فصلنامه (علمی – پژوهشی)
زیست شناسی تکوینی
سال دهم، شماره ۴، پاییز ۱۳۹۷

مقایسه اثر عفونت باکتریایی بر پارامترهای سیمن و نتایج کمک باروری در مردان نابارور

فاطمه قاسمیان[۱] *، شهین اسمعیل‌نژاد[۱]، محمدجواد مهدی‌پور مقدم[۱]

[۱] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم‌پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

* Email: ghasemian@guilan.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۳/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۹/۱۰

چکیده

آنالیز سیمن از مهمترین روش‌هایی است که پتانسیل باروری مردان را منعکس می کند. عوامل بسیاری منجر به ناباروری در مردان می‌شوند، که در میان آنها عفونت‌های باکتریایی ادراری- تناسلی نقش موثری را ایفا می‌کنند. بنابراین این مطالعه جهت ارزیابی شیوع عفونت باکتریایی در میان زوج‌های نابارور متحمل با ناباروری فاکتور مردانه طراحی شده است. سپس اثر باکتریواسپرمی بر پارامترهای پایه‌ای سیمن و نتایج کمک باروری مطالعه شد. در این مطالعه، ۹۸ نمونه سیمن از مردان نابارور مبتلا به ناباروری با فاکتور مردانه جمع‌آوری شد. نمونه‌های سیمن براساس معیارهای سازمان جهانی بهداشت ارزیابی و به چهار گروه ناباروری با فاکتور مردانه تقسیم شدند. حدود ۱-۰/۵ میلی‌لیتر از نمونه‌ها آماده و برای تزریق درون تخمک‌ها استفاده شدند. جهت ارزیابی عفونت باکتریایی، نمونه‌های باقیمانده در کمتر از یک ساعت به آزمایشگاه میکروبیولوژی انتقال داده شد و با استفاده از تکنیک‌های استاندارد باکتریولوژی کشت داده شدند. عفونت‌های باکتریایی مانند اشرشیاکلی (۱۲/۲۴٪) و استافیلوکوکوس ساپروفیتکوس (۲۸/۵۷٪) در ۴۰/۸۱ درصد از نمونه‌های کشت داده شده مشاهده شدند. پارامترهای پایه‌ای سیمن مانند غلظت، حرکت پیشرونده، قابلیت حیات ($p<۰/۰۵$) و مورفولوژی طبیعی ($p<۰/۰۱$) اسپرم در نمونه‌هایی با عفونت باکتریایی کاهش یافت. حاملگی کلینیکی نیز در گروه‌هایی با باکتریواسپرمی کاهش یافت ($p<۰/۰۵$). در مجموع، وجود باکتریواسپرمی می‌تواند پارامترهای پایه‌ای سیمن و متعاقبا نتایج کمک باروری را تحت تاثیر قرