زیست‌شناسی جانوری، سال پانزدهم، شماره اول، پاییز ۱۴۰۱، صفحات ۲۴۳- ۲۳۳

مقاله پژوهشی

# مقایسه پارامترهای اسپرم و میزان آسیب DNA در مردان نابارور مبتلا به واریکوسل و چاقی

مهشید الهی[۱]، ویدا حجتی[۱]، محمود هاشمی تبار[۲*]، مهسا افروغ[۳]، حسین محمدپورکارگر[۱]

۱- گروه زیست‌شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران

۲- مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، پژوهشکده علوم پایه پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، اهواز، ایران

۳- گروه پژوهشی بیولوژی تولیدمثل، مرکز تحقیقات و درمان ناباروری جهاددانشگاهی خوزستان، اهواز، ایران

* مسئول مکاتبات: hashemi.tabar.m@gmail.com

DOI: 10.22034/ascij.2022.1954994.1375

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۱/۲۲

## چکیده

واریکوسل و چاقی از علل شایع در ناباروری مردان است که می‌تواند تاثیر منفی بر اسپرماتوژنز بگذارد. هدف از این مطالعه بررسی پارامترهای اسپرمی و همبستگی بین میزان آسیب DNA در بیماران مبتلا به چاقی و بیماران مبتلا به واریکوسل در مقایسه با افراد نرمال بود. به طور کلی ۲۱۰ نمونه که به ترتیب شامل ۹۵ نمونه مایع سیمن مربوط به مردان نابارور چاق،۵۰ نمونه سیمن مردان نابارور مبتلا به واریکوسل و ٦۵ مرد نرمال با محدوده سنی ۲۷ الی ۵۰ سال که شرایط ورود به مطالعه را داشتند، بودند. از سایر نمونه‌ها جداسازی و بر اساس پارامترهای سازمان بهداشت جهانی آنالیز مایع سیمن مورد بررسی قرار گرفت و سپس ارزیابی میزان شکنندگی DNA اسپرم برای نمونه‌های مذکور صورت پذیرفت که در نهایت درصد تست DNA Fragmentation Index (DFI) در شرایط یکسان برای نمونه‌ها تعیین گردید. مردان نابارور چاق در مقایسه با افراد نرمال کاهش معنی‌دار در تعداد اسپرم، تحرک اسپرم، مورفولوژی اسپرم و افزایش معنی دار در آسیب DNA نشان دادند ($p < ۰/۰۰۱$). همچنین همبستگی منفی معنی‌دار بین DFI با پارامترهای اسپرم در مردان نابارور چاق مشاهده گردید بدین صورت که با افزایش میزان DFI سایر پارامترها کاهش را نشان دادند. در افراد نابارور چاق DFI با پارامترهای اسپرم از جمله تعداد (r= -۰/۱۷۱)، حرکت (r= -۰/٤٦۷ ) و مورفولوژی اسپرم (r= -۰/۳۱٤) همبستگی منفی داشت. در افراد نابارور مبتلا به واریکوسل در مقایسه با افراد نرمال کاهش معنی‌دار در تعداد اسپرم، تحرک اسپرم، مورفولوژی اسپرم و افزایش معنی‌دار در آسیب DNA مشاهده گردید. همچنین همبستگی منفی معنی‌دار بین پارامترها و DFI مشاهده شد. بدین صورت که با افزایش میزان DFI سایر پارامترها کاهش یافتند. در بیماران واریکوسل DFI با پارامترهای اسپرم از جمله تعداد (r= -۰/٤٦٦)، حرکت ( r= -۰/٤۱۳) و مورفولوژی (r= -۰/٤۸٤) همبستگی منفی وجود داشت. نتایج نشان داد که واریکوسل و چاقی علاوه بر کاهش کیفیت پارامترهای اسپرمی بر سلامت DNA اسپرم تاثیر منفی دارد. همچنین همبستگی منفی معنی‌داری بین میزان قطعه قطعه شدن DNA با پارامترهای اسپرمی مشاهده شد که نشان می دهد این موارد می توانند بر روند اسپرماتوژنز اثرات سو بگذارند.

**کلمات کلیدی:** ناباروری، تحرک اسپرم، تعداد اسپرم، مورفولوژی اسپرم، DFI، چاقی، واریکوسل.

## مقدمه

ناباروری ۱۰ الی ۱۵ درصد از زوجین در سنین باروری را در سراسر جهان تحت تاثیر قرار می‌دهد (۲۱). ۲۰ الی ۵۰ درصد از علل ناباروری در زوج ها مربوطه به فاکتور مردانه که بصورت مستقل یا ترکیب

با فاکتور زنانه است (۲۰). واریکوسل افزایش قطر عروق شبکه پامپینی فرم در کیسه بیضه است. این عارضه در بین مردان شایع هستند و شیوع آنها تقریباً ۱۵ درصد است (۱۱). واریکوسل تقریباً در ۴۰ درصد بیماران مبتلا به ناباروری اولیه و ۸۰ درصد با ناباروری ثانویه یافت می‌شود (۳، ۱۰). این نشان می-دهد که علاوه بر سایر علل ناباروری با فاکتور مردانه، واریکوسل نقش مهمی ایفا می کند (۳۱). چاقی یک بیماری سیستمیک است که دارای چندین مکانیسم مرتبط است و به محیطی غیرمطلوب برای تولید اسپرم کمک می کند (٦).

