

А.Г. Абдулмеджидова¹, К.В. Рог², Л.Э. Завалишина³, А.А. Куш²

Интрафолликулярное инфицирование вирусом простого герпеса ооцитов млекопитающих и человека

¹Клиника ОАО «Медицина», 125047, Москва; ²ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» Минздрава России, 123098, Москва; ³ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена», Минздрава России, 125284, Москва

Цель работы заключалась в изучении инфицирования яичника вирусом простого герпеса (ВПГ) при интравагинальном заражении экспериментальных животных. В результате проведенного исследования установлено, что восходящая герпесвирусная инфекция у мышей приводит к поражению всех клеток яичника, включая фолликулярные клетки, синтезирующие эстрогены и прогестерон. Оба гормона влияют на развитие заболевания. Эстрогены обладают протективными свойствами в отношении ВПГ. Прогестерон не влияет на чувствительность организма к ВПГ, однако снижает эффективность противовирусного иммунитета, приводя к увеличению летальности животных.

В работе методом иммуноцитохимии показано инфицирование ооцитов в овариальных фолликулах самок мышей при заражении ВПГ в лабораторных условиях. Впервые продемонстрировано обнаружение вирусных антигенов в зрелых ооцитах у пациентки с бесплодием. При проведении интрацитоплазматической инъекции сперматозоида в ооцит наблюдали отсутствие оплодотворения всех инфицированных женских половых клеток. Полученные результаты представляют интерес, так как в литературе отсутствуют данные о том, что ВПГ поражает ооциты и может оказывать прямое негативное воздействие на процесс оплодотворения у человека.

Ключевые слова: вирус простого герпеса; ооциты; нарушение оплодотворения; ЭКО; ИКСИ; бесплодие

Intrafollicular infection of mammals and human oocytes by the herpes simplex virus

A. G. Abdulmedzhidova¹, K. V. Rog², L. Je. Zavalishina³, A. A. Kushch²

¹JSC Medicina, Moscow, Russia; ²D.I. Ivanovsky Institute of Virology, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia; ³Herzen Institute of Oncology, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

The goal of this work was to study the capacity of the herpes simplex virus (HSV) of infecting ovary with disease in case of the intravaginal experimental animals. The results of the study demonstrated that the ascending HSV infection in mice lead to modification of all the cells of the ovary, including follicular cells synthesizing estrogen and progesterone. The two hormones influence the development of the disease. Estrogens provide the protective effects against the virus. Progesterone does not modify the body sensitivity to HSV, but reduces the effectiveness of the antiviral immunity, resulting in increased mortality of animals.

We demonstrated that infection of oocytes in ovarian follicles of female mice during infection with HSV modified the process in vitro and for the first time demonstrated the detection of viral antigens in mature oocytes in patient with infertility. During the intracytoplasmic sperm injection into the infected oocytes (ICSI), the failure of fertilization was observed. These results are of interest, because there is no available literature on whether HSV infection of oocytes can have a direct negative impact on the process of fertilization in humans.

Key words: herpes simplex virus; oocyte; failure of fertilization; IVF; ICSI; infertility

Установлено, что детекция вируса простого герпеса (ВПГ) выше у пациенток с бесплодием, чем у фертильных женщин [1]. Предложены различные патогенетические механизмы возникновения инфертильного состояния в результате ВПГ-инфицирования женской репродуктивной системы. Например, показана роль ВПГ в формировании цервикального фактора бесплодия [2, 3]. Продемонстрирована гибель эмбриона вследствие вирусной контаминации при контакте с инфицированными клетками эндометрия [4, 5]. Определено, что нарушение имплантации эмбриона может являться следствием усиления цитотоксического звена иммунитета под влиянием ВПГ [1].

При генитальном инфицировании ВПГ, выделение вируса наблюдают во всех органах репродуктивной системы, иннервируемых пудендалным нервом [6]. Особый интерес вызывает инфицирование яичника. ДНК ВПГ обнаруживают в яичнике [3, 6], однако возможность детекции ВПГ в фолликулярных клетках и тека-клетках, несущих функцию стероидогенеза, и влияние овариальных гормонов на течение ВПГ-инфекции изучены недостаточно хорошо. И практически ничего неизвестно о способности ВПГ поражать женские половые клетки.

