Вирусное инфицирование сперматозоидов. Часть 1. Вirus гепатита В, вирус папилломы человека (обзор литературы)

Е.Е. Брагина

Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»; Россия, 119992 Москва, Ленинские горы, 1, стр. 40;
ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. Н.П. Бочкова»; Россия, 115522 Москва, ул. Москворечье, 1

Контакты: Елизавета Ефимовна Брагина bragor@mail.ru

Интрагаметное вирусное инфицирование сперматозоидов может быть причиной истинной вертикальной передачи вирусов через половые клетки. В настоящее время в сперматозоидах обнаружены вирус папилломы человека (в том числе штаммы онкогенного риска), вирус гепатита В. Доказана возможность вертикальной передачи этих вирусов.

Интрагаметное инфицирование сперматозоидов вирусом папилломы человека и вирусом гепатита В приводит к аномалиям развития эмбриона и может стать причиной спонтанного аборта как после естественного зачатия, так и после зачатия с применением вспомогательных репродуктивных технологий.

Разработка адекватных методов диагностики интрагаметного вирусного инфицирования сперматозоидов позволит в некоторых случаях установить причину бесплодия и аномалий развития эмбриона и назначить необходимую противовирусную терапию на стадии подготовки к естественному зачатию или к применению вспомогательных репродуктивных технологий.

Ключевые слова: сперматозоид, вирус гепатита В, вирус папилломы человека, интрагаметное инфицирование

Для цитирования: Брагина Е.Е. Вирусное инфицирование сперматозоидов. Часть 1. Вирус гепатита В, вирус папилломы человека (обзор литературы). Андрология и генитальная хирургия 2020;21(4):12–9.

DOI: 10.17650/2070-9781-2020-21-4-12-19

Viral infection of spermatozoa. Part 1. Hepatitis B virus and human papillomavirus (review)

E.E. Bragina

A.N. Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University;
Bld. 40, 1 Leninskie Gory, Moscow 119992, Russia;

N.P. Bochkov Research Centre for Medical Genetics; 1 Moskvorechye St., Moscow 115522, Russia

Intragamet viral infection of spermatozoa can cause true vertical transmission of viruses through germ cells. Currently, human papillomavirus, including oncogenic risk strains, and hepatitis B virus, have been detected in spermatozoa. The possibility of vertical transmission of hepatitis B virus and human papillomavirus has been proven.

Intragamet infection of spermatozoa with viruses of human papillomavirus and hepatitis B virus leads to abnormalities in the development of the embryo and can cause spontaneous abortions both during natural conception and when using assisted reproductive technologies.

The development of adequate methods for diagnosing an intragametal spermatozoa virus infection will make it possible to find out, at least in some patients, the cause of infertility and pregnancy abnormalities and apply appropriate antiviral therapy in preparation for natural conception or the use of assisted reproductive technologies.

Key words: spermatozoa, hepatitis B virus, human papillomavirus, intragametal infection

For citation: Bragina E.E. Viral infection of spermatozoa. Part 1. Hepatitis B virus and human papillomavirus (review). *Andrologiya i genital'naya khirurgiya* = *Andrology and Genital Surgery* 2020;21(4):12–9.

Введение

Бактерии, вирусы и простейшие инфицируют половые пути мужчин и ухудшают их фертильность. Многие из них передаются половым путем [1]. Такие микробные патогены могут оказывать прямое вредное воздействие на сперматозоиды, например снижая

их подвижность или индуцируя апоптоз. Они могут также косвенно влиять на дифференцировку сперматозоидов и функцию половых органов, стимулируя секрецию воспалительных цитокинов [2].

Тем не менее вопрос о роли вирусного инфицирования в нарушении фертильности до сих пор остается

дискуссионным. Еще в 2001 г. N. Dejucq и B. Jégou описали способность вирусов инфицировать ткани репродуктивного тракта человека и животных, а также последствия этих вирусных инфекций [3]. С тех пор появилось довольно много публикаций, посвященных влиянию вирусного инфицирования на репродуктивную систему мужчин, в том числе несколько обзоров [4–7]. Их авторы рассматривают в основном общие патологические процессы, связанные с нарушением сперматогенеза. К ним относятся: а) острые или хронические системные инфекции, которые могут приводить к нарушению гормонального статуса и сперматогенеза; б) вирусный орхит, который напрямую ухудшает выработку спермы; в) изменение секреторной функции и продукция воспалительных цитокинов, индуцирующие обструкцию. Тестикулярную ткань рассматривают как резервуар вирусов, поскольку ее особенностью является «иммунная привилегия» — ограничение иммунного ответа из-за гематотестикулярного барьера и локальной иммуносупрессии [8]. Эта особенность позволяет вирусам сохраняться в тестикулярной ткани даже при отсутствии их репликации.

Возможность инфицирования сперматогонияльных клеток и самих сперматозоидов предполагалась ранее, однако этот вопрос не получил широкого освещения в медицинской литературе. С появлением вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) он приобрел особое значение. Если вирусы, вызывающие заболевания урогенитальных органов, локализованы только в семенной жидкости и несперматогенных клетках, следует учитывать возможность функционирования эякулята в качестве субстрата-переносчика вирусных заболеваний, в том числе инфекций, передаваемых половым путем. В этом случае пациенты остаются в сфере интересов врачей-венерологов, которые должны следовать рекомендациям по диагностике инфекций. Но при инфицировании самих половых клеток возникает проблема их освобождения от вирусов и могут быть затронуты механизмы репродукции. Обсуждаемыми клиническими последствиями вирусного инфицирования сперматозоидов являются повышенный риск ранних спонтанных абортов и неудач ВРТ, а также более высокая частота идиопатического мужского бесплодия. Знание механизмов инфицирования сперматозоидов позволит выявить причины вызываемого вирусами «идиопатического» мужского бесплодия и бесплодия в паре, а также разработать соответствующие методы терапии.

