مقاله پژوهشی

مجله سلول و بافت (علمی - پژوهشی)
جلد۸، شماره ۱، بهار ۱۳۹۶

اثر مواجهات شغلی بر روی پارامترهای اسپرمی و ساختار کروماتین اسپرم

لیدا باباخواه .M.Sc[۱] ، لیلا آزادی.M.Sc [۱]، مریم اربابیان.B.Sc [۱]، مرضیه تولائی.Ph.D [۱*]، مهرنوش بهادرانی.Ph.D [۲]، محمد حسین نصراصفهانی.Ph.D [۱و۳]

۱- پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست فناوری جهاد دانشگاهی، مرکز تحقیقات پزشکی تولید مثل، گروه زیست فناوری تولید مثل، اصفهان، ایران
۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد فلاورجان، گروه زیست شناسی، اصفهان، ایران
۳- مرکز باروری و ناباروری اصفهان، اصفهان، ایران
* پست الکترونیک نویسنده مسئول: Tavalaee.m@royaninstitute.org

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۲/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۴/۲۰

چکیده

هدف: هدف از این پژوهش، پارامترهای اسپرمی (غلظت، تحرک و مورفولوژی) و وضعیت سلامت DNA اسپرم را در مردان ناباروری که در معرض مواجهات شغلی مختلف می باشند، است.

مواد و روش‌ها: ۱۵۲ مردی که برای اهداف تشخیصی به مرکز باروری و ناباروری مراجعه کرده بودند،(بهار ۱۳۹۳ تا پاییز ۱۳۹۵) وارد این مطالعه شدند. با همه شرکت کنندگان مصاحبه شد و نمونه مایع منی آن‌ها برای بررسی پارامترهای اسپرمی و سلامت کروماتین اسپرم به‌ترتیب بر اساس پروتکل سازمان بهداشت جهانی و روش TUNEL جمع‌آوری شد.

نتایج: نتایج نشان می‌دهند که در مردانی که در معرض مواد شیمیایی، نشستن طولانی مدت و با فعالیت فیزیولوژیکی بالا می باشند، درصد تحرک اسپرم کمتر و درصد آسیب DNA اسپرم بیشتر از معیارهای ارائه شده در مقالات قبلی می باشد. به‌علاوه، در مردان با آسیب DNA بیشتر از ۱۰ درصد، کاهش معنی‌داری در پارامترهای اسپرمی مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: مواجهات شغلی دارای اثرات منفی بر روی کیفیت پارامترهای اسپرمی و سلامت کروماتین اسپرم می باشد، اما مطالعات بیشتری برای اثبات این نتایج لازم است.

واژگان کلیدی: ناباروری، مواجهات شغلی، آسیب DNA اسپرم، پارامترهای اسپرمی

مقدمه

۱۰ تا ۱۵درصد از مردم جهان با مشکل ناباروری مواجه هستند که در حدود نیمی از ناباروری ها به‌دلیل فاکتورهای مردانه می‌باشد (۱). تعدادی از عوامل ایجاد کننده ناباروری مردان شامل جهش‌های ژنی، آنوپلوئیدی، بیماری‌های عفونی، انسداد مجاری تناسلی، واریکوسل، پرتو درمانی و شیمی درمانی می‌باشد (۲). پیامد ناشی از این عوامل می‌تواند کاهش کیفیت مایع منی باشد که علاوه بر آن‌که برروی پارامترهای اسپرمی از جمله غلظت، تحرک و مورفولوژی اثر می‌گذارد، می‌تواند برروی ساختار کروماتین اسپرم که نیمی از ژنوم آینده جنین را تشکیل می‌دهد، تاثیرگذار باشد. سلامت کروماتین اسپرم به‌عنوان یک عامل مهم در باروری بوده، به‌طوری‌که در افرادی که بیشتر از ۳۰ درصد از اسپرم‌ها، دارای آسیب DNA می‌باشند، امکان دست‌یابی به حاملگی تحت تاثیر قرار می‌گیرد (۳). در این زمینه مطالعات متعددی اذعان داشته‌اند که انتخاب اسپرم بر اساس شکل ظاهری می‌تواند نشانگری از سلامت DNA اسپرم باشد، ولی در مطالعه اخیری که توسط اوندانو و همکاران انجام شد مشخص شده که در برخی افراد، اگرچه اسپرم طبیعی جهت درمان استفاده می‌شود ولی این اسپرم‌های به ظاهر طبیعی امکان دارد با آسیب DNA مواجه باشند (۶-۴). عوامل متعددی از جمله عوامل اگزوژنی و آندروژنی می‌تواند سلامت DNA اسپرم را تحت تاثیر قرار دهد. عوامل آندروژنی شامل استرس اکسیداتیو (Oxidative stress)، نقص در بسته بندی کروماتین اسپرم و فرآیند آپوپتوزیس است (۷). عوامل اگزوژنی شامل آلاینده‌های محیطی، ترکیبات شیمیایی، سن، شیوه زندگی و غیره می‌باشد. از مهم‌ترین عوامل محیطی، می‌توان به مواجهات شغلی اشاره کرد. قرار گرفتن در معرض امواج الکترومغناطیس، فلزات مانند سرب، کروم، منگنز، جیوه، مواد حلال آلی، دود، هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه ای و ارتعاشات مکانیکی می‌تواند برروی پارامترهای اسپرمی (غلظت، تحرک، زنده مانی، مورفولوژی) و عملکرد دستگاه تناسلی اثر گذار باشد. در مردانی که با مواد شیمیایی مانند کود شیمیایی یا سموم در تماس هستند، فعالیت غدد درون ریز، سطح ترشح گنادوتروپین‌ها، تستوسترون و در نهایت کیفیت پارامترهای اسپرمی تحت تاثیر قرار می‌گیرد (۱۰-۸). نشستن طولانی مدت و مشاغلی که به‌طور مستمر در معرض درجه حرارت بالا می‌باشند، نقص در فرآیند اسپرماتوژنز و کاهش کیفیت پارامترهای اسپرمی را به‌همراه دارد و گاهی منجر به آسیب DNA اسپرم نیز می‌شود (۱۱). اما اثر سن برروی پارامترهای اسپرمی و سلامت کروماتین اسپرم به‌صورت متناقض گزارش شده است (۱۳،۱۲). بنابراین، با توجه به اهمیت سلامت DNA اسپرم در باروری، بررسی DNA اسپرم مردان دارای ارزش تحقیقاتی به‌سزایی می‌باشد و همچنین با توجه به این‌که امروزه در معرض گیری افراد به آلاینده‌های شیمیایی، محیطی و شغلی بیشتر شده است و امکان تاثیر این آلاینده‌ها برروی کیفیت مایع منی بیشتر به‌نظر می‌رسد، لذا در این مطالعه سعی بر آن است که پارامترهای اسپرمی (تعداد، تحرک، مورفولوژی) و سلامت DNA اسپرم در بین افرادی که در معرض عوامل محیطی ذکر شده هستند، بررسی شود.