Цель настоящей работы состояла в оценке возможности инфицирования ооцитов ВПГ при его обнаружении в яичнике, а также в изучении влияния половых гормонов (эстроген и прогестерон) на развитие герпесвирусной инфекции. Для этого исследовали неоплодотворившиеся ооциты, полученные в программах лечения бесплодия методом экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), и проводили экспериментальное заражение ВПГ самок лабораторных мышей.

Материалы и методы

Экспериментальные животные. Для изучения чувствительности клеток яичника к ВПГ использовали половозрелых самок мышей линии DBA/2J (H-2d) массой 16–18 г, которых содержали в виварии ФГБУ «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» Минздрава России. Эксперименты с животными проводили в соответствии с правилами, утвержденными этическим комитетом «НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского» Минздрава России.

Введение женских половых гормонов мышам. С целью исследования роли гормонов в развитии инфекционного процесса у экспериментальных животных мышей разде-

Контактная информация:

Абдулмеджидова Анисат Газиевна, канд. мед. наук; e-mail: anisat2011@gmail.com

лили на три группы. В 1-й группе ($n=6$) животным подкожно (п/к) вводили 100 мкл масляного раствора синестрола в дозе 1,5 мкг на мышшь ежедневно в течение 3 дней до инфицирования ВПГ. Животные 2-й группы ($n=6$) в том же режиме получали 100 мкл масляного раствора прогестерона п/к в дозе 0,5 мг на мышшь. В контрольную – 3-ю – группу ($n=6$) вошли самки DBA/2J, которым п/к вводили по 100 мкл стерильного фосфатно-буферного раствора (phosphate buffered saline – PBS), pH 7,4. В работе у экспериментальных животных не проводили предварительную овариэктомию, однако концентрация вводимых гормонов была несопоставимо выше максимального уровня эстрогенов и прогестерона у самок мышшь ($40 \cdot 10^{-5}$ и до $100 \cdot 10^{-4}$ мкг/мл соответственно) [7].

Инфицирование мышшь ВПГ проводили, используя референс-штамм F1 ВПГ 1-го типа, любезно предоставленный проф. Л. Перейра (США). Концентрация ВПГ соответствовала инфекционной множественности 10^6 бляшкообразующих единиц (БОЕ) в 1 мл. ВПГ вводили интравагинально в объеме 30 мкл.

Исследованный материал от зараженных мышшь. Через 10 дней после инфицирования у мышшь брали кровь

на исследование уровня антител к белкам ВПГ и ткань яичника. Из ткани яичника готовили криостатные срезы толщиной 3–4 мкм на криотоме «Micron HM 525» (Германия).

Материал и методы. Для исследования были получены ооциты 20 пациенток, обратившихся в клинику ОАО «Медицина» по поводу лечения бесплодия методом ЭКО или ИКСИ (интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида в ооцит). Средний возраст женщин $34 \pm 4,1$ года (от 29 до 40 лет). Критериями исключения из выборки стали уровень ФСГ более 10 МЕ/л в крови пациенток на 2–3-и сутки менструального цикла и тяжелая степень патозооспермии у партнера. Исследованию методом иммуноцитохимии подвергали ооциты, которые не оплодотворились в программах ЭКО/ИКСИ. Неоплодотворившиеся ооциты пациенток помещали на предметные стекла Menzel Polysine (Германия) и высушивали на воздухе. Антигены ВПГ в ооцитах выявляли с использованием пероксидазного метода окрашивания.

Непрямой иммунопероксидазный метод иммуногистохимии. Криостатные срезы яичника и ооциты пациенток фиксировали смесью ацетонхлороформ в

