Laboratorinė medicina.
2018, t. 20, Nr. 4(80), p. 250–254.

Žmogaus papilomos viruso infekcijos paplitimas tarp nevaisingų porų, kurioms taikyta pagalbinio apvaisinimo procedūra

Vilma Jeršovienė[1, 2]
Živilė Gudlevičienė[1, 3]
Dalius Butkauskas[4]
Jolita Rimienė[2]
Rimantas Gricius[1]

[1]*Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikų Santaros vaisingumo centras, Santariškių g. 2, 08661 Vilnius*
Vilnius University Hospital Santaros Klinikos, Santaros Fertility Center, Santariškių str. 2, 08661 Vilnius
El. paštas: vilma.jersoviene@santa.lt

[2]*Laboratorija „Medicina practica“, P. Baublio g. 4, 08406 Vilnius*
Laboratory “Medicina practica”, P. Baublio str. 4, 08406 Vilnius

[3]*Nacionalinis vėžio institutas, Santariškių g. 1, 08660 Vilnius*
National Cancer Institute, Santariškių str. 1, 08660 Vilnius

[4]*Gamtos tyrimų centras, Akademijos g. 2, 08412 Vilnius*
Nature Research Centre, Akademijos str. 2, 08412 Vilnius

Santrauka

Įvadas. Su vaisingumo problemomis pasaulyje susiduria kas septinta šeima. Jeigu partneriai gyvena reguliarų lytinį gyvenimą ir nevartoja jokių apsisaugojimo nuo nėštumo priemonių, tačiau nepastoja per vienerius metus, pora laikoma nevaisinga ir pradedama tirti bei gydyti. Kai kuriais atvejais nevaisingumą galima gydyti tik pagalbinio apvaisinimo būdu.

Darbo tikslas – nustatyti žmogaus papilomos viruso (ŽPV) infekcijos paplitimą tarp nevaisingų porų, kurioms taikyta pagalbinio apvaisinimo procedūra Lietuvoje, bei ŽPV infekcijos reikšmę spermos kokybės rodikliams.

Tyrimo medžiaga ir metodai. Tyrime dalyvavo VUL SK Vaisingumo centre apsilankiusių 100 pacientų – 50 porų, kurioms buvo taikytas pagalbinis apvaisinimas. Visų dalyvių amžiaus vidurkis 36,2 metų. Tiriamoji medžiaga moterims – gimdos kaklelio nuograndos, vyrams – spermos mėginiai, surinkti masturbacijos būdu po 3–4 dienų abstinencijos. Mėginiai buvo tiriami RT-PGR metodu. ŽPV DNR nustatyta nukleino rūgšties amplifikacijos tyrimo metodu, siekiant aptikti ir diferencijuoti klinikinėje medžiagoje esančius didelio onkogeniškumo ŽPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 ir 68 tipus pagal amplifikuotų produktų hibridizaciją – matuojant fluorescenciją realiu laiku. Spermos rodiklius embriologai vertino pagal PSO 2010 metų rekomendacijas.

Rezultatai. Ištyrus ŽPV infekcijos paplitimą tarp nevaisingumo problemų turinčių porų nustatyta, kad ŽPV infekuotos 18 iš 50 tirtų porų (36 %). Iš jų ŽPV infekcija rasta 22 % tirtų moterų (11/50) ir 20 % (10/50) vyrų. Nustatyta ŽPV infekcijos koreliacija su spermogramos parametrų rezultatais. Esant teigiamam ŽPV rezultatui spermos mėginyje, nustatyti ir infekuotos spermos pakitimai (dažniausiai oligospermija ir astenospermija). Net 80 % iš ŽPV teigiamų mėginių spermos pakitimai buvo susiję su sumažėjusiu judrumu ir koncentracija. 65 % neigiamų ŽPV mėginių spermos kokybės pakitimų nerasta.

