Downloaded from jmj.jums.ac.ir at 15:06 IRDT on Tuesday June 7th 2016

مقاله پژوهشی

عدم ارتباط پاپیلوما ویروس و پارامترهای اسپرم به عنوان یک عامل خطر در مردان نابارور مراجعه‌کننده به کلینیک ناباروری

نویسندگان:

فرزانه تفویضی[1*]، محمد حسن فتحی[1]، زهرا طهماسبی فرد[2]

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد پرند، دانشگاه آزاد اسلامی، پرند، ایران

۲- گروه زیست‌شناسی، واحد رودهن، دانشگاه آزاد اسلامی، رودهن، ایران

Pars Journal of Medical Sciences, Vol. 13, No.3, Fall 2015

چکیده:

مقدمه: عوامل متعددی در بروز ناباروری در مردان مؤثر است که از آن جمله می‌توان به عفونت‌های دستگاه تناسلی اشاره کرد. عفونت‌های تناسلی می‌توانند در اثر آلودگی‌های میکروبی، قارچی و ویروسی به وجود آیند. اخیراً تحقیقات مختلفی در رابطه با عفونت پاپیلوماویروس و تأثیر آن بر پارامترهای عملکردی اسپرم از جمله حرکت، مورفولوژی، تعداد اسپرم‌ها و کاهش قدرت باروری مردان انجام‌گرفته است، ولی ارتباط بین عفونت با این ویروس و ناباروری در مردان هنوز مبهم باقی‌مانده است.

روش کار: در این تحقیق، ۵۰ نمونه منی افراد بارور (به‌عنوان گروه کنترل) و ۵۰ نمونه منی افراد نابارور از مرکز ناباروری جهاد دانشگاهی قم جمع‌آوری شد. اسپرم‌ها مطابق بر اساس روش‌های استاندارد سازمان بهداشت جهانی مورد بررسی قرار گرفتند و سپس برای تعیین وجود پاپیلوماویروس از روش مولکولی واکنش زنجیره‌ای پلی مراز و تکثیر ناحیه L1 ویروس استفاده شد.

یافته‌ها: بررسی اسپرموگرام ۵۰ نمونه منی افراد نابارور نشان داد که از نظر شاخص تعداد، حرکت، مورفولوژی به ترتیب۳۶٪، ۶۸٪، ۷۲٪ دچار مشکل بودند و ۵۲٪ از آن‌ها در هر سه شاخص اشکال داشتند. در هیچ‌یک از نمونه‌های بارور و نابارور، DNA پاپیلوماویروس انسانی تشخیص داده نشد.

بحث و نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج این تحقیق، ارتباطی بین ناباروری در مردان و پاپیلوماویروس مشاهده نشد. عواملی نظیر خنثه شدن مردان، فقدان رفتارهای هم‌جنس گرایانه و عدم تعدد شرکای جنسی از جمله عوامل مؤثر در کاهش شیوع ویروس در جمعیت مردان موردمطالعه به شمار می‌روند.

واژگان کلیدی: ناباروری مردان، پاپیلوماویروس، ژن L1

Par J Med Sci 2015;13(3):37-44

مقدمه:

ناباروری در مردان به عدم توانایی در باردار نمودن زوجه پس از یک سال آمیزش و در زنان به عدم بارداری پس از این مدت گفته می‌شود. همچنین اگر زنی نتواند جنین را در رحم خود نگه‌دارد و آن را سقط کند، نابارور به شمار می‌آید [۱]. ناباروری و نازایی فقط به یک عامل وابسته نیست و عوامل بسیاری در آن دخالت دارند. این عوامل به سه دسته کلی عوامل ژنتیکی، محیطی و عفونی تقسیم می‌شوند. در سال ۱۹۹۳ سازمان بهداشت جهانی روی نقش عفونت‌های تناسلی در ناباروری انسان تأکید داشت [۲]. اغلب عفونت‌های ناحیه تناسلی مردان ممکن است سبب القاء ناباروری شود. گزارش‌شده است که در حدود ۲۰-۱۵ درصد موارد ناباروری نتیجه آلودگی مایع منی است [۳]. بر اساس جایگاه‌های مختلف عفونت، سازوکارهای پاتوژنیک مختلفی توصیف‌شده‌اند. ناباروری مردان از اثرات مهم و برجسته عفونت‌های باکتریایی مجاری ادراری- تناسلی است. این نوع عفونت در مجاری ادراری – تناسلی مردان سبب اختلال در فرایند اسپرماتوژنز، عملکرد، ساختار اسپرم (تحرک، قابلیت بقاء، واکنش آکروزومی، اتصال اسپرم به تخمک، آسیب به DNA و غشاء اسپرم) و حتی انسداد مجاری تناسلی می‌شود

* نویسنده مسئول، نشانی: پرند، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند، دانشکده علوم زیستی، گروه زیست‌شناسی

تلفن تماس:۰۹۱۲۵۷۰۹۵۳۲ پست الکترونیک:farzanehtafvizi54@gmail.com

دریافت: ۱۳۹۴/۲/۱۲ اصلاح: ۱۳۹۴/۵/۱۱ پذیرش:۱۳۹۴/۹/۲

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from jmj.jums.ac.ir at 15:06 IRDT on Tuesday June 7th 2016