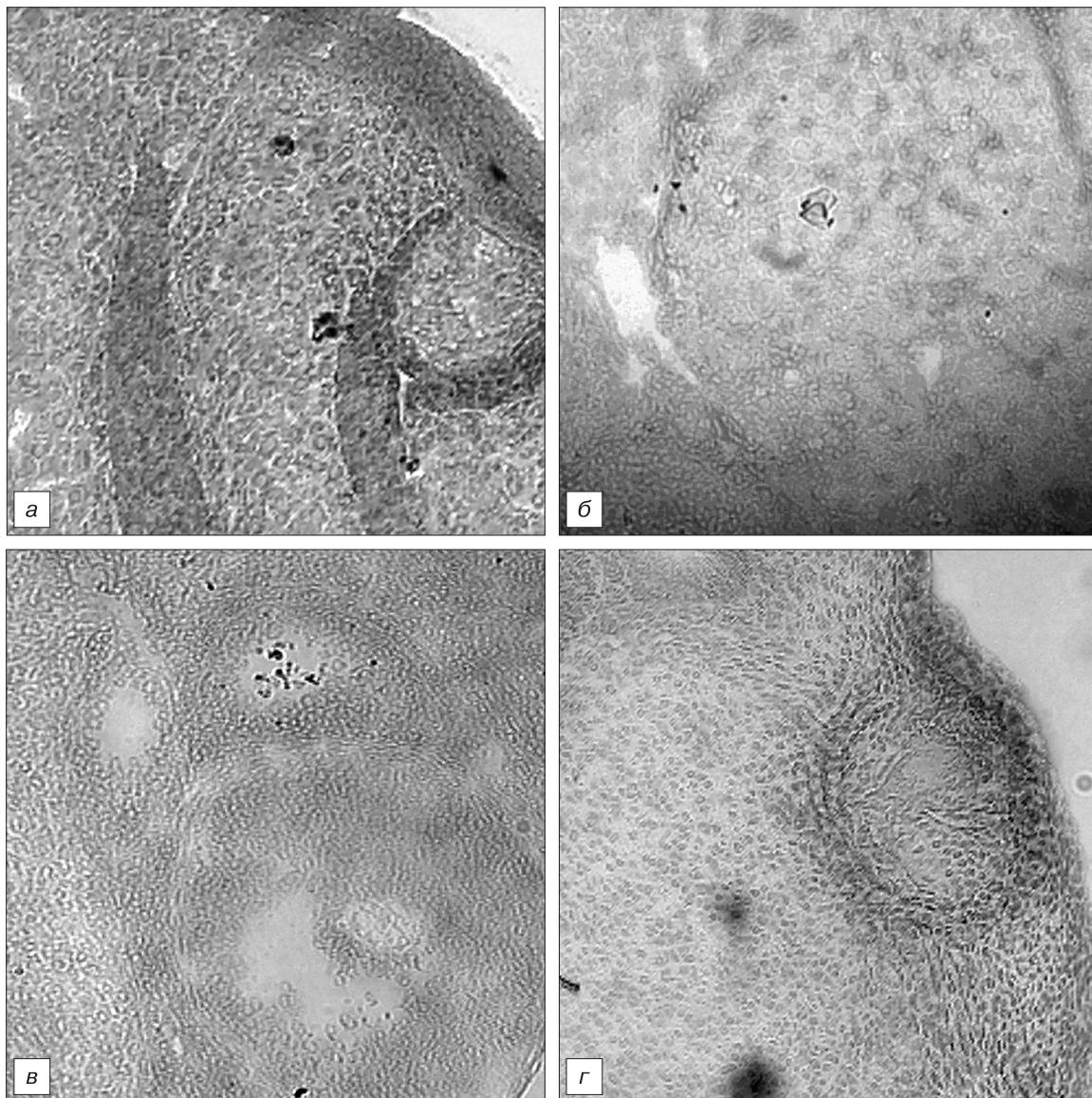


Рис. 1. Патологический препарат яичника мышшь линии DBA/2J, инфицированных интравагинально ВПГ на фоне прогестерона (а), PBS (б) и синестрола (в), а также отрицательный контроль (г) – препарат яичника неинфицированной самки DBA/2J.

Пероксидазный метод окрашивания с использованием МКА к белкам ВПГ. Ядра окрашены гематоксилином Карачи. Ув.: ок. 10, об. 60.

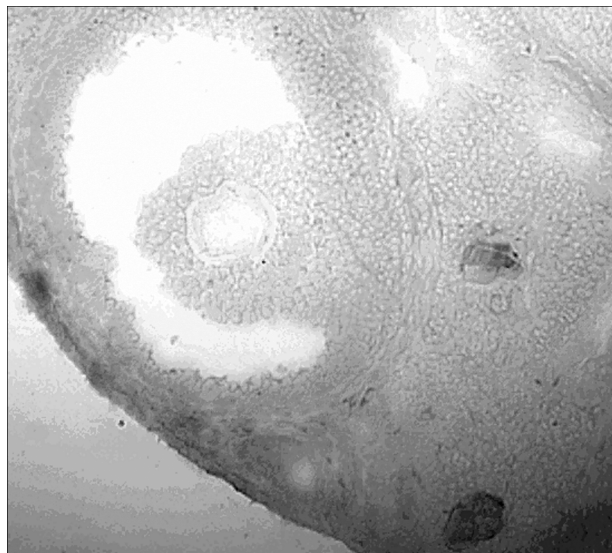


Рис. 2. Гистологический препарат яичника DBA/2J, инфицированный интравагинально ВПГ на фоне прогестерона. Видны два интенсивно окрашенных ооцита, окруженных однослойным цилиндрическим эпителием (примордиальные фолликулы), а также окрашенные стромальные клетки яичника.

