

## ردیابی هرپس سیمپلکس و ویروس ۱ و ۲ در مایع منی، خون و ادرار مردان نابارور ایدیوپاتیک، و ارتباط آن با تعداد و تحرک اسپرم

دکتر مرضیه تاج الدینی<sup>۱</sup>، دکتر محمدعلی صدیقی گیلانی<sup>۲</sup>، طاهره حیدری<sup>۳</sup>، کلثوم

چوبینه<sup>۴</sup>، دکتر حمید چوبینه<sup>۵</sup>

### چکیده

زمینه و هدف: ناباروری یک معضل اصلی در پزشکی مدرن است که بر حدود ۲۰٪ از زوجین در سن باروری تاثیر گذاشته است که نزدیک به ۴۰٪-۵۰٪ از آن با علت مردانه است. نقش هرپس ویروس سیمپلکس (HSV) در ناباروری مردان با روش هایی دقیق در حال بررسی است. هدف این مطالعه تعیین شیوع DNA هرپس سیمپلکس ویروس ۱ و ۲ در مایع منی، خون و ادرار مردان نابارور ایدیوپاتیک و بررسی رابطه آن با پارامترهای مایع منی می باشد.

روش بررسی: نمونه های خون، ادرار و مایع منی از ۱۵۰ مرد نابارور مراجعه کننده به بیمارستان شریعتی تهران (۱۳۹۲-۱۳۹۰) جمع آوری شد. نمونه ها با استفاده از پرایمرهای مختص ردیابی HSV-1, 2 DNA با روش تشخیصی PCR بررسی شد. یافته‌ها: آنالیزهای شش گروه از مردان نابارور مورد مطالعه، شامل نمونه های مثبت و منفی HSV-1, 2 در خون، ادرار و مایع منی را نشان داد. HSV-1, 2 در ۲۸ (۱۸/۶۶٪) نمونه مایع منی، ۱۰ (۶/۶۶٪) نمونه خون و ۲ (۱/۳۳٪) نمونه ادرار، در ۱۵۰ نمونه بیمار تشخیص داده شد. تنها نمونه های مثبت HSV-1, 2 در مایع منی با پارامترهای مایع منی غیرنرمال همراه بود.

نتیجه گیری: با استفاده از روش هایی دقیق، شیوع بالای HSV-1, 2 در مایع منی مردان نابارور ایدیوپاتیک تشخیص داده شد. اگرچه آلودگی با HSV-1, 2 با ناهنجاری های تحرک و مورفولوژی اسپرم همراه نبود، اما با کاهش تعداد اسپرم در مایع منی همراه بود. به علاوه ارتباط معنی داری در HSV-1, 2 در خون و ادرار مردان نابارور با پارامترهای غیرنرمال مایع منی یافت نشد.

واژه‌های کلیدی: ناباروری مردان، هرپس سیمپلکس ویروس ۱ و ۲، مایع منی، خون، ادرار، پارامترهای مایع منی

دریافت مقاله : مرداد ۱۳۹۵

پذیرش مقاله : آذر ۱۳۹۵

\*نویسنده مسئول :

دکتر حمید چوبینه؛

دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

Email :  
hchobineh@tums.ac.ir

<sup>۱</sup> دکترای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

<sup>۲</sup> استاد گروه اورولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

<sup>۳</sup> دانشجوی کارشناسی ارشد زیست شناسی تکوینی جانوری، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند، تهران، ایران

<sup>۴</sup> کارشناس ارشد زیست شناسی، مرکز درمان ناباروری هلال ایران رویش، تهران، ایران

<sup>۵</sup> استادیار گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، مرکز تحقیقات زئونوز، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

## مقدمه

در مایع منی افراد نابارور بدون علائم بالینی تشخیص داده شده اند (۷-۴). به ویژه CMV و HSV-2 بطور گسترده ای مورد مطالعه قرار گرفته و نشان داده که می توانند ناهنجاری های جنینی و نوزادی ایجاد کنند (۲). بر اساس آمار منتشر شده در ایالات متحده آمریکا حداقل ۵۰ میلیون نفر مبتلا به هرپس تناسلی بوده و سالانه ۵۰۰ هزار مورد ابتلای جدید ثبت می شود (۹ و ۸). بر اساس مطالعات Looker و همکاران، در سال ۲۰۱۵، تخمین زده شده است که در سال ۲۰۱۲ تعداد ۴۱۷ میلیون نفر (محدوده: ۶۷۸-۲۷۴ میلیون) (۱۱/۳٪) در سطح جهان با محدوده سنی ۱۵-۴۹ سال، دارای عفونت HSV-2 و ۱۹/۲ میلیون نفر (محدوده: ۲۸/۶-۱۳ میلیون) به تازگی با HSV-2 آلوده شده اند (۱۰).