مواد و روش ها

این مطالعه توصیفی برروی ۱۵۲ مرد نابارور مراجعه کننده به مرکز باروری و ناباروری اصفهان، انجام گرفت. این مطالعه در کمیته اخلاق برای تحقیقات انسانی، در پژوهشکده رویان به تصویب رسیده و از افراد شرکت کننده رضایت نامه کتبی گرفته شد. برای این افراد پرسشنامه ای حاوی اطلاعات مربوط به سن، شغل و نوع مواجه شغلی و استفاده از دخانیات تکمیل شد.

نمونه مایع منی افراد، بعد از ۳ تا ۴ روز پرهیز از مقاربت جمع‌آوری شد و پارامترهای اسپرمی شامل غلظت، تحرک و مورفولوژی بر اساس معیار سازمان بهداشت جهانی (۲۰۱۰) (WHO: World Health Organization) مورد بررسی قرار گرفت (۱۴). غلظت نمونه اسپرمی با استفاده از دستگاه شمارش اسپرم (Makler Counting

Chamber) بر حسب میلیون بر لیتر، میزان تحرک اسپرم به‌وسیله نرم افزار CASA (Computer Aided Sperm Analysis) و مورفولوژی اسپرم با استفاده از رنگ‌آمیزی دیف‌کوئیک (Diff Quik) بر اساس معیار WHO(۲۰۱۰) مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۴).

ارزیابی آسیب DNA اسپرم با استفاده از آزمون TUNEL (Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling***):*** در این مطالعه برای ارزیابی آسیب DNA اسپرم از کیت TUNEL (Apoptosis Detection System Fluorescein, Promega, Mannheim, Germany) استفاده شد. در این روش، سطح آسیب DNA در اسپرم به‌طور مستقیم اندازه‌گیری می‌شود. در روش TUNEL قطعات DNA را می‌توان در محل OH انتهایی '3 توسط آنزیم دئوکسی نوکلئوتیدیل ترانسفراز در حضور نوکلئوتید همراه با ماده فلورسنت (برای مثال، deoxyuridine bromolated تری فسفات نوکلئوتید [BrdU]) نشاندار کرد. برای انجام این تست، بطور خلاصه ابتدا مایع منی را با محلول بافر فسفات سالین (PBS: Phosphate Buffer Saline) شستشو و با تهیه اسمیر برروی لام، طبق دستورالعمل کیت TUNEL رنگ‌آمیزی شد. بررسی آسیب DNA اسپرم، با استفاده از میکروسکوپ فلئورسنت با بزرگنمایی ۱۰۰(BX51, Olympus, Japan) انجام گرفت. رنگ قرمز فلئورسنت در ناحیه سر اسپرم نشان دهنده اسپرم‌های TUNEL منفی (اسپرم‌های با DNA سالم) و رنگ سبز فلئورسنت مشاهده شده، بیانگر اسپرم‌های TUNELمثبت (اسپرم‌های دارای آسیب DNA) بوده که به‌صورت درصد آسیب DNA اسپرم گزارش شده است (۱۵).

آنالیز آماری: آنالیز آماری به‌وسیله نرم افزار SPSS۱۸ (SPSS, Chicago, IL, USA) با استفاده از آنالیز Descriptive، Independent- Sample T Test (برای مقایسه بین دو گروه) و one-way ANOVA (برای مقایسه بین چند گروه) مورد ارزیابی قرار گرفت. p<۰/۰۵ از لحاظ آماری، معنی‌دار در نظر گرفته می‌شود.

نتایج

در این مطالعه میانگین سن مردان، ۳۷/۷۶±۵/۶۵ و میانگین مدت زمان ناباروری، ۸/۸۱±۶/۳۴ بوده است. توصیف پارامترهای اسپرمی مورد مطالعه در جدول ۱ گزارش شده است.

جدول ۱: توصیف پارامترهای اسپرمی و درصد آسیب DNA اسپرم در افراد مورد مطالعه (N=۱۵۲)

پارامترهای اسپرمی	خطای استاندارد ± میانگین
غلظت اسپرم	۶۴/۲۴±۵/۴۵
درصد تحرک اسپرم	۴۱/۴۰±۲/۱۸
درصد اسپرم‌های دارای مورفولوژی غیر طبیعی	۹۴/۳۰±۰/۵۵
درصد آسیب DNA اسپرم	۱۴/۶۵±۰/۹۲

جهت بررسی اثر سن برروی پارامترهای اسپرمی و آسیب DNA اسپرم، افراد شرکت کننده بر اساس سن، به دو گروه مردان کمتر و بیشتر از ۳۵ سال تقسیم بندی شده (۱۶) و پارامترهای اسپرمی و آسیب DNA اسپرم در این دو گروه مورد مقایسه قرار گرفت (جدول ۲). هیچ اختلاف معنی‌داری بین مردان کمتر و بیشتر از ۳۵ سال، از لحاظ درصد تحرک اسپرم، درصد اسپرم‌های دارای مورفولوژی غیر طبیعی و درصد آسیب DNA اسپرم وجود نداشت. اما در افراد بالای ۳۵ سال میانگین غلظت اسپرم (میلیون در هر میلی لیتر) به‌طور معنی‌داری بیشتر بوده است (p<۰/۰۵).

