Qom University of Medical Sciences Journal

May 2021. Volume 15. Number 3

Research Paper

Correlation of Sperm Parameters With Sperm DNA Damage or Sperm Nucleus Chromatin Status in Oligospermic Individuals Referred to Qom Jihad Daneshgahi Infertility Treatment Center in 2017 (Iran)

Atefeh Verdi[1,2], Mohammad Hossein Nasr-Esfahani[3,4], *Mohsen Forozanfar[5], Marziyeh Tavalaee[4]

1. Department of Biology, Fars Science and Research Branch, Islamic Azad University, Fars, Iran.
2. Department of Biology, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran.
3. Isfahan Fertility and Infertility Center, Isfahan, Iran.
4. Department of Reproductive Biotechnology, Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Biotechnology, ACECR, Isfahan, Iran.
5. Department of Biology, Marvdasht Branch, Islamic Azad University, Marvdasht, Iran.

Use your device to scan and read the article online

Citation Verdi A, Nasr-Esfahani MH, Forozanfar M, Tavalaee M. Correlation of Sperm Parameters With Sperm DNA Damage or Sperm Nucleus Chromatin Status in Oligospermic Individuals Referred to Qom Jihad Daneshgahi Infertility Treatment Center in 2017 (Iran). Qom University of Medical Sciences Journal. 2021; 15(3):222-229. https://doi.org/10.52547/qums.15.3.222

https://doi.org/10.52547/qums.15.3.222

CC BY NC

Received: 21 Feb 2021
Accepted: 14 Apr 2021
Available Online: 01 Jun 2021

Keywords:
Oligospermia, DNA fragmentation, Sperm nucleus histone chromatin density, Sperm protamine deficiency, Follicle stimulating hormone

ABSTRACT

Background and Objectives Although proper morphology and motility of sperm can be one of the most important factors influencing male fertility, however, these parameters cannot play a decisive role in the health of sperm DNA. As a result, in addition to reducing the quality of sperm parameters in oligospermia individuals, sperm DNA damage or chromatin abnormalities of the sperm nucleus may also play a role in infertility. In this study, the relationship between sperm parameters and sperm DNA damage, and chromatin disorders of the sperm nucleus in oligospermia individuals was investigated.

Methods This descriptive correlation study was performed on semen samples taken from 40 men with oligozoospermia. Thus, sperm parameters were evaluated. The fragmentation of sperm DNA, histone residue percentage, and sperm protamine deficiency were examined by SCD, aniline blue staining, and chromamycin A3 evaluation, respectively. FSH was assessed through blood samples from patients. Pearson correlation was used for correlation between the parameters. The significance level was considered $P<0.05$.

Results In this study, there was a significant correlation between DNA fragmentation and FSH level. Also, chromatin deficiency disorders and DNA fragmentation showed a significant correlation. In addition, there was a significant correlation between excess histone and DNA fragmentation.

Conclusion In oligospermia, DNA fragmentation is associated with sperm chromatin abnormalities and damage to their sperm DNA, and is a possible cause of infertility.

Corresponding Author:
Mohsen Forozanfar
Address: Department of Biology, Marvdasht Branch, Islamic Azad University, Marvdasht, Iran.
E-Mail: mforozanfar@yahoo.com

مقاله پژوهشی

بررسی همبستگی پارامترهای اسپرمی با آسیب DNA اسپرم و وضعیت کروماتین هسته اسپرم در افراد الیگو اسپرمی مراجعه‌کننده به مرکز ناباروری جهاد دانشگاهی قم در سال ۱۳۹۶

عاطفه وردی[۱،۲]، محمد حسین نصر اصفهانی[۳،۴]، *محسن فروزان‌فر[۵]، مرضیه تولائی[۴]

۱.گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات فارس، دانشگاه آزاد اسلامی، فارس، ایران.
۲. گروه زیست شناسی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران.
۳. مرکز باروری و ناباروری اصفهان، اصفهان، ایران.
۴. گروه بیوتکنولوژی تولیدمثلی، مرکز تحقیقات زیست پزشکی تولیدمثل، مؤسسه بیوتکنولوژی رویان، جهاد دانشگاهی، اصفهان، ایران.
۵. گروه زیست شناسی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران.

تاریخ دریافت: ۰۳ اسفند ۱۳۹۹
تاریخ پذیرش: ۲۵ فروردین ۱۴۰۰
تاریخ انتشار: ۱۱ خرداد ۱۴۰۰

چکیده

زمینه و هدف اگرچه مورفولوژی و تحرک مناسب اسپرم می‌تواند یکی از مهم‌ترین فاکتورهای تأثیرگذار در باروری مردان باشد، با این حال، این پارامترها نمی‌توانند نقش تعیین‌کننده‌ای را در سلامت DNA اسپرم ایفا کنند. درنتیجه، علاوه بر کاهش کیفیت پارامترهای اسپرمی در افراد الیگواسپرمی، احتمال دارد آسیب DNA اسپرم و یا اختلالات کروماتین هسته اسپرم نیز در ناباروری این افراد نقش داشته باشد. در این مطالعه، به بررسی ارتباط پارامترهای اسپرمی با آسیب DNA اسپرم و اختلالات کروماتین هسته اسپرم در افراد الیگو اسپرمی پرداخته شد.