با وجود اهمیت بالینی مشاهدات، نقش وروس هرپس در ناباروری با علل مردانه همچنان نامشخص است. مطالعه ی حاضر با هدف تعیین میزان شیوع هرپس سیمپلکس و وروس در مایع منی، خون و ادرار با استفاده از روش PCR، و ارتباط آن با ناباروری مردان نابارور مراجعه کننده به درمانگاه ناباروری بیمارستان شریعتی تهران انجام شد.

## روش بررسی

مطالعه ی حاضر از نوع توصیفی بوده که با هدف تعیین میزان شیوع هرپس سیمپلکس و وروس در مایع منی، خون و ادرار با استفاده از روش PCR، و ارتباط آن با ناباروری مردان مبتلا به ناباروری مراجعه کننده به درمانگاه ناباروری، انجام شد و نتایج این پژوهش، در این مقاله ذکر شده است. تمام مردان مورد مطالعه از بین مراجعه کنندگان به درمانگاه ناباروری شریعتی دانشگاه علوم پزشکی تهران در سال های ۱۳۹۰ لغایت ۱۳۹۲ انتخاب شدند. از بین ۲۵۰ نفر مراجعه کننده به درمانگاه، ۱۵۰ نفر که واجد شرایط ورود به مطالعه بودند، با رضایت نامه ی کتبی وارد مطالعه شدند. در مطالعه ی حاضر، ناباروری مردان به ناتوانی زوجین در بچه دار شدن پس از حداقل یک سال مقاربت بدون استفاده از وسایل پیشگیری از بارداری اطلاق می شد و نتایج آزمایش ها، نشان دهنده ی ناباروری و اختلال اسپرم در آنان بود. اطلاعات به وسیله ی پرسشنامه ای که شامل سؤالات مربوط به ویژگی های فردی (سن، مدت ازدواج، سن ازدواج)، تاریخچه باروری، سابقه بیماری های هرپس تناسلی و آزمایش های اسپرم بود که با مراجعه ی حضوری پژوهشگر به درمانگاه های مرتبط و مصاحبه ی رودررو با مردان جمع آوری شد. افرادی که کتباً یا شفاهاً حاضر به ادامه ی همکاری در مطالعه نبودند و افرادی که

ناباروری به ناتوانی زوجین (با توجه به سن زوجین) در بچه دار شدن پس از حداقل یک سال مقاربت بدون استفاده از وسایل پیشگیری از بارداری اطلاق می شود (۱). بنا به گزارش سازمان جهانی بهداشت، ناباروری بر حدود ۸۰ میلیون زوج در سراسر دنیا تاثیر گذاشته است (۲) که ۵۰٪ آن ها وابسته به علل مردانه می باشد (۳). بر اساس مطالعات انجام شده، شیوع ناباروری در آمریکا حدود ۱۵-۱۰٪ و در استرالیا حدود ۱۹٪ برآورد شده است (۲). در سال ۲۰۰۹ شیوع ناباروری در زوجین سنین ۲۶-۲۱ سال در ایران ۱۷/۲٪ برآورد شد (۴).

از آنجایی که همه ی عوامل ناباروری در مردان شناسایی نشده است محققان درصدد شناسایی و بررسی همه جانبه ی کلیه ی عوامل عفونی و غیر عفونی آن برآمده اند. در میان عوامل عفونی به نقش وروس ها کمتر توجه شده است. همچنین بسیاری از عوامل ناباروری به دلیل ناشناخته بودن، قابلیت درمان نداشته و تحقیقات لازم برای شناسایی کلیه عوامل دخیل در حال انجام است. در میان عوامل ممکن موثر بر عملکرد دستگاه تناسلی، وروس ها نقش مهمی داشته و گزارش های تحقیقی اخیر در دنیا حاکی از احتمال نقش آنها در ناباروری است که نیازمند مطالعات بیشتر برای اثبات آن می باشد.

