مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال سی و پنجم/شماره‌ی ۴۱۷/هفته‌ی اول فروردین ماه ۱۳۹۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۸/۱۷
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۱۲/۷

بررسی روند تغییرات درصد انواع مختلف اسپرم‌های متحرک در مدت زمان نگهداری نمونه‌ی مایع منی مردان نورموزواسپرم در دمای ۶-۴ درجه‌ی سانتی‌گراد

زهره ناطقیان[۱]، غلامرضا دشتی[۲]، شکوفه بقازاده[۳]، فرهاد گلشن ایرانپور[۴]

مقاله کوتاه

چکیده

مقدمه: حرکت اسپرم، نقش اساسی در باروری مردان دارد. هدف از انجام این مطالعه، بررسی روند تغییرات درصد انواع مختلف حرکت اسپرم در حین نگهداری نمونه‌ی مایع منی مردان نورموزواسپرم در یخچال (دمای ۶-۴ درجه‌ی سانتی‌گراد) بود.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی تجربی، ۱۳ نمونه‌ی مایع منی شسته شده‌ی مردان نورموزواسپرم، به مدت ۱۲ روز در یخچال (دمای ۶-۴ درجه‌ی سانتی‌گراد) نگهداری شد. درصد اسپرم‌های پیش‌رونده‌ی سریع، پیش‌رونده‌ی کند، غیر پیش‌رونده و بی‌حرکت در روزهای صفر، ۱، ۲، ۵، ۷ و ۱۲ اندازه‌گیری گردید.

یافته‌ها: درصد انواع مختلف حرکت اسپرم با شیبی ملایم در طی مدت ۱۲ روز کاهش یافت ($P < ۰/۰۰۱$). همچنین، درصد اسپرم‌های متحرک به طور قابل توجهی پس از ۴۸ ساعت کاهش یافت و پس از ۱۲ روز، هیچ اسپرم متحرکی وجود نداشت.

نتیجه‌گیری: این مطالعه پیشنهاد می‌کند که پس از ۱۲ روز نگهداری نمونه‌ی مایع منی در یخچال، اسپرم متحرکی در محیط کشت نمی‌توان یافت و اسپرم‌های متحرک بیشتری را ظرف ۴۸ ساعت می‌توان بازیابی کرد.

واژگان کلیدی: مردان نورموزواسپرم، حرکت اسپرم، نگهداری اسپرم، بازیابی اسپرم

ارجاع: ناطقیان زهره، دشتی غلامرضا، بقازاده شکوفه، گلشن ایرانپور فرهاد. **بررسی روند تغییرات درصد انواع مختلف اسپرم‌های متحرک در مدت زمان نگهداری نمونه‌ی مایع منی مردان نورموزواسپرم در دمای ۶-۴ درجه‌ی سانتی‌گراد.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۶؛ ۳۵ (۴۱۷): ۴۱-۳۸

مقدمه

به طور کلی، وجود درصد بالایی از اسپرم‌های با حرکت ضعیف و یا بی‌حرکت در مایع منی، باروری مردان را تحت تأثیر منفی قرار می‌دهد. بنابراین، تجزیه و تحلیل حرکت اسپرم، اقدام مهمی در ارزیابی باروری مردان است. به طور معمول، مردانی که اسپرم‌های آن‌ها بی‌حرکت هستند و یا حرکت ضعیف دارند، نابارور هستند؛ مگر این که از تکنیک‌های پیشرفته جهت کمک به باروری آن‌ها استفاده شود (۱). با توجه به این که حرکت اسپرم نقش اساسی در باروری مردان دارد، هدف از انجام این مطالعه، تعقیب روند تغییرات هر یک از انواع حرکت اسپرم انسان طی مدت ۱۲ روز بود؛ چرا که روشن شدن این مسأله می‌تواند برای نگهداری اسپرم در مراکز باروری و ناباروری کمک کننده باشد.

