Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences

Nasr-Esfahani, et al. *Med J Tabriz Uni Med Sciences*. 2024;45(6):516-527.
doi: 10.34172/mj.2024.004
https://mj.tbzmed.ac.ir

TUOMS PRESS

Original Article

Sperm DNA damage in men with severe asthenozoospermia

Ali Nasr-Esfahani[1,2], Kosar Pashaei[1,2], Nushin Naderi[3], Paria Behdarvandiyan[3], Marziyeh Tavalaee[3*], Maryam Arbabian[3], Mohammad Hossein Nasr-Esfahani[1,3]

[1]Isfahan Fertility and Infertility Center, Isfahan, Iran
[2]Department of Obstetrics and Gynecology, Islamic Azad University, Tehran Medical Sciences Branch, Tehran, Iran
[3]Department of Animal Biotechnology, Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Biotechnology, ACECR, Isfahan, Iran

ARTICLE INFO

Article History:
Received: 12 Mar 2023
Accepted: 21 May 2023
ePublished: 31 Dec 2023

Keywords:
- Male Infertility
- Sperm DNA Damage
- Asthenozoospermia
- TUNEL
- Sperm

Abstract

Background. Sperm motility is a fundamental factor for sperm penetration into the oocyte and fertilization. According to the World Health Organization (WHO) 2021, less than 42 percent of motility is called asthenozoospermia, which is one of the most common causes of male infertility. This retrospective cohort study aims to investigate sperm DNA damage with TUNEL and SCSA methods and its relationship with sperm parameters, age, and body mass index (BMI) in severe asthenospermia (<2% sperm motility) and normozoospermia.

Methods. The study parameters between 111 subjects with severe asthenozoospermia and 113 subjects with normozoospermia were investigated. The 2010 World Health Organization guidelines were used to evaluate sperm parameters, and TUNEL and SCSA methods were used to assess sperm DNA damage. The statistical analysis was done using the t-test of two independent samples. Pearson's correlation coefficient was used to investigate the relationship between sperm DNA damage and sperm parameters, age, and BMI $P<0.05$ was considered significant.

Results. The mean seminal volume, sperm concentration and count, and the percentage of sperm total motility and progressive motility were significantly lower in severe asthenospermic subjects compared to normozoospermic subjects ($P<0.001$). In addition, the mean percentage of sperm DNA damage in severe asthenozoospermic individuals was significantly higher than in normozoospermic individuals ($P<0.001$). There was also a positive and significant relationship between sperm DNA damage and the age of severely asthenozoospermic men.

Conclusion. Sperm motility, sperm DNA damage, and the father's age are essential in the successful conception, development, and health of the embryo. Therefore, the evaluation of sperm DNA damage is recommended in examining male fertility and selecting the appropriate treatment approach for men with severe asthenozoospermia.

Practical Implications. Considering that the sperm genome constitutes 50 percent of the genetic material of the next generation, evaluating sperm DNA health to determine the appropriate treatment approach in infertile men can be influential in the success of assisted reproductive techniques and in maintaining the next generation's health.

How to cite this article: Nasr-Esfahani A, Pashaei K, Nushin Naderi, Behdarvandiyan P, Tavalaee M, Arbabian M, Nasr-Esfahani M H. Sperm DNA damage in men with severe asthenozoospermia. *Med J Tabriz Uni Med Sciences*. 2024;45(6): 516-527. doi: 10.34172/mj.2024.004. Persian.

*Corresponding author; Email: m.tavalaee@royan-rc.ac.ir
© 2024 The Authors. This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences under the terms of the Creative Commons Attribution CC BY 4.0 License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited

Extended Abstract

Background

Infertility is a major feature of reproductive health, affecting up to 15 percent of couples worldwide and causing emotional distress. Male factors significantly contribute to infertility in 40-50 percent of cases, including low sperm count, poor motility, and abnormal morphology. Asthenozoospermia, characterized by reduced sperm motility (<42%), is the most common factor in male infertility. Mitochondrial DNA and nuclear DNA play a critical role in sperm motility regulation. Impaired mitochondrial function disrupts the energy production required for sperm motility and can be a fundamental cause of asthenozoospermia. Damage to nuclear DNA, possibly induced by oxidative stress, may also influence sperm motility. Therefore, this retrospective cohort study aims to examine sperm DNA damage using TUNEL and SCSA methods and its correlation with sperm parameters, age, and body mass index (BMI) in men with severe asthenospermia (sperm motility <2%) and normozoospermia.

Methods

In this retrospective cohort study, data from 111 men with severe asthenospermia and 113 men with normozoospermia were collected from a total of 10,000 infertile patients who visited an infertility center in Isfahan, Iran. The study focused on severe asthenospermic individuals. The Ethics Committee of the Royan Institute (IR.ACECR.ROYAN.REC.1401.031) approved the study protocol. Among the 10,000 sperm samples, those with sperm motility <2 percent were selected as the severe asthenospermia group for the study. However, according to the World Health Organization (WHO) 2021, these samples also exhibited abnormal morphology (≤96%) and a total sperm count (≥39 million per ejaculation). It is important to note that severe asthenospermic individuals could have either normal or abnormal morphology or total sperm count. However, the sole criterion for inclusion in the severe asthenospermia group was sperm motility<2 percent. On the other hand, the normozoospermia group consisted of 113 sperm samples that met the natural threshold outlined by the WHO 2021 standard. These samples exhibited sperm motility ≥ 42 percent; progressive motility ≥ 30 percent, abnormal sperm morphology ≤96 percent, and a total sperm count ≥39 million per ejaculation. Sperm parameters, including semen volume, count, concentration, motility, and morphology, were evaluated based on the 2010 WHO guidelines. Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling (TUNEL) and sperm chromatin structure assay (SCSA) were used to evaluate DNA damage in sperm. These methods allowed for the evaluation of sperm DNA damage using flow cytometry. The results were reported in terms of the percentage of fragmented DNA index (DFI) and high DNA stainability (HSD), indicating the extent of DNA damage. For statistical analysis, IBM SPSS version 20 was utilized. The collected data underwent analysis using independent sample t-tests and the Pearson correlation coefficient. A significance level of $P<0.05$ was considered statistically significant.

Results

A comparison was made between individuals with severe asthenospermia and normozoospermia in terms of average age, sperm parameters, and BMI. The study found no significant differences in average age and BMI between the two groups. However, men with severe asthenospermia had significantly lower semen parameters compared to men with normozoospermia ($P<0.001$). These parameters included semen volume, sperm concentration, total sperm count, total motility percentage, and progressive motility percentage. The percentage of abnormal sperm morphology was also significantly higher in individuals with severe asthenospermia ($P<0.001$). Sperm DNA damage was assessed using the TUNEL and SCSA methods, and the severe asthenospermia group showed significantly higher average percentages of sperm DNA damage using both methods ($P<0.001$). Additionally, the HSD results were significantly higher in severe

asthenospermic individuals ($P<0.001$). Correlation analysis revealed positive and significant associations between sperm DNA damage measured by the TUNEL and SCSA methods and sperm concentration, sperm count, and sperm abnormal morphology in the normozoospermia population. Additionally, a significant negative correlation was found between the degree of DNA damage in sperm obtained through the SCSA method and sperm motility parameters. In the severe asthenospermia group, significant positive correlations were found between sperm DNA damage and sperm concentration, sperm count, and age.