۱۵٪ ناباروری های مردان به دلیل عوامل عفونی سیستم تناسلی و ادراری است. پژوهش های انجام شده در خصوص نقش وروس ها در اختلال سیستم تناسلی و در نتیجه ناباروری ضعیف بوده و تاکنون نتیجه ی روشنی در این زمینه به دست نیامده است. از آنجا که ۳۰٪ از عوامل ناباروری ایدیوپاتیک هستند، می توان یکی از این عوامل ناشناخته راه، آلودگی های وروسی در نظر گرفت (۱). تیپ یک وروس هرپس سیمپلکس (HSV)، بیشتر بالاتنه و تیپ دو، بیشتر پایین تنه را درگیر می کند. ولی در حالت های غیر معمول، غیر از این نیز می تواند باشد. هرپس وروس ها باعث عفونت بالایی از جمعیت انسان ها می شوند. عفونت اولیه این وروس ها عمدتاً بدون علائم و ایجاد بیماری بوده و در نواحی از بدن به صورت latent باقی می مانند، که در طول زندگی و در شرایط کاهش ایمنی بدن، بروز برخی بیماری ها و عفونت ها این وروس دوباره فعال شده و ایجاد بیماری می کنند. جداسازی هرپس وروس ها در انواع نمونه های بدن از جمله: خون، ادرار، CSF، چشم و ... گزارش شده است. انواع DNA وروسی از خانواده هرپس ویریده، از جمله هرپس سیمپلکس (HSV) ۱ و ۲ و وروس سیتومگالوویروس (CMV)

## دستور آماده سازی نمونه مایع منی

میزان  $250 \mu\text{l}$  از مایع منی را با  $10 \text{ ml}$  بافر شماره ۱ ( $\text{NaCl } 150 \text{ mM}$ ،  $\text{EDTA } 10 \text{ mM}$ ،  $\text{pH}=8$ )، به لوله cortex مخلوط نموده و برای ۱۰ ثانیه ورتکس شد و سپس برای ۱۰ دقیقه در  $770 \text{ g}$  سانتریفیوژ شد. محلول رویی به دقت حذف شد ( $1 \text{ ml}$  در تیوب باقی ماند). محتویات تیوب برای ۱۰ ثانیه ورتکس شد و محتویات برای ۲ دقیقه با بالاترین سرعت سانتریفیوژ شد. محلول رویی حذف شد و  $300 \mu\text{l}$  از بافر شماره ۲ ( $\text{NaCl } 500 \text{ mM}$ ،  $\text{EDTA } 10 \text{ mM}$ ،  $\text{Tris } 100 \text{ mM}$ ،  $\text{SDS } 1\%$ ،  $\text{Mercaptoethanol } 0.2\%$ ،  $\text{pH}=8$ ) اضافه شد.

## روش PCR

نمونه ها برای مراحل PCR آماده شد. از نمونه ها با استفاده از کیت سنجش DNA بافتی (CA، Valencia، QIAGEN) مطابق با دستور کارخانه، استخراج شد.  $100$  نانوگرم از DNA استخراج شده از هر نمونه ابتدا در  $25 \mu\text{L}$  محلول تکثیری واکنش که حاوی  $50 \text{ mM}$   $\text{MgCl}_2$ ،  $25 \mu\text{M}$  از پرایمر،  $10 \text{ mM}$  از  $\text{dNTP}$ ، بافر  $10 \times \text{PCR}$  و  $5 \text{ U}$   $\text{taq}$  پلیمراز می باشد اضافه شد. جزئیات PCR در جدول ۱ نشان داده شده است. در نهایت محصولات PCR توسط ژل الکتروفورز  $2\%$  یا  $3\%$  آگاروز بسته به اندازه محصولات PCR و در زیر نور UV بررسی شد.

نمونه مایع منی آنها فقط به میزان لازم جهت انجام آزمایش های درمانی آنها بود، از مطالعه خارج شدند.

متغیرهای مورد مطالعه، منطبق بر سؤالات پرسشنامه بود که میزان بروز و میانگین آن ها در مردان نابارور بررسی شد. پروتکل این مطالعه در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تهران به تصویب رسید.

## نمونه ها

نمونه های خون، ادرار و مایع منی تهیه شده تا زمان آزمایش ها در دمای  $-70$  درجه سانتی گراد نگهداری شد.

