

## **ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК МІЖ ІНФІКУВАННЯМ ВІРУСОМ ПАПІЛОМИ ЛЮДИНИ ТА ПРОБЛЕМАМИ З ФЕРТИЛЬНІСТЮ ЖІНОК ТА ЧОЛОВІКІВ У ПОДРУЖНІХ ПАРАХ**

**©Н. Я. Курташ, І. В. Бахматюк**

*Івано-Франківський національний медичний університет*

**РЕЗЮМЕ.** Мета дослідження – виявлення можливого впливу ВПЛ на репродуктивну здатність.

**Матеріал і методи.** Дослідження проводилося на 78 парах, які пройшли процедуру ЕКЗ. Проводився аналіз клінічних записів, лабораторних досліджень та результатів використання методів допоміжної репродукції у формі ретроспективного дослідження. Чоловікам був проведений аналіз сперми. Для виявлення типів ВПЛ використовували метод ампліфікації нуклеїнових кислот. Для виділення ДНК використовували QIAamp DNA Blood Mini Kit від QIAGEN.

**Результати.** Аналіз показав, що ВПЛ-інфекція поширена серед 52,5 % пар (41/78), впливаючи на 38,5 % жінок і 46,1 % чоловіків. Множинні інфекції ВПЛ виявлено в 7 зразках сперми. У 14 пар (15,6 %) було виявлено інфікування ВПЛ в обох партнерів. ВПЛ тип 58 був найпоширенішим серед жінок (46,6 %), ВПЛ тип 52 – серед чоловіків (44,4 %), інші типи ВПЛ також були виявлені у численних чоловіків і жінок. У дослідженні 50 % зразків мали нормоспермію, в інших 50 % виявили відхилення в якості сперми, включаючи олігоспермію та астеноспермію. ВПЛ-інфекції були менш поширеними у зразках сперми з нормоспермією (10 %), порівняно із зразками із відхиленнями (36,6 %). Порівнюючи параметри сперми у пацієнтів із та без ВПЛ виявлено статистично значущу різницю в якості сперми. У чоловіків із відхиленнями більше ВПЛ-позитивних зразків (68,3 %), порівняно із ВПЛ-негативними (55,5 %).

**Висновки.** ВПЛ може впливати на сперматогенез, зокрема на якість сперми. ВПЛ 52 був найпоширенішим серед пар, що лікувалися через неплідність, особливо в разі низької концентрації та зниженої рухливості сперматозоїдів. Це вказує на можливий вплив ВПЛ 52 на неплідність у чоловіків.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** вірус папіломи людини; сперматогенез; подружні пари.

**Вступ.** Вірус папіломи людини (ВПЛ) – це інфекція, яка поширюється статевим шляхом та є розповсюдженою серед чоловіків та жінок репродуктивного віку по всьому світу. Віруси HPV асоціюються з ураженням епітелію та можуть призводити до розвитку раку, і також пов'язані з численними негативними впливами на репродуктивну функцію [1, 2]. Проблема непліддя поширена на глобальному рівні, вона впливає на приблизно 10–30 % пар репродуктивного віку [3, 4]. Протягом останніх років проводилися наукові дослідження з метою вивчення ВПЛ, як можливого фактора, який може викликати викидень або призвести до безпліддя. У науковій літературі зазначено, що інфекції ВПЛ зустрічаються в 3 рази частіше серед вибірок спонтанних абортів, ніж серед планових абортів [5]. У рамках одного з клінічних досліджень було виявлено, що жінки з інфекцією ВПЛ шийки матки мали суттєво менше вагітностей після процедур допоміжної репродукції, порівняно з жінками, у яких результати тесту на ВПЛ були негативними [6]. У своєму дослідженні з 2018 року К. Захаріс прийшов до висновку, що існує значна кореляція між інфекцією ВПЛ та ризиком непліддя. Це пояснюється тим, що інфекція ВПЛ негативно впливає на якість сперми, зазвичай викликаючи астеноспермію, і сприяє збільшенню рівня антиспермальних антитіл. Наявність ВПЛ у спермі впливає на акросомальну реакцію, що призводить до зниження функціональної активності та ємності

акросоми. Здійснено дослідження щодо впливу інфекції ВПЛ на результати процедури внутрішньоматкової інсемінації (ВМІ). Встановлено, що серед жінок, які пройшли ВМІ та були інфіковані ВПЛ, кількість вагітностей була в шість разів меншою, порівняно з жінками, які мали негативний результат тесту на ВПЛ [7].

