



Вирусное инфицирование сперматозоидов. Часть 2. Герпесвирусы человека, вирус иммунодефицита человека, вирус гепатита С, вирус Зика (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 сперматозоидах обнаружены вирус иммунодефицита человека, вирус гепатита С, вирус простого герпеса, цитомегаловирус, вирус Зика. Доказана возможность вертикальной передачи вируса иммунодефицита человека, вируса простого герпеса, вируса Зика.

Интрагаметное инфицирование сперматозоидов герпесвирусами приводит к аномалиям развития эмбриона и может являться причиной спонтанных аборт как при естественном зачатии, так и при применении вспомогательных репродуктивных технологий. Разработка методов диагностики интрагаметного вирусного инфицирования сперматозоидов позволит в некоторых случаях установить причину бесплодия и аномалий беременности и применить соответствующую противовирусную терапию на стадии подготовки к естественному зачатию или применению вспомогательных репродуктивных технологий.

Ключевые слова: сперматозоид, обнаружены вирус иммунодефицита человека, вирус гепатита С, вирус простого герпеса, цитомегаловирус, вирус Зика, интрагаметное инфицирование

Для цитирования: Брагина Е. Е. Вирусное инфицирование сперматозоидов. Часть 2. Герпесвирусы человека, вирус иммунодефицита человека, вирус гепатита С, вирус Зика (обзор литературы). Андрология и генитальная хирургия 2020;21(4):20–30.

DOI: 10.17650/2070-9781-2020-21-4-20-30



Viral infection of sperm. Part 2. Human herpes viruses, human immunodeficiency virus, hepatitis C virus, Zika virus (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

Intragametal viral infection of spermatozoa can cause true vertical transmission of viruses through germ cells. Currently, human immunodeficiency virus, hepatitis C viruses, herpes simplex virus, cytomegalovirus, Zika virus have been detected in spermatozoa. The possibility of vertical transmission of human immunodeficiency virus, cytomegalovirus, herpes simplex virus and Zika virus has been proven.

Intragametal infection of spermatozoa with viruses of the herpes group 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, human immunodeficiency virus, hepatitis C viruses, herpes simplex virus, cytomegalovirus, Zika virus, intragametal infection

For citation: Bragina E. E. Viral infection of sperm. Part 2. Human herpes viruses, human immunodeficiency virus, hepatitis C virus, Zika virus (review). Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery 2020;21(4):20–30.

3. Герпесвирусы

3.1. Вирус простого герпеса (ВПГ) – ДНК-содержащий вирус из семейства *Herpesviridae*, передающийся половым путем и персистирующий в клетках ор-

ганизма-хозяина. Присутствие ВПГ в урогенитальном тракте случайно выбранных пациентов мужского пола без генитального герпеса в анамнезе было впервые выявлено Y. M. Centifanto и соавт. [1]. Возможная

роль спермы в передаче ВПГ была исследована F.A. De-ture и соавт. в культуре ткани. Авторы продемонстрировали инфекционность герпесвирусов в сперме, полученной в межрецидивный период у 2 из 30 здоровых субъектов мужского пола с рецидивирующими ВПГ-инфекциями [2]. Позднее ВПГ был выделен в клеточной культуре из эякулята у 40 % пациентов с нарушениями фертильности [3].

О передаче генитального герпеса путем донорского оплодотворения сообщили D.E. Моог и соавт. Донором был пациент с первичной бессимптомной инфекцией ВПГ 2-го типа с инфицированной ВПГ постоянной половой партнершей. Свежую сперму донора использовали для оплодотворения ВПГ-сегонегативной женщины, у которой после этого развилась первичная инфекция, вызванная ВПГ 2-го типа. Прямые доказательства передачи ВПГ от донора реципиенту были получены с помощью рестриктазного анализа изолятов ВПГ 2-го типа, полученных из спермы донора и из шейки матки реципиента [4].

При бесплодии методом вложенной полимеразной цепной реакции (ПЦР) ДНК ВПГ выявили в 37 (24 %) из 153 образцов спермы инфертильных пациентов, но не в контрольной группе [5]. Аналогичные результаты получены N. Kapranos и соавт. [6], которые также с помощью вложенной ПЦР продемонстрировали наличие ДНК ВПГ в 64 (56,6 %) из 113 образцов спермы пациентов клиники бесплодия. Частота выявления ВПГ в сперме варьирует в зависимости от метода обнаружения вирусной ДНК [7].

При применении вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ), а именно метода экстракорпорального оплодотворения, присутствие ВПГ в сперме не влияет на частоту оплодотворения яйцеклетки и дробления зиготы, но статистически значимо снижает частоту формирования бластоцисты, имплантации эмбриона и наступления беременности [8].

Обнаруженное ухудшение показателей спермограммы при инфицировании ВПГ большинство ученых рассматривают как прямую либо косвенную причину мужского бесплодия [9, 10]. Присутствие ВПГ 1-го и 2-го типов в сперме связано со снижением концентрации сперматозоидов и доли активно-подвижных сперматозоидов [11], а также с увеличением количества дегенерирующих и незрелых половых клеток и аномальных сперматозоидов [12]. S.H. Monavari и соавт. с помощью метода ПЦР в реальном времени обнаружили ДНК ВПГ в сперме 26 из 70 инфертильных пациентов без симптомов ВПГ и выявили связь инфицирования с уменьшением количества сперматозоидов [13]. Аналогично связь выявления ВПГ 1-го типа в эякуляте с более низким средним количеством сперматозоидов была показана в недавно опубликованной работе [14]. Авторы исследовали 279 образцов эякулята инфертильных пациентов и обнаружили ВПГ 1-го или

2-го типа в 10,7 % образцов эякулята. Среди образцов с признаками только одного типа ВПГ на 7,5 % чаще выявляли ВПГ 1-го типа, чем ВПГ 2-го типа. Прямое повреждающее действие ВПГ на клетки сперматогенеза и на клетки Сертоли было продемонстрировано при экспериментальной восходящей ВПГ-инфекции [15]. В источниках описано улучшение параметров спермограммы [16] и наступление беременности [5] после специфической антигерпетической терапии.

Продукция тимидинкиназы ВПГ 1-го типа в яичках трансгенных мышей коррелирует со структурными аномалиями сперматозоидов и дефектами сперматогенеза, что предполагает участие этой тимидинкиназы в повреждении сперматогенных клеток у пациентов с ВПГ-инфекцией [17]. Снижение уровня тимидинкиназы приводит в экспериментах на животных к значительному снижению частоты выявления аномалий сперматозоидов и восстановлению фертильности.

Ряд авторов отрицает влияние ВПГ-инфекции на параметры спермограммы. E. Neofytou и соавт. обнаружили ДНК ВПГ 1-го типа с помощью ПЦР в 2,1 % образцов спермы бесплодных мужчин, но не обнаружили связи с аномальными параметрами спермы [7].

3.2. Инфицирование сперматозоидов ВПГ. Исследование локализации ВПГ позволяет сделать заключение о наличии внутригаметного инфицирования. G. Kulcsar и соавт. идентифицировали антигены ВПГ в сперматозоидах пациентов с различными заболеваниями с помощью реакции иммунофлюоресценции (РИФ) [18], D. Kotronias, N. Kapranos, используя флуоресцентную гибридизацию *in situ* (fluorescent *in situ* hybridization, FISH), продемонстрировали присутствие ДНК ВПГ в сперматозоидах 37 (46 %) из 80 пациентов клиники бесплодия. Количество инфицированных сперматозоидов колебалось от 2 клеток на образец до 60 % всех клеток [19].

В.А. Науменко и соавт. при бесплодии выделяли ВПГ в культуре чувствительных клеток как из цельного эякулята (31 % против 17 % в контрольной группе), так и из фракции подвижных сперматозоидов (31 % против 8 %). Аналогичные результаты авторы получили методом ПЦР *in situ*: ДНК ВПГ в сперматозоидах обнаружили у 26 % пациентов с бесплодием и у 2,6 % мужчин контрольной группы [20].