## دستور آماده سازی نمونه خون

میزان  $10 \text{ ml}$  خون در  $5$  میکروتیوب با حجم  $2 \text{ ml}$  تقسیم شد. تیوب ها برای  $5$  دقیقه با  $2700 \text{ g}$  سانتریفیوژ شدند. محلول رویی حذف شد و همه رسوبات تیوب ها توسط  $40 \mu\text{l}$  PBS جدا شده و محتویات  $5$  میکروتیوب با هم مخلوط شدند.

## روش تغلیظ سازی ادرار

میزان  $10 \text{ ml}$  ادرار در  $5$  میکروتیوب با حجم  $2 \text{ ml}$  تقسیم شد. تیوب ها برای  $10$  دقیقه با  $1100 \text{ g}$  سانتریفیوژ شد. محلول رویی حذف و همه ی تیوب ها با بافر فسفات سالین (PBS) پر شد. تیوب ها دوباره برای  $10$  دقیقه با  $1100 \text{ g}$  سانتریفیوژ شدند. محلول رویی حذف شد و رسوبات توسط  $40 \mu\text{l}$  PBS جدا شده و محتویات  $5$  میکروتیوب با هم مخلوط شد.

جدول ۱: پرایمر و شرایط PCR جهت HSV-1 و HSV-2

| Virus        | Gene                | Sequence                           | PCR conditions       | PCR product |
|--------------|---------------------|------------------------------------|----------------------|-------------|
| HSV-1 and -2 | DNA polymerase UL30 | 5' -CAG TAC GGC GAG TTC GTG A-3'   | 94°C/50s             | 478 bp      |
|              |                     | 5' -TTG TAG TGG GCG TGG TAG ATG-3' | 64°C/40s<br>72°C/50s |             |

## یافته‌ها

میانگین سنی افراد مورد مطالعه  $34/1 \pm 5/7$  سال و میانگین تعداد سال های پس از ازدواج  $3/6 \pm 1/3$  سال بود. بر اساس آزمایش تجزیه اسپرم، بیشترین مشکل ناباروری مردان مربوط به کاهش تحرک اسپرم بود؛ به گونه ای که بیش از  $136$  نفر ( $81\%$ ) از افراد مورد مطالعه دارای تحرک اسپرم کمتر از  $40\%$  بودند. همچنین  $102$  نفر ( $68\%$ ) از افراد، فاقد حداقل اسپرم های طبیعی بودند. از نظر تعداد اسپرم ها نیز  $63$  نفر ( $42\%$ ) کاهش تعداد اسپرم داشتند که از این تعداد،  $27$  نفر ( $46\%$ ) فاقد اسپرم بودند و همچنین تنها در دو نمونه ادرار ( $1/33\%$ )،  $10$  نمونه خون ( $6/66\%$ ) و در  $28$  نمونه مایع منی ( $18/66\%$ ) از  $150$  نمونه نابارور با عامل مردانه، مشاهده شد.

شمارش، تحرک و مورفولوژی اسپرم برای تمامی بیماران توسط یک تکنسین آموزش دیده برای این هدف با استفاده از بررسی میکروسکوپی انجام شد. وجود HSV توسط PCR کمی، مطابق با دستور دانشکده پزشکی دانشگاه تهران بررسی شد.

## تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS (نسخه ۱۷) (Chicago, Illinois, USA) انجام شد و افراد مورد مطالعه از نظر برخی ویژگی های فردی از جمله: سن، سابقه بیماری هرپس تناسلی و تشخیص هرپس سیمپلکس ویروس بوسیله PCR در خون، ادرار و مایع منی این افراد به وسیله آزمون های آماری توصیفی بررسی گردید. میزان P کمتر از  $0/05$  معنی دار در نظر گرفته شد.



جدول ۲: نتایج آنالیز کیفیت اسپرم

| P value | میانگین تحرک اسپرم (%) |      | P value | میانگین شمارش اسپرم (million/mL) |      | تعداد افراد (N%) |             | نمونه از ۱۵۰ مرد نابارور |
|---------|------------------------|------|---------|----------------------------------|------|------------------|-------------|--------------------------|
|         | -HSV                   | +HSV |         | -HSV                             | +HSV | -HSV             | +HSV        |                          |
| P>۰/۰۵  | ۴۲/۲                   | ۳۸/۱ | P<۰/۰۵  | ۳۳/۵                             | ۱۸/۸ | ۱۲۲              | ۲۸ (۱۸/۶۶%) | مایع منی                 |
| P>۰/۰۵  | ۴۲/۹                   | ۴۱/۳ | P>۰/۰۵  | ۳۷/۲                             | ۳۵/۵ | ۱۴۰              | ۱۰ (۶/۶۶%)  | خون                      |
| P>۰/۰۵  | ۴۱/۲                   | ۴۰/۴ | P>۰/۰۵  | ۳۹/۹                             | ۳۱/۳ | ۱۴۸              | ۲ (۱/۳۳%)   | ادرار                    |

## بحث

نمونه های مایع منی مردان نابارور تشخیص داده شد اما هیچ ارتباطی بین وجود DNA ویروس HSV و پارامترهای مایع منی از نظر تعداد و تحرک اسپرم یافت نشد (۲۱). در یک مطالعه برای تعیین شیوع پاتوژن هایی که به طور جنسی منتقل می شوند، از مردان نابارور بدون علائم مشخص، ۳/۷٪ موارد حاوی DNA ویروس HSV بوده و از تمامی پاتوژن های مطالعه شده، عفونت HSV بیشترین اثر را روی کیفیت مایع منی و سطوح مارکرهای غدد ضمیمه/عملکرد اپیدیدیم دارد (۱۲). همچنین در مطالعه ی Garolla و همکاران اثر بالقوه منفی عفونت های ویروسی AAV، HBV، HCV، HIV، HPV، HSV، HCMV و AAV را بر روی باروری مردان اعلام نمودند (۲۲). مطالعه ای که توسط منوری و همکاران در سال ۲۰۱۳ انجام شد بیان نمود که اگرچه عفونت HSV با مورفولوژی و تحرک اسپرم در ارتباط نبود، با کاهش تعداد اسپرم در مایع منی همراه است (۲۳). بنابراین، عفونت HSV در مردان می تواند دلیلی از ناباروری آنها باشد، زیرا با کاهش تعداد اسپرم در ارتباط است. قابل ذکر است که در این مطالعه، ارتباط معنی داری بین کیفیت مایع منی و HSV در خون و ادرار یافت نشد.

## نتیجه گیری

با استفاده از روش هایی دقیق، شیوع بالای HSV-1، 2 در مایع منی مردان نابارور ایدیوپاتیک تشخیص داده شد. اگرچه آلودگی با HSV-1، 2 با ناهنجاری های تحرک و مورفولوژی اسپرم همراه نبود، اما با کاهش تعداد اسپرم در مایع منی همراه بود. به علاوه ارتباط معنی داری در HSV-1، 2 در خون و ادرار مردان نابارور با پارامترهای غیرطبیعی مایع منی یافت نشد. پیشنهاد می شود مطالعات بیشتری در تشخیص زود هنگام و همچنین پیشگیری از آلودگی به این ویروس انجام شود.

## تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرحهای پژوهشی با شماره های ۱۲۹۶۱ و ۱۱۹۷۲ می باشد که با حمایت معاونت محترم پژوهشی دانشگاه

HSV-1 باعث ایجاد زخم های دهانی و گاهی تناسلی می شود، در حالی که HSV-2 شایع ترین علت هرپس تناسلی است. به طور کلی، تماس مستقیم یا غیر مستقیم باعث آلودگی می شود، اما HSV-1 و HSV-2 در مایع منی تشخیص داده شده است (۱۴-۱۷ و ۷)، و HSV-2 از طریق انتقال مایع منی از طریق دهنده منتقل شده است (۱۵).