Conclusion

This study discovered a positive correlation between sperm DNA damage and sperm concentration and age in men with severe asthenospermia, a condition characterized by reduced sperm motility. Infertile men who exhibit poor sperm quality and are advancing in age may encounter long-term psychological challenges and sexual dysfunction, which can contribute to oxidative stress and an increase in sperm DNA damage. Factors such as sperm motility, DNA damage, and paternal age are essential in achieving successful fertilization, supporting embryonic development, and ensuring the health of future generations. It is therefore recommended to assess sperm DNA damage during male fertility evaluations and tailor appropriate treatments based on the severity of the damage, particularly for men diagnosed with severe asthenospermia. Such measures can significantly impact the effectiveness of fertility interventions and improve the chances of successful conception and healthy offspring.

نصراصفهانی و همکاران. *مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز*. بهمن و اسفند ۱۴۰۲؛۴۵(۶):۵۱۶-۵۲۷.
doi: 10.34172/mj.2024.004
https://mj.tbzmed.ac.ir

مجلهٔ پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

TUOMS PRESS

مقاله پژوهشی

آسیب DNA اسپرم در مردان مبتلا به آستنوزواسپرمی شدید

علی نصراصفهانی[۱،۲]، کوثر پاشائی[۱،۲]، نوشین نادری[۳]، پریا بهداروندیان[۳]، مرضیه تولائی[۳*]، مریم اربابیان[۳]، محمدحسین نصراصفهانی[۱،۳]

[۱]مرکز باروری و ناباروری اصفهان، اصفهان، ایران
[۲]گروه زنان و زایمان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
[۳]پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست فناوری جهاد دانشگاهی، مرکز تحقیقات پزشکی تولید مثل، گروه زیست فناوری جانوری، اصفهان، ایران

اطلاعات مقاله

سابقه مقاله:
دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۲۱
پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۳۱
انتشار برخط: ۱۴۰۲/۱۰/۱۰

کلید واژه‌ها:
- ناباروری مردان
- آسیب DNA اسپرم
- آستنوزواسپرمی
- TUNEL
- اسپرم

چکیده

زمینه. تحرک اسپرم یکی از فاکتورهای اساسی برای نفوذ اسپرم به داخل تخمک و وقوع لقاح می‌باشد. آستنوزواسپرمی که به تحرک کمتر از ۴۲ درصد اسپرم‌ها معروف است، یکی از شایع‌ترین علل ناباروری در مردان است. هدف از این مطالعه کوهورت گذشته‌نگر، بررسی آسیب DNA اسپرم با دو روش TUNEL و SCSA و ارتباط آن با پارامترهای اسپرمی، سن و شاخص توده‌بدنی (BMI) در افراد آستنوزواسپرمی شدید و نرموزواسپرمی می‌باشد.

روش کار. پارامترهای مطالعه بین ۱۱۱ فرد مبتلا به آستنوزواسپرمی شدید و ۱۱۳ فرد نرموزواسپرمی مورد بررسی قرارگرفت. برای ارزیابی پارامترهای اسپرمی از دستورالعمل سازمان بهداشت جهانی ۲۰۱۰ و برای ارزیابی آسیب DNA اسپرم از روش‌های TUNEL و SCSA استفاده شد. آنالیز آماری با استفاده از آزمون t دو نمونه مستقل انجام و از ضریب همبستگی پیرسون برای بررسی ارتباط بین میزان آسیب DNA اسپرم با پارامترهای اسپرمی، سن و BMI افراد استفاده شد. تفاوت میانگین‌ها در سطح $P<۰/۰۵$ معنادار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها. میانگین حجم مایع منی، غلظت و تعداد کل اسپرم، درصد حرکت کلی و حرکت پیش‌رونده اسپرم به‌طور معنی‌داری در افراد آستنوزواسپرمی شدید در مقایسه با افراد نرموزواسپرمی کمتر بود ($P<۰/۰۰۱$)، علاوه بر این، میانگین درصد آسیب DNA اسپرم در افراد آستنوزواسپرمی شدید به‌طور معنی‌داری در مقایسه با افراد نرموزواسپرمی بیشتر بود ($P<۰/۰۰۱$). بین میزان آسیب DNA اسپرم و سن مردان آستنوزواسپرمیک شدید نیز یک رابطه مثبت و معنی‌دار بدست آمد.

نتیجه‌گیری. تحرک اسپرم، آسیب DNA اسپرم و سن پدر در لقاح موفق، تکوین و سلامت جنین نقش مهمی دارند. بنابراین، ارزیابی آسیب DNA اسپرم در بررسی باروری مردان و انتخاب رویکرد درمانی مناسب برای مردان مبتلا به آستنوزواسپرمی شدید توصیه می‌شود.

پیامدهای عملی. با توجه به اینکه ژنوم اسپرم ۵۰ درصد ماده ژنتیکی نسل آینده را تشکیل می‌دهد، بنابراین ارزیابی سلامت DNA اسپرم جهت تشخیص رویکرد درمانی مناسب در مردان نابارور، می‌تواند در موفقیت تکنیک‌های کمک باروری و حفظ سلامت نسل آینده مؤثر باشد.

مقدمه

امروزه ناباروری یکی از مشکلات مهم سلامت تولید مثل به شمار می‌رود که تا ۱۵ درصد از جمعیت زوجین در سراسر جهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد و باعث پریشانی عاطفی در زوج‌ها و خانواده‌ها می‌شود.[۱] در تمام موارد ناباروری، عوامل مربوط به مردان به‌طور قابل توجهی در ۵۰-۴۰ درصد از موارد مؤثر هستند.[۲] تعداد کم، تحرک ضعیف و مورفولوژی غیرطبیعی اسپرم از علل شایع ناباروری مرتبط با عوامل مردانه هستند.[۳] آستنوزواسپرمی، یا تحرک کم اسپرم، شایع‌ترین علت ناباروری مردان است[۴] که بر اساس دستورالعمل سازمان بهداشت جهانی (WHO) ۲۰۲۱ با کاهش تحرک کل (کمتر از ۴۲ درصد) و تحرک پیشرونده اسپرم (کمتر از ۳۰ درصد) مشخص می‌شود.[۵] تحرک اسپرم یک شاخص از انرژی اسپرم برای لقاح مثبت است که برای عبور از دستگاه تناسلی بانوان و نفوذ به زونا پلوسیدا تخمک و فرآیند لقاح ضروری است.[۶،۷] آستنوزواسپرمی شدید با بی‌تحرکی کامل اسپرم یا

*نویسنده مسؤول؛ ایمیل: m.tavalaee@royan-rc.ac.ir

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است. این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی تبریز تحت مجوز کریتیو کامنز CC BY 4.0 (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