Išvados. ŽPV paplitimas tarp porų, kurioms taikyta pagalbinio apvaisinimo procedūra, sudaro 36 %. Tarp porų, kurių vyrų spermogramos rodikliai buvo pakitę, ŽPV paplitimas buvo didesnis nei tarp porų, kurių vyrų spermos rodikliai buvo normalūs. Atlikto tyrimo rezultatai leidžia teigti, kad dėl ŽPV infekcijos gali nukentėti spermos kokybė, o tai lemia porų nevaisingumą.

Reikšminiai žodžiai: pagalbinis apvaisinimas, ŽPV paplitimas, nevaisingumas, spermograma, astenospermija.

ĮVADAS

Žmogaus papilomos virusas (ŽPV) – lytiniu būdu perduodama infekcija, paplitusi tarp reprodukcinio amžiaus vyrų ir moterų visame pasaulyje. ŽPV – dvigrandę žiedinę DNR turintys virusai, siejami su gerybiniais epitelio pakitimais ir (arba) vėžinėmis ligomis [1, 2]. Bendras ŽPV infekcijos paplitimas tarp vyrų ir moterų sudaro apie 40 % bendroje populiacijoje [3].

Lytiniu būdu plintančios ligos yra viena iš pagrindinių nevaisingumo priežasčių. Pastaruoju metu aktyviai vykdomi moksliniai tyrimai siekiant nustatyti ŽPV infekcijos reikšmę nevaisingumui. Mokslinėje literatūroje skelbiama, kad ŽPV infekcija yra tris kartus dažniau paplitusi tarp spontaniškų abortų mėginių, nei tarp savanoriškai atliktų abortų. Šio tyrimo išvados rodo, kad ŽPV gali būti etiologinis agentas, lemiantis persileidimą [4]. Pastaruoju metu ypač susidomėta ŽPV paplitimu tarp vyrų. Tyrimų rezultatai rodo, kad ŽPV paplitimas spermoje yra 10 % bendroje vyrų populiacijoje ir net 16 % vyrų, turinčių vaisingumo sutrikimų [5]. Atliktos studijos pateikia naujausius įrodymus apie galimą sąsają tarp ŽPV spermos infekcijos ir idiopatinės astenospermijos [6–11]. Šie faktai paskatino labiau domėtis ŽPV paplitimu tarp porų, kurioms taikomas pagalbinis apvaisinimas (IVF). Visame pasaulyje aktuali problema – porų nevaisingumas, paveikiantis apie 10–30 % reprodukcinio amžiaus porų [12, 13]. Manoma, kad ŽPV turi neigiamą poveikį ir pagalbinio apvaisinimo rezultatams [4, 14]. Nustatyta, kad vystantis gyvūnų embrionams virusinė infekcija inicijuoja blastocistos apoptozę [15]. Mokslinėje literatūroje skelbiama, kad ŽPV infekcija siejama su didesniu savaiminiu vaisiaus netekimu ar nesivystymu taikant IVF procedūrą [16, 17] dėl galimo viruso perdavimo į oocitus apvaisinimo metu, kas daro įtaką imuninės sistemos atsakui ar jį sukelia. Nustatyti ŽPV tipus ypač svarbu ne tik ankstyvajai onkologinių ligų diagnostikai ir prevencijai, bet ir atskleidžiant ŽPV infekcijos vaidmenį vyrų ir moterų vaisingumui. Atsižvelgiant į šį mokslinį pagrindą buvo parengtas perspektyvusis tyrimas, kurio tikslas – įvertinti didelės rizikos onkogeninių ŽPV tipų paplitimą tarp porų, kurioms taikyta pagalbinio apvaisinimo procedūra.

DARBO TIKSLAS

Nustatyti ŽPV infekcijos paplitimą tarp nevaisingų porų ir ŽPV infekcijos reikšmę spermos kokybės rodikliams.

TYRIMO MEDŽIAGA IR METODAI

Tyrimo dizainas. Ištirti Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikų Santaros vaisingumo centre nuo 2017 m. spalio iki 2018 m. birželio mėn. apsilankiusių 50 porų, kurioms buvo taikytas pagalbinis apvaisinimas, mėginiai. Tyrime dalyvavo 100 pacientų, moterims tirtas gimdos kaklelio nuograndų mėginys, paimtas prieš IVF procedūrą, vyrams – spermos mėginiai, surinkti masturbacijos būdu po 3–4 dienų abstinencijos. Tiriamųjų amžiaus ribos buvo nuo 27 iki 47 metų, o visų dalyvių amžiaus vidurkis 36,2 metų.

ŽPV DNR nustatymas. ŽPV infekcija klinikiniuose mėginiuose nustatyta nukleino rūgšties amplifikacijos metodu, siekiant aptikti ir diferencijuoti klinikinėje medžiagoje esančius didelio onkogeniškumo ŽPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 ir 68 tipus pagal amplifikuotų produktų realaus laiko hibridizaciją-fluorescenciją („AmpliSens HPV HCR genotype-FRT PCR kit“, *InterLabService*).

DNR buvo išskirta iš 100 mėginių, naudojant reagentų rinkinį „QIAamp DNA Blood Mini Kit“ („AmpliSens HPV HCR genotype-FRT PCR kit“, *InterLabService*), pagal protokolą „DNR gryninimas iš kraujo ir/ar kūno skysčių“ (*DNA Purification from Blood or Body Fluids* (*Spin Protocol*), aprašytą vadove „QIAamp DNA Mini and Blood Mini Handbook“ (April 2010). DNR gryninimas atliktas „QIAcube“ analizatoriumi. Išgryninta DNR buvo laikoma -20 °C temperatūroje savaitę iki ŽPV PGR reakcijos atlikimo ir analizės.

PGR reakcijai atlikti naudotas „ROTOR gene 6000®“ automatinis aparatas. ŽPV infekcija klinikiniuose mėginiuose nustatyta nukleino rūgšties amplifikacijos tyrimo metodu, siekiant kokybiškai aptikti ir diferencijuoti klinikinėje medžiagoje esančius didelio onkogeniškumo ŽPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 ir 68 tipus pagal amplifikuotų produktų realaus laiko hibridizaciją-fluorescenciją („AmpliSens HPV HCR genotype-FRT PCR kit“, *InterLabService*). Vidinei endogeninei kontrolei šiame rinkinyje naudojamas -globino žmogaus geno DNR fragmentas. PGR reakcija buvo ruošiama pagal „AmpliSens HPV HCR genotype-FRT PCR kit“ rinkinio instrukcijų vadovą, pasirinktas PGR reakcijos ruošimas mėgintuvėliuose, aprašytas 8.2.1 skyrelyje. Naudota *Amplisens-1* amplifikacijos programa. PGR analizė, skirta nustatyti DNR, priklausančią 14-ai ŽPV didelės rizikos tipų, yra atliekama keturiuose mėgintuvėliuose (1 mėginiui).

Darbo laiko sąnaudos ŽPV DNR tipams identifikuoti: 34 min. DNR išskirti iš 12 mėginių „QIAcube“ aparatu, 2 valandos PGR reakcijai ir rezultatų analizei (30 min. PGR reakcijai paruošti, 1,5 val. PGR reakcijai ir 30 min. rezultatų analizei).