В настоящем обзоре мы рассматриваем данные об инфицировании эякулята ДНК-содержащими вирусами, такими как вирус гепатита В (ВГВ), вирус папилломы человека (ВПЧ), вирус простого герпеса и цитомегаловирус, и РНК-содержащими вирусами, такими как вирус гепатита С, вирус иммунодефицита человека и вирус Зика. При этом мы будем уделять

основное внимание известным случаям вирусного инфицирования сперматозоидов и его влиянию на фертильность. Наконец, мы не могли обойти вниманием вопрос о возможном воздействии на мужскую репродуктивную систему коронавируса SARS-CoV-2.

1. Вирус гепатита В

Вирус гепатита В — вирус из семейства *Hepadnaviridae*, содержащий кольцевую неспиральную ДНК, частично двойную, со сложным жизненным циклом, который проходит в ядре и в цитоплазме. Хотя принято считать, что ВГВ имеет родство только к гепатоцитам, однако в период инфекции его обнаруживают за пределами печени и крови, в частности в тестикулярной ткани [9] и в эякуляте [10]. Выявлено снижение концентрации сперматозоидов, уменьшение количества подвижных, жизнеспособных и морфологически нормальных сперматозоидов у пациентов, инфицированных ВГВ [11]. В исследованиях *in vitro* было продемонстрировано, что инкубация сперматозоидов человека совместно с антигенами ВГВ снижает подвижность [12] и индуцирует апоптоз сперматозоидов [13].

В ряде публикаций приводятся данные о том, что инфицирование мужчины ВГВ не влияет на качество эмбрионов и результат применения ВРТ [14, 15]. С другой стороны, имеются сведения об ухудшении результатов применения ВРТ у инфицированных ВГВ пациентов [16]. G. Cito и соавт. установили, что инфицирование мужчины ВГВ связано со значительно более низкой частотой оплодотворения и дробления [17]. Тем не менее не было обнаружено существенных различий в частоте имплантации, клинической беременности, спонтанных абортов и живорождений между группами. Все авторы отмечают ограничения, связанные с небольшими размерами выборки.

1.1. Инфицирование сперматозоидов ВГВ. ДНК ВГВ была обнаружена M. Hadchouel и соавт. в сперматозоидах 2 из 17 пациентов с острой формой гепатита, причем выявлена интеграция ДНК ВГВ в ДНК клеток-хозяев [18]. F. Davison и соавт. методом молекулярной гибридизации определили наличие ДНК ВГВ в сперматозоидах 14 пациентов с хроническим носительством HBsAg [19]. Используя флюоресцентную гибридизацию *in situ* (fluorescent *in situ* hybridization, FISH), J.M. Huang и соавт. выявили интеграцию ДНК ВГВ в хромосомы сперматозоидов носителей ВГВ. Авторы продемонстрировали неспецифическое мутагенное воздействие ВГВ на хромосомы сперматозоидов и предположили, что инфицирование сперматозоидов ВГВ может вызывать наследственные хромосомные aberrации [20]. E. Moretti и соавт. обнаружили тенденцию к повышению содержания диплоидных сперматозоидов у пациентов с хроническим гепатитом В [21].

Сперматозоиды могут быть вектором, осуществляющим вертикальную передачу ВГВ в оплодотворенную

яйцеклетку. S. Wang и соавт. исследовали 8 внутриутробно инфицированных абортусов от пар, в которых женщина не имела маркеров инфекции, а мужчина был инфицирован. В 6 случаях у отца и плода ДНК амплифицировали методом вложенной полимеразной цепной реакции, а затем секвенировали S-ген (примерно 660 нуклеотидов); в 2 случаях у отца и плода секвенировали C-ген (примерно 2321 нуклеотид). ДНК ВГВ обнаружили в эякуляте и в сперматозоидах мужчин-носителей ВГВ. Гомология последовательности оснований ДНК ВГВ, выделенной от отца и плода, была высокой. В 6 случаях у отца и плода выявлен один и тот же подтип вируса, в 4 случаях сиквенсы фрагментов были идентичны у отца и плода. Обнаружено 11 точечных мутаций, общих для отца и плода [22]. Эти результаты позволили утверждать о том, что в дискордантных парах, в которых мужчина инфицирован ВГВ, имеет место истинная вертикальная передача вируса через половые клетки при оплодотворении.

Эти данные были подтверждены на модельной системе. При межвидовом оплодотворении ооцитов хомяка сперматозоидами человека, несущими плазмидную ДНК ВГВ, установлено, что гены ВГВ способны реплицироваться [23] и экспрессироваться на стадии двухклеточного эмбриона [24].

Y. Zhong и соавт. [25] продемонстрировали, что транскрипционная активность ВГВ, попавшего в эмбрион при оплодотворении, зависит от активности генов хозяина. После оплодотворения в цитоплазме ооцита происходит деконденсация хроматина сперматозоида, что имеет большое значение для его активации, и гипометилирование генома эмбриона [26]. Оказалось, что гипометилирование и активация генов ВГВ происходят параллельно с гипометилированием генов эмбриона [27].