اسپرم کم‌تحرک در نمونه مایع منی انسان مشخص می‌شود،[۳] که یک اختلال پیچیده است و می‌تواند تحت تأثیر عوامل داخلی و خارجی قرار گیرد. عوامل داخلی طیفی از اختلالات از جمله ناهنجاری‌های آناتومیک دم، آنتی‌بادی‌های ضد اسپرم، اختلال عملکرد میتوکندری، سندرم کارتاگنر و یک نوع هتروزیگوت از خانواده پروتئین شوک حرارتی B13 را شامل می‌شود. از سوی دیگر، عوامل خارجی عمدتاً شامل عفونت‌های دستگاه تناسلی، سیگار کشیدن، قرار گرفتن در معرض آفت‌کش‌ها و آلاینده‌های محیطی می‌باشد. با این حال، به نظر می‌رسد بی‌تحرکی کامل اسپرم با اختلالات ژنتیکی مرتبط باشد.[۸] حرکت اسپرم به‌عنوان یک مکانیسم پیچیده بیوشیمیایی و مولکولی از نظر ژنتیکی توسط DNA میتوکندریایی (mtDNA) و DNA هسته‌ای (nDNA) کنترل می‌شود. بنابراین، علاوه بر عوامل دیگر، یکپارچگی ژنومی DNA میتوکندریایی و DNA هسته‌ای نقش مهمی در حفظ تحرک خوب اسپرم ایفا می‌کند.[۹] بر اساس شواهد، انرژی سلولی برای حرکت اسپرم از طریق فسفریلاسیون اکسیداتیو در میتوکندری، به‌عنوان تولیدکننده اصلی ATP، از طریق زنجیره انتقال الکترون تولید می‌شود.[۶] DNA میتوکندریایی اسپرم، مستعد آسیب اکسیداتیو و جهش‌هایی است که می‌تواند عملکرد اسپرم را به خطر بیاندازد و منجر به ناباروری شود. نقص در عملکرد میتوکندری اسپرم به شدت تولید و حفظ انرژی مورد نیاز برای تحرک اسپرم را دچار اختلال می‌کند و می‌تواند یکی از دلایل زمینه‌ای آستنوزواسپرمی باشد.[۱۰] شواهد نشان می‌دهد که DNA هسته‌ای و DNA میتوکندریایی به یکدیگر وابسته هستند، بنابراین، به نظر می‌رسد آسیب DNA هسته‌ای می‌تواند پیش‌بینی قابل اعتمادی از اختلال در تحرک اسپرم باشد. دلایل آسیب DNA هسته‌ای به‌طور کامل شناخته نشده است. اما، بررسی‌ها نشان می‌دهند که افزایش گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) درون سلولی یا خارج سلولی و بدنبال آن استرس اکسیداتیو نقش مهمی در بروز آسیب DNA هسته دارند. لیپیدها، پروتئین‌ها، DNA و RNA موجود در اسپرم بسترهای مناسبی برای تولید ROS هستند، با این‌حال اسپرم ظرفیت آنتی‌اکسیدانی اندوژن محدودی دارد. بنابراین، اسپرم‌ها مستعد آسیب اکسیداتیو هستند که به نوبه خود می‌تواند بر DNA هسته و DNA میتوکندری تأثیرگذار باشد.[۹] طی چند دهه اخیر، بررسی‌ها پیرامون درمان آستنوزواسپرمی بر تنظیم هورمون‌ها، تجویز آنتی‌اکسیدان‌ها، تأمین انرژی برای اسپرم، تأمین عناصر کمیاب و تکنیک‌های کمک باروری (ATR) متمرکز شده است.[۱۱] در این دوره جدید از تکنیک‌های کمک باروری، در برخی موارد می‌توان با استفاده از تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم (ICSI) بر آستنوزواسپرمی غلبه کرد و به لقاح و بارداری دست یافت.[۴] علاوه بر این، استفاده از درمان‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کوآنزیم (Q10) و اسید آسپارتیک می‌تواند گزینه مناسبی برای درمان و بهبود آستنوزواسپرمی ایدیوپاتیک باشد.[۱۲،۳] بنابراین، به دلیل تأثیر عوامل ژنتیکی و غیر ژنتیکی مختلف در بروز آستنوزواسپرمی، این باور وجود دارد که بررسی علل آستنوزواسپرمی از اهمیت بالایی برخوردار است. آزمون تانل (TUNEL)، پراکندگی کروماتین اسپرم (SCD)، آزمون ساختار کروماتین اسپرم (SCSA) و آزمون Comet فراگمنتاسیون DNA اسپرم (SDF) را اندازه‌گیری می‌کنند. TUNEL نوکلئوتید نشان‌دار را به نقاط شکست DNA اضافه می‌کند و سپس میزان فلوئورسانس را ارزیابی می‌کند. SCD بر اساس تشکیل حلقه اطراف هسته توسط DNA سالم بعد از داناتوره شدن و حلقه کوچکتر یا عدم وجود حلقه توسط DNA قطعه‌قطعه شده است. SCSA نیز از آکریدین اورانژ (AO) استفاده می‌کند و نسبت DFI را اندازه‌گیری می‌کند، به‌عنوان نسبت بین فلوئورسانس قرمز (AO متصل شده به DNA تک رشته در نقاط شکست) و فلوئورسانس سبز (AO متصل شده به DNA دو رشته سالم) تعریف می‌شود. آزمون Comet، که یک الکتروفورز تک‌سلولی است که در آن DNA قطعه‌قطعه شده به شکل دم در انتهای Comet شکل می‌گیرد، در حالی‌که DNA سالم در سر Comet باقی می‌ماند. این آزمون‌ها به‌منظور مطالعه SDF در حوزه ART مورد استفاده قرار می‌گیرند.[۱۳] از این رو، هدف از مطالعه حاضر این است که برای اولین‌بار میزان آسیب DNA هسته با استفاده از دو روش TUNEL و SCSA و ارتباط آن با پارامترهای اسپرمی، سن و شاخص توده‌بدنی (BMI) افراد در جمعیت بزرگی از افراد مبتلا به آستنوزواسپرمی شدید (درصد تحرک کمتر از ۲ درصد) و نرموزواسپرمی مورد ارزیابی و مقایسه قرار گیرد.

روش کار

تمام مواد شیمیایی و معرف‌ها که برای ساخت بافرها و محلول‌ها در این مطالعه استفاده شده است، از شرکت مرک (Merck, Darmstadt, Germany) خریداری گردید، مگر مواردی که در متن به جزئیات آن‌ها پرداخته شده است.

روش بررسی

در مطالعه کوهورت گذشته‌نگر کنونی، داده‌های مربوط به پارامترهای اسپرمی و آسیب DNA اسپرم ۱۱۱ فرد مبتلا به آستنوزواسپرمی شدید و ۱۱۳ فرد نرموزواسپرمی از میان ۱۰۰۰۰ فرد نابارور مراجعه‌کننده به مرکز باروری و ناباروری اصفهان در فاصله زمانی اسفند ماه ۱۳۹۶ تا مرداد ماه ۱۴۰۱ استخراج شد. لازم به ذکر است که داده‌های مربوط به این ۱۰۰۰۰ فرد نابارور در راستای اهداف متفاوتی مورد تجزیه و تحلیل‌های آماری مختلف قرار گرفت، که در این مطالعه تمرکز اصلی بر افراد آستنوزواسپرمی شدید بود. شایان ذکر است که این مطالعه در کمیته اخلاق علمی پژوهشگاه رویان بررسی شد و با کد IR.ACECR.ROYAN.REC.1401.031 مورد تصویب قرار گرفت.