Spermos tyrimas. Prieš IVF procedūrą buvo atliekamas vyrų spermos tyrimas siekiant nustatyti kiekybinius ir kokybinius jos rodiklius. Įvertinti šie spermos rodikliai: kiekis (tūris), spalva, kvapas, klampumas, matuojamas gyvybingų spermatozoidų kiekis bei jų judrumas, taip pat kiti parametrai. Spermos rodiklius įvertino embriologai remdamiesi PSO rekomendacijomis („WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen“, 5th, 2010). Vadovaujantis šiomis rekomendacijomis, spermos kiekis turi būti >1,5 ml, spalva – pilkšvai balsva, klampumas – 1–5 cm, suskystėjimo laikas – 10–20 min. Normali spermatozoidų koncentracija – 15 mln/ml ar daugiau, progresyvus pirmyneigis judrumas – 32 % ar daugiau, bei 4 % ar daugiau normalios morfologijos spermatozoidų. Spermatozoidų judrumas vertintas remiantis A, B, C, D judrumo kategorijomis pagal spermatozoidų judėjimo greitį. A kategorijos spermatozoidai juda greitai tiesia linija (25 m/s greičiu), B juda į priekį, tačiau ne tiesia linija (5–24 m/s greičiu). A ir B spermatozoidų judėjimas vadinamas progresyviu, C – neprogresyviu (juda tik uodegėlės arba <5 m/s greičiu). D kategorijos spermatozoidai visiškai nejuda. A, B, C kategorijų spermatozoidai sudarė gyvų spermatozoidų dalį, D kategorijos spermatozoidai – negyvų. Kiekviena kategorija buvo išreikšta spermtozoidų koncentracija (mln./ml) ir procentine išraiška.

Statistinė analizė. Statistinė tyrimo duomenų analizė atlikta naudojant IBM „SPSS-23.0 for Windows“ ir „Microsoft Office Excel 2010“ programas. Rezultatuose pateikiamos dažnių ir procentinių dažnių lentelės nominaliems požymiams vertinti. ŽPV DNR tyrimo ir spermos rodiklių statistiniam reikšmingumui nustatyti naudotas Fišerio kriterijus, o požymių skirtumai laikyti statistiškai reikšmingais, kai $p<0,05$.

REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

Pacientų charakteristikos. Studijoje dalyvavo 100 VUL SK Vaisingumo centre apsilankiusių pacientų – 50 porų, kurioms buvo taikyta pagalbinio apvaisinimo procedūra. Pacientų amžiaus ribos buvo nuo 27 iki 47 metų, amžiaus vidurkis – 36,2 metų (SD ±4,7). Pasirašius raštišką sutikimą dalyvauti tyrime, į studiją buvo įtraukta 100 dalyvių (surinkta 50 vyrų spermos ir 50 moterų gimdos kaklelio mėginių).

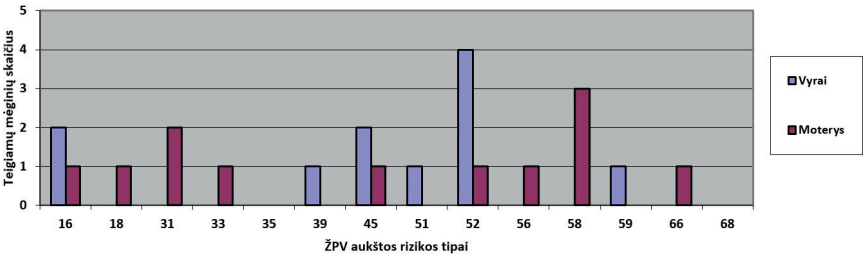
ŽPV DNR nustatymas. Molekulinės biologijos metodais galima nustatyti gana platų ŽPV tipų spektrą vienos PGR reakcijos metu. Didžiausiu jautrumu ir specifiškumu pasižymi PGR metodai, naudojant specifinius pradmenis skirtingiems ŽPV tipams standartinės DNR amplifikacijos ar realaus laiko PGR sistemose [18]. Gimdos kaklelio mėginiai (moterų) ir spermos mėginiai (vyrų) buvo ištirti dėl 14 didelės rizikos ŽPV tipų (žr. pav.).

