مقاله پژوهشی

همبستگی پارامترهای اسپرمی با شاخص شکست DNA اسپرم در مردان نابارور منتخب لقاح با روش تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم (ICSI)

رضا پاک نژاد [۱]، فرنگیس قاسمی[۱*]، سمانه ذوالقدری جهرمی[۱]، معصومه گلستان جهرمی[۲]

۱- گروه زیست شناسی، واحد جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران
۲- استادیار،گروه فناوری های نوین پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جهرم، جهرم، ایران

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.22, No.1, Spring 2024

چکیده

مقدمه: عملکرد طبیعی اسپرم در مردان که روی باروری تاثیرگذار است، بستگی به حفظ یکپارچگی DNA اسپرم دارد. مطالعه حاضر با هدف بررسی نقش شاخص شکست DNA اسپرم (DFI) در ارزیابی توانایی باروری مردان شرکت‌کننده در لقاح به روش تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم (ICSI) انجام شد.

روش کار: مطالعه مقطعی حاضر روی ۶۰ بیمار مرد نابارور شرکت‌کننده در تلقیح مصنوعی در بیمارستان سیدالشهدا جهرم انجام شد. پس از جمع‌آوری سمن و آماده سازی اسپرم به روش دانسیته گرادیان، پارامترهای اسپرمی بررسی و DFI آن به روش سنجش پراکندگی کروماتین تعیین شد. بیماران در سه گروه با DFI کمتر از ۱۵٪، بین ۱۵ تا ۳۰٪ و بیشتر از ۳۰٪ دسته‌بندی شدند. پس از تحلیل سمن و انجام لقاح، میزان لقاح و تعداد جنین مشخص شد. داده‌های حاصل با آزمون‌های توصیفی و همبستگی DFI با پارامترهای اسپرمی و پیامدهای لقاح به کمک آزمون پیرسون ارزیابی شد.

یافته‌ها: نتایج بیانگر کاهش معنادار ($p<۰/۰۵$) در تعداد و حرکت رو به جلوی اسپرم و همچنین افزایش معنادار بی‌تحرکی آن در نتیجه افزایش DFI بود. براساس مقدار ضریب همبستگی، DFI با پارامترهای اسپرمی تعداد ($r=-۰/۴۸$)، حرکت رو به جلو ($r=-۰/۵۲$)، میزان لقاح ($r=-۰/۸۳$) و تعداد جنین حاصل ($r=-۰/۳۵$) رابطه معکوس و با پارامتر بی‌تحرکی ($r=۰/۴۷$) رابطه مستقیم داشت.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل ضمن تأکید بر اهمیت DFI در ارزیابی قدرت باروری مردان، به عنوان عامل پیش‌بینی‌کننده پیامدهای بارداری هم باید مورد توجه قرار گیرد. لذا اندازه‌گیری آن در لقاح میکرواینجکشن توصیه می شود.

واژگان کلیدی: شاخص شکست DNA، مایع سمن، مرفولوژی اسپرم

Pars J Med Sci 2024;22(1):50-60

مقدمه

ناباروری به معنای عدم بارداری پس از دوازده ماه متوالی آمیزش جنسی محافظت نشده برای خانم‌هایی با سن کمتر از ۳۵ سال است. در صورتی که سن خانم بیشتر از ۳۵ سال باشد، این مدت به شش ماه کاهش می‌یابد. نزدیک به ۴۰ درصد از موارد ناباروری‌ها با مردان، ۴۰ درصد با زنان مرتبط بوده و تنها ۱۰ درصد با موارد مشترک زنانه و مردانه ارتباط دارد. در ۱۰ درصد موارد نیز علت مشخصی یافت نمی‌شود [۱]. عملکرد طبیعی اسپرم به حفظ یکپارچگی DNA آن وابسته بوده و قطعه قطعه شدن DNA در اسپرم یکی از مهم‌ترین فرایندهای آسیب‌زا است که تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله سن [۲]، میزان رادیکال‌های آزاد و آپوپتوز، اشعه ماورا بنفش [۳] و حتی سبک زندگی فرد به ویژه مصرف الکل، استعمال سیگار و... است [۴]. نقص در مسیرهای ترمیم DNA در طول اسپرم‌زایی نیز اثرات منفی بر یکپارچگی DNA اسپرم دارد و می‌تواند کیفیت و کمیت اسپرم را کاهش داده و باعث ناباروری شود. از این رو، با این‌که اولین روش برای تشخیص ناباروری، ارزیابی معمول مایع منی بر اساس مشخصه‌های کمی همچون تعداد، میزان تحرک و مورفولوژی اسپرم است، ولی وجود مردان نابارور دارای پارامترهای مایع منی طبیعی نشانگر آن است که این ارزیابی به تنهایی در تعیین علل ناباروری و ارزیابی قدرت باروری مردان کافی نبوده و

* نویسنده مسئول، نشانی: ۱. گروه زیست شناسی، واحد جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران.
تلفن تماس: ۰۹۱۷۷۱۳۶۱۳۸- فکس: ۰۷۱۳۸۲۲۵۹۱۱ پست الکترونیک:ghassemi.fr@gmail.com / ghasemi@jia.ac.ir
دریافت: ۱۴۰۳/۱۲/۱۳ اصلاح: ۱۴۰۳/۰۲/۰۴ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۲۷

سنجش میزان قطعه قطعه شدن DNA اسپرم (SDF) که با شاخص شکست DNA یعنی DFI نشان داده می‌شود گزینه مناسبی است [۵].

با وجود اطلاعات متناقض در خصوص ارتباط DFI با نتایج بارداری و وضعیت جنین در لقاح آزمایشگاهی به‌خصوص روش تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم، برای اظهار نظر قطعی در این مورد به پژوهش‌های بیشتری نیاز است. نتایج حاصل از پژوهش ژنگ و همکاران در سال ۲۰۱۸ حاکی از همبستگی منفی بین میزان آسیب DNA اسپرم با نتایج لقاح مصنوعی بدون تاثیر معنادار روی لقاح بود. این مطالعه تأکید می‌کند که قطعه قطعه شدن DNA اسپرم باعث کاهش معناداری در کیفیت جنین تا سه روزگی، میزان تشکیل بلاستوسیست و نرخ لانه‌گزینی می‌شود. علاوه بر این، بعضی از پژوهش‌ها ضمن مردود دانستن تأثیر قطعه قطعه شدن DNA بر نرخ بارداری و تشکیل جنین، اثر نامطلوب آن را بر کیفیت جنین پس از لانه‌گزینی یادآور شده و حتی آن را به عنوان عاملی برای سقط خود به خودی در لقاح آزمایشگاهی (IVF) اعلام کرده‌اند [۵-۶]. از سوی دیگر، مطالعاتی نیز تأثیر شکست DNA اسپرم بر میزان لقاح، سقط جنین، خطر مرده‌زایی یا مرگ نوزاد را در لقاح به روش تزریق اسپرم درون سیتوپلاسم تخمک رد کرده و هیچ همبستگی معناداری بین جنسیت، سن حاملگی، نارسی نوزاد، وزن هنگام تولد و نقایص مادرزادی با میزان شاخص شکست DNA اسپرم گزارش نکرده‌اند [۷]. با این وجود، تعیین میزان قطعه قطعه شدن اسپرم در شریک مرد یک زوج نابارور به ندرت استفاده می‌شود و هنوز به عنوان یک آزمایش معمول پذیرفته نشده‌است.

