A Review of the Effects of Temperature, Storage Duration, and Different Storage Methods on Sperm Parameters and Its Chromatin

Nateghian Z[1], Aliabadi A[2], Aliabadi E[3*]

[1]Ph.D. student, Department of Anatomy, School of Medicine, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
[2]DVM student, School of Veterinary Medicine, Kazerun Branch of Islamic Azad University, Kazerun, Iran
[3]Associate Professor, Department of Anatomy, School of Medicine, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

Abstract

Infertility is now a common problem for couples and half of it is due to male infertility, so maintaining sperm parameters and its chromatin are important for successful fertility. Various factors such as temperature, storage duration, and different methods of sperm storage, including cryopreservation, affect these sperm parameters and fertility. Different methods of sperm storage have advantages and disadvantages; among which cryopreservation is the most common method of long-term storage of sperm; maintaining fertility over a longer period. However, sperm fertility in this method is lower than fresh sex fluid. Despite the problems of freezing, cryopreservation advantages outweigh its disadvantages and it is an important tool for sperm storage in clinics of infertility. We searched the PubMed database. In our study, there is a combination of terms related to temperature and storage time as well as different methods of sperm storage and fertility parameters. The search was performed using Advanced Search Builder and the keywords were found in "Title or Abstract". In this study, we reviewed the effects of temperature, storage duration, and different storage methods on sperm parameters and its chromatin to determine the optimal conditions and methods for sperm storage.

Keywords: Sperm storage, Storage temperature, Long term storage, Cryopreservation, Chromatin, Spermatozoa

Sadra Med Sci J 2021; 9(1): 95-108.
Received: Dec. 9th, 2019
Accepted: Jan. 20th, 2021

[*]Corresponding Author: **Aliabadi E.** Associate Professor, Department of Anatomy, School of Medicine, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran, aliabade@sums.ac.ir

مجـــــله علـــــوم پزشکی صدرا
دوره ۹، شماره ۱، زمستان ۱۳۹۹، صفحات ۹۵ تا ۱۰۸
تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۱/۰۱ تاریخ دریافت: ۹۸/۰۹/۱۸

مقاله مروری
(Review Article)

بررسی مروری اثرات دما، مدت زمان و روش های مختلف نگهداری بر پارامتر های اسپرم و کرماتین آن

زهره ناطقیان[۱]، آروین علی‌آبادی[۲]، الهام علی‌آبادی[۳*]

[۱]دانشجوی دکتری علوم تشریحی،گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران
[۲]دانشجوی دکتری عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون،کازرون، ایران
[۳]دانشیار گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

چکیده

امروزه ناباروری یکی از مشکلات شایع برای زوجین محسوب میشود و نیمی از علل آن مربوط به مردان است .حفظ پارامتر های اسپرم و کروماتین آن در آزمایشگاه برای باروری موفقیت آمیزاین زوج ها ازاهمیت خاصی برخوردار است. عوامل متعددی از جمله دما، مدت زمان و روش های مختلف نگهداری اسپرم بر روی پارامتر های اسپرم و کروماتین آن موثر هستند. روش های مختلف نگهداری اسپرم هر یک دارای مزایا و معایبی هستند،از میان این روش ها انجماد شایع ترین روش است که قابلیت بارورسازی اسپرم را در یک دورهٔ زمانی طولانی‌تر حفظ می‌کند. اگرچه باروری اسپرم ها در این روش، در مقایسه با مایع جنسی تازه کمتر است اما مزایای این روش از معایب آن بیشتر بوده و هنوز به عنوان ابزار مهمی برای نگهداری اسپرم در کلینیک های ناباروری مطرح است. ما با استفاده از پایگاه داده PubMed به انجام جستجو پرداختیم. درمطالعه ما، ترکیبی از اصطلاحات مرتبط با دما و مدت زمان نگهداری و هم چنین روش های مختلف نگهداری اسپرم و پارامتر های باروری وجود دارد.جستجو با استفاده ازAdvanced Search Builder انجام شد وکلمات کلیدی در "عنوان یا چکیده" یافت شدند. این مطالعه، مروری براثرات دما ، مدت زمان و روش های مختلف نگهداری بر پارامتر های اسپرم و کرماتین آن می باشد تا بتوانیم شرایط و روش های بهینه برای نگهداری اسپرم را دریابیم.

واژگان کلیدی: ذخیره سازی اسپرم، دمای نگهداری، نگهداری طولانی مدت، منجمد کردن، کرماتین، اسپرماتوزوا

*نویسنده مسئول: **الهام علی‌آبادی**، دانشیار گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران، aliabade@sums.ac.ir

مقدمه

اسپرم و کروماتین آن ساختار ویژه ای دارند که با دیگرسلولهای بدن متفاوت می باشند(۱) . اسپرم سلولی با کارکرد پیچیده است و جهت حصول به باروری دستخوش تغییرات متعددی میگردد(۲).

DNA اسپرم پستانداران متراکم ترین DNA یوکاریوتیک است که حداقل ۶ بار متراکم تر از DNA سلولهای میتوتیک می باشد. این درجه بالای تراکم در DNA، در اثر پیوند شدن پروتئین هایی به نام پروتامین ها بجای هیستون ها با زنجیره DNA بوجود می آید و در نتیجه کروماتین اسپرم به جای ساختار نوکلئوزوم ، نظمی خطی و پهلو به پهلو پیدا می کند. این DNA متراکم می تواند درمقابل فاکتورهای شیمیایی و محیطی مقاومت کند (۳). با چنین پیش فرضی بنظر میرسد که تخریب هسته اسپرم میتواند نسبت به تخریب غشاء و ارگانل های اسپرم به تاخیر بیفتد (۴). در این صورت ممکن است بازیابی اسپرم از اپیدیدیم بعد از مرگ،ابزاری قوی برای حفظ مواد ژنتیکی باارزش باشد و نگهداری کوتاه مدت اسپرم بدون انجماد میتواند از کاهش تحرک و باروری آن جلوگیری کند (۵،۶).