و ناباروری یا کاهش میزان باروری را به دنبال دارد. علاوه بر باکتری‌ها، ویروس‌ها نیز می‌توانند در ناباروری مردان و زنان نقش داشته باشند [۴]. عفونت‌های مزمن ویروسی می‌توانند باعث آلودگی اسپرم شوند و یک عامل خطر برای ناباروری مردان در نظر گرفته شوند. مطالعات نشان می‌دهد که آلودگی با پاپیلوماویروس انسانی، ویروس هپاتیت B و ویروس هپاتیتC در مایع منی، باعث اختلال در پارامترهای اسپرم و به‌طور عمده سبب کاهش تحرک اسپرم می‌شود. در تحقیقات فورستا و همکاران مشخص شد که عفونت با پاپیلوماویروس انسانی سازوکاری مشابه با آلودگی اسپرم با سایر ویروس‌ها دارد. تأثیرات آلودگی ویروسی بر منطقه استوایی سر اسپرم باعث کاهش عملکرد دم اسپرم و توانایی آکروزوم می‌شود، بنابراین بر روی الحاق گامت ها اثرگذار خواهد بود [۵]. از آن جایی که عفونت پاپیلوماویروس انسانی در مردان، سبب بروز مشکلات باروری و سقط‌جنین در زنان نیز می‌شود، باید به آن توجه بیش‌تری شده و با تأکید روی غربالگری، یکی از عوامل خطرزای دخیل در ناباروری را از بین برد. با توجه به انتقال این ویروس و تأثیر آن روی تخمک لقاح یافته، در انجام لقاح آزمایشگاهی برای درمان ناباروری باید مردان از نظر عدم آلودگی به این ویروس در کلینیک‌های ناباروری با روش‌های دقیق مولکولی بررسی و اسپرم افراد سالم برای این کار انتخاب شوند تا راندمان عمل و احتمال بارداری افزایش یابد. با توجه به مطالب فوق، هدف از تحقیق حاضر شناسایی پاپیلوماویروس در مردان به‌عنوان یک عامل تأثیرگذار در عملکرد اسپرم است. با عنایت به این‌که تابه‌حال گزارشی در خصوص بررسی شیوع این ویروس روی ناباروری مردان در ایران منتشرنشده است، نتایج این تحقیق می‌تواند در کلینیک‌های ناباروری برای گزینش افراد جهت انجام عمل لقاح آزمایشگاهی و حتی اهدا اسپرم راهگشا باشد.

روش کار:

در این مطالعه موردی- شاهدی، نمونه‌گیری طی مدت شش ماه از فروردین تا مهرماه ۱۳۹۲ و پس از گرفتن رضایت‌نامه کتبی از افراد در محدوده سنی ۲۵-۴۵ سال مراجعه‌کننده به کلینیک ناباروری مرکز جهاد دانشگاهی قم انجام شد. ۵۰ فرد نابارور بدون داشتن سابقه واریکوسل و ترومای بیضوی با یک سال نزدیکی محافظت نشده و بدون هیچ‌گونه سابقه قبلی از نظر اشکالات و اختلالات در رحم و تخمدان زنانشان (به‌عنوان گروه مورد)، به همراه ۵۰ مرد بارور دارای حداقل یک فرزند (به‌عنوان گروه کنترل) وارد مطالعه شدند. نمونه‌برداری از منی افراد مراجعه‌کننده به‌شرط عدم آمیزش جنسی طی ۴۸ ساعت گذشته انجام گرفت. برای بررسی خصوصیاتی از جمله حجم، pH، زمان مایع‌شدگی، حرکت، مورفولوژی و تعداد اسپرم‌ها، روی تمامی نمونه‌ها مطابق با معیارهای سازمان بهداشت جهانی اسپرموگرام انجام شد. نمونه‌های جمع‌آوری‌شده در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد برای استخراج DNA نگهداری شدند.

برای استخراج DNA، ابتدا ۲۰ میکرو لیتر از مایع منی با ۵۰۰ میکرو لیتر اتانول ۷۰٪ شستشو داده شد. نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه در ۱۳۰۰۰ rpm به مدت ۳۰ سانتریفیوژ شدند و مایع رویی حذف شد. مراحل قبل یک‌بار دیگر تکرار شدند و با مشاهده رسوب سفیدرنگ، ۵۰۰ میکرو لیتر بافر لیز کننده و ۲/۵ میکرو لیتر از Triton-X100 (0.5%)، ۲۱ میکرو لیتر DDT (1M) و ۴۰ میکرو لیتر پروتئیناز K (10mg/ml) به آن اضافه شد. نمونه‌ها به‌خوبی با بافر هضم‌کننده مخلوط و در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد به مدت یک شبانه‌روز انکوبه شدند. سپس میکروتیوپ ها به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۵۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شدند و مایع رویی به میکروتیوپ های جدید انتقال یافت. یک میکرو لیتر گلیکوژن (20 mg/ml) و یک‌دهم حجم از NaAc (3M) به نمونه‌ها اضافه و به‌شدت مخلوط شدند. سپس دو حجم اتانول سرد مطلق به نمونه‌ها اضافه و به مدت ۲-۱ ساعت در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد برای رسوب‌دهی DNA نگهداری شدند. پس از آن، ماده حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در rpm ۱۳۰۰۰ سانتریفیوژ و رسوب مورد نظر با دور ریختن مایع رویی آن استخراج شد. رسوب DNA حاصل با ۵۰۰ میکرو لیتر اتانول ۷۵٪ شستشو و در دمای اتاق به مدت ۱۰ دقیقه در rpm ۱۳۰۰۰ سانتریفیوژ و سپس خشک شد. در نهایت، رسوب مذکور در بافر TE حل و غلظت و خلوص آن توسط نانو دراپ بررسی شد [۶].

