



Негативное влияние антиретровирусной терапии на показатели спермограммы у мужчин, инфицированных ВИЧ

Е. В. Митюрина, С. Г. Перминова, Ф. Н. Селимова, А. Ю. Попова, А. Н. Абубакиров, Т. А. Назаренко

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В. И. Кулакова»; Россия, 117997 Москва, ул. Академика Опарина, 4

Контакты: Елена Викторовна Митюрина mity-elena@yandex.ru

Цель исследования – оценить показатели спермограммы мужчин, инфицированных ВИЧ и принимающих антиретровирусные препараты.

Материалы и методы. В проспективное исследование «случай–контроль» вошли 115 мужчин: в основную группу – 51 пациент с ВИЧ-инфекцией, в контрольную группу – 64 пациента с отрицательным результатом серологического исследования на наличие ВИЧ и нормальными показателями спермограммы. Проведена оценка 97 и 111 образцов спермы. Статус пациентов с ВИЧ-инфекцией оценивали на основании данных о стадии и фазе заболевания, уровне вирусной нагрузки, уровне лимфоцитов CD3+, CD4+, CD8+ и длительности антиретровирусной терапии (АРВТ).

Результаты. «Стаж» ВИЧ-инфекции варьировал от 2 до 9 лет (медиана 5 лет). Антиретровирусные препараты принимали все пациенты. Медиана продолжительности приема препаратов – 1,5 года. У 48,4 % ВИЧ-инфицированных пациентов выявлена нормозооспермия. В структуре патозооспермии преобладала тератозооспермия (40 %), при этом доля патологических форм сперматозоидов у мужчин с ВИЧ-инфекцией была существенно больше по сравнению с таковой у мужчин без ВИЧ (соответственно 97 (96–98) и 96 (95–96) %, $p = 0,0001$). Объем эякулята (2,7 (2,0–3,4) и 3,1 (2,3–4,0) мл, $p = 0,003$), общее количество (89,1 (47,3–153,0) и 198,8 (138,5–272,8) млн, $p = 0,0001$), концентрация (36 (21–52) и 63,5 (46–91) млн/мл, $p = 0,0001$), доля прогрессивно-подвижных (40 (31–53) и 55 (48,7–62,2) %, $p = 0,0001$) и жизнеспособных сперматозоидов (78 (71,5–81,0) и 84 (82–87) %, $p = 0,0001$) были статистически значимо меньше, а число неподвижных форм (50 (39–55,5) и 38 (31,7–42,2) %, $p = 0,0001$) существенно больше у ВИЧ-инфицированных пациентов, чем у мужчин без ВИЧ. Установлена отрицательная корреляция числа аномальных сперматозоидов с уровнем лимфоцитов CD4+ ($r = -0,362$, $p = 0,026$), длительности заболевания с концентрацией сперматозоидов ($r = -0,242$, $p = 0,020$), доли прогрессивно-подвижных форм категории В с длительностью заболевания ($r = -0,241$, $p = 0,024$). Длительность АРВТ отрицательно коррелировала с долей прогрессивно-подвижных сперматозоидов категории В ($r = -0,224$, $p = 0,036$). Доля сперматозоидов с фрагментированной ДНК была существенно больше у пациентов с ВИЧ-инфекцией, чем у мужчин без ВИЧ (соответственно 15,8 (12,4–23,0) и 9,95 (7,3–12,4) %, $p = 0,001$).

Заключение. У ВИЧ-инфицированных пациентов, принимающих антиретровирусные препараты, усиливается фрагментация ДНК сперматозоидов и увеличивается доля их патологических форм. Доля аномальных форм сперматозоидов выше при низких показателях CD4+ лимфоцитов. Концентрация сперматозоидов снижается, а доля их неподвижных форм увеличивается при длительном течении ВИЧ-инфекции. АРВТ оказывает негативное влияние на подвижность сперматозоидов.

Ключевые слова: ВИЧ, антиретровирусная терапия, фрагментация ДНК, фертильность, бесплодие, спермограмма

Для цитирования: Митюрина Е. В., Перминова С. Г., Селимова Ф. Н. и др. Негативное влияние антиретровирусной терапии на показатели спермограммы у мужчин, инфицированных ВИЧ. Андрология и генитальная хирургия 2019;20(1):99–107.

DOI: 10.17 650/2070-9781-2019-20-1-99-107

Negative effect of antiretroviral therapy on spermogram values in HIV-positive men

E. V. Mityurina, S. G. Perminova, F. N. Selimova, A. Yu. Popova, A. N. Abubakirov, T. A. Nazarenko

V. I. Kulakov National Research Center of Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of Russia;
4 Akademika Oparina St., Moscow 117997, Russia

The study objective is to analyze spermogram values in HIV-positive men receiving antiretroviral therapy (ART).

Materials and methods. The prospective case-controlled study included 115 men: the main group consisted of 51 patients with HIV, control group consisted of 64 patients with negative serological test for HIV and normal spermogram values. In total, 97 and 111 sperm samples were analyzed. HIV status was evaluated based on disease stage and phase, viral load, CD3+, CD4+, CD8+ lymphocyte counts and ART duration.