جدول ۲: مقایسه پارامترهای اسپرمی و آسیب DNA اسپرم بین مردان با سن کمتر و بیشتر از ۳۵ سال.

p-Value کمتر از ۰/۰۵ نشانگر اختلاف معنی‌داری بین دو گروه مورد نظر در راستای متغیر عنوان شده است.

پارامترها	رده سنی	خطای استاندارد ± میانگین	P-Value
غلظت اسپرم ($۱۰^{۶}$ در هر میلی لیتر)	کمتر از ۳۵ سال	۴۸/۴۸ ± ۵/۵۹	۰/۰۲
	بیشتر از ۳۵ سال	۷۴/۲۸ ± ۷/۹۹	
درصد تحرک اسپرم	کمتر از ۳۵ سال	۳۸/۳۵ ± ۳/۵۲	۰/۲۷
	بیشتر از ۳۵ سال	۴۳/۲۶ ± ۲/۷۷	
درصد اسپرم های دارای مورفولوژی غیرطبیعی	کمتر از ۳۵ سال	۹۵/۲۶ ± ۰/۶۹	۰/۱۸
	بیشتر از ۳۵ سال	۹۳/۷۴ ± ۰/۷۷	
درصد آسیب DNA اسپرم	کمتر از ۳۵ سال	۱۵/۰۰ ± ۱/۴۴	۰/۷۸
	بیشتر از ۳۵ سال	۱۴/۴۶ ± ۱/۱۹	

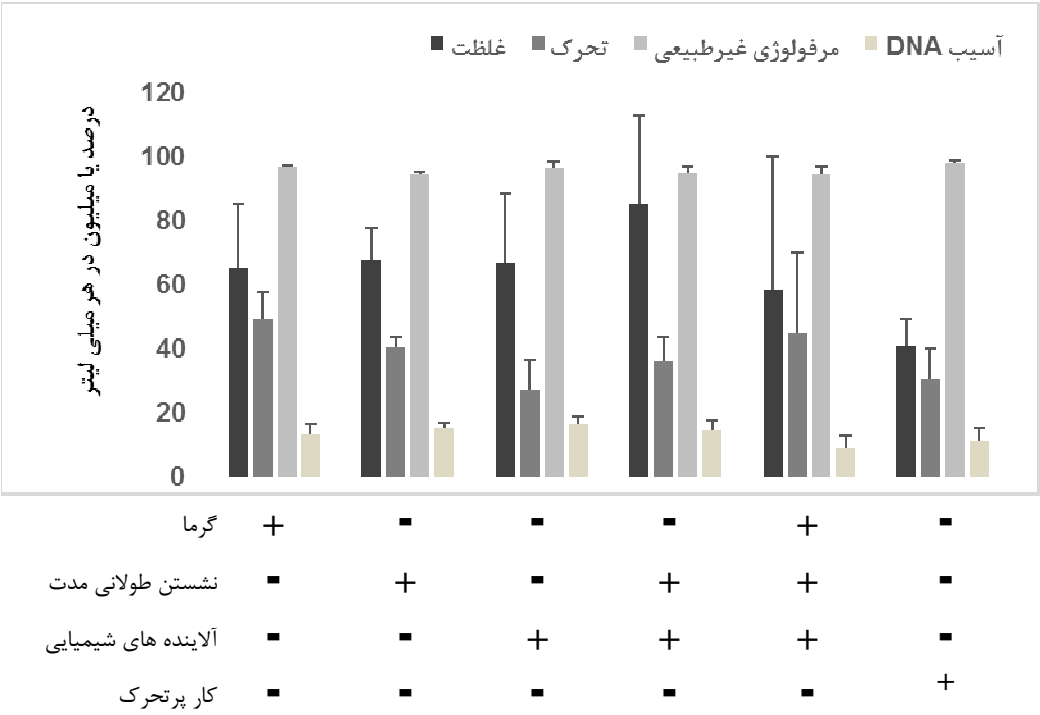
در این مطالعه افراد بر اساس حد آستانه تعریف شده برای آسیب DNA در مطالعه قبلی، به دو گروه کمتر و بیشتر از ۱۰ درصد آسیب DNA تقسیم (۱۷) و پارامترهای اسپرمی بین این دو گروه مقایسه شد (جدول۳). نتایج نشان می دهد، غلظت اسپرم در افراد دارای آسیب DNA کمتر از ۱۰درصد (۸۷/۲۴±۱۴/۸۹) به‌طور معنی‌داری بیشتر از افراد دارای آسیب DNA بیشتر از ۱۰ درصد (۵۳/۱۲±۵/۳۲) می‌باشد (p=۰/۰۱). درصد تحرک اسپرم در افراد دارای آسیب DNA کمتر از ۱۰ درصد (۵۳/۷۳±۴/۳۶) به‌طور معنی‌داری بیشتر از افراد دارای آسیب DNA بیشتر از ۱۰ درصد (۳۷/۴۰±۲/۸۳) است (p<۰/۰۱). همچنین، درصد اسپرم‌های دارای مورفولوژی غیرطبیعی در افراد دارای آسیب DNA کمتر از ۱۰ درصد (۹۱/۱۵±۱/۲۲) به‌طور معنی‌داری کمتر از افراد دارای آسیب DNA بیشتر از ۱۰ درصد (۹۴/۹۵±۰/۷۸) می‌باشد (p<۰/۰۱).

جدول ۳: مقایسه پارامترهای اسپرمی در افراد با آسیب DNA کمتر و بیشتر از ۱۰درصد.

p-Value کمتر از ۰/۰۵ نشانگر اختلاف معنی داری بین دو گروه مورد نظر در راستای متغیر عنوان شده است.