Останнім часом збільшився інтерес до поширеності ВПЛ серед чоловіків. Недавні дослідження надали наукові докази можливого взаємозв'язку між інфікуванням сперматозоїдів ВПЛ та ідіопатичною астеноспермією [8, 9]. Майже кожен третій чоловік у світі інфікований принаймні одним генітальним типом ВПЛ, а приблизно кожен п'ятий чоловік інфікований одним або кількома типами ВПЛ високого ризику [10–12]. У результаті цього зростає інтерес до ступеня поширеності ВПЛ серед пар, які користуються процедурою екстракорпорального запліднення (ЕКЗ). Наукова література свідчить про те, що інфекція ВПЛ асоціюється із збільшеним ризиком спонтанної втрати плода або недорозвиненості плода під час проведення ЕКЗ [13, 14] через можливу передачу вірусу ооцитам під час запліднення, що впливає на імунну відповідь або спричиняє її. З ростом обсягу наукових досліджень, в яких аналізували зв'язок між інфекцією ВПЛ та чоловічим безпліддям, було встановлено, що ВПЛ є фактором ризику для чоловічої репродуктивної функції [15–20]. Було проведено ретроспективне дослідження

для визначення рівня інфікування ВПЛ, зокрема його онкогенних високоризикових типів, серед пар, які здійснювали процедури ЕКО у Прикарпатському центрі репродукції людини (ПЦРЛ) (м. Івано-Франківськ).

**Мета дослідження** – проведення систематичного аналізу епідеміологічних, клінічних та лабораторних характеристик пар, які стикаються з проблемою неплідності, а також виявлення можливих впливів ВПЛ на репродуктивну здатність цих пар. Аналіз було проведено на вибірці, що складалася з 78 пар, які отримували лікування в ПЦРЛ протягом періоду від 06.2021 року до 08.2023 року.

**Матеріал і методи дослідження.** У дослідженні були враховані критерії включення. Згідно з цими критеріями, учасниками цього дослідження були неплідні пари, які звернулися до ПЦРЛ і не досягли вагітності протягом 2 і більше років з моменту початку сімейного життя.

Перед проведенням процедури ЕКЗ у жінок виконували забір мазків з шийки матки для виявлення наявності ВПЛ. Залишкову сперму після ЕКЗ використовували для визначення наявності ВПЛ у чоловіків. У всіх чоловіків було проведено аналіз сперми для визначення її кількісних та якісних показників, відповідно до рекомендацій Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) з 2010 року, як це описано в «Лабораторному посібнику ВООЗ для дослідження та обробки сперми людини» п'ятого видання з 2010 року [16].

Для виявлення та диференціювання типів ВПЛ високого онкогенного ризику, таких як 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 та 68, у клінічних пробах використовували метод ампліфікації нуклеїнових кислот. Для цього використовувався набір AmpliSens HPV HCR genotype-FRT PCR. ДНК було виділено із 200 клінічних зразків, для цього використовували набір QIAamp DNA Blood Mini Kit від QIAGEN (Гільден, Німеччина). Процедура виділення ДНК виконувалася відповідно до протоколу очищення ДНК від крові або

рідин, який описаний у посібнику QIAamp DNA Mini and Blood Mini Handbook. Очищення ДНК виконували за допомогою аналізатора Qiagen QIAcube від QIAGEN Instruments (Хомбрехткон, Швейцарія). Для підготовки полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) використовували набір AmpliSens HPV HCR Genotype-FRT PCR Kit з використанням програми ампліфікації Amplisens-1, відповідно до інструкцій, наведених у наборі. Статистичний аналіз отриманих результатів було проведено за допомогою програмного забезпечення IBM SPSS версії 23.0. Для визначення статистичної значущості результатів ДНК ВПЛ та параметрів сперми був використаний точний тест Фішера. Різниця вважалася статистично значущою при  $p < 0,05$ .