روش‌ها

مطالعه حاضر، یک مطالعه مروری می باشدکه به بررسی تأثیر دما و مدت زمان نگهداری اسپرم و هم چنین روش های مختلف نگهداری بر پارامتر های اسپرم و کرماتین آن می پردازد. تمام مراحل تحقیق اعم ازجستجو، انتخاب مقالات وارزیابی کیفی درمورد آن صورت گرفته است و جمع آوری اطلاعات ازپایگاههای معتبرعلمی Pubmed، Scopus و همچنین موتورجستجوی Google Scholar براساس کلیدواژه ها انجام شده است.

در مطالعه حاضر، ترکیبی ازاصطلاحات مرتبط با دما و مدت زمان نگهداری و هم چنین روش های مختلف نگهداری اسپرم و پارامتر های آن با میزان باروری وجود دارد. جستجو با استفاده از Advanced Search Builder انجام شد وکلمات کلیدی در "عنوان یاچکیده" یافت شدند. با انتخاب مقالاتی که به زبان انگلیسی و فارسی در مورد کلمات کلیدی نوشته شده اند، بازدیدها را فیلترکردیم که براین اساس درفاصله سالهای۲۰۱۹-۱۹۸۱مقاله قابل بررسی بود. ازمقالات مروری، ازقسمتهای تئوری و نتیجه گیری های کلی آن برای این مقاله حاضراستفاده شد. یافته های غیرازمقاله مانندکنفرانس ونظرسنجی نیزحذف شدند و آن هاییکه باموضوع مرتبط نبودند از مطالعه خارج شدند.

یافته ها و بحث

ارتباط پارامترهای اسپرمی و کروماتین آن با دما ومدت زمان نگهداری در موجودات مختلف:

واضح است که اسپرم نیز همانند دیگر سلول های بدن در جسد حیوانات مرده،سرانجام رو به انحطاط می رود ولی دمای نگهداری آن در حفظ پارامترهای اسپرمی و کیفیت کروماتین آن مهم است . مطالعه انجام شده در این زمینه نشان می دهد که اسپرم های زنده ناحیه اپیدیدیم موش های مرده ای که ۲۴ ساعت در دمای اتاق نگهداری شده اند،در محیط آزمایشگاه میتوانند حداقل ۳۰ درصد اووسیت ها را بارور کنند (۷).

آن (An) و همکاران موش های مرده را برای دوره های زمانی مختلف در یخچال نگهداری کرده و بقاء اسپرم های ناحیه اپیدیم آن ها را بوسیله لقاح آزمایشگاهی، کشت و انتقال جنین بررسی کردند. این محققین دریافتند که اسپرم های موش پس از ۵ روز نگهداری در دمای ۶-۴ درجه سانتی گراد،میتوانند ۲۱ درصد اووسیت ها را بارور کنند و نیز اسپرم های بدست آمده از نوعی موش هیبرید بعد از ۷ روز نگهداری در دمای ۶-۴ درجه سانتی گراد می توانند ۳۹ درصد اووسیت ها را بارور کنند (۸).

کیشیکاوا (Kishikawa) و همکاران حرکت، بقاء و باروری اسپرم های اجساد موش که در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شده بودند را بررسی کردند. آن ها نشان دادند که ۱۰ روز پس از مرگ موش حدود ۳۰ درصد

اسپرم های جمع آوری شده زنده بودند اما توانایی آن ها در باروری اووسیت ها در آزمایشگاه محدود شده بود. با این وجود نشان دادند در صورت تزریق اسپرم ها به داخل اووسیت میزان باروری بالای ۸۰ درصد می باشد. از طرف دیگر،اسپرم های غیر متحرک بازیابی شده حتی تا ۲۰ روز پس از مرگ نیز قادر به تولید جنین های نرمال میباشند (۹).

کانیکو (Kaneko) نشان داد که اسپرم های Freeze-dryناحیه اپیدیدیم موش که در دمای ۴ درجه سانتی گراد برای ۵ ماه نگهداری شده بودند توانستند اووسیت ها را بارور کنند و به سمت زاد و ولد نرمال پیش ببرند (۱۰).

نیچی (Nichi) و همکاران نیز نشان دادند که نگهداری کوتاه مدت اپیدیدیم گاو در دمای ۴ درجه ،اسپرم های با کیفیت بهتر و با قابلیت لقاح آزمایشگاهی بالاتری نسبت به دمای ۳۴ درجه فراهم می کند (۵).

برخی از تحقیقات صورت گرفته نشان میدهند که تمامیت کروماتین اسپرم در نمونه مایع منی با مدت زمان نگهداری آن رابطه دارد که این مدت زمان در اسپرم سگ حداقل ۵ روز و گاهی تا ۱۵ روز در دمای ۵ درجه سانتی گراد بوده است. در انسان این مدت زمان نگهداری اسپرم ها در محیطElectrolyte-free در دمای ۴ درجه سانتی گراد تا ۷ هفته گزارش شده است. تحقیقات صورت گرفته دیگر روی نگهداری مایع منی انسان به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۵ درجه سانتی گراد تغییری در کروماتین را نشان نداده است. به نظر می رسد دمای ۵ درجه سانتی گراد برای نگهداری اسپرم ها می تواند باعث حفظ یکپارچگی کروماتین با بهترین کیفیت مایع منی باشد (۱۳-۱۱). در سایرمطالعات انجام شده دیده شده که چندین فاکتور نقش اساسی در کیفیت نگهداری اسپرم خروس دارند که از جمله آنها می توان به مدت زمان نگهداری، رطوبت، دمای نگهداری اسپرم و نوع رقیق کننده اشاره کرد. در این زمینه گزارشی وجود دارد که نشان می دهد که کیفیت ومیزان باروری اسپرم خروس در محیط آزمایشگاه برای ۲۴ تا ۴۸ ساعت می تواند حفظ شود (۱۴). در تحقیق صورت گرفته روی سگ، طولانی کردن نگهداری اسپرم آن در دمای ۵ درجه سانتی گراد باعث آسیب به غشای پلاسمایی، آکروزوم و DNA میشود (۱۵).