مطالعات مختلف نشان می‌دهند که هر چه کیفیت پارامترهای اصلی اسپرم پایین‌تر باشد، احتمال سلامت DNA اسپرم هم کمتر است [۶]. در طی اسپرمیوژنز، اسپرم برای دست‌یابی به عملکرد اصلی خود و بارور کردن تخمک و تشکیل جنین اولیه، بیشتر سیتوپلاسم خود را از دست می‌دهد که خود باعث می‌شود در مقابل عوامل مضر همچون رادیکال‌های آزاد به شدت آسیب‌پذیر شود. اگرچه وجود گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) برای عملکرد فیزیولوژیکی اسپرم از جمله ظرفیت‌یابی، واکنش آکروزومی و حتی باروری ضروری هستند، ولی گاهی به‌دلیل میزان بالای اسیدهای چرب اشباع نشده غشا و حجم کم فضای سیتوپلاسمی، اسپرم با پدیده شکست DNA مواجه می‌شود. بروز آسیب در DNA اسپرم گاهی با اصلاح سبک زندگی و انجام مداخلات درمانی مناسب از جمله درمان آنتی‌اکسیدانی بهبود پیدا می‌کند [۸].

با وجود نتایج متناقض در خصوص استفاده از شاخص شکست DNA در رابطه با پیامدهای لقاح و تشکیل جنین و همبستگی اندک مشاهده شده بین پارامترهای اسپرمی همچون غلظت، مرفولوژی و حرکت با DFI [۹]، انجام آزمایش DFI در بیماران دارای پارامترهای منی ضعیف که اقدام به بارداری با روش‌های کمک باروری (ART) می‌کنند توصیه می‌شود [۶ و ۹-۱۲]. بر اساس یافته‌های سان و همکاران در سال ۲۰۱۸، میزان شاخص شکست DNA اثری بر نتایج لقاح، کیفیت جنین یا حتی بارداری برای بیماران ناباروری که اقدام به لقاح به روش IVF و ICSI کرده‌اند ندارد، اما با ارزیابی مایع منی همبستگی دارد. در روش تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم، پس از ارزیابی مایع منی، یک اسپرم منفرد متحرک با مرفولوژی طبیعی انتخاب و با سوزن بی حرکت و به درون سیتوپلاسم تخمک تزریق می‌شود و بدین ترتیب شانس لقاح به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد [۶]. موارد لقاح موفقیت‌آمیز در روش ICSI با وجود نتایج ضعیف ارزیابی مایع منی یا با وجود آسیب DNA اسپرم، منجر به سؤالاتی در مورد ارزش بالینی آزمایش DFI در این روش لقاحی شده‌است. لیو و همکاران در سال ۲۰۲۳ آسیب به DNA اسپرم را عامل کاهش میزان بارداری در روش IVF اعلام کردند، اگرچه در روش تزریق اسپرم به درون سیتوپلاسم تخمک بی‌تأثیر بود، اما رکس و همکاران در مطالعه خود در سال ۲۰۲۱، کاهش میزان بارداری و زنده مانی جنینی را با افزایش شاخص شکست DNA در روش ICSIتأیید کردند. هدف مطالعه حاضر همبستگی پارامترهای اسپرمی با شاخص شکست DNA اسپرم در مردان نابارور منتخب لقاح با روش تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم (ICSI) بود.

روش کار

این مطالعه در سال ۱۴۰۲ به‌صورت مقطعی روی ۶۰ بیمار مرد نابارور مراجعه کننده به مرکز درمان ناباروری بیمارستان سیدالشهدا شهرستان جهرم برای انجام لقاح مصنوعی به روش تزریق اسپرم به درون سیتوپلاسم تخمک پس از گرفتن رضایت کتبی از آن‌ها انجام شد. معیارهای ورود به مطالعه شامل: سن زیر ۴۵ سال، نورمواسپرمی، عدم مصرف مشروبات الکلی و استعمال دخانیات، همسر زیر ۳۵ سال و نتایج آزمایش‌های هورمونی طبیعی در نظر گرفته شد. معیارهای خروج از مطالعه نیز شامل: ابتلا به واریکوسل و عدم قدرت انزال یا انزال پس رونده، الیگواسپرم یا استنواسپرم شدید، عفونت دستگاه ادراری- تناسلی و بیماری‌های زمینه‌ای همچون دیابت، فشار خون و شاخص توده بدنی بالای ۳۰ بود.

در ابتدا ضمن توضیح شرایط استاندارد انجام طرح برای بیمار، با استفاده از ظروف دهانه گشاد مایع منی جمع آوری و بلافاصله به آزمایشگاه ارسال شد. نمونه‌ها پس از انکوباسیون ۲۰ دقیقه‌ای در

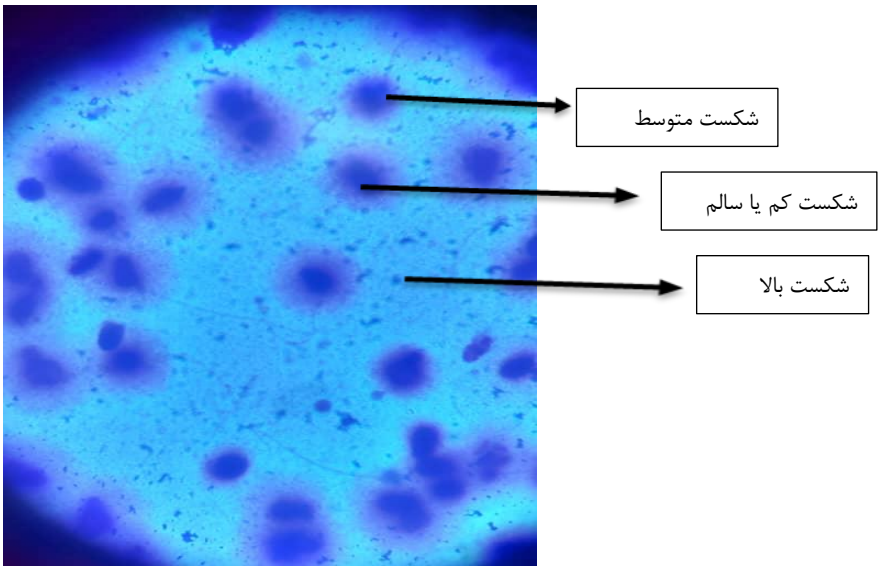
دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای مایع شدن، به دو قسمت جهت بررسی پارامترهای اسپرمی و انجام آزمایش DFI تقسیم شدند. تحلیل پارامترهای اسپرمی شامل حجم، تعداد، میزان تحرک و مورفولوژی اسپرم بر اساس استانداردهای سازمان جهانی بهداشت بود [۱]. برای این کار، حجم سمن با ظرف مدرج دهان گشاد با دقت ۰/۱ میلی‌لیتر و تعداد اسپرم‌ها بر حسب میلیون در میلی‌لیتر با استفاده از لام شمارش اسپرم تعیین شد. برای شمارش اسپرم‌ها، ۱۰ میکرولیتر از نمونه سمن توسط سمپلر در قسمت وسط لام گذاشته شد و لامل که از ۱۰۰ خانه ۱۰×۱۰ تشکیل شده بود روی آن قرار داده شد. با بزرگنمایی x ۴۰ ، تعداد اسپرم‌های موجود در ۱۰ مربع عمودی و ۱۰ مربع افقی پشت سر هم شمارش و میانگین آنها در ۱۰۶ ضرب شد. بررسی میزان تحرک و نوع اسپرم به روش مشاهده مستقیم زیر میکروسکوپ نوری و با استفاده از دستگاه شمارش سلولی طبق معیارهای سازمان جهانی بهداشت انجام شد. اسپرم‌ها از نظر تحرک به سه دسته شامل تحرک پیش‌رونده (اسپرماتوزوئیدها به صورت خطی یا به صورت فعال حرکت می‌کنند)، تحرک غیر پیش‌رونده (تمام الگوهای حرکتی دیگر بدون پیشرفت مثل شنا در دایره های کوچک یا جابجایی سخت با نیروی تاژک) و بی‌حرکت تقسیم شدند. معیارهای اشاره شده سازمان جهانی بهداشت عبارتند از: حجم مایع منی از ۱/۵ تا ۳ میلی‌لیتر، غلظت بزرگتر از ۱۰۶ × ۱۵ میلی‌لیتر، تعداد کل اسپرم بیشتر از ۱۰۶ × ۳۹، تحرک بیشتر از ۴۰٪ و مورفولوژی طبیعی بیشتر از ۴٪ [۱].