Results. History of HIV varied between 2 and 9 years (median 5 years). All patients were receiving ART. Median duration of drug administration was 1.5 years. In 48.4 % of HIV-positive patients, normozoospermia was observed. In the structure of pathological zoospermia, teratozoospermia was the most prevalent (40 %), and the percentage of pathological forms of spermatozoa in HIV-positive men was significantly



higher than in HIV-negative men (97 (96–98) and 96 (95–96) %, $p = 0.0001$, respectively). Ejaculate volume (2.7 (2.0–3.4) and 3.1 (2.3–4.0) ml, $p = 0.003$), total count (89.1 (47.3–153.0) and 198.8 (138.5–272.8) million, $p = 0.0001$), concentration (36 (21–52) and 63.5 (46–91) million/ml, $p = 0.0001$), percentage of progressive motile (40 (31–53) and 55 (48.7–62.2) %, $p = 0.0001$) and viable sperm (78 (71.5–81.0) and 84 (82–87) %, $p = 0.0001$) were significantly lower, and the number of immotile forms (50 (39–55.5) and 38 (31.7–42.2) %, $p = 0.0001$) significantly higher in HIV-positive patients than in men without HIV. Negative correlations between the number of abnormal spermatozoa and CD4+ lymphocyte count ($r = -0.362$, $p = 0.026$), disease duration and sperm concentration ($r = -0.242$, $p = 0.020$), percentage of progressive motile sperm (grade B) and disease duration ($r = -0.241$, $p = 0.024$) were established. ART duration negatively correlated with the percentage of progressive motile sperm (grade B) ($r = -0.224$, $p = 0.036$). Percentage of sperm with fragmented DNA was significantly higher in HIV-positive patients compared to HIV-negative men (15.8 (12.4–23.0) and 9.95 (7.3–12.4) %, $p = 0.001$, respectively).

Conclusion. In HIV-positive patients receiving ART, sperm DNA fragmentation and the number of pathological forms are increased. Percentage of abnormal forms is higher for lower CD4+ lymphocyte counts. Sperm concentration decreases, and percentage of immobile forms increases with duration of HIV infection. ART negatively affects sperm motility.

Key words: HIV, antiretroviral therapy, DNA fragmentation, fertility, infertility, spermogram

For citation: Mityurina E.V., Perminova S.G., Selimova F.N. et al. Negative effect of antiretroviral therapy on spermogram values in HIV-positive men. *Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery* 2019;20(1):99–107.

Введение

В настоящее время около 37 млн человек в мире живут с ВИЧ-инфекцией [1]. Общее число ВИЧ-инфицированных в Российской Федерации составило 1 272 403 человека (по состоянию на 1-е полугодие 2018 г.). Наиболее высокая частота инфицированности ВИЧ наблюдается среди лиц 30–44 лет. Среди больных преобладают мужчины (63 %), из них 3,3 % – в возрасте 35–39 лет, многие планируют стать отцами¹.

Антиретровирусная терапия (АРВТ) позволяет этим пациентам безопасно реализовать репродуктивную функцию. АРВТ проводят по трехкомпонентной схеме. Цель терапии – подавление репликации вируса и снижение количества РНК ВИЧ до неопределяемых значений как в крови, так и в семенной плазме [2, 3].

Исследователи не выявили на поверхности сперматозоидов рецепторы, необходимые для проникновения ВИЧ в клетку, а именно CD4, CXCR4 и CCR5 [4], тем не менее остается много вопросов о влиянии ВИЧ-инфекции на фертильность мужчин. Одни исследователи опубликовали данные о том, что у ВИЧ-инфицированных пациентов уменьшается объем эякулята, общее количество, концентрация, подвижность сперматозоидов [5–7], а также доля сперматозоидов с нормальной морфологией [5, 7, 8]. В других исследованиях не выявлено снижения фертильности ВИЧ-инфицированных мужчин [9–12], за исключением тех пациентов, общее состояние которых резко ухудшилось по причине прогрессирующей иммуносупрессии [12].

Роль АРВТ в развитии изменений сперматогенеза остается до конца не ясной. Согласно данным J.D. Nicourollos и соавт. (2011), АРВТ может отрицательно влиять на показатели сперматогенеза, что проявляется в снижении концентрации, подвижности спермато-

зоидов, увеличении доли патологических форм [13]. W.A. Robbins и соавт. (2001), напротив, при оценке качества спермы у 26 мужчин не выявили отрицательного воздействия АРВТ на параметры сперматогенеза [14]. Более того, существует мнение, что если наличие ВИЧ ухудшает качество спермы, то противовирусное лечение способно его улучшить у мужчин с длительным «стажем» заболевания и/или наличием симптомов [15].

Одним из возможных механизмов негативного влияния АРВТ, в частности нуклеотидных ингибиторов обратной транскриптазы (НИОТ), на качество спермы может быть изменение метаболизма сперматозоидов [16] из-за митохондриальной токсичности препаратов [3, 17, 18]. В работе T. Hulgan и соавт. (2003) показано, что токсический эффект АРВТ обусловлен развитием оксидативного стресса [19]. Образование активных форм кислорода усиливает перекисное окисление липидов и приводит к повреждению хроматина сперматозоидов и нарушению целостности их ДНК [20, 21]. Кроме того, активные формы кислорода повреждают мембрану сперматозоидов, в результате чего снижается их подвижность и способность оплодотворять яйцеклетку [22].

В последние годы большое внимание уделяется изучению фрагментации ДНК сперматозоидов как основной причине мужского бесплодия. Известно, что фрагментация ДНК сперматозоидов вызывает нарушение фертилизации, ухудшение качества эмбрионов, увеличение частоты самопроизвольных абортосов, и снижение частоты наступления беременности при зачатии естественным путем или с помощью вспомогательных репродуктивных технологий [23, 24]. По данным V. Savasi и соавт. (2018), доля сперматозоидов

¹ По данным Федерального научно-методического центра по профилактике и борьбе со СПИДом ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора (справка от 30.06.2018).



с фрагментированной ДНК увеличивается у ВИЧ-инфицированных пациентов, принимающих антиретровирусные препараты, по сравнению с пациентами, не проходящими терапию [25].

Отсутствие однозначных данных о фертильности у мужчин с ВИЧ-инфекцией на фоне АРВТ послужило основанием для проведения настоящего исследования.

Цель исследования — оценить показатели спермограммы мужчин, инфицированных ВИЧ и принимающих антиретровирусные препараты.

Материалы и методы

Проведено проспективное исследование «случай — контроль» с участием 115 мужчин, которые обратились в 1-е гинекологическое отделение (руководитель к.м.н. А.Н. Абубакиров) ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова» Минздрава России для оценки фертильности и получения медицинской помощи в реализации репродуктивной функции.