Apibendrinti ŽPV didelės rizikos tipų paplitimo dažniai spermos mėginiuose pateikiami 1 lentelėje. Bendras ŽPV didelės rizikos tipų paplitimas tarp porų sudarė 36 % (18/50). Mūsų tyrimo duomenimis, ŽPV didelės rizikos tipai buvo rasti 22 % tirtų moterų (11/50) ir 20 % tirtų vyrų (10/50). Vyrams dažniausiai nustatytas 52 ŽPV tipas, kuris sudarė 40 % visų teigiamų mėginių (4/10), o moterims – 58 ŽPV tipas, kuris sudarė 27 % (3/11) visų aptiktų didelės rizikos ŽPV tipų. Paaiškėjo, kad tarp porų, kurioms buvo taikytas pagalbinis apvaisinimas, dažniausiai paplitęs yra 52 ŽPV tipas, kuris nustatytas 5 pacientams (1 moteriai ir 4 vyrams) iš 21 teigiamų ŽPV mėginių, tai sudaro net 24 %.

1 lentelė. **Aptiktų ŽPV genotipų paplitimas spermos mėginiuose**
Table 1. **Detected HPV genotypes in semen**

ŽPV genotipas	Dažnis	Dažnis (%)
16 tipas	2	20
18 tipas	–	–
31 tipas	–	–
33 tipas	–	–
35 tipas	–	–
39 tipas	1	10
45 tipas	2	20
51 tipas	1	10
52 tipas	4	40
56 tipas	–	–
58 tipas	–	–
59 tipas	1	10
66 tipas	–	–
68 tipas	–	–

Iš viso teigiamų spermos mėginių n = 10 (viename iš jų – multiinfekcija).



Pav. **ŽPV didelės rizikos tipų paplitimas tarp vyrų ir moterų (šio tyrimo duomenimis)**
Fig. **The prevalence of high risk HPV types among males and females (detected during the current study)**

Spermos tyrimo analizė. Tyrimo metu buvo analizuojami vyrų, atvykusių su partnere atlikti pagalbinio apvaisinimo procedūrų į Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikų (VULSK) Santaros vaisingumo centrą (SVC), liekamieji spermos mėginiai. Visiems pacientams prieš IVF procedūrą buvo paimti spermos mėginiai spermos kokybei įvertinti, o mėginio liekamoji medžiaga – ŽPV DNR nustatyti. Iš 50 tirtų vyrų spermos mėginių 56 % nustatyta normospermija ir 44 % rasta spermos kokybės pakitimų: sumažėjusi spermatozoidų koncentracija (oligospermija), sumažėjęs spermatozoidų judrumas (astenospermija) ir kt. Tirtųjų pacientų ejakuliato tūris buvo nuo 0,5 iki 5 ml (vidurkis 2,5 ml). 42-iejų tiriamųjų ejakuliato kiekis atitiko normos ribas, 8 – buvo per mažas (t. y. mažiau nei 1,5 ml). Spermatozoidų koncentracija svyravo nuo 0 iki 220 mln./ml. Lyginant spermatozoidų koncentraciją ir judrumą vyrų, kurių sperma nebuvo infekuota ŽPV, su tų tiriamųjų, kuriems buvo nustatyta ŽPV infekcija, paaiškėjo, kad spermos kokybės rodikliai statistiškai reikšmingai skyrėsi (2 lentelė). Naudojant Fišerio kriterijų nustatytas statistiškai reikšmingas skirtumas tarp ŽPV infekcijos ir spermos kokybės rodiklių ($p=0,014$ $p<0,05$). ŽPV infekuotoje vyrų grupėje spermos kokybės rodiklių pakitimų nustatėme daugiau. ŽPV neinfekuotuose mėginiuose, lyginant su infekuotųjų grupe, tokie rodikliai kaip klampumas, skystėjimo laikas statistiškai reikšmingai nesiskyrė. Koreliacija tarp ŽPV infekcijos ir neigiamo poveikio spermos rodikliams pateikiama 2 lentelėje.