به منظور بررسی مورفولوژی اسپرم‌ها، در کوتاهترین زمان از هر نمونه یک گسترش تهیه و باکیت Diff-Quik ساخت شرکت ایده ورزان فردا ایران با شماره کاتالوگ DQ062302 رنگ‌آمیزی شدند. این کیت شامل محلول Eosinophilic xanthenes ، محلول Basophilic Thiazine و متانول ۹۵٪ به عنوان فیکساتور است. پس از شستشوی نهایی و خشک شدن لام‌ها در مجاورت هوا، ۲۰۰ اسپرم به کمک شمارشگر سلولی شمارش و با میکروسکوپ نوری Optika با بزرگنمایی ۱۰۰x بررسی شدند [۱۱]. در این روش رنگ‌آمیزی، ناحیه اکروزوم سر اسپرم به رنگ آبی کمرنگ، ناحیه پشتی آن آبی تیره، قطعه میانی تا حدودی قرمز رنگ و ناحیه دم به رنگ آبی یا قرمز در می‌آید. بر اساس معیارهای Strict، هر یک از ناهنجاری‌های سر شامل سر کروی، کشیده، گلابی شکل، بدون شکل، سر دوتایی و سوزنی، وجود واکوئل زیاد در آکروزوم و همچنین ناهنجاری‌های گردن و دم اسپرم مثل کوتاهی دم، خمیدگی‌های شدید، پیچ خوردگی، پهنای بیش از حد دم یا ترکیبی از آن‌ها تعیین شد.

آماده سازی اسپرم برای تزریق درون سیتوپلاسم تخمک با شستشوی آن به روش دانسیته گرادیان با غلظت های ۴۰٪ و ۸۰٪ انجام شد. برای این کار ابتدا یک سی‌سی از محلول گرادیان ۸۰٪ به لوله فالکون منتقل شد و سپس یک سی‌سی از محلول ۴۰٪ به آن اضافه و در نهایت یک سی‌سی از مایع سمن به آخرین لایه افزوده و در g ۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. بعد از آن، مایع رویی حاوی اسپرم‌های مرده و گلبول‌ها با پیپت جدا سازی شد و اسپرم‌های ته نشین شده در محلول شستشوی اسپرم حل و بار دیگر به مدت ۸ دقیقه سانتریفیوژ شدند. اسپرم‌ها پس از شستشوی مجدد تا زمان تزریق در انکوباتور نگهداری شدند [۹].

برای انجام آزمایش DFI اسپرم، از کیت هالوسپرم (HT-HS10) DNA Halosperm خریداری شده از شرکت ایده ورزان فردا با شماره کاتالوگ SD062301 به روش سنجش پراکندگی کروماتین اسپرم (SCD) استفاده شد [۹]. بدین ترتیب که مایع منی تا غلظت بین ۵ تا ۱۰ میلیون اسپرم در میلی‌لیتر در محیط کشت رقیق شد. سپس یک میکروتیوب حاوی ۰/۵سی‌سی میکروژل آگارز ذوب شده و به مدت یک دقیقه در بن‌ماری ۳۷ درجه سانتیگراد قرارداده شد. ۵۰ میکرولیتر از سوسپاسیون اسپرم تهیه شده به لوله حاوی ۰/۵سی‌سی میکروژل آگارز ذوب شده اضافه و مخلوط شد. سپس ۲۵ میکرولیتر از نمونه روی لام منتقل و پس از ۵ دقیقه قرار گرفتن در یخچال، به مدت ۷ دقیقه در محلول دناتوره قرار داده شد. پس از اضافه کردن محلول لیز کننده و انکوبه کردن آن به مدت ۱۵ دقیقه، لام‌ها شسته شد و پس از آب‌گیری با میکروسکوپ نوری با عدسی ۱۰۰ تعداد ۳۰۰ اسپرم بررسی شدند. اسپرم‌های دارای هاله کوچک (عرض هاله کمتر یا مساوی نصف قطر کوچک سر اسپرم) یا فاقد هاله، اسپرم‌ها با شکست DNA و اسپرم‌های دارای هاله بزرگ (هاله بزرگتر یا مساوی نصف قطر کوچک سر اسپرم) یا متوسط، اسپرم‌های سالم و بدون شکست DNA در نظر گرفته شدند [۱]. با انتخاب نزدیک به ۳۰۰ اسپرم یا بیشتر، اسپرم‌های دارای شکست شمارش و نسبت تعداد اسپرم‌های قطعه قطعه شده به تعداد کل اسپرم‌ها به‌صورت درصد تعیین شد. بیماران بر اساس مقدار DFI در سه گروه به شرح زیر دسته‌بندی شدند (شکل ۱):

۱. بیماران با DFI ≤ ۱۵٪ (شکست کم یا سالم)
۲. بیماران با ۱۵٪ ≤ DFI ≤ ۳۰٪ (شکست متوسط)
۳. بیماران با DFI ≥ ۳۰٪ (شکست بالا)