**Результати й обговорення.** У дослідженні брали участь 78 пар, які пройшли процедуру ЕКЗ у ПЦРЛ. Загалом було зібрано та проаналізовано 78 зразків мазків з шийки матки і 78 зразків чоловічої сперми. У вивченій групі учасників вік коливався в діапазоні від 23 до 56 років, в середньому 35,5 року ( $SD \pm 3,89$ ). Середній вік жінок становив 35,3 року ( $SD \pm 3,65$ ), а середній вік чоловіків склав 36,2 року ( $SD \pm 4,12$ ).

Аналіз зразків на 14 типів ВПЛ високого ризику за допомогою методу RT-PCR виявив, що ВПЛ-інфекція була поширеною серед 52,5 % всіх пар, що дорівнює 41 з 78. За результатами нашого дослідження, типи ВПЛ високого ризику були виявлені у 38,5 % жінок (30/78) та 46,1 % чоловіків (36/78). У 7 зразках сперми було виявлено множинні інфекції ВПЛ. У 14 пар (15,6 %) було виявлено інфікування ВПЛ у обох партнерів. Тип ВПЛ 58 найчастіше виявлявся в мазках із шийки матки, що становило 46,6 % (14 з 30) усіх ВПЛ-позитивних зразків у жінок. Тим часом, ВПЛ 52 тип був виявлений у спермі в 44,4 % (16 з 36) всіх ВПЛ-позитивних зразків сперми. Значну частку також становили ВПЛ типів 31, 59 та 66, які, відповідно, були виявлені у 6, 5 і 8 чоловіків, а також у 7, 6 і 4 жінок (табл. 1.)

Таблиця 1. Типи вірусу папіломи людини, виявлені в обстежених пацієнтів

Дослідження	Показники інфікування у жінок	Показники інфікування у чоловіків
На типи високого ризику ВПЛ	30	36
На ВПЛ 58 типу	14	1
На ВПЛ 52 типу	2	16
На ВПЛ 31 типу	7	6
На ВПЛ 59 типу	6	5
На ВПЛ 66 типу	4	8

У всіх пацієнтів перед процедурою відбирали зразки сперми для її оцінки, а залишковий матеріал використовували для ідентифікації ДНК ВПЛ.

Згідно з рекомендаціями ВООЗ, нижні пороги для параметрів сперми визначаються наступним чином: об'єм сперми  $> 1,5$  мл, концентрація сперми

>15 млн/мл, загальна кількість сперматозоїдів на еякулят >39 млн, прогресуюча рухливість сперми >32 %, морфологія сперми за суворими критеріями >4 % нормальних форм. Нормоспермія була виявлена у 58 % зразків, у інших 42 % спостерігалися різні відхилення в якості сперми, такі як низька концентрація сперми (олігоспермія), знижена рухливість сперматозоїдів (астеноспермія) тощо. Поширеність ВПЛ-інфекцій у зразках сперми без відхилень (нормоспермія) складала 10 %, тоді як їх поширеність становила 36,6 % у зразках сперми з різними відхиленнями.