پارامترها	میزان آسیب DNA	خطای استاندارد ± میانگین	P-Value
غلظت اسپرم ($۱۰^{۶}$ در هر میلی لیتر)	آسیب DNA کمتر از ۱۰ درصد	۸۷/۲۴±۱۴/۸۹	۰/۰۱۲
	آسیب DNA بیشتر از ۱۰ درصد	۵۳/۱۲±۵/۳۲	
درصد تحرک اسپرم	آسیب DNA کمتر از ۱۰ درصد	۵۳/۷۳±۴/۳۶	۰/۰۰۲
	آسیب DNA بیشتر از ۱۰ درصد	۳۷/۴۰±۲/۸۳	
درصد اسپرم های دارای مورفولوژی غیرطبیعی	آسیب DNA کمتر از ۱۰ درصد	۹۱/۱۵±۱/۲۲	۰/۰۰۸
	آسیب DNA بیشتر از ۱۰ درصد	۹۴/۹۵±۰/۷۸	

در این مطالعه، اثرات مواجهات شغلی برروی پارامترهای اسپرمی و آسیب DNA اسپرم با پرکردن پرسشنامه تحقیقاتی که حاوی گزینه‌های اصلی شغلی بود (۱۸)، بررسی شد و نتایج در نمودار ۱ ارائه شده است.



نمودار ۱: مقایسه پارامترهای اسپرمی و آسیب DNA اسپرم در گروه‌هایی با مواجهات شغلی مختلف، مانند گرما، نشستن طولانی مدت، آلاینده‌های شیمیایی و کار پرتحرک.

میانگین غلظت اسپرم (میلیون در هر میلی لیتر) در افراد در معرض گرما، ۶۵/۳۷±۱۹/۷۳، افراد در معرض نشستن طولانی مدت، ۶۷/۵۳±۹/۹۹، افراد در معرض مواد شیمیایی (مانند نقاش‌ها، کارگران کارگاه های صنعتی و...)، ۶۶/۸۷±۲۱/۵۷، افراد در معرض نشستن طولانی مدت (مانند رانندگان، برخی مشاغل اداری و ..) و مواد شیمیایی ۸۵/۴۳±۲۷/۴۴، افراد در معرض هر سه عامل گرما (مانند نانواها، کشاورزان، و ...)، نشستن طولانی مدت و مواد شیمیایی، ۵۸/۵۰±۴۱/۵۰ و در افراد پرتحرک، ۴۰/۷۱±۸/۴۳ می‌باشد، که بین این گروه‌ها اختلاف معنی‌داری وجود ندارد و احتمالا اثر این مواجهات شغلی برروی غلظت اسپرم کمتر است.

میانگین درصد تحرک اسپرم در افراد در معرض گرما، ۴۹/۲۲±۸/۲۷، افراد در معرض نشستن طولانی مدت، ۴۰/۶۰±۳/۲۰، افراد در معرض مواد شیمیایی، ۲۷/۳۳±۹/۰۲، افراد در معرض نشستن و مواد شیمیایی،۳۶/۰۵±۷/۶۲، افراد در معرض هر سه عامل گرما، نشستن طولانی مدت و مواد شیمیایی به طور همزمان، ۴۵/۰۰±۲۵/۰۰ و افراد پرتحرک، ۳۰/۴±۹/۷۱ است. اگر چه از لحاظ آماری، اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های ذکر شده وجود ندارد ولی نتایج گویای آن است که افرادی که بیشتر در معرض مواد شیمیایی و نشستن طولانی مدت هستند و همچنین افراد پرتحرک از میانگین درصد تحرک اسپرمی پایین‌تری نسبت به حد آستانه‌ای که توسط سازمان بهداشت جهانی (۲۰۱۰) (۱۴) برای این پارامتردر نظر گرفته شده (۴۰ درصد)، برخوردارند.

میانگین اسپرم‌های دارای مورفولوژی غیر طبیعی در افراد در معرض گرما، ۹۶/۷۵±۰/۷۰، افراد در معرض نشستن طولانی مدت ۹۴/۴۳±۰/۷۵، افراد در معرض مواد شیمیایی ۹۶/۵±۱/۹۸، افراد در معرض نشستن طولانی مدت و مواد شیمیایی ۹۴/۷۵±۲/۰۲، افراد در معرض هر سه عامل گرما، نشستن طولانی مدت و مواد شیمیایی به‌طور هم‌زمان، ۹۴/۵۰±۲/۵۰ و در افراد پرتحرک، ۹۸/۱۴±۰/۸۸ است. بین گروه‌های ذکر شده در رابطه با درصد مورفولوژی غیرطبیعی، اختلاف معنی‌داری وجود ندارد ولی آنچه از این نمودار می‌توان استنباط کرد این

است که در افراد پرتحرک، درصد مورفولوژی غیرطبیعی بیشتر از بقیه گروه‌ها است و اگر حد آستانه سازمان بهداشت جهانی (۲۰۱۰) (۱۴) را برای این پارامتر در نظر بگیریم (۴ درصد مورفولوژی طبیعی)، شکل ظاهری اسپرم این افراد بیشتر تحت تاثیر بوده و ناهنجارتر است.

درصد آسیب DNA اسپرم در افراد در معرض گرما، ۱۳/۱۱±۳/۲۳، افراد در معرض نشستن طولانی مدت، ۱۵/۱۹±۱/۵۳، افراد در معرض مواد شیمیایی، ۱۶/۶۰±۲/۰۸، افراد در معرض نشستن طولانی مدت و مواد شیمیایی، ۱۴/۵۳±۳/۱۶، افراد در معرض هر سه عامل گرما، نشستن طولانی مدت و مواد شیمیایی، ۸/۷۵±۴/۱۷ و در افراد پرتحرک، ۱۱/۳۷±۳/۸۰ است. اگرچه از لحاظ آماری، اختلاف معنی‌داری بین گروه ها وجود ندارد ولی اگر حد آستانه ۱۰ درصد را برای میزان آسیب DNA اسپرم با روش TUNEL در نظر گرفت کاملا واضح است که افراد پویا و پر تحرک و افرادی که در معرض دمای بالای، مواد شیمیایی و نشستن طولانی مدت هستند، بیشتر تحت تاثیر قرار گرفته اند.