1.2. Влияние инфицирования сперматозоидов ВГВ на репродукцию. Инфицирование сперматозоидов ВГВ может быть причиной невынашивания беременности, ставшей результатом применения ВРТ. Y. Kong и соавт. исследовали 18 эмбрионов, полученных от 9 дискордантных пар после применения ВРТ. У женщин не выявлены антитела к антигену ВГВ, у мужчин выявлен хронический гепатит В. Авторы не указали статус инфицирования сперматозоидов и сообщили только о проведении экстракорпорального оплодотворения, которое подразумевает использование очищенной фракции сперматозоидов. В качестве контроля исследовали 84 эмбриона от 50 пар, не инфицированных ВГВ. В 5 эмбрионах, полученных при использовании сперматозоидов одного из пациентов, обнаружили информационную РНК ВГВ, что является свидетельством репликации вируса в клетках эмбриона. Эти эмбрионы были успешно имплантированы, но затем произошел спонтанный аборт на раннем сроке. Таким образом, авторы продемонстрировали,

что вертикальная передача ВГВ, репликация вируса в клетках эмбриона и, как следствие, самопроизвольное прерывание беременности на ранних сроках имеет место при инфицировании сперматозоидов ВГВ [28].

Вышеописанные результаты позволяют сделать заключение о том, что риск инфицирования сперматозоидов, действующих как вектор у инфицированных ВГВ мужчин, не является абсолютным. Процедуры очистки сперматозоидов достаточно эффективны при инфицировании семенной жидкости [29]. При этом вирусная нагрузка сперматозоидов не стопроцентная, поэтому шансы на оплодотворение неинфицированным сперматозоидом достаточно велики, о чем свидетельствует работа Q.X. Cai, Y.Y. Zhu. Авторы обследовали 164 пары, у которых родились дети в результате естественного зачатия и в которых мужчина, по данным серологического анализа, был носителем ВГВ. Ни один из новорожденных не был инфицирован [30]. Авторы высказали предположение, что вертикальная передача через мужские половые клетки маловероятна [30], однако в свете рассмотренных выше исследований [22, 28] можно скорее предполагать, что существует механизм элиминации инфицированных плодов.

В дискордантных парах, в которых мужчина инфицирован ВГВ, вакцинирование женщины в большинстве случаев позволяет предотвратить передачу инфекции, однако наличие интегрированного вируса в сперматозоидах не позволяет полностью исключить вертикальную передачу инфекции плоду.

2. Вирус папилломы человека

Вирусы папилломы человека входят в семейство *Papillomaviridae*. Всего идентифицировано более 100 типов ВПЧ, около 40 типов поражают аногенитальную область. Приблизительно 45 генотипов ВПЧ классифицированы как штаммы низкого онкогенного риска (вызывают аногенитальные бородавки и легкую дисплазию) и штаммы высокого онкогенного риска (вызывают тяжелую дисплазию и рак аногенитальной области) [31].

Вопрос о влиянии инфицирования ВПЧ на репродуктивное здоровье женщин, исход беременности и вероятность инфицирования новорожденных широко обсуждается [32]. В клиническом исследовании с участием женщин, которые воспользовались ВРТ, выявлено значительное снижение частоты наступления беременности при обнаружении ВПЧ в цервикальном канале [33]. Но данные о фактической частоте самопроизвольных аборт и осложнений беременности при естественном зачатии у женщин, инфицированных ВПЧ, достаточно противоречивы [34].

Связь инфицирования ВПЧ сперматозоидов с неблагоприятными исходами беременности не доказана. Влияние инфицирования ВПЧ на фертильность

мужчин привлекает гораздо меньшее внимание. Распространенность различных типов ВПЧ среди мужчин, по разным данным, варьирует от 1,3 до 72,9 %. Такой разброс объясняется различиями методов отбора проб и методов выявления вируса [35].

Сперма является одним из субстратов инфицирования ВПЧ, вирусы выявляются в семенной жидкости, в негерминативных клетках эякулята и в сперматозоидах [36]. Продемонстрировано наличие ДНК ВПЧ в очищенной фракции подвижных сперматозоидов [37]. С. Foresta и соавт. выявляли ДНК ВПЧ методом полимеразной цепной реакции в сперме 200 мужчин. ДНК ВПЧ была обнаружена в сперме 53,8 % пациентов с генитальными бородавками, 40,9 % партнеров инфицированных женщин, 10,2 % инфертильных пациентов и 2,2 % фертильных мужчин контрольной группы. Применение FISH позволило определить инфицированные клетки — сперматозоиды либо негерминативные клетки. Авторы отметили, что инфицированные ВПЧ сперматозоиды статистически значимо чаще были выявлены у мужчин с нарушением фертильности, в то время как у пациентов с другими факторами риска более часто были инфицированы слушечные эпителиальные клетки [38]. М.Д. Kaspersen и соавт. обнаружили ВПЧ у 16,0 % доноров спермы, из них у 66,7 % — ВПЧ высокого онкогенного риска, а у 5,3 % доноров были выявлены 2 или более генотипа ВПЧ [39].