Пероксидазный метод окрашивания с использованием МКА к белкам ВПГ. Ядра окрашены гематоксилином Карачи. Ув.: ок. 10, об. 60.

соотношении 1:1 в течение 10 мин. Блокировку внутриклеточной пероксидазы в клетках яичника проводили при комнатной температуре 0,6% H_2O_2 на метаноле в течение 10 мин, в ооцитах – в течение 1 мин. После каждой инкубации препараты промывали PBS. Моноклональные антитела (МКА) к ВПГ [1] использовали в концентрации 50 мкг/мл на PBS с 1% бычьим сывороточным альбумином (БСА). Конъюгированные кроличьи антимышьи антитела фирмы «Сорбент» (Россия) разводили 1:100 в PBS с 1% БСА. С каждым реагентом образцы исследуемого материала инкубировали 1 ч при 37°C. Реакцию проявляли раствором субстрата (0,05 М трис-НСl, pH 7,4; 0,03% H_2O_2 ; 0,1% 3,3'-диаминобензидин (ДАБ)). Криостатные срезы докрасивали гематоксилином Карачи.

Иммуноферментный анализ (ИФА). Для изучения уровня антител к белкам ВПГ класса IgG (анти-ВПГ) в сыворотке крови инфицированных животных использовали сертифицированные коммерческие наборы для ИФА фирмы «Диагностические системы» (Россия). В качестве вторых антител использовали конъюгированные кроличьи антимышьи антитела фирмы «Сорбент» (Россия) в разведении 1:500. Результаты ИФА по выявлению антител считали положительными, если оптическая плотность (ОП) в образце превышала критическую ОП, рассчитываемую по формуле:

$ОП_{крит} = \text{среднее значение ОП отрицательных контролей} + 2\sigma$ (среднее квадратическое отклонение от среднего арифметического значения).

Результаты

Оценивали выраженность клинических проявлений инфекции, данные серологического исследования и результаты иммуногистохимического изучения яичника на фоне высокого содержания синестрола (1-я группа), прогестерона (2-я группа) и при естественном уровне половых гормонов, на который не оказывает влияние введение PBS (3-я группа). Итоги ВПГ-инфицирования животных трех экспериментальных групп представлены в таблице.

Из таблицы видно, что у животных 1-й группы не выявили признаков инфекции, тогда как у подавляющего большинства мышей 2-й группы отметили активную инфекцию, которая у половины из них привела к летальному исходу. Среди животных 3-й группы клинические проявления наблюдали у 50% экспериментальных животных с последующим летальным исходом у 1 самки.

По данным ИФА антитела к белкам ВПГ не обнаружили у животных 1-й группы, но выявили у всех самок DBA/2J двух других групп. Среднее значение ОП IgG анти-ВПГ в сыворотках крови животных 2-й группы составило $0,39 \pm 0,15$, 3-й группы – $0,32 \pm 0,02$ ($ОП_{крит} = 0,016$). Полученные данные свидетельствуют об отсутствии иммунного ответа на ВПГ-инфекцию у животных 1-й группы в отличие от мышей 2-й и 3-й групп.

Результаты клинических наблюдений и серологического исследования были подтверждены данными иммуногистохимии. Так, при изучении криостатных срезов яичника животных на 10-е сутки после инфицирования ВПГ обнаружили вирусные антигены в гонадах всех животных 2-й и 3-й групп (рис. 1, а, б) и ни в одном случае в яичнике самок мышей 1-й группы (рис. 1, в). Как видно из рис. 1, а–в, поражение ВПГ клеток яичника имеет диффузный характер. Антигены ВПГ выявляли в цитоплазме клеток мозгового и коркового слоев яичника (см. рис. 1, а). Белки ВПГ обнаруживали в том числе в клетках фолликулов (рис. 2). Доля инфицированных клеток в яичниках изученных животных варьировала от 21% (42 клетки из 200 изученных в препарате) до 53% (106/200) на препарат, составив в среднем 33,1% (66/200). Особый интерес представляют данные, свидетельствующие об инфицированности ооцитов примордиальных фолликулов (см. рис. 2). На рис. 2 визуализируются два примордиальных фолликула в корковой зоне яичника, содержащих крупные окрашенные ооциты (коричневая окраска).

