

اثر مواجهات شغلی بر روی پارامترهای اسپرمی و ساختار کروماتین اسپرم

لیدا باباخواه^۱، M.Sc.، لیلا آزادی^۱، M.Sc.، مریم اربابیان^۱، B.Sc.، مرضیه تولائی^۱، Ph.D.،^{۱*}، مهرانوش بهادرانی^۲، Ph.D.، محمد حسین نصر اصفهانی^۳، Ph.D.

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: Tavalae.m@royaninstitute.org

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۴/۲۰

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۲/۲۱

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 به ترتیب 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. به علاوه، 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 ۱۵ درصد از مردم جهان با مشکل ناباروری مواجه هستند که در حدود نیمی از ناباروری ها به دلیل فاکتورهای مردانه می باشد (۱). تعدادی از عوامل ایجاد کننده ناباروری مردان شامل جهش های ژنی، آنوپلوئیدی، بیماری های عفونی، انسداد مجاری تناسلی، واریکوسل، پرتو درمانی و شیمی درمانی می باشد (۲). پیامد ناشی از این عوامل می تواند کاهش کیفیت مایع منی باشد که علاوه بر آن که بر روی پارامترهای اسپرمی از جمله غلظت، تحرک و مورفولوژی اثر می گذارد، می تواند بر روی ساختار کروماتین اسپرم که نیمی از ژنوم آینده جنین را تشکیل می دهد، تاثیر گذار باشد. سلامت کروماتین اسپرم به عنوان یک عامل مهم در باروری بوده، به طوری که در افرادی که بیشتر از ۳۰ درصد از اسپرم ها، دارای آسیب DNA می باشند، امکان دستیابی به حاملگی تحت تاثیر قرار می گیرد (۳). در این زمینه مطالعات متعددی اذعان داشته اند که انتخاب اسپرم بر اساس شکل ظاهری می تواند 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 می شود ولی این اسپرم های به ظاهر طبیعی امکان دارد با آسیب DNA مواجه باشند (۴-۶). عوامل متعددی از جمله عوامل آگزوژنی و آندروژنی می تواند 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 آگزوژنی شامل آلاینده های محیطی، ترکیبات شیمیایی، سن، شیوه زندگی و غیره می باشد. از مهم ترین عوامل محیطی، می توان به مواجهات شغلی اشاره کرد. قرار گرفتن در معرض امواج الکترومغناطیس، فلزات مانند سرب، کروم، منگنز، جیوه، مواد حلال آلی، دود، هیدروکربن های آروماتیک چند حلقه ای و ارتعاشات مکانیکی می تواند بر روی 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 گنادوتروپین ها، تستوسترون و در نهایت کیفیت پارامترهای اسپرمی تحت تاثیر قرار می گیرد (۸-۱۰). نشستن طولانی مدت و مشاغلی که به طور مستمر در معرض درجه حرارت بالا می باشند، نقص در فرآیند اسپرماتوژنز و کاهش کیفیت پارامترهای اسپرمی را به همراه دارد و گاهی منجر به آسیب DNA اسپرم نیز می شود (۱۱). اما اثر سن بر روی پارامترهای اسپرمی و سلامت کروماتین اسپرم به صورت متناقض گزارش شده است (۱۲، ۱۳). بنابراین، با توجه به اهمیت سلامت DNA اسپرم در باروری، بررسی DNA اسپرم مردان دارای ارزش تحقیقاتی به سزایی می باشد و همچنین با توجه به این که امروزه در معرض گیری افراد به آلاینده های شیمیایی، محیطی و شغلی بیشتر شده است و امکان تاثیر این آلاینده ها بر روی کیفیت مایع منی بیشتر به نظر می رسد، 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 بر روی 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 مواجهه شغلی و استفاده از دخانیات تکمیل شد.

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

کیت TUNEL رنگ آمیزی 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 TUNEL مثبت (اسپرم‌های دارای آسیب DNA) بوده که به صورت درصد آسیب DNA اسپرم گزارش شده است (۱۵).