Недавние результаты позволяют предположить наличие взаимосвязи между инфицированием спермы ВПЧ, случаями идиопатической астенозооспермии и мужского бесплодия, но однозначно утверждать, что инфицирование спермы ВПЧ влияет на показатели спермограммы, в данный момент нельзя. Некоторые исследователи опубликовали данные о связи ВПЧ с плохим качеством сперматозоидов (снижением подвижности сперматозоидов, уменьшением общего количества сперматозоидов, количества сперматозоидов с нормальной морфологией и жизнеспособных форм) [38, 40, 41]. В других работах не обнаружено какой-либо связи между наличием ВПЧ в сперме и изменением параметров спермы [42–44]. Противоречивы и данные о влиянии инфицирования ВПЧ на фрагментацию ДНК сперматозоидов. М.Д. Kaspersen и соавт. не обнаружили повышения индекса фрагментации ДНК [45], а L. Voegi и соавт. сообщили о более высоком индексе фрагментации ДНК сперматозоидов у пациентов с инфицированным эякулятом по сравнению с пациентами с неинфицированным эякулятом [46]. Выводы данных исследований ограничены вследствие небольшого размера выборки и разнородности исследуемых групп (27 доноров спермы и 113 пациентов с нарушением фертильности соответственно).

2.1. Инфицирование сперматозоидов ВПЧ. Известно, что ДНК ВПЧ может встраиваться в геном инфицированной клетки либо существовать в автономном

состоянии, что сближает их с бактериальными эпосомами [47]. Однако в научной литературе мы не обнаружили сведений об интеграции ДНК ВПЧ в геном сперматозоидов. R. Schillaci и соавт. методом FISH обнаружили прикрепление ВПЧ к экваториальному сегменту головки сперматозоидов у 24 из 308 пациентов клиники BPT [43]. Аналогичные данные получены J. Pérez-Andino и соавт. с помощью реакции иммунофлюоресценции при исследовании *in vivo* нефиксированных сперматозоидов, инкубированных с мечеными капсидами ВПЧ [48]. В другом исследовании авторы продемонстрировали, что капсидный белок ВПЧ L1 и гликозаминогликан сперматозоидов синдекан 1 совместно локализуются в экваториальном сегменте головки сперматозоида, что позволило авторам предположить, что ВПЧ инфицирует сперму путем первичного связывания с синдеканом 1 [49]. Экваториальный сегмент — это часть сперматозоида, которая связывается и затем сливается с оболочкой яйцеклетки [50]. Возможно, именно с этим связано негативное влияние ВПЧ на оплодотворение. Стандартная процедура очистки сперматозоидов не влияет на степень связывания сперматозоидов и ВПЧ [51]. Возможно, более результативен метод очистки сперматозоидов от ВПЧ с использованием гепариназы III, предложенный A. Garolla и соавт. [52].

Тем не менее при анализе микрофотографий, представленных в работе С. Foresta и соавт., видно, что сигнал зондов ВПЧ находится в ядре сперматозоидов [38]. Присутствие ДНК ВПЧ в головках сперматозоидов криоконсервированной спермы пациентов с раком яичек (которую получали до начала противоопухолевого лечения в целях дальнейшего использования для зачатия) было выявлено с помощью FISH [53]. Онкологическим пациентам предлагается криоконсервация спермы до начала противоопухолевой терапии, поскольку фертильность после облучения или химиотерапии не всегда восстанавливается. A. Garolla и соавт. обнаружили инфицирование ВПЧ в 6 (6,1 %) из 98 образцов пациентов с раком яичек после орхидэктомии до химиолучевой терапии и в 2 (3,3 %) из 60 контрольных образцов. Вирусная нагрузка была статистически значимо выше в эякуляте пациентов с раком яичек по сравнению с контролем. Авторы подчеркивают, что, отмечая этот факт, не предполагают связи инфицирования сперматозоидов ВПЧ с развитием онкологического заболевания, и отмечают, что использование таких сперматозоидов для оплодотворения с применением ВРТ может влиять на развитие эмбрионов [53].

2.2. Влияние инфицирования сперматозоидов ВПЧ на репродукцию. Сперматозоиды, в которые была помещена плаزمид с трансфицированными генами ВПЧ E6/E7, способны пенетрировать ооциты хомяка [49]. Вирусные гены E6/E7 в искусственной плазмиде связали с геном *GPS*, кодирующим флюоресцирующий

белок. Транскрипция вирусных генов в ооцитах с зеленой флюоресценцией была подтверждена методом полимеразной цепной реакции в реальном времени. Авторы также показали, что при оплодотворении инфицированные сперматозоиды способны вносить белок ВПЧ в яйцеклетку хомяка. Эти данные доказывают, что гены ВПЧ, внесенные сперматозоидами, могут активно транскрибироваться в оплодотворенной яйцеклетке.

Яркой иллюстрацией тезиса о связи инфицирования сперматозоидов и нарушений беременности служит исследование А. Garolla и соавт. [54]. Методом FISH с зондами к ДНК ВПЧ обследовали 226 мужчин из бесплодных пар. ВПЧ обнаружен в сперме 54 пациентов. У 28 (51,9 %) из 54 вирус обнаружен в сперматозоидах, у 8 (14,8 %) — в клетках эпителия, у 14 (25,9 %) — в сперматозоидах и клетках эпителия. За 6 мес в 14 (8,1 %) из 174 пар, в которых у мужчин сперматозоиды были неинфицированными, наступила спонтанная беременность. В тех парах, в которых у мужчин выявлены инфицированные сперматозоиды, беременность за 6 мес не наступила ни в одном случае. В течение последующих 12 мес применяли ВРТ. Внутриматочная инсеминация была успешной у 12 (20 %) из 60 пар, в которых у мужчин сперматозоиды были неинфицированными, интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида была успешной у 40 (40,8 %) из 98 таких пар. Среди пар, в которых у мужчин выявлены инфицированные сперматозоиды, внутриматочная инсеминация была успешной в 2 (9,5 %) из 21 случая, интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида — в 6 (18,2 %) из 33. При успешном применении ВРТ в 3 случаях были инфицированы сперматозоиды, в 1 случае — только клетки эпителия, в 2 случаях — и эпителий, и сперматозоиды [54].