Основную группу составил 51 мужчина с ВИЧ-инфекцией, контрольную группу — 64 пациента с отрицательным результатом серологического исследования на наличие ВИЧ и нормальными показателями спермограммы (в соответствии с критериями Всемирной организации здравоохранения (2010) [26]), которые предоставили образец спермы в лабораторию в течение периода исследования.

Критерии включения в основную группу: наличие ВИЧ-инфекции, стадии 3 субклиническая, 4а, 4б, 4в, фаза ремиссии, проведение АРВТ, неопределяемая вирусная нагрузка в 2 последовательных исследованиях, проведенных с интервалом ≥ 3 мес.

Критерии невключения в основную группу: отсутствие АРВТ, определяемая вирусная нагрузка в крови, гепатит В и/или С.

Критерии включения в контрольную группу: отсутствие ВИЧ, нормальные показатели спермограммы.

ВИЧ-статус пациентов оценивали на основании данных о стадии и фазе заболевания, уровне вирусной нагрузки, числе лимфоцитов CD3+ CD4+, CD8+, иммунореактивном индексе и длительности АРВТ.

Проведена оценка 97 и 111 образцов спермы соответственно у пациентов основной и контрольной групп.

Образцы спермы были получены посредством мастурбации после 3–7-дневного сексуального воздержания. Все образцы были проанализированы и обработаны одним и тем же биологом в течение 2 ч после семяизвержения. Параметры оценены в соответствии с критериями Всемирной организации здравоохранения (2010) [26].

Долю сперматозоидов с фрагментированной ДНК определяли с помощью метода TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferases (TdT) dUTP end labeling)

с помощью набора реактивов ApoptTag In Situ Apoptosis Detection Kits (Millipore, США). На предметное стекло, покрытое Polysine (Thermo), наносили препарат сперматозоидов, отмытых от спермальной жидкости. Препарат высушивали и фиксировали в 1 % растворе параформальдегида в течение 10 мин. Затем дважды промывали в фосфатном буфере и помещали в раствор этанола и уксусной кислоты (2: 1) на 5 мин при -20°C . Затем вновь дважды промывали в фосфатном буфере. Далее на препарат наносили раствор фермента TdT Enzyme (время инкубации 60 мин) и раствор Anti-Digoxigenin Conjugate, содержащий флюоресцентный краситель (родамин) и инкубировали в течение 30 мин. В последующем образец спермы вновь дважды промывали в фосфатном буфере и инкубировали в растворе ядерного флюоресцентного красителя DAPI в течение 5 мин. Затем препарат четырежды промывали в фосфатном буфере и покрывали стеклом. Анализ проводили на флюоресцентном микроскопе Olympus с 2 фильтрами (с длиной волны 350 и 560 нм). Препарат просматривали в нескольких полях зрения, оценивали 1000 клеток. Полученные изображения анализировали в программе Imedge Pro для подсчета количества ядер сперматозоидов с фрагментацией ДНК и общего количества неповрежденных ядер. В итоге подсчитывали в среднем долю фрагментированных ядер в препарате каждого пациента.

Статистическая обработка данных выполнена с использованием программы IPM SPSS Statistics версии 21. Количественные показатели представлены в виде Me (L — H), где Me — медиана, L — 25-й (нижний) квартиль, H — 75-й (верхний) квартиль. Оценка силы взаимосвязи между показателями произведена с использованием коэффициента корреляции Спирмена. Статистически значимыми считали отличия при $p < 0,05$ (95 % уровень значимости).

Результаты

Медиана возраста мужчин с ВИЧ-инфекцией составила 36 (33–39) лет. Длительность «стажа» ВИЧ-инфекции на момент включения в исследование — 5 (2–9) лет. Путь инфицирования был неизвестен у 32 (62,7 %) пациентов, а 5 (9,8 %) указали на употребление наркотиков. В остальных случаях (27,5 %) определен гетеросексуальный половой путь инфицирования. Преобладала стадия 3 субклиническая (66,7 %). Пациенты со стадией заболевания 4а (17,6 %), 4б (5,9 %) и 4в (9,8 %) находились в фазе ремиссии.

У всех пациентов проводилась АРВТ, из них 30 (48,8 %) принимали НИОТ в сочетании с нуклеозидными ингибиторами обратной транскриптазы, 16 (31,4 %) — НИОТ и ингибиторы протеаз, 4 (7,8 %) — НИОТ и ингибиторы интегразы, 1 (2 %) — 3 препарата группы НИОТ. Медиана продолжительности приема препаратов составила 1,5 года (1–4 года). Вирусная нагрузка

в крови была неопределяемой в 100 % случаев; иммунологический статус представлен в табл. 1.

Таблица 1. Иммунологический статус пациентов с ВИЧ-инфекцией, $n = 51$

Table 1. Immunological status of HIV-positive patients, $n = 51$

Параметр Parameter	Медиана Median	Нижний квартиль— верхний квартиль Lower quartile—higher quartile
CD4+, кл/мкл CD4+, cells/ μ l	535,5	367–653
CD4+, %	28	19–34
CD8+, кл/мкл CD8+, cells/ μ l	873	696–1060
CD8+, %	44	39,7–58,2
Иммунореактивный индекс Immunoreactivity index	0,50	0,37–0,74

При анализе спермограмм ВИЧ-инфицированных пациентов в 48,4 % случаев (47 из 97 образцов спермы) диагностирована нормозооспермия. В структуре патозооспермии преобладала тератозооспермия (40 %), в 22 % и 16 % случаев наблюдалась олигоастенотератозооспермия и астенотератозооспермия соответственно. Другие патологии встречались существенно реже (астенозооспермия – в 8 %, олигоастенозооспермия – в 4 %, олиготератозооспермия – в 4 %, олигозооспермия – в 2 %, азооспермия – в 4 %).