Mūsų žiniomis, tai pirmasis Lietuvoje tyrimas, kuriuo siekiama nustatyti ŽPV infekcijos paplitimą tarp porų, kurioms taikoma pagalbinio apvaisinimo procedūra, bei ŽPV infekcijos poveikį spermos parametrams. Šio tyrimo rezultatai patvirtina, kad ŽPV infekcija, aptinkama vyrams, susiduriantiems su nevaisingumo problemomis, turi didelę įtaką jų spermos rodikliams. Nustatytas statistiškai svarbus ryšys tarp ŽPV infekcijos ir spermos judrumo bei koncentracijos.

Mokslinėje literatūroje vis plačiau aptariama ne tik ŽPV infekcijos įtaka spermos rodikliams [5, 10], bet ir reikšmė vaisiaus vystymuisi ir pagalbinio apvaisinimo rezultatams [11, 14, 15]. Mes nustatėme, kad ŽPV infekcijos paplitimas tarp vyrų iš porų, turinčių nevaisingumo problemų, Lietuvoje yra 20 %. Mūsų rezultatai patvirtina literatūroje skelbiamus ŽPV paplitimo mastus: nepaaiškinamo nevaisingumo atveju ŽPV spermoje aptinkama nuo 10–35,7 % tiriamųjų [11]. Skelbiama, kad spermoje dažniausiai aptinkami ŽPV 16, ŽPV 51, ŽPV 52 ir ŽPV 45 genotipai [4, 5, 19]. Mūsų studijoje ŽPV 52 genotipas rastas net 40 % spermos teigiamų mėginių, mūsų gauti rezultatai artimiausi A. Perino ir kt. paskelbtiems rezultatams. Perino su kolegomis nustatė, kad tarp moterų (nevaisingumo problemų turinčiose porose) dažniausiai paplitę 16 ir 66 tipai, o

2 lentelė. **ŽPV infekcijos testo rezultatų ir spermos rodiklių palyginimas**
Table 2. **Comparison of semen parameters and HPV test results**

ŽPV rezultatas		Spermogramos rezultatai		Iš viso
		Esant pakitimų	Norma	
ŽPV–	N	14	26	40
	%	35	65	100
ŽPV+	N	8	2	10
	%	80	20	100

mūsų tyrimo dalyvėms dažniausiai buvo aptiktas ŽPV 58 genotipas. Šie duomenys rodo, kad ŽPV genotipų paplitimas gali skirtis priklausomai nuo geografinės vietovės ar šalies. Papildomi veiksniai, pavyzdžiui, gyvenimo būdas, partnerių skaičius, taip pat turi įtakos ŽPV genotipų pasiskirstymui.

Naudojant spermogramos kaip pagrindinio įrankio, padedančio įvertinti vyrų vaisingumą, rezultatus, svarbiausi spermos parametrai buvo vertinami ir lyginami kartu su ŽPV infekcijos paplitimu. Mūsų duomenimis, kurie patvirtina ir kitų autorių skelbiamus rezultatus [5, 9, 10], ŽPV infekcija daro įtaką vyrų spermos judrumui ir spermatozoidų koncentracijai.

Abiejų lyčių vaisingumą lemia daug genetinių ir išorinių veiksnių. Dėl tų veiksnių įtakos Lietuvoje, kaip ir kitose Europos šalyse, yra apie 15 % nevaisingų porų [20]. Manoma, kad moterų nevaisingumas šeimoje yra dažnesnis – 40–60 %, vyrų – apie 30 %, abiejų – apie 15–20 %, ir apie 10–15 % nevaisingumo priežasčių lieka neaiškios. Mūsų tyrimas neapima medicininių įrašų analizės, todėl neturėjome galimybės tiksliai nustatyti tyrime dalyvavusių porų nevaisingumo priežasčių, tačiau gauti statistiškai reikšmingi rezultatai skatina tolesnius tyrimus dėl ŽPV paplitimo ir reikšmės spermos kokybei, o ŽPV paplitimo rezultatus reikėtų plačiau palyginti su vaisingų porų rezultatais.