در مطالعات اخیر قبلی هم مشاهده شده که برای نگهداری طولانی مدت اسپرم و حفظ پارامتر های اسپرمی دمای ۴ درجه سانتی گراد نسبت به دمای ۲۵ درجه سانتی گراد مناسب تر است. در واقع در مدت نگهداری ۱۲ روز کاهش پارامترهای اسپرمی در دمای ۴ درجه نسبت به دمای ۲۵ درجه روندی با شیب ملایم دارد (۱۸-۱۶).

ارتباط پارامترهای اسپرم و کرماتین آن با کیفیت انزال

در مطالعه ای درارزیابی مایع منی سگ مشاهده کردند که بعضی از ویژگی های اسپرم به طور واضح با تمامیت کروماتین ارتباط دارند (۱۲). در گروهی از سگ هایی که دارای انزال با کیفیت پایین (دارای درصد کم اسپرم های متحرک با مورفولوژی مناسب) شکسته شدن DNA (DNA fragmentation) بیشتری نسبت به گروه با انزال با کیفیت بالا نشان دادند. ارتباط بین کیفیت انزال (درصد اسپرم های متحرک با مورفولوژی مناسب) و تمامیت کروماتین مطابق نتیجه گوسک (Gosk) و همکاران است (۱۹) البته ارتباطی مشابه با این ارتباط در انسان (۲۰)، گاو (۲۲-۲۱) و گراز (۲۴-۲۳) نیز مشاهده شده است. Sailer و همکاران گزارش کردند که نمونه های اسپرمی با کیفیت پایین دارای ناهنجاری هایی مانند کروماتین با بسته بندی غیرمتراکم و DNA آسیب دیده هستند (۲۵). با این حال، مطالعات دیگری هم وجود دارند که نشان می دهندارتباط آسیب اسپرم با پارامترهای اسپرمی مبهم است (۲۸-۲۶).

لاو (Love) و همکاران با نگهداری اسپرم های اسب در دما های ۵ ،۲۰ و ۳۷ درجه تغییری درمیزان دناتوره شدن کروماتین پس از ذخیره سازی نمونه در دمای ۵ درجه به مدت ۴۶ ساعت پیدا نکردند (۲۹). با این حال، هنگامی که اسب های نر رابر اساس وضعیت باروری طبقه بندی

نمودند، ۲۵ ٪ از حیوانات نابارور پس از ۲۰ تا ۳۰ ساعت ذخیره سازی نمونه اسپرم افزایش در درصد فراگمنتیشن DNA را نشان دادند. در مطالعه دیگری مشخص شد که ذخیره سازی مایع منی گراز در ۱۸ درجه سانتی گراد برای۷۲ ساعت یکپارچگی DNA اسپرم کاهش قابل توجهی یافت (۳۰). با بررسی این مطالعات ارتباط پارامتر های اسپرم با کیفیت انزال نشان داده میشود که هر چه این کیفیت بالاتر باشد کیفیت کروماتین اسپرم نیز بالاتر است.

ارتباط پارامترهای اسپرم و کروماتین آن با روش های مختلف ذخیره سازی اسپرم:

انجماد: روش رایج نگهداری اسپرم

انجماد اسپرم، رایج ترین روش ذخیره سازی اسپرم انسان است و روشی با ارزش در مدیریت ناباروری مردان است (۳۱). همچنین در حال حاضر انجماد تنها راه حفظ اسپرم در بیماران تحت درمان سرطان است. انجماد درترکیب با تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم (ICSI) بوده وبه مردان نابارور با پارامترهای اسپرمی ضعیف جهت باروری کمک می کند. علی رغم محبوبیت این روش، انجماد سبب کاهش قابل توجهی در کیفیت اسپرم، از جمله آسیب به DNA آن می شود (۳۲).

البته با توجه به نتایج ارائه شده به وسیله مطالعه آنگلادا (Anglada) و همکاران بیان می شود که فرایند انجماد اسپرم، برقطعه قطعه شدن DNA در اسپرم اسب تاثیر نمی گذارد و انجماد هیچ تغییر قابل توجهی در تمامیت کروماتین ایجاد نمی کند (۳۳).

کودرلی (Koderle) و همکاران نیزشاخص فراگمانتیشن پایین تری را در مایع منی سگ پس ازانجماد و ذوب نسبت به مایع منی تازه مشاهده کردند (۳۴). با این حال، گزارش هایی برخلاف نتایج خلیفا (Khalifa) و همکاران وجود دارند که عنوان نموده اند که انجماد مایع منی گاو نر باعث کاهش ثبات کروماتین اسپرم می شود (۳۵). فراسر (Fraser) و استرزیزک (Strzezek) در مطالعه خود روی گراز با استفاده از معیار کامت (comet assay)، تایید کردند که ذوب پس از انجماد باعث بی ثباتی ساختار کروماتین اسپرم میشود و اسپرم را نسبت به فرگمانتیشن DNA آسیب پذیرتر می کند (۳۶). در مطالعه ای انجام شده توسط کیم (Kim) و همکاران روی نمونه مایع منی سگ به طور قابل توجهی شاخص فرگمانتیشن بالاتری در مایع منی منجمد نسبت به مایع منی تازه تشخیص داده شد (۳۷).

روش های دیگرنگهداری اسپرم

با توجه به جنبه های منفی انجماد،روش های جایگزین دیگری می بایست پیدا شود.روش های مختلف ذخیره سازی اسپرم بدون انجماددر موش آزمایش شده اند، همانند freeze- dry (۳۹-۳۸) و یا ذخیره سازی در نمک و قند (۴۰). در انسان، مطالعات قبلی برای حفظ اسپرم بدون انجماد عمدتا بر نگهداری کوتاه مدت در نوعی بافر استوار است (تا ۹۶ ساعت) (۴۳-۴۱).