Основная и контрольная группы были сопоставимы по возрасту пациентов (36 (33–39) и 36 (32,0–37,5) лет, $p = 0,544$). Количество лейкоцитов в основной и контрольной группах (соответственно 0,2 (0,1–0,8) и 0,2 (0,1–0,7) млн, $p = 0,518$), а также круглых клеток (0,4 (0,2–1,1) и 0,5 (0,3–1,3), $p = 0,106$), уровень рН (7,5 (7,3–7,7) и 7,6 (7,3–7,8), $p = 0,354$), доля непрогрессивно-подвижных форм сперматозоидов (7 (5–11) и 7 (5–9) %, $p = 0,176$) и результат MAR-теста (7 (1–15) и 4 (0,0–13,7) %, $p = 0,475$) находились в пределах нормативных значений и статистически значимо не различались (табл. 2).

Другие параметры не имели существенных отклонений от нормы, однако объем эякулята (2,7 (2,0–3,4) и 3,1 (2,3–4,0) мл, $p = 0,003$), общее количество сперматозоидов (89,1 (47,3–153,0) и 198,8 (138,5–272,8) млн, $p = 0,0001$), их концентрация (36 (21–52) и 63,5 (46–91) млн/мл, $p = 0,0001$), доля прогрессивно-подвижных (40 (31–53) и 55 (48,7–62,2) %, $p = 0,0001$) и жизнеспособных (78 (71,5–81) и 84 (82–87) %, $p = 0,0001$) сперматозоидов были статистически значимо меньше, а доля неподвижных (50 (39,0–55,5) и 38 (31,7–42,2) %, $p = 0,0001$) была существенно больше, чем в группе мужчин с нормозооспермией.

Доля патологических форм сперматозоидов у ВИЧ-инфицированных мужчин была больше, чем у здоровых мужчин без ВИЧ-инфекции (97 (96–98) и 96 (95–96), $p = 0,0001$). Более того, при проведении корреляционного анализа установлена умеренная отрицательная взаимосвязь числа аномальных сперматозоидов и уровня лимфоцитов CD4+ ($r = -0,362$, $p = 0,026$).

Далее в основной группе оценивали силу взаимосвязи между отличающимися от нормы показателями спермы и длительностью заболевания, наличием АРВТ, уровнем лимфоцитов CD4+ в крови (табл. 3). Выявлена статистически значимая отрицательная взаимосвязь между длительностью заболевания и концентрацией сперматозоидов ($r = -0,242$, $p = 0,020$), долей прогрессивно-подвижных сперматозоидов категории В ($r = -0,241$, $p = 0,024$), совокупной долей прогрессивно-подвижных и непрогрессивно-подвижных сперматозоидов ($r = -0,276$, $p = 0,012$). Также обнаружена положительная корреляция между длительностью ВИЧ-инфекции и количеством неподвижных сперматозоидов ($r = 0,220$, $p = 0,040$).

Длительность АРВТ отрицательно коррелировала с числом прогрессивно-подвижных сперматозоидов категории В ($r = -0,224$, $p = 0,036$) и совокупной долей прогрессивно-подвижных и непрогрессивно-подвижных сперматозоидов ($r = -0,255$, $p = 0,021$). Обнаружена статистически значимая положительная взаимосвязь между долей прогрессивно-подвижных сперматозоидов категории В ($r = 0,294$, $p = 0,032$) и уровнем лимфоцитов CD4+.

Оценка доли сперматозоидов с фрагментированной ДНК показала, что этот показатель был существенно выше у ВИЧ-инфицированных пациентов, чем у здоровых мужчин без ВИЧ-инфекции (15,8 (12,4–23,0) и 9,95 (7,3–12,4) %, $p = 0,001$). Статистически значимой взаимосвязи между долей сперматозоидов с фрагментированной ДНК и длительностью заболевания ($r = 0,200$, $p = 0,493$), уровнем лимфоцитов CD4+ ($r = -0,097$, $p = 0,789$) не выявлено. Имеется тенденция к корреляции доли сперматозоидов с фрагментированной ДНК и продолжительности АРВТ ($r = 0,504$, $p = 0,066$), однако различия не достигают порога статистической значимости.

Обсуждение

Разработка и внедрение в клиническую практику препаратов для АРВТ, обусловившее рост продолжительности жизни и улучшение ее качества у пациентов с ВИЧ-инфекцией, позволяет им безопасно реализовать репродуктивную функцию. Возможность самостоятельного зачатия требует изучения уровня фертильности ВИЧ-инфицированных мужчин. Большинство исследований свидетельствует о снижении фертильности у этих пациентов [5–8, 27]. Обсуждается роль как самого вируса, так и АРВТ в развитии нарушений

Таблица 2. Показатели спермограммы ВИЧ-инфицированных пациентов, проходящих антиретровирусную терапию, в сравнении с показателями пациентов без ВИЧ

Table 2. Spermogram values for HIV-positive patients receiving antiretroviral therapy compared to HIV-negative patients