بحث

در طی روند لقاح طبیعی، وجود سدهای فیزیولوژیک از جمله ناحیه شفاف و غشای تخمک باعث می شود که تنها اسپرم طبیعی با ماده ژنتیکی سالم بتواند با تخمک، وارد فرآیند لقاح شود، اما اسپرمی که در طی تکنیک ICSI به‌درون تخمک تزریق می شود از این مسیر طبیعی عبور نمی‌کند (۱۹،۲۰). انتخاب اسپرم در این روش، بر اساس شکل ظاهری و تحرک بوده که تضمین کننده سلامت ژنوم اسپرم نمی‌باشد (۵). در بعضی از موارد، اسپرم دارای آسیب DNA حتی با وجود موفقیت در لقاح، توانایی ادامه تکوین جنین را تا مرحله بعد از ۴ تا ۸ سلولی که مصادف با فعال شدن ژنوم است، را ندارد، بنابراین بررسی آسیب DNA اسپرم از اهمیت بسیاری برخوردار است. دلایل ایجاد آسیب DNA اسپرم، مانند دلایل ایجاد ناباروری در مردان، پیچیده و نیز وابسته به عوامل داخلی بیضه و فاکتورهایی خارجی می باشد. با وجودی که قسمت عمده‌ای از آسیب DNA اسپرم در مردان نابارور به نقص در مرحله اسپرماتوژنز نسبت داده می‌شود، اما گاهی اسپرم افراد بارور نیز دارای میزان قابل توجه از آسیب DNA می باشند (۷،۵). آسیب DNA اسپرم یا ساختار کروماتین آن می‌تواند در هر مرحله از اسپرماتوژنز رخ - دهد. عمدتا آسیب DNA اسپرم ناشی از نقص در تراکم کروماتین، آپوپتوزیس و سطح بالای استرس اکسیداتیو می‌باشد (۲۱). همچنین، فاکتورهای محیطی مانند سن، سیگار کشیدن، شغل و افزایش دمای بیضه از دیگر دلایل ایجاد آسیب DNA اسپرم به‌شمار می‌روند (۱۱-۹). در این مقاله مدنظر است که بیشتر اثر عوامل شغلی برروی پارامترهای اسپرمی و آسیب DNA اسپرم مورد بررسی قرار گیرد.

در این مطالعه بررسی اثر سن برروی پارامترهای اسپرمی و آسیب DNA اسپرم، بیانگر آن است که درصد تحرک، مورفولوژی و آسیب DNA اسپرم تحت تاثیر سن نبوده اما غلظت اسپرم، با افزایش سن به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است. مطالعات متناقضی در این راستا وجود دارد اما نتایج این مطالعه، می‌تواند توجیه کننده این مسئله باشد که شاید در افراد با سن بالا، روند تولید اسپرم، طبیعی باشد ولی این امکان وجود دارد که اسپرم تولید شده از لحاظ کیفی و عملکردی مناسب نباشد. پلاستریا و همکاران (۱۲)، ارتباط مستقیمی بین سن و غلظت اسپرم را گزارش کرده‌اند (۱۳). نتایج مطالعات دیگر نشان داده اند که برای مردان با سن بالا که تصمیم به پدرشدن دارند، احتمال خطر قابل توجهی برای تولد نوزادان دارای ناهنجاری‌های کروموزومی وجود نداشته و غلظت، مورفولوژی و آسیب DNA اسپرم تحت تاثیر سن قرار نگرفته است (۱۶). همچنین، ارتباطی بین سطح ROS (Reactive Oxygen Species) و افزایش سن دیده نشده و ظرفیت کل آنتی اکسیدانت‌های پلاسما (Total Antioxidant Capacity) در افراد کمتر از ۴۰ سال و بالای ۴۰ سال تفاوتی نداشته اند (۲۲). اما برخلاف

این یافته‌ها، مطالعات دیگر نشان داده اند که با افزایش سن، آسیب DNA اسپرم افزایش و پارامترهای اسپرمی کاهش یافته است (۲۴،۲۳). بنابراین، به‌طور کلی بررسی سن پدر برای بررسی توانایی باروری زوجین بسیار بحث برانگیز است، از این جهت که معیار مشخصی برای تعریف پیری و سن قابل قبول برای باروری مردان وجود ندارد و شاید برای نتیجه‌گیری بهتر نیاز به بررسی نتایج کلینیکی در تکنیک‌های کمک باروری باشد.