روش بررسی این مطالعه توصیفی همبستگی بر روی نمونه‌های منی اخذشده از چهل مرد نابارور الیگواسپرمی انجام شد. پارامترهای اسپرمی، آسیب DNA اسپرم، هیستون باقی‌مانده اسپرم و کمبود پروتامین اسپرم به ترتیب توسط روش SCD، رنگ‌آمیزی آنیلین بلو و ارزیابی کروموسایسین A3 مورد بررسی قرار گرفت. هورمون FSH از طریق نمونه‌گیری از خون بیماران مورد ارزیابی قرار گرفت. برای همبستگی بین پارامترها از Pearson correlation استفاده شد.

یافته‌ها در این مطالعه، بین فراگمانتاسیون DNA اسپرم و سطح FSH همبستگی مثبت معنی‌داری وجود داشت. همچنین، بین کمبود پروتامین اسپرم و هیستون اضافی با فراگمانتاسیون DNA اسپرم همبستگی معنی‌داری مشاهده شد.

نتیجه‌گیری در افراد الیگواسپرمی میزان فراگمانتاسیون DNA اسپرم با آنومالی‌های کروماتین اسپرم و آسیب به DNAی اسپرم آن‌ها، مرتبط بوده و از دلایل احتمالی ناباروری این افراد به شمار می‌رود.

کلیدواژه‌ها:
الیگواسپرمی، آسیب DNA اسپرم، هیستون باقی‌مانده اسپرم، کمبود پروتامین اسپرم، هورمون محرک فولیکول

مقدمه

ناباروری یکی از مشکلات رایج در تمام دنیا محسوب می‌شود [۱]. تقریباً ۷۰ میلیون نفر از جمعیت جهان از ناباروری رنج می‌برند که ۵۰ درصد مربوط به ناباروری مردان است [۲]. الیگواسپرمی به عنوان یکی از علل ناباروری مردان، به تعداد کم اسپرم در پلاسمای منی اشاره دارد که به طور کلی با کمتر از ۱۵ میلیون اسپرم در هر میلی‌لیتر انزال تعریف می‌شود [۳]. این افراد ۱۰ درصد از کل موارد مردان نابارور و حدود یک درصد مردان از جمعیت جهانی هستند [۴]. به دلیل علت پیچیده، تشخیص الیگواسپرمی معمولاً به کمیت و کیفیت اسپرم و حالت منی بستگی دارد [۵]. با این حال، بسیاری از عوامل می‌تواند باعث ایجاد الیگواسپرمی در مردان شود [۵].

هورمون محرک فولیکول (FSH)[1] در تنظیم و حفظ فرایند اسپرم‌سازی در انسان نقش مؤثری را ایفا می‌کند [۶]. مطالعات

1. Follicle-stimulating hormone

* نویسنده مسئول:
محسن فروزان‌فر
نشانی: مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مرودشت، گروه زیست شناسی.
رایانامه: mforozanfar@yahoo.com

تحقیقاتی حاکی از آن است که FSH می‌تواند در تحریک سنتز DNA میتوزی و میوزی در اسپرماتوگونی و اسپرماتوسیت‌ها نقش مهمی داشته باشد که احتمالاً اثرات آن بیش از همه توسط سلول‌های سرتولی اعمال می‌شود [۶]. همچنین گزارش شده است که FSH می‌تواند رشد و عملکرد بیضه را تنظیم کند و اثرات ضد آپوپتوز روی سلول‌های زایا ایجاد کند [۷]. درنتیجه کمبود این هورمون می‌تواند در ایجاد ناباروری نقش ایفا کند [۷]. به طوری که نتایج پژوهش‌های مختلف نشان می‌دهد که بین FSH پایین و ایجاد الیگواسپرمی ارتباط وجود دارد [۸، ۹]. همچنین مشخص شده است که در افراد الیگواسپرمی با FSH پایین، سطح آسیب DNA اسپرم هم بالاست [۷، ۱۰].