IŠVADOS

Remiantis atlikto tyrimo rezultatais, galima daryti išvadą, kad ŽPV paplitimas tarp nevaisingumo problemų turinčių porų, kurioms taikyta pagalbinio apvaisinimo procedūra, atitinka mokslinėje literatūroje nurodytus duomenis ir patvirtina ŽPV infekcijos svarbą spermos rodikliams (nustatyta, kad ŽPV infekcijos dažnis koreliuoja su spermos pakitimais – sumažėjusia spermatozoidų koncentracija ir judrumu). Lietuvoje tarp porų, kurioms taikyta pagalbinio apvaisinimo procedūra, labiausiai yra paplitęs ŽPV 52 didelės rizikos genotipas (identifikuotas 23,8 % ŽPV teigiamų mėginių), kiti didelės rizikos genotipai paplitę mažiau. ŽPV infekuotuose spermos mėginiuose nustatyti spermatozoidų judrumo ir koncentracijos pakitimai – oligoastenospermija, pavieniai polispermijos ir azospermijos atvejai. ◆

Gauta: 2018 10 02
Priimta spaudai: 2018 12 28

Summary

HUMAN PAPILLOMAVIRUS INFECTION IN COUPLES UNDERGOING *IN VITRO* FERTILIZATION TREATMENT

Vilma Jeršovienė, Živilė Gudlevičienė, Dalius Butkauskas, Jolita Rimienė, Rimantas Gricius

Background. HPV is the most commonly sexually transmitted infection. The human papillomaviruses (HPV) are sexually transmitted viruses and etiological agents of several human cancers common among men and women worldwide. Recent evidence suggests that HPV infection may affect fertility. In men, HPV infection can affect sperm parameters, specifically concentration and motility.

The objectives of the study were to investigate HPV prevalence in couples undergoing in vitro fertilization and association with sperm quality in husbands of women undergoing IVF.

Material and methods. A total of 100 samples were collected from couples – 50 semen samples from males and 50 cervical swabs from females. All samples were tested for HPV DNA using real time PCR. The Amplisens HPV High risk genotype PCR kit detects DNA of the 14 HPV high-risk types in sperm samples. All semen samples of subjects were collected by masturbation after 3–4 days of abstinence. Semen parameters were assessed according to the World Health Organization (WHO) 2010 guidelines. Sperm samples were assessed in A Makler counting chamber at a magnification ×200.

Results. Overall, 36% (18/50) of the couples was HPV-positive. Of these, HPV infection was detected in 22% of the examined women (11/50) and 20% (10/50) among the studied men. Basic seminal parameters were analyzed. The volume of patients' semen ranges between 0.5 and 5 mL (an average was 2.5 mL). Sperm samples positive for HPV high risk types were associated with abnormal concentration and motility. HPV infection affected about 80% of men with abnormal semen analysis result and 65% of men with normal sperm analysis results were HPV negative. Men with abnormal sperm sample had significantly higher rates of high-risk semen HPV infection ($p<0.05$).

Conclusions. This study reveals a significant association between HPV-positive semen and sperm quality. HPV infected sperm samples were associated with abnormal sperm count and motility. HPV seminal infections could play an important role in male infertility. These results deserve further attention and additional studies should be conducted with larger cohorts.

Keywords: HPV, *in vitro* fertilization, semen analysis, infertility, astenospermia.