نتایج این مطالعه در بررسی اثر مواجهات شغلی مانند افراد پرتحرک و افراد در معرض گرما، نشستن و مواد شیمیایی برروی پارامترهای اسپرمی و آسیب DNA اسپرم نشان داده است که مواجهات شغلی تا حدودی برروی این پارامترها اثرگذار است. روند صنعتی شدن سریع و تغییرات گسترده در شرایط زندگی باعث شده که افراد در محل کار در معرض مواد شیمیایی جدیدی قرار بگیرند و مشاغل کم تحرک، ساعات طولانی رانندگی و استفاده از کامپیوتر و لب تاپ افزایش یابد (۲۵). دمای بیضه، ۳ تا ۴ درجه سانتی‌گراد پایین تر از دمای بدن است، بنابراین احتمالا در افرادی که به‌طور مستمر در معرض درجه حرارت بالا باشند (مانند صنعت سرامیک و جوشکاری)، نقص در فرآیند اسپرماتوژنز شایع‌تر است (۱۱). موقعیت‌های کاری کم تحرک نیز، یک عامل افزایش درجه حرارت بیضه بوده که بر فرآیند اسپرماتوژنز اثرگذار است. برای مثال، احتمال ناباروری در مدیران و اپراتورهایی که ساعات طولانی از کامپیوتر استفاده می‌کنند، بیشتر از مشاغل دیگر است (۲۶) و یک ارتباط معنی‌دار بین نشستن بیش از ۶ ساعت و افزایش آسیب DNA و کاهش تحرک اسپرم گزارش شده است (۲۷،۱۰). در رانندگان تاکسی، کیفیت پارامترهای اسپرمی کاهش یافته و این مسئله شاید به این دلیل باشد که دمای بیضه، بعد از ۲ ساعت رانندگی نسبت به کسی که در حال راه رفتن است، افزایش می‌یابد (۱۰ و ۲۸). در کارگران ریخته گری و صنعت سرامیک، نانواها و شغل های در معرض فلزات آلیاژی، کاهش کیفیت پارامترهای اسپرمی گزارش شده است (۲۹ و ۳۰). مشاغل در معرض آفت کش هایی مثل DDT (Dichlorodiphenyltrichloroethane) و DDE (Dichlorodiphenyldichloroethylene)، فنالات، استراز و فتالیک اسید، (Poly vinyl chloride) PVC، سرب و کادمیوم باعث کاهش کیفیت پارامترهای اسپرمی، اختلال در عملکرد غدد تناسلی درون ریز و اختلال در روند اسپرماتوژنز شده است (۳۱).

برخلاف این مطالعات، مطالعه ولز و همکاران (۳۲) برروی نظامیان فرانسوی نشان داده است که مشاغل در معرض گرما، اثری برروی ناباروری مردان نداشته و به‌عنوان یک فاکتور خطر برای ناباروری محسوب نمی‌شود. همچنین برخلاف مطالعاتی که به این نتیجه رسیده‌اند که افراد دارای مشاغل با تحرک بالاتر، دارای کیفیت اسپرمی بهتری می‌باشند، نتایج استوی و همکاران (۳۳) نشان می‌دهد که هیچ اثر مضری از مشاغل کم تحرک برروی توانایی باروری افرادی که به مرکز درمان ناباروری مراجعه کرده بودند، مشاهده نشده است.

به‌طورکلی، مکانیسمی که از طریق آن شغل‌های در معرض مواد شیمیایی و سمی باعث اختلال در سیستم تولید مثلی می‌شود، بسیار پیچیده است. این احتمال وجود دارد که مواد شیمیایی مستقیما برروی ارگانل‌های تولید مثلی مانند بیضه اثر گذاشته و یا اینکه اثر آن‌ها، به‌طور غیرمستقیم از طریق تغییر تنظیم هورمونی می‌باشد. گاهی مواد سمی باعث آسیب به سلول‌های لایدیگ و کاهش ترشح تستوسترون شده که اثر منفی برروی عملکرد سلول‌های سرتولی و اسپرماتوژنز دارد (۳۱).

یکی از مشکلات بررسی اثرات مواجهات شغلی برروی پارامترهای اسپرمی و آسیب DNA اسپرم، این است که بررسی اثر هر کدام از این موارد به تنهایی مشکل است و در اکثر موارد، افراد، هم‌زمان در معرض چند فاکتور می‌باشند. برای مثال رانندگان حرفه‌ای، زمانی که در معرض مواد شیمیایی، سر و صدا، استرس‌های اجتماعی، اعمال فشار برروی ارگانل‌های لگنی و افزایش دما بوده‌اند،

میزان آسیب بـه اسـپرماتوژنز افـزایش یافتـه اسـت (۲۸). همچنین این مسئله در مورد جوشـکارانی کـه در معـرض حلال‌ها، فلزات سـنگین و سـر و صـدا مـی‌باشـند، صـادق است. به‌علاوه، افراد شرکت کننده در این مطالعـه از افـراد نابـارور مراجعـه کننـده بـه یـک مرکـز درمـان نابـاروری می‌باشند و شاید بهتر باشد که اطلاعات مراکز مختلـف بـر اساس یـک اسـتاندارد کلـی مـورد بررسـی قـرار گرفتـه و متغیرهای دیگـر، ماننـد عـادات زنـدگی متفـاوت، سـن و تفاوت‌های منطقه‌ای در نظر گرفته شوند.

نتایج این مطالعه نشان می دهد که مصـرف سـیگار اثـری برروی پارامترهای اسپرمی و آسیب DNA اسـپرم نـدارد (نتایج نشان داده نشده است). نتایج مطالعات در مورد اثـر مصرف سیگار برروی پارامترهای اسپرمی و آسـیب DNA متناقض است. بر اسـاس نتـایج چنـدین مطالعـه، سـیگار کشیدن اثری برروی پارامترهای اسپرمی نـدارد (۳۵،۳۴). اما برخی از مطالعات، نشان می‌دهند که در افراد سـیگاری نسبت به غیر سیگاری آسیب DNA اسپرم افزایش یافتـه (۳۷،۳۶) و همچنین سـلامت آکـروزوم اسـپرم و فعالیـت میتوکندری تحت تاثیر قرار گرفتـه اسـت (۳۸). نیکـوتین (به‌عنوان یک کوتینین) موجـود در پلاسـمای مـایع منـی افراد سیگاری با اثر بـرروی سـاختار تـاژک و آکسـونم دم اسپرم، اثر منفـی بـرروی تحـرک اسـپرم دارد و از طریـق افزایش ROS برروی سیستم تولیـدمثلی مـردان اثرگـذار اسـت. دود سـیگار حـاوی مـواد شـیمیایی کارسـینوژن و موتاژن می‌باشد و عملکرد پروستات، اپی‌دیـدیم و وزیکـول سمینال را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۳۹).