آسیب DNA، مانند فراگمانتاسیون، می‌تواند اثرات سوئی بر لقاح و رشد جنین داشته باشد و باعث ناباروری شود [۱۱]. DNA فراگمانتاسیون، رخدادی است که در آن رشته‌های مولکول دورشته‌ای DNA موجود در سر اسپرم، در اثر وقایعی همچون اختلال در فرایندهای پروتامیناسیون، آپوپتوز و عملکرد گونه‌های واکنش‌دهنده اکسیژن (ROS)[۲]، به صورت غیرطبیعی از هم جدا شده و به قطعاتی شکسته می‌شوند [۱۲]. مردان نابارور در مقایسه با مردان بارور میزان بیشتری از آسیب DNA اسپرم و یکپارچگی DNA اسپرم ضعیف‌تر دارند و لقاح تخمک با اسپرم‌های دارای آسیب DNA می‌تواند خطر بیماری‌های ژنتیکی را در فرزندان افزایش دهد [۱۲]. از آنجا که تزریق اسپرم داخل سیتوپلاسم تخمک (ICSI) در سراسر جهان پیشرفت چشمگیری یافته است، موارد موفقیت‌آمیز لقاح پس از ICSI با وجود نتایج ضعیف در تجزیه و تحلیل مایع منی یا آسیب DNA اسپرم، به سؤالاتی در مورد ارزش بالینی این روش کمک باروری منجر شده است [۱۲]. به طوری که از زمان تزریق اسپرم داخل سیتوپلاسم تخمک در درمان ناباروری، اختلافات زیادی به وجود آمده است [۱۳]. گزارش‌های اولیه نشان داد که موفقیت ICSI تحت تأثیر پارامترهای اسپرم مانند غلظت، مورفولوژی یا تحرک قرار نمی‌گیرد و تنها تزریق اسپرم بی‌حرکت بر نتایج ICSI تأثیر منفی می‌گذارد [۱۳]. در این مطالعه به بررسی همبستگی پارامترهای اسپرمی با آسیب DNA اسپرم، وضعیت کروماتین هسته اسپرم و FSH در افراد الیگو اسپرمی پرداخته خواهد شد.

روش بررسی

آماده‌سازی اسپرم

در این مطالعه، ابتدا نمونه اسپرم از چهل بیمار مبتلا به الیگواسپرمی که در محدوده سنی ۲۵-۴۵ سال قرار داشتند و به مرکز ناباروری جهاد دانشگاهی قم مراجعه کردند، پس از اخذ رضایت‌نامه آگاهانه، جمع‌آوری شد.

2. Reactive oxygen species

آنالیز نمونه مایع منی

در این مطالعه توصیفی، آنالیز کلینیکی استاندارد مایع منی بر طبق WHO-2010 انجام شد. نمونه‌های جمع‌آوری‌شده از نظر پارامترهای اسپرمی شامل تحرک، مورفولوژی (با رنگ‌آمیزی پاپانیکولائو)، غلظت (با لام نئوبار) و حجم (با سرنگ ۵ سی‌سی) مورد بررسی قرار گرفت. نمونه مایع منی پس از ۳ تا ۶ روز پرهیز جنسی از بیماران تهیه شد. پس از انکوبه شدن مایع منی، آنالیز پارامترهای اسپرم (حجم، تعداد، تحرک و مورفولوژی اسپرم) بر اساس استانداردهای WHO اندازه‌گیری شد.

آنالیز هورمون FSH

سطح هورمون FSH (Cat.N.DE 1288,FSH)، چهل بیمار مبتلا به الیگواسپرمی توسط دستگاه الایزا (شرکت Demed-itec آلمان) مورد بررسی قرار گرفت. در ابتدا، نمونه خون بیماران اخذ شد و بلافاصله بعد از دریافت، به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳ هزار rpm تحت سانتریفیوژ قرار گرفت و سرم آن جدا شد. سرم جداسازی‌شده در دمای منهای ۷۰ در داخل یخچال نگهداری شد تا سنجش هورمونی توسط دستگاه الایزا (شرکت Demed-itec آلمان) روی آن‌ها انجام شود.

روش رنگ‌آمیزی آنیلین بلو

ابتدا از یک قطره حاوی مایع منی، نمونه اسمیر تهیه شد. سپس اسمیرها به مدت ۳۰ دقیقه در گلوتارآلدئید ۳ درصد در بافر فسفات ۰/۲ مولار تثبیت شده و سپس اسمیرها با رنگ آنیلین بلو ۵ درصد در اسید استیک ۴ درصد با PH ۳/۵ به مدت ۵ دقیقه رنگ‌آمیزی شدند.

ارزیابی کروموماییسین A۳

ابتدا نمونه‌ها در محلول کارنوی (متانول با اسید استیک گلاسیال به نسبت ۳:۱) به مدت ۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تثبیت شدند. سپس از نمونه‌های تثبیت‌شده، اسمیر تهیه شد. هر اسمیر به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۰۰ سی‌سی از محلول CMA^{3+} که در بافر مک آلوین حل شده بود جهت رنگ‌آمیزی کروموماییسین قرار گرفت. سپس، اسمیرهای رنگ‌آمیزی شده به وسیله بافر شست‌وشو شده و با بافر گلیسرول به نسبت ۱ به ۱ مونت[۳] شد. به وسیله آنالیز میکروسکوپی با استفاده از میکروسکوپ فلوئورسانس، با فیلتر ۶۰۰-۴۷۰ نانومتر، درصد اسپرم‌های CMA^{3+} مثبت با رنگ زرد درخشان و CMA^{3+} منفی با رنگ زرد کمرنگ و درنتیجه، بررسی میزان کمبود پروتامین انجام شد.