При электронно-микроскопическом исследовании эякулята инфертильных пациентов мы выявляли капсид ВПГ в ядре и в цитоплазматической капле сперматозоидов [21]. РИФ с использованием антител к ВПГ 1-го и 2-го типа и FISH с биотинилированными зондами к ДНК ВПГ позволили выявить ДНК и белки ВПГ в сперматозоидах очищенной подвижной фракции [22, 23]. Сохранение генома ВПГ в подвижных морфологически нормальных сперматозоидах является аргументом в пользу переноса ВПГ сперматозоидами



потомству во время естественного оплодотворения или оплодотворения с использованием ВРТ.

Вирус простого герпеса — ядерный вирус, т.е. он не может проникать в очень плотный хроматин зрелых сперматозоидов, поэтому они нечувствительны к ВПГ. Это было подтверждено экспериментами С. Pallier и соавт. [24]. Авторы инкубировали эякулированные сперматозоиды с ВПГ 2-го типа. Вирусные частицы прикрепились к мембране сперматозоидов в присутствии семенной жидкости, но не были найдены внутри сперматозоидов. Прикрепление вируса к зрелым сперматозоидам в экваториальной зоне продемонстрировано также с помощью конфокальной микроскопии при инкубации сперматозоидов с ВПГ *in vitro* [10]. Скорее всего, вирусы попадают в сперматозоиды на стадии незрелых половых клеток. Это было выявлено в экспериментах на животных. На модели экспериментального герпетического орхита антигены ВПГ с помощью РИФ [25] и ДНК ВПГ методом FISH [15] выявляли в незрелых половых клетках — сперматоцитах, круглых и удлинённых сперматидях. Методом количественного кариологического анализа незрелых половых клеток в эякуляте пациентов с ВПГ-инфицированием сперматозоидов был продемонстрирован частичный арест сперматогенеза на ранних стадиях профазы I мейоза, выявлен цитопатический эффект герпетического инфицирования и изменение количества незрелых половых клеток. Сделано заключение о том, что ВПГ оказывает влияние на сперматогенез на уровне сперматогенного эпителия [12].

3.3. Влияние инфицирования сперматозоидов ВПГ на репродукцию. Существует повышенный риск спонтанных аборт и/или неудач ВРТ в парах, в которых у мужчины выявлены инфицированные ВПГ сперматозоиды [26]. Капсиды ВПГ в сперматозоидах у партнёров женщин со спонтанными абортами или аномалиями развития эмбриона после применения ВРТ выявляли статистически значимо чаще, чем в контрольной группе (68 % против 9 %). Было высказано предположение, что ВПГ неактивен в зрелых сперматозоидах, поскольку вирусный геном, находящийся в ядре, инактивирован, как и конденсированный хроматин сперматозоидов. После оплодотворения мужской пронуклеус подвергается деконденсации, активируется экспрессия генов сперматозоида и вирусных генов, что приводит к инфицированию эмбриона.

При выявлении внутригаметного герпетического инфицирования специфическая антигерпетическая терапия позволяет существенно улучшить результат ВРТ. Капсиды ВПГ в ходе электронно-микроскопического исследования выявили в сперматозоидах 55 пациентов, у которых в анамнезе была неудачная попытка интрацитоплазматической инъекции сперматозоида (остановка развития эмбрионов на 3–5-й день после оплодотворения). Терапию препаратами ацикловира

прошли 42 пациента, а 13 отказались от терапии (эту группу рассматривали в качестве контрольной). В группе пациентов, прошедших антивирусную терапию, клиническая беременность наступила в 19 (45,2 %) из 45 случаев, в контрольной группе — в 1 (7,7 %) из 13 [27]. D. Kotronias, N. Kapranos сообщили о наступлении беременности у 3 женщин после лечения ацикловиром 8 мужчин с выявленным ВПГ-инфицированием сперматозоидов [19].

3.4. Цитомегаловирус (ЦМВ) и другие герпесвирусы. Распространённость ДНК человеческого ЦМВ в половых путях и в сперме фертильных и инфертильных ЦМВ-положительных мужчин, согласно различным источникам, варьирует от 8 до 65 % [7, 28]. J.L. Bresson и соавт. культуральным методом и методом ПЦР выявили наличие ЦМВ в 4 % криоконсервированных образцов эякулята, полученных от 231 донора спермы [29].

Данные о влиянии ЦМВ, как и ВПГ, на основные параметры качества эякулята: концентрацию, подвижность и морфологию сперматозоидов — противоречивы. D.J. Lang и соавт. выделяли ЦМВ в культуре чувствительных клеток из эякулята пациента после излечения мононуклеоза и обнаружили сохранение вируса в сперме в течение 14 мес. Авторы продемонстрировали преходящее снижение подвижности сперматозоидов в инфицированном эякуляте [30]. Снижение концентрации сперматозоидов у 8 пациентов с обнаруженным в сперме ЦМВ по сравнению с контрольной группой бесплодных мужчин без ЦМВ-инфекции выявили К.Н. Wu и соавт. [31]. В. Науменко и соавт. при обследовании 232 пациентов обнаружили ДНК ВПГ в 5,3 % образцов и также сообщили о сниженном количестве сперматозоидов у этой группы пациентов [32]. Однако некоторые исследователи не обнаруживали причинно-следственной связи ЦМВ с инфертильностью [28].

Нет прямых данных о корреляции инфицирования сперматозоидов человека ЦМВ с невынашиванием беременности и неправильным развитием плода. При инокуляции ЦМВ самцам мыши у них развивалась генерализованная инфекция, и ЦМВ обнаруживали в сперматозоидах, извлечённых из матки самок после спаривания [33]. Авторы не выявили влияния ЦМВ на оплодотворение и эмбриогенез у мышей, но следует учитывать, что они брали сперматозоиды после инкубации с ЦМВ, что приводило к обратимому поверхностному прикреплению вируса к сперматозоидам. Это показано при инкубации сперматозоидов с вирусной взвесью [24]. После заражения двуклеточных эмбрионов мыши ЦМВ происходило ингибирование образования бластоцисты [34].

В. Науменко и соавт. в модельной системе на культуре ткани яичка человека показали, что инфицирование ЦМВ происходит на стадии незрелых половых

клеток. Вирус обнаруживали в сперматогониях и сперматоцитах, при дифференцировке которых возникают зрелые инфицированные сперматозоиды. ПЦР *in situ* и электронно-микроскопическое исследование позволило обнаружить внутригаметную локализацию ЦМВ. Авторы продемонстрировали уменьшение количества незрелых половых клеток при вирусной инфекции, что указывает на гаметотоксическое действие ЦМВ. Конфокальная микроскопия сперматозоидов, инфицированных ЦМВ, также позволила установить внутриклеточную локализацию антигена ЦМВ [35].

В сперме мужчин из бесплодных пар обнаруживают также другие герпесвирусы человека — вирус герпеса человека 6-го типа, вирус Эпштейна—Барр [35]. В.В. Евдокимов и соавт. исследовали образцы эякулята 175 мужчин с нарушением фертильности. ЦМВ, вирус Эпштейна—Барр и вирус герпеса человека 6-го типа методом ПЦР в реальном времени выявили у 24 (13,7 %) пациентов. Ни у одного из здоровых мужчин вирусная ДНК в эякуляте не была обнаружена. Сравнительный анализ спермограмм показал, что у инфицированных пациентов была значительно снижена подвижность сперматозоидов, а также уменьшено количество морфологически нормальных форм по сравнению с этими показателями у здоровых мужчин [36].

4. Вирус гепатита С

Вирус гепатита С (ВГС) — РНК-содержащий вирус размером 30–60 нм, относящийся к семейству *Flaviviridae*, жизненный цикл которого осуществляется в цитоплазме инфицированной клетки. Характерной особенностью вирусного генома является наличие 2 высоковариабельных участков. Следствие интенсивной генетической изменчивости ВГС — существование различных генотипов, субтипов и квазивидов вируса, что затрудняет его элиминацию иммунной системой организма.