چاقی با مکانیسم‌های متابولیکی و غیر متابولیکی سبب ناباروری در مردان می شود. چاقی با اختلال در خصوصیات مورفولوژیک و مولکولی اسپرم سبب اختلال اسپرماتوژنز می‌شود. این وضعیت می‌تواند بر میزان موفقیت باروری در مردان تأثیر بگذارد. بافت چربی پپتیدهای فعال زیستی مانند لپتین و آدیپونکتین و همچنین عوامل پیش التهابی از جمله TNF-α و IL-6 ترشح می‌کند. چاقی با تولید آدیپونکتین‌ها و سیتوکین‌ها توسط آدیوپوسیت‌ها که منجر به افزایش التهاب سیستمیک می‌شود، یک حالت پیش‌التهابی محسوب می‌شود (۳٦). آنالیز مایع سیمن قدم اول در بررسی درمان ناباروری مردان است (٤).

بر اساس طبقه بندی WHO نمونه سیمن به چند گروه از جمله نورمواسپرمیا، الیگواسپرمیا، آستنواسپرمیا، تراتواسپرمیا، لوکوسیتواسپرمیا و آزواسپرمیا و ترکیبی تقسیم بندی می‌شوند (۲۹).

آزمایش آنالیز مایع سیمن به تنهایی برای ارزیابی ناباروری مردان کافی نیست و نیاز به تحقیقات بیشتری برای شناسایی روش های تشخیص ناباروری در مردان می‌باشد. لذا با توجه به اینکه افراد دارای اسپرم معیوب و همچنین در موارد ناباروری با علت نامشخص کاندید استفاده از روش‌های کمک باروری می‌شوند و در آن‌ها آسیب موجود در DNA اسپرم این مردان، منجر به عدم موفقیت در درمان می‌گردد، لذا قبل از انتخاب روش درمانی مناسب نیاز به ارزیابی میزان شکست DNA اسپرم می‌باشد. در این تحقیق در نظر است با مقایسه پارامترهای مایع سیمن و DFI ارتباط بین کیفیت پارامترهای اسپرم و DFI در مردان نابارور مبتلا به چاقی و واریکوسل مورد بررسی قرار گیرد.

## مواد و روش‌ها

برای انتخاب نمونه‌های دارای شرایط مطالعه تعداد ۱۰۰۰ پرسشنامه از بین مراجعه کنندگان به آزمایشگاه آندرولوژی مرکز تحقیقاتی و درمانی ناباروری جهاد دانشگاهی خوزستان در بازه زمانی ۱۳۹۸ الی ۱۴۰۰ برای ارائه اطلاعات مربوط به معیارهای ورود و خروج از مطالعه تکمیل گردید، سپس افراد سیگاری، الکلی، معتاد به مواد مخدر و افراد با سابقه بیماری کبدی، قلبی، تومور و جراحت بیضه، عفونت بیضه، عفونت کلیه و مجاری ادراری، سنگ کلیه، سنگ مثانه، سرطان، هپاتیت، چربی خون، فشارخون، فتق، پروستات، کولیت، اوریون، صرع، کم‌خونی، مشکلات عصبی و افرادی که در ۳ ماه قبل از نمونه گیری دارای تب باالا بودند از این مطالعه خارج شدند. این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد سمنان (شماره پروتکل IR.IAU.SEMNAN.REC. 1399.013) تأیید شد و رضایت آگاهانه از افراد مراجعه کننده به مرکز برای استفاده از نمونه های مایع سیمن تهیه گردید.

در این مطالعه در مجموع ۲۱۰ نمونه انتخاب شد که به ترتیب ۹۵ نمونه مربوط به افراد چاق، ۵۰ نمونه مبتلا به واریکوسل، ٦۵ نمونه نرمال را شامل می شود. سپس بر اساس پارامترهای سازمان بهداشت جهانی (WHO) آنالیز مایع سیمن انجام شد. سپس آزمایش

ارزیابی میزان شکنندگی DNA اسپرم برای نمونه‌های مذکور صورت پذیرفت و در نهایت درصد تست DNA Fragmentation Index (DFI) در شرایط یکسان برای نمونه‌ها تعیین گردید.

**آنالیز اسپرم:** ابتدا نمونه مورد مطالعه انتخاب شده را درون انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده سپس بعد از مایع شدن نمونه مذکور از انکوباتور خارج گردید و ۱۰ میکرولیتر از نمونه روی لام قرار گرفت سپس روی آن لامل گذاشته شد و با لنز عدسی ۴۰ میکروسکوپ معمولی میزان غلظت، تحرک نمونه بررسی شد. جهت بررسی مورفولوژی اسپرم، از نمونه سیمن اسمیر تهیه شد. پس از خشک شدن اسمیر، با استفاده از رنگ‌آمیزی پاپانیکولائو بررسی شد، سپس نتایج ثبت گردید.