3. Mount

جدول ۱. پارامترهای اسپرم و سن زوجین

پارامترها	میانگین±انحراف معیار	حداقل	حداکثر
هورمون FSH (واحد بین‌المللی بر لیتر)	۱/۸±۰/۴	۱/۱	۷۵/۲
شاخص توده بدنی (کیلوگرم بر متر)	۸/۱±۱/۲۹	۲/۲۶	۱/۳۲
طول زمان نازایی (سال)	۵/۴±۴/۷	۱	۲۰
سن (سال)	۳۴/۹±۵/۱	۲۶	۴۵
غلظت اسپرم (۱۰۶ / میلی‌لیتر)	۹/۳±۱/۸	۲	۱۴
تحرک کلی اسپرم (درصد)	۱۷/۱±۹/۷	۵	۴۰
مورفولوژی غیرطبیعی اسپرم (درصد)	۹۸/۷±۰/۵	۹۸	۹۹
فراگمانتاسیون DNA (درصد)	۴۶/۹±۱۷/۳	۲۲	۸۵
هیستون‌های باقی‌مانده اسپرم (درصد)	۵۳/۱±۵/۷	۵۳	۸۵
کمبود پروتامین (درصد)	۶۳/۷±۷/۸	۵۱	۷۸

مجله
دانشگاه علوم پزشکی قم

ارزیابی فراگمانتاسیون DNA به روش Sperm Chromatin Dispersion

جهت ارزیابی فراگمانتاسیون DNA مقدار ۳۰ میکرولیتر از نمونه منی آماده‌شده با ۷۰ میکرولیتر از آگاروز در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد مخلوط می‌شود. سپس نمونه مخلوط‌شده بر روی لامی که از قبل با آگاروز ۰/۶۵ درصد پوشیده شده، قرار داده شد و با قرار گرفتن یک لامل روی آن به مدت ۴ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از جدا شدن لامل از سطح لام، هر لام به مدت ۷ دقیقه به صورت افقی داخل محلول اسید کلریدریک ۰/۰۸ نرمال و در تاریکی قرار گرفت و سپس به مدت ۱۰ دقیقه در داخل محلول تجزیه‌کننده حاوی EDTA DDT، SDS، و Tris base با pH ۷/۵ و دمای اتاق و سپس به مدت ۵ دقیقه در محلول تجزیه‌کننده حاوی SDS، NaCL و Tris base با pH ۷/۵ قرار گرفتند. به دنبال آن، لام در داخل بافر شست‌وشو با ترکیب EDTAو Tris borateبه مدت ۲ دقیقه شست‌وشو داده شده و سپس آب‌گیری آن به ترتیب در الکل ۷۰، ۹۰ و ۱۰۰ درصد انجام پذیرفت. در ادامه، پس از خشک شدن لام، آن را به وسیله رنگ دیف کوئیک[4] رنگ‌آمیزی می‌کنیم. به وسیله میکروسکوپ نوری می‌توان هاله اطراف هسته و اندازه آن، وجود DNA فراگمانتاسیون را بررسی کرد.

روش آماری

برای تجزیه و تحلیل آماری، از نرم‌افزار آماری SPSSنسخه ۲۳ استفاده شد. میانگین و انحراف معیار متغیرهای مورد بررسی محاسبه شد و برای بررسی ارتباطات بین متغیرها از Pearson correlation استفاده شد. سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

شرح پارامترهای اسپرم و سن زوجین در جدول شماره ۱ ارائه شده است. به طوری که میانگین غلظت اسپرم، درصد تحرک

4. Diff - Quick

جدول ۲. همبستگی بین DNA فراگمانتاسیون، هیستون‌های باقی‌مانده اسپرم، کمبود پروتامین اسپرم و درصد اسپرم‌های با مرفولوژی غیرطبیعی با هورمون FSH

پارامترها	FSH (واحد بین‌المللی بر لیتر)	غلظت اسپرم (۱۰۶/ میلی‌لیتر)
DNA فراگمانتاسیون	۰/۳۳۹	۰۳۱/۰
هیستون‌های باقی‌مانده اسپرم	۰/۲۱۵	۰/۱۰۸
کمبود پروتامین اسپرم	-۰/۰۲۶	-۰/۰۹۶
درصد اسپرم‌های با مرفولوژی غیرطبیعی	-۰/۱۰۳	-۰/۲۲۴