Порівнюючи концентрацію та рухливість сперми у пацієнтів із позитивним та негативним результатами на ВПЛ було виявлено статистично значущу різницю в якості сперми ( $p=0,023$ ). Серед зразків сперми з відхиленнями було виявлено 69,3 % ВПЛ-позитивних зразків, тоді як кількість ВПЛ-негативних зразків складала 30,7 %.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China / C. Huang, Y. Wang, X. Li [et al.] // *The Lancet*. – 2020. – No. 395. – P. 497–506.
2. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China / W.-J. Guan, N. Zheng-yi, H. Yu [et al.] // *New England Journal of Medicine*. – 2020. – No. 382. – P. 1708–1720.
3. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study / N. Chen, M. Zhou, X. Dong [et al.] // *The Lancet*. – 2020. – No. 395. – P. 507–513.
4. Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019: retrospective study / T. Chen, D. Wu, H. Chen [et al.] // *BMJ*. – 2020. – No. 368. – P. m1091.
5. Human papillomavirus infection in couples undergoing in vitro fertilization procedures: Impact on reproductive outcomes / A. Perino, L. Giovannelli, R. Schillaci [et al.] // *Fertility and Sterility*. – 2011. – No. 95. – P. 1845–1848.
6. Human papilloma virus (HPV) and fertilization: A mini review / K. Zacharis, C. I. Messini, G. Anifandis [et al.] // *Medicina*. – 2018. – No. 54. – P. 50.
7. Çağlar G. S. The implications of male human papilloma virus infection in couples seeking assisted reproduction technologies / G. S. Çağlar, N. Garrido // *Journal of the Turkish-German Gynecological Association*. – 2018. – No. 19. – P. 48–52.
8. Hellberg D. IVF and HPV. Fertil. Steril. IVF and HPV / D. Hellberg, S. Nilsson // *Fertility and Sterility*. – 2007. – No. 87 – P. 1498.
9. Souho T. Human papillomavirus infection and fertility alteration: A systematic review / T. Souho, M. Benlemlih, B. Bennani // *PLoS ONE*. – 2015. – No. 10. – P. e0126936. DOI: 10.1371/journal.pone.0126936.
10. Global and regional estimates of genital human papillomavirus prevalence among men: a systematic review and meta-analysis / L. Bruni, G. Albero, J. Rowley [et al.] //

**Висновки.** ВПЛ може впливати на сперматогенез, оскільки аномальні показники сперматозоїдів частіше виявляють у чоловіків, які інфіковані ВПЛ. Серед пар, які проходили лікування непліддя, ВПЛ 52 високого ризику був найпоширенішим генотипом, тоді як інші генотипи високого ризику траплялися рідше. ВПЛ 52 високого ризику був найчастіше виявлений у випадках, коли спостерігалася низька концентрація сперматозоїдів (олігоспермія) та знижена рухливість сперматозоїдів (астеноспермія). Це свідчить про можливий вплив ВПЛ 52 на якість сперми та можливу роль цього типу в розвитку неплідності у чоловіків.

**Перспективи подальших досліджень.** Загальною метою майбутніх досліджень є поліпшення діагностики та лікування ВПЛ з метою збереження репродуктивної функції пацієнтів та зменшення негативного впливу цієї інфекції на їхнє репродуктивне здоров'я.

*The Lancet Global Health*. – 2023. – No. 11 (9). – P. 1345–e1362.

11. The estimated lifetime probability of acquiring human papillomavirus in the United States / H. W. Chesson, E. F. Dunne, S. Hariri, L. E. Markowitz // *Sexually Transmitted Diseases*. – 2014. – No. 41 (6). – P. 660–664. DOI: 10.1097/OLQ.000000000000169.

12. Giuliano A. R. Epidemiology and pathology of HPV disease in males / A. R. Giuliano, G. Anic, A. G. Nyitray // *Gynecologic Oncology*. – 2010. – No. 117 (Suppl). – P. S15–S19.

13. Human papillomavirus is more prevalent in first trimester spontaneously aborted products of conception compared to elective specimens / P. L. Hermonat, L. Han, P. J. Wendel [et al.] // *Virus Genes*. – 1997. – No. 14. – P. 13–17.

14. Significant correlation between high-risk HPV DNA in semen and impairment of sperm quality in infertile men / M. Moghimi, S. Zabihi-Mahmoodabadi, A. Kheirkhah-Vakilabad, Z. Kargar // *International Journal of Fertility and Sterility*. – 2019. – No. 12. – P. 306–309.

15. Relationship between sperm progressive motility and DNA integrity in fertile and infertile men / S. Elbashir, Y. Magdi, A. Rashed [et al.] // *Middle East Fertility Society Journal*. – 2018. – No. 23. – P. 195–198.