در سال های اخیر به دلیل مشکلات ناباروری در بین زوجین جوان درمان های کمک باروری افزایش یافته است (۱۷ و ۱۶). ناباروری با علت مردانه در اغلب موارد بدون نشانه بوده و ناشناخته است. این مطالعه برای بررسی شیوع هرپس و ویروس در مایع منی، ادرار و خون مردان نابارور با استفاده از روش Real Time PCR TaqMan که یک روش حساس برای تشخیص عوامل عفونت می باشد، طراحی شد. به علاوه هدف دیگر، مطالعه ی رابطه ی بین حضور DNA ویروس HSV-1، 2 در خون، ادرار و مایع منی مردان نابارور و پارامترهای آنالیز مایع منی بوده است. در مطالعه ی حاضر HSV تنها در دو نمونه ادرار (۱/۳۳٪)، ۱۰ نمونه خون (۶/۶۶٪) و در ۲۸ نمونه مایع منی (۱۸/۶۶٪) از ۱۵۰ نمونه ی نابارور با عامل مردانه، مشاهده شد؛ که مشابه مطالعه ی El Borai و همکاران، با تشخیص DNA ویروس HSV در ۲۴٪ از نمونه های مایع منی مردان نابارور، یک رابطه معنی دار بین HSV در مایع منی و ناباروری مشاهده شد (۱۸). در مطالعه ای دیگر DNA ویروس HSV در ۴۹/۵٪ نمونه های مایع منی مردان نابارور مشخص شد و حضور آن به طور معنی داری با تعداد کم اسپرم و تحرک کم در ارتباط بود (۱۱). با نتایج تقریباً مشابه با نظر El Borai و همکاران، مطالعه Kotronias و همکاران، Levy و همکاران، صالحی و زیری و همکاران با تشخیص DNA ۲۲/۸۶٪ ویروس HSV در مایع منی مردان نابارور و همچنین در چندین مطالعه دیگر، یک رابطه معنی داری بین عفونت HSV و تعداد کم اسپرم در این مطالعه نشان داده شد (۲۰-۱۸ و ۱۴). Neofytou و همکاران گزارش کردند که ۲/۱٪ DNA ویروس HSV در

1. Leruez-Ville M, Galimand J, Ghosn J, Briat A, Delaugerre C & Chaix ML. Male genital tract infection: The point of view of the virologist. *Gynecol Obstet Fertil* 2005; 33(9): 684-90.
2. Dejuqc-Rainsford N & Jegou B. Viruses in semen and male genital tissues—consequences for the reproductive system and therapeutic perspectives. *Curr Pharm Des* 2004; 10(5): 557-75.
3. World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. Available at: [http://mariin.ru/uploads/vrt\\_02.pdf](http://mariin.ru/uploads/vrt_02.pdf). 1999.
4. Keck C, Gerber-Schafer C, Clad A, Wilhelm C & Breckwoldt M. Seminal tract infections: Impact on male fertility and treatment options. *Hum Reprod Update* 1998; 4(6): 891-903.
5. Pallier C, Tebourbi L, Chopineau-Proust S, Schoevaert D, Nordmann P, Testart J, et al. Herpesvirus, cytomegalovirus, human sperm and assisted fertilization. *Human Reproduction* 2002; 17(5): 1281-7.
6. Dejuqc N & Jegou B. Viruses in the mammalian male genital tract and their effects on the reproductive system. *Microbiol Mol Biol Rev* 2001; 65(2): 208-31.
7. Bezold G, Schuster-Grusser A, Lange M, Gall H, Wolff H & Peter RU. Prevalence of human herpesvirus types 1–8 in the semen of infertility patients and correlation with semen parameters. *Fertil Steril* 2001; 76(2): 416-8.
8. Xu F, Sternberg MR, Kottiri BJ, McQuillan GM, Lee FK, Nahmias AJ, et al. Trends in herpes simplex virus type 1 and type 2 sero prevalence in the United States. *JAMA* 2006; 296(8): 964-73.
9. Weinstock H, Berman S & Cates Jr W. Sexually transmitted diseases among American youth: Incidence and prevalence estimates, 2000. *Perspect Sex Repro Health* 2004; 36(1): 6-10.
10. Looker KJ, Margaret AS, Turner KM, Vickerman P, Gottlieb SL & Newman LM. Global estimates of prevalent and incident herpes simplex virus type 2 infections in 2012. *PloS One* 2015; 10(1): 114989.
11. 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(3): 1566-70.
12. Bezold G, Politch JA, Kiviat NB, Kuypers JM, Wolff H & Anderson DJ. Prevalence of sexually transmissible pathogens in semen from asymptomatic male infertility patients with and without leukocytospermia. *Fertil Steril* 2007; 87(5): 1087-97.
13. El Borai N, LeFevre C, Inoue M, Naumova EN, Sato K, Suzuki S, et al. Presence of HSV-1 DNA in semen and menstrual blood. *J Reprod Immunol* 1998; 41(1-2): 137-47.
14. 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.
15. Zaia JA & Lang DJ. Cytomegalovirus infection of the fetus and neonate. *Neurol Clin* 1984; 2(2): 387-410.
16. Griffiths PD, Clark DA & Emery VC. Beta herpesviruses in transplant recipients. *J Antimicrob Chemother* 2000; 45(3): 29-34.
17. Mortimer D. The future of male infertility management and assisted reproduction technology. *Hum Reprod* 2000; 15(5): 98-110.
18. El Borai N, Inoue M, Lefevre C, Naumova EN, Sato B & Yamamura M. 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.
19. Levy R, Najioullah F, Keppi B, Thouvenot D, Bosshard S, Lornage J, et al. Detection of cytomegalovirus in semen from a population of men seeking infertility evaluation. *Fertil Steril* 1997; 68(5): 820-5.
20. Salehi Vaziri M, Monavari SH, Khalili M, Shamsi Shahrabadi M, Keivani H, Molaei H, et al. Detection of HSV-1 DNA in the semen of infertile men and evaluation of its correlation with semen parameters in Iran. *Iranian Journal of Virology* 2010; 4(2): 1-6.



21. Neofytou E, Sourvinos G, Asmarianni M, Spandidos DA & Makriganakis A. 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.
22. Garolla A, Pizzol D, Bertoldo A, Menegazzo M, Barzon L & Foresta C. Sperm viral infection and male infertility: Focus on HBV, HCV, HIV, HPV, HSV, HCMV, and AAV. *Journal of Reproductive Immunology* 2013; 100(1): 20-9.
23. Monavari SH, Vaziri MS, Khalili M, Shamsi-Shahrabadi M, Keyvani H, Mollaei H, et al. Asymptomatic seminal infection of herpes simplex virus: Impact on male infertility. *J Biomed Res* 2013; 27(1): 56-61.

## Detection of Herpes Simplex Virus 1 and 2 in Semen, Blood and Urine of Idiopathic Infertile Men and Its Association with Sperm Count and Motility

Tajedini Marzieh<sup>1</sup> (D.V.M.) - Sadighi Gilani Mohammad Ali<sup>2</sup> (M.D.)  
- Heydari Tahere<sup>3</sup> (B.S.) - Choobineh Kolsoom<sup>4</sup> (M.S.) - Choobineh  
Hamid<sup>5</sup> (Ph.D.)

1 Veterinarian, School of Veterinary Science, Shiraz University, Shiraz, Iran

2 Professor, Urology Department, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3 Master of Sciences Student in Developmental Biology, School of Biological Sciences, Islamic Azad University of Parand, Tehran, Iran

4 Master of Science in Biology, Helal Specialty and Subspecialty Center of Infertility (Rouyesh), Tehran, Iran

5 Assistant Professor, Medical Laboratory Sciences Department, School of Allied Medical Sciences, Zoonosis Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

### Abstract

Received: Jul 2016

Accepted: Nov 2016

**Background and Aim:** Infertility is a major problem of modern medicine as it affects almost 20% of reproductive-aged couples. The cause of this problem is attributed to the male partner in nearly 40%-50% of these cases. The role of herpes simplex virus (HSV) in male infertility has been investigated using the sensitive methods. The aim of this study was to determine the prevalence of HSV-1, 2 DNA in the semen, blood and urine of idiopathic infertile men and its association with altered semen parameters.

**Materials and Methods:** A total of 150 semen, blood and urine samples from infertile men were collected in the Shariati hospital, Tehran (2012-2014). Sample analysis and diagnostic PCR using specific primers was performed for detection of HSV-1, 2 DNA in the specimens.

**Results:** Analysis showed six groups of infertile men, including HSV-1, 2 positive and negative groups in semen, blood and urine samples. HSV-1, 2 DNA was detected in 38 (18.66%) semens, (6.66%) 10 in blood and 2 (1.33%) in urine. Only HSV-1, 2 positive samples of semen had abnormal semen parameters.

**Conclusion:** Using a powerful molecular method, we detected a high prevalence of HSV-1, 2 DNA in the semen of asymptomatic infertile patients. Although HSV-1, 2 infections were not associated with motility and morphology defects of the sperms, it was related with decreased sperm count in the semen fluid. In addition there was not a significant role for detection of HSV-1, 2 DNA in blood and urine samples of infertile men and abnormal semen parameters.

**Keywords:** Male Infertility, Herpes Simplex Virus 1 and 2, Semen, Blood, Urine, Semen Parameters

\* Corresponding Author:

Choobineh H;

Email:

hchoobineh@tums.ac.ir