Считается, что вертикальная передача ВГС осуществляется исключительно от матери новорожденному при прохождении через половые пути. Эти представления основаны на результатах многочисленных исследований (см. обзор [37]).

Данных о роли ВГС в нарушении мужской фертильности и о выявлении ВГС в семенной жидкости и сперматозоидах значительно меньше, чем о вирусах группы герпеса, и они неоднозначны. Так, Е. Debono и соавт. не обнаружили РНК ВГС в сперме инфицированных мужчин с высокой вирусной нагрузкой в крови с помощью ПЦР и FISH [38]. R. Levy и соавт., напротив, показали, что РНК ВГС может быть обнаружена в сперме инфицированных мужчин, когда ингибиторы Taq-полимеразы семенной жидкости подавлены разведением [39]. Т. Bourlet и соавт. подтвердили выявление РНК ВГС в сперме 1/3 пациентов с вирусемией ВГС [40].

В ряде сообщений связывают инфицирование ВГС с изменениями параметров спермограммы [41]. S. Kaganolahi и соавт. установили прямое отрицательное влияние ВГС на сперматогенез и сообщили об уменьшении количества сперматозоидов и доли сперматозоидов с нормальной морфологией, а также о снижении их подвижности [42].

Е. Moretti и соавт. указывают не только на более низкий индекс фертильности, но и на более высокий уровень диплоидии в сперматозоидах пациентов с инфицированием спермы ВГС, предполагая, что апоптоз и некроз сперматозоидов играют важную роль у этих пациентов [43]. Эти результаты были подтверждены исследованием S. La Vignera: потенциал митохондриальной мембраны, конденсация хроматина и фрагментация ДНК были значительно изменены у пациентов с хронической ВГС-инфекцией. У этих пациентов был также обнаружен более высокий уровень активных форм кислорода, а вирусная репликация коррелировала с ухудшением всех функциональных параметров спермы [44].

Инфицирование сперматозоидов ВГС. Косвенные данные свидетельствуют о возможности внутригаметного инфицирования ВГС. Так, М. Meseguer и соавт. методом вложенной ПЦР определяли РНК ВГС во фракции промытых подвижных сперматозоидов [45]. Вирусная нагрузка после процедуры очистки сперматозоидов снижается, хотя и не исчезает полностью [46].

Возможность вертикальной передачи ВГС сперматозоидами продемонстрирована на экспериментальных моделях. М. Ма и соавт. сконструировали рекомбинантную плазмиду pIRES2-EGFP-HCV С и интегрировали в геном сперматозоидов человека. Интеграция гена ВГС была подтверждена методом FISH. Затем авторы провели гетерологическое оплодотворение трансфицированными сперматозоидами яйцеклеток хомячка. Положительные сигналы ДНК ВГС были подтверждены в полученных двуклеточных эмбрионах. Репликация опосредованного сперматозоидами гена *С ВГС* проходила синхронно с репликацией генома хозяина [47].

В другой работе этих авторов исследованы образцы эякулята 16 пациентов, инфицированных ВГС (генотип 1b) и 20 мужчин контрольной группы. Сперматозоиды использовали для межвидового оплодотворения *in vitro* яйцеклеток золотистого хомяка. При дроблении оплодотворенной яйцеклетки изучали метафазные хромосомы человека, которые четко отличаются от хромосом хомяка. Частота хромосомных aberrаций была статистически значимо выше в инфицированных сперматозоидах по сравнению с контрольной группой (10,85 % против 5,96 %). Авторы пришли к выводу, что вертикальная передача ВГС через мужские половые клетки вероятна, и она может быть причиной наследственных генетических аномалий, связанных с хромосомными aberrациями [48].



В дискордантных парах, в которых мужчина инфицирован ВГС и которые прибегают к помощи ВРТ, рекомендуется осуществлять промывание сперматозоидов, которое снижает вирусную нагрузку, хотя и не устраняет риск полностью. Кроме того, поскольку экспериментальные исследования, проведенные на животных, показали, что противовирусное лечение оказывает тератогенный и эмбриоцидный эффект, беременность рекомендуют отложить как минимум на 6 мес после завершения терапии [49].

5. Вирус иммунодефицита человека

Вирус иммунодефицита (ВИЧ) — РНК-содержащий вирус, основной клеткой-мишенью которого являются CD4-лимфоциты. В жизненном цикле ВИЧ есть стадия обратной транскрипции — синтез ДНК на матрице геномной РНК вируса с последующей интеграцией провирусной ДНК в геном [50]. Типичными путями передачи ВИЧ 1-го типа являются половой акт, контакт крови с кровью и перинатальная передача от матери ребенку [51]. ВИЧ 1-го типа и ВИЧ 2-го типа тесно связаны, но различаются по уровню патогенности, естественному течению и восприимчивости больных к терапии. ВИЧ 1-го типа передается легче и, следовательно, является причиной подавляющего большинства глобальных ВИЧ-инфекций.

Первоначально ВИЧ 1-го типа был выделен из фракции моноклеарных клеток спермы [52]. Это подтверждает, что основной клеткой-мишенью для ВИЧ являются CD4-лимфоциты. Провирусная ДНК ВИЧ 1-го типа была обнаружена в нескольких типах клеток эякулята, в основном в лимфоцитах, моноцитах и макрофагах [53].

Отрицательное влияние на параметры спермограммы (объем, концентрацию, подвижность) продемонстрировано на большой группе ВИЧ-положительных пациентов [54], причем у мужчин с бессимптомной ВИЧ-инфекцией параметры спермы оставались в пределах нормы. При повышенной вирусной нагрузке параметры спермограммы ухудшаются [55]. Антиретровирусная терапия также отрицательно влияет на показатели спермограммы [56].

5.1. Инфицирование сперматозоидов ВИЧ. ВИЧ может прикрепляться к поверхности сперматозоидов. С. D. Young и соавт. [57] продемонстрировали передачу вируса в эпителиальные клетки влагалища и шейки матки после инкубации сперматозоидов с клиническим изолятом ВИЧ 1-го типа. Авторы продемонстрировали, что поверхностное связывание вируса опосредовано рядом лигандов, связывающих gp120 ВИЧ 1-го типа, и сделали заключение о роли сперматозоидов в качестве переносчика вируса при горизонтальном распространении инфекции (передаче половым партнерам).

В последние годы все большее внимание привлекает истинная вертикальная передача ВИЧ 1-го типа

половыми клетками. В. Muciaccia и соавт. обнаружили провирус ВИЧ методом вложенной ПЦР в очищенной фракции сперматозоидов 5 из 12 ВИЧ-положительных пациентов [58]. Показано, что промывание спермы перед применением ВРТ в серодискордантных парах снижает риск передачи ВИЧ от инфицированного мужчины женщине [59], но не полностью — провирусы ВИЧ авторы выявили в 69,2 % образцов очищенных сперматозоидов ВИЧ-положительных мужчин с помощью вложенной ПЦР [60].

Внутриклеточная локализация капсидов ВИЧ 1-го типа в сперматозоидах была продемонстрирована E. Dussaix и соавт. при электронно-микроскопическом исследовании. С помощью ПЦР они показали, что инфицированные сперматозоиды *in vitro* способны переносить вирус в лейкоциты крови [61]. В. Baccetti и соавт. обнаружили ВИЧ 1-го типа в сперме пациентов с нормальными показателями спермограммы, а вирусные частицы, их нуклеиновые кислоты и антигены — в цитоплазме сперматозоидов мужчин, инфицированных ВИЧ 1-го типа. Авторы показали, что сперматозоиды могут переносить ВИЧ в ооциты человека при экстракорпоральном оплодотворении [62]. P. Piomboni и V. Baccetti описали капсиды ВИЧ 1-го типа в сперматозоидах, инфицированных *in vitro* или полученных от пациентов с клинической инфекцией. На представленных микрофотографиях капсиды были обнаружены в цитоплазматической капле сперматозоидов, под акросомой и в вакуоли ядра. Капсиды идентифицированы с помощью электронно-микроскопического иммунохимического исследования с использованием антител к белкам ВИЧ, меченным коллоидным золотом [63].