آنالیز آماری: آنالیز آماری به وسیله نرم افزار SPSS ۱۸ (SPSS, Chicago, IL, USA) با استفاده از آنالیز Independent-Sample T Test, Descriptive (برای مقایسه بین دو گروه) و one-way ANOVA (برای مقایسه بین چند گروه) مورد ارزیابی قرار گرفت. $p < 0.05$ از لحاظ آماری، معنی دار در نظر گرفته می‌شود.

نتایج

در این مطالعه میانگین سن مردان، $37/76 \pm 5/65$ و میانگین مدت زمان ناباروری، $8/81 \pm 6/34$ 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 \pm میانگین
غلظت اسپرم	$64/24 \pm 5/45$
درصد تحرک اسپرم	$41/40 \pm 2/18$
درصد اسپرم‌های دارای مورفولوژی غیر طبیعی	$94/30 \pm 0/55$
درصد آسیب DNA اسپرم	$14/65 \pm 0/92$

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) به طور معنی داری بیشتر بوده است ($p < 0.05$).

(Chamber بر حسب میلیون بر لیتر، میزان تحرک اسپرم به وسیله نرم افزار CASA (Computer Aided Sperm Analysis) و مورفولوژی اسپرم با استفاده از رنگ آمیزی دیف کوئیک (Diff Quik) بر اساس معیار WHO (۲۰۱۰) مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۴).

ارزیابی آسیب DNA اسپرم با استفاده از آزمون Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP (TUNEL) (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 به طور مستقیم اندازه گیری 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 سالیین (PBS: Phosphate Buffer Saline) شستشو و با تهیه اسمیر بر روی لام، طبق دستورالعمل

جهت بررسی اثر سن بر روی 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 معنی داری بین مردان کمتر و بیشتر از ۳۵ سال، از لحاظ

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.

P-Value	خطای استاندارد \pm میانگین	رده سنی	پارامترها
۰/۰۲	۴۸/۴۸ \pm ۵/۵۹	کمتر از ۳۵ سال	غلظت اسپرم (10^6 در هر میلی لیتر)
	۷۴/۲۸ \pm ۷/۹۹	بیشتر از ۳۵ سال	
۰/۲۷	۳۸/۳۵ \pm ۳/۵۲	کمتر از ۳۵ سال	درصد تحرک اسپرم
	۴۳/۲۶ \pm ۲/۷۷	بیشتر از ۳۵ سال	
۰/۱۸	۹۵/۲۶ \pm ۰/۶۹	کمتر از ۳۵ سال	درصد اسپرم های دارای مورفولوژی غیرطبیعی
	۹۳/۷۴ \pm ۰/۷۷	بیشتر از ۳۵ سال	
۰/۷۸	۱۵/۰۰ \pm ۱/۴۴	کمتر از ۳۵ سال	درصد آسیب DNA اسپرم
	۱۴/۴۶ \pm ۱/۱۹	بیشتر از ۳۵ سال	

درصد تحرک اسپرم در افراد دارای آسیب DNA کمتر از ۱۰ درصد ($53/73 \pm 4/36$) به‌طور معنی‌داری بیشتر از افراد دارای آسیب DNA بیشتر از ۱۰ درصد ($37/40 \pm 2/83$) است ($p < 0/01$). همچنین، درصد اسپرم‌های دارای مورفولوژی غیرطبیعی در افراد دارای آسیب DNA کمتر از ۱۰ درصد ($91/15 \pm 1/22$) به‌طور معنی‌داری کمتر از افراد دارای آسیب DNA بیشتر از ۱۰ درصد ($94/95 \pm 0/78$) می‌باشد ($p < 0/01$).

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 (جدول ۳). نتایج نشان می‌دهد، غلظت اسپرم در افراد دارای آسیب DNA کمتر از ۱۰ درصد ($87/24 \pm 14/89$) به‌طور معنی‌داری بیشتر از افراد دارای آسیب DNA بیشتر از ۱۰ درصد ($53/12 \pm 5/32$) می‌باشد ($p = 0/01$).