روش‌ها

این مطالعه، یک مطالعه‌ی تجربی بود که بر روی ۱۳ نمونه‌ی مایع منی مردان نورموزواسپرم مراجعه کننده به مرکز باروری و ناباروری بیمارستان شهید بهشتی اصفهان مطابق با معیارهای سازمان بهداشت جهانی (World Health Organization یا WHO) انجام شد (۲). پس از دو بار شستشوی نمونه‌ها در محیط کشت Ham's F-10 حاوی آلبومین، نمونه‌ها به مدت ۱۲ روز در دمای ۶-۴ درجه‌ی سانتی‌گراد (در یخچال) نگهداری شدند. طی روزهای صفر (بلافاصله پس از نمونه‌گیری)، ۱، ۲، ۵، ۷ و ۱۲، روند تغییرات

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم تشریح، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۲- دانشیار، گروه علوم تشریح، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۳- کارشناس آزمایشگاه، بیمارستان شهید بهشتی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
۴- استادیار، گروه علوم تشریح، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: فرهاد گلشن ایرانپور
Email: fgolshaniranpour@yahoo.com

درصد انواع مختلف اسپرم‌های متحرک مورد بررسی قرار گرفت. میزان حرکت اسپرم‌ها با استفاده از میکروسکوپ مجهز به سیستم Computer assisted sperm analysis (CASA) و عدسی ۴۰، اندازه‌گیری شد. درصد اسپرم‌های متحرک (سریع، آهسته، درجا) و بی‌حرکت با شمارش حداقل ۳۰۰ اسپرم محاسبه گردید. در حرکت پیش‌رونده‌ی سریع، حرکت اسپرم‌ها در یک خط مستقیم است. در حرکت پیش‌رونده‌ی آهسته، دامنه‌ی حرکت تاژکی بسیار نوسانی است و در حرکت درجا، تاژک اسپرم‌ها سر جای خود حرکت می‌کنند.

پس از جمع‌آوری نتایج، آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه‌ی ۲۰ (version 20, IBM Corporation, Armonk, NY) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در این مطالعه، از آزمون Repeated measures ANOVA و آزمون تعقیبی استفاده شد.

یافته‌ها

تأثیر مدت زمان نگهداری بر حرکات پیش‌رونده‌ی سریع و آهسته: بر اساس جدول ۱، هر چه مدت زمان نگهداری افزایش می‌یابد، درصد اسپرم‌های با حرکت پیش‌رونده‌ی سریع و آهسته کاهش می‌یابد؛ بدین ترتیب که حدود ۱۸ درصد از اسپرم‌ها، بلافاصله بعد از نمونه‌گیری، حرکت پیش‌رونده‌ی سریع و ۲۹ درصد حرکت پیش‌رونده‌ی آهسته داشتند. در صورتی که بعد از ۵ روز، تنها ۱ درصد از اسپرم‌ها حرکت پیش‌رونده‌ی سریع و حدود ۶ درصد اسپرم‌ها، حرکت پیش‌رونده‌ی آهسته داشتند. پس از ۱۲ روز، درصد اسپرم‌های با حرکت پیش‌رونده‌ی سریع و آهسته، به صفر رسید. در روز ۲، درصد اسپرم‌های با حرکت پیش‌رونده‌ی آهسته، با افتی ناگهانی همراه بود.

تأثیر مدت زمان نگهداری بر درصد اسپرم‌های متحرک غیر پیش‌رونده: بر اساس جدول ۱، افزایش مدت زمان نگهداری نمونه در یخچال، با کاهش درصد اسپرم‌های متحرک غیر پیش‌رونده همراه بود؛ به طوری که بلافاصله پس از نمونه‌گیری، حدود ۱۷ درصد از اسپرم‌ها حرکت درجا داشتند. سیر نزولی درصد این دسته از اسپرم‌ها، شیب کاهشی ملایمی داشت تا این که در روز ۱۲ به صفر رسید.

تأثیر مدت زمان نگهداری بر درصد اسپرم‌های بی‌حرکت: بر اساس جدول ۱، افزایش مدت زمان نگهداری نمونه، با افزایش درصد اسپرم‌های بی‌حرکت همراه بود. در دمای یخچال، سیر صعودی درصد اسپرم‌های بی‌حرکت، شیب ملایمی داشت و از ۷۸/۶ درصد روز ۲، به ۸۹/۰ درصد در روز ۵ رسید. این روند، ادامه یافت تا آن که در روز ۱۲ به ۱۰۰ درصد رسید؛ یعنی تمامی اسپرم‌ها بی‌حرکت شدند.

تأثیر مدت زمان نگهداری بر درصد کل اسپرم‌های متحرک: بر اساس جدول ۱، با افزایش مدت زمان نگهداری نمونه در یخچال، درصد کل اسپرم‌های متحرک کاهش یافت. بعد از ۲ روز نگهداری در یخچال، کاهش درصد کل اسپرم‌های متحرک قابل ملاحظه است و این روند کاهشی در روزهای آتی نیز ادامه یافت؛ بدین ترتیب که بلافاصله پس از نمونه‌گیری، حدود ۶۳ درصد از اسپرم‌ها متحرک بودند، اما پس از نگهداری نمونه به مدت ۱۲ روز در یخچال، هیچ اسپرم متحرکی وجود نداشت.

جدول ۱. میزان درصد انواع مختلف حرکت اسپرم در روزهای مختلف نگهداری در دمای ۶-۴ درجه‌ی سانتی‌گراد

زمان بررسی نمونه (روز)	پیش‌رونده‌ی سریع (درصد)	پیش‌رونده‌ی آهسته (درصد)	متحرک غیر پیش‌رونده (درصد)	بی‌حرکت (درصد)	حرکت کل (درصد)
	(میانگین ± انحراف معیار)	(میانگین ± انحراف معیار)	(میانگین ± انحراف معیار)	(میانگین ± انحراف معیار)	(میانگین ± انحراف معیار)
۰	۱۸/۳۰ ± ۹/۸۵	۲۸/۸۳ ± ۵/۹۱	۱۶/۶۶ ± ۵/۹۲	۳۶/۱۵ ± ۱۵/۱۸	۶۳/۸۱ ± ۱۵/۱۲
۱	۱۰/۳۰ ± ۷/۰۶	۲۱/۰۰ ± ۶/۰۰	۱۳/۶۶ ± ۵/۶۸	۵۵/۰۰ ± ۱۲/۰۱	۴۵/۰۰ ± ۱۲/۰۰
۲	۴/۱۶ ± ۲/۹۲	۹/۸۳ ± ۳/۴۸	۷/۳۳ ± ۳/۴۴	۷۸/۶۶ ± ۶/۸۸	۲۱/۳۲ ± ۶/۹۱
۵	۱/۰۰ ± ۱/۶۲	۶/۳۳ ± ۳/۳۸	۳/۶۶ ± ۲/۲۵	۸۹/۰۰ ± ۵/۷۶	۱۱/۰۰ ± ۵/۸۳
۷	۰/۳۲ ± ۰/۸۱	۲/۵۰ ± ۲/۱۶	۲/۳۳ ± ۱/۸۶	۹۴/۸۳ ± ۳/۹۲	۵/۳۲ ± ۳/۹۱
۱۲	۰/۰۰ ± ۰/۰۰	۰/۰۰ ± ۰/۰۰	۰/۰۰ ± ۰/۰۰	۱۰۰/۰۰	۰/۰۰ ± ۰/۰۰
مقدار P جهت مقایسه‌ی روزها با روز صفر	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱

بحث

Kishikawa و همکاران، در مطالعه‌ی خود اسپرم‌های اجساد موش را در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد برای مدت ۲۰ روز نگهداری کردند و نتایج نشان داد که ۱۵ روز پس از مرگ، هیچ یک از اسپرم‌های جمع‌آوری شده از اپیدیدیم، فعالانه متحرک نبودند. هر چند آن‌ها دریافتند که اسپرم های غیر متحرک تا ۲۰ روز پس از مرگ قادر به تولید جنین‌های طبیعی بودند (۳). در مطالعه‌ی قبلی نیز اسپرم‌های ناحیه‌ی اپیدیدیم موش‌های مرده در دمای ۶-۴ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند و در روزهای صفر، ۱، ۲، ۳، ۵، ۷، ۱۰ و ۱۲ مورد آزمایش قرار گرفتند. نتایج نشان داد که در مدت ۱۲ روز، میزان حرکت اسپرم‌ها کاهش می‌یابد و کاهش ناگهانی حرکت در روز ۳ بعد از مرگ بود؛ بدین ترتیب، میزان حرکت و بقای اسپرم‌ها تا ۴۸ ساعت پس از مرگ بالا می‌باشد و این اسپرم‌ها می‌توانند برای لقاح داخل آزمایشگاهی مورد استفاده قرار گیرند (۴).