5.2. Влияние инфицирования сперматозоидов ВИЧ на репродукцию. Чтобы доказать возможность вертикальной передачи ВИЧ сперматозоидами человека, D. Wang и соавт. создали плазмидную конструкцию с трансфекцией ВИЧ, поместили ее в сперматозоиды и произвели гетерологичное оплодотворение ооцитов хомяка этими сперматозоидами. Ооциты исследовали методами FISH, ПЦР в реальном времени и РИФ. Сигналы FISH для гена *gag* ВИЧ 1-го типа наблюдались в ядрах и хромосомах трансфицированных сперматозоидов человека, мужских пронуклеусах зигот и ядрах бластомеров в двухклеточных эмбрионах, что указывает на то, что ген *gag* ВИЧ 1-го типа может быть интегрирован в геном сперматозоидов. Эти результаты также подтвердили, что ген-мишень может транскрибировать мРНК в эмбриональных клетках человека [64].

В другой работе этих авторов с помощью FISH в сперматозоидах пациентов с ВИЧ/СПИД был найден провирус ВИЧ 1-го типа. После межвидового оплодотворения яйцеклетки хомяка провирус был обнаружен в клетках эмбриона. Установлено, что провирус ВИЧ может реплицироваться вместе с эмбриональным геномом и впоследствии экспрессировать свой белок



в эмбрионе, что продемонстрировано при использовании РИФ [65]. Репликация провируса ВИЧ в сперматозоидах с компактным метаболически инертным хроматином не обнаруживается. Регуляция генной экспрессии осуществляется путем изменения статуса метилирования промоторных участков вирусного генома параллельно с перепрограммированием метилирования генома хозяина после оплодотворения [66]. Эти данные указывают на возможность вертикальной передачи ВИЧ 1-го типа из генома сперматозоидов в эмбриональный геном путем оплодотворения [65, 67]. Насколько часто это явление имеет место в клинической практике — неизвестно. D. Wang и соавт. сообщили о низкой вирусной нагрузке сперматозоидов у ВИЧ-инфицированных пациентов. Авторы обнаружили ВИЧ 1-го типа в сперматозоидах 9 (27,2 %) из 33 пациентов, множественность инфицирования — в 1,3 % случаев, что свидетельствует о низкой вероятности такого оплодотворения *in vivo* [65]. Поэтому применение тройной процедуры очистки сперматозоидов перед внутриматочной инсеминацией позволяет, как считают некоторые исследователи, практически полностью исключить наличие вирусной РНК в сперме ВИЧ-положительных мужчин [68]. G. Cito и соавт. предлагают использовать эту процедуру для подготовки сперматозоидов к интрацитоплазматической инъекции, которую они считают предпочтительнее внутриматочной инсеминации [55].

В единичных публикациях сообщается о рождении ВИЧ-инфицированных детей в дискордантных парах с ВИЧ-инфицированным мужчиной — 1 случай во Франции в 1998 г., 2 случая в Аргентине в 2004 г., 1 в Индии, 1 в Китае и 1 в Португалии. Некоторые исследователи предполагают, что дети были инфицированы при контакте с пораженными участками кожи отцов [69]. Противоположная точка зрения заключается в том, что сперматозоиды являются переносчиками ВИЧ при оплодотворении [70]. Статья W.D. Cardona Maya, M.T. Rugeles, опубликованная в журнале *AIDS Research and Human Retroviruses*, так и называется: «Передача ВИЧ от отца к ребенку: не забывайте о роли сперматозоидов как вектора» (“Father-to-child HIV transmission: do not forget sperm cells as vectors”) [71].

6. Вирус Зика

Вирус Зика представляет собой одноцепочечный РНК-вирус, относящийся к семейству *Flaviviridae*. Вирус Зика — арбовирус (вирус, переносимый членистоногими), он передается комарами вида *Aedes*, которые также переносят некоторые другие вирусы (вирус желтой лихорадки, вирус денге и вирус чикунгуньи). В отличие от других арбовирусов, для вируса Зика актуален половой и вертикальный пути передачи [72]. Клинические проявления инфекции — лихорадка и быстро преходящие симптомы, сходные с симптомами острого респираторного заболевания. Опасно инфицирование

беременных женщин, приводящее к патологии развития головного мозга плода и микроцефалии новорожденных.

Исследования на животных показали, что вирус Зика может инфицировать и повреждать яичко и придаток яичка и что это связано с уменьшением количества сперматозоидов у инфицированных пациентов. Вирус Зика способен инфицировать предстательную железу. У мышей и макак-резусов гистологически доказанный хронический простатит, связанный с инфицированием, сохранялся даже после очистки от вируса [73].

Вирус Зика поражает тестикулярную ткань. Наиболее чувствительными клетками репродуктивной системы являются клетки Сертоли [74]. В эксперименте на бабуинах показано, что при поражении клеток Сертоли происходит нарушение гематотестикулярного барьера и поражение сперматогенных клеток [75].

Имеются данные о внутригаметной локализации вируса Зика, которая была выявлена с помощью РИФ [76] и электронной микроскопии [77].

Обнаружение вируса Зика в сперме и сперматозоидах человека в течение нескольких месяцев после исчезновения вiremii [78] позволяет считать, что у взрослых людей с нормальным иммунитетом яички являются единственным органом, в котором вирус Зика может персистировать, поэтому он представляет риск для беременных женщин на тех территориях, где является эндемическим заболеванием, и на тех, где не является эндемическим, но может быть передан половым путем. Хотя в 2016 г. Всемирная организация здравоохранения предупреждала об опасности распространения вируса Зика, в последующие годы стало понятно, что количество новых случаев резко сократилось [79]. Тем не менее ряд авторов считает, что органы мужской репродуктивной системы могут служить резервуаром вируса [80] и привести к очередной вспышке инфекции.

7. SARS-CoV-2

Вирус SARS-CoV-2 — оболочечный, содержащий одноцепочечную РНК. В то время как пандемия COVID-19 распространяется по всему миру, научное сообщество продолжает изучать патофизиологию вируса SARS-CoV-2. Появились первые работы относительно репродуктивных последствий коронавирусной инфекции. К моменту опубликования данной статьи появились препринты, посвященные этой проблеме.

Сейчас уже известно, что основной путь проникновения SARS-CoV-2 в клетку — через белок оболочечного шипика (S-белок), присоединяющийся к ангиотензинпревращающему ферменту 2 и использующий клеточную сериновую протеазу (TMPRSS2) для прайминга. Оба белка присутствуют в ткани яичка [81]. Таким образом, возникло предположение о том, что

SARS-CoV-2 может вызывать инфекцию яичек, и о том, что возможна передача вируса половым путем.

F. Pan и соавт. проверили методом ПЦР в реальном времени сперму 34 пациентов после COVID-19. Ни один образец спермы не был инфицирован. Авторы указывают, что выводы исследования ограничены вследствие того, что оно проведено через несколько недель после острого периода заболевания, а у пациентов наблюдали в основном легкое течение заболевания, поэтому не исключено, что более высокая вирусная нагрузка может привести к другим результатам [82].

Принимая во внимание известные механизмы проникновения SARS-CoV-2 в клетки и необходимость двойной экспрессии ангиотензинпревращающего фермента и TMPRSS2, авторы использовали имеющуюся у них возможность секвенирования РНК единичных клеток и показали, что только 4 (<0,1 %) из 6490 клеток яичка содержали РНК для синтеза обоих белков.

Авторы посчитали маловероятным, что SARS-CoV-2 может проникать в любые клетки яичка (например, половые клетки, клетки Лейдига, клетки Сертоли и т.д.). Далее авторы сообщили о другом интересном и новом клиническом наблюдении, а именно о том, что 17,6 % (6/34) мужчин испытывали дискомфорт в мошонке во время инфекции COVID-19 [82].