واکنش زنجیره‌ای پلی مراز ژن بتاگلوبین:

واکنش زنجیره‌ای پلی مراز در حجم نهایی ۲۵ µl شامل، ۱۲/۵µl بافر آمپلیکون، ۰/۵ µl (۰/۴ میکرومولار) از پرایمر اختصاصی ژن بتاگلوبین GH20 (5' GAA GAG CCA AGG ACA GGT AC 3')، PC04 (5' CAA CTT CAT CCA CGT TCA CC 3')، ۵۰ ng از DNA نمونه‌های استخراج‌شده، برای اثبات استخراج DNA از نمونه‌ها انجام شد. تکثیر DNA با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (Bio Rad PCR System, USA) مطابق برنامه دمایی مرحله دناتوراسیون ابتدایی در ۹۵°C به مدت ۳ دقیقه، ۴۵ چرخه اتصال پرایمر شامل اعمال دمای ۹۵°C به مدت ۳۰ ثانیه، دمای ۵۳°C به مدت ۴۰ ثانیه و دمای ۷۲°C به مدت ۴۰ ثانیه صورت گرفت و در پایان مرحله گسترش نهایی پرایمر با اعمال دمای ۷۲ °C به مدت ۵ دقیقه

Archive of SID
www.SID.ir

Downloaded from jmj.jums.ac.ir at 15:06 IRDT on Tuesday June 7th 2016

انجام شد. محصولات حاصل از واکنش زنجیره‌ای پلی مراز، پس از رنگ‌آمیزی با ژل رد بر روی ژل آگارز ۲٪ در تانک الکتروفورز حاوی بافر TBE (Tris Base, Boric acid, Na EDTA, Deionized Water) با ولتاژ ۱۰۰V به مدت یک ساعت مورد بررسی کیفی قرار گرفتند و نتایج به‌وسیله دستگاه ژل داک مشاهده شد.

واکنش زنجیره‌ای پلی مراز اختصاصی ژن L1 ویروس HPV:

واکنش زنجیره‌ای پلی مراز اختصاصی ژن L1، از پرایمرهای MY09/MY11 استفاده شد [۷]. MY09: CGT CCM ARR GGA WAC TGA TC و MY11: GCM CAG GGW CAT AAY AAT GG. مراحل تکثیر DNA، گسترش نهایی پرایمر و بررسی کیفی محصول حاصل مشابه مورد قبل انجام شد.

یافته‌ها:

بررسی کمّی DNA استخراج‌شده از نمونه‌های منی

مایع منی مایع سمینالی است متشکل از اسپرماتوزوا که به نام پلاسمای سمینال نیز گفته می‌شود. این مایع دارای فروکتوز و پروتئین‌های مختلفی است که برای بقاء اسپرماتوزوا ضروری هستند، اما از طرفی سبب کاهش خلوص و کیفیت DNA استخراج‌شده می‌شوند؛ بنابراین قبل از استخراج DNA باید با اتانول شستشو داده شوند [۶]. اسپرماتوزوا توسط غشای غنی از باندهای دی سولفید محافظت می‌شود که این باندها به‌نوبه خود در روند استخراج DNA و لیز سلولی اختلال ایجاد می‌کنند. به‌منظور حذف و شکستن باندهای مذکور باید از یک آنتی‌اکسیدان قوی به نام دی تیوتریتول استفاده نمود تا سلول‌های اسپرم نسبت به بافر هضم‌کننده و فعالیت پروتئین کیناز K حساس‌تر و نفوذپذیرتر شده و استخراج DNA آسان‌تر انجام گیرد. سدیم دو دسیل سولفات با اتصال به پروتئین‌ها کمپلکسی غیر محلول تشکیل می‌دهد که فاز رویی آن حاوی اسیدهای نوکلئیک است، در حین سانتریفیوژ رسوب‌کرده، به‌آسانی قابل‌انتقال به میکروتیوپ جدید است. با توجه به این‌که نقش EDTA جلوگیری از عمل DNase است و گلیکوژن و سدیم استات هر دو به اسیدهای نوکلئیک متصل شده و به رسوب DNA کمک می‌کند. هر دوی این مواد بایستی قبل از اضافه نمودن اتانول، به نمونه اضافه گردند. جهت حصول اطمینان از استخراج DNA از نمونه‌های اسپرم، علاوه بر سنجش از طریق نانودراپ، واکنش زنجیره‌ای پلی مراز ژن بتاگلوبین هم انجام گرفت. ارزیابی کمّی DNA استخراج‌شده از نمونه‌ها با اسپکتروفتومتر (نانودراپ)، بیانگر میزان جذب مناسب محلول DNA در طول‌موج ۲۶۰nm یعنی در محدوده ۲-۱/۷ بود که نشانگر مناسب بودن DNA استخراج‌شده از نمونه‌ها برای تکثیر با واکنش زنجیره‌ای پلی مراز بود.