بر اساس مطالعات انجام شده، آسیب DNA اسپرم همراه با تغییرات غشاء ممکن است به دلیل حضور یونهای محیط کشت‌در طول ذخیره سازی در دمای غیر فیزیولوژیکی رخ دهد. بسیاری از ویژگی های اسپرم به تغییرات نفوذپذیری یون بستگی دارد (۴۴) و پمپ سدیم و پتاسیم وابسته به ATPase، که غلظت مناسب درون سلولی سدیم را تنظیم میکند، به هیپوترمی بسیار حساس است. دماهای پایین، باعث کاهش فعالیت و اختلال در عملکرد مناسب پمپ سدیم و در نتیجه جذب یونهای سدیم ازمحیط خارج سلولی میشود که یونهای سدیم به هسته و DNA آسیب می رسانند (۴۶-۴۵). این مکانیزم را می توان مسئول عدم حفظ سلول در دماهای پایین دانست. بنابراین، ممکن است تخلیه یون راه حل حفاظت اسپرم و مهار آسیب سلولی باشد (۴۸-۴۷). در گزارشی با نگهداری اسپرم انسان درمحیط کشت بدون الکترولیت (EFM) موفق به حفظ تحرک و زنده بودن اسپرم شدند و نشان دادند که این

روش ذخیره سازی اسپرم در مدل موش نیز سازگار است (۴۹).

در ادامه آن مطالعه، یک مقایسه مستقیم از چهار روش ذخیره سازی شامل: ذخیره سازی در محیط کشت بدون الکترولیت، ذخیره سازی معمولی اسپرم، ذخیره سازی مایع منی شسته نشده و انجماد انجام شد (۵۰). شواهدی وجود دارد که در کوتاه مدت (تا مدت یک هفته) ذخیره سازی در محیط بدون الکترولیت از انجماد سودمندتر است، به دلیل آن که فرگمانتیشن DNA اسپرم، به ناچار در طول انجماد رخ می دهد. این مطالعه نشان می دهد که ذخیره سازی اسپرم انسان در EFM اجازه می دهد تا تحرک اسپرم، زنده ماندن، و تمامیت کروماتین برای چند هفته حفظ شود.

مقایسه روش های مختلف نگهداری اسپرم

انجماد اسپرم در حال حاضر روش رایج مورد استفاده برای ذخیره طولانی مدت اسپرم انسان است، در عین حال این روش منجر به کاهش قابل توجه در درصد اسپرم های زنده و متحرک پس از ذوب می شود. در واقع کاهش دما در روش انجماد با کاهش میزان ATP باعث کاهش انواع حرکت اسپرم می شود (۵۲-۴۹). علاوه بر آن نتایج تحقیقات متعدد نشان می دهد که انجمادسبب آسیب بهDNA اسپرم می شود (۵۶-۵۱) و ممکن است اثرات پنهانی همانند اختلال درغشاهای پلاسمایی بر جای گذارد. این اثرات با رنگ آمیزی supravital قابل تشخیص بوده و می توانند باعث تغییر الگوهای فعالیت آنزیم های داخل سلولی گردند(۵۷). به طور کلی، DNA اسپرم بابسته بندی منحصر به فرد خود که ناشی از وجود پروتامین ها در ساختار کروماتین آن است در برابر آسیب مقاومت می کند (۵۸). یکی از وقایع محوری و مهم در اسپرمیوژنز جایگزینی هیستون ها با پروتامین ها می باشد (۵۹).

با این وجود، DNA اسپرم باز هم در مقابل تنش های محیطی و دستکاری آسیب پذیر است (۶۰). مطالعات متعددی حاکی ازارتباط آسیب DNA اسپرم با بروز مشکلاتی در باروری از جمله کاهش میزان لقاح، اختلال پیش از لانه گزینی، افزایش خطر سقط جنین و عوارض در فرزندان است (۶۶-۶۱). به این ترتیب حفظ سلامت DNA اسپرم برای انتقال آن از یک نسل به نسل بعد ضروری است و ابداع روشی کهDNA اسپرم را در طول ذخیره سازی بهتر از انجمادحفظ کند از اهمیت فوق العاده ای جهت کمک به تولید مثل موفق برخوردار است. ذخیره سازی مایع منی شسته نشده شاید ساده ترین روش بدون انجماد به نظر برسد، اما این روش به جهت آنکه باعث از دست دادن تحرک و زنده ماندن اسپرم ها در چند روز اول میشود بسیار نامناسب است (۵۰). گرچه پلاسمای مایع منی شامل آنزیم های آنتی اکسیدان فراوان(مانند سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز)، آلبومین وتائورین و زنجیره شکستن آنتی اکسیدان ها (آسکورباتو گروه های تیول) است (۶۹-۶۷) و همه اینها به طور بالقوه می توانند ازDNA در مقابل آسیب محافظت کنند ولی باعث کاهش درصد اسپرم های زنده می شوند. پلاسمای منی به دلیل داشتن نوکلئاز مضر می تواند باشد، که ممکن است سبب آسیب به غشاء اسپرم و نیزهضم DNA گردد (۷۰). در تحقیق دیگری نگهداری اسپرم گوسفند در دمای ۱۵ درجه سانتی گراد بمدت ۲۴ ساعت نشان داد که میزان حرکت و یکپارچگی غشاء اسپرم به علت تغییرات زیاد pH و افزایش غلظت سموم حاصل از فعالیت های متابولیکی کاهش می یابد. این در حالی است که نگهداری اسپرم گوسفند در ژلاتین باعث کاهش مواد متابولیکی شده و در نتیجه طول عمر باروری اسپرم گوسفند افزایش می یابد (۷۱). هر چند روش هایی مناسب جهت نگهداری کوتاه مدت اسپرم در موجودات مختلف بیان شده اند ولی در حال حاضر انجماد شایع ترین روش برای نگهداری طولانی مدت اسپرم است.