**تست ارزیابی میزان شکنندگی DNA اسپرم:** بعد از آنالیز اسپرم با توجه به تعداد اسپرم حجمی از نمونه برداشته شد با توجه به دستور کار کیت Sperm DNA Fragmentation Assay (SDFA) پژوهشکده ابن سینا (Dayan Zist co., Iran) سپس دو مرتبه با بافر PBS به مدت ۵ دقیقه با سانتریفیوژ دور ۳۰۰g شستشو داده شد و در نهایت سوسپانسیونی تهیه گردید سپس میکروتیوب‌های ۰/۵ میلی‌لیتری حاوی ژل آگارز را به مدت ۵ دقیقه در بن ماری با دمای ۹۵ درجه سانتیگراد قرار گرفت تا آگارز داخل آن بطور کامل ذوب گردد و سپس به دمای ۳۷ درجه سانتیگراد رسید و سوسپانسون اسپرم به آن اضافه شد و به آرامی مخلوط شد سپس روی لام‌های تیمار شده موجود در کیت یک قطره (۲۰ میکرولیتر) از مخلوط فوق قرار داده شد و روی آن یک لامل قرار گرفت و به آرامی روی سطح لامل فشار ایجاد گردید سپس بلافاصله لام‌ها به مدت ۵ دقیقه داخل یخچال با دمای ۸-۲ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. در مرحله بعد لام‌ها از یخچال خارج گردیدند و به آرامی لامل از روی حفره‌ها برداشته شد بعد از آن از محلول دناتوره کننده A روی حفره‌ها ریخته و بعد از ۷ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق و شرایط تاریکی با کج کردن لام اضافی محلول بطور کامل از روی حفره‌ها تخلیه گردید. سپس محلول لیزکننده B روی حفره‌ها ریخته به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه گردید و بعد از طی شدن مدت زمان به مدت ۵ دقیقه با آب مقطر شستشو داده شد و با کج کردن لام آب مقطر از روی حفره‌ها تخلیه شد سپس با غوطه ور نمودن لام در درصدهای صعودی اتانول ۷۰، ۹۰ و ۱۰۰ درصد هر کدام به مدت ۲ دقیقه عمل آبگیری انجام شد. مرحله بعد برای رنگ‌آمیزی لام و مشاهده هاله اطراف سر اسپرم، محلول رنگ‌آمیزی C را روی حفره‌ها ریخته و به مدت ۷۵ ثانیه در دمای اتاق انکوبه گردید سپس با کج کردن لام محلول اضافی از روی لام خارج شد بعد از آن محلول رنگ‌آمیزی D روی حفره‌ها ریخته و به مدت ۳ دقیقه در دمای اتاق انکوبه گردید سپس با کج کردن لام محلول اضافی از روی لام خارج شد در نهایت محلول رنگ‌آمیزی E روی حفره‌ها ریخته و به مدت ۲ دقیقه در دمای اتاق انکوبه گردید سپس با کج کردن لام محلول اضافی از روی لام خارج شد سپس با جریان غیرمستقیم آب شهر شستشو داده شد و لام-ها در دمای اتاق قرار گرفتند تا کاملا خشک شوند. سپس با عدسی ۱۰۰ حداقل ۳۰۰ اسپرم شمارش گردید و بصورت اسپرم‌های دارای هاله و اسپرم‌های فاقد هاله گزارش نوشته شد و درصد SDF برای هر نمونه مشخص گردید. سپس تفسیر نمونه‌ها با SDF کمتر از ۱۵ درصد نمونه با میزان شکست خیلی پایین، نمونه‌ها با SDF بین ۳۰-۱۵ درصد نمونه با میزان شکست پایین و نمونه‌ها با SDF بالاتر از ۳۰ درصد نمونه با میزان شکست بالا گزارش شد.

**روش آماری:** تجزیه و تحلیل آماری داده‌های مطالعه حاضر با استفاده ازنسخه شماره ۲۲ نرم‌افزار SPSS

(IBM Corp., Armonk, NY, USA) انجام شد. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار از میانگین (SD) گزارش شد. آزمون نرمال سنجش شاپیروویک مقادیر DFI و پارامترهای مایع سیمن نشان داد که توزیع این داده‌ها غیر نرمال می‌باشد. بنابراین جهت مقایسه آماری داده‌ها با استفاده از آزمون غیرپارامتریک Mann whitney صورت گرفت. در مواردی که $p \leq$ ۰/۰۵ محاسبه شد، اختلاف معنی‌دار محسوب گردید. سپس آزمون اسپیرمن دو سویه جهت تجزیه و تحلیل همبستگی داده‌های مربوط DFI با پارامترهای مایع سیمن در مردان نابارور مبتلا به واریکوسل و چاقی مورد استفاده قرار گرفت.

## نتایج

**آنالیز اسپرم:** نتایج حاصل از ارزیابی پارامترها در گروه‌های مختلف نشان داد که میانگین داده‌های مربوط به تعداد اسپرم به ترتیب در گروه نرمال، واریکوسل و چاق ۲۰/۷۰ ± ۵۷/۴۲، ۱۰/۸۰۱۰۶ ± ۲۲/۴۸۰۰ و ۳۵/۴۰ ± ۴۹/۳۴ میزان تحرک به ترتیب در گروه نرمال، واریکوسل و چاق به درصد ۷/۰۳۹۷۹ ± ۴۰/۱۳۸۵، ۸/۴۵۳۹۶ ± ۲۷/۰۰۰۰ و ۹/۶۱ ± ۳۲/۵۶ مورفولوژی به ترتیب در گروه نرمال، واریکوسل و چاق ۱/۲۱۹۲۴ ± ۳/۸۳۰۸، ۰/۵۸۴۱۴ ± ۱/۱۶۰۰ و ۱/۴۶۱۹۵ ± ۲/۰۳۱۶ می‌باشد (جدول ۲).

**بررسی آسیب DNA:** میزان شکستگی DNA به ترتیب در گروه نرمال، واریکوسل و چاق به درصد ۴/۸۹ ± ۱۹/۰۴، ۵/۰۸۰۱۳ ± ۲۶/۲۲۰۰ و ۷/۵۴۶۶۹ ± ۲۶/۵۴۷۴ می‌باشد (جدول ۲). همچنین تجزیه و تحلیل همبستگی اسپیرمن بین DFI با پارامترهای سیمن از جمله تعداد، حرکت و مورفولوژی در مردان نابارور چاق و مردان مبتلا به واریکوسل رابطه منفی معنی‌داری را نشان داد (جدول ۳).