نتـایج ایـن مطالعـه نشـان مـی دهـد کـه در افـراد دارای آسیب DNA بیشـتر از ۱۰ درصـد، پارامترهـای اسـپرمی به‌طور معنـی‌داری کـاهش مـی یابـد (جـدول ۳). در ایـن راستا، نتایج برخی از مطالعات نشان داده اند که یک رابطه معنی‌دار منفی بـین آسـیب DNA اسـپرم و پارامترهـای اسـپرمی وجـود دارد (۴۱،۴۰). آسـیب DNA اسـپرم، در صورتی‌که نقص در اسپرماتوژنز باشد، کـاهش پارامترهـای اسپرمی را بـه‌همـراه دارد و اگـر ناشـی از پراکسیداسـیون لیپیدی غشـای اسـپرم باشـد بـرروی تحـرک اسـپرم نیـز اثرگـذار اسـت (۷). مطالعـات قبلـی نشـان داده انـد کـه پارامترهای اسپرمی طبیعی و تـراکم کرومـاتین بـا میـزان موفقیت در روش‌های کمک بـاروری ارتبـاط دارد (۴۲،۷) که این پارامترهای طبیعی نتیجه اسـپرماتوژنز طبیعـی در بیضـه، بلـوغ طبیعـی در اپـی‌دیـدیم و وجـود ترکیبـات پلاسمای مایع منی طبیعی می باشـد. بنـابراین در نهایـت افـراد دارای پارامترهـای اسـپرمی طبیعـی و سـلامت کروماتین اسپرم دارای شـانس بیشـتری بـرای فرزنـد دار شدن می‌باشند.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه، نشان می‌دهد کـه مواجهـات شـغلی در افرادی که در معرض مـواد شـیمیایی و نشسـتن طـولانی مدت هستند و همچنـین افـراد پویـا و پرتحـرک، بـرروی کیفیت پارامترهای اسپرمی و سلامت کروماتین اسـپرم تـا حدودی اثر گذار است. همچنین با توجه به اینکه سـلامت کروماتین اسپرم، نتایج روش‌های کمـک بـاروری را تحـت تاثیر قرار می‌دهد، بررسی آسـیب DNA اسـپرم در افـراد کاندیـد روش‌هـای کمـک بـاروری بـه‌خصـوص ICSI، از اهمیت کلینیکی ویژه‌ای برخوردار است.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با همکاری پژوهشکده رویان و مرکز باروری و ناباروری اصفهان انجام گرفته است. لذا از کلیه مسئولین و پرسنل مراکز فوق کمال تشکر و قدردانی را داریم.

منابع:

1. Jungwirth A, Giwercman A, Tournaye H, Diemer T, et al. European Association of Urology Working Group on Male Infertility. European Association of Urology guidelines on Male Infertility: the 2012 update. Eur Urol. 2012; 62(2): 324-32

2. Ollero M, Gil-Guzman E, Lopez MC, Sharma RK, et al. Characterization of subsets of human spermatozoa at different stages of maturation: implications in the diagnosis and

workers exposed to high temperatures in the ceramics industry. Reprod Toxicol 1992; 6(6): 517-23.

12. Plastira K, Msaouel P, Angelopoulou R, Zanioti K, et al. The effects of age on DNA fragmentation, chromatin packaging and conventional semen parameters in spermatozoa of oligoasthenoteratozoospermic patients. J Assist Reprod Genet 2007; 24(10): 437-43.

13. Luetjens CM, Rolf C, Gassner P, Werny JE, et al. Sperm aneuploidy rates in younger and older men. Hum Reprod 2002; 17(7): 1826-32.

14. World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen 5th Ed. Cambridge: Cambridge University Press. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data; 2010; 1-271.

15. Kheirollahi-Kouhestani M, Razavi S, Tavalaee M, Deemeh MR, et al. Selection of sperm based on combined density gradient and Zeta method may improve ICSI outcome. Hum Reprod 2009; 24(10): 2409-16.

16. Winkle T, Rosenbusch B, Gagsteiger F, Paiss T, et al. 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.

17. Borini A, Tarozzi N, Bizzaro D, Bonu MA, et al. Sperm DNA fragmentation: paternal effect on early post-implantation embryo development in ART. Hum Reprod 2006; 21(11): 2876-81.

18. Jensen TK, Bonde JP, Joffe M. The influence of occupational exposure on male reproductive function. Occup Med (Lond). 2006; 56(8): 544-53.

19. Suarez SS, Pacey AA. Sperm transport in the female reproductive tract. Hum Reprod Update. 2006; 12(1): 23-37.

treatment of male infertility. Hum Reprod 2001; 16(9): 1912-1921.

3. Evenson DP, Larson KL, Jost LK. Sperm chromatin structure assay: its clinical use for detecting sperm DNA fragmentation in male infertility and comparisons with other techniques. J Androl 2002; 23(1): 25-43.

4. Tavalaee M, Razavi S, Nasr-Esfahani MH. Influence of sperm chromatin anomalies on assisted reproductive technology outcome. Fertil Steril 2009; 91(4): 1119-26.

5. Avendaño C, Franchi A, Taylor S, Morshedi M, et al. Fragmentation of DNA in morphologically normal human spermatozoa. Fertil Steril 2009; 91(4):1077-84.

6. 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.

7. 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.

8. Jeng HA, Pan CH, Chao MR, Chiu CC, et al. Sperm quality and DNA integrity of coke oven workers exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons. Int J Occup Med Environ Health 2016; 29(6): 915-926.

9. De Fleurian G, Perrin J, Ecochard R, Dantony E, et al. Occupational exposures obtained by questionnaire in clinical practice and their association with semen quality. J Androl 2009; 30(5): 566-79.

10. Jurewicz J, Radwan M, Sobala W, Radwan P, et al. Effects of occupational exposure - is there a link between exposure based on an occupational questionnaire and semen quality? Syst Biol Reprod Med 2014; 60(4): 227-33.

11. Figà-Talamanca I, Dell'Orco V, Pupi A, Dondero F, et al. Fertility and semen quality of

20. Nasr-Esfahani MH, Deemeh MR, Tavalaee M. New era in sperm selection for ICSI. Int J Androl. 2012; 35(4): 475-84.

21. Tavalaee M, Nasr-Esfahani MH, Deemeh MR. Etiology and Evaluation of Sperm Chromatin Anomalies. Int J Fertil Steril. 2008; 2(1):1-8.