Представляют интерес результаты исследования ооцитов у пациенток с бесплодием. У 20 пациенток было получено 156 ооцита ($7,8 \pm 2,4$ ооцита на пациентку), из которых в результате проведения ЭКО/ИКСИ сформировались 130 (83,3%) зигот. Оставшиеся 26 ооцитов ($1,3 \pm 0,3$ ооцита на пациентку) подвергали иммуногистохимическому окрашиванию с использованием МКА к белкам ВПГ. В целом в результате лечения бесплодия методом ЭКО беременность наступила у 6 (30%) пациенток из 20. Тотальное отсутствие оплодотворения после процедуры ИКСИ наблюдали у 1 из 20 пациенток. Результаты иммуногистохимического исследования показали, что все четыре неоплодотворившихся ооцита пациентки содержали антигены ВПГ (рис. 3), клетки других пациенток инфицированы не были.

Обсуждение

Результаты сравнительного анализа клинических и лабораторных данных развития ВПГ-инфекции у самок мышей DBA/2J

Критерий оценки инфекционного процесса	Группа животных		
	1-я (синестрол) (n = 6)	2-я (прогестерон) (n = 6)	3-я (PBS) (n = 6)
Наличие герпетических высыпаний	0/6	5/6	3/6
Летальный исход	0/6	3/6	1/6
Наличие IgG-антител к белкам ВПГ в сыворотке крови	0/6	6/6	6/6
Обнаружение антигенов ВПГ в яичнике	0/6	6/6	6/6