جدول۱- شیوع غیر طبیعی کیفیت مایع سیمن در گروه‌های مورد مطالعه

| گروه ها | نرخ غیر طبیعی کیفیت مایع منی | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | آستنواسپرمیا | تراتوزواسپرمیا | الیگواسپرمیا | الیگوآستنواسپرمیا | الیگوتراتواسپرمیا | الیگوآستنواسپرمیا |
| نرمال | ۱/۵ ٪ (۱) | ۲۶/۲ ٪ (۱۷) | ۰ | ۰ | ۰ | ۰ |
| چاق | ٪۱/۲ (۲) | ٪۴۶/۳ (۴۴) | ۰ | ٪۱/۲ (۲) | ٪۱/۱ (۱) | ٪۲۰ (۱۹) |
| واریکوسل | ٪۷۸ (۳۹) | ٪۶ (۳) | ۰ | ۰ | ۰ | ٪۱۶ (۸) |

جدول ۲- مقایسه پارامترهای اسپرم و میزان شکستگی DNA اسپرم در گروه‌های واریکوسل و چاقی در مقایسه با گروه نرمال

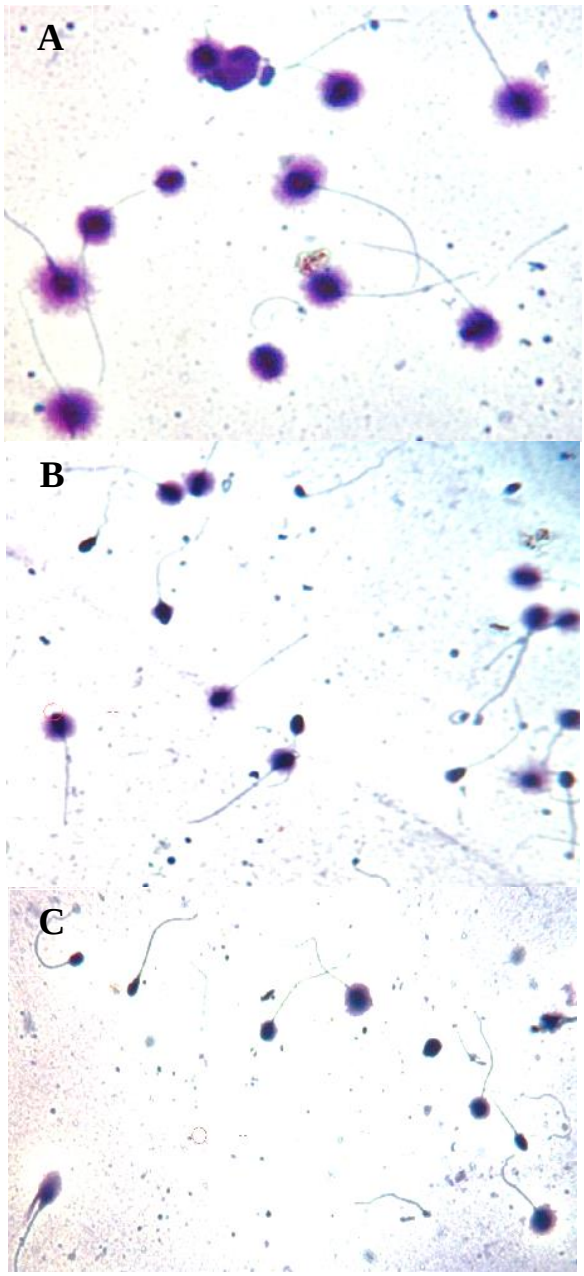
| گروه‌ها | تعداد اسپرم | حرکت اسپرم | مورفولوژی اسپرم | میزان شکستگی DNA اسپرم |
|---|---|---|---|---|
| نرمال (تعداد: ۶۵) | ۲۰/۶۹۴۱۲ ± ۵۷/۴۱۵۴ | ۷/۰۳۹۷۹ ± ۴۰/۱۳۸۵ | ۱/۲۱۹۲۴ ± ۳/۸۳۰۸ | ۴/۸۸۷۵۸ ± ۱۹/۰۴۶۲ |
| واریکوسل (تعداد: ۵۰) | ۱۰/۸۰۱۰۶ ± ۲۲/۴۸۰۰ | ۸/۴۵۳۹۶ ± ۲۷/۰۰۰۰ | ۰/۵۸۴۱۴ ± ۱/۱۶۰۰ | ۵/۰۸۰۱۳ ± ۲۶/۲۲۰۰ |
| چاق (تعداد: ۹۵) | ۳۵/۴۰۰۰۷ ± ۴۹/۳۴۷۴ | ۹/۶۱۴۶۱ ± ۳۲/۵۵۷۹ | ۱/۴۶۱۹۵ ± ۲/۰۳۱۶ | ۷/۵۴۶۶۹ ± ۲۶ /۵۴۷۴ |
| سطح معنی داری | * ۰/ ۰۰۱ > | * ۰/۰۰۱ > | * ۰/۰۰۱ > | * ۰/ ۰۰۱ > |

* $p <$ ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته می‌شود.