Показатель Parameter	ВИЧ-инфицированные пациенты (n = 97), Ме (Q ₂₅ –Q ₇₅) HIV-positive patients (n = 97), Me (Q ₂₅ –Q ₇₅)	Пациенты без ВИЧ (n = 111), Ме (Q ₂₅ –Q ₇₅) HIV-negative patients (n = 111), Me (Q ₂₅ –Q ₇₅)	Статистическая значимость различий p Significance level p
Объем эякулята, мл Ejaculate volume, ml	2,7 (2,0–3,4)	3,1 (2,3–4,1)	0,003
Лейкоциты, млн Leukocytes, million	0,2 (0,1–0,8)	0,2 (0,1–0,7)	0,518
Круглые клетки, млн Round cells, million	0,4 (0,2–1,1)	0,5 (0,3–1,3)	0,106
Общее количество сперматозоидов, млн Total sperm count, million	89,1 (47,3–153,0)	198,8 (138,5–272,8)	0,0001
Концентрация сперматозоидов, млн/мл Sperm concentration, million/ml	36 (21–52)	63,5 (46–91)	0,0001
pH	7,5 (7,3–7,7)	7,6 (7,3–7,8)	0,354
Прогрессивно-подвижные сперматозоиды категории А, % Progressive motile sperm (grade A), %	10 (5–16)	17 (14,7–21,0)	0,0001
Прогрессивно-подвижные сперматозоиды категории В, % Progressive motile sperm (grade B), %	31 (22,7–38)	38 (33,0–42,2)	0,0001
Сперматозоиды с поступательным движением (категорий А и В), % Progressive motile sperm (grades A and B), %	40 (31–53)	55 (48,7–62,2)	0,0001
Сперматозоиды с непоступательным движением (категории С), % Non-progressive motile sperm (grade C), %	7 (5–11)	7 (5–9)	0,176
Сперматозоиды с поступательным движением + сперматозоиды с непоступательным движением, % Progressive motile + non-progressive motile sperm, %	50 (44–59)	61,5 (57,0–68,2)	0,0001
Неподвижные сперматозоиды, % Non-motile sperm, %	50 (39,0–55,5)	38 (31,7–42,2)	0,0001
Жизнеспособные сперматозоиды, % Viable sperm, %	78 (71,5–81,0)	84 (82–87)	0,0001
Патологические формы, % Pathological forms, %	97 (96–98)	96 (95–96)	0,0001
Результат MAR-теста (доля сперматозоидов, покрытых антиспермальными антителами) Result of MAR test (percentage of sperm covered in antisperm antibodies)	7 (1–15)	4 (0,0–13,7)	0,475

Таблица 3. Взаимосвязь между параметрами спермограммы ВИЧ-инфицированных пациентов, длительностью заболевания, наличием антиретровирусной терапии, уровнем лимфоцитов CD4+ (коэффициенты корреляции Спирмена)

Table 3. Association between spermogram characteristics of HIV-positive patients, disease duration, antiretroviral therapy administration, CD4+ lymphocyte count (Spearman's rank correlation)

Показатель Parameter	Длительность ВИЧ-инфекции HIV infection duration	Статистическая значимость различий p Significance level p	Длительность антиретровирусной терапии Antiviral therapy duration	Статистическая значимость различий p Significance level p	Уровень CD4+ CD4+ count	Статистическая значимость различий p Significance level p
Объем эякулята Ejaculate volume	0,021	0,843	-0,151	0,159	0,238	0,086
Общее количество сперматозоидов Total sperm count	-0,226	0,065	-0,129	0,235	-0,076	0,590
Концентрация сперматозоидов Sperm concentration	-0,242	0,020	-0,078	0,456	-0,178	0,189
Доля прогрессивно-подвижных сперматозоидов категории А Progressive motile sperm (grade A)	-0,150	0,163	-0,153	0,156	-0,257	0,063
Доля прогрессивно-подвижных сперматозоидов категории В Progressive motile sperm (grade B)	-0,241	0,024	-0,224	0,036	0,294	0,032
Доля сперматозоидов с поступательным движением (категорий А и В) Progressive motile sperm (grades A and B)	-0,141	0,179	-0,108	0,303	0,001	0,996
Доля сперматозоидов с поступательным движением и сперматозоидов с непоступательным движением Progressive motile + non-progressive motile sperm	-0,276	0,012	-0,255	0,021	-0,051	0,726
Доля неподвижных сперматозоидов Non-motile sperm	0,220	0,040	0,126	0,246	-0,034	0,817
Доля жизнеспособных сперматозоидов Viable sperm	-0,195	0,423	-0,191	0,433	0,180	0,670
Доля патологических форм Pathological forms	0,122	0,346	0,175	0,173	-0,362	0,026
Доля сперматозоидов с фрагментированной ДНК Proportion of sperm with fragmented DNA	0,200	0,493	0,504	0,066	-0,097	0,789

репродуктивной функции ВИЧ-инфицированных пациентов.

У пациентов с ВИЧ-инфекцией длительность «стажа» заболевания была небольшой – 5 (2–9) лет; все они (100 %) принимали антиретровирусные препараты в течение 1,5 (1–4) года. Уровень лимфоцитов CD4+ в крови (535,5 (367–653) кл/мл) и неопределяемая вирусная

нагрузка свидетельствовали о достаточно благополучном состоянии иммунной системы, несмотря на наличие ВИЧ-инфекции.

Мы не обнаружили существенных различий в количестве лейкоцитов (0,2 (0,1–0,8) и 0,2 (0,1–0,7) млн, $p=0,518$), круглых клеток (0,4 (0,2–1,1) и 0,5 (0,3–1,3) млн, $p=0,106$), уровне pH (7,5 (7,3–7,7) и 7,6 (7,3–7,8), $p=0,354$),

доле непрогрессивно-подвижных сперматозоидов (7 % (5–11) и 7 (5–9) %, $p = 0,176$) и результатах MAR-теста (7 (1–15) и 4 (0,0–13,7) %, $p = 0,475$) между ВИЧ-инфицированными пациентами и мужчинами без ВИЧ-инфекции. Полученные результаты согласуются с данными большинства исследователей [5, 7, 8]. L. Vujan и соавт. (2007), напротив, у мужчин с ВИЧ-инфекцией обнаружили увеличение уровня pH [27], а F. Dondero и соавт. (1996) – увеличение количества круглых клеток [8].

Фертильность определяют такие факторы, как жизнеспособность, подвижность и морфология сперматозоидов, а также состав семенной жидкости. Общее число сперматозоидов в эякуляте и концентрация сперматозоидов – параметры, которые влияют на быстроту наступления беременности при зачатии естественным путем, поэтому их используют для ее прогнозирования [27].