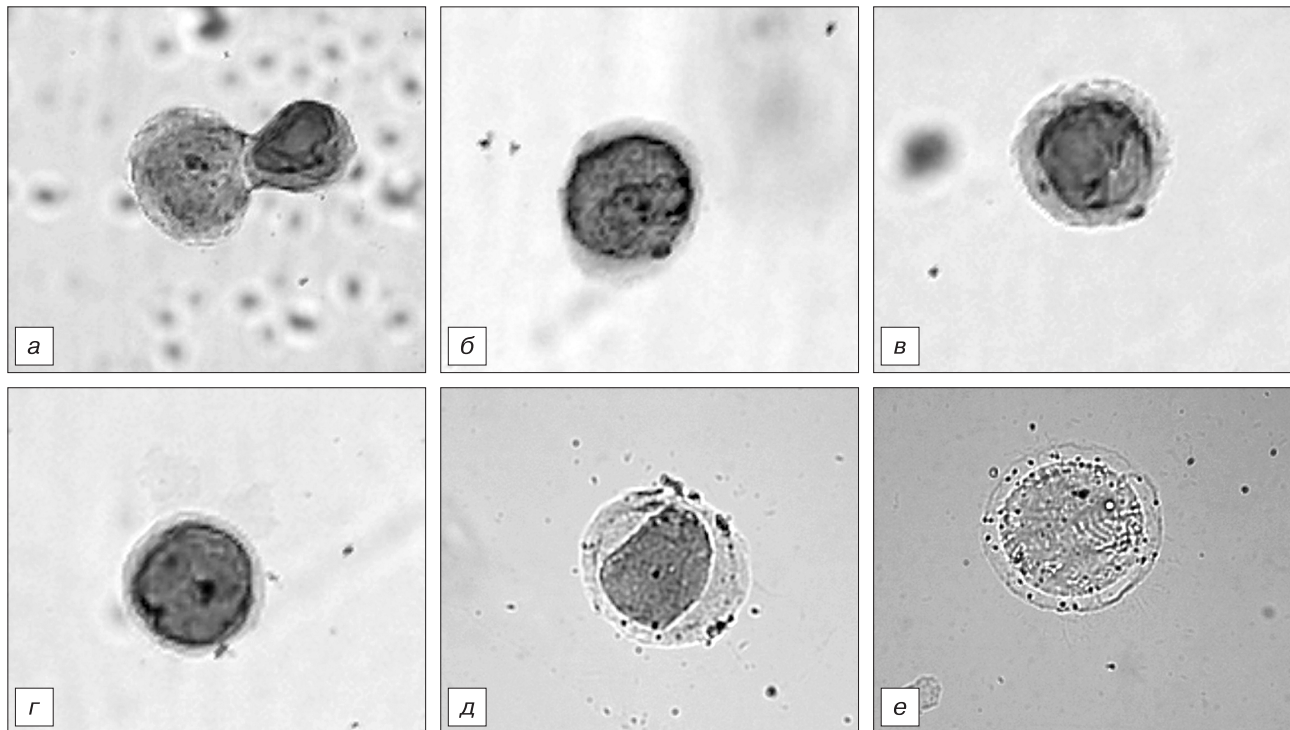


Рис. 3. Зрелые ооциты человека, инфицированные ВПГ. *a–г* – ооциты пациентки Н., 35 лет.

a – клетка с нарушенной морфологией; *д* – положительный контроль, ооцит окрашен антителами человека к актину; *е* – отрицательный контроль, неокрашенный ооцит. Пероксидазный метод иммуноцитохимии. Ув. 100.

Результаты проведенной работы свидетельствуют о высокой чувствительности клеток яичника мышей к ВПГ. В представленном исследовании установлено, что поражение яичника возможно при восходящей герпесвирусной инфекции и выраженность клиники заболевания зависит от уровня овариальных гормонов. При введении синестрола до интравагинальной инокуляции вируса наблюдали отсутствие клиники и иммуногистохимических признаков поражения яичника. У этой группы мышей не были выявлены также сывороточные IgG-антитела, что указывает на отсутствие гуморального иммунного ответа на ВПГ-инфекцию. Суммируя полученные данные, можно заключить, что эстрогены обладают протективными свойствами в отношении первичного инфицирования генитальным герпесом. Возможным объяснением полученного результата является изменение рецепторов на поверхности эпителиальных клеток влагалища самок под влиянием эстрогенов, препятствующее проникновению ВПГ. Представленные данные согласуются с результатами других исследователей [9, 10].

При сравнительном анализе результатов серологического и иммуногистохимического исследований у самок DBA/2J, предварительно обработанных прогестероном и PBS, существенных различий не выявили. В этих группах у всех самок обнаруживали сопоставимый уровень IgG-антител и установили инфицирование яичника. Эти данные указывают на то, что прогестерон не оказывает существенного влияния на проникновение ВПГ в клетки. В то же время выраженная клиника заболевания и увеличение количества случаев летального исхода свидетельствуют о том, что на фоне высокой концентрации прогестерона противовирусный иммунный ответ недостаточно эффективен.

В данной работе впервые показано инфицирование ооцитов млекопитающих и человека. Возможный путь

проникновения ВПГ в ооцит – через отростки ВПГ-содержащих фолликулярных клеток, пронизывающих плазматическую мембрану ооцита. Об этом свидетельствует детекция антигенов ВПГ в ооцитах примордиальных фолликулов мышей. Вызывает несомненный интерес тот факт, что ВПГ обнаружен в зрелых ооцитах у пациентки с бесплодием. Ооциты были получены с применением гормональной индукции суперовуляции, когда уровень эстрадиола в организме женщины многократно превышает его значение при естественном менструальном цикле. Однако все полученные клетки были инфицированы. Эти данные указывают на то, что эстрогены препятствуют интравагинальному заражению ВПГ *de novo*, но не защищают от реактивации латентно протекающей инфекции. Этот вывод подтверждается результатами работы R. Vicetti Miguel и соавт., посвященной исследованию эстрадиолзависимого механизма реактивации латентной герпесвирусной инфекции [11].

В работе установлено отсутствие оплодотворения инфицированных ооцитов. Следует отметить, что ооциты не оплодотворились после процедуры ИКСИ, что является крайне редким событием и сопряжено с такими формами патозооспермии, как глобозооспермия и отсутствие centrosомы у сперматозоида [12, 13]. Однако в данном случае не были установлены нарушения в спермограмме супруга пациентки и проведение ИКСИ было обусловлено ограниченным количеством полученных ооцитов. В то же время показано, что ВПГ оказывает повреждающее воздействие на геном инфицированной клетки, снижает ее синтетическую активность и негативно влияет на функцию микрофиламентов [14–16]. Возможно, провал оплодотворения в экстракорпоральных условиях был обусловлен указанными эффектами ВПГ. Результаты последующих исследований позволят подтвердить либо опровергнуть это предположение.