معیارهای ورود و خروج

از بین ۱۰۰۰۰ نمونه اسپرمی، افرادی به‌عنوان گروه آستنوزواسپرمی شدید وارد مطالعه شدند که دارای تحرک اسپرم کمتر از ۲ درصد بودند، اما بر اساس استاندارد سازمان بهداشت جهانی ۲۰۲۱ درصد مورفولوژی غیرطبیعی کمتر از ۹۶ درصد و تعداد کل اسپرم آنها بیش از ۳۹ میلیون در هر انزال می‌باشد.[۵] با این‌حال، افراد مبتلا به آستنوزواسپرمی شدید دارای مورفولوژی و یا تعداد کل اسپرم در محدوده طبیعی یا غیرطبیعی بودند. بنابراین، فقط معیار تحرک اسپرم کمتر از ۲ درصد است که همه افراد گروه آستنوزواسپرمی شدید را شامل می‌شد. در رابطه با افراد نرموزواسپرمی، ۱۱۳ نمونه اسپرمی دارای حدآستانه طبیعی بر اساس استاندارد سازمان بهداشت جهانی ۲۰۲۱ بودند و تحرک اسپرم≤۴۲ درصد، درصد تحرک پیشرونده ≤۳۰ درصد، مورفولوژی غیرطبیعی اسپرم ≥ ۹۶ درصد و تعداد کل اسپرم ≤ ۳۹ میلیون در هر انزال، برای این مطالعه در نظر گرفته شد.[۵،۱۴]

ارزیابی پارامترهای اسپرمی

پس از اخذ شرح حال افراد نابارور، درصورتیکه ۲-۷ روز پرهیز از مقاربت داشتند، یک ظرف استریل درجه‌بندی شده جهت اخذ نمونه به بیمار تحویل داده شد. ارزیابی پارامترهای اسپرمی (حجم مایع منی، تعداد، غلظت، تحرک و موروفولوژی اسپرم) افراد مبتلا به آستنوزواسپرمی شدید و افراد نوروموزواسپرمی مطابق با استانداردهای سازمان جهانی بهداشت ۲۰۱۰ انجام شد.[۱۵]

ارزیابی آسیب DNA اسپرم به دو روش TUNEL و SCSA

در این مطالعه، برای ارزیابی میزان آسیب DNA اسپرم از دو روش TUNEL و SCSA استفاده شد. به‌طور خلاصه، پس از تعیین غلظت نمونه اسپرم، برای ارزیابی به روش TUNEL از هر نمونه بین ۲ تا ۴ میلیون اسپرم جداسازی و با استفاده از بافر فسفات سالین (PBS) شست و شو داده شد. سپس، نمونه اسپرم با استفاده از پارافرمالدهید ۴ درصد به مدت ۳۰ دقیقه تثبیت شد. پس از شست و شوی نمونه‌ها با PBS، نمونه اسپرم برای ۵ دقیقه در دمای محیط، در تریتون X-۱۰۰ (Merck, Darmstadt, Germany) قرار داده شد. روند رنگ‌آمیزی طبق پروتکل شرکت سازنده کیت تانل (Promega, Mannheim, Germany) انجام شد. در پایان، از رنگ پروپیدیوم یدید (1µg/ml) برای رنگ‌آمیزی هسته با هدف شمارش سلول استفاده شد. ارزیابی آسیب DNA اسپرم توسط دستگاه فلوسایتومتری (BD Bioscience, San Jose, CA, USA) انجام و میزان آسیب DNA اسپرم به صورت درصد گزارش شد. برای ارزیابی آسیب DNA اسپرم با روش SCSA از دستورالعمل ایونسون ۱۶ استفاده شد. در این روش، دو میلیون اسپرم جداسازی شد و با بافر TNE (50mM Tris HCL, pH 7.4, 100mM NaCl, 0.1 mM EDTA) به حجم ۱ میلی‌لیتر رسید. در مرحله بعد، محلول اسید دترجنت افزوده شد و سپس محلول رنگ آکریدین اورانژ نارنجی (Sigma, St. louis, USA) اضافه گردید. در پایان، از دستگاه فلوسایتومتری (BD Bioscience, San Jose, CA, USA) برای ارزیابی میزان آسیب DNA اسپرم استفاده شد. میزان آسیب DNA به صورت درصد شاخص قطعه‌قطعه شدن DNA (DFI) و درصد رنگ‌پذیری بالای DNA (HSD) گزارش شد.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های حاصل از این مطالعه با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۰ (IBM Crop, Armonk, SPSS 20) انجام شد. برای مقایسه دو میانگین از آزمون t دو نمونه مستقل استفاده شد. از ضریب همبستگی پیرسون برای تعیین ارتباط بین میزان آسیب DNA اسپرم و هر یک از پارامترهای اسپرمی، سن و شاخص توده بدنی (BMI) افراد استفاده شد. تفاوت میانگین‌ها در سطح $P<0/05$ معنادار در نظر گرفته شد.

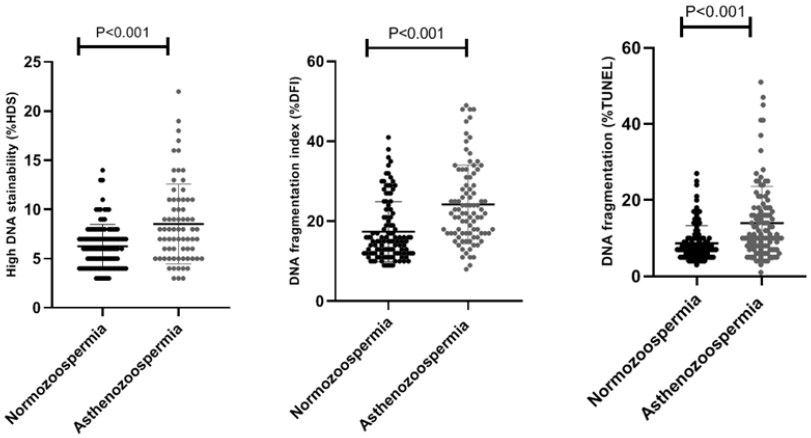
یافته‌ها

مقایسه میانگین سن، پارامترهای اسپرمی و شاخص توده بدنی (BMI) افراد مبتلا به آستنوزواسپرمی شدید و نرموزواسپرمی در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که میانگین سن و شاخص توده بدنی افراد در دو گروه مورد مطالعه تفاوت آماری معنی‌داری نداشتند. در حالی‌که، میانگین پارامترهای مایع منی شامل حجم مایع منی، غلظت اسپرم، تعداد کل اسپرم، درصد