آنالیز اسپرموگرام ۱۰۰ نمونه، بیانگر آنالیز طبیعی در ۵۰ نمونه به‌عنوان کنترل و آنالیز غیرطبیعی در برخی پارامترهای اسپرم در ۵۰ نمونه بیمار بود. سه عامل حرکت، تعداد و مورفولوژی اسپرم از جمله مهم‌ترین عوامل در ارزیابی کیفیت اسپرم و ناباروری به‌حساب می‌آیند که به ترتیب ۶۸٪ از نظر حرکت، ۴۶٪ از لحاظ تعداد و ۷۲٪ از نظر مورفولوژی پایین‌تر از حد استاندارد گزارش شدند و به‌عنوان نابارور در نظر گرفته شدند. از بین ۵۰ نمونه نابارور، ۵۲٪ در هر سه عامل تعداد، مورفولوژی و حرکت اختلال داشتند.

نتایج حاصل از تکثیر ژن بتاگلوبین:

علاوه بر سنجش از طریق نانودراپ، واکنش زنجیره‌ای پلی مراز ژن بتاگلوبین نیز بر روی ۱۰۰ نمونه انجام گرفت که تکثیر قطعه ۲۶۸ bp در تمامی نمونه‌ها حاکی از کیفیت خوب DNA استخراج‌شده بود. تمامی نمونه‌ها با پرایمرهای اختصاصی ژن بتاگلوبین تکثیر شدند و محصول ۲۶۸bp بر روی ژل آگارز تائید گردید که این امر حاکی از تائید DNA استخراج‌شده از نمونه‌ها بود. پروفایل ژل آگارز در شکل ۱ نمایش داده‌شده است.

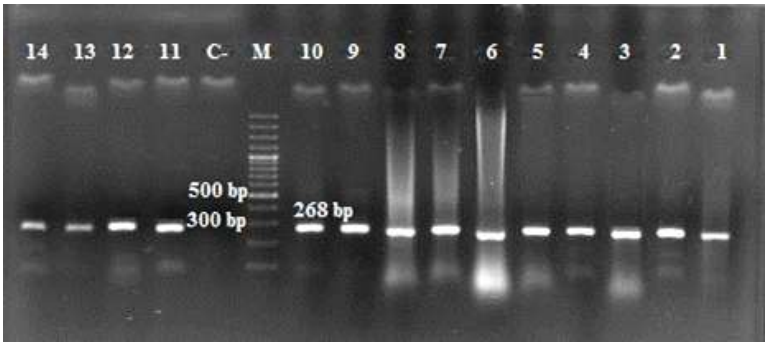
نتایج حاصل از تکثیر ژن L1 پاپیلوماویروس انسانی:

پس از انجام واکنش زنجیره‌ای پلی مراز با پرایمرهای اختصاصی L1، محصول ۴۵۰bp که حاکی از تکثیر این قطعه در نمونه‌ها باشد مشاهده نشد. واکنش زنجیره‌ای پلی مراز همراه با وجود کنترل مثبت در نمونه‌ها انجام شد و قطعه مذکور فقط در کنترل مثبت تکثیر شد و در هیچ‌کدام از نمونه‌های بارور و نابارور مشاهده نگردید؛ بنابراین تمامی نمونه‌ها از نظر آلودگی با پاپیلوماویروس منفی گزارش شدند (شکل ۲).

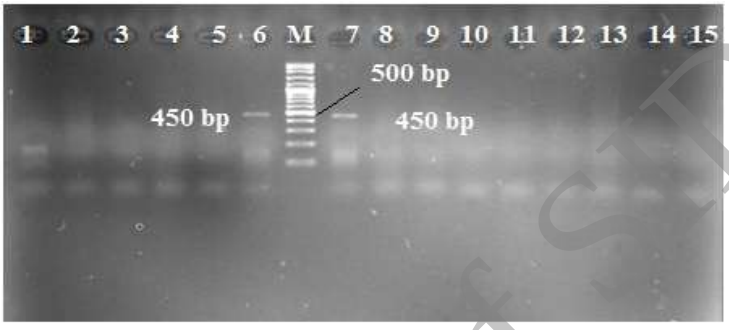
Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from jmj.jums.ac.ir at 15:06 IRDT on Tuesday June 7th 2016



شکل ۱: واکنش زنجیره‌ای پلی مراز ژن بتا گلوبین به‌عنوان کنترل داخلی جهت ارزیابی استخراج DNA. چاهک‌های ۱۴-۱: محصول پی سی آر ژن بتاگلوبین (قطعه ۲۶۸ bp) در تعدادی از نمونه‌های بارور و نابارور، M: 100 base pairs DNA Ladder، c-: کنترل منفی.