در هر حال، نتایج مطالعه‌ی حاضر نیز تأییدی بر نتایج مطالعه‌ی گلشن و رضازاده (۴) بر روی موش است و نشان می‌دهد که در صورت نگهداری اسپرم‌ها در محیط کشت و در دمای یخچال تا کمتر از ۱۲ روز، می‌توان اسپرم‌های متحرک را بازیابی کرد و به طور تقریبی تا ۲ روز (۴۸ ساعت) بیشترین اسپرم‌های متحرک برای بازیابی در دسترس هستند.

تشکر و قدردانی

از معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به دلیل حمایت مالی سپاسگزاری می‌گردد. این مقاله از پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد علوم تشریحی به شماره‌ی طرح ۳۹۴۹۵۴ استخراج شده است.

References

1. Turner RM. Moving to the beat: a review of mammalian sperm motility regulation. Reprod Fertil Dev 2006; 18(1-2): 25-38.
2. World Health Organization, Department of Reproductive Health and Research. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 5th ed. Geneva, Switzerland: WHO; 2010.
3. Kishikawa H, Tateno H, Yanagimachi R. Fertility of mouse spermatozoa retrieved from cadavers and maintained at 4 degrees C. J Reprod Fertil 1999; 116(2): 217-22.
4. Golshan IF, Rezazadeh VM. The epididymal sperm viability, motility and DNA integrity in dead mice maintained at 4-6oC. Iran J Reprod Med 2013; 11(3): 195-200.

Journal of Isfahan Medical School
Received: 07.11.2016
Vol. 35, No. 417, 1st Week, April 2017
Accepted: 25.02.2017

Assessment of the Changing Trend of Different Kinds of Sperm Motility during the Storage of Normozoospermic Men's Semen Samples at 4-6 ºC

Zohreh Nateghian[1], Gholam Reza Dashti[2], Shekofeh Baghazadeh[3], Farhad Golshan-Iranpour[4]

Short Communication

Abstract

Background: Sperm motility has a basic role in male fertility. The aim of this study was to assess the changing trend of different types of sperm motility during the storage of normozoospermic men's semen samples in refrigerator (4-6 ˚C)

Methods: In this experimental study, 13 washed semen samples of normozoospermic men were kept in refrigerator (4-6 ˚C) for 12 days. At 0 (immediately after sampling as control group), 1st, 2nd, 5th, 7th, and 12th days, the proportions of fast progressive, slow progressive, non-progressive and immotile sperm cells were calculated.

Findings: The percentages of different kinds of motile spermatozoa decreased with a gentle slope ($P < 0.001$) during 12 days of storage in refrigerator (4-6 ˚C). In addition, the proportion of motile spermatozoa decreased significantly after 48 hours and there was no motile sperm after 12 days of keeping semen sample in refrigerator.

Conclusion: This study suggests that after 12 days of keeping semen sample in refrigerator, no motile sperm can be found in culture medium and more motile spermatozoa can be retrieved up to first 48 hours.

Keywords: Normozoospermic men, Sperm motility, Semen preservation, Sperm retrieval

Citation: Nateghian Z, Dashti GR, Baghazadeh S, Golshan-Iranpour F. **Assessment of the Changing Trend of Different Kinds of Sperm Motility during the Storage of Normozoospermic Men's Semen Samples at 4-6 ºC.** J Isfahan Med Sch 2017; 35(417): 38-41.

1- MSc Student, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Associate Professor, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Shahid Beheshti Hospital, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
4- Assistant Professor, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Farhad Golshan-Iranpour, Email: fgolshaniranpour@yahoo.com