Суммируя полученные данные, можно заключить, что при восходящей ВПГ-инфекции происходит инфициро-

вание яичника с интрафолликулярной передачей ВПГ ооцитам, следствием чего может стать нарушение их оплодотворения. Эстрогены препятствуют интравагинальному заражению ВПГ, тогда как прогестерон повышает чувствительность организма к ВПГ.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Медведев Б.И., Теплова С.Н., Зайнетдинова Л.Ф.* Диагностика генитальной герпесвирусной инфекции у женщин с трубно-перитонеальным бесплодием. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2009; 2: 80–5.
2. *Eggert-Kruse W., Mildenerger-Sandbrink B., Schnitzler P.* et al. Herpes simplex virus infection of the uterine cervix—relationship with a cervical factor. *Fertil. Steril.* 2000; 73: 248–57.
3. *McIver C.J., Rismanto N., Smith C.* et al. Multiplex PCR testing detection of higher-than-expected rates of cervical mycoplasma, ureaplasma, and trichomonas and viral agent infections in sexually active Australian women. *J. Clin. Microbiol.* 2009; 47 (5): 1358–63.
4. *Cherpes T.L., Wiesenfeld H.C., Melan M.A.* et al. The associations between pelvic inflammatory disease, *Trichomonas vaginalis* infection, and positive herpes simplex virus type 2 serology. *Sex. Transm. Dis.* 2006; 33 (12): 747–52.
5. *Giraldo-Isaza M.A., Jaspán D., Cohen A.W.* Postpartum endometritis caused by herpes and cytomegaloviruses. *Obstet Gynecol.* 2011; 117 (2): 466–7.
6. *Tata S., Johnston C., Huang M.L.* et al. Overlapping reactivations of herpes simplex virus type 2 in the genital and perianal mucosa. *J. Infect. Dis.* 2010; 201 (4): 499–504.
7. *Ng S.P., Steinetz B.G., Lasano S.G., Zelikoff J.T.* Hormonal changes accompanying cigarette smoke-induced preterm births in a mouse model. *Exp. Biol. Med.* (Maywood). 2006; 231 (8): 1403–9.
8. *Климова П.П., Масалова О.В., Атанадзе Ф.Н., Куц А.А.* Получение и свойства моноклональных антител к вирусу простого герпеса 1-го и 2-го типов. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 1999; 5: 99–103.
9. *Bhavanam S., Snider D.P., Kaushic C.* Intranasal and subcutaneous immunization under the effect of estradiol leads to better protection against genital HSV-2 challenge compared to progesterone. *Vaccine.* 2008; 26 (48): 6165–72.
10. *Gillgrass A., Chege D., Bhavanam S., Kaushic C.* Estradiol limits viral replication following intravaginal immunization leading to diminished mucosal IgG response and non-sterile protection against genital herpes challenge. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2010; 63 (4): 299–309.
11. *Vicetti Miguel R.D., Sheridan B.S., Harvey S.A.* et al. 17-beta estradiol promotion of herpes simplex virus type 1 reactivation is estrogen receptor dependent. *J. Virol.* 2010; 84 (1): 565–72.
12. *Francavilla S., Cordeschi G., Pelliccione F.* et al. Isolated teratozoospermia: a cause of male sterility in the era of ICSI. *Front. Biosci.* 2007; 12: 69–88.
13. *Sermondade N., Hafhouf E., Dupont C.* et al. Successful childbirth after intracytoplasmic morphologically selected sperm injection without assisted oocyte activation in a patient with globozoospermia. *Hum. Reprod.* 2011; 26 (11): 2944–9.
14. *Chaurushiya M.S., Lilley C.E., Aslanian A.* et al. Viral E3 ubiquitin ligase-mediated degradation of a cellular E3: viral mimicry of a cellular phosphorylation mark targets the RNF8 FHA domain. *Mol. Cell.* 2012; 46 (1): 79–90.
15. *Liu M., Schmidt E.E., Halford W.P.* ICP0 Dismantles Microtubule Networks in Herpes Simplex Virus-Infected Cells. *PLoS One.* 2010; 5 (6): e10975.
16. *Lutsenko M.T., Andrievskaya I.A.* Morphofunctional characteristics of fetoplacental barrier of placental villi during pregnancy compli-

cated by herpes-virus infection. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2010; 149 (4): 537–9.