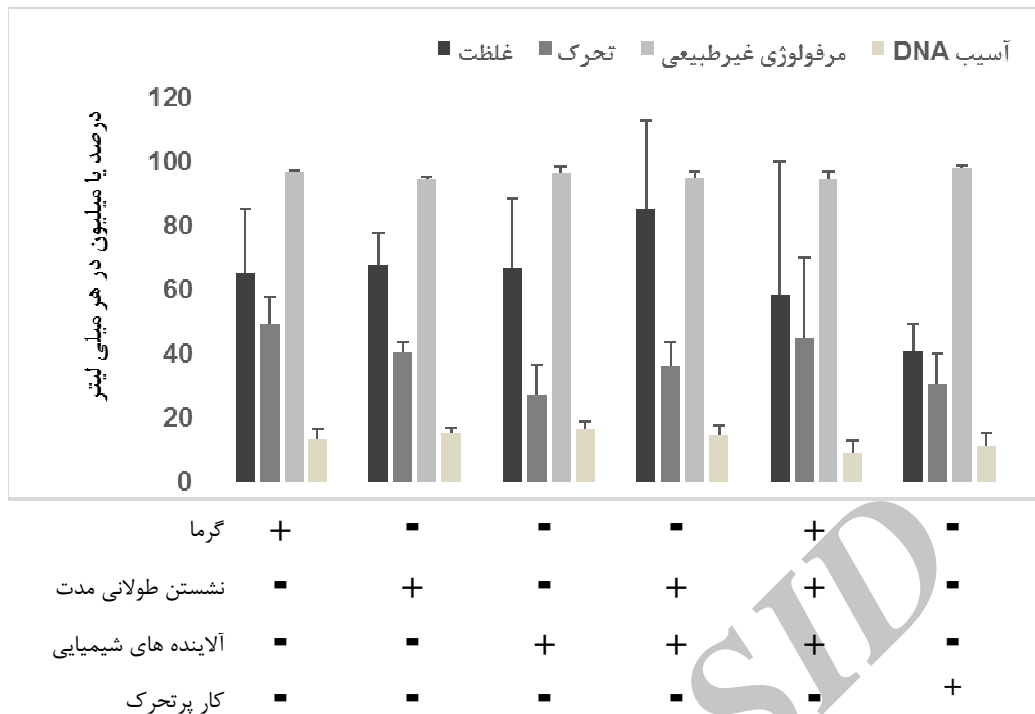
جدول ۳: مقایسه پارامترهای اسپرمی در افراد با آسیب DNA کمتر و بیشتر از ۱۰ درصد.

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

P-Value	خطای استاندارد \pm میانگین	میزان آسیب DNA	پارامترها
۰/۰۱۲	۸۷/۲۴ \pm ۱۴/۸۹	آسیب DNA کمتر از ۱۰ درصد	غلظت اسپرم (10^6 در هر میلی لیتر)
	۵۳/۱۲ \pm ۵/۳۲	آسیب DNA بیشتر از ۱۰ درصد	
۰/۰۰۲	۵۳/۷۳ \pm ۴/۳۶	آسیب DNA کمتر از ۱۰ درصد	درصد تحرک اسپرم
	۳۷/۴۰ \pm ۲/۸۳	آسیب DNA بیشتر از ۱۰ درصد	
۰/۰۰۸	۹۱/۱۵ \pm ۱/۲۲	آسیب DNA کمتر از ۱۰ درصد	درصد اسپرم های دارای مورفولوژی غیرطبیعی
	۹۴/۹۵ \pm ۰/۷۸	آسیب DNA بیشتر از ۱۰ درصد	

تحقیقاتی که حاوی گزینه‌های اصلی شغلی بود (۱۸)، بررسی شد و نتایج در نمودار ۱ ارائه شده است.