کاربردهای اسپرم نگهداری شده به صورت منجمد:

نگهداری به صورت منجمد، اجازهٔ ذخیره‌سازی مایع منی را می‌دهد و هنگامی که به خوبی به صورت منجمد نگاه

داشته شده است، اسپرم، وضعیت رکود و یا توقف متابولیکی را حفظ می‌نماید که سبب جلوگیری از پیر شدن سلولی شده و قابلیت زنده ماندن و باروری اسپرم را برای یک دورهٔ نامحدود حفظ می‌نماید. به علاوه، نگهداری منجمد، می‌تواند سبب جلوگیری از انتقال چندین مورد از بیماری‌های عفونی قابل انتقال از طریق اسپرم گردد (مانند ایدز). تنها با استفاده از مایع منی منجمد، می‌توان برخی از ناقل‌های بیماری را در یک دورهٔ قرنطینه تشخیص داد (۷۲) و خطری در انتقال عوامل عفونی تقریباً وجود نخواهد داشت (۷۳).

بانک‌های انجماد اسپرم، امروزه، به چندین هدف مورد استفاده قرار می‌گیرند (۷۴). اسپرم‌های منجمد را می‌توان برای بیماران مردی مورد استفاده قرار داد که با فرایندهایی مواجه هستند که سبب اختلال یا آسیب به باروری آن‌ها شده است (وازکتومی، تیمارهایی با عوامل سیتوتوکسیک و یا رادیوتراپی) یا افرادی که در معرض شرایط آسیب زننده به اسپرم در فعالیت شغلی حرفه‌ای خود قرار دارند اما دوست دارند در آینده پدر شوند. در پایان، بانک‌های منجمد، برای ذخیره‌سازی نمونه‌های ناقلان بیماری (مانند HIV) و به حداقل رسانیدن خطر انتقال بیماری به شریک جنسی زن با ذخیره‌سازی و استفاده از نمونه‌هایی با عوامل عفونی غیرقابل تشخیص مفید هستند.

روش‌های نگهداری طولانی مدت اسپرم تا چه اندازه دارای خطر هستند؟

تمامی روش‌های نگهداری طولانی مدت اسپرم، کم و بیش آسیب جدی به اسپرم می‌رساند، زیرا تقریباً نیمی از اسپرم‌ها، در نگهداری منجمد به شکل غیرقابل برگشتی آسیب می‌بینند (۷۵). از سوی دیگر، اسپرم برخی از افراد، با فرایندهای انجماد، آسیب چندان شدیدی نمی‌بینند (۷۶). اگرچه، تنها ۱۰٪ دهندگان اسپرم انسانی، اسپرمی را فراهم می‌نمایند که به شکل کارآمد قابل حفظ به صورت منجمد می‌باشد (۷۷). باروری اسپرم نگهداری شده به صورت منجمد، کمتر از مایع جنسی تازه هنگام استفاده برای بارورسازی مصنوعی (AI) می‌باشد (۷۸) . این کاهش باروری به دلیل آسیب غشای سلولی بروز یافته در نگهداری منجمد صورت می‌گیرد که ساختار و کارکرد غشا را با آسیب مواجه می‌سازد (۷۹). اگرچه، باروری مایع جنسی منجمد – آب شده در صورتی بهبود می‌یابد که از مایع منی با کیفیت بالا استفاده شده باشد (۷۸). بنابراین، در صورت امکان، استفاده از اسپرم با کیفیت بالا برای بارورسازی مصنوعی اولویت دارد. اگرچه، هنگامی که نمونه‌های مایع جنسی با کیفیت بالا موجود و در دسترس نیستند، باروری با اسپرم منجمد با استفاده از IVF(لقاح داخل آزمایشگاهی) یا ICSI(تزریق اسپرم به داخل سیتوپلاسم) قابل انجام می‌باشد (۷۸). در پایان به نظر می رسد روش نگهداری به صورت منجمد،علی رغم داشتن جنبه های منفی مناسب تر است زیرا تا کنون شواهدی از خطرات بیشتر برای مشکلات هنگام تولد و یا ناهنجاری‌های کروموزومی پس از استفاده از اسپرم نگهداری شده به صورت منجمد گزارش نشده است (۸۰).

نتیجه‌گیری

فاکتور ها و روش های مختلفی در حفظ پارامترهای اسپرمی و کیفیت کروماتین آن مهم هستند که دما، مدت زمان و روش های نگهداری از آن جمله هستند. نگهداری کوتاه مدت اسپرم ها در دمای ۴ درجه به عنوان بهترین دما باعث حفظ کیفیت و کروماتین اسپرم می شود. هم چنین با توجه به ساختار ویژه کروماتین اسپرم تا مدتی پس از مرگ موجودات مختلف تمامیت کروماتین و قدرت باروری آنها از طریق تزریق به داخل اووسیت حفظ می شود.

در طول زمان نگهداری اسپرم حرکت و بقاء آن ها کاهش می یابد ولی تمامیت کروماتین آن ها به علت تراکم ساختار تا مدتی تغییر نمیکند. پارامترهای اسپرم با کیفیت انزال رابطه دارند و هر چه کیفیت انزال بالاتر باشد کیفیت کروماتین هم بالاتر است.

انجماد اسپرم، رایج ترین روش ذخیره سازی اسپرم انسان است و روشی با ارزش در مدیریت ناباروری مردان است . همچنین در حال حاضر انجماد تنها راه حفظ اسپرم در بیماران تحت درمان سرطان است. علی رغم محبوبیت این روش، انجماد سبب کاهش قابل توجهی در کیفیت اسپرم، از جمله آسیب به DNA آن میشود و باروری نمونه‌ها، در مقایسه با مایع جنسی تازه کمتر است ولی اسپرمی که به صورت منجمد نگهداری شده، قابلیت بارورسازی خود را در یک دورهٔ زمانی طولانی‌تر حفظ می‌نماید. بنابراین، مزایای اسپرم نگهداری شده به صورت منجمد از معایب و جنبه های منفی آن بیشتر بوده و نگهداری به صورت منجمد، هنوزبه عنوان ابزار مهمی برای نگهداری طولانی مدت اسپرم مطرح است.