REFERENCES

1. *Medvedev B.I., Teplova S.N., Zainetdinova L.F.* Diagnostics of genital herpesvirus infection in women with tubal-peritoneal infertility. *Zhurn. mikrobiol., epidemiol. i immunol.* 2009; 2: 80–5 (in Russian).
2. *Eggert-Kruse W., Mildenerger-Sandbrink B., Schnitzler P.* et al. Herpes simplex virus infection of the uterine cervix—relationship with a cervical factor. *Fertil. Steril.* 2000; 73: 248–57.
3. *McIver C.J., Rismanto N., Smith C.* et al. Multiplex PCR testing detection of higher-than-expected rates of cervical mycoplasma, ureaplasma, and trichomonas and viral agent infections in sexually active Australian women. *J. Clin. Microbiol.* 2009; 47 (5): 1358–63.
4. *Cherpes T.L., Wiesenfeld H.C., Melan M.A.* et al. The associations between pelvic inflammatory disease, *Trichomonas vaginalis* infection, and positive herpes simplex virus type 2 serology. *Sex. Transm. Dis.* 2006; 33 (12): 747–52.
5. *Giraldo-Isaza M.A., Jaspán D., Cohen A.W.* Postpartum endometritis caused by herpes and cytomegaloviruses. *Obstet Gynecol.* 2011; 117 (2): 466–7.
6. *Tata S., Johnston C., Huang M.L.* et al. Overlapping reactivations of herpes simplex virus type 2 in the genital and perianal mucosa. *J. Infect. Dis.* 2010; 201 (4): 499–504.
7. *Ng S.P., Steinetz B.G., Lasano S.G., Zelikoff J.T.* Hormonal changes accompanying cigarette smoke-induced preterm births in a mouse model. *Exp. Biol. Med.* (Maywood). 2006; 231 (8): 1403–9.
8. *Klimova P.P., Masalova O.V., Atanadze F.N., Kushch A.A.* Monoclonal antibodies in the diagnosis of infections caused by the herpes simplex virus. *Zhurn. mikrobiol., epidemiol. i immunol.* 1999; 5: 99–103 (in Russian).
9. *Bhavanam S., Snider D.P., Kaushic C.* Intranasal and subcutaneous immunization under the effect of estradiol leads to better protection against genital HSV-2 challenge compared to progesterone. *Vaccine.* 2008; 26 (48): 6165–72.
10. *Gillgrass A., Chege D., Bhavanam S., Kaushic C.* Estradiol limits viral replication following intravaginal immunization leading to diminished mucosal IgG response and non-sterile protection against genital herpes challenge. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2010; 63 (4): 299–309.
11. *Vicetti Miguel R.D., Sheridan B.S., Harvey S.A.* et al. 17-beta estradiol promotion of herpes simplex virus type 1 reactivation is estrogen receptor dependent. *J. Virol.* 2010; 84 (1): 565–72.
12. *Francavilla S., Cordeschi G., Pelliccione F.* et al. Isolated teratozoospermia: a cause of male sterility in the era of ICSI. *Front. Biosci.* 2007; 12: 69–88.
13. *Sermondade N., Hafhouf E., Dupont C.* et al. Successful childbirth after intracytoplasmic morphologically selected sperm injection without assisted oocyte activation in a patient with globozoospermia. *Hum. Reprod.* 2011; 26 (11): 2944–9.
14. *Chaurushiya M.S., Lilley C.E., Aslanian A.* et al. Viral E3 ubiquitin ligase-mediated degradation of a cellular E3: viral mimicry of a cellular phosphorylation mark targets the RNF8 FHA domain. *Mol. Cell.* 2012; 46 (1): 79–90.
15. *Liu M., Schmidt E.E., Halford W.P.* ICP0 Dismantles Microtubule Networks in Herpes Simplex Virus-Infected Cells. *PLoS One.* 2010; 5 (6): e10975.
16. *Lutsenko M.T., Andrievskaya I.A.* Morphofunctional characteristics of fetoplacental barrier of placental villi during pregnancy complicated by herpes-virus infection. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2010; 149 (4): 537–9.

Поступила 27.11.12