LITERATŪRA

1. zur Hausen H. Viruses in human cancers. Science 1991; 254: 1167–73.
2. zur Hausen H. Papillomaviruses in the causation of human cancers – a brief historical account. Virology 2009; 384: 260–5.
3. Bosch FX, Broker TR, Forman D, Moscicki AB, Gillison ML, Doorbar J, et al. Comprehensive control of human papillomavirus infections and related diseases. Vaccine 2013; 30: H1–H31.
4. Perino A, Giovannelli L, Schillaci R, Ruvolo G, Fiorentino FP, Alimondi P, et al. Human papillomavirus infection in couples undergoing in vitro fertilization procedures: impact on reproductive outcomes. Fertil Steril 2011; 95: 1845–8.
5. Laprise C, Trottier H, Monnier P, Coutlee F, Mayrand MH. Prevalence of human papillomaviruses in semen: a systematic review and meta-analysis. Hum Reprod 2014; 29: 640–51.
6. Foresta C, Garolla A, Zuccarello D, Pizzol D, Moretti A, Barzon L. Human papillomavirus found in sperm head of young adult males affects the progressive motility. Fertil Steril 2010; 93: 802–6.
7. Foresta C, Pizzol D, Moretti A, Barzon L, Garolla A. 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: 1723–7.
8. Foresta C, Ferlin A, Bertoldo A, Patassini C, Zuccarello D, Garolla A. Human papilloma virus in the sperm cryobank: an emerging problem? Int J Androl 2011; 34: 242–6.
9. Garolla A, Pizzol D, Bertoldo A, De Toni L, Barzon L, Foresta C. Association, prevalence, and clearance of human papillomavirus and antisperm antibodies in infected semen samples from infertile patients. Fertil Steril 2013; 99: 125–31.
10. Foresta C, Noventa M, De Toni L, Gizzo S, Garolla A. HPV-DNA sperm infection and infertility: from a systematic literature review to a possible clinical management proposal. Andrology 2015; 3: 163–73.

11. Çağlar GS, Garrido N. The implications of male human papilloma virus infection in couples seeking assisted reproduction technologies. J Turk Ger Gynecol Assoc 2018; 19(1): 48–52.
12. Datta J, Palmer MJ, Tanton C, Gibson LJ, Jones KG, Macdowall W, et al. Prevalence of infertility and help seeking among 15 000 women and men. Hum Reprod 2016; 31: 2108–18.
13. Polis CB, Cox CM, Tunçalp Ö, McLain AC, Thoma ME. Estimating infertility prevalence in low-to-middle-income countries: an application of a current duration approach to Demographic and Health Survey data. Hum Reprod 2017; 32: 1064–74.
14. Spandorfer SD, Bongiovanni AM, Fasioulotis S, Rosenwaks Z, Ledger WJ, Witkin SS. Prevalence of cervical human papillomavirus in women undergoing in vitro fertilization and association with outcome. Fertil Steril 2006; 86: 765–7.
15. Calinisan JH, Chan SR, King A, Chan PJ. Human papillomavirus and blastocyst apoptosis. J Assist Reprod Genet 2002; 19: 132–6.
16. Hellberg D, Nilsson S. IVF and HPV. Fertil Steril 2007; 87: 1498. Comment.
17. Hermonat PL, Han L, Wendel PJ, Quirk JG, Stern S, Lowery CL, et al. Human papillomavirus is more prevalent in first trimester spontaneously aborted products of conception compared to elective specimens. Virus Genes 1997; 14: 13–7.
18. Popendikytė V, Gulbinovič I, Paulauskienė V, Paulauskas Dž. Didelės rizikos žmogaus papilomos virusų nustatymas ir tipavimas daugialokusiniu PGR metodu. Lietuvos akušerija ir ginekologija 2008; 11(4): 348–52.
19. Yang Y, Jia CW, Ma YM, Zhou LY, Wang SY. Correlation between HPV sperm infection and male infertility. Asian J Androl 2013; 15(4): 529–32.
20. Elbashir S, Magdi Y, Rashed A, Ibrahim MA, Edris Y, Abdelaziz AM. Relationship between sperm progressive motility and DNA integrity in fertile and infertile men. Middle East Fertil Soc J 2018; 23: 195–8.