جدول ۳- همبستگی بین DFI با پارامترهای سیمن در بیماران مبتلا به واریکوسل و چاقی

| متغیر | ضریب | غلظت اسپرم | تحرک اسپرم | موفولوژی اسپرم |
|---|---|---|---|---|
| چاقی (DFI) | همبستگی | - ۰/۱۷۱ | -۰/٤٦٧ | -۰/۳۱٤ |
| | سطح معنی داری | ۰/ ۰۳۱ * | < ۰/۰۰۱ * | < ۰/۰۰۱ * |
| واریکوسل (DFI) | همبستگی | -۰/٤٦٦ | -۰/٤۱۳ | -۰/٤۸٤ |
| | سطح معنی داری | < ۰/ ۰۰۱ * | < ۰/۰۰۱* | < ۰/ ۰۰۱ * |

* $p < ۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته می‌شود.




**شکل ۱**- آسیب DNA اسپرم در بیماران مبتلا به واریکوسل، چاقی و افراد نرمال (A گروه نرمال، B گروه چاق و C گروه واریکوسل).

**بحث**

بر اساس طبقه‌بندی مورد استفاده در مطالعه حاضر، شیوع پارامترهای غیرطبیعی مایع سیمن در بین بیماران مبتلا به چاقی و بیماران مبتلا به واریکوسل مراجعه کننده به کلینیک درمان ناباروری به ترتیب ۶۹/۸ و ۱۰۰ درصد بود. آستنواسپرمی، تراتوزواسپرمی و الیگوآستنواسپرمی بیشترین شیوع را داشتند که نشان داد این ۳ نوع ناهنجاری از عوامل اصلی کاهش کیفیت مایع سیمن در بیماران ناباروری مرد بوده و بر باروری مردان نیز تأثیر داشته است. در گروه‌های واریکوسل و چاق در مقایسه با گروه نرمال در تعداد، حرکت و مورفولوژی اسپرم و میزان شکست DNA اسپرم تفاوت وجود داشت. تجزیه و تحلیل سیمن با آزمایش پارامترهای معمولی، روش اولیه برای ارزیابی باروری مردان می‌باشد مشخص است که تجزیه و تحلیل معمول سیمن می‌تواند پیش بینی محدودی در مورد قدرت باروری مردان ارائه دهد و همیشه قادر به توضیح علت ناباروری مردان نیست. در واقع، بسیاری از موارد ناباروری مردان ناشی از نقص DNA اسپرم است که تجزیه و تحلیل معمول کیفیت سیمن در تشخیص آنها ناموفق است (۱).

آسیب DNA اسپرم در طی اسپرماتوژنز و بلوغ رخ می‌دهد که در آن قطعات شکسته DNA در سلول‌های اسپرم در نتیجه کروموزوم‌های آسیب‌دیده و اختلال در یکپارچگی DNA تولید می‌شود (۷).

نظریه دیگر برای پاتوفیزیولوژی ناباروری در بیماران واریکوسل مربوط به افزایش استرس اکسیداتیو است. این امر با آسیب DNA اسپرم، از جمله قطعه قطعه شدن DNA، مرتبط است و با کاهش ظرفیت اسپرم‌ها برای بارور کردن تخمک‌ها در طول لقاح طبیعی و تکنیک‌های کمک‌باروری ارتباط دارد. مطالعات همچنین شیوع بیشتر قطعه قطعه شدن DNA در بیماران واریکوسل و ارتباط بین وجود واریکوسل و اختلال در یکپارچگی DNA اسپرم را گزارش کرده‌اند (۱۷، ۲۰).

در مطالعه ای در سال ۲۰۱۱ SDF بالاتر در مردان بارور و نابارور مبتلا به واریکوسل نسبت به گروه کنترل گزارش شده بود (۱۶).

مطالعات همچنین شیوع بیشتر قطعه قطعه شدن DNA در بیماران واریکوسل و ارتباط بین وجود واریکوسل و اختلال در یکپارچگی DNA اسپرم را گزارش کرده‌اند (۳۰).

سطوح SDF بسیار بدتری در مردان نابارور مبتلا به واریکوسل در مقایسه با همتایان بدون واریکوسل مشاهده شده است. این با پارامترهای مایع منی بدتر، آپوپتوز اولیه اسپرم و پتانسیل غشای میتوکندری غیر طبیعی همراه بود (۲۷).

مطالعات متعددی نشان داده‌اند که افزایش SDF بر میزان باروری تأثیر منفی می‌گذارد (۱۲، ۲۶).

تأثیر منفی SDF بر توانایی باروری مردان ممکن است پزشکان بیشتری را تشویق کند تا از آزمایش SDF در محیط بالینی استفاده کنند (۲). تعیین آسیب DNA اسپرم، به عنوان یک مکمل مهم برای استراتژی‌های معمول بررسی سیمن، در برخی از آزمایشگاه‌های بالینی آندرولوژی در سراسر جهان استفاده شده است. اینکه چه عواملی ممکن است منجر به آسیب DNA اسپرم شود یکی از نگرانی‌های اصلی است. شواهد فزاینده‌ای برای ارتباط بین چاقی و ناباروری مردان وجود داشت. گزارش شد که چاقی ارتباط تنگاتنگی با ناباروری مردان دارد (۹). ثابت شده که سطح بالای قطعه قطعه شدن DNA اسپرم (۳۰ ≤ (SDF) به دنبال لقاح طبیعی و یا روش‌های کمک‌باروری میزان باروری را کاهش می‌دهد. علت اصلی SDF پیچیده و هنوز نامشخص است، اما می‌تواند ناشی از نقص در اسپرماتوژنز در پی آسیب‌های بیضه و عواملی مانند

سموم و اختلالات هورمونی باشد. چاقی یکی از عوامل بالقوه در شیوه زندگی است که می‌تواند سطح استرس اکسیداتیو و در نتیجه آسیب DNA را در اندام‌های مختلف بدن از جمله بیضه‌ها و سلول‌های زایا افزایش دهد (۳۴). چاقی و متابولیسم غیرطبیعی چربی‌ها و تغییر هورمون های تولید مثل ممکن است منجر به کاهش کیفیت اسپرم شود (۱۸، ۱۹). چاقی و اضافه وزن میتواند منجر به هیپوگنادیسم، اختلال در اسپرماتوژنز، افزایش دمای کیسه بیضه و افزایش آسیب DNA اسپرم شود و شاخص توده بدنی بالا با تعداد کل اسپرم، غلظت اسپرم، مورفولوژی اسپرم و تعداد اسپرم‌های متحرک رابطه معکوس دارد (۱۴، ۲۲).