حرکت کلی و درصد حرکت پیش‌رونده اسپرم از لحاظ آماری به‌طور معنی‌داری در افراد مبتلا به آستنوزواسپرمی شدید در مقایسه با افراد نرموزواسپرمی کمتر بود (P<۰/۰۰۱)، در رابطه حرکت اسپرم، به دلیل انتخاب گروه‌های مورد مطالعه بر اساس تحرک اسپرم (آستنوزواسپرمی شدید در برابر نوروموزواسپرمی) این تفاوت معنی‌دار انتظار می‌رفت. علاوه بر این، میانگین درصد اسپرم‌ها با موروفولوژی غیرطبیعی در افراد مبتلا به آستنوزواسپرمی شدید به‌طور معنی‌داری بیشتر از افراد نرموزواسپرمی بود (P<۰/۰۰۱). با توجه به شکل ۱، میانگین درصد آسیب DNA اسپرم بدست آمده با روش TUNEL در افراد مبتلا به آستنوزواسپرمی شدید (۹۵/۶۸±۱۳/۹) به‌طور معنی‌داری در مقایسه با افراد نرموزواسپرمی (۴/۶۳±۸/۶۸) بیشتر است (P<۰/۰۰۱). به‌طور مشابه، میانگین درصد آسیب DNA اسپرم بدست آمده با روش SCSA در گروه آستنوزواسپرمی شدید (۹/۸۲±۲۴/۲۱) به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه نرموزواسپرمی (۳۸/۵۰±۱۷/۷) بود (P<۰/۰۰۱). علاوه بر این، نتایج رنگ‌پذیری بالای DNA (HSD%) نیز نشان داد که میانگین این متغیر نیز به‌طور معنی‌داری در افراد مبتلا به آستنوزواسپرمی شدید (۴/۰۶±۸/۵۳) در مقایسه با افراد نرموزواسپرمی (۲/۲۱±۶/۲۵) بیشتر است (P<۰/۰۰۱). نتایج حاصل از برآورد ضریب همبستگی پیرسون بین متغیرهای مختلف در جمعیت نرموزواسپرمی ارتباط مثبت و معنی‌داری بین میزان آسیب DNA اسپرم بدست آمده با دو روش TUNEL و SCSA و غلظت و تعداد کل اسپرم نشان داد. علاوه بر این، ارتباط منفی و معنی‌داری بین میزان آسیب DNA اسپرم بدست آمده با روش SCSA و پارامترهای تحرک اسپرم مشاهده شد. همچنین، ارتباط مثبت و معنی‌داری بین میزان آسیب DNA اسپرم بدست آمده با روش TUNEL و مورفولوژی غیرطبیعی اسپرم وجود داشت، در حالی‌که، این ارتباط بین میزان آسیب DNA اسپرم بدست با روش SCSA و مورفولوژی غیرطبیعی اسپرم مشهود اما معنی‌دار نبود جدول ۲. نتایج حاصل از برآورد ضریب همبستگی پیرسون بین متغیرهای مختلف در جمعیت افراد مبتلا به آستنوزواسپرمی شدید در جدول۳ نشان داد که ارتباط مثبت و معنی‌داری بین میزان آسیب DNA اسپرم بدست آمده با دو روش TUNEL و SCSA با غلظت و تعداد کل اسپرم و همچنین سن افراد مبتلا به آستنوزواسپرمی شدید وجود داشت.

جدول ۱. مقایسه پارامترهای اسپرمی، سن مردان و شاخص توده بدنی بین افراد آستنوزواسپرمی شدید و افراد نرموزواسپرمی

پارامترهای مطالعه	انحراف معیار± میانگین		سطح معنی‌داری
	نرموزواسپرمی	آستنوزواسپرمی	
سن مرد (سال)	۳۸/۰۲±۵/۴۹	۳۸/۱۶±۷/۸۷	۰/۸۸۰
حجم مایع منی(ml)	۴/۴۸±۱/۸۵	۳/۴۳±۱/۸۷	P<۰/۰۰۱
غلظت اسپرم($ml/10^6$)	۶۷/۸±۳۶/۵	۱۹/۴۵±۲۵/۴۳	P<۰/۰۰۱
تعداد کل اسپرم(10^6/انزال)	۳۰۲/۴۳±۲۳۱/۰۴	۶۱/۸±۷۷/۸۶	P<۰/۰۰۱
تعداد کل حرکت اسپرم (%)	۶۰/۳۸±۱۴/۱۲	۰/۴۸±۰/۶۹	P<۰/۰۰۱
تعداد کل حرکت پیشرونده (%)	۳۷/۹±۱۱/۱۲	۰/۱±۰/۰۴	P<۰/۰۰۱
مورفولوژی غیر طبیعی اسپرم (%)	۸۷/۹±۵/۸۲	۹۶/۱۶±۴/۸۵	P<۰/۰۰۱
شاخص توده بدنی (BMI)	۲۵/۹±۴/۰۳	۲۶/۷۳±۵/۴۴	P<۰/۰۰۱



شکل ۱. مقایسه میانگین درصد آسیب DNA اسپرم بین افراد نرموزواسپرمی و آستنوزواسپرمی شدید. دو روش برای بررسی آسیب DNA اسپرم استفاده شد. نتایج به‌صورت درصد قطعه‌قطعه شدن DNA اسپرم برای تست TUNEL، و درصد قطعه‌قطعه شدن DNA اسپرم (DFI%) و درصد رنگ‌پذیری بالای DNA (HDS%) برای تست SCSA بیان گردید.

TUNEL: Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling; SCSA: sperm chromatin structure assay; HDS: high DNA stainability index; DFI: DNA Fragmentation Index.

جدول۲. ارتباط بین درصد آسیب DNA اسپرم با پارامترهای اسپرمی، سن مردان و شاخص توده بدن در افراد نرموزواسپرمی

پارامترهای مطالعه	شاخص فرگمنتاسیون DNA(%DFI) r (*P*)	درصد فرگمنتاسیون DNA(%TUNEL) r (*P*)	رنگ‌پذیری بالا DNA(%HDS) r (*P*)
حجم مایع منی(ml)	-۰/۰۹ (۰/۳۴)	-۰/۰۴ (۰/۶۳)	۰/۰۵ (۰/۶۲)
غلظت اسپرم(ml/۱۰^۶)	۰/۲۷** (۰/۰۰۳)	۰/۲۸**(۰/۰۰۳)	-۰/۰۴ (۰/۷)
تعداد کل اسپرم(۱۰^۶/انزال)	۰/۲* (۰/۰۳)	۰/۲۴*(۰/۰۱)	۰/۰۰۱(۰/۱)
تعداد کل حرکت اسپرم (%)	-۰/۲* (۰/۰۳)	-۰/۱۴ (۰/۱۱)	۰/۰۳ (۰/۷۴)
تعداد کل حرکت پیشرونده (%)	-۰/۲۳*(۰/۰۱)	-۰/۱۸ (۰/۰۵)	۰/۱۶ (۰/۰۷)
مورفولوژی غیر طبیعی اسپرم (%)	۰/۱۸ (۰/۰۵)	۰/۱۹*(۰/۰۴)	-۰/۰۶ (۰/۵)
سن مرد (سال)	۰/۱۷ (۰/۰۶)	۰/۱۸ (۰/۰۵)	-۰/۰۵ (۰/۶۵)
شاخص توده بدنی (BMI)	۰/۰۹(۰/۴۲)	۰/۰۹(۰/۴)	۰/۰۳ (۰/۷۷)

*: $P<۰/۰۵$

**: $P<۰/۰۱$

جدول۳. ارتباط بین درصد آسیب DNA اسپرم با پارامترهای اسپرمی، سن مردان و شاخص توده بدن در افراد آستنوزواسپرمی شدید