شکل۲: پروفایل واکنش زنجیره‌ای پلی مراز اختصاصی ژن L1 ویروس پاپیلوما (مشاهده قطعه ۴۵۰ bp) بر روی ژل آگارز ۲ درصد. چاهک‌های ۵-۱: عدم تکثیر قطعه ۴۵۰ bp در تعدادی از نمونه‌های بارور، چاهک ۶: کنترل مثبت، چاهک M: 100 base pairs DNA Ladder، چاهک ۷: کنترل مثبت، چاهک ۸: کنترل منفی، چاهک‌های ۱۵-۹: عدم تکثیر قطعه ۴۵۰bp در تعدادی از نمونه‌های نابارور.

بحث:

پاپیلوماویروس انسانی یکی از مهم‌ترین ویروس‌هایی است که از طریق جنسی انتقال می‌یابد. تاکنون بیش از ۹۰ ژنوتیپ از این ویروس شناسایی‌شده است که سبب آلودگی ناحیه تناسلی شده و حداقل ۱۳ ژنوتیپ به‌عنوان پر خطر یا انکوژن در نظر گرفته می‌شوند [۸].

شیوع عفونت پاپیلوماویروس در اسپرم مردان فعال از لحاظ جنسی وجود دارد و اخیراً فرضیه ارتباط آن با ناباروری مردان مطرح‌شده است [۹]. در مورد ارتباط آلودگی با این ویروس و تغییر کیفیت پارامترهای اسپرم و بروز ناباروری مطالعات مختلفی انجام‌گرفته است ولی هنوز این ارتباط به‌طورقطع تأیید نشده است. در واقع نتایج بعضی از مطالعات حاکی از تأثیر منفی این ویروس بر پارامترهای اسپرم و بعضی دیگر دال بر عدم ارتباط عفونت این ویروس و تغییر کیفیت پارامترهای اسپرم و حتی سقط‌جنین می‌باشد.

بزولد نشان داد که عفونت‌های منی از جمله عفونت پاپیلوماویروس حتی در مردان بدون علامت نیز وجود دارد و اغلب با کیفیت پایین اسپرم و تغییر در دو عامل اصلی یعنی حرکت پیش‌رونده و مورفولوژی اسپرم مرتبط بوده که در نهایت روی باروری مردان مؤثر است و حتی می‌تواند منجر به ناباروری شود [۱۰]. در چندین مطالعه دیگر نیز به کاهش تحرک اسپرم در نتیجه آلودگی با پاپیلوما اشاره‌شده است [۹، ۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۴].

در تحقیق انجام‌گرفته توسط یانگ و همکاران روی دو گروه بارور و نابارور، مشخص شد که عفونت پاپیلوما در مردان نابارور نسبت به مردان بارور شیوع بیش‌تری دارد. از طرفی، تحرک پیش‌رونده و مورفولوژی نرمال اسپرم در افراد آلوده به‌طور واضحی با کاهش همراه است [۱۵].

در مطالعه‌ای که توسط کای و همکاران در سال ۲۰۱۴ به‌منظور بررسی اثر عفونت همزمان پاپیلوماویروس و کلامیدیاتراکوماتیس روی پارامترهای اسپرم از جمله غلظت، حرکت و مورفولوژی انجام گرفت، نشان داد که عفونت همزمان کلامیدیا و پاپیلوماویروس سبب کاهش کیفیت پارامترهای اسپرم از جمله حرکت و مورفولوژی آن‌ها می‌شود [۱۶].

در مقابل چنین گزارش‌هایی، مطالعات دیگری نیز انجام‌گرفته است که بر عدم ارتباط عفونت پاپیلوماویروس و تأثیر روی کیفیت پارامترهای اسپرم تأکید دارند. تاناکا و همکاران در سال ۲۰۰۰، تحقیقی را به‌منظور بررسی شیوع پاپیلوماویروس نوع ۱۶ در بین زوج‌های کاندید برای عمل IVF و تأثیر آن روی

Archive of SID
www.SID.ir

Downloaded from jmj.jums.ac.ir at 15:06 IRDT on Tuesday June 7th 2016

پارامترهای اسپرم انجام دادند که در آن ارتباطی بین این ویروس و کیفیت حرکت اسپرم دیده نشد. به عقیده این گروه، عفونت پاپیلوما هیچ تأثیری در سقط‌جنین و عدم موفقیت عمل IVF ندارد [۱۷]. همچنین در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۰ توسط فورستا و همکاران به روش فیش برای بررسی میزان آلودگی اسپرم با ویروس پاپیلوما و تأثیر آن بر پارامترهای اسپرم در دو گروه دارای سابقه جنسی و بدون سابقه جنسی انجام گرفت، بیانگر حضور پاپیلوماویروس در گروه دارای سابقه جنسی محافظت نشده و همراه بودن عفونت با کاهش حرکت اسپرم بود، درحالی‌که در گروه بدون سابقه جنسی هیچ‌گونه عفونت پاپیلوماویروس مشاهده نشد [۱۸].