M. Yang и соавт. при исследовании тестикулярной ткани 12 пациентов, умерших от COVID-19, выявили повреждение ткани яичек в сочетании с воспалительным инфильтратом. Обнаружена вакуолизация клеток Сертоли, их отслоение от базальной мембраны. Среднее количество клеток Лейдига в тестикулярной ткани инфицированных пациентов было значительно ниже, чем в контроле. SARS-CoV-2 был обнаружен методом ПЦР в реальном времени с использованием обратной транскриптазы в 1 из 12 образцов, при электронно-микроскопическом исследовании вирус не обнаружен [83]. Другая группа китайских исследователей, подробно описывая данные о выявлении вируса в легочной ткани 37 пациентов, скончавшихся от COVID-19, отметила, что вирус удалось выявить также в семенниках иммуногистохимическими методами, с помощью ПЦР и электронной микроскопии [84].

J.K. Achua и соавт. изучили ткани яичек, полученные при аутопсии 6 пациентов с SARS-CoV-2 и 3 неинфицированных мужчин, а также 1 биоптат яичка пациента, который имел контакт с больным COVID-19 и у которого получен положительный результат теста на эту инфекцию. При электронно-микроскопическом исследовании шиповидные структуры, подобные пепломерам SARS-CoV-2, были обнаружены в семенных канальцах в 1 аутопсийном образце и в биоптате. При иммуногистохимическом анализе установлена корреляция нарушений сперматогенеза и уровня ACE2 [85].

Хотя большинство авторов склоняется к мысли, что на сегодняшний день прямых доказательств зара-

жения SARS-CoV-2 клетками яичек недостаточно, вирус обнаружен не только в единичных образцах тестикулярной ткани, но и в эякуляте. D. Li и соавт. анализировали методом ПЦР в реальном времени с использованием обратной транскриптазы эякулят 38 пациентов, из которых 23 достигли клинического выздоровления, а 15 находились в острой фазе инфекции. Положительные результаты получены у 6 пациентов, в том числе у 2 после клинического выздоровления [86].

О механизме действия вируса SARS-CoV-2 на сперматогенез высказываются различные мнения. Известно, что повышение температуры тела может временно ухудшать сперматогенез. Будет ли COVID-19 действовать по этой модели, еще предстоит выяснить. Патологические изменения во взятых при аутопсии образцах яичек пациентов с COVID-19, включая интерстициальный отек и застой (как в яичках, так и в придатках яичек), экссудацию эритроцитов и очевидную инфильтрацию Т-лимфоцитами и макрофагами ткани вокруг мелких кровеносных сосудов (как в яичках, так и в эпидидимисе), свидетельствуют о других факторах, участвующих в развитии проявлений инфекции. M.I. Zafar, H. Li считают, что осаждение IgG в семенных канальцах может быть связано с орхитом аутоиммунного происхождения [87]. Высказываются предположения о роли нарушения гипоталамо-гипофизарной оси при заболевании [88].

Кроме того, поскольку более 80 % инфицированных коронавирусом не имеют симптомов, репродуктивные последствия для них также остаются неизвестными [82].

Учитывая глобальные изменения, вызванные пандемией COVID-19 во всем мире и вероятность того, что SARS-CoV-2 будет и далее циркулировать в популяции, можно предположить, что воздействие SARS-CoV-2 на репродуктивное здоровье останется крайне актуальной проблемой здравоохранения [89].

Заключение

Интрагаметное вирусное инфицирование сперматозоидов может быть причиной истинной вертикальной передачи вирусов через половые клетки. В настоящее время в сперматозоидах обнаружены ВИЧ, вирус папилломы человека, в том числе штаммы онкогенного риска, вирусы гепатитов В и С, ВПГ, ЦМВ, вирус Зика. В эксперименте при гетерологичном оплодотворении яйцеклеток хомяка сперматозоидами человека доказана возможность вертикальной передачи ВИЧ [65], вируса гепатита В [90] и вируса папилломы человека [91].

Интрагаметное инфицирование сперматозоидов вирусами группы герпеса [8, 26], вирусом папилломы человека [92] и вирусом гепатита В [93] приводит к аномалиям развития эмбриона и может быть причиной спонтанных аборт как после естественного зачатия, так и после применения ВРТ.

Сперматозоиды — высокодифференцированные транскрипционно инертные клетки с минимальной цитоплазмой и уникальной структурой ядра. Во время спермиогенеза происходит ремоделирование хроматина, в результате которого хроматин становится в 6 и более раз компактнее хроматина соматических клеток [94]. Конденсация хроматина обеспечивает защиту генетического материала сперматозоидов от окисления, бактериальной инфекции и вредоносных молекул женской репродуктивной системы, а также эпигенетическую регуляцию раннего эмбриогенеза [95]. Основным аргументом против существования внутригаметного инфицирования является невозможность инфицирования зрелого сперматозоида, по крайней мере вирусами, жизненный цикл которых протекает в ядре (ДНК-содержащими вирусами, РНК-содержащим ВИЧ). Для ВПГ и вируса Зика продемонстрировано инфицирование на стадии незрелых половых клеток [25, 35, 75].

Из-за особенностей структуры ядра сперматозоидов подтвердить наличие вирусов в сперматозоидах методом

ПЦР, который в настоящее время повсеместно используется для диагностики различных клинических форм вирусной инфекции, в рутинной клинической практике затруднительно. В цитированных в данном обзоре исследованиях для доказательства внутригаметной локализации вирусов применялись довольно дорогостоящие методы — FISH, ПЦР *in situ*, РИФ, секвенирование, вложенная ПЦР и электронная микроскопия.

Данный обзор адресован эмбриологам, андрологам-урологам, гинекологам и репродуктологам. Особенно важно подчеркнуть, что эта тема касается не столько бесплодия, сколько проблемы невынашивания беременности при естественном зачатии и применении ВРТ, а также неудач ВРТ (остановки развития эмбриона на ранних стадиях). Обнаружение интрагаметного вирусного инфицирования сперматозоидов позволит выяснить, по крайней мере у некоторых пациентов, причину бесплодия и аномалий беременности и провести соответствующую противовирусную терапию на стадии подготовки к естественному зачатию или применению ВРТ.