تضاد منافع

در این مطالعه تضاد منافع وجود ندارد.

منابع

1. Iranpour FG. Impact of sperm chromatin evaluation on fertilization rate in intracytoplasmic sperm injection. Advanced Biomedical Research. 2014;3.

2. Gillan L, Evans G. Flow cytometric evaluation of sperm parameters in relation to fertility potential. Theriogenology. 2005;63: 445–457.

3. Ward WS, Coffey DS. DNA packaging and organization in mammalian spermatozoa: comparison with somatic cells. Biol Reprod 1991; 44: 569-574.

4. Iranpour FG, Valojerdi MR. The epididymal sperm viability, motility and DNA integrity in dead mice maintained at 4-6° C. Iranian Journal of Reproductive Medicine. 2013;11(3):195-200.

5. Nichi M, Goovaerts IGF, Cortada CNM, Barnabe VH, De Clercq JBP, Bols PEJ. Roles of lipid proxidation and cytoplasm droplets on invitro fertilization capacity of sperm collected from bovine epididymides stored at 4 and 34 degree C. *Theriogenology* 2007; 67: 334-340.

6. Kaneko T, Fukumoto K, Haruguchi Y, Kondo T, Machida H, Koga H, et al. Fertilization of C5713L/6 mouse sperm collected from cauda epididymides after preservation or transportation at 4 degree C using laser-microdissected oocytes. *Cryobiology* 2009; 59: 59-62.

7. Christian N, Songsasen S, Leibo SP. Presence of motile sperm in mice 24 hour postmortem. Theriogenology 1993; 39: 201.

8. An TZ, Wadas S, Edashige K, Sakurai T, Kasaei M. Viable spermatozoa can be recovered from refrigerated mice up to 7 days after death. Cryobiology 1999; 38: 27-34.

9. Kishikawa H, Tateno H, Yanagimachi R. Fertility of mouse spermatozoa retrieved from cadavers and maintained at 4 degree C.J Reprod Fertil 1999;116:2127-222.

10. Kaneko T, Nakagata N. Relation between storage temperature and fertilizing ability of freeze-dried mouse spermatozoa. Comp Med 2005; 55: 140-144.

11. Tittarelli C, Savignone CA, Arnaudín E, Stornelli MC, Stornelli MA, de la

Sota RL. Effect of storage media and storage time on survival of spermatozoa recovered from canine and feline epididymides. Theriogenology. 2006;66(6):1637-40.

12. Prinosilova P, Rybar R, Zajicova A, Hlavicova J. DNA integrity in fresh, chilled and frozen-thawed canine spermatozoa. Veterinarni Medicina. 2012;57(3):133-142.

13. Riel JM, Yamauchi Y, Huang TT, Grove J, Ward MA. Short-term storage of human spermatozoa in electrolyte-free medium without freezing maintains sperm chromatin integrity better than cryopreservation. Biology of reproduction. 2011;85(3):536-47.

14. Vašíček J, Chrenek P. Effect of storage temprature on the motility characteristics of rooster spermatozoa. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences. 2013;2: 1685-1691.

15. Shahiduzzaman AKM, Linde-Forsberg C. Induced immotility during long-term storage at+ 5 C does not prolong survival of dog spermatozoa. Theriogenology. 2007;68(6):920-33.

16. Nateghian Z, Dashti GR, Baghazadeh S, Golshan IF. Assessment of the changing trend of different kinds of sperm motility during the storage of normozoospermic men's semen samples at 4-6OC. 2017: 38-41.

17. Nateghian Z, Dashti GR, Baghazadeh S, Golshan IF. Effects of keeping semen samples in 4-6OC on sperm motility, viability and DNA denaturation. 2016: 1181-1186.

18. Dashti GR, Nateghian Z, Iranpour FG. Effect of preservation of human semen sample at 4–6 and 25° C on sperm motility. Cell and tissue banking. 2018 Dec 1;19(4):653-8.

19. Gosk M, Eschricht F, Knoche I, Waberski D, Bollwein H, Gunzel-Apel AR: Chromatin status of dog spermazotoa with regard to semen quality. In: 11th Annual Conference of the ESDAR. Reproduction in Domestic Animals . 2007;42 (Suppl. 2): 70.

20. Larson KL, Brannian JD, Singh NP, Burbach JA, Jost LK, Hansen KP, Kreger DO, Evenson DP: Chromatin structure in globozoospermia: a case report. Journal of Andrology. 2001; 22: 424–431.

21. Boe-Hansen GB, Ersboll AK, Greve T, Christensen P: Increasing storage time of extended boar semen reduces sperm DNA integrity. Theriogenology. 2005;63: 2006–2019.

22. Khalifa TAA, Rekkas CA, Lymberopoulos AG, Sioga A, Dimitriadis I, Papanikolaou T: Factors affecting chromatin stability of bovine spermatozoa. Animal Reproduction Science .2008;104: 143–163

23. Rybar R, Faldikova L, Faldyna J, Machatkova M, Rubes J: Bull and boar sperm DNA integrity evaluated by sperm chromatin structure assay in the Czech Republic. Veterinarni Medicina .2004;49: 1–8.

24. Perez-Llano B, Enciso M, Garsia-Casado P, Sala R, Gosalvez J: Sperm DNA fragmentation in boars is delayed

or abolished by using sperm extenders. Theriogenology .2006;66: 2137–2143.

25. Sailer BL, Jost LK, Evenson DP: Mammalian sperm DNA susceptibility to in situ denaturation associated with the presence of DNA strand breaks and measured by the terminal deoxynukleotidyl transferase assay. Journal of Andrology .1995;16: 80–87.