پارامترهای مطالعه	شاخص فرگمنتاسیون DNA(%DFI) r (*P*)	درصد فرگمنتاسیون DNA(%TUNEL) r (*P*)	رنگ‌پذیری بالا DNA(%HDS) r (*P*)
حجم مایع منی(ml)	-۰/۰۶ (۰/۵۲)	-۰/۱ (۰/۳)	-۰/۱۲۵ (۰/۳)
غلظت اسپرم(ml/۱۰^۶)	۰/۲۷**(۰/۰۱)	۰/۳۸ **(۰/۰۰۰)	-۰/۱۶ (۰/۱۷)
تعداد کل اسپرم(۱۰^۶/انزال)	۰/۱۸ (۰/۰۸)	۰/۲۳۶ *(۰/۰۱)	-۰/۲۱ (۰/۰۸)
تعداد کل حرکت اسپرم (%)	۰/۱۶(۰/۱۴)	۰/۱۳ (۰/۲)	۰/۰۱(۰/۸۷)
تعداد کل حرکت پیشرونده (%)	۰/۰۱ (۰/۹)	۰/۰۶ (۰/۴۸)	۰/۰۵ (۰/۶۳)
مورفولوژی غیر طبیعی اسپرم (%)	۰/۰۳ (۰/۷۲)	۰/۰۲ (۰/۷۶)	۰/۱۳ (۰/۲۸)
سن مرد (سال)	۰/۲۵ * (۰/۰۱)	۰/۲۴ * (۰/۰۱)	-۰/۲ (۰/۱)
شاخص توده بدنی (BMI)	۰/۰۶ (۰/۶)	۰/۰۰۲ (۰/۹۸)	-۰/۰۸ (۰/۵۶)

*: $P<۰/۰۵$

**: $P<۰/۰۱$

بحث

آستنوزواسپرمی اختلالی است که در بیش از ۴۰ درصد از مردان نابارور قابل تشخیص است. بر اساس میزان اختلال در تحرک اسپرم، آستنوزواسپرمی به گروه‌های خفیف، متوسط و شدید تقسیم می‌شود. بر اساس بررسی‌های انجام شده کمتر از ۱ درصد از اسپرم‌های انزالی در مردان مبتلا به آستنوزواسپرمی شدید حرکت پیش‌رونده دارند، که نتایج مطالعه ما را تائید می‌کند.[۸] نتایج مطالعه حاضر نشان داد که آستنوزواسپرمی شدید با کاهش حجم مایع منی، کاهش غلظت و تعداد اسپرم و افزایش موروفولوژی غیرطبیعی اسپرم‌ها همراه است. هم‌راستا با نتایج مطالعه ما، عبدالرحمان و همکاران نشان دادند که مردان مبتلا به آستنوزواسپرمی از تحرک کلی و پیشرونده پایین اسپرم و درصد بالایی از مورفولوژی غیرطبیعی اسپرم و شاخص تراتوزواسپرمی در مقایسه با مردان نرموزواسپرمی برخوردار هستند.[۶] شواهد نشان می‌دهد که آستنوزواسپرمی شدید با ناهنجاری‌های مختلف در اسپرم ارتباط دارد. در واقع، اسپرم افراد مبتلا به آستنوزواسپرمی شدید، تغییرات DNA میتوکندریایی و هسته‌ای و افزایش تولید ROS را نشان می‌دهد که می‌تواند پارامترهای اسپرمی را تحت تاثیر قرار دهد.[۹] در سطح مولکولی، تغییرات DNA میتوکندری و فعالیت آنزیم‌های میتوکندریایی اسپرم، از جمله کمپلکس‌های زنجیره انتقال الکترون (ETC) با پارامترهای اسپرم از جمله غلظت، تحرک و حیات اسپرم مرتبط است و می‌تواند باعث کاهش عملکرد اسپرم و ناباروری مردان شود.[۳] علاوه بر این، تغییرات ژنومی نیز در DNA هسته‌ای افراد مبتلا به آستنوزواسپرمی شدید در مطالعه بونانو و همکاران مشاهده شده است و این افراد میزان بالایی از فراگمانتاسیون DNA هسته‌ای (بیش از ۱۰ درصد) را نشان دادند.۹ که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد.[۹] فراتر از نقص در ساختار پروتئین یا اختلال ژنتیکی که ممکن است باعث آستنوزواسپرمی شود، برخی از فرآیندهای فیزیولوژیکی در طول بلوغ یا انزال اسپرم می‌تواند بر تحرک اسپرم تأثیر بگذارد. هنگامی که شرایط فیزیولوژیکی غیرقابل کنترل می‌شوند به شرایط پاتولوژیکی تبدیل می‌شوند و بنابراین اثرات نامطلوب بر تحرک اسپرم برجسته‌تر می‌شود.[۱۷] یکی از این پدیده‌های فیزیولوژیکی طی بلوغ، انزال و لقاح اسپرم، تولید ROS است. تولید بیش از حد ROS باعث تخریب ساختاری و شروع بسیاری از مسیرهایی می‌شود که منجر به حذف اسپرم از مسیر لقاح طبیعی می‌شود.[۱۸] ROS توسط میتوکندری‌های اسپرم، که منبع قابل توجهی از ROS هستند، به شکل قطرات سیتوپلاسمی (بقایای سیتوپلاسم) در اسپرم تولید می‌شود.[۳] بر اساس شواهد، فراگمانتاسیون DNA هسته‌ای با تولید ROS و استرس اکسیداتیو همبستگی دارد و افزایش تولید ROS در میتوکندری باعث شکست DNA هسته‌ای می‌شود.[۱۹، ۲۰] بنابراین، اختلال عملکرد میتوکندری با افزایش تولید ROS و استرس اکسیداتیو می‌تواند در پاتوژنز آستنوزواسپرمی و ناباروری مردان نقش داشته باشد.[۹] یکی از نتایج جالب توجه در مطالعه ما، وجود ارتباط مثبت و معنی‌دار بین میزان آسیب DNA اسپرم بدست آمده با هر دو روش TUNEL و SCSA و تعداد کل و غلظت اسپرم هم در مردان مبتلا به آستنوزواسپرمی شدید و هم در مردان نرموزواسپرمی بود، بدیهی است که اختلال در کیفیت اسپرم می‌تواند وضعیت روانی بیمار را تشدید کند و به‌طور مستقیم بر عملکرد جنسی بیمار تأثیرگذار باشد. بنابراین، افزایش دوره پرهیز جنسی به دلایلی چون اختلال نعوظ می‌تواند باعث افزایش حجم مایع منی و غلظت اسپرم شود. قابل ذکر است که عدم انزال پیامدهای نامطلوبی بر تحرک، حیات و آسیب DNA اسپرم دارد. اسپرماتوزوآ اغلب طی بلوغ و نگهداری در اپیدیدیم قبل از انتقال به وزیکول سمینال در معرض ROS قرار می‌گیرند. پرهیز جنسی طولانی مدت ممکن است منجر به تجمع ROS و تشدید آسیب اکسیداتیو اسپرم از جمله آسیب DNA اسپرم در افراد نابارور شود.[۲۱، ۲۲] بنابراین، تعداد اسپرم تولید شده در حد طبیعی می‌باشد ولی این اسپرم‌ها کیفیت مناسب و عملکرد طبیعی ندارند. در مطالعه حاضر، ما تلاش کردیم تا با مقایسه میانگین درصد اسپرم‌های با مورفولوژی غیرطبیعی در مردان مبتلا به آستنوزواسپرمی شدید با مردان نرموزواسپرمی، ارتباط بین نقص‌های مورفولوژیکی اسپرم و فراگمانتاسیون DNA هسته‌ای اسپرم را ارزیابی کنیم. نتایج ما نشان داد که در افراد مبتلا به آستنوزواسپرمی شدید در مقایسه با مردان نرموزواسپرمی میانگین درصد اسپرم‌های با مورفولوژی غیرطبیعی و میزان آسیب DNA هسته‌ای اسپرم به‌طور معنی‌داری بیشتر بود و ارتباط مثبت ضعیفی بین میزان آسیب DNA اسپرم و مورفولوژی غیرطبیعی اسپرم در افراد نرموزواسپرمی و نه در افراد مبتلا به آستنوزواسپرمی شدید مشاهده شد. هم‌راستا با مطالعه حاضر، نگوین و همکاران گزارش کردند به‌طور کلی هیچ ارتباطی بین میزان آسیب DNA اسپرم و مورفولوژی غیرطبیعی اسپرم با استفاده از برآورد ضریب همبستگی پیرسون وجود ندارد.[۲۳] در حالی‌که، جیکوب اولیاس و همکاران گزارش دادند، بر اساس برآورد ضریب همبستگی اسپیرمن، میزان آسیب DNA اسپرم ارتباط مثبتی با موروفولوژی غیرطبیعی اسپرم و شاخص تراتوزواسپرمیا داشت.[۲۴] علاوه براین، داریس و همکاران نشان