REFERENCES / ЛИТЕРАТУРА

- Centifanto Y.M., Drylie D.M., Deardourff S.L. et al. Herpesvirus type 2 in the male genitourinary tract. *Science* 1972;178(4058):318–9. DOI: 10.1126/science.178.4058.318.
- Deture F.A., Drylie D.M., Kaufman H.E. et al. Herpesvirus type 2: study of semen in male subjects with recurrent infections. *J Urol* 1978;120(4):449–51. DOI: 10.1016/s0022-5347(17)57225-0.
- Csata S., Kulcsar G. Virus-host studies in human seminal and mouse testicular cells. *Acta Chir Hung* 1991;32(1):83–90.
- Moore D.E., Ashley R.L., Zarutskie P.W. et al. Transmission of genital herpes by donor insemination. *JAMA* 1989;261(23):3441–3.
- El Borai N., Inoue M., Lefevre C. et al. Detection of herpes simplex DNA in semen and menstrual blood of individuals attending an infertility clinic. *J Obstet Gynaecol Res* 1997;23(1):17–24. DOI: 10.1111/j.1447-0756.1997.tb00799.x.
- Kapranos N., Petrakou E., Anastasiadou C., Kotronias D. Detection of herpes simplex virus, cytomegalovirus, and Epstein-Barr virus in the semen of men attending an infertility clinic. *Fertil Steril* 2003;79 Suppl 3:1566–70. DOI: 10.1016/s0015-0282(03)00370-4.
- Neofytou E., Sourvinos G., Asmarianaki M. et al. Prevalence of human herpes virus types 1–7 in the semen of men attending an infertility clinic and correlation with semen parameters. *Fertil Steril* 2009;91(6):2487–94. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2008.03.074.
- Абдулмеджидова А.Г., Торганова И.Г., Витязева И.И. и др. Влияние бессимптомной формы герпесвирусной инфекции на результаты лечения бесплодия методами вспомогательных репродуктивных технологий. *Акушерство и гинекология* 2009;(1):45–8. [Abdulmedzhidova A.G., Torganova I.G., Vityazeva I.I. et al. The influence of the asymptomatic form of herpesvirus infection on the results of infertility treatment using assisted reproductive technologies. *Akushertvo i ginekologiya = Obstetrics and Gynecology* 2009;(1):45–8. (In Russ.)].
- Chen M., Cai L.Y., Kanno N. et al. Detection of human herpesviruses (HHVs) in semen of human male infertile patients. *J Reprod Dev* 2013;59(5):457–62. DOI: 10.1262/jrd.2013-023.
- Куц А.А., Наumenko В.А., Климова Р.Р. и др. Герпесвирусная инфекция мужских гамет и бесплодие: от экспериментальных моделей к разработке клинических рекомендаций. *Вопросы вирусологии* 2013;(S1):132–44. [Kushch A.A., Naumenko V.A., Klimova R.R. et al. Herpes virus infection of human gametes and male sterility: from experimental models to development of clinical recommendations. *Voprosy virusologii = Problems of Virology* 2013;(S1):132–44. (In Russ.)].
- Климова Р.Р., Чичев Е.В., Наumenko В.А. и др. Вирус простого герпеса и цитомегаловирус в эякуляте мужчин: вирус простого герпеса чаще встречается при идиопатическом бесплодии и коррелирует со снижением показателей спермы. *Вопросы вирусологии* 2010;55(1):27–31. [Klimova R.R., Chichev E.V., Naumenko V.A. et al. Herpes simplex virus and cytomegalovirus in male ejaculate: herpes simplex virus is more frequently encountered in idiopathic infertility and correlates with the reduction in sperm parameters. *Voprosy virusologii = Problems of Virology* 2010;55(1):27–31. (In Russ.)].
- Бочарова Е.Н., Шилейко Л.В., Брагина Е.Е. и др. Нарушение сперматогенеза человека: количественное исследование состава незрелых половых клеток при инфицировании сперматозоидов вирусом простого герпеса. *Проблемы репродукции* 2006;12(6):75–80. [Bocharova E.N., Shileyko L.V., Bragina E.E. et al. Violation of human spermatogenesis: a quantitative study of the composition of immature germ cells in the infection of spermatozoa with the herpes simplex virus. *Problemy reproduktivii = Russian Journal of Human Reproduction* 2006;12(6):75–80. (In Russ.)].
- Monavari S.H., Vaziri M.S., Khalili M. et al. Asymptomatic seminal infection of herpes simplex virus: impact on male infertility. *J Biomed Res* 2013;27(1):56–61. DOI: 10.7555/JBR.27.20110139.

14. Kurscheidt F.A., Damke E., Bento J.C. et al. Effects of herpes simplex virus infections on seminal parameters in male partners of infertile couples. *Urology* 2018;113:52–8. DOI: 10.1016/j.urology.2017.11.050.
15. Malolina E.A., Kulibin A.Y., Naumenko V.A. et al. Herpes simplex virus inoculation in murine rete testis results in irreversible testicular damage. *Int J Exp Pathol* 2014;95(2):120–30. DOI: 10.1111/iep.12071.
16. Шушакова Е.К., Рублева О.В. Вирус простого герпеса как причина мужского бесплодия (клинический случай). *Здоровье и образование в XXI веке* 2017;19(10):146–48. [Shushakova E.K., Rubleva O.V. Herpes simplex virus as the cause of male infertility (a clinical case). *Zdorovie i obrazovanie v XXI veke* = Health and Education Millennium 2017;19(10):146–48. (In Russ.)].
17. Cai L.Y., Kato T., Nakayama M. et al. HSV type 1 thymidine kinase protein accumulation in round spermatids induces male infertility by spermatogenesis disruption and apoptotic loss of germ cells. *Reprod Toxicol* 2009;27(1):14–21. DOI: 10.1016/j.reprotox.2008.11.052.
18. Kulcsar G., Csata S., Nasz I. Investigations into virus carriership in human semen and mouse testicular cells. *Acta Microbiol Hung* 1991;38(2):127–32.
19. Kotronias D., Kapranos N. Detection of herpes simplex virus DNA in human spermatozoa by *in situ* hybridization technique. *In Vivo* 1998;12(4):391–4.
20. Науменко В.А., Климова Р.Р., Курило Л.Ф. Выявление вируса простого герпеса в мужских половых клетках при экспериментальной инфекции органный культуры семенника и в эякуляте мужчин с нарушениями фертильности. *Акушерство и гинекология* 2010;(3):42–6. [Naumenko V.A., Klimova R.R., Kurilo L.F. Detection of herpes simplex virus in male sex cells in experimental infection of testicular organ culture and in the ejaculate in male fertility disorders. *Akusherstvo i ginekologiya* = Obstetrics and Gynecology 2010;(3):42–6. (In Russ.)].
21. Брагина Е.Е., Абдумаликов Р.А., Бочарова Е.Н. и др. Внутриклеточное инфицирование сперматозоидов человека вирусами группы герпеса. *Андрология и генитальная хирургия* 2002;(3):81–2. [Bragina E.E., Abdumalikov R.A., Bocharova E.N. et al. Intracellular infection of human spermatozoa with herpes viruses. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya* = Andrology and Genital Surgery 2002;(3):81–2. (In Russ.)].
22. Бочарова Е.Н., Абдумаликов Р.А., Брагина Е.Е. и др. Обнаружение белков и капсидов вируса простого герпеса в сперматозоидах человека. *Доклады академии наук* 2003;391(6):836–41. [Bocharova E.N., Abdumalikov R.A., Bragina E.E. et al. Determination of the proteins and capsids of herpes simplex virus in human spermatozoa. *Doklady akademii nauk* = Reports of the Academy of Sciences 2003;391(6):379–83. (In Russ.)].
23. Бочарова Е.Н., Завалишина Л.Э., Брагина Е.Е. и др. Выявление геномной ДНК вируса простого герпеса методом гибридизации *in situ* в сперматозоидах человека при нарушении фертильности. *Доклады академии наук* 2007;412(3):417–21. [Bocharova E.N., Zavalishina L.E., Bragina E.E. et al. Identification of the genomic DNA of the herpes simplex virus by *in situ* hybridization in human spermatozoa with impaired fertility. *Doklady akademii nauk* = Reports of the Academy of Sciences 2007;412(3):417–21. (In Russ.)].
24. Pallier C., Tebourbi L., Chopineau-Proust S. et al. Herpesvirus, cytomegalovirus, human sperm and assisted fertilization. *Hum Reprod* 2002;17(5):1281–87. DOI: 10.1093/humrep/17.5.1281.
25. Грибенча С.В., Брагина Е.Е., Абдумаликов Р.А. и др. Выявление антигена вируса простого герпеса второго типа в клетках сперматогенного эпителия инфицированных тестикул морских свинок. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины* 2007;144(7):79–83. [Gribencha S.V., Bragina E.E., Abdumalikov R.A. et al. Detection of the herpes simplex virus antigen of the second type in the cells of the spermatogenic epithelium of infected guinea pig testicles. *Bulleten eksperimentalnoy biologii i meditsiny* = Bulletin of Experimental Biology and Medicine 2007;144(7):79–83. (In Russ.)].
26. Бочарова Е.Н., Брагина Е.Е., Гусак Ю.К. и др. Герпетическое инфицирование сперматозоидов при неудачах использования репродуктивных технологий и спонтанном прерывании беременности. *Урология* 2007;(3):59–63. [Bocharova E.N., Bragina E.E., Gusak Yu.K. et al. Herpetical infection of spermatozoa in cases of failure to use reproductive technologies and spontaneous termination of pregnancy. *Urologiya* = Urology 2007;(3):59–63. (In Russ.)].
27. Брагина Е.Е., Виноградов И.В., Сухомлинова М.Ю. и др. Улучшение результатов ИКСИ у пациентов с внутригаметным герпетическим инфицированием сперматозоидов. *Андрология и генитальная хирургия* 2012;(1):65–9. [Bragina E.E., Vinogradov I.V., Suhomlinova M.N. et al. The improving ICSI outcomes from patients with intragamete herpesvirus infection. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya* = Andrology and Genital Surgery 2012;(1):65–9. (In Russ.)].
28. Eggert-Kruse W., Reuland M., Johannsen W. et al. Cytomegalovirus (CMV) infection-related to male and/or female infertility factors? *Fertil Steril* 2009;91(1):67–82. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2007.11.014.
29. Bresson J.L., Clavequin M.C., Mazon M.C. et al. Risk of cytomegalovirus transmission by cryopreserved semen: a study of 635 semen samples from 231 donors. *Hum Reprod* 2003;18(9):1881–86. DOI: 10.1093/humrep/deg362.
30. Lang D.J., Kummer J.F., Hartley D.P. Cytomegalovirus in semen. Persistence and demonstration in extracellular fluids. *N Engl J Med* 1974;291(3):121–3. DOI: 10.1056/NEJM197407182910303.
31. Wu K.H., Zhou Q.K., Huang J.H. et al. [Infection of cytomegalovirus and herpes simplex virus and morphology of the infected spermatogenic cells in infertile men (In Chinese)]. *Zhonghua Nan Ke Xue* 2007;13(12):1075–9.
32. Naumenko V., Tyulenev Y., Kurilo L. et al. Detection and quantification of human herpes viruses types 4–6 in sperm samples of patients with fertility disorders and chronic inflammatory urogenital tract diseases. *Andrology* 2014;2(5):687–94. DOI: 10.1111/j.2047-2927.2014.00232.x.
33. Neighbour P.A., Fraser L.R. Murine cytomegalovirus and fertility: potential sexual transmission and the effect of this virus on fertilization *in vitro*. *Fertil Steril* 1978;30(2):216–22. DOI: 10.1016/s0015-0282(16)43463-1.
34. Heggie A.D., Gaddis L. Effects of viral exposure of the two-cell mouse embryo on cleavage and blastocyst formation *in vitro*. *Pediatr Res* 1979;13(8):937–41. DOI: 10.1203/00006450-197908000-00013.
35. Naumenko V.A., Tyulenev Y.A., Yakovenko S.A. et al. Detection of human cytomegalovirus in motile spermatozoa and spermatogenic cells in testis organotypic culture. *Herpesviridae* 2011;2(1):7. DOI: 10.1186/2042-4280-2-7.
36. 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., Tyulenev 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 Virology 2016;61(2):63–8. (In Russ.)]. DOI: 10.18821/0507-4088-2016-61-2-63-68.
37. Benova L., Mohamoud Y.A., Calvert C. et al. Vertical transmission of hepatitis C virus: systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2014;59(6):765–73. DOI: 10.1093/cid/ciu447.
38. Debono E., Halfon P., Bourliere M. et al. Absence of hepatitis C genome in semen

