, Н.С. Сирмайс // **Клиническая практика.** 2019. №1, том 10, стр. 81-87 [ВАК]
17. **Ковалык В.П.** Хронический простатит: дифференциальный диагноз/ В.П. Ковалык, Е.В. Екушева // **Клиническая практика.** 2019. №2, том 10, стр.85-90 [ВАК]

*Перечень ВАК (приравнивается к перечню РУДН до 31.12.2019):*

18. **Курило Л. Ф.** Влияние бессимптомных инфекций урогенитального тракта на показатели эякулята у мужчин с бесплодием на фоне варикоцеле/ Л.Ф. Курило, Т.М. Сорокина, Г.Н. Матющенко, В.В. Евдокимов, Е. А. Малолина, В.П. Ковалык, В.А. Яковлева, М.А. Гомберг, А.А. Куш // **Журнал «Андрология и генитальная хирургия»** - 2016 г. том 17, №2, стр. 98-103[ВАК]

19. **Евдокимов В.В.** Ассоциация герпесвирусов и вирусов папилломы человека с нарушением основных показателей спермы у мужчин с бесплодием и воспалительными заболеваниями уrogenитального тракта. **Журнал «Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы»** / В.В. Евдокимов, В.П. Ковалык, Л.Ф. Курило, Т.М. Сорокина, А.Л. Лебедева, Ю.А. Тюленев, В.А. Науменко, М.А. Гомберг, А.А. Куш // 2016 г №2, стр. 23-29. **[ВАК]**

#### *Монографии*

20. **Ковалык В.П.** Простатит и заболевания-имитаторы. Клинические разборы / М.И. Коган, Х.С. Ибишев, И.И. Белоусов, Ю.Л. Набока, В.П. Ковалык и др. под общ. ред: Коган М.И. - Москва. Изд-во: Медфорум, 2019 г, - 300 с. ISBN: 978-5-6041697-5-9
21. **Ковалык В.П.** Негонококковые уретриты / В.П. Ковалык - Рига, Латвия, Из-во: LAP LAMBERT Academic Publishing, 2018- 48 с. ISBN: 978-613-9-57511-4

#### *Справочники*

22. **Ковалык В.П.** Краткий справочник уролога: справочник. / А.А. Киричек, В.П. Ковалык, А.С. Маркова, О.А. Плеханова // 4-е издание, испр. и доп. – М.: АБВ-пресс, 2016 г, - 458 с. ISBN 978-5-903018-41-3.

#### *Клинические рекомендации*

23. **Кубанов А.А.** Клинические рекомендации «Аногенитальная герпетическая вирусная инфекция» [Электронный ресурс] / А.А. Кубанов, Н.Н. Потекаев, И.А. Аполихина, Н.К. Абудуев, М.М. Васильев, М.А. Гомберг, Н.В. Долгушина, О.Р. Зиганшин, Г.Л. Катунин, В.П. Ковалык, Д.И. Ласеев, А.В. Молочков, В.В. Онипченко, Ю.Н. Перламутров, К.И. Плахова, М.Р. Рахматулина, Н.И. Тапильская, А.А. Халдин, Н.И. Чернова, А.Е. Шульженко // **Рубрикатор клинических рекомендаций** - 2021. - Режим доступа: [https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/679\\_1](https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/679_1)
24. **Кубанов А.А.** Клинические рекомендации «Аногенитальные (венерические) бородавки» [Электронный ресурс] / А.А. Кубанов, Ю.А. Шельгин, И.А. Аполихина, Н.Д. Ахвледиани, Е.В. Богданова, Н.В. Большенко, А.В. Веселов, М.А. Гомберг, А.Е. Гушин, Н.В. Долгушина, О.В. Доля, Г.Л. Катунин, В.И. Кисина, В.П. Ковалык, И.В. Костарев, М.Н. Костава, Л.А. Любасовская, Е.А. Межевитинова, А.И. Москалев, А.А. Мудров, И.А. Нечаева, В.В. Онипченко, Ю.Н. Перламутров, К.И. Плахова, Н.Н. Потекаев, В.Н. Прилепская, Т.В. Припутневич, В.В. Соломка, Т.А. Сысоева, М.Р. Рахматулина, А.Ю. Титов, Н.В. Фриго, С.А. Фролов, Н.И. Чернова, В.В. Чикин // **Рубрикатор клинических рекомендаций** - 2021. - Режим доступа: [https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/204\\_1](https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/204_1)

#### *Конференции*

25. Ковалык В.П. Урогенитальные поражения, ассоциированные с вирусами герпеса IV-VI типов: принципы диагностики и лечения / **В.П. Ковалык**, М.А. Гомберг, Е.В. Владимирова, К.И. Юрлов, А.А. Куш // Сборник трудов XVI Всероссийский съезд национального альянса дерматовенерологов и косметологов, Москва, 14-16 марта 2023 г. - Москва, 2023. – с. 47.
26. **Ковалык В.П.** Роль герпесвирусов в воспалительных заболеваниях уrogenитального тракта у мужчин / **В.П. Ковалык**, К.И. Юрлов, В.В. Евдокимов, А.А. Куш // Сборник материалов