مجله
دانشگاه علوم پزشکی قم

جدول ۳. ارتباط بین پارامترهای عملکردی اسپرم

پارامترها	فراگمانتاسیون DNA	درصد هیستون‌های باقی‌مانده اسپرم	درصد کمبود پروتامین
فراگمانتاسیون DNA	۱	۰/۴۳*	۰/۴۶۶
درصد هیستون‌های باقی‌مانده اسپرم	۰/۴۳	۱	۰/۲۱
درصد کمبود پروتامین	۰/۴۶۶	۰/۲۱	۱

مجله دانشگاه علوم پزشکی قم

کلی اسپرم و درصد مورفولوژی غیرطبیعی اسپرم به ترتیب ۸/۱±۳/۹، ۱۷/۱±۹/۷ و ۹۸/۷±۰/۵ گزارش شد. در این مطالعه، میانگین سن بیماران ۳۴/۹±۵/۱ سال گزارش شد.

تجزیه و تحلیل همبستگی و ارتباط بین FSH با آزمایشات عملکردی اسپرم مانند فراگمانتاسیون DNA (جدول شماره ۲) نشان داد که بین FSH با درصد فراگمانتاسیون DNA همبستگی مثبت معناداری وجود دارد (r=۰/۳۳۹، P=۰/۰۴۳)، در حالی که همبستگی بین FSH با درصد هیستون‌های باقی‌مانده اسپرم (۰/۲۱۵، P=۰/۲۰۸)، مورفولوژی غیرطبیعی اسپرم (۰/۱۰۳، P=۰/۵۵) و درصد کمبود پروتامین (۰/۰۲۶-، P=۰/۸۸۱) مشاهده نشد. تجزیه و تحلیل همبستگی بین غلظت اسپرم با آزمایشات عملکردی اسپرم مانند DNA فراگمانتاسیون، کمبود پروتامین و هیستون‌های باقی‌مانده اسپرم (جدول شماره ۲) نشان داد که بین غلظت اسپرم با هیچ‌کدام از آزمایشات عملکردی اسپرم در سطح P<۰/۰۵ معنی‌دار وجود نداشت.

علاوه بر این همبستگی بین آزمایش‌های عملکردی اسپرم با هم مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و نتایج در جدول شماره ۳ ارائه شده است. همبستگی مثبت معنی‌داری بین درصد فراگمانتاسیون DNA با درصد هیستون‌های اضافی (r=۰/۴۳، P=۰/۰۰۹) و درصد فراگمانتاسیون DNA با درصد CMA^{3+} اسپرم (r=۰/۴۶۶ P=۰/۰۰۴) وجود داشت. با این حال بین درصد CMA^{3+} با درصد هیستون‌های اضافی همبستگی مثبت و معناداری وجود نداشت.

بحث

اسپرماتوژنز یک فرایند طولانی و پیچیده است که توسط مکانیسم‌های متقابل متعددی کنترل می‌شود [۱۵-۱۳]. به‌طوری که، اسپرماتوژنز یک توالی هماهنگ از وقایع سلولی و مولکولی در طی بلوغ اسپرماتوگونی به اسپرم است [۱۶]. مطالعات نشان داده‌اند که اختلالات کروماتین هسته اسپرم در افراد الیگواسپرمی می‌تواند شامل آنومالی‌هایی همچون هیستون‌های باقی‌مانده یا کمبود پروماتین اسپرم باشد [۱۹-۱۷]. این اختلالات می‌توانند در طی لقاح منجر به تراکم زودرس کروماتین شوند [۲۲-۲۰]. بنابراین هنگامی که اسپرم دارای کمبود نسبی پروتامین یا هیستون اضافی، به داخل تخمک مرحله متافاز II می‌رسد، ممکن است پدیده تراکم زودرس کروماتین به صورت نسبی اتفاق بیفتد [۲۳، ۲۴]. درنتیجه تراکم زودرس کروماتین به صورت نسبی می‌تواند با ایجاد پیش هسته‌های غیریکسان، درنهایت به کاهش موفقیت لقاح ختم شود.

سطح بالای فراگمانتاسیون DNA اسپرم، یکی از عوامل اصلی در ناباروری مردان در نظر گرفته شده و می‌تواند منجر به لقاح ناموفق، رشد مجدد جنین و درنتیجه کاهش میزان لانه‌گزینی و بارداری شود [۷]. با توجه به اینکه، تجزیه و تحلیل مایع منی برای ارزیابی عملکرد اسپرم و پتانسیل باروری مردان کافی نیست، در این مطالعه ارتباط بین کمبود پروتامین، هیستون‌های باقی‌مانده اسپرم و فراگمانتاسیون DNA را به عنوان آزمایش عملکرد اسپرم، علاوه بر پارامترهای اسپرم در مردان نابارور الیگواسپرمی مورد بررسی قرار گرفتند [۱۰، ۱۴، ۲۵].