- of infected men by polymerase chain reaction, branched DNA and in situ hybridization. *Liver* 2000;20(3):257–61. DOI: 10.1034/j.1600-0676.2000.020003257.x.
39. Levy R., Bourlet T., Maertens A. et al. Pregnancy after safe IVF with hepatitis C virus RNA-positive sperm. *Hum Reprod* 2002;17(10):2650–53. DOI: 10.1093/humrep/17.10.2650.
40. Bourlet T., Levy R., Maertens A. et al. Detection and characterization of hepatitis C virus RNA in seminal plasma and spermatozoon fractions of semen from patients attempting medically assisted conception. *J Clin Microbiol* 2002;40(9):3252–55. DOI: 10.1128/jcm.40.9.3252-3255.2002.
41. Durazzo M., Premoli A., Di Bisceglie C. et al. Alterations of seminal and hormonal parameters: an extrahepatic manifestation of HCV infection? *World J Gastroenterol* 2006;12(19):3073–76. DOI: 10.3748/wjg.v12.i19.3073.
42. 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 (Yazd)* 2019;17(8):551–56. DOI: 10.18502/ijrm.v17i8.4820.
43. 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.
44. La Vignera S., Condorelli R.A., Vicari E. et al. Sperm DNA damage in patients with chronic viral C hepatitis. *Eur J Intern Med* 2012;23(1):e19–24. DOI: 10.1016/j.ejim.2011.08.011.
45. Meseguer M., Garrido N., Gimeno C. et al. Comparison of polymerase chain reaction-dependent methods for determining the presence of human immunodeficiency virus and hepatitis C virus in washed sperm. *Fertil Steril* 2002;78(6):1199–202. DOI: 10.1016/s0015-0282(02)04275-9.
46. Pasquier C., Daudin M., Righi L. et al. Sperm washing and virus nucleic acid detection to reduce HIV and hepatitis C virus transmission in serodiscordant couples wishing to have children. *AIDS* 2000;14(14):2093–99. DOI: 10.1097/00002030-200009290-00004.
47. Ma M., Zhu Y., Wang D. et al. Research on the vertical transmission of hepatitis C gene from father-to-child via human sperm. *Clin Lab* 2016;62(1–2):1–6. DOI: 10.7754/clin.lab.2015.150706.
48. Zhu Y., Ma M., Huang J. et al. Effects of hepatitis C virus infection on human sperm chromosomes. *Clin Lab* 2016;62(3):373–79. DOI: 10.7754/clin.lab.2015.150705.
49. Foster G.R. Past, present, and future of hepatitis C treatments. *Semin Liver Dis* 2004;24(Suppl 2):97–104. DOI: 10.7754/clin.lab.2015.150705.
50. Levy J.A. HIV pathogenesis: 25 years of progress and persistent challenges. *AIDS* 2009;23(2):147–60. DOI: 10.1097/QAD.0b013e3283217f9f.
51. Galvin S.R., Cohen M.S. The role of sexually transmitted diseases in HIV transmission. *Nat Rev Microbiol* 2004;2(1):33–42. DOI: 10.1038/nrmicro794.
52. Ho D.D., Schooley R.T., Rota T.R. et al. HTLV-III in the semen and blood of a healthy homosexual man. *Science* 1984;226(4673):451–53. DOI: 10.1126/science.6208608.
53. Ceballos A., Remes Lenicov F., Sabatté J. et al. Spermatozoa capture HIV-1 through heparansulfate and efficiently transmit the virus to dendritic cells. *J Exp Med* 2009;206(12):2717–33. DOI: 10.1084/jem.20091579.
54. Muller C.H., Coombs R.W., Krieger J.N. Effects of clinical stage and immunological status on semen analysis results in human immunodeficiency virus type 1-seropositive men. *Andrologia* 1998;30(Suppl 1):15–22. DOI: 10.1111/j.1439-0272.1998.tb02821.x.
55. Cito G., Coccia M.E., Fucci R. et al. Influence of male human immunodeficiency virus (HIV) and hepatitis C virus (HCV) infection on the reproductive outcomes in serodiscordant couples: a case-control study. *Andrology* 2019;7(6):852–58. DOI: 10.1111/andr.12623.
56. Kehl S., Weigel M., Müller D. et al. HIV-infection and modern antiretroviral therapy impair sperm quality. *Arch Gynecol Obstet* 2011;284(1):229–33. DOI: 10.1007/s00404-011-1898-6.
57. Young C.D., Tatieng S., Kongmanas K. et al. Sperm can act as vectors for HIV-1 transmission into vaginal and cervical epithelial cells. *Am J Reprod Immunol* 2019;82(1):e13129. DOI: 10.1111/aji.13129.
58. Muciaccia B., Corallini S., Vicini E. et al. HIV-1 viral DNA is present in ejaculated abnormal spermatozoa of seropositive subjects. *Hum Reprod* 2007;22(11):2868–78. DOI: 10.1093/humrep/dem288.
59. Zafer M., Horvath H., Mmeje O. et al. Effectiveness of semen washing to prevent human immunodeficiency virus(HIV) transmission and assist pregnancy in HIV-discordant couples: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril* 2016;105(3):645–55.e2. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2015.11.028.
60. Cardona-Maya W., Velilla P., Montoya C.J. et al. Presence of HIV-1 DNA in spermatozoa from HIV-positive patients: changes in the semen parameters. *Curr HIV Res* 2009;7(4):418–24. DOI: 10.2174/157016209788680570.
61. Dussaix E., Guetard D., Dauguet C. et al. Spermatozoa as potential carriers of HIV. *Res Virol* 1993;144(6):487–95. DOI: 10.1016/s0923-2516(06)80064-6.
62. Baccetti B., Benedetto A., Burrini A.G. et al. HIV-particles in spermatozoa of patients with AIDS and their transfer into the oocyte. *J Cell Biol* 1994;127(4):903–14. DOI: 10.1083/jcb.127.4.903.
63. Piomboni P., Baccetti B. Spermatozoon as a vehicle for HIV-1 and other viruses: a review. *Mol Reprod Dev* 2000;56(2 Suppl):238–42.
64. Wang D., Kang X.J., Li L.B. et al. *In vitro* study on vertical transmission of the HIV-1 gag gene by human sperm. *J Med Virol* 2011;83(1):16–23. DOI: 10.1002/jmv.21767.
65. Wang D., Li L.B., Hou Z.W. et al. The integrated HIV-1 provirus in patient sperm chromosome and its transfer into the early embryo by fertilization. *PLoS One* 2011;6(12):e28586. DOI: 10.1371/journal.pone.0028586.
66. Li F., Li L., Zhong Y. et al. Relationship between LTR methylation and gag expression of HIV-1 in human spermatozoa and sperm-derived embryos. *PLoS One* 2013;8(1):e54801. DOI: 10.1371/journal.pone.0054801.
67. Gao Y.S., Huang T.H., Wang D. et al. *In vivo* study on vertical transmission of the HIV-1 gag gene via mouse oocytes. *Curr HIV Res* 2009;7(5):562–8. DOI: 10.2174/157016209789346237.
68. Carvalho W.A., Catafesta E., Rodat I.F. et al. Prevention of HIV transmission with sperm washing within fertile serodiscordant couples undergoing non-stimulated intrauterine insemination. *AIDS Care* 2020;16:1–8. DOI: 10.1080/09540121.2020.1739201.
69. Ezeonwumelu I., Bártolo I., Martin F. et al. Accidental father-to-son HIV-1 transmission during the seroconversion period. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2018;34(10):857–62. DOI: 10.1089/AID.2018.0060.
70. Murugan S., Anburajan R. Father to child transmission of human immunodeficiency virus disease while sero-discordant status of the mother is maintained. *Indian J Sex Transm Dis AIDS* 2013;34(1):60–1. DOI: 10.4103/0253-7184.112945.
71. Cardona Maya W.D., Rugeles M.T. Father-to-child HIV transmission: do not forget sperm cells as vectors. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2019;35(9):785. DOI: 10.1089/AID.2019.0055.
72. Mlakar J., Korva M., Tul N. et al. Zika virus associated with microcephaly. *N Engl J Med* 2016;374(10):951–8. DOI: 10.1056/NEJMoa1600651.
73. Halabi J., Jagger B.W., Salazar V. et al. Zika Virus causes acute and chronic prostatitis in mice and macaques. *J Infect Dis* 2020;221(9):1506–17. DOI: 10.1093/infdis/jiz533.