دادند که درصد بالایی از اسپرم‌های دارای ناهنجاری‌های سر در نمونه‌های اسپرم درصد بالایی از فراگمانتاسیون DNA هسته‌ای را نشان دادند.[۲۵] در واقع، اختلال در تراکم کروماتین می‌تواند باعث شکست DNA اسپرم شود و ساختار DNA را مختل کند و به‌طور غیرمستقیم علت اصلی مورفولوژی غیرطبیعی اسپرم باشد. البته باید در نظر داشت که روش ارزیابی آسیب DNA اسپرم و روش‌های آماری ارزیابی ضریب همبستگی می‌تواند در تفاوت نتایج مطالعات تأثیرگذار باشد. از دیگر نتایجی که در مطالعه حاضر بدست آمد وجود یک رابطه مثبت و معنی‌دار بین سن مردان مبتلا به آستنوزواسپرمی شدید با میزان آسیب DNA هسته‌ای اسپرم بدست آمده با هر دو روش TUNEL و SCSA بود، که با نتایج دونگ و همکاران مطابقت داشت.[۲۶] در حالی‌که این یافته‌ها با گزارش‌های سایر نویسندگان که هیچ رابطه‌ای بین میزان آسیب DNA هسته اسپرم و سن مردان یافت نکردند، در تضاد است.[۲۷-۲۹] به‌طور کلی، افزایش آسیب DNA هسته اسپرم می‌تواند در کاهش پیامدهای کلینیکی درمان ناباروری از جمله لقاح، کیفیت جنین، حاملگی، تولد زنده و حتی سلامت نسل بعد نقش داشته باشد و امکان ابتلا به اختلالاتی چون اوتیسم، دوقطبی و غیره را -که علت اصلی این ناهنجاری‌ها سن بالای پدر گزارش شده است،- در نسل آینده افزایش دهد.[۳۰] هنگامی که آستنوزواسپرمی شدید در افراد نابارور تشخیص داده می‌شود، اولین قدم در درمان، شناسایی منشأ آن و تعریف بهترین گزینه درمانی برای آن می‌باشد. برای همه افراد مبتلا به آستنوزواسپرمی شدید یا مطلق، ICSI توصیه خواهد شد.[۲۱] با توجه به اینکه، کاهش کیفیت اسپرم در افراد مبتلا به آستنوزواسپرمی شدید، می‌تواند ناشی تظاهرات معمول آسیب‌های ناشی از ROS باشد، لذا برای بهبود تحرک اسپرم، رویکرد درمانی مناسب می‌تواند استفاده از آنتی اکسیدان‌های رایج باشد.[۳] از این رو، مشاوره و درمان مناسب اختلال در کیفیت مایع منی می‌تواند به بهینه‌سازی نتایج بارداری کمک کند.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه بین میزان آسیب DNA با غلظت اسپرم و سن افراد مبتلا به آستنوزواسپرمی شدید ارتباط مثبتی وجود دارد. در مردان نابارور با کیفیت پایین اسپرم و با افزایش سن، به دلیل عوامل روانی، اختلال در عملکرد جنسی مانند اختلال نعوظ و پرهیز جنسی طولانی مدت مشاهده می‌شود، که بر القای استرس اکسیداتیو و متعاقب آن افزایش آسیب DNA اسپرم تأثیرگذار است. تحرک و آسیب DNA اسپرم و سن پدر برای لقاح موفق، تکوین جنین و سلامت نسل آینده حائز اهمیت می‌باشند. بنابراین، سنجش آسیب DNA اسپرم در بررسی باروری مردان و انتخاب رویکرد درمانی مناسب بر اساس شدت آسیب DNA برای مردان نابارور به‌ویژه مردان مبتلا به آستنوزواسپرمی شدید توصیه می‌شود.

محدودیت‌ها

با توجه به اینکه این مطالعه فقط در جمعیت مردان مبتلا به آستنوزواسپرمی شدید انجام شد و اطلاعات حاصل مربوط به تنها یک مرکز درمانی است، باید توجه داشت که نتایج این مطالعه محدود به این گروه خاص از افراد است، لذا در تعمیم‌پذیری نتایج به جمعیت کلی افراد مبتلا به ناباروری با علل مختلف محدودیت وجود دارد. برای افزایش قابلیت تعمیم نتایج به جامعه‌ی کلی، انتخاب یک جامعه گسترده‌تر که بتواند نماینده بهتری از نمونه‌ها باشد، به عنوان مثال، انتخاب نمونه‌ها از چندین مرکز باروری و یا از مناطق مختلف، می‌تواند کمک‌کننده باشد.

قدردانی

نویسندگان از مسؤولین و کارکنان پژوهشکده زیست فناوری جانوری رویان و مرکز باروری و ناباروری اصفهان سپاسگزار هستند.

مشارکت پدیدآوران

محمدحسین نصراصفهانی و مرضیه تولائی: ایده‌پردازی، طراحی اثر، تحلیل و تفسیر داده‌ها و نقد و بررسی مقاله. علی نصراصفهانی، کوثر پاشائی، پریا بهداروندیان و مریم اربابیان: بررسی تست‌ها، جمع‌آوری داده‌ها، بررسی و نگارش مقاله. نوشین نادری: تحلیل و تفسیر داده‌ها و نگارش مقاله.

منابع مالی

برای انجام این مطالعه، هیچ‌گونه حمایت مالی دریافت نشده است.

دسترس‌پذیری داده‌ها

همه داده‌های ایجاد شده در مطالعه حاضر در این مقاله گنجانده شده است.

ملاحظات اخلاقی

این پروژه تحقیقاتی در کمیته اخلاق پژوهشگاه رویان با کد اخلاق IR.ACECR.ROYAN.REC.1401.031 به تصویب رسیده است.

تعارض منافع

بدینوسیله پدیدآوران اعلام می‌کنند که این اثر حاصل یک پژوهش مستقل بوده و هیچگونه تضاد منافعی با سازمان‌ها و اشخاص دیگر ندارد.