Частота оплодотворения не зависела от наличия инфекции (86,7 % у неинфицированных и 84,8 % у инфицированных пациентов), а частота формирования бластоцист статистически значимо различалась (54,1 % у неинфицированных и 27,3 % у инфицированных). Из 8 беременностей, наступивших в парах с инфицированным мужчиной, только 3 в период написания статьи продолжались, а в 5 (62,5 %) случаях произошел спонтанный аборт. В парах с неинфицированным мужчиной спонтанный аборт произошел в 11 (16,7 %) из 66 случаев беременности. Локализация ВПЧ различалась при продолжающейся беременности и при спонтанном аборте: в первом случае ВПЧ найден только в клетках эпителия, в последнем — в клетках эпителия и в сперматозоидах. Все случаи невынашивания беременности в парах с инфицированным мужчиной происходили на ранних сроках — на 5–6-й неделе.

Исследуя механизмы повреждающего действия ВПЧ на эмбрионы, J. H. Calinisan и соавт. обнаружили фрагментацию ДНК в бластоцистах, инфицированных ДНК

ВПЧ 16-го типа [55]. Способность ДНК ВПЧ 16-го типа индуцировать фрагментацию ДНК и последующую гибель бластоцисты была также подтверждена Н. You и соавт. [56].

А. А. Henneberg и соавт. подтвердили наличие прямого ингибирующего действия ВПЧ 16-го типа на рост бластоцист, но это действие оказалось стадией-специфичным: оно проявляется только на самой ранней стадии развития — стадии двухклеточного эмбриона, но не на стадии 4- или 8-клеточного [57]. Для методов экстракорпорального оплодотворения это обстоятельство, по-видимому, имеет большое значение. В проспективном исследовании по этой теме сообщалось о значительном увеличении частоты невынашивания беременности после применения ВРТ у пар, в которых у мужчин в сперме обнаруживали ВПЧ (66,7 %), по сравнению с данным показателем в парах с неинфицированным мужчиной (15 %). При этом частота выкидышей при заражении обоих партнеров составила 100 % [58]. Имеются данные, свидетельствующие о снижении частоты наступления клинической беременности у субфертильных женщин после внутриматочной инсеминации ВПЧ-положительной спермой (2,9 % против 11,1 % на цикл) [59]. S. Tangal и соавт. обнаружили, что при оплодотворении ВПЧ-положительной спермой получено значительно меньшее количество эмбрионов, имеющих хорошее качество на день переноса. Ранние спонтанные аборты в парах с инфицированным ВПЧ мужчиной произошли в 33 % случаев (в неинфицированных парах — в 10 %) [60].

Важные в плане терапии результаты опубликовали А. Garolla и соавт. Они показали, что вакцинация мужчин, в сперматозоидах которых выявлена ДНК ВПЧ, приводила к улучшению параметров спермограммы и увеличению частоты наступления естественной беременности и частоты живорождений. Вакцинации подверглись 79 пациентов, а 72 пациента от вакцинации отказались (контрольная группа). Частота наступления беременности составила 38,9 % в вакцинированной группе и 15 % в контрольной, при этом беременность завершилась родами в 29 и 4 случаях соответственно, выкидышем — в 1 и 7 случаях. У вакцинированных пациентов наблюдалась более высокая подвижность сперматозоидов, пониженный уровень антиспермальных антител и реже выявлялся ВПЧ как в сперматозоидах, так и в несперматогенных клетках. Все выкидыши в контрольной группе были связаны с обнаружением ДНК ВПЧ в сперматозоидах, поэтому авторы сделали вывод о том, что обнаружение ДНК ВПЧ в сперматозоидах является прогностическим фактором неблагоприятного исхода беременности [61].

Таким образом, как в экспериментах на животных, так и в исследованиях с участием пациентов *in vivo* было обнаружено, что сперматозоиды могут переносить в ооцит прикрепившиеся вирусы, что геном ВПЧ

экспрессируется в оплодотворенных ооцитах, бластоцистах и трофобластах. Вирусный геном может вызвать ингибирование роста зиготы, ухудшение формирования бластоцисты, ингибирование хетчинга бластоцист, фрагментацию ДНК и апоптоз, приводя к повышению частоты гибели эмбрионов на ранних стадиях.

Большинство проанализированных данных свидетельствует о том, что инфицирование сперматозоидов ВПЧ может быть причиной снижения фертильности посредством различных механизмов, действующих

на разных этапах развития эмбриона [62], хотя имеются и противоположные данные: S. Tangal и соавт. не обнаружили различий в частоте имплантации яйцеклетки, наступления беременности и раннего выкидыша у пар, подвергшихся воздействию ВПЧ, и неинфицированных пар [60]. Дальнейшие исследования необходимы для лучшего понимания влияния ВПЧ-инфекции на частоту раннего невынашивания беременности и других неблагоприятных исходов беременности.

REFERENCES / ЛИТЕРАТУРА

1. Gimenes F., Souza R.P., Bento J.C. et al. Male infertility: a public health issue caused by sexually transmitted pathogens. *Nat Rev Urol* 2014;11(12):672–87. DOI: 10.1038/nrurol.2014.285.
2. Guazzzone V.A., Jacobo P., Theas M.S. et al. Cytokines and chemokines in testicular inflammation: a brief review. *Microsc Res Tech* 2009;72(8):620–8. DOI: 10.1002/jemt.20704.
3. Dejucq N., Jégou B. Viruses in the mammalian male genital tract and their effects on the reproductive system. *Microbiol Mol Biol Rev* 2001;65(2):208–31. DOI: 10.1128/MMBR.65.2.208-231.2001.
4. Garolla A., Pizzol D., Bertoldo A. et al. Sperm viral infection and male infertility: focus on HBV, HCV, HIV, HPV, HSV, HCMV, and AAV. *J Reprod Immunol* 2013;100(1):20–9. DOI: 10.1016/j.jri.2013.03.004.
5. Salam A.P., Horby P.W. The breadth of viruses in human semen. *Emerg Infect Dis* 2017;23(11):1922–24. DOI: 10.3201/eid2311.171049.
6. Spornraft-Ragaller P., Värwig-Janßen D. [Sexually transmitted infections and male fertility]. *Hautarzt* 2018;69(12):1006–13. DOI: 10.1007/s00105-018-4300-9.
7. Liu W., Han R., Wu H., Han D. Viral threat to male fertility. *Andrologia* 2018;50(11):e13140. DOI: 10.1111/and.13140.
8. Li N., Wang T., Han D. Structural, cellular and molecular aspects of immune privilege in the testis. *Front Immunol* 2012;3:152. DOI: 10.3389/fimmu.2012.00152.
9. Lang Z.W. [Distribution of hepatitis B virus in testicle tissue in patients with hepatitis B infection (In Chinese)]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 1993;73(6):329–31, 379.
10. Qian W.P., Tan Y.Q., Chen Y. et al. Rapid quantification of semen hepatitis B virus DNA by real-time polymerase chain reaction. *World J Gastroenterol* 2005;11(34):5385–89. DOI: 10.3748/wjg.v11.i34.5385.
11. Karamolahi S., Yazdi R.S., Zangeneh M. et al. Impact of hepatitis B virus and hepatitis C virus infection on sperm parameters of infertile men. *Int J Reprod Biomed* 2019;17(8):551–56. DOI: 10.18502/ijrm.v17i8.4820.
12. Oger P., Yazbeck C., Gervais A. et al. Adverse effects of hepatitis B virus on sperm motility and fertilization ability during IVF. *Reprod Biomed Online* 2011;23(2):207–12. DOI: 10.1016/j.rbmo.2011.04.008.
13. Huang J.H., Zhong Y., Fang X.W. et al. Hepatitis B virus S protein enhances sperm apoptosis and reduces sperm fertilizing capacity *in vitro*. *PLoS One* 2013;8(7):e68688. DOI: 10.1371/journal.pone.0068688.
14. Zhao E.Y., Chen S.L., Sun L. et al. [Influence of chronic HBV infection in the husband on the outcome of IVF-ET treatment (In Chinese)]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao* 2007;27(12):1827–9.
15. Bu Z., Kong H., Li J. et al. Effect of male hepatitis B virus infection on outcomes of *in vitro* fertilization and embryo transfer treatment: insights from couples undergoing oocyte donation. *Int J Clin Exp Med* 2014;7(7):1860–6.
16. Lee V.C., Ng E.H., Yeung W.S., Ho P.C. Impact of positive hepatitis B surface antigen on the outcome of IVF treatment. *Reprod Biomed Online* 2010;21(5):712–17. DOI: 10.1016/j.rbmo.2010.06.036.
17. Hepatitis B surface antigen seropositive men in serodiscordant couples: effects on the assisted reproductive outcomes. *World J Mens Health* 2021;39(1):99–100. DOI: 10.5534/wjmh.190121.
18. Hadchouel M., Scotto J., Huret J.L. et al. Presence of HBV DNA in spermatozoa: a possible vertical transmission of HBV via the germ line. *J Med Virol* 1985;16(1):61–6. DOI: 10.1002/jmv.1890160109.
19. Davison F., Alexander G.J., Trowbridge R. et al. Detection of hepatitis B virus DNA in spermatozoa, urine, saliva and leucocytes, of chronic HbsAg carriers. A lack of relationship with serum markers of replication. *J Hepatol* 1987;4(1):37–44. DOI: 10.1016/s0168-8278(87)80007-7.
20. Huang J.M., Huang T.H., Qiu H.Y. et al. Effects of hepatitis B virus infection on human sperm chromosomes. *World J Gastroenterol* 2003;9(4):736–40. DOI: 10.3748/wjg.v9.i4.736.
21. Moretti E., Federico M.G., Giannerini V. et al. Sperm ultrastructure and meiotic segregation in a group of patients with chronic hepatitis B and C. *Andrologia* 2008;40(3):173–8. DOI: 10.1111/j.1439-0272.2007.00818.x.
22. Wang S., Peng G., Li M. et al. Identification of hepatitis B virus vertical transmission from father to fetus by direct sequencing. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2003;34(1):106–13.
23. Ali B.A., Huang T.H., Xie Q.D. Detection and expression of hepatitis B virus X gene in one and two-cell embryos from golden hamster oocytes *in vitro* fertilized with human spermatozoa carrying HBV DNA. *Mol Reprod Dev* 2005;70(1):30–6. DOI: 10.1002/mrd.20185.
24. Ali B.A., Huang T.H., Salem H.H. et al. Expression of hepatitis B virus genes in early embryonic cells originated from hamster ova and human spermatozoa transfected with the complete viral genome. *Asian J Androl* 2006;8(3):273–9. DOI: 10.1111/j.1745-7262.2006.00141.x.
25. Zhong Y., Liu D.L., Ahmed M.M. et al. Transcription and regulation of hepatitis B virus genes in host sperm cells. *Asian J Androl* 2018;20(3):284–89. DOI: 10.4103/aja.aja_46_17.
26. Santos F., Dean W. Epigenetic reprogramming during early development in mammals. *Reproduction* 2004;127(6):643–51. DOI: 10.1530/rep.1.00221.
27. Zhong C., Lu H., Han T. et al. CpG methylation participates in regulation of hepatitis B virus gene expression in host sperm and sperm-derived embryos. *Epigenomics* 2017;9(2):123–25. DOI: 10.2217/epi-2016-0129.
28. Kong Y., Liu Y., Liu X. et al. Relationship between the mechanism