آسیب به کروماتین اسپرم می‌تواند مستقیماً بر عملکردهای طبیعی اسپرم تأثیر بگذارد (۲۴). رابطه بین شاخص آسیب DNA اسپرم (DFI) و پارامترهای سیمن هنوز مبهم و بحث برانگیز است. در حالی که برخی از مطالعات همبستگی خوبی را گزارش کردند (۱۳، ۲۸).

سایر مطالعات هیچ ارتباطی بین DFI و پارامترهای اسپرم انسان پیدا نکردند (۱۶، ۳۲) که با مشاهدات ما مغایرت داشت. در این مطالعه نتایج حاصل از ارزیابی درصد قطعه قطعه شدن DNA اسپرم نشان‌دهنده افزایش DFI در بیماران گروه واریکوسل و گروه چاق در مقایسه با گروه نرمال بود همچنین در این مطالعه همبستگی منفی معنی‌داری بین متغیر DFI در بیماران چاق و واریکوسل با تعداد اسپرم، تحرک اسپرم و شکل اسپرم نشان داده شد، این نتایج نشان داد که آسیب DNA اسپرم می‌تواند منجر به کاهش تحرک اسپرم در مردان نابارور مبتلا به چاقی گردد. در این مطالعه نشان داد شد که بین DFI با پارامترهای سیمن از جمله میزان تحرک اسپرم، تعداد اسپرم و مورفولوژی اسپرم در گروه نرمال و گروه بیماران نابارور مبتلا به واریکوسل ارتباط منفی و معنی‌داری وجود دارد که با گزارش Zini و همکاران که مطرح شده بود میزان SDF به طور کلی در مردان نابارور مبتلا به واریکوسل بیشتر از افراد نابارور بدون واریکوسل است مطابقت دارد. علاوه بر این، گروه بیماران مبتلا به واریکوسل پارامترهای اسپرمی ضعیف‌تری نسبت به گروه بیماران نابارور بدون واریکوسل داشتند (۳۸). در یک مطالعه کاهش قابل توجهی درمیزان DFI پس از واریکوسلکتومی نشان داده شد این مطالعه همچنین نشان داد که هرچه DFI قبل از عمل بیشتر باشد، کاهش DFI بعد از عمل بیشتر است (۸). در طی مطالعه‌ای دیگر در گروه مردان نابارور درصد آسیب DNA بالایی مشاهده شده است (۵). دربرخی گزارش‌ها از لحاظ آماری ارتباط معنی‌داری بین میزان قطعه قطعه شدن DNA اسپرم با پارامترهای اسپرم از جمله تحرک اسپرم، مورفولوژی و غلظت مشاهده گردید (۳۷).

سیوانارایانا و همکارانش در سال ۲۰۱۴ گزارش کردند که اسپرم با قطعه قطعه شدن DNA با پارامترهای مایع منی ارتباط منفی دارد و با افزایش DFI غلظت، تحرک و مورفولوژی طبیعی به طور قابل توجهی کاهش داشت (۳۵). با مشاهدات ما در مورد مورفولوژی و کاهش تحرک اسپرم با افزایش DFI سازگار بود. علاوه بر این موریل و همکاران در مطالعه‌ای گزارش داد که درصد اسپرم با تحرک پیشرونده در مایع سیمن با درصد سلول‌ها باهاله کوچک و با درصد سلول‌های اسپرم با هاله بزرگ همبستگی مثبت دارد، که نشان‌دهنده ارتباط بین تحرک پیشرونده و DNA سالم است. به طور کلی، آسیب DNA اسپرم با تحرک اسپرم ارتباط منفی داشت (۲۳) که با مشاهدات ما در مورد تحرک اسپرم یکسان بود. در بعضی از مطالعات هیچ ارتباطی بین DFI و پارامترهای اسپرم یافت نشد (۱۵، ۳۳). در

صورتیکه در مطالعه ما رابطه منفی معنی‌داری بین DFI با مورفولوژی و میزان تحرک اسپرم نشان داده شد. در مطالعه‌ی رفیق دوست و همکاران نیز رابطه معکوس معنی‌داری بین DFI و پارامترهای غلظت، تحرک و مورفولوژی اسپرم نشان دادند (۲۵) که با مشاهدات ما در مورد تحرک اسپرم و مورفولوژی مطابقت داشت.

## نتیجه‌گیری

بیماری واریکوسل و چاقی با میزان ناباروری و قطعه قطعه شدن DNA اسپرم رابطه دارد و بررسی سلامت DNA اسپرم باید بعنوان یک آزمون عملکردی مهم بیشتر مورد توجه قرار گیرد همچنین در بررسی های انجام شده شیوع اختلالات آستنواسپرمیا و تراتواسپرمیا به ترتیب در میان مردان نابارور مبتلا به واریکوسل و مردان نابارور چاق بیشتر بود.