اسچیلی و همکاران با انجام مطالعه‌ای روی مردانی که همسرانشان کاندید عمل IVF بودند، نشان داد که آلودگی پاپیلوماویروس در ۷/۸ درصد از مایع منی آن‌ها وجود دارد. لازم به ذکر است ژنوتیپ های انکوژنیک پاپیلوماویروس در افراد مورد مطالعه و بدون علائم تائید شد، ولی نقش عفونت در ناباروری تأیید نشد [۱۹].

این فرضیه که ممکن است اسپرم‌های آلوده در طی شستشو، عفونت پاپیلوما را از دست بدهند نیز مورد پذیرش نیست؛ زیرا در تحقیقی که روی بیماران نابارور آلوده به این ویروس انجام‌گرفته ثابت کرد که شستشو تأثیری روی حذف این ویروس ندارد [۲۰].

شیوع ویروس پاپیلوما در نقاط مختلف جهان از صفر تا ۷۳ درصد متغیر است. مطالعات مختلف نشان داده است که به‌طور میانگین بیش از ۵۰٪ از مردان و زنان که از لحاظ جنسی فعال هستند در زندگی‌شان عفونت پاپیلوما را خواهند داشت و خطر این آلودگی می‌تواند با داشتن شریک‌های جنسی چندگانه، ارتباط جنسی بدون کاندوم و سیگار کشیدن افزایش یابد. عفونت پاپیلوماویروس و توزیع ژنوتیپ آن در مردان آسیایی، به‌ویژه در مردانی که باروری آن‌ها محرز شده است به‌ندرت گزارش‌شده است [۱۵].

ختنه ممکن است خطر ابتلای مردان به عفونت ویروس پاپیلومای انسانی و نیز احتمال انتقال به زوجه را کاهش دهد که این خود سبب کاهش خطر ابتلای سرطان گردن رحم در خانم‌ها می‌شود. ختنه در مردان سبب کاهش سطح تماس در آلت تناسلی و نیز جلوگیری از فیموز یا تنگی غلاف می‌شود. کاهش سطح تماس در آلت تناسلی یکی از عوامل کاهش احتمال آلودگی به عفونت پاپیلوما است طبق تحقیقاتی که در ایالات‌متحده آمریکا انجام‌گرفته، شیوع عفونت پاپیلوما ویروس در سر آلت (تاج) مردان ختنه نشده ۴۶٪ و در مردان ختنه شده ۲۹٪ بوده است [۸]. از طرفی، رفتارهای هم‌جنس گرایانه و یا داشتن رابطه جنسی با چند نفر احتمال عفونت پاپیلوما ویروس را افزایش می‌دهد [۱۵]. در تحقیق حاضر از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز استفاده‌شده و در نتیجه این احتمال وجود دارد که ژنوم های پاپیلوما ویروس با حساسیت بالا شناسایی شوند. در این روش از سکانس‌های پرایمر عمومی که در میان طیف وسیعی از انواع پاپیلوما ویروس‌ها حفظ‌شده است، استفاده شد تا انواع پاپیلوما ویروس‌های موجود در نمونه‌ها شناسایی شوند. پرایمرهای درجنت استفاده‌شده در این تحقیق قادر به شناسایی ژنوتیپ های پرخطر و کم‌خطر می‌باشند. روش کار در این بررسی کاملاً معتبر بوده و در سایر تحقیقات انجام‌گرفته در کشورهای دیگر نیز از این روش برای شناسایی انواع خاصی از ویروس استفاده‌شده است. در تحقیق حاضر، نیز ابتدا با پرایمرهای عمومی، شناسایی انواع ویروس پاپیلوما موردبررسی قرار گرفت و با بردن محصولات تکثیرشده بر روی ژل آگارز، باند موردنظر به‌جز در مورد نمونه کنترل مثبت، مشاهده نشد. شاید اگر تعداد نمونه‌های موردبررسی افزایش یابد نتایج به‌دست‌آمده نیز تغییر کند. از طرفی کشور ما ایران یک کشور آسیایی است و شیوع این ویروس در این قاره نسبت به قاره‌های دیگر کمتر است. از طرفی در کشور اسلامی ما تقریباً همه مردان در خردسالی ختنه می‌شوند که این خود دلیل دیگری بر کاهش شیوع ویروس پاپیلوما در کشورمان است. از دیگر عوامل شیوع این ویروس، رفتارهای هم‌جنس گرایانه بوده است، در کشورهای پیشرفته رفتارهای هم‌جنس گرایانه نسبت به کشور ما بسیار بیشتر است و این خود دلیلی دیگر بر کاهش شیوع این ویروس در کشورمان است. یکی دیگر از عوامل شیوع این ویروس داشتن رابطه جنسی با چند نفر است که از عوامل اصلی شیوع آن در دنیا است. در کشور ما به خاطر اعتقادات مذهبی این رفتار نسبت به کشورهای پیشرفته کمتر دیده می‌شود و از طرفی نمونه‌هایی که تهیه‌شده بود از افراد متأهل بوده است که فقط با زوج خود رابطه جنسی داشته‌اند و در شهر مذهبی قم زندگی می‌کرده‌اند که این خود خوشبختانه دلیلی بر کاهش هر چه بیشتر شیوع ویروس پاپیلومای انسانی در منطقه موردبررسی (شهر قم) شده است. از این رو عدم وجود آلودگی توسط این ویروس در ۱۰۰ نمونه‌ای که مورد بررسی قرارگرفته نمی‌تواند دلیل قاطعی بر عدم تأثیر عفونت پاپیلوما ویروس بر ناباروری مردان باشد. چرا که در مطالعاتی که در سایر نقاط جهان صورت گرفته رابطه بین عفونت پاپیلوما ویروس و ناباروری در مردان تأیید شده است. شیوع این ویروس علاوه بر منطقه جغرافیایی، نژاد و وضعیت اقتصادی- اجتماعی، به میزان فعالیت جنسی نیز وابسته است. نتیجه گرفته‌شده در این تحقیق، مشابه نتیجه تحقیق فورستا در سال ۲۰۱۰ است که پاپیلوما ویروس اصلاً در