در مطالعه انجام‌شده توسط اکبری و همکاران، رابطه معنی‌داری بین کمبود پروتامین و آسیب DNA و پارامترهای اسپرمی مشاهده شد. به طوری که در این مطالعه مشخص شد که بین پارامترهای مورفولوژی و تحرک با کمبود پروتامین و فراگمانتاسیون DNA یک رابطه معنی‌دار وجود داشته است [۲۶].

نتایج حاصل از این مطالعه نیز نشان داد که رابطه معنی‌داری بین درصد فراگمانتاسیون DNA با درصد هیستون‌های باقی‌مانده اسپرم وجود دارد. در این رابطه، سایمون و همکاران نشان دادند که درصد هیستون‌های اضافی اسپرم می‌تواند بر رشد جنین و نتایج بالینی بارداری اثر سوء بگذارد [۲۷]. همسو با نتیجه مطالعه حاضر، آن‌ها ارتباط معنی‌داری بین غلظت اسپرم با درصد هیستون‌های باقی‌مانده اسپرم مشاهده نکردند.

آسیب DNA اسپرم یک ضایعه چندعاملی است و ممکن است به دلیل بسیاری از شرایط محیطی مانند شیمی‌درمانی، پرتودرمانی، برخی از داروهای تجویزشده، آلودگی هوا، سیگار کشیدن، آفت‌کش‌ها، مواد شیمیایی و گرما ایجاد شود و بیماری‌های مختلف پاتولوژیک از جمله سرطان، عفونت و واریکوسل در آن تأثیرگذار باشند [۲۸]. همچنین اسپرم‌های دارای کمبود پروتامین نیز ممکن است در افزایش فراگمانتاسیون DNA اسپرم نقش داشته باشند [۲۸].

چندین مطالعه ارتباط بین افزایش میزان پروتامین-۱/ پروتامین-۲ (P1/P2) و ناباروری مردان را نشان داده است [۲۸، ۲۹]. آکیته[5] و همکاران دریافتند که ارتباطی بین افزایش فراگمانتاسیون DNA اسپرم و سطح پایین P1/P2 وجود دارد. کاهش نسبت P1/P2 در جمعیت مردان نابارور تحت IVF و ICSI پیدا شد [۲۹]. در یک مطالعه انجام‌شده توسط نوائیان کلات و همکاران، مشخص شد که بین درصد آسیب DNA با غلظت اسپرم رابطه معکوس و با اسپرم‌های دارای مورفولوژی غیرطبیعی رابطه مثبت و معنی‌داری وجود دارد [۳۰]. نتایج حاصل از مطالعات گزارش کردند که پارامترهای اسپرم و یکپارچگی کروماتین DNA به میزان قابل توجهی در ارتباط هستند [۳۱].

سطح همبستگی بین کروماتین اسپرم / یکپارچگی DNA و درصد تحرک تدریجی توسط CASA، قبل و بعد از انجماد بررسی شد [۳۱]. نتایج نشان داد که تفاوت آماری معنی‌داری بین پارامترهای اسپرم و ساختار کروماتین DNA قبل و بعد از انجماد وجود دارد [۳۱]. مطالعات متعدد نشان می‌دهد که مردان نابارور دارای تعداد فراوانی از سلول‌های اسپرم با فراگمانتاسیون DNA نسبت به گروه‌های کنترل بارور هستند [۳۲]. علاوه بر این، آن دسته از نمونه‌های با کیفیت پایین‌تر طبق تجزیه و تحلیل استاندارد منی، همچنین تمایل دارند که نسبت بیشتری از اسپرم با فراگمانتاسیون DNA را داشته باشند [۳۲]. درنتیجه ارزیابی یکپارچگی DNA اسپرم و همچنین وضعیت کروماتین آن به عنوان یک مکمل برای مطالعه کیفیت پارامترهای اسپرمی، می‌تواند ارائه‌دهنده اطلاعات مرتبط با آسیب‌های آندرولوژیکی در مردان الیگواسپرمی باشد.

نتیجه‌گیری

از نتایج مطالعه کنونی می‌توان این‌گونه استنباط کرد که افزایش فراگمانتاسیون DNA با افزایش کروماتین اسپرم در ارتباط بوده و با افزایش احتمال ابتلا به الیگواسپرمی همراه بوده که این شرایط پاتولوژیک می‌تواند بر عملکرد اسپرم تأثیر منفی داشته باشد و منجر به آسیب DNA در اسپرم شود. افزایش آسیب‌های اسپرمی می‌تواند سلول را به سمت آپوپتوز پیش ببرد و تعداد اسپرم تولیدشده و تمایز یافته نسبت به وضعیت طبیعی کاهش یابد؛ این اسپرم‌ها با درصد بالایی از مورفولوژی غیرطبیعی و کاهش تحرک مواجه هستند.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم تایید شده است (کد: IR.IAU.QOM.REC1396.56).