- конгресса с международным участием «Молекулярная диагностика и биобезопасность-2022», Москва, 27-28 апреля 2022 г., - Москва, 2022. - с.134-135.
27. **Ковалык В.П.** Роль герпесвирусов в этиопатогенезе инфекций вспомогательных половых желез и бесплодия/ В.П. Ковалык, С.В. Мураков, Е.В. Сорокина, Ю.А. Маркова // Сборник научных трудов Академии постдипломного образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА России: сборник научных статей. – Москва: Изд-во «Перо», 2021, выпуск 1. – 69 с. ISBN 978-5-00189-270-0 с.27-32.
28. **Ковалык В.П.** Роль вирусов герпеса в этиопатогенезе инфекций вспомогательных половых желез и бесплодия / **В.П. Ковалык**, С.В. Мураков, Е.В. Сорокина, Ю.А. Маркова // Сборник научных трудов Академии постдипломного образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА России: сборник научных статей. – Москва: Изд-во «Перо», 2021, выпуск 1. – 69 с.
29. **Ковалык В.П.** Место ИППП в инфекционном фенотипе синдрома хронической тазовой боли / **В.П. Ковалык**, М.А. Гомберг // Сборник тезисов VII Международного форума дерматовенерологов и косметологов (Новое в дерматовенерологии и косметологии), Москва, 19-21 марта 2014 г. – Москва, 2014. - с. 255.

### СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ВГЧ – вирусы герпеса человека

ВПГ- вирус простого герпеса

ВПЧ – вирусы папилломы человека

ВПЧ ВКР вирусы папилломы человека высокого канцерогенного риска

ВЭБ – вирус Эпштейна-Барр

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИДПЖ – инфекции добавочных половых желез

ИЛ- интерлейкин

ИНФ – интерферон

ИППП – инфекции, передаваемые половым путем

ПСА - простатический специфический антиген

ПЦР – полимеразная цепная реакция

УЗИ – ультразвуковое исследование

ФНО – фактор некроза опухоли

ХП/СХТБ – хронический простатит/синдром хронической тазовой боли

ЦМВ – цитомегаловирус

HADS – госпитальная шкала депрессии и тревоги

IPSS – индекс симптомов со стороны предстательной железы

NIH-CPSI – индекс симптомов хронического простатита Национального института здоровья

## АННОТАЦИЯ

Исследование посвящено установлению этиопатогенетической роли герпесвирусов и вирусов папилломы человека в урогенитальной патологии у мужчин. С помощью высокоточных лабораторных исследований установлена достоверная ассоциация изучаемых вирусов с мужским бесплодием и хроническим простатитом/синдромом хронической тазовой боли. Показано, что в среднем у 1/3 пациентов мужчин имеется инфицирование герпесвирусами и/или вирусами папилломы человека, что ухудшает основные параметры качества спермы. Оценено влияние разнообразия вирусов и их концентрации на формирование у мужчин урогенитальной патологии.

Детальное вирусологического исследования показало, что герпесвирусы локализуются преимущественно в клеточной фракции сперматозоидов, а экспериментальное исследование по инфицированию ЦМВ эякулята подтвердило их патоспермический потенциал путем внутригаметной инфекции.

Применяемые схемы лечения с включением валацикловира и интерферона  $\alpha 2\beta$  позволили добиться значительного терапевтического эффекта в виде разрешения симптомов заболевания. Клиническая эффективность сопровождалась элиминацией герпесвирусов из урогенитальных проб. Электронно-микроскопическое исследование подтверждало элиминацию внутриклеточно локализованных вирусов. Исследование цитокинов демонстрирует нормализацию провоспалительных и противовоспалительных иммунных мессенджеров в результате лечения.

## SUMMARY

The study is devoted to the establishment of the etiopathogenetic role of herpesviruses and human papillomaviruses in urogenital pathology of men. With the help of high-precision laboratory tests, a significant association of the studied viruses with male infertility and chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome was established. It has been shown that, on average, 1/3 of male patients are infected with herpesviruses and/or human papillomaviruses, which worsens the main parameters of sperm quality. The influence of the diversity of viruses and their concentration on the formation of urogenital pathology in men was assessed.

A detailed virological study showed that herpesviruses are localized mainly in the cellular fraction of spermatozoa, and an experimental study on CMV infection of the ejaculate confirmed their pathospermic potential by intragametic infection.

The proper treatment regimens with the inclusion of valaciclovir and interferon  $\alpha 2\beta$  made it possible to achieve a significant therapeutic effect in the form of resolving the symptoms of the disease. Clinical efficacy was accompanied by the elimination of herpesviruses from urogenital samples. Electron microscopic examination confirmed the elimination of intracellularly localized viruses. The study of cytokines demonstrates the normalization of pro-inflammatory and anti-inflammatory immune messengers as a result of treatment.