26. Host E, Lindenberg S, Ernst E, Christensen F: DNA strand breaks in human spermatozoa: a possible factor, to be considered in couples suffering from unexplained infertility. Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica.1999; 78: 622–625.

27. Saleh RA, Agarwal A, Nelson DR, Nada EA, El-Tonsy MH, Alvarez JG, Thomas AJ Jr, Sharma RK: Increased sperm nuclear DNA damage in normozoospermic infertile men: a prospective study. Fertility and Sterility.2002; 78:313–318.

28. Zini A, Fischer MA, Sharir S, Shayegan B, Phang D, Jarvi K: Prevalence of abnormal sperm DNA denaturation in fertile and infertile men. Urology.2002; 60: 1069–1072.

29. Love CC, Thompson JA, Lowry VK, Varner DD: Effect of storage time and temperature on stallion sperm DNA and fertility. Theriogenology .2002;57:1135–1142.

30. Boe-Hansen GB, Ersboll AK, Greve T, Christensen P: Increasing storage time of extended boar semen reduces sperm DNA integrity. Theriogenology.2005; 63: 2006–2019.

31. Oehninger S, Duru NK, Srisombut C, Morshedi M. Assessment of sperm cryodamage and strategies to improve outcome. Mol Cell Endocrinol.2000; 169:3–10.

32. Said TM, Gaglani A, Agarwal A. Implication of apoptosis in sperm cryoinjury. Reprod Biomed Online 2010; 21:456–462.

33. Anglada O, Taberner E, Pena A, Miro J: DNA fragmentation in fresh and frozen-thawed stallion spermatozoa. In: 13th Annual Conference of the ESDAR. Reproduction in Domestic Animals.2009; 44 (Suppl. 3): 81.

34. Koderle M, Aurich C, Schafer-Somi S: The influence of cryopreservation and seminal plasma on the chromatin structure of dog spermatozoa. Theriogenology .2009;72: 1215–1220.

35. Khalifa TAA, Rekkas CA, Lymberopoulos AG, Sioga A, Dimitriadis I, Papanikolaou T: Factors affecting chromatin stability of bovine spermatozoa. Animal Reproduction Science .2008;104: 143–163.

36. Fraser L, Strzezek J: Is there a relationship between the chromatin status and DNA fragmentation of boar spermatozoa following freezing-thawing? Theriogenology.2007;68:248–257.

37. Kim SH, Yu DH, Kim YJ: Effects of cryopreservation on phosphatidylserine translocation, intracellular hydrogen peroxide, and DNA integrity in canine sperm. Theriogenology .2010;73: 282–292.

38. Bhowmick S, Zhu L, McGinnis L, Lawitts J, Nath BD, Toner M, Biggers J. Desiccation tolerance of spermatozoa dried at ambient temperature: production of fetal mice. Biol Reprod 2003; 68:1779–1786.

39. McGinnis LK, Zhu L, Lawitts JA, Bhowmick S, Toner M, Biggers JD. Mouse sperm desiccated and stored in trehalose medium without freezing. Biol Reprod 2005; 73:627–633.

40. Ono T, Mizutani E, Li C, Wakayama T. Preservation of sperm within the mouse cauda epididymidis in salt or sugars at room temperature. Zygote. 2010; 18:245–256.

41. Jaskey DG, Cohen MR. Twenty-four to ninety-six-hour storage of human spermatozoa in test-yolk buffer. Fertil Steril 1981; 35:205–208.

42. Bolanos JR, Overstreet JW, Katz DF. Human sperm penetration of zonafree hamster eggs after storage of the semen for 48 hours at 2 degrees C to 5 degrees C. Fertil Steril 1983; 39:536–541.

43. Kesseru E, Carrere C. Duration of vitality and migrating ability of human spermatozoa cryopreserved at 4 degrees C. Andrologia 1984; 16:429–433.

44. Darszon A, Acevedo JJ, Galindo BE, Hernandez-Gonzalez EO, NishigakiT, Trevino CL, Wood C, Beltran C. Sperm channel diversity andfunctional multiplicity. Reproduction 2006; 131:977–988.

45. Suzuki K, Yanagida K, Yanagimachi R. Comparison of the media forisolation and storage of round spermatid nuclei before intracytoplasmicinjection [Erratum. J Assist Reprod Genet 1998; 15:408]. J Assist ReprodGenet 1998; 15:154–157.

46. Tateno H, Kimura Y, Yanagimachi R. Sonication per se is not asdeleterious to sperm chromosomes as previously inferred. Biol Reprod2000; 63:341–346.

47. Saito K, Kinoshita Y, Kanno H, Iwasaki A, Hosaka M. A new method ofthe electrolyte-free long-term preservation of human sperm at 4 degrees C.Fertil Steril 1996; 65:1210–1213.

48. Saito K, Kinoshita Y, Yumura Y, Iwasaki A, Hosaka M. Effects ofextracellular ions on the reactivation of human spermatozoa preserved inelectrolyte-free solution. Andrologia 1999; 31:211–215.

49. Riel JM, Huang TT, Ward MA. Freezing-free preservation of humanspermatozoa—a pilot study. Arch Androl 2007; 53:275–284.

50. Riel JM, Yamauchi Y, Huang TT, Grove J, Ward MA. Short-term storage of human spermatozoa in electrolyte-free medium without freezing maintains sperm chromatin integrity better than cryopreservation. Biology of reproduction. 2011;85(3):536-47.

51. Donnelly ET, Steele EK, McClure N, Lewis SE. Assessment of DNAintegrity and morphology of ejaculated spermatozoa from fertile andinfertile men before and after cryopreservation. Hum Reprod 2001;16:1191–1199.

52. Zribi N, Feki Chakroun N, El Euch H, Gargouri J, Bahloul A, AmmarKeskes L. Effects of cryopreservation on human sperm deoxyribonucleicacid integrity. Fertil Steril 2010; 93:159–166.