حامی مالی

این تحقیق هیچ‌گونه کمک مالی از سازمان‌های تأمین مالی در بخش‌های عمومی، تجاری یا غیرانتفاعی دریافت نکرد.

مشارکت نویسندگان

تمام نویسندگان در طراحی، اجرا و نگارش همه بخش‌های پژوهش حاضر مشارکت داشته‌اند.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان این مقاله تعارض منافع ندارد.

5. Aokiet

References

[1] Wagner H, Cheng JW, Ko EY. Role of reactive oxygen species in male infertility: An updated review of literature. Arab J Urol. 2018; 16(1):35-43. [DOI:10.1016/j.aju.2017.11.001] [PMID]

[2] Fainberg J, Kashanian JA. Recent advances in understanding and managing male infertility. F1000Res. 2019; 8(F1000 Faculty Rev):670. [DOI:10.12688/f1000research.17076.1] [PMID]

[3] Menkveld R. Clinical significance of the low normal sperm morphology value as proposed in the fifth edition of the WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen. Asian J Androl. 2010; 12(1):47-58. [DOI:10.1038/aja.2009.14] [PMID]

[4] Ghieh F, Mitchell V, Mandon-Pepin B, Vialard F. Genetic defects in human azoospermia. Basic Clin Androl. 2019; 29:4. [DOI:10.1186/s12610-019-0086-6] [PMID]

[5] Deng M, Lin F, Zhou C, Chen Y, Xuan L, Wang H, et al. Determination of 27 amino acids' levels in seminal plasma of asthenospermia and oligospermia patients and diagnostic value analysis. J Pharm Biomed Anal. 2020; 184:113211. [DOI:10.1016/j.jpba.2020.113211] [PMID]

[6] Santi D, Crépieux P, Reiter E, Spaggiari G, Brigante G, Casarini L, et al. Follicle-Stimulating Hormone (FSH) action on spermatogenesis: A focus on physiological and therapeutic roles. J Clin Med. 2020; 9(4):1014. [DOI:10.3390/jcm9041014] [PMID]

[7] Muratori M, Baldi E. Effects of FSH on sperm DNA fragmentation: Review of clinical studies and possible mechanisms of action. Front Endocrinol. 2018; 9:734. [DOI:10.3389/fendo.2018.00734] [PMID]

[8] Behre HM. Clinical use of FSH in male infertility. Front Endocrinol. 2019; 10:322. [DOI:10.3389/fendo.2019.00322] [PMID]

[9] Babu SR, Sadhnani MD, Swarna M, Padmavathi P, Reddy PP. Evaluation of FSH, LH and testosterone levels in different subgroups of infertile males. Indian J Clin Biochem. 2004; 19(1):45-9. [DOI:10.1007/BF02872388] [PMID]

[10] Garolla A, Ghezzi M, Cosci I, Sartini B, Bottacin A, Engl B, et al. FSH treatment in infertile males candidate to assisted reproduction improved sperm DNA fragmentation and pregnancy rate. Endocrine. 2017; 56(2):416-25. [DOI:10.1007/s12020-016-1037-z] [PMID]

[11] Kim GY. What should be done for men with sperm DNA fragmentation? Clin Exp Reprod Med. 2018; 45(3):101-9. [DOI:10.5653/cerm.2018.45.3.101] [PMID]

[12] dos Santos Hamilton TR, D'Ávila Assumpção MEO. Sperm DNA fragmentation: Causes and identification. Zygote. 2020; 28(1):1-8. [DOI:10.1017/S0967199419000595] [PMID]

[13] Liu T, Wang L, Chen H, Huang Y, Yang P, Ahmed N, et al. Molecular and cellular mechanisms of apoptosis during dissociated spermatogenesis. Front Physiol. 2017; 8:188. [DOI:10.3389/fphys.2017.00188] [PMID]

[14] Oliver-Bonet M, Benet J, Sun F, Navarro J, Abad C, Liehr T, et al. Meiotic studies in two human reciprocal translocations and their association with spermatogenic failure. Hum Reprod. 2005; 20(3):683-8. [DOI:10.1093/humrep/deh654] [PMID]

[15] Grootegoed JA, Siep M, Baarends WM. Molecular and cellular mechanisms in spermatogenesis. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2000; 14(3):331-43. [DOI:10.1053/beem.2000.0083] [PMID]

[16] Oduwole OO, Peltoketo H, Huhtaniemi IT. Role of follicle-stimulating hormone in spermatogenesis. Front Endocrinol. 2018; 9:763. [DOI:10.3389/fendo.2018.00763] [PMID]