شکل ۱: لام رنگ آمیزی شده با DFI های مختلف

وضعیت بلوغ تخمک با حضور یا عدم حضور اولین جسم قطبی بررسی شد. برای انجام لقاح به روش تزریق اسپرم به داخل سیتوپلاسم تخمک، اسپرم منتخب را به وسیله سوزنی بسیار نازک بی‌حرکت کرده و به سیتوپلاسم تخمک بالغی که پس از تحریک تخمدانی با هورمون آزاد کننده گنادوتروپین (GnRH) و القا تخمک‌گذاری، بازیابی شده، تزریق شد. هیجده ساعت بعد از تزریق اسپرم، وضعیت لقاح ارزیابی و میزان لقاح و تعداد جنین (۲ تا ۴ سلولی) شمارش و با درصد بیان شد. داده‌های حاصل به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شدند. با کمک نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۰ و با استفاده از آزمون تحلیل واریانس‌ها تحلیل شدند. میانگین گروه‌ها با آزمون کروسکال- والیس و آزمون تعقیبی توکی مقایسه شدند. برای تعیین همبستگی بین پارامترها از آزمون همبستگی پیرسون استفاده شد. سطح معناداری آزمون‌ها $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

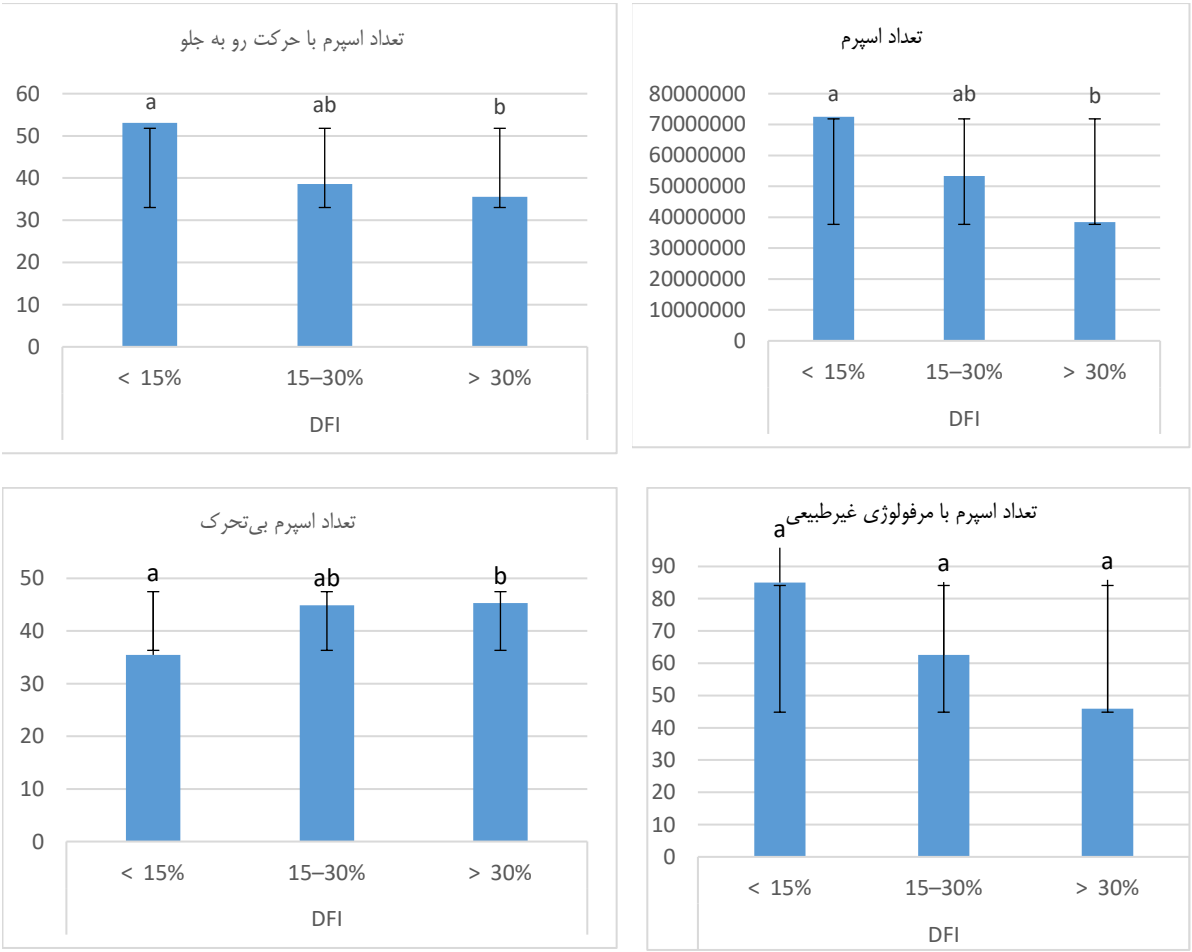
یافته‌های حاصل از بررسی ارتباط شاخص شکست DNA اسپرم بر پارامترهای اسپرمی و تأثیر آن بر میزان لقاح در مردان ناباروری که در لقاح آزمایشگاهی به روش ICSI شرکت کرده‌بودند، در قالب جداول و نمودارهای زیر نمایش داده شده‌است. بر اساس نتایج، شاخص مذکور بیشتر از ۳۰٪ بود و تعداد اسپرم (p=۰/۰۳۲) و حرکت رو به جلوی آن (p=۰/۰۱۴) با کاهش و بی‌تحرکی (p=۰/۰۲۴) با افزایش معناداری همراه بود. حرکت در جازدن و مرفولوژی اسپرم گرچه با DFI همبستگی داشتند، ولی این همبستگی معنادار نبود (جدول و نمودار ۱). ضریب همبستگی پیرسون نشانگر همبستگی معنادار بین میزان DFI اسپرم و برخی پارامترهای اسپرمی بود (جدول ۳). همچنین همبستگی معنادار معکوس با نرخ لقاح (r=-۰/۸۳) و تعداد جنین (r=-۰/۳۵) مشاهده شد (جدول و نمودار ۲).

ضریب همبستگی پیرسون نشان داد که DFI اسپرم با تعداد اسپرم (r=-۰/۴۸)، حرکت رو به جلو (r=-۰/۵۲)، مرفولوژی (r=-۰/۳۵) حرکت درجا (r=-۰/۰۷)، نرخ لقاح (r=-۰/۸۳) و تعداد جنین (r=-۰/۳۵) همبستگی معکوس و با بی‌تحرکی اسپرم (r=۰/۵۰) همبستگی مستقیم دارد (جدول ۳).

جدول ۱. بررسی اثر شاخص شکست DNA اسپرم (DFI) بر پارامترهای اسپرمی

	DFI						p-value
	<٪ ۱۵		۱۵-۳۰ ٪		>٪۳۰		
	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	
تعداد اسپرم	۷۲۵۰۰۰۰۰	۲۸۹۸۷۵۴۵	۵۳۳۳۳۳۳۳	۲۷۸۲۲۸۱۳	۳۸۴۵۴۵۴۵	۲۶۰۰۱۳۹۹	۰/۰۳*
حرکت رو به جلو	۵۳/۱۰	۱۲/۵۶	۳۸/۵۶	۱۷/۴۳	۳۵/۵۵	۹/۸۳	۰/۰۱*
حرکت در جا	۱۶/۵۰	۵/۷۰	۱۲/۸۹	۷/۴۹	۱۵/۶۴	۷/۶۱	۰/۵۶
بی‌تحرکی	۳۲/۹۰	۹/۵۵	۴۸/۵۶	۱۸/۶۹	۴۹/۴۵	۱۳/۵۹	۰/۰۲*
مورفولوژی	۲/۳۰	۰/۸۲	۱/۸۹	۰/۷۸	۱/۶۴	۰/۶۷	۰/۱۶

* اختلاف معنادار در سطح معناداری p<۰/۰۵



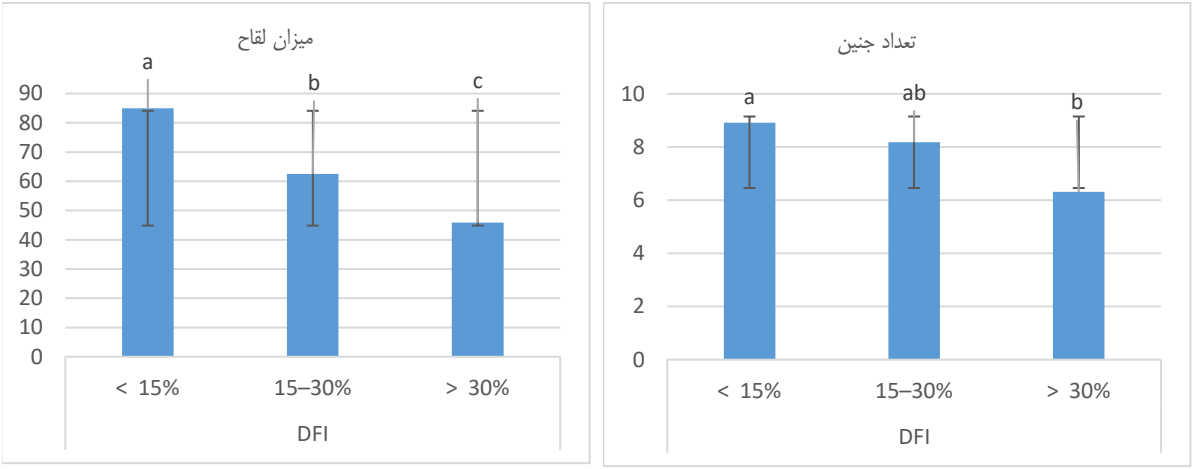
نمودار ۱. مقایسه پارامترهای اسپرمی بر اساس شاخص شکست DNA اسپرم (DFI)

حروف غیر مشترک نشان دهنده معناداری (p< ۰/۰۵) بین گروه‌هاست.

جدول ۲. بررسی اثر شاخص شکست DNA اسپرم (DFI) بر پیامدهای لقاح

	DFI						p-value
	<٪ ۱۵		۱۵–۳۰ ٪		>٪۳۰		
	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	میانگین	انحراف معیار	
تعداد اووسیت	۱۰/۷۷	۵/۷۲	۱۴/۰۰	۷/۴۰	۱۳/۳۸	۵/۶۶	۰/۷۱
تعداد جنین	۸/۹۲	۴/۳۳	۸/۱۸	۳/۶۰	۶/۳۱	۲/۹۸	۰/۰۶
میزان لقاح	۸۵/۰۰	۸/۲۱	۶۲/۵۵	۱۱/۸۸	۴۵/۸۸	۹/۸۸	۰/۰۰۱*

* اختلاف معنادار در سطح معناداری p<۰/۰۵



نمودار ۲. مقایسه پیامدهای لقاح بر اساس شاخص شکست DNA اسپرم (DFI)

حروف غیر مشترک نشان دهنده معناداری (p< ۰/۰۵) بین گروه‌هاست.

جدول ۳. همبستگی شاخص شکست DNA اسپرم (DFI) با پارامترهای اسپرمی و پیامد لقاح

پارامتر	DFI	
تعداد اسپرم	R	−۰/۴۸
	p-value	۰/۰۰۷*
حرکت رو به جلو	R	−۰/۵۱
	p-value	۰/۰۰۴*
حرکت در جا	R	−۰/۰۷
	p-value	۰/۷۰
بی‌تحرکی	R	۰/۵۰
	p-value	۰/۰۰۵*
مورفولوژی	R	−۰/۳۴
	p-value	۰/۰۶۰
تعداد اووسیت	R	۰/۰۹
	p-value	۰/۶۳
تعداد جنین	R	−۰/۳۵
	p-value	۰/۰۶
میزان لقاح	R	−۰/۸۳
	p-value	۰/۰۰۱*

* اختلاف معنادار در سطح معناداری p<۰/۰۵

بحث

مقایسه پارامترهای اسپرمی با شاخص شکست DNA اسپرم نشان داد که با افزایش این شاخص، تعداد و حرکت روبه‌جلوی اسپرم کاهش معنادار و بی‌تحرکی آن افزایش می‌یابد که مطابق با یافته‌های پیشین است [۱۱-۱۴]. انتخاب روش دانسیته گرادیان در آماده‌سازی اسپرم، روی افزایش قابلیت باروری در لقاح آزمایشگاهی و افزایش حرکت رو به جلوی اسپرم مؤثر بوده و جداسازی اسپرم‌های با مرفولوژی سالم و دارای قدرت واکنش آکروزومی را زیاد می‌کند [۱۱-۱۲]. در لقاح ISCI (روش به‌کار گرفته‌شده در این پژوهش) چون اسپرم‌های با کروماتین یا مرفولوژی غیرطبیعی هم امکان لقاح داشتند، استفاده از روش دانسیته گرادیان در جداسازی اسپرم‌های متحرک بازده خوبی داشته‌است [۱۳].

پژوهش‌های انجام شده نشان داده‌اند که یکی از دلایل ایجاد شکست DNA اسپرم، به فاصله زمانی بین جمع‌آوری نمونه سمن تا آماده‌سازی و انکوباسیون آن در آزمایشگاه مربوط می‌شود [۱۴]. اگرچه در لقاح ISCI، این زمان کوتاه است، ولی گاهی انکوباسیون طولانی مدت اسپرم به منظور تطابق با تأخیر در آماده سازی، برداشت و بلوغ تخمک یا اجرای تزریق اسپرم به داخل سیتوپلاسم تخمک اتفاق می‌افتد که به نوبه خود روی شکست DNA، حرکت [۱۳] و حتی مرفولوژی اسپرم و در نهایت روی نتایج تاثیر دارد [۱۵]. در این مطالعه، تغییرات مرفولوژی اسپرم در DFI های منتخب بر خلاف نتایج پژوهش وانگ و همکاران در سال ۲۰۲۳، تفاوت معناداری را نشان نداد، اما با افزایش میزان DFI از ۱۵ تا ۳۰٪ همبستگی معنادار و معکوسی بین این دو پارامتر دیده شد. ناهنجاری‌های سر، به‌ویژه سرهای بی شکل، در درجه بالایی از قطعه قطعه شدن DNA گزارش شده است. همچنین زاویه دار بودن سر و واکوئل‌های هسته‌ای بزرگ در آن با تکه تکه شدن DNA مرتبط اعلام شده‌است [۱۷]. با توجه به موقعیت هسته در سر اسپرم و متراکم شدن آن طی تکوین اسپرم و اسپرمیوژنز، انتظار می‌رود که شکل طبیعی سر با شکست DNAرابطه معکوس داشته باشد [۱۶-۱۸]. بدیهی است در لقاح طبیعی، بی‌سر یا بی شکل بودن سر اسپرم‌ها در عدم موفقیت آن‌ها در مهاجرت از طریق مخاط دهانه رحم، تشخیص اووسیت و فعال کردن آن نقش دارد، ولی نتایج مطالعه حاضر مرفولوژی اثر قابل توجهی در نتیجه لقاح نداشت. پژوهش‌های زیادی مرفولوژی غیرطبیعی اسپرم را از پارامترهای ناباروری اعلام کرده‌اند [۱۷]، اما به‌تازگی نقش کم‌رنگ‌تری برای این پارامتر در پیامدهای لقاح و تکوین جنین قائل می‌شوند [۱۹].