53. de Paula TS, Bertolla RP, Spaine DM, Cunha MA, Schor N, Cedenho AP.Effect of cryopreservation on sperm apoptotic deoxyribonucleic acidfragmentation in patients with oligozoospermia. Fertil Steril 2006;86:597–600.

54. Kalthur G, Adiga SK, Upadhya D, Rao S, Kumar P. Effect ofcryopreservation on sperm DNA integrity in patients with teratospermia.Fertil Steril 2008; 89:1723–1727.

55. Thomson LK, Fleming SD, Aitken RJ, De Iuliis GN, Zieschang JA, ClarkAM. Cryopreservation-induced human sperm DNA damage is predomi-546 RIEL ET AL. nantly mediated by oxidative stress rather than apoptosis. Hum Reprod .2009; 24:2061–2070.

56. Toro E, Fernandez S, Colomar A, Casanovas A, Alvarez JG, Lopez-TeijonM, Velilla E. Processing of semen can result in increased sperm DNAfragmentation. Fertil Steril 2009; 92:2109–2112.

57. Glander HJ, Schaller J. Hidden effects of cryopreservation on quality of human spermatozoa. Cell Tissue Bank 2000; 1:133–142.

58. Ward WS, Coffey DS. DNA packaging and organization in mammalianspermatozoa: comparison with somatic cells. Biol Reprod 1991; 44:569–574.

59. Iranpour FG, Nasr-Esfahani MH, Valojerdi MR, Al-Taraihi TM. Chromomycin A3 staining as a useful tool for evaluation of male fertility. Journal of assisted reproduction and genetics. 2000;17(1):60-6.

60. Ward MA, Ward WS. A model for the function of sperm DNAdegradation. Reprod Fertil Dev 2004; 16:547–554.

61. Bungum M, Humaidan P, Axmon A, Spano M, Bungum L, Erenpreiss J,Giwercman A. Sperm DNA integrity assessment in prediction of assistedreproduction technology outcome. Hum Reprod 2007; 22:174–179.

62. Carrell DT, Liu L, Peterson CM, Jones KP, Hatasaka HH, Erickson L,Campbell B. Sperm DNA fragmentation is increased in couples withunexplained recurrent pregnancy loss. Arch Androl 2003; 49:49–55.

63. Evenson DP, Jost LK, Marshall D, Zinaman MJ, Clegg E, Purvis K, deAngelis P, Claussen OP. Utility of the sperm chromatin structure assay asa diagnostic and prognostic tool in the human fertility clinic. Hum Reprod1999; 14:1039–1049.

64. Morris ID, Ilott S, Dixon L, Brison DR. The spectrum of DNA damage inhuman sperm assessed by single cell gel electrophoresis (Comet assay)and its relationship to fertilization and embryo development. Hum Reprod .2002; 17:990–998.

65. Simon L, Brunborg G, Stevenson M, Lutton D, McManus J, Lewis SE.Clinical significance of sperm DNA damage in assisted reproductionoutcome. Hum Reprod 2010; 25:1594–1608.

66. Zini A, Boman JM, Belzile E, Ciampi A. Sperm DNA damage isassociated with an increased risk of pregnancy loss after IVF and ICSI:systematic review and meta-analysis. Hum Reprod 2008; 23:2663–2668.

67. Alvarez JG, Storey BT. Role of glutathione peroxidase in protectingmammalian spermatozoa from loss of motility caused by spontaneous lipidperoxidation. Gamete Res 1989; 23:77–90.

68. Lewis SE, Sterling ES, Young IS, Thompson W. Comparison ofindividual antioxidants of sperm and seminal plasma in fertile andinfertile men. Fertil Steril 1997; 67:142–147.

69. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine.Oxford: Clarendon Press; 1989.

70. Mann T, Lutwak-Mann C. Prostaglandins and other organic acids. Male Reproductive Function and Semen. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag. 1981:312-7.

71. Yániz J, Marti JI, Silvestre MA, Folch J, Santolaria P, Alabart JL, López-Gatius F. Effects of solid storage of sheep spermatozoa at 15 C on their survival and penetrating capacity. Theriogenology. 2005 Nov 1;64(8):1844-51.

72. Gao D, Mazur P, Critser JK. Fundamental cryobiology of mammalian spermatozoa. InReproductive tissue banking 1997 Jan 1 (pp. 263-328). Academic Press.

73. Bielanski A, Vajta G. Risk of contamination of germplasm during cryopreservation and cryobanking in IVF units. Human reproduction. 2009 Oct 1;24(10):2457-67.

74. World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen, Fifth edition. Available at: http://www.ivf.at/Kinderwunsch/Upload/Behandlung/WHO%202010.pdf. Last accessed: 27 July 2015.

75. Keel BA, Webster BW, Roberts DK. Effects of cryopreservation on the motility characteristics of human spermatozoa. Reproduction. 1987 Sep 1;81(1):213-20.

76. Holt WV. Basic aspects of frozen storage of semen. Animal reproduction science. 2000 Aug 18;62(1-3):3-22.

77. de Wachter MA. Ethical aspects of cryobiology: responsible applications in biomedicine and in clinical practice. Cryobiology. 2004 Apr 1;48(2):205-13.

78. Clarke GN, Bourne H, Hill P, Johnston WI, Speirs A, McBain JC, Baker HW. Artificial insemination and in-vitro fertilization using donor spermatozoa: a report on 15 years of experience. Human reproduction (Oxford, England). 1997 Apr 1;12(4):722-6.

79. Parks JE. Hypothermia and mammalian gametes. InReproductive tissue

80. Kennedy R; International Federation of Fertility Societies. Consensus on birth defects in children born following assisted reproduction. 27 July 2015.

banking 1997 Jan 1 (pp. 229-261). Academic Press.

Cite this article as:
Nateghian Z, Aliabadi A, Aliabadi E. A Review of the Effects of Temperature, Storage Duration, and Different Storage Methods on Sperm Parameters and Its Chromatin. Sadra Med Sci J 2021; 9(1): 95-108.