- of hepatitis B virus father-infant transmission and pregnancy outcome. Arch Gynecol Obstet 2017;295(1):253–57. DOI: 10.1007/s00404-016-4231-6.
29. Peters D.D., Marschall S., Mahabir E. et al. Risk assessment of mouse hepatitis virus infection via *in vitro* fertilization and embryo transfer by the use of zona-intact and laser-microdissected oocytes. Biol Reprod 2006;74(2):246–52. DOI: 10.1095/biolreprod.105.045112.
30. Cai Q.X., Zhu Y.Y. Is hepatitis B virus transmitted via the male germ line? A seroepidemiological study in fetuses. Int J Infect Dis 2013;17(1):e54–8. DOI: 10.1016/j.ijid.2012.09.002.
31. Egawa N., Egawa K., Griffin H., Doorbar J. Human papillomaviruses; epithelial tropisms, and the development of neoplasia. Viruses 2015;7(7):3863–90. DOI: 10.3390/v7072802.
32. Medeiros L.R., Ethur A.B., Hilgert J.B. et al. Vertical transmission on human papillomavirus: a systematic quantitative review. Cad Saude Publica 2005;21(4):1006–15. DOI: 10.1590/s0102-311x2005000400003.
33. Spandorfer S.D., Bongiovanni A.M., Fasioulotis S. et al. Prevalence of cervical human papillomavirus in women undergoing *in vitro* fertilization and association with outcome. Fertil Steril 2006;86(3):765–7. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2006.01.051.
34. Ambühl L.M., Baandrup U., Dybkær K. et al. Human papillomavirus infection as a possible cause of spontaneous abortion and spontaneous preterm delivery. Infect Dis Obstet Gynecol 2016;2016:3086036. DOI: 10.1155/2016/3086036.
35. Dunne E.F., Nielson C.M., Stone K.M. et al. Prevalence of HPV infection among men: a systematic review of the literature. J Infect Dis 2006;194(8):1044–57. DOI: 10.1086/507432.
36. Capra G., Schillaci R., Bosco L. et al. HPV infection in semen: results from a new molecular approach. Epidemiol Infect 2019;147:e177. DOI: 10.1017/S0950268819000621.
37. Pao C.C., Yang F.P., Lai Y.M. Preferential retention of the E6 and E7 regions of the human papilloma virus type 18 genome by human sperm cells. Fertil Steril 1996;66(4):630–3. DOI: 10.1016/s0015-0282(16)58580-x.
38. Foresta C., Pizzol D., Moretti A. et al. Clinical and prognostic significance of human papillomavirus DNA in the sperm or exfoliated cells of infertile patients and subjects with risk factors. Fertil Steril 2010;94(5):1723–7. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2009.11.012.
39. Kaspersen M.D., Larsen P.B., Ingerslev H.J. et al. Identification of multiple HPV types on spermatozoa from human sperm donors. PloS One 2011;6(3):e18095. DOI: 10.1371/journal.pone.0018095.
40. Jeršovienė V., Gudlevičienė Ž., Rimienė J., Butkauskas D. Human papillomavirus and infertility. Medicina (Kaunas) 2019;55(7):377. DOI: 10.3390/medicina55070377.
41. Евдокимов В.В., Науменко В.А., Тюленев Ю.А. и др. Количественная оценка ДНК вирусов папилломы человека высокого канцерогенного риска и герпесвирусов человека у мужчин при нарушении фертильности. Вопросы вирусологии 2016;61(2):63–8. [Evdokimov V.V., Naumenko V.A., Tulenev Yu.A. et al. Quantitative DNA evaluation of the high carcinogenic risk of human papilloma viruses and human herpes viruses in males with fertility disorders. Voprosy virusologii = Problems of virusology 2016;61(2):63–8. (In Russ.)]. DOI: 10.18821/0507-4088-2016-61-2-63-68.
42. Golob B., Poljak M., Verdenik I. et al. High HPV infection prevalence in men from infertile couples and lack of relationship between seminal HPV infection and sperm quality. Biomed Res Int 2014;2014:956901. DOI: 10.1155/2014/956901.
43. Schillaci R., Capra G., Bellavia C. et al. Detection of oncogenic human papillomavirus genotypes on spermatozoa from male partners of infertile couples. Fertil Steril 2013;100(5):1236–40. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2013.06.042.
44. Luttmer R., Dijkstra M.G., Snijders P.J. et al. Presence of human papillomavirus in semen in relation to semen quality. Hum Reprod 2016;31(2):280–6. DOI: 10.1093/humrep/dev317.
45. Kaspersen M.D., Bungum M., Fedder J. et al. No increased sperm DNA fragmentation index in semen containing human papillomavirus or herpesvirus. Andrology 2013;1(3):361–4. DOI: 10.1111/j.2047-2927.2013.00067.x.