همبستگی منفی مشاهده‌شده بین غلظت اسپرم و میزان DFI و همچنین همبستگی منفی بین میزان باروری و شاخص شکست DNA اسپرم، مؤید اهمیت کمیت و کیفیت اسپرم در موفقیت باروری است. غلظت اسپرم تا حدودی عملکرد اسپرم زایی بیضه را منعکس می‌کند [۱۲]. کاهش وضعیت تحرک رو به لچ با افزایش میزان DFI اسپرم و مرفولوژی غیرطبیعی آن بخصوص فقدان دم که به تعداد زیاد در نمونه‌های مورد بررسی دیده شد، عامل بی تحرکی اسپرم‌هاست. شکنندگی شدید قطعه میانی و جهش پروتئین‌های ناحیه سانتریول که سر اسپرم را با دم پیوند می‌دهند نیز در جدایی دم اسپرم نقش دارند [۲۰]. غلظت بالای رادیکال‌های آزاد نیز به دلیل آسیب به ساختار آکسونم یا کاهش آدنوزین تری فسفات داخل سلولی نیز می‌تواند باعث کاهش تحرک اسپرم شود [۲۱]. به نظر می رسد برای دستیابی به نتیجه مطلوب در لقاح، از اسپرم در کوتاه‌ترین زمان بعد از انزال باید استفاده شود.

نتیجه این پژوهش همسو با یافته‌های دنگ و همکاران نشان داد که کاهش میزان قطعه قطعه شدن DNA اسپرم می‌تواند باعث افزایش لقاح شود و همبستگی معکوسی هم با تعداد جنین حاصل دارد. آنچه مسلم است اسپرم‌های دارای DNA تک رشته‌ای نسبت به اسپرم‌های دو رشته‌ای قدرت باروری کمتری دارند. بنابر این، آسیب DNA یکی از علل ناباروری است و حتی اگر لقاح هم انجام شود پیامدهای نامطلوبی در پی خواهد داشت [۲۲]. به نظر می‌رسد در مطالعه حاضر برخلاف نتایج پژوهش انجام شده در سال ۲۰۱۸ توسط ژانگ و همکاران، شکست DNA اسپرم بیشترین تأثیر خود را در میزان لقاح نشان داده، به طوری که حتی در محدوده متوسط (DFI بیشتر از ۱۵٪) هم نرخ لقاح کاهش داشته‌است. تعداد جنین حاصل در این مطالعه در هر سه بازه DFI، همبستگی معکوسی با این شاخص داشته، اما فقط در DFI بیشتر از ۳۰٪ معنادار بوده‌است. مطالعات انجام شده در این خصوص بسته به روش لقاح آزمایشگاهی نتایج متفاوتی نشان داده‌اند. برخی پژوهش‌ها همسو با یافته‌های مطالعه حاضر، رابطه منفی معناداری بین میزان آسیب DNA اسپرم و تعداد جنین و میزان تولد زنده اعلام کرده‌اند یا حداقل افزایش خطر سقط زودرس در بارداری‌های IVF و ICSI را گزارش داده‌اند [۹ و ۲۲]. یافته‌های بیشتری حاکی از آن است که آسیب DNA اسپرم تأثیر روی بارداری به روش ART و پیامدهای آن ندارد [۷، ۱۱، ۱۰، ۲۳ و ۲۴]. یکی از دلایل هم‌سو نبودن نتایج منتشر شده، تنوع روش‌های مورد استفاده برای تشخیص SDF و همچنین روش تلقیح آزمایشگاهی در مطالعات مختلف است. در مقایسه

پیامدهای افزایش میزان DFI در دو روش تلقیح مصنوعی مشاهده شد که در لقاح آزمایشگاهی (IVF)، علاوه برکاهش میزان بارداری، کاهش لانه‌گزینی و تشکیل جنین با کیفیت بالا نیز مشاهده شده، در حالی‌که در تلقیح به روش تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم نبود همبستگی بین این دو مورد نشان داده شده‌است [۲۳]. علاوه بر این، میزان DFI اسپرم پس از بهینه‌سازی و سانتریفیوژ اسپرم با روش گرادیان دانسیته در روش‌های کمک باروری، منجر به کاهش ناهنجاری آن می‌شود، به طوری که تأثیر DFI بر نتیجه بارداری تضعیف می‌شود. به این دلیل، معنادار نبودن اختلاف در تعداد جنین (۴ سلولی) بین گروه‌ها در بازه‌های مختلف DFI، قابل توجیه است. این اختلاف نظر شاید به زمان اثر آسیب DNA اسپرم بر رشد جنینی نیز مربوط باشد. پژوهشگران بر این باورند که ژنوم جنینی در مرحله ۴ سلولی فعال می‌شود و ژن های والدینی در مرحله ۸ سلولی تأثیرگذار است، در نتیجه آسیب DNA اسپرم روی لقاح یا حتی رشد اولیه جنین (تا قبل از مرحله ۴ سلولی) بی اثر بوده، ولی در مراحل بعدی دوره جنینی اثر خود را اعمال می‌کند [۷ و ۲۶].

عوامل ایجاد آسیب بهDNA اسپرم اعم از اکسیداسیون چربی‌های غشای آن یا رخداد آپوپتوز نیز همیشه مطرح بوده و می‌تواند توجیهی برای وجود همبستگی معنادار بین DFI و پارامترهای مورد بررسی در این پژوهش باشد [۲۷]. با وجود یافته‌های متناقض در رابطه با اهمیت ارزیابی شاخص شکست DNA اسپرم در پیش بینی نتایج بارداری از یک سو و وجود همبستگی معنادار این شاخص با پارامترهای اسپرمی، لقاح و حتی تا حدودی بر تشکیل جنین، سنجش DFI اسپرم قبل از اقدام به لقاح آزمایشگاهی توصیه می‌شود.

باید توجه داشت که میزان موفقیت روش ICSI به سن زوجین، کیفیت تخمک و اسپرم بستگی داشته [۷] و در نظر گرفتن نقش عوامل مرتبط با زوجه از جمله تعداد و کیفیت اووسیت بازیابی شده در لقاح آزمایشگاهی نیز در نرخ بارداری و پیامد لقاح بسیار مهم است. مسلم است که سن زن هم در کمیت و کیفیت اووسیت و به‌دنبال آن شانس باروری نقش اساسی دارد [۲۸] و شاید معیارهای خاص ورود به این مطالعه از جمله شرط سنی زیر ۳۵ سال برای خانم‌ها و سن زیر ۴۵ سال برای آقایان به میزان زیادی تأثیرگذار بوده‌است [۷]. اگرچه در مطالعاتی به همبستگی مثبت بین DFI و سن آقایان از یک سو و همبستگی منفی آن با بعضی پارامترها همچون تحرک از سوی دیگر اشاره شده‌است [۲۹].در پژوهش حاضر مردان با سن ۲۹ تا ۴۵ سال بر اساس میزان DFI اسپرم گروه‌بندی شدند. گرچه بازه سنی کوچک بود ولی اثر آن در نظر گرفته نشد که به عنوان یکی از محدودیت‌های این پژوهش مطرح است.