در این مطالعه، اثرات مواجهات شغلی بر روی پارامترهای اسپرمی و آسیب DNA اسپرم با پرکردن پرسشنامه



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

همزمان، $45/00 \pm 25/00$ و افراد پرتحرک، $30/4 \pm 9/71$ 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 پارامتر در نظر گرفته شده (۴۰ درصد)، برخوردارند.

میانگین اسپرم‌های دارای مورفولوژی غیر طبیعی در افراد در معرض گرم، $96/75 \pm 0/70$ ، افراد در معرض نشستن طولانی مدت $94/43 \pm 0/75$ ، افراد در معرض مواد شیمیایی $96/5 \pm 1/98$ ، افراد در معرض نشستن طولانی مدت و مواد شیمیایی $94/75 \pm 2/02$ ، افراد در معرض هر سه عامل گرم، نشستن طولانی مدت و مواد شیمیایی به‌طور هم‌زمان، $94/50 \pm 2/50$ و در افراد پرتحرک، $98/14 \pm 0/88$ است. بین گروه‌های ذکر شده در رابطه با درصد مورفولوژی غیرطبیعی، اختلاف معنی‌داری وجود ندارد ولی آنچه از این نمودار می‌توان استنباط کرد این

میانگین غلظت اسپرم (میلیون در هر میلی لیتر) در افراد در معرض گرم، $65/37 \pm 19/73$ ، افراد در معرض نشستن طولانی مدت، $67/53 \pm 9/99$ ، افراد در معرض مواد شیمیایی (مانند نقاش‌ها، کارگران کارگاه‌های صنعتی و...)، $66/87 \pm 21/57$ ، افراد در معرض نشستن طولانی مدت (مانند رانندگان، برخی مشاغل اداری و...) و مواد شیمیایی $85/43 \pm 27/44$ ، افراد در معرض هر سه عامل گرم (مانند نانو‌ها، کشاورزان، و...)، نشستن طولانی مدت و مواد شیمیایی، $58/50 \pm 41/50$ و در افراد پرتحرک، $40/71 \pm 8/43$ می‌باشد، که بین این گروه‌ها اختلاف معنی‌داری وجود ندارد و احتمالاً اثر این مواجهات شغلی بر روی غلظت اسپرم کمتر است.

میانگین درصد تحرک اسپرم در افراد در معرض گرم، $49/22 \pm 8/27$ ، افراد در معرض نشستن طولانی مدت، $40/60 \pm 3/20$ ، افراد در معرض مواد شیمیایی، $27/33 \pm 9/02$ ، افراد در معرض هر سه عامل گرم، نشستن طولانی مدت و مواد شیمیایی به‌طور

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 می‌باشند (۷،۵). آسیب DNA اسپرم یا ساختار کروماتین آن می‌تواند در هر مرحله از اسپرماتوژنز رخ دهد. عمدتاً 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 (۹-۱۱). در این مقاله مدنظر است که بیشتر اثر عوامل شغلی بر روی پارامترهای اسپرمی و آسیب DNA اسپرم مورد بررسی قرار گیرد.

در این مطالعه بررسی اثر سن بر روی 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 توجیه‌کننده 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 داده‌اند که برای مردان با سن بالا که تصمیم به پدر شدن 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 آنتی‌اکسیدانت‌های پلاسما (Total Antioxidant Capacity) در افراد کمتر از ۴۰ سال و بالای ۴۰ سال تفاوتی نداشته‌اند (۲۲). اما برخلاف

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، $13/11 \pm 3/23$ ، افراد در معرض نشستن طولانی مدت، $15/19 \pm 1/53$ ، افراد در معرض مواد شیمیایی، $16/60 \pm 2/08$ ، افراد در معرض نشستن طولانی مدت و مواد شیمیایی، $14/53 \pm 3/16$ ، افراد در معرض هر سه عامل گرما، نشستن طولانی مدت و مواد شیمیایی، $8/75 \pm 4/17$ و در افراد پرتحرک، $11/37 \pm 3/80$ است. اگرچه از لحاظ آماری، اختلاف معنی‌داری بین گروه‌ها وجود ندارد ولی اگر حد آستانه ۱۰ درصد را برای میزان آسیب DNA اسپرم با روش TUNEL در نظر گرفت کاملاً واضح است که افراد پویا و پرتحرک و افرادی که در معرض دمای بالای، مواد شیمیایی و نشستن طولانی مدت هستند، بیشتر تحت تاثیر قرار گرفته‌اند.