46. Boeri L., Capogrosso P., Ventimiglia E. et al. High-risk human papillomavirus in semen is associated with poor sperm progressive motility and a high sperm DNA fragmentation index in infertile men. Hum Reprod 2019;34(2):209–17. DOI: 10.1093/humrep/dey348.
47. Винокурова С.В. Генетические и эпигенетические механизмы регуляции вирусов папилломы человека. Успехи молекулярной онкологии 2016;3(2):18–25. [Vinokurova S.V. Genetic and epigenetic mechanisms of regulation of human papillomavirus. Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology 2016;3(2):18–25. (In Russ.)]. DOI: 10.17650/2313-805X-2016-3-2-18-25.
48. Pérez-Andino J., Buck C.B., Ribbeck K. Adsorption of human papillomavirus 16 to live human sperm. PloS One 2009;4(6):e5847. DOI: 10.1371/journal.pone.0005847.
49. Foresta C., Patassini C., Bertoldo A. et al. Mechanism of human papillomavirus binding to human spermatozoa and fertilizing ability of infected spermatozoa. PloS One 2011;6(3):e15036. DOI: 10.1371/journal.pone.0015036.
50. Anifandis G., Messini C., Dafopoulos K. et al. Molecular and cellular mechanisms of sperm-oocyte interactions opinions relative to *in vitro* fertilization (IVF). Int J Mol Sci 2014;15(7):12972–97. DOI: 10.3390/ijms150712972.
51. Foresta C., Pizzol D., Bertoldo A. et al. Semen washing procedures do not eliminate human papilloma virus sperm infection in infertile patients. Fertil Steril 2011;96(5):1077–82. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2011.04.009.
52. Garolla A., Lenzi A., Palù G. et al. Human papillomavirus sperm infection and assisted reproduction: a dangerous hazard with a possible safe solution. Hum Reprod 2012;27(4):967–73. DOI: 10.1093/humrep/des009.
53. Garolla A., Pizzol D., Bertoldo A. et al. Testicular cancer and HPV semen infection. Front Endocrinol (Lausanne) 2012;3:172. DOI: 10.3389/fendo.
54. Garolla A., Engl B., Pizzol D. et al. Spontaneous fertility and *in vitro* fertilization outcome: new evidence of human papillomavirus sperm infection. Fertil Steril 2016;105(1):65–72.e1. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2015.09.018.
55. Calinisan J.H., Chan S.R., King A., Chan P.J. Human papillomavirus and blastocyst apoptosis. J Assist Reprod Genet 2002;19(3):132–6. DOI: 10.1023/a:1014736805127.
56. You H., Liu Y., Carey M.J. et al. Defective 3A trophoblast-endometrial cell adhesion and altered 3A growth and survival by human papillomavirus type 16 oncogenes. Mol Cancer Res 2002;1(1):25–31.
57. Henneberg A.A., Patton W.C., Jacobson J.D., Chan P.J. Human papilloma virus DNA exposure and embryo survival is stage-specific. J Assist Reprod Genet 2006;23(6):255–9. DOI: 10.1007/s10815-006-9030-8.
58. Perino A., Giovannelli L., Schillaci R. et al. Human papillomavirus infection in couples undergoing *in vitro* fertilization procedures: impact on reproductive outcomes. Fertil Steril 2011;95(5):1845–8. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2010.11.047.
59. Depuydt C.E., Donders G.G.G., Verstraete L. et al. Infectious human papillomavirus virions in semen reduce clinical pregnancy rates in women undergoing intrauterine insemination. Fertil Steril 2019;111(6):1135–44. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2019.02.002.
60. Tangel S., Taşçı Y., Pabuçcu E.G. et al. DNA fragmentation index and human papilloma virus in males with previous

- assisted reproductive technology failures.
Turk J Urol 2018;45(1):12–6.
DOI: 10.5152/tud.2018.96393.
61. Garolla A., De Toni L., Bottacin A. et al.
Human papillomavirus prophylactic
vaccination improves reproductive
outcome in infertile patients
with HPV semen infection: a retrospective
study. Sci Rep 2018;8(1):912.
DOI: 10.1038/s41598-018-19369-z.
62. Gizzo S., Ferrari B.,
Noventa M. et al. Male and couple
fertility impairment due to HPV-DNA
sperm infection: update on molecular
mechanism and clinical impact –
systematic review. Biomed
Res Int 2014;230263.
DOI: 10.1155/2014/230263.

ORCID автора / ORCID of author

Е.Е. Брагина / E.E. Bragina: <https://orcid.org/0000-0002-8422-4962>

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. Author declared about the absence of conflict of interest.

Финансирование. Работа проведена без спонсорской поддержки.

Funding. The work was conducted without any sponsorship.