В нашем исследовании объем эякулята (2,7 (2,0–3,4) и 3,1 (2,3–4,0), $p = 0,003$), общее количество сперматозоидов (89,1 (47,3–153,0) и 198,8 (138,5–272,8) млн, $p = 0,0001$), их концентрация (36 (21–52) и 63,5 (46–91) млн/мл, $p = 0,0001$), доля прогрессивно-подвижных (40 (31–53) и 55 (48,7–62,2) %, $p = 0,0001$) и жизнеспособных сперматозоидов (78 (71,5–81,0) и 84 (82–87) %, $p = 0,0001$) не имели существенных отклонений от нормы, однако были статистически значимо меньше, а доля неподвижных форм (50 (39,0–55,5) и 38 (31,7–42,2) %, $p = 0,0001$) была существенно больше, чем у мужчин с нормозооспермией. Полученные данные можно объяснить небольшой длительностью «стажа» ВИЧ-инфекции (медиана 5 лет) и АРВТ (медиана 1,5 года). Можно предположить, что при включении в анализ пациентов с большей длительностью заболевания и АРВТ вышеуказанные параметры окажутся ниже нормативных значений. Данное предположение отражает отрицательные взаимосвязи между длительностью заболевания и концентрацией сперматозоидов ($r = -0,242$, $p = 0,020$), долей прогрессивно-подвижных сперматозоидов категории В ($r = -0,241$, $p = 0,024$), подвижных сперматозоидов ($r = -0,276$, $p = 0,012$). L. Vujan и соавт. (2007) [27], N. Garrido и соавт. (2005) [28] не выявили взаимосвязи между параметрами спермы и продолжительностью лечения.

Известно, что вероятность наступления беременности определяется долей прогрессивно-подвижных сперматозоидов в эякуляте. В нашей работе доля прогрессивно-подвижных сперматозоидов у ВИЧ-инфицированных пациентов находилась в пределах нормативных значений, однако была статистически значимо меньше, чем у здоровых мужчин без ВИЧ-инфекции (40 (31–53) и 55 (48,7–62,2) %, $p = 0,0001$). При этом доля прогрессивно-подвижных сперматозоидов категории В отрицательно коррелировала с длительностью ВИЧ-инфекции ($r = -0,241$, $p = 0,024$), продолжительностью АРВТ ($r = -0,224$, $p = 0,036$) и положительно

коррелировала с уровнем лимфоцитов CD4+ ($r = 0,294$, $p = 0,032$). Положительная корреляция между уровнем лимфоцитов CD4+ и подвижностью сперматозоидов была обнаружена и в исследованиях F. Dondero и соавт. (1996) [8], С.Н. Muller и соавт. (1998) [5], N. Garrido и соавт. (2005) [28]. Более низкий уровень лимфоцитов CD4+ (<200 кл/мл) коррелировал с меньшим количеством подвижных сперматозоидов. У мужчин без ВИЧ-инфекции объем эякулята, концентрация и подвижность сперматозоидов были существенно большими, чем у ВИЧ-инфицированных пациентов. Общее количество сперматозоидов у тех и других было сопоставимым [5, 8, 28].

Анализ образцов спермы показал, что у каждого 2-го (51,6 %) пациента с ВИЧ-инфекцией имелась патозооспермия, наиболее часто – тератозооспермия (у 40 %). Полученные результаты согласуются с данными научной литературы. Уменьшение доли сперматозоидов с нормальной морфологией наблюдалось и в исследованиях F. Dondero и соавт. (1996) [8], С.Н. Muller и соавт. (1998) [5], J.D. Nicoroullous и соавт. (2004) [7], L. Vujan и соавт. (2007) [27]. В работе E. Dulioust и соавт. (2002), напротив, показано, что у пациентов с ВИЧ-инфекцией доля сперматозоидов с нормальной морфологией была сопоставима с таковой у мужчин без ВИЧ-инфекции [6].

В нашем исследовании доля аномальных сперматозоидов не зависела от «стажа» ВИЧ-инфекции и продолжительности АРВТ и находилась в отношении обратной зависимости с уровнем лимфоцитов CD4+ ($r = -0,362$, $p = 0,026$). Обратная корреляция между уровнем лимфоцитов CD4+ и долей патологических форм сперматозоидов была показана в работе F. Dondero и соавт. (1996) [8]. Полученные данные авторы объясняют снижением содержания тестостерона в крови ВИЧ-инфицированных с низким уровнем лимфоцитов CD4+, что нарушает процесс созревания сперматозоидов [8]. С.Н. Muller и соавт. (1996) также отметили, что у ВИЧ-инфицированных доля аномальных сперматозоидов статистически значимо больше, чем у здоровых мужчин без ВИЧ-инфекции [5]. Исследователи считают, что многие ВИЧ-инфицированные мужчины имеют нормальный анализ спермы, но по мере прогрессирования заболевания количество патологических форм сперматозоидов увеличивается [5].

Оценка количества сперматозоидов с фрагментацией ДНК показала, что данный показатель был существенно выше у ВИЧ-инфицированных пациентов, чем у здоровых мужчин без ВИЧ-инфекции (15,8 (12,4–23,0) и 9,95 (7,3–12,4) %, $p = 0,001$). Умеренная корреляция между продолжительностью антиретровирусных препаратов и количеством сперматозоидов с фрагментированной ДНК ($r = 0,504$, $p = 0,066$) была статистически незначимой, что можно объяснить малой продолжительностью приема антиретровирусных препаратов в нашем исследовании (медиана 1,5 года).

В научной литературе обсуждается возможное влияние АРВТ на целостность ДНК сперматозоидов. Так, V. Savasi и соавт. (2018) сравнили количество сперматозоидов с фрагментированной ДНК у мужчин с ВИЧ-инфекцией, принимающих и не принимающих антиретровирусные препараты. Ученые обнаружили увеличение данного показателя соответственно у 67,9 и 37,5 % пациентов ($p = 0,02$) [25]. С. Grainais и соавт. (2010) также установили, что у мужчин с ВИЧ-инфекцией, принимающих антиретровирусные препараты, количество сперматозоидов с фрагментацией ДНК существенно больше, чем у пациентов без ВИЧ-инфекции (соответственно 6,38 и 3,39 %, $p < 0,05$). Авторы считают, что как прямые, так и косвенные эффекты ВИЧ могут изменять ядерную ДНК сперматозоидов, а некоторые антиретровирусные препараты могут повредить ее [29].