16. The prevalence of Human Papilloma Virus (HPV) infection in oligospermic and azospermic men / S. Naseri, S. H. Monavari, H. Keyvani [et al.] // *Medical Journal of the Islamic Republic of Iran*. – 2015. – No. 29. – P. 272–272.

17. Garolla A. The role of human papillomavirus on sperm function / A. Garolla, D. Pizzol, C. Foresta // *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*. – 2011. – No. 23 (4). – P. 232–237. DOI: 10.1097/GCO.0b013e328348a3a4. PMID: 21666465.

18. Correlation between HPV sperm infection and male infertility / Y. Yang, C. W. Jia, Y. M. Ma [et al.] // *Asian J. Androl*. – 2013. – No. 15 (4). – P. 529–532.

19. Male and couple fertility impairment due to HPV-DNA sperm infection: Update on molecular mechanism and clinical impact-Systematic review / S. Gizzo, B. Ferrari, M. Noventa [et al.] // *Biomed Research International*. – 2014. – P. 230–263.

20. Detection of high-risk HPV DNA in semen and its association with the quality of semen / M. A. Rintala, S. E. Grenman, P. P. Pollanen [et al.] // *International Journal of STD & AIDS*. – 2004. – No. 15 (11). – P. 740–743.

## REFERENCES

- Huang, C., Wang, Y., Li, X., Ren, L., Zhao, J., Hu, Y., ... & Cao, B. (2020). Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet*, 395(10223), 497-506.
- Guan, W-J, Zheng-yi, N, Yu, H, Liang, W-H, Chun-quan, O, Jian-xing, H, Liu, L, ... Lan-juan, L (2020). Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *New England Journal of Medicine*, 382, 1708-1720.
- Chen, N., Zhou, M., Dong, X., Qu, J., Gong, F., Han, Y., ... & Zhang, L. (2020). Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *The Lancet*, 395(10223), 507-513.
- Chen, T., Wu, D. I., Chen, H., Yan, W., Yang, D., Chen, G., ... & Ning, Q. (2020). Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019: retrospective study. *bmj*, 368.
- Perino, A., Giovannelli, L., Schillaci, R., Ruvolo, G., Fiorentino, F.P., Alimondi, P., ... & Ammatuna, P. (2011). Human papillomavirus infection in couples undergoing in vitro fertilization procedures: impact on reproductive outcomes. *Fertility and sterility*, 95(5), 1845-1848.
- Zacharis, K., Messini, C.I., Anifandis, G., Koukoulis, G., Satra, M., & Daponte, A. (2018). Human papilloma virus (HPV) and fertilization: a mini review. *Medicina*, 54(4), 50.
- Çağlar, G.S., & Garrido, N. (2018). The implications of male human papilloma virus infection in couples seeking assisted reproduction technologies. *Journal of the Turkish German Gynecological Association*, 19(1), 48.
- Hellberg, D., & Nilsson, S. (2007). IVF and HPV. *Fertility and Sterility*, 87(6), 1498.
- Souho, T., Benlemlih, M., & Bennani, B. (2015). Human papillomavirus infection and fertility alteration: a systematic review. *PloS One*, 10(5), e0126936.
- Bruni, L., Albero, G., Rowley, J., Alemany, L., Arbyn, M., Giuliano, A.R., ... & Taylor, M. (2023). Global and regional estimates of genital human papillomavirus prevalence among men: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Global Health*, 11(9), e1345-e1362.
- Chesson, H.W., Dunne, E.F., Hariri, S., & Markowitz, L.E. (2014). The estimated lifetime probability of acquiring human papillomavirus in the United States. *Sexually Transmitted Diseases*, 41(6), 660-664. DOI: 10.1097/OLQ.000000000000169.
- Giuliano, A.R., Anic, G., & Nyitray, A.G. (2010). Epidemiology and pathology of HPV disease in males. *Gynecologic Oncology*, 117, S15-S19.
- Hermonat, P.L., Han, L., Wendel, P.J., Quirk, J.G., Stern, S., Lowery, C.L., & Rechtin, T.M. (1997). Human papillomavirus is more prevalent in first trimester spontaneously aborted products of conception compared to elective specimens. *Virus Genes*, 14, 13-17.
- Moghimi, M., Zabihi-Mahmoodabadi, S., Kheirkhah-Vakilabad, A., & Kargar, Z. (2019). Significant correlation between high-risk HPV DNA in semen and impairment of sperm quality in infertile men. *International Journal of Fertility and Sterility*, 12, 306-309.
- Elbashir, S., Magdi, Y., Rashed, A., Ibrahim, M.A., Edris, Y., & Mostafa Abdelaziz, A. (2018). Relationship between sperm progressive motility and DNA integrity in fertile and infertile men. *Middle East Fertility Society Journal*, 23, 195-198.
- Nasseri, S., Monavari, S.H., Keyvani, H., Nikkhoo, B., Vahabpour Roudsari, R., & Khazeni, M. (2015). The prevalence of Human Papilloma Virus (HPV) infection in oligospermic and azospermic men. *Medical Journal of the Islamic Republic of Iran*, 29, 272-272.
- Garolla, A., Pizzol, D., & Foresta, C. (2011). The role of human papillomavirus on sperm function. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*, 23(4), 232-237. DOI: 10.1097/GCO.0b013e328348a3a4. PMID: 21666465.
- Yang, Y., Jia, C.W., Ma, Y.M., Zhou, L.Y., & Wang, S.Y. (2013). Correlation between HPV sperm infection and male infertility. *Asian J. Androl.*, 15(4), 529-532.
- Gizzo, S., Ferrari, B., Noventa, M., Ferrari, E., Paretelli, T.S., Gangemi, M., ... & Nardelli, G.B. (2014). Male and couple fertility impairment due to HPV-DNA sperm infection: Update on molecular mechanism and clinical impact-Systematic review. *Biomed. Research International*, 230-263.
- Rintala, M.A., Grenman, S.E., Pollanen, P.P., Suominen, J.J., & Syrjanen, S.M. (2004). Detection of high-risk HPV DNA in semen and its association with the quality of semen. *International Journal of STD & AIDS*, 15(11), 740-743.