## منابع


1. Agarwal A., Allamaneni S.S. 2005. Sperm DNA damage assessment: a test whose time has come. *Fertility and Sterility*, 84(4):850-853.

2. Agarwal A., Majzoub A., Esteves S.C., Ko E., Ramasamy R., Zini A. 2016. Clinical utility of sperm DNA fragmentation testing: practice recommendations based on clinical scenarios. *Transl Andrology and Urology*, 5:935-950.

3. Alsaikhan B., Alrabeeah K.H., Delouya G., Zini A. 2016. Epidemiology of varicocele. *Asian Journal of Andrology*, 18(2):179-181.

4. Andrade Rocha F.T. 2003. Semen analysis in laboratory practice: An overview of routine tests. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 17(6): 247-258.

5. Avendano C., Franchi A., Taylor S., Morshedi M., Bocca S., Oehninger S. 2009. Fragmentation of DNA in morphologically normal human spermatozoa. *Fertility and Sterility*, 91(4):1077-1084.

6. Kahn B.E., Brannigan R.E. 2017. Brannigan.Obesity and male infertility. *Current Opinion Urology*, 27 (5) :441-445.

7. Barratt C.L., Aitken R.J., Bjorndahl L. 2010. Sperm DNA: organization, protection and vulnerability: from basic science to clinical applications-a position report. *Hum Reprod*. 25 (4): 824-38.

8. Birowo P., Wijaya J.R., Atmoko W., Rasyid N. 2020. The effects of varicocelectomy on the DNA fragmentation index and other sperm parameters: a meta-analysis. *Basic and Clinical Andrology*, 30:15.

9. Cabler S, Agarwal A, Flint M, du Plessis SS. 2010. Obesity: Modern man's fertility nemesis. *Asian Journal of Androl*ogy, 12(4): 480-489.

10. Cho CL, Esteves SC, Agarwal A. 2016. Novel insights into the pathophysiology of varicocele and its association with reactive oxygen species and sperm DNA fragmentation. *Asian Journal of Andrology*, 18(2):186 735.

11.Clarke B.G.1966. Incidence of varicocele in normal men and among men of different ages. *JAMA*, 198(10):1121–2.

12. Esteves S.C., Roque M., Bradley C.K., Garrido N. 2017. Reproductive outcomes of testicular versus ejaculated sperm for intracytoplasmic sperm injection among men with high levels of DNA fragmentation in semen: systematic review and meta-analysis. *Fertility and Sterility*, 108 (3):456-67.

13. Evgeni E., Lymberopoulos G., Touloupidis S., Asimakopoulos B. 2015. Sperm nuclear DNA fragmentation and its association with semen quality in Greek men. *Andrologia*, 47(10): 1166- 1174.

14. Kasturi S.S., Tannir J., Brannigan R.E. 2008. The metabolic syndrome and male

23. Muriel L., Meseguer M., Fernandez J.L. 2006. Value of the sperm chromatin dispersion test in predicting pregnancy outcome in in- trauterine insemination: a blind prospective study. *Human Reproduction*, 21(3):738-744.

24. Osman A., Alsomait H., Seshadri S. 2015. The effect of sperm DNA fragmentation on live birth rate after IVF or ICSI: a systematic review and meta-analysis. *Reproductive BioMedicine Online*, 30:120-127.

25. Rafighdoost H., Farsi M.M., Javadi M., Khafri S. 2013. Relationship between sperm parameters and DNA Fragmentation using a Halosperm kit. Anatomical Sciences Journal 10(2):79-85.

26. Robinson L., Gallos I.D., Conner S.J., Rajkhowa M., Miller D., Lewis S. 2012. The effect of sperm DNA fragmentation on miscarriage rates: a systematic review and meta-analysis. *Human Reproductive*, 27(10): 2908-2917.

27. Roque M., Esteves S.C. 2018. Effect of varicocele repair on sperm DNA fragmentation: a review. *International Urology and Nephrology*, 50(4):583-603.

28. Samplaski M.K., Dimitromanolakis A., Lo KC, et al. 2015. The relationship between sperm viability and DNA fragmentation rates. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 13: 42.

29. Saremi A.T., Zamanian M., Pooladi A. 2018. Male Infertility Effective Factors and Failure Type Determination in Iranian Infertile Men. *Sarem Journal of Reproductive Medicine*, 2(1):3-8.

30. Schauer I., Madersbacher S., Jost R., Hübner W.A., Imhof M. 2012. The impact of varicocelectomy on sperm parameters: a meta-analysis. *Journal of Urology*, 187(5): 1540–1547.

31. Sedaghatpour D., Berookhim B.M. 2017. The Role of Varicocele in Male Factor Subfertility. *Men's Health (A Dabaja, Section Editor)*, 18(9):73.

infertility. *Journal of Androl*ogy, 29(3): 251e9.

15. Khalili M.A., Aghaie-Maybodi F., Anvari M., Talebi A.R. 2006. Sperm nuclear DNA in ejaculates of fertile and infertile men: correlation with semen parameters. *Urology Journal*, 3(3):154-159.

16.L. Zini A., Dohle G. 2011. Are varicoceles associated with increased deoxyribonucleic acid fragmentation? *Fertility and Sterility*, 9(6): 1283-1287.

17. Li M.W., Lloyd K.C.K. 2020. DNA fragmentation index (DFI) as a measure of sperm quality and fertility in mice. *Scientific Reports*, 10(1):1-11.