Таким образом, в данном исследовании при длительном течении ВИЧ-инфекции, продолжительной АРВТ, а также при низком уровне лимфоцитов CD4+ выявлено снижение подвижности сперматозоидов, в большей степени за счет категории В. Противоречие

полученных результатов состоит в том, что, с одной стороны, АРВТ повышает уровень лимфоцитов CD4+ и улучшает подвижность сперматозоидов, а с другой — длительный прием препаратов ухудшает параметры спермы. Возможно, это связано с тем, что гонадотоксичное влияние АРВТ зависит не только от длительности лечения, но и от используемых препаратов, что требует дополнительных исследований. У ВИЧ-инфицированных пациентов, принимающих антиретровирусные препараты, усиливается фрагментация ДНК сперматозоидов и увеличивается число патологических форм сперматозоидов. Доля аномальных форм сперматозоидов находится в отношении обратной зависимости с уровнем лимфоцитов CD4+. Концентрация сперматозоидов снижается, а количество их неподвижных форм увеличивается при длительном «стаже» ВИЧ-инфекции. АРВТ оказывает негативное влияние на подвижность сперматозоидов. При оценке параметров спермограммы у ВИЧ-инфицированных пациентов следует учитывать иммунологический статус, продолжительность заболевания и длительность АРВТ.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

1. Deeks S.G., Overbaugh J., Phillips A., Buchbinder S. HIV infection. *Nat Rev Dis Primers* 2015;1:15035. DOI: 10.1038/nrdp.2015.35.
2. Адамян Л.В., Афонина Л.Ю., Баранов И.И. и др. Применение антиретровирусных препаратов в комплексе мер, направленных на профилактику передачи ВИЧ от матери ребенку. Клинические рекомендации (протокол лечения). Доступно по: <http://childdiv.ru/primenenie-antiretrovirusnykh-prepar/> [Adamyan L.V., Afonina L.Yu., Baranov I.I. et al. The use of antiretroviral drugs in a set of measures aimed at preventing mother-to-child transmission of HIV. Clinical recommendations (treatment protocol). Available at: <http://childdiv.ru/primenenie-antiretrovirusnykh-prepar/> (In Russ.)].
3. Селимова Ф.Н., Перминова С.Г., Митюрин Е.В. и др. Реализация репродуктивной функции у мужчин с ВИЧ-инфекцией. *Акушерство и гинекология* 2018;(5):36–43. [Selimova F.N., Perminova S.G., Mityurina E.V. et al. Reproductive function realization in HIV-infected men. *Akusherstvo i ginekologiya = Obstetrics and Gynecology* 2018;(5):36–43. (In Russ.)]. DOI: 10.18565/aig.2018.5.36-42.
4. Muciaccia B., Padula F., Gandini L. et al. HIV-1 chemokine co-receptor CCR5 is expressed on the surface of human spermatozoa. *AIDS* 2005;19(13):1424–6. PMID: 16103775.
5. 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. PMID: 9629438.
6. Dulioust E., Du A.L., Costagliola D. et al. Semen alterations in HIV-1 infected men. *Hum Reprod* 2002;17(8):2112–8. PMID: 12151446.
7. Nicopoulos J.D., Almeida P.A., Ramsay J.W. et al. The effect of human immunodeficiency virus on sperm parameters and the outcome of intrauterine insemination following sperm washing. *Hum Reprod* 2004;19(10):2289–97. DOI: 10.1093/humrep/deh426. PMID: 15242991.
8. Dondero F., Rossi T., D'Offizi G. et al. Semen analysis in HIV seropositive men and in subjects at high risk for HIV infection. *Hum Reprod* 1996;11(4):765–8. PMID: 8671325.
9. Bujan L., Pasquier C., Labeyrie E. et al. Insemination with isolated and virologically tested spermatozoa is a safe way for HIV-1 virus sero-discordant couples with an infected male partner to have a child. *Fertil Steril* 2004;82(4):857–62. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2004.02.128. PMID: 15482760.
10. Pilatz A., Discher T., Lochnit G. et al. Semen quality in HIV patients under stable antiretroviral therapy is impaired compared to WHO 2010 reference values and on sperm proteome level. *AIDS* 2014;28(6):875–80. DOI: 10.1097/QAD.000000000000161. PMID: 24614089.
11. Van Leeuwen E., Cornelissen M., de Vries J.W. et al. Semen parameters of a semen donor before and after infection with human immunodeficiency virus type 1: case report. *Hum Reprod* 2004;19(12):2845–53. DOI: 10.1093/humrep/deh510. PMID: 15358720.
12. Van Leeuwen E., Wit F.W., Prins J.M. et al. Semen quality remains stable during 96 weeks of untreated human immunodeficiency virus-1 infection. *Fertil Steril* 2008;90(3):636–641. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2007.06.102. PMID: 18023441.
13. Nicopoulos J.D., Almeida P., Vourliotis M. et al. A decade of the sperm-washing programme: correlation between markers of HIV and seminal parameters. *HIV Med* 2011;12(4):195–201. DOI: 10.1111/j.1468-1293.2010.00868.x. PMID: 20726903.
14. Robbins W.A., Witt K.L., Haseman J.K. et al. Antiretroviral therapy effects on genetic and morphologic end points in lymphocytes and sperm of men with human immunodeficiency virus infection. *J Infect Dis* 2001;184(2):127–35. DOI: 10.1086/322002. PMID: 11424008.
15. Drobnis E., Nangia K. Antivirals and male reproduction. *Adv Exp Med Biol* 2017;1034:163–8. DOI: 10.1007/978-3-319-69535-8_11. PMID: 29256131.