علاوه بر این، میزان بارداری نه تنها با DFI اسپرم، بلکه با تعداد تخمک‌های بازیابی شده از شریک زن نیز همبستگی دارد و نشان داده شده که DFI تأثیر بیشتری بر نتایج لقاح آزمایشگاهی در زنان مبتلا به کاهش ذخیره تخمدانی دارد [۳۰]. با استناد به پژوهش‌های گذشته، تخمک قادر به ترمیم قطعه قطعه شدن DNA اسپرم پس از لقاح است [۳۱]. سیستم ترمیم به سازوکار سیتوپلاسمی، ژنومی و کیفیت تخمک بستگی دارد. حتی جنین‌های اولیه هم تا حدودی توانایی ترمیم شکستگی DNA باقیمانده در مرحله قبل از لانه‌گزینی و کلیواژ اولیه را دارند [۳۱]. طبیعی است هرچه تعداد اووسیت بیشتر باشد، سیستم ترمیم قویتر خواهد شد و در نتیجه عواقب نامطلوب شکست DNA کاهش می‌یابد. شاید نوع لقاح انتخابی در این مطالعه و استفاده از تخمک‌های بهتر در لقاح، عدم همبستگی معنادار بین تعداد اووسیت و نرخ بارداری را توجیه کند. همبستگی معنادار و معکوس نرخ بارداری و تا حدودی میزان تشکیل جنین با یکپارچگی DNA اسپرم، اهمیت استفاده از شاخص قطعه قطعه شدن DNA در ارزیابی کیفیت اسپرم نسبت به پارامترهای معمول منی در روشهای کمک باروری را یادآور می‌شود. از این رو، ارزیابی DFI در کنار تجزیه و تحلیل مایع منی برای پیش بینی نتیجه لقاح به روش ICSI توصیه می‌شود. کوچک بودن حجم نمونه که قدرت آماری تحلیل را کاهش می‌دهد، همچنین در نظر نگرفتن سن مردان و عدم مطالعه جنین تا مرحله ۴ سلولی از محدودیت‌های این پژوهش است.

نتیجه گیری

افزایش DFI، تعداد و حرکت روبه‌جلوی اسپرم را کاهش و بی‌تحرکی آن را افزایش می‌دهد، اما بر دیگر پارامترهای اسپرمی تأثیر معناداری ندارد. با توجه به روش انتخابی لقاح، همبستگی این پارامترها و همچنین همبستگی معنادار و معکوس نرخ بارداری و تعداد جنین‌های حاصل با DFI در روش انتخابی لقاح (ISCI)، علاوه بر تأیید توانایی DFI در ارزیابی قدرت باروری مردان، این شاخص به عنوان پیش‌بینی‌کننده خوب پیامدهای بارداری پس از استفاده از روش‌های کمک باروری باید مورد توجه قرار گیرد. از این رو، اندازه‌گیری آن حتی در روش ISCI توصیه می‌شود.

تعارض منافع

همه نویسندگان این مقاله عدم تعارض منافع را اعلام می‌کنند.

ملاحظات اخلاقی

این پژوهش مصوب دانشگاه علوم پزشکی جهرم با کد اخلاق IR.JUMS.REC.1401.100 می باشد.

نویسندگان مقاله مراتب قدردانی و سپاس خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم برای حمایت از این طرح که برگرفته از پایان نامه دکتری است و همچنین کارکنان بیمارستان سیدالشهدا جهرم برای همکاری در انجام عملیات آزمایشگاهی ابراز می‌دارند.

تقدیر و تشکر

References

1. World Health Organization (WHO). WHO Manual for the Laboratory Examination and Processing of Human Semen. 6th ed. WHO press: Geneva Switzerland. 2021.
2. Colasante A, Minasi MG, Scarselli F, Casciani V, Zazzaro V, Ruberti A, et al. The aging male: relationship between male age, sperm quality and sperm DNA damage in an unselected population of 3124 men attending the fertility centre for the first time. Arch Ital Urol Androl 2018; 90 (4): 254-9.
3. Zhou D, Hao J, Guo K, Lu C, Liu X. Sperm quality and DNA damage in men from Jilin Province, China, who are occupationally exposed to ionizing radiation. Genet Mol Res 2016; 15 (1): 1-7.
4. Panner Selvam MK, Ambar RF, Agarwal A, Henkel R. Etiologies of sperm DNA damage and its impact on male infertility. Andrologia 2021; 53 (1): e13706
5. Akhavizadegan H, Yamini N, Musavi AM, Moradi M, Khatami F. Sperm DNA Fragmentation Index in Abortion or in Vitro Fertilization Failure in Presence of Normal Semen Analysis. Prague Med Rep 2023; 124 (2): 166-71.
6. Zheng WW, Song G, Wang QL, Liu SW, Zhu XL, Deng SM, et al. Sperm DNA damage has a negative effect on early embryonic development following in vitro fertilization. Asian J Androl 2018; 20 (1): 75–9 .
7. Chen L, Fang J, Jiang W, Wang J, Li D. Effects of the sperm DNA fragmentation index on the clinical and neonatal outcomes of intracytoplasmic sperm injection cycles. J Ovarian Res 2020; 13: 52.
8. Malić Vončina S, Stenqvist A, Bungum M, Schyman T, Giwercman A. Sperm DNA fragmentation index and cumulative live birth rate in a cohort of 2,713 couples undergoing assisted reproduction treatment. Fertil Steril 2021; 116: 1483–90.
9. Okubo T, Onda N, Hayashi T, Kobayashi T, Omi K, Segawa T. Performing a sperm DNA fragmentation test in addition to semen examination based on the WHO criteria can be a more accurate diagnosis of IVF outcomes. BMC Urol 2023; 23: 78.
10. Sun TC, Zhang Y, Li HT, Liu XM, Yi DX, Tian L, et al. Sperm DNA fragmentation index, as measured by sperm chromatin dispersion, might not predict assisted reproductive outcome. Taiwan J Obstet Gynecol 2018; 57(4): 493–8.
11. Liu K, Mao X, Pan F, Chen Y, An R. Correlation analysis of sperm DNA fragmentation index with semen parameters and the effect of sperm DFI on outcomes of ART. Sci Rep 2023; 13 (1): 2717.
12. Rex A.S, Wu C, Aagaard J, Fedder J. DNA Fragmentation in Human Spermatozoa and Pregnancy Rates after Intrauterine Insemination. Should the DFI Threshold Be Lowered? J. Clin. Med 2021; 10: 1310.
13. Beigi SAD, Khalili MA, Nabi A, Hosseini M, Sarcheshmeh AA, Sabour M. Prolonged semen incubation alters the biological characteristics of human spermatozoa. Clin Exp Reprod Med 2022; 49 (4): 270-6.
14. Nematollahi S, Mehdizadeh M, Hosseini S, Kashanian M, Amjadi FS, Salehi M. DNA integrity and methylation changes of mouse spermatozoa following prolonged incubation. Andrologia 2019; 51:e13276.
15. Towfigh Hasabi S, Razavi S, Mardani M, Nasr Esfahani M.H. Investigating the effectiveness of two density gradient methods (Percoll, Sill-Select) in the separation of bachromatin and normal morphology sperms and the effect of these parameters on fertilization, cleavage coefficient and embryo quality. Cell J (Yakhteh 2002; 4(15). 133-40.
16. Wang Q, Gu X, Chen Y, Yu M, Peng L, Zhong S, et al. The effect of sperm DNA fragmentation on in vitro fertilization outcomes of unexplained infertility. Clinics (Sao Paulo) 2023; 78: 100261.
17. Campos LGA, Requejo LC, Miñano CAR, Orrego JD, Loyaga EC, Cornejo LG. Correlation between sperm DNA fragmentation index and semen parameters in 418 men seen at a fertility center. JBRA Assist Reprod 2021; 25 (3): 349-57.
18. Agarwal A, Sharma R, Gupta S, Finelli R, Parekh N, Panner Selvam MK, et al. Sperm morphology assessment in the era of intracytoplasmic sperm injection: reliable results require focus on standardization, quality control, and training. World J Mens Health 2021; 40:347–60.
19. Del Giudice F, Belladelli F, Chen T, Glover F, Mulloy EA, Kasman AM, et al. The association of impaired semen quality and pregnancy rates in assisted reproduction technology cycles: Systematic review and meta-analysis. Andrologia 2022; 54: e14409.
20. Nie H, Tang Y, Qin W. Beyond acephalic spermatozoa: the complexity of intracytoplasmic sperm injection outcomes. Biomed Res Int 2020; 6279795
21. Majzoub A, Arafa M, El Ansari W, Mahdi1 M, Agarwal A, Al-Said S, Elbardisi H. Correlation of oxidation reduction potential and total motile sperm count: it's utility in the evaluation of male fertility potential. Asian J Androl 2019; 22: 317–22.
22. Deng C, Li T, Xie Y, Guo Y, Yang QY, Liang X, et al. Sperm DNA fragmentation index influences assisted reproductive technology outcome: A