بحث

در طی روند لقاح طبیعی، وجود سدهای فیزیولوژیک از جمله ناحیه شفاف و غشای تخمک باعث می‌شود 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 می‌شود از این مسیر طبیعی عبور نمی‌کند (۲۰، ۱۹). انتخاب اسپرم در این روش، بر اساس شکل ظاهری و تحرک بوده که تضمین‌کننده 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 می‌باشد. با وجودی که قسمت

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) بر روی نظامیان فرانسوی نشان داده است که مشاغل در معرض گرما، اثری بر روی ناباروری مردان نداشته و به عنوان یک فاکتور خطر برای ناباروری محسوب نمی شود. همچنین برخلاف مطالعاتی که به این نتیجه رسیده اند که افراد دارای مشاغل با تحرک بالاتر، دارای کیفیت اسپرمی بهتری می باشند، نتایج استوی و همکاران (۳۳) نشان می دهد که هیچ اثر مضر از مشاغل کم تحرک بر روی توانایی باروری افرادی که به مرکز درمان ناباروری مراجعه کرده بودند، مشاهده نشده است.

به طور کلی، مکانیسمی که از طریق آن شغل های در معرض مواد شیمیایی و سمی باعث اختلال در سیستم تولید مثلی می شود، بسیار پیچیده است. این احتمال وجود دارد که مواد شیمیایی مستقیماً بر روی ارگانل های تولید مثلی مانند بیضه اثر گذاشته و یا اینکه اثر آن ها، به طور غیرمستقیم از طریق تغییر تنظیم هورمونی می باشد. گاهی مواد سمی باعث آسیب به سلول های لایدیگ و کاهش ترشح تستوسترون شده که اثر منفی بر روی عملکرد سلول های سرتولی و اسپرماتوژنز دارد (۳۱).

یکی از مشکلات بررسی اثرات مواجهات شغلی بر روی 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، هم زمان در معرض چند فاکتور می باشند. برای مثال رانندگان حرفه ای، زمانی که در معرض مواد شیمیایی، سر و صدا، استرس های اجتماعی، اعمال فشار بر روی ارگانل های لگنی و افزایش دما بوده اند،

این یافته ها، مطالعات دیگر نشان داده اند که با افزایش سن، آسیب DNA اسپرم افزایش و پارامترهای اسپرمی کاهش یافته است (۲۴، ۲۳). بنابراین، به طور 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 نتیجه گیری بهتر نیاز به بررسی نتایج کلینیکی در تکنیک های کمک باروری باشد.

نتایج این مطالعه در بررسی اثر مواجهات شغلی مانند افراد پرتحرک و افراد در معرض گرما، نشستن و مواد شیمیایی بر روی پارامترهای اسپرمی و آسیب DNA اسپرم نشان داده است که مواجهات شغلی تا حدودی بر روی 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 سانتی گراد پایین تر از دمای بدن است، بنابراین احتمالاً در افرادی که به طور مستمر در معرض درجه حرارت بالا باشند (مانند صنعت سرامیک و جوشکاری)، نقص در فرآیند اسپرماتوژنز شایع تر است (۱۱). موقعیت های 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 می کنند، بیشتر از مشاغل دیگر است (۲۶) و یک ارتباط معنی دار 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 می یابد (۱۰ و ۲۸). در کارگران ریخته گری و صنعت سرامیک، نانوها و شغل های در معرض فلزات آلیاژی، کاهش کیفیت پارامترهای اسپرمی گزارش شده