16. Kehl S., Weigel M., Müller D. et al. HIV-1 infection and modern antiretroviral therapy impair sperm quality. *Arch Gynecol Obstet* 2011;284(1):229–33. DOI: 10.1007/s00404-011-1898-6. PMID: 21448708.
17. Brinkman K., ter Hofstede H.J., Burger D.M. et al. Adverse effects of reverse transcriptase inhibitors: Mitochondrial toxicity as common pathway. *AIDS* 1998;12(14):1735–44. PMID: 9792373.
18. Lewis W., Dalakas M.C. Mitochondrial toxicity of antiviral drugs. *Nat Med* 1995;1(5):417–22. PMID: 7585087.
19. Hulgán T., Morrow J., D'Aquila R.T. et al. Oxidant stress is increased during treatment of human immunodeficiency virus infection. *Clin Infect Dis* 2003;37:1711–7. DOI: 10.1086/379776. PMID: 14689356.
20. Aitken R.J., Koppers A.J. Apoptosis and DNA damage in human spermatozoa. *Asian J Androl* 2011;13(1):36–42. DOI: 10.1038/aja.2010.68. PMID: 20802502.
21. Blumer C.G., Restelli A.E., Giudice P. et al. Effect of varicocele on sperm function and semen oxidative stress. *BJU Int* 2012;109(2):259–65. DOI: 10.1111/j.1464-410X.2011.10240.x. PMID: 21592296.
22. Божедомов М.В., Торопцева И.В., Ушакова И.В. и др. Активные формы кислорода и репродуктивная функция мужчин: фундаментальные и клинические аспекты (обзор литературы). *Андрология и генитальная хирургия* 2011;12(3):10–6. [Bozhedomov V.A., Toroptseva M.V., Ushakova I.V. et al. Reactive oxygen species and the reproductive function of men: basic and clinical aspects (review). *Andrologiya i genital'naya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery* 2011;12(3):10–6. (In Russ.)].
23. Evenson D.P. Sperm Chromatin Structure Assay (SCSA): 30 years of experience with the SCSA. In: *Sperm Chromatin: biological and clinical applications in male infertility and assisted reproduction*. Ed. by A. Zini, A. Agarwal. Springer, 2011. Pp. 125–149. DOI: 10.1007/978-1-4419-6857-9.
24. Robinson L., Gallos I.D., Conner S.J. et al. The effect of sperm DNA fragmentation on miscarriage rates: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod* 2012;27(10):2908–17. DOI: 10.1093/humrep/des261. PMID: 22791753.
25. Savasi V., Oneta M., Laoreti A. et al. Effects of antiretroviral therapy on sperm DNA integrity of HIV-1-infected men. *Am J Mens Health* 2018;12(6):1824–42. DOI: 10.1177/1557988318794282. PMID: 30132391.
26. Руководство ВОЗ по исследованию и обработке эякулята человека. Пер. с англ. Н.П. Макарова. Науч. ред. Л.Ф. Курило. 5-е изд. М.: Капитал Принт, 2012. [WHO Laboratory manual for the examination and processing of human semen. Trans. from English by N.P. Makarov. Scientific ed. by L.F. Kurilo. 5th edn. Moscow: Kapital Print, 2012. (In Russ.)].
27. Bujan L., Sergerie M., Moinard N. et al. Decreased semen volume and spermatozoa motility in HIV-1-infected patients under antiretroviral treatment. *J Androl* 2007;28(3):444–52. DOI: 10.2164/jandrol.106.001529. PMID: 17215546.
28. Garrido N., Meseguer M., Remohi J. et al. Semen characteristics in human immunodeficiency virus (HIV)- and hepatitis C (HCV)-seropositive males: predictors of the success of viral removal after sperm washing. *Hum Reprod* 2005;20(4):1028–34. DOI: 10.1093/humrep/deh699. PMID: 15608027.
29. Frainais C., Vialard F., Rougier N. et al. Impact of freezing/thawing technique on sperm DNA integrity in HIV-1 patients. *J Assist Reprod Genet* 2010;27(7):415–21. DOI: 10.1007/s10815-010-9417-4. PMID: 20496107.

Вклад авторов

Е. В. Митюрин: анализ полученных данных, написание текста статьи;
С. Г. Перминова: разработка дизайна исследования, обзор публикаций по теме статьи;
Ф. Н. Селимова: обзор публикаций по теме статьи, получение данных для анализа;
А. Ю. Попова: получение данных для анализа;
А. Н. Абубакиров: получение данных для анализа;
Т. А. Назаренко: разработка дизайна исследования, обзор публикаций по теме статьи.

Authors' contributions

E. V. Mityurina: analysis of the obtained data, article writing;
S. G. Perminova: developing the research design, reviewing of publications of the article's theme;
F. N. Selimova: reviewing of publications of the article's theme, obtaining data for analysis;
A. Yu. Popova: obtaining data for analysis;
A. N. Abubakirov: obtaining data for analysis;
T. A. Nazarenko: developing the research design, reviewing of publications of the article's theme.

ORCID авторов/ORCID of authors

Е. В. Митюрин/E. V. Mityurina: <https://orcid.org/0000-0001-8830-2158>
С. Г. Перминова/S. G. Perminova: <https://orcid.org/0000-0003-4438-1354>
Ф. Н. Селимова/F. N. Selimova: <https://orcid.org/0000-0003-1121-9772>
А. Н. Абубакиров/A. N. Abubakirov: <https://orcid.org/0000-0003-4875-5309>
А. Ю. Попова/A. Yu. Popova: <https://orcid.org/0000-0003-1163-5602>
Т. А. Назаренко/T. A. Nazarenko: <https://orcid.org/0000-0002-5823-1667>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.
Financing. The study was performed without external funding.

Информированное согласие. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.
Informed consent. All patients gave written informed consent to participate in the study.

Статья поступила: 15.01.2018. **Принята к публикации:** 18.12.2018.
Article received: 15.01.2018. **Accepted for publication:** 18.12.2018.