Archive of SID
www.SID.ir

Downloaded from jmj.jums.ac.ir at 15:06 IRDT on Tuesday June 7th 2016

افراد بدون سابقه جنسی دیده نشده است [۱۳]. شیوع پاپیلوما ویروس در افراد مورد مطالعه در این تحقیق منفی گزارش‌شده که احتمالاً مواردی از جمله ختنه شدن، متأهل بودن و پایبندی به اصول اخلاقی و عدم تعدد شرکای جنسی در آن نقش داشته است.

نتیجه گیری:

با توجه به این‌که تمامی افراد مورد مطالعه در این تحقیق، از نظر آلودگی پاپیلوما ویروس منفی بودند می‌توان با قطعیت اعلام نمود که تغییر در پارامترهای اسپرم از جمله مورفولوژی، حرکت و تعداد اسپرم‌ها ارتباطی به آلودگی و عفونت با این ویروس نداشته است و باید عوامل دیگری از جمله عفونت‌های باکتریایی و ویروسی دیگری بررسی شوند. نتایج مطالعه حاضر هم سو با مطالعات دیگری است که تغییر در پارامترهای اسپرم مستقل از عفونت پاپیلوما ویروس گزارش کرده‌اند.

پیشنهاد می‌شود که آزمایش مایع منی روی مردان نابارور دارای عوامل خطر (زگیل‌های تناسلی، شرکای مثبت و عفونت‌های قبلی) از نظر وجود پاپیلوما ویروس انجام شود. با توجه به این‌که پاپیلوما ویروس در سقط‌های خود به خودی نیز مؤثر است، در این موارد هم می‌توان مایع منی مردان را از نقطه‌نظر حضور این ویروس مورد بررسی قرار داد و در صورت مثبت بودن، تحت درمان مناسب قرارگرفته و اسپرم عاری از ویروس شود. همچنین پیشنهاد می‌شود با استفاده از روش‌های دقیق دیگر از قبیل PCR بلادرنگ، حضور ویروس در جمعیت‌های بزرگ‌تر و در مناطق جغرافیایی متفاوت مورد بررسی قرار گیرد و از نظر وجود ویروس مذکور غربالگری روی مردان انجام شود.

تشکر و قدردانی:

بدین‌وسیله از کارکنان محترم کلینیک جهاد دانشگاهی قم به خاطر همکاری و در اختیار قرار دادن نمونه‌های بالینی برای تحقیق سپاسگزاری می‌شود.

تعارض منافع:

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافع با توجه به تالیف یا انتشار مقاله اعلام نکرده اند.

References:

1. Vosooghi S, Kheirkhah B, Kariminik A, et al. A review of the role of Mycoplasma infections in humans' infertility. NCMBJ 2012; 2(8): 9-20 [Persian].
2. World Health Organization. Manual for the Standardized Investigation and Diagnosis of the Infertile Couple. Cambridge University Press, Cambridge, New York;1993.
3. Weidner W, Krause W, Ludwig M. Relevance of male accessory gland infection for subsequent fertility with special focus on prostatitis. Hum Reprod Update 1999; 5(5):421–432.
4. Fanaei H, Mardaneh J, Khayat S. An overview of the role of bacterial infection in male infertility. JFUMS 2013; 2(4): 227-234.
5. Foresta C, Garolla A, Zuccarello D, et al. Human papillomavirus found in sperm head of young adult males affects the progressive motility. J Fertil Steril 2010; 93(3):802-806.
6. Weyrich A. Preparation of Genomic DNA from Mammalian Sperm. Current protocols in Molecular Biology 2012;Chapter 2:Unit 2.13.1-3.
7. Shah KV, Daniel RW, Simons JW, et al. Investigation of colon cancers for human HPV genomic sequences by Polymerase Chain Reaction. J Surg Oncol 1992; 51(5):5-7.
8. Carrie M, Nilson M, Melody K, et al. Association between Male Anogenital HPV infection and Circumcision by Anatomic site sampled and lifetime Number of female sex partner. J Infect Dis 2009; 199(1):7-13.
9. Garolla A, Pizzol D, Bertoldo A, et al. Association, prevalence, and clearance of human papillomavirus and antisperm antibodies in infected semen samples from infertile patients. J Fertil Steril 2013; 99(1):125-131.
10. Bezold G, Politch JA, Kiviat NB, et al. Prevalence of sexually transmissible pathogens in semen from asymptomatic male infertility patients with and without leuko-cytospermia. J Fertil Steril 2007; 87(5):1087–1097.
11. Lai YM, Yang FP, Pao CC. Human papillomavirus deoxyribonucleic acid and ribonucleic acid in seminal plasma and sperm cells. J Fertil Steril1996; 65(5):1026-1030.
12. Lai YM, Lee JF, Huang HY, et al. The effect of human papillomavirus infection on sperm cell motility. J Fertil Steril 1997; 67(6):1152-1155.
13. Foresta C, Pizzol D, Moretti A, et al. Clinical and prognostic significance of human papillomavirus DNA in the sperm or exfoliated cells of infertile patients and subjects with risk factors. J Fertil Steril 2010; 94(5):1723-1727.
14. Garolla A, Pizzol D, Foresta C. The role of human papillomavirus on sperm function. Curr Opin Obstet Gynecol 2011; 23(4):232-237.
15. Yang Y, Jia CW, Ma YM, et al. Correlation between HPV sperm infection and male infertility. Asian J Androl 2013;15(4):529–532.
16. Cai T, Wagenlehner FM, Mondaini N,et al. Effect of human papillomavirus and Chlamydia trachomatis co-infection on sperm quality in young heterosexual

Archive of SID

www.SID.ir

men with chronic prostatitis-related symptoms. BJU Int 2014;113(2):281-287.
17. Tanaka H, Karube A, Kodama H, et al. Mass screening for human papillomavirus type 16 infection in infertile couples. J Reprod Med 2000; 45(11):907-911.
18. Foresta C, Pizzol D, Moretti A, et al. Clinical and prognostic significance of human papillomavirus DNA in the sperm or exfoliated cells of infertile patients and subjects with risk factors. J Fertil Steril 2010; 94(5):1723-1727.
19. Schillaci R, Capra G, Bellavia C, et al. Detection of oncogenic human papillomavirus genotypes on spermatozoa from male partners of infertile couples. J Fertil Steril 2013; 100(5):1236-1240.
20. Foresta C, Pizzol D, Bertoldo A, et al. Semen washing procedures do not eliminate human papilloma virus sperm infection in infertile patients. J Fertil Steril 2011; 96(5):1077-1082

Downloaded from jmj.jums.ac.ir at 15:06 IRDT on Tuesday June 7th 2016

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from jmj.jums.ac.ir at 15:06 IRDT on Tuesday June 7th 2016

Original Article

Lack of association between HPV and sperm parameters as a risk factor in infertile men admitted to an infertility clinic

Farzaneh Tafvizi[1]*, Mohammad Hasan Fathi[1], Zahra Tahmasbi Fard[2]

Received:5/2/2015 Revised8/2/2015: Accepted: 11/23/2015

1. Dept of Biology, Faculty of Biological Sciences, Parand Branch, Islamic Azad University, Parand, Iran
2. Dept of Biology, Roudehen Branch, Islamic Azad University, Roudehen, Iran

Pars Journal of Medical Sciences, Vol. 13, No.3, Fall 2015

Par J Med Sci 2015;13(3):37-44

Abstract

Introduction:
Numerous factors contribute to male infertility including genital infections that may appear following microbial, fungal, and viral infections. Different studies have been recently conducted in the world on papillomavirus infection and its effect on functional parameters of sperm including motility, morphology, sperm count, and reduced male fertility. However, the correlation between papillomavirus infection and male infertility is still ambiguous.

Materials and Methods:
In this study, 50 semen samples of fertile men (as the control group) and 50 semen samples of infertile men were collected from Infertility Center of Qom Jihad Daneshgahi, Qom, Iran. The semen samples were analyzed according to World Health Organization's standard methods and papillomavirus was detected using PCR and virus L1 region replication.

Results:
The analyzed spermogram of 50 infertile samples showed that 36%, 68%, and 72% of the samples had problems, respectively in terms of count, motility, and morphology, and 52% of the infertile samples had problems in all three parameters. The DNA of human papillomavirus was not detected in any fertile and infertile samples.

Conclusion:
Based on the results of this study, there was no correlation between papillomavirus infection and male infertility. It seems that factors such as male circumcision, lack of homosexual behavior, and lack of multiple sexual partners were effective in reducing the prevalence of HPV in the studied male population.

Keywords: Male Infertility, Papillomavirus, L1 Gene

Archive of SID

* Corresponding author, Email: farzanehtafvizi54@gmail.com

www.SID.ir