18. Lu J.C., Jing J., Dai J.Y., Zhao A.Z., Yao Q., Fan K. 2015. Body mass index, waistto-hip ratio, waist circumference and waist-to-height ratio cannot predict male semen quality:A report of 1231 subfertile Chinese men. *Andrologia*, 47(9):1047-1054.

19. Lu J.C., Jing J., Yao Q., Fan K., Wang G.H., Feng R.X. 2016. Relationship between lipids levels of serum and seminal plasma and semen parameters in 631 Chinese subfertile men. *PLoS One*, 11: e0146304.

20. Birowo P., Rahendra Wijaya J., Atmoko W., Rasyid N. 2020. The effects of varicocelectomy on the DNA fragmentation index and other sperm parameters: a meta-analysis. *Basic and Clinical Andrology*, 30:15

21. Mascarenhas M.N., Flaxman S.R., Boerma T., Vanderpoel S., Stevens G.A. 2012. National, regional, and global trends in infertility prevalence since 1990: a systematic analysis of 277 health surveys. *PLoS Medicine*, 9(12): e1001356.

22. Mermer M. Akdevelioğlu Y. 2018. The role of obesity in male infertility. *International Journal of Reproduction, Contraception, Obstetrics and Gynecology*, 7(9): 3435-3440

chromatin dispersion (SCD): correla- Correlation between DNA fragmentation and outcome of intracytoplasmic sperm injection. *Reproductive Medicine and Biology*, 13(2):87-94.

36. Tsatsanis C., Dermitzaki E., Avgoustinaki P. 2015. The impact of adipose tissuederived factors on the hypothalamic-pituitary-gonadal (HPG) axis. *Hormones (Athens)*, 14(4):549-562.

37. Velez de la Calle J., Muller A., Walschaerts M. 2008. Sperm deoxy-ribonucleic acid fragmentation as assessed by the sperm chroma- tin dispersion test in assisted reproductive technology programs. *Fertility and Sterility*, 90(5):1792-1799.

38. Zini A., Dohle G. 2011. Are varicoceles associated with increased deoxyribonucleic acid fragmentation? *Fertility and Sterility*, 96(6):1283-1287.

32. Sepaniak S., Forges T., Gerard H., Foliguet B., Bene M.C., Monnier-Barbarino P. 2006. The influence of cigarette smoking on human sperm quality and DNA fragmentation. *Toxicology*, 223(1-2):54- 60.

33. Sepidarkish M., Maleki-Hajiagha A., Maroufizadeh S., Rezaeinejad M., Almasi-Hashian A., Razavi M. 2020. The effect of body mass index on sperm DNA fragmentation: a systematic review and meta-analysis. *International Journal of Obesity*. 44(3):549-558

34. Jarow J.P., Sharlip I.D., Belker A.M., Lipshultz L.I., Sigman M., Thomas A.J., Schlegel P.N., Howards S.S., Nehra A., Damewood M.D., Overstreet J.W., Sadovsky R. 2002. Best practice policies for male infertility. *Male Infertility Best Practice Policy Committee of the American Urological*, 167(5):2138-2144.

35. Sivanarayana T., Ravi Krishna C., Jaya Prakash G. 2014. Sperm DNA sperm

# The Comparison of Sperm Parameters and DNA Damage among Infertile Men with Varicocele and Obesity

Mahshid Elahi[1], Vida Hojati[1], Mahmoud Hashemitabar[2]*, Mahsa Afrough[3], Hossain Mohammadpour Kargar[1]

1- Department of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran
2- Cellular and Molecular Research Center, Research Institute of Basic Medical Sciences, Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
3- Reproductive Biology Research Group, Infertility Research and Treatment Center, Jihad University of Khuzestan, Ahvaz, Iran

## Abstract

Varicocele and obesity are common causes of male infertility that negatively influence spermatogenesis. This study aims at investigating sperm parameters and the correlation between the amount of DNA damage in obese patients and patients with varicocele compared with normal subjects. Generally, there were 210 samples, which respectively included 95 semen samples from obese infertile men, 50 semen samples from infertile men with varicocele, and 65 normal men with an age range from 27 to 50 years who met the conditions to be included in the study. It was separated from other samples and the semen was analyzed based on the parameters of the World Health Organization (WHO). The fragility of sperm DNA was evaluated for the mentioned samples. Compared with normal subjects, obese infertile men showed a significant decrease in sperm count, sperm motility, sperm morphology and a significant increase in DNA damage ($p < 0.001$). Also, a significant negative correlation was observed between DNA Fragmentation Index (DFI) and sperm parameters in obese infertile men, so that with the increase in DFI, other parameters showed a decrease. In obese infertile subjects, DFI had a negative correlation with sperm parameters including number (r = -0.171), movement (r = -0.467) and sperm morphology (r = -0.314). Infertile people with varicocele compared with normal people, a significant decrease in sperm count, sperm motility, sperm morphology and a significant increase in DNA damage were observed. Also, a significant negative correlation was observed between parameters and DFI. In this way, with the increase in DFI, other parameters decreased. In varicocele patients, DFI had a negative correlation with sperm parameters including number (r = -0.466), movement (r = -0.413) and morphology (r = -0.484). The results showed that varicocele and obesity have a negative effect on the health of sperm DNA in addition to reducing the quality of sperm parameters. Also, a significant negative correlation was observed between the amount of DFI and sperm parameters, which shows that these items may adversely influence the process of spermatogenesis.

**Keywords:** Infertility, Sperm motility, Sperm count, Sperm morphology, DFI, Obesity, Varicocele.