اسپرمی را به همراه دارد و اگر ناشی از پراکسیداسیون لیپیدی غشای اسپرم باشد بر روی تحرک اسپرم نیز اثرگذار است (۷). مطالعات قبلی نشان داده اند که پارامترهای اسپرمی طبیعی و تراکم کروماتین با میزان موفقیت در روش‌های کمک باروری ارتباط دارد (۴۲،۷) که این پارامترهای طبیعی نتیجه اسپرماتوژنز طبیعی در بیضه، بلوغ طبیعی در اپی‌دیدیم و وجود ترکیبات پلاسمای مایع منی طبیعی می باشد. بنابراین در نهایت افراد دارای پارامترهای اسپرمی طبیعی و سلامت کروماتین اسپرم دارای شانس بیشتری برای فرزند دار شدن می باشند.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه، نشان می دهد که مواجهات شغلی در افرادی که در معرض مواد شیمیایی و نشستن طولانی مدت هستند و همچنین افراد پویا و پرتحرک، بر روی کیفیت پارامترهای اسپرمی و سلامت کروماتین اسپرم تا حدودی اثر گذار است. همچنین با توجه به اینکه سلامت کروماتین اسپرم، نتایج روش‌های کمک باروری را تحت تاثیر قرار می دهد، بررسی آسیب DNA اسپرم در افراد کاندید روش‌های کمک باروری به خصوص 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:

- 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
- 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

میزان آسیب به اسپرماتوژنز افزایش یافته است (۲۸). همچنین این مسئله در مورد جوشکارانی که در معرض حلال‌ها، فلزات سنگین و سر و صدا می باشند، صادق است. به علاوه، افراد شرکت کننده در این مطالعه از افراد نابارور مراجعه کننده به یک مرکز درمان ناباروری می باشند و شاید بهتر باشد که اطلاعات مراکز مختلف بر اساس یک استاندارد کلی مورد بررسی قرار گرفته و متغیرهای دیگر، مانند عادات زندگی متفاوت، سن و تفاوت‌های منطقه‌ای در نظر گرفته شوند.

نتایج این مطالعه نشان می دهد که مصرف سیگار اثری بر روی پارامترهای اسپرمی و آسیب DNA اسپرم ندارد (نتایج نشان داده نشده است). نتایج مطالعات در مورد اثر مصرف سیگار بر روی پارامترهای اسپرمی و آسیب DNA متناقض است. بر اساس نتایج چندین مطالعه، سیگار کشیدن اثری بر روی پارامترهای اسپرمی ندارد (۳۵،۳۴). اما برخی از مطالعات، نشان می دهند که در افراد سیگاری نسبت به غیر سیگاری آسیب DNA اسپرم افزایش یافته (۳۷،۳۶) و همچنین سلامت آکروزوم اسپرم و فعالیت میتوکندری تحت تاثیر قرار گرفته است (۳۸). نیکوتین (به عنوان یک کوتینین) موجود در پلاسمای مایع منی افراد سیگاری با اثر بر روی ساختار تاژک و آکسونم دم اسپرم، اثر منفی بر روی تحرک اسپرم دارد و از طریق افزایش ROS بر روی سیستم تولیدمثلی مردان اثرگذار است. دود سیگار حاوی مواد شیمیایی کارسینوژن و موتاژن می باشد و عملکرد پروستات، اپی‌دیدیم و وزیکول سمینال را تحت تاثیر قرار می دهد (۳۹).

نتایج این مطالعه نشان می دهد که در افراد دارای آسیب DNA بیشتر از ۱۰ درصد، پارامترهای اسپرمی به طور معنی داری کاهش می یابد (جدول ۳). در این راستا، نتایج برخی از مطالعات نشان داده اند که یک رابطه معنی دار منفی بین آسیب DNA اسپرم و پارامترهای اسپرمی وجود دارد (۴۱،۴۰). آسیب DNA اسپرم، در صورتی که نقص در اسپرماتوژنز باشد، کاهش پارامترهای

- 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. Tavalae 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 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, Tavalae 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.

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

Archive of SID

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, Tavalae 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: Tavalae.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