[17] Younis Jahmani MAD. Human sperm chromatin condensation assessment using Raman spectroscopy and its impact on ICSI induced fertilization and embryonic development [PhD. dissertation]. Homburg: der Universität des Saarlandes; 2020. https://publikationen.sulb.uni-saarland.de/handle/20.500.11880/30383

[18] Han X, Wang Y, Wei J, Han W. Multi-antigen-targeted chimeric antigen receptor T cells for cancer therapy. J Hematol Oncol. 2019; 12:128. [DOI:10.1186/s13045-019-0813-7] [PMID]

[19] Ioannou D, Miller D, Griffin DK, Tempest HG. Impact of sperm DNA chromatin in the clinic. J Assist Reprod Genet. 2016; 33(2):157-66. [DOI:10.1007/s10815-015-0624-x] [PMID]

[20] Zhao M, Shirley CR, Hayashi S, Marcon L, Mohapatra B, Suganuma R, et al. Transition nuclear proteins are required for normal chromatin condensation and functional sperm development. Genesis. 2004; 38(4):200-13. [DOI:10.1002/gene.20019]

[21] Rathke C, Baarends WM, Awe S, Renkawitz-Pohl R. Chromatin dynamics during spermiogenesis. Biochim Biophys Acta. 2014; 1839(3):155-68. [DOI:10.1016/j.bbagrm.2013.08.004] [PMID]

[22] Boissonnas CC, Jouannet P, Jammes H. Epigenetic disorders and male subfertility. Fertil Steril. 2013; 99(3):624-31. [DOI:10.1016/j.fertnstert.2013.01.124] [PMID]

[23] Gou LT, Lim DH, Ma W, Aubol BE, Hao Y, Wang X, et al. Initiation of parental genome reprogramming in fertilized oocyte by splicing kinase SRPK1-catalyzed protamine phosphorylation. Cell. 2020; 180(6):1212-27.E14. [DOI:10.1016/j.cell.2020.02.020] [PMID]

[24] Barratt CL, Aitken RJ, Björndahl L, Carrell DT, de Boer P, Kvist U, et al. Sperm DNA: Organization, protection and vulnerability: From basic science to clinical applications-a position report. Hum Reprod. 2010; 25(4):824-38. [DOI:10.1093/humrep/dep465] [PMID]

[25] Mongioì LM, Condorelli RA, Alamo A, Cannarella R, Musso N, La Vignera S, et al. Follicle-stimulating hormone treatment and male idiopathic infertility: Effects on sperm parameters and oxidative stress indices according to FSHR c. 2039 A/G and c. -29 G/A Genotypes. J Clin Med. 2020; 9(6):1690. [DOI:10.3390/jcm9061690] [PMID]

[26] Akbari H, Saleh M, Heidari M H, Ghaffari Novin M, Azargashb E. [Evaluation of sperm parameters and chromatin abnormalities in male infertility using CASA and chromatin dispersion test (Persian)]. Res Med. 2013; 36(4):176-83. http://pejouhesh.sbmu.ac.ir/article-1-1090-en.html

Qom University of Medical Sciences Journal

[27] Simon L, Castillo J, Oliva R, Lewis SE. Relationships between human sperm protamines, DNA damage and assisted reproduction outcomes. Reprod Biomed Online. 2011; 23(6):724-34. [DOI:10.1016/j.rbmo.2011.08.010] [PMID]

[28] Evenson D, Wixon R. Meta-analysis of sperm DNA fragmentation using the sperm chromatin structure assay. Reprod Biomed Online. 2006; 12(4):466-72. [DOI:10.1016/S1472-6483(10)62000-7] [PMID]

[29] Aoki VW, Moskovtsev SI, Willis J, Liu L, Mullen JB, Carrell DT. DNA integrity is compromised in protamine-deficient human sperm. J Androl. 2005; 26(6):741-8. [DOI:10.2164/jandrol.05063] [PMID]

[30] Navaeian Kalat E, Tavalaee M, Abasi H, Nasr Esfahani MH. [Comparison of sperm parameters and DNA integrity between fertile and varicocele individuals (Persian)]. J Cell Tissue. 2012; 3(2):171-7. http://jct.araku.ac.ir/article_1713.html

[31] Zamani Rarani F, Golshan-Iranpour F, Dashti GR. Correlation between sperm motility and sperm chromatin/DNA damage before and after cryopreservation and the effect of folic acid and nicotinic acid on post-thaw sperm quality in normozoospermic men. Cell Tissue Bank. 2019; 20(3):367-78. [DOI:10.1007/s10561-019-09775-6] [PMID]

[32] Fernández JL, Cajigal D, López-Fernández C, Gosálvez J. Assessing sperm DNA fragmentation with the sperm chromatin dispersion test. In: Didenko V, editor. DNA Damage Detection In Situ, Ex Vivo, and In Vivo. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols). Vol 682. Totowa: Humana Press; 2011. pp. 291-301. [DOI:10.1007/978-1-60327-409-8_21]