## RELATIONSHIP BETWEEN INFECTION WITH HUMAN PAPILLOMA VIRUS AND PROBLEMS WITH FERTILITY OF WOMEN AND MEN IN MARRIED COUPLES

©N. Ya. Kurtash, I. V. Bakhmatyuk

*Ivano-Frankivsk National Medical University*

**SUMMARY. The aim** – detection of the possible impact of HPV on reproductive capacity.

**Material and Methods.** The study was conducted on 78 couples who underwent IVF. An analysis of clinical records, laboratory studies and the results of the use of assisted reproduction methods was carried out in the form of a retrospective study. Men were subjected to sperm analysis. The nucleic acid amplification method was used to detect HPV types. QIAamp DNA Blood Mini Kit from QIAGEN was used for DNA isolation.

**Results.** The analysis showed that HPV infection was common among 52.5 % of couples (41/78), affecting 38.5 % of women and 46.1 % of men. Multiple HPV infections were detected in 7 semen samples. In 14 couples (15.6 %), HPV infection was detected in both partners. HPV type 58 was most common in women (46.6 %), HPV type 52 in semen (44.4 %), and other HPV types were also found in numerous men and women.

In the study, 50 % of the samples had normospermia, and the other 50 % showed abnormalities in sperm quality, including oligospermia and asthenospermia. HPV infections were less common in normospermic sperm samples (10 %) compared to abnormal samples (36.6 %). Comparing sperm parameters in patients with and without HPV, a statistically significant difference in sperm quality was found. Men with abnormalities have more HPV-positive samples (68.3 %), compared to HPV-negative (55.5 %).

**Conclusions.** HPV can affect spermatogenesis, particularly sperm quality. HPV 52 was the most common among couples treated for infertility, especially in the case of low concentration and reduced sperm motility. This indicates a possible effect of HPV 52 on male infertility.

**KEY WORDS:** human papilloma virus; spermatogenesis; married couples.

Отримано: 11.01.2024

Електронна адреса для листування: Tasha\_9@ukr.net