References

1. Castañeda JM, Miyata H, Ikawa M, Matzuk MM. Sperm Defects. In: Skinner MK, editor. Encyclopedia of Reproduction. 2nd ed. Oxford: Academic Press; 2018. PP: 276-81.
2. Liu C, Tu C, Wang L, Wu H, Houston BJ, Mastrorosa FK, et al. Deleterious variants in X-linked CFAP47 induce asthenoteratozoospermia and primary male infertility. Am J Hum Genet. 2021;108(2):309-23. doi: 10.1016/j.ajhg.2021.01.002
3. Shahrokhi SZ, Salehi P, Alyasin A, Taghiyar S, Deemeh MR. Asthenozoospermia: Cellular and molecular contributing factors and treatment strategies. Andrologia. 2020;52(2):e13463. doi: 10.1111/and.13463
4. Mobberley MA. Electron microscopy in the investigation of asthenozoospermia. Br J Biomed Sci. 2010;67(2):92-100. doi: 10.1080/09674845.2010.11730302
5. World Health O. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 6th ed. Geneva: World Health Organization; 2021. PP: 276.
6. Abd Elrahman MM, El Makawy AI, Hassanane MS, Alam SS, Hassan NHA, Amer MK. Assessment of correlation between asthenozoospermia and mitochondrial DNA mutations in Egyptian infertile men. J Genet Eng Biotechnol. 2021;19(1):11. doi: 10.1186/s43141-020-00111-0
7. Dcunha R, Hussein RS, Ananda H, Kumari S, Adiga SK, Kannan N, et al. Current Insights and Latest Updates in Sperm Motility and Associated Applications in Assisted Reproduction. Reprod Sci. 2022;29(1):7-25. doi: 10.1007/s43032-020-00408-y
8. Chen T, Fan D, Wang X, Mao C, Chu Y, Zhang H, et al. ICSI outcomes for infertile men with severe or complete asthenozoospermia. Basic Clin Androl. 2022;32(1):6. doi: 10.1186/s12610-022-00155-x
9. Bonanno O, Romeo G, Asero P, Pezzino FM, Castiglione R, Burrello N, et al. Sperm of patients with severe asthenozoospermia show biochemical, molecular and genomic alterations. Reproduction. 2016;152(6):695-704. doi: 10.1530/rep-16-0342
10. Durairajanayagam D, Singh D, Agarwal A, Henkel R. Causes and consequences of sperm mitochondrial dysfunction. Andrologia. 2021;53(1):13666. doi: 10.1111/and.13666
11. Wu X, Chen D, Zhou Y, Xia T. Efficacy of electroacupuncture for the treatment of asthenozoospermia: A protocol for systematic review and meta-analysis. Medicine (Baltimore). 2021;100(4):23350. doi: 10.1097/md.0000000000023350
12. Tirabassi G, Vignini A, Tiano L, Buldreghini E, Brugè F, Silvestri S, et al. Protective effects of coenzyme Q10 and aspartic acid on oxidative stress and DNA damage in subjects affected by idiopathic asthenozoospermia. Endocrine. 2015;49(2):549-52. doi: 10.1007/s12020-014-0432-6
13. Agarwal A, Farkouh Aa, Parekh N, Zini A, Arafa M, Kandil H, et al. Sperm DNA Fragmentation: A Critical Assessment of Clinical Practice Guidelines. World J Mens Health. 2022;40(1):30-7.
14. Boitrelle F, Shah R, Saleh R, Henkel R, Kandil H, Chung E, et al. The Sixth Edition of the WHO Manual for Human Semen Analysis: A Critical Review and SWOT Analysis. Life (Basel). 2021;11(12):1368. doi: 10.3390/life11121368
15. World Health O. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th ed. Geneva: World Health Organization; 2010. PP: 15.
16. Evenson DP. Sperm chromatin structure assay (SCSA®). Methods Mol Biol. 2013;927:147-64. doi: 10.1007/978-1-62703-038-0_14
17. Collins GG, Rossi BV. The impact of lifestyle modifications, diet, and vitamin supplementation on natural fertility. Fertil Res Pract. 2015;1:11. doi: 10.1186/s40738-015-0003-4
18. Aitken RJ. Reactive oxygen species as mediators of sperm capacitation and pathological damage. Mol Reprod Dev. 2017;84(10):1039-52. doi: 10.1002/mrd.22871
19. Aitken RJ, De Iuliis GN. On the possible origins of DNA damage in human spermatozoa. Mol Hum Reprod. 2010;16(1):3-13. doi: 10.1093/molehr/gap059
20. Aitken RJ, De Iuliis GN, Finnie JM, Hedges A, McLachlan RI. Analysis of the relationships between

oxidative stress, DNA damage and sperm vitality in a patient population: development of diagnostic criteria. Hum Reprod. 2010;25(10):2415-26. doi: 10.1093/humrep/deq214

21. Ortega C, Verheyen G, Raick D, Camus M, Devroey P, Tournaye H. Absolute asthenozoospermia and ICSI: what are the options? Hum Reprod Update. 2011;17(5):684-92. doi: 10.1093/humupd/dmr018
22. Yu X, Zhang X, Wang Q. Sexual dysfunction is more common among men who have high sperm DNA fragmentation or teratozoopermia. Scientific Reports. 2022;12(1):22427. doi: 10.1038/s41598-022-27006-z.
23. Nguyen HTT, Dang HNT, Nguyen TTT, Nguyen TV, Dang TC, Nguyen QHV, et al. Correlations between abnormalities of morphological details and DNA fragmentation in human sperm. Clin Exp Reprod Med. 2022;49(1):40-8. doi: 10.5653/cerm.2021.04777
24. Jakubik-Uljasz J, Gill K, Rosiak-Gill A, Piasecka M. Relationship between sperm morphology and sperm DNA dispersion. Transl Androl Urol. 2020;9(2):405-15. doi: 10.21037/tau.2020.01.31
25. Daris B, Goropevsek A, Hojnik N, Vlaisavljević V. Sperm morphological abnormalities as indicators of DNA fragmentation and fertilization in ICSI. Arch Gynecol Obstet. 2010;281(2):363-7. doi: 10.1007/s00404-009-1140-y
26. Dong S, Chen C, Zhang J, Gao Y, Zeng X, Zhang X. Testicular aging, male fertility and beyond. Front Endocrinol (Lausanne). 2022;13:1012119. doi: 10.3389/fendo.2022.1012119
27. Nijs M, De Jonge C, Cox A, Janssen M, Bosmans E, Ombelet W. Correlation between male age, WHO sperm parameters, DNA fragmentation, chromatin packaging and outcome in assisted reproduction technology. Andrologia. 2011;43(3):174-9. doi: 10.1111/j.1439-0272.2010.01040.x
28. Brahem S, Mehdi M, Elghezal H, Saad A. The effects of male aging on semen quality, sperm DNA fragmentation and chromosomal abnormalities in an infertile population. J Assist Reprod Genet. 2011;28(5):425-32. doi: 10.1007/s10815-011-9537-5
29. Winkle T, Rosenbusch B, Gagsteiger F, Paiss T, Zoller N. The correlation between male age, sperm quality and sperm DNA fragmentation in 320 men attending a fertility center. J Assist Reprod Genet. 2009;26(1):41-6. doi: 10.1007/s10815-008-9277-3
30. Aitken RJ. Role of sperm DNA damage in creating de-novo mutations in human offspring: the 'post-meiotic oocyte collusion' hypothesis. Reprod Biomed Online. 2022;45(1):109-24. doi: 10.1016/j.rbmo.2022.03.012