74. Siemann D.N., Strange D.P., Maharaj P.N. et al. Zika virus infects human sertoli cells and modulates the integrity of the *in vitro* blood-testis barrier model. *J Virol* 2017;91(22):e00623-17. DOI: 10.1128/JVI.00623-17.
75. Peregrine J., Gurung S., Lindgren M.C. et al. Zika virus infection, reproductive organ targeting, and semen transmission in the male olive baboon. *J Virol* 2019;94(1):e01434-19. DOI: 10.1128/JVI.01434-19.
76. Mansuy J.M., Suberbielle E., Chapuy-Regaud S. et al. Zika virus in semen and spermatozoa. *Lancet Infect Dis* 2016;16(10):1106-7. DOI: 10.1016/S1473-3099(16)30336-X.
77. Oliveira D.B., Durigon G.S., Mendes É.A. et al. Persistence and intra-host genetic evolution of Zika virus infection in symptomatic adults: a special view in the male reproductive system. *Viruses* 2018;10(11):E615. DOI: 10.3390/v10110615.
78. Atkinson B., Hearn P., Afrough B. et al. Detection of Zika virus in semen. *Emerg Infect Dis* 2016;22(5):940. DOI: 10.3201/eid2205.160107.
79. Cohen J. Where has all the Zika gone? *Science* 2017;357(6352):631-2. DOI: 10.1126/science.357.6352.631.
80. Borges E.D., Vireque A.A., Berteli T.S. et al. An update on the aspects of Zika virus infection on male reproductive system. *J Assist Reprod Genet* 2019;36(7):1339-49. DOI: 10.1007/s10815-019-01493-y.
81. Hoffmann M., Kleine-Weber H., Schroeder S. et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell* 2020;181(2):271-80. DOI: 10.1016/j.cell.2020.02.052.
82. Pan F., Xiao X., Guo J. et al. No evidence of SARS-CoV-2 in semen of males recovering from COVID-19. *Fertil Steril* 2020;113(6):1135-9. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2020.04.024.
83. Yang M., Chen S., Huang B. et al. Pathological findings in the testes of COVID-19 patients: clinical implications. *Eur Urol Focus* 2020;6:1124-29. DOI: 10.1016/j.euf.2020.05.009.
84. Bian X.W. Autopsy of COVID-19 patients in China. *Natl Sci Rev* 2020;7:1414-8. DOI: 10.1093/nsr/nwaa123.
85. Achua J.K., Chu K.Y., Ibrahim E. et al. Histopathology and ultrastructural finding of fatal COVID-19 infection on testis. *World J Mens Health* 2021;39(1):65-74. DOI: 10.5534/wjmh.200170.
86. Li D., Jin M., Bao P. et al. Clinical characteristics and results of semen tests among men with coronavirus disease 2019. *JAMA Netw Open* 2020;3:e208292.
87. Zafar M.I., Li H. COVID-19 and impairment of spermatogenesis: Implications drawn from pathological alterations in testicles and seminal parameters. *EClinicalMedicine* 2020;29:100671. DOI: 10.1016/j.eclinm.2020.100671.
88. Selvaraj K., Ravichandran S., Krishnan S. et al. Testicular atrophy and hypothalamic pathology in COVID-19: possibility of the incidence of male infertility and HPG axis abnormalities. *Reprod Sci* 2021 Jan 7;1-8. DOI: 10.1007/s43032-020-00441-x.
89. Cardona Maya W.D., Du Plessis S.S., Velilla P.A. SARS-CoV-2 and the testis: similarity to other viruses and routes of infection. *Reprod Biomed Online* 2020;40(6):763-4. DOI: 10.1016/j.rbmo.2020.04.009.
90. 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.
91. 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.
92. 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.
93. 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.
94. Hao S.L., Ni F.D., Yang W.X. The dynamics and regulation of chromatin remodeling during spermiogenesis. *Gene* 2019;706:201-10. DOI: 10.1016/j.gene.2019.05.027.
95. Colaco S., Sakkas D. Paternal factors contributing to embryo quality. *J Assist Reprod Genet* 2018;35(11):1953-68. DOI: 10.1007/s10815-018-1304-4.

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.