22. Alshahrani S, Agarwal A, Assidi M, Abuzenadah AM, et al. Infertile men older than 40 years are at higher risk of sperm DNA damage. Reprod Biol Endocrinol 2014; 12:103.

23. Varshini J, Srinag BS, Kalthur G, Krishnamurthy H, et al. Poor sperm quality and advancing age are associated with increased sperm DNA damage in infertile men. Andrologia 2012; 44 Suppl 1: 642-9

24. Gao J, Gao ES, Yang Q, Walker M, et al. Semen quality in a residential, geographic and age representative sample of healthy Chinese men. Hum Reprod 2007; 22(2): 477-84.

25. Figà-Talamanca I, Traina ME, Urbani E. Occupational exposures to metals, solvents and pesticides: recent evidence on male reproductive effects and biological markers. Occup Med (Lond) 2001; 51(3): 174-88.

26. Magnusdottir EV, Thorsteinsson T, Thorsteinsdottir S, Heimisdottir M, et al. Persistent organochlorines, sedentary occupation, obesity and human male subfertility. Hum Reprod 2005; 20(1): 208-15.

27. Hjollund NH, Storgaard L, Ernst E, Bonde JP, et al. The relation between daily activities and scrotal temperature. Reprod Toxicol 2002; 16(3): 209-14.

28. Figà-Talamanca I, Cini C, Varricchio GC, Dondero F, et al. Effects of prolonged autovehicle driving on male reproduction function: a study among taxi drivers. Am J Ind Med 1996; 30(6): 750-8.

29. Thonneau P, Bujan L, Multigner L, Mieusset R. Occupational heat exposure and male fertility: a review. Hum Reprod 1998; 13(8): 2122-5.

30. Bonde JP. Semen quality in welders exposed to radiant heat. Br J Ind Med 1992; 49(1): 5-10.

31. Queiroz EK, Waissmann W. Occupational exposure and effects on the male reproductive system. Cad Saude Publica 2006; 22(3): 485-93.

32.Velez de la Calle JF, Rachou E, le Martelot MT, Ducot B, et al. Male infertility risk factors in a French military population. Hum Reprod 2001; 16(3): 4816.

33. Stoy J, Hjollund NH, Mortensen JT, Burr H, et al. Semen quality and sedentary work position. Int J Androl 2004; 27(1): 5-11.

34. Sergerie M, Ouhilal S, Bissonnette F, Brodeur J, et al. Lack of association between smoking and DNA fragmentation in the spermatozoa of normal men. Hum Reprod 2000; 15(6): 1314-21.

35. De Jong AM, Menkveld R, Lens JW, Nienhuis SE, et al. Effect of alcohol intake and cigarette smoking on sperm parameters and pregnancy. Andrologia 2014; 46(2): 112-7

36.Shen HM, Chia SE, Ni ZY, New AL, et al. Detection of oxidative DNA damage in human sperm and the association with cigarette smoking. Reprod Toxicol 1997; 11(5): 675-80.

37. Sepaniak S, Forges T, Gerard H, Foliguet B, et al. The influence of cigarette smoking on human sperm quality and DNA fragmentation. Toxicology 2006; 223(1-2): 54-60.

38. Antoniassi MP, Intasqui P, Camargo M, Zylbersztejn DS, et al. Analysis of the functional aspects and seminal plasma proteomic profile of sperm from smokers. BJU Int 2016; 118(5): 814-822

39. Pakrashi A, Chatterjee S. Effect of tobacco consumption on the function of male

accessory sex glands. Int J Androl 1995; 18(5): 232-6.

40. Tang SS, Gao H, Zhao Y, Ma S. Aneuploidy and DNA fragmentation in morphologically abnormal sperm. Int J Androl 2010; 33(1): e163-79.

41. Nallella KP, Sharma RK, Aziz N, Agarwal A. Significance of sperm characteristics in the evaluation of male infertility. Fertil Steril 2006; 85(3): 629-34.

42. Tavalaee M, Razavi Sh, Nasr-Esfahani MH. Effects of Sperm Acrosomal Integrity and Protamine Deficiency on In Vitro Fertilization and Pregnancy Rate. IJFS 2007; 1(1): 27-34.

Journal of Cell & Tissue (JCT) *Original Article*

Spring 2017; 8(1)

Influence of Occupational Exposures on Sperm Parameters and Chromatin Structure

Babakhah L, M.Sc. [1], Azadi L, M.Sc.[1], Arbabian M, B.Sc.[1], Tavalaee M, Ph.D.[1]*, Bahadorani M, Ph.D.[2], Nasr- Esfahani MH, Ph.D.[1,3]

1. Department of Reproductive Biotechnology, Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Biotechnology, ACECR, Isfahan, Iran
2. Department of Biology, Falavarjan Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran
3. Isfahan Fertility and Infertility Center, Isfahan, Iran

* Email corresponding author: Tavalaee.m@royaninstitute.org

Received: 11 May. 2017 Accepted: 11 Jul. 2017

Abstract

Aim: This study examines the sperm parameters (concentration, mobility and morphology) and the state of sperm DNA in infertile men exposed to various occupational exposures.

Material and Methods: This study was performed on 152 men who referred to Isfahan Fertility and Infertility Center (spring 2014 to autumn 2016) for diagnostic purposes. After an interview with all the participants, their semen samples were collected for assessment of sperm parameters and sperm chromatin health, based on the WHO protocol and the TUNEL method, respectively.

Results: The results showed that in men with prolonged sitting, high physiological activity and with exposure to chemical compounds, they had lower sperm motility and higher sperm DNA damage than the presented criteria by previous studies. In addition, in men with DNA damage higher than 10%, there was a significant decrease in sperm parameters.

Conclusion: Occupational exposure has negative effects on sperm parameters and sperm chromatin health, but more studies are needed to prove these results.

Keywords: Infertility, Occupational exposures, Sperm DNA damage, Sperm parameters