systematic review and meta-analysis combined with a retrospective cohort study. Andrologia 2019; 51(6): e13263.
23. Ribas-Maynou J, Yeste M, Becerra-Tomas N, Aston K.I, James E.R, Salas-Huetos A. Clinical implications of sperm DNA damage in IVF and ICSI: updated systematic review and meta-analysis. Biol Rev Camb Philos Soc 2021; 96 (4): 1284–300.
24. Antonouli S, Papatheodorou A, Panagiotidis Y, Petousis S, Prapas N, Nottola SA, et al. The impact of sperm DNA fragmentation on ICSI outcome in cases of donated oocytes. Arch Gynecol Obstet 2019; 300 (1): 207–15.
25. Zheng WW, Song G, Wang QL, Liu SW, Zhu XL, Deng SM, et al. Sperm DNA damage has a negative effect on early embryonic development following in vitro fertilization. Asian J Androl 2018; 20 (1): 75-9
26. Tesarik J, Greco E, Mendoza C. Late, but not early, paternal effect on human embryo development is related to sperm DNA fragmentation. Hum Reprod 2004; 19 (3): 611–5.
27. Agarwal A, Panner Selvam MK, Baskaran S, Cho CL. Sperm DNA damage and its impact on male reproductive health: a critical review for clinicians, reproductive professionals and researchers. Expert Rev Mol Diagn 2019; 19 (6): 443–57.
28. Zhang Z, Yu C, Chu Z, Heng BC, Tong G, Xia Y. The number of retrieved oocytes is correlated to sperm DNA fragmentation when predicting pregnancy outcomes. Am J Transl Res 2023; 15 (5): 3759-65.
29. Guo LY, Zhou H, Liu M, Li Q, Sun XF. Male age is more critical to sperm DNA integrity than routine semen parameters in Chinese infertile males. Andrologia 2020; 52: e13449.
30. Kawamura K, Ishizuka B, Hsueh AJM. Drug-free in-vitro activation of follicles for infertility treatment in poor ovarian response patients with decreased ovarian reserve. Reprod Biomed Online 2020; 40: 245–53.
31. Ješeta M, Myšková M, Žáková J, Crha I, Crha K, Chmelikova E, et al. Can oocytes repair fragmented DNA of spermatozoa? Med J Cell Biol 2020; 8 (2): 73-7.

Original Article

Correlation of sperm parameters with sperm DNA fragmentation index in infertile men candidate for fertilization by intracytoplasmic sperm injection (ICSI)

Reza Paknejad[1], Farangis Ghasemi[1*], Samaneh Zolghadri Jahormi[1]
Masoumeh Golestan Jahormi[2]

Received:17.09.2024 Revised: 23.04.2024 Accepted: 03.03.2024

1. Department of Biology, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran
2. Department of Advanced Medical Science & Technologies, School of Medicine, Jahrom University of Medical Science, Jahrom, Iran

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.22, No.1, Spring 2024

Pars J Med Sci 2024;22(1):50-60

Abstract:

Introduction: The normal function of sperm depends on maintaining sperm DNA integrity that effects on male fertility. Considering the conflicting information about this issue, this study was conducted with the aim of evaluating the role of DNA fragmentation index (DFI) on male fertility in fertilization by intracytoplasmic sperm injection (ICSI)

Methods & Materials: This cross-sectional study was conducted on 60 infertile male patients participating in artificial insemination (ICSI) in Seyyed al-Shohada hospital in Jahrom. After semen collection and sperm preparation by the density gradient method, sperm parameters were checked, and sperm DFI was measured by sperm chromatin dispersion assay. The patients were divided into three groups with DFI less than 15%, 15 to 30%, and more than 30%. After semen analysis, and fertilization, the fertilization rate and the embryo number were determined. The data were analyzed using descriptive tests, and the correlation of DFI with the sperm parameters and fertilization outcomes was evaluated with Pearson correlation.

Results: The findings were showed a significant decrease ($p<0.05$) in sperm number and its moving forward, and increase in immobility as a result of increasing DFI. According to the results of the correlation coefficient, DFI has an inverse correlation with sperm parameters including the number ($r=-0.48$), forward progression ($r=-0.52$), and fertilization rate ($r=-0.83$), embryos number ($r=-0.35$), and it has direct correlation with sperm immobility ($r=0.47$).

Conclusion: The results, in addition to emphasizing adverse effects of high sperm DFI on men's fertility, it is used in predicting pregnancy outcomes. Therefore, measuring sperm DFI is recommended in ICSI.

Keywords: DNA Fragmentation Index, Seminal Fluid, Sperm Morphology

* Corresponding author Email: ghassemi.fr@gmail.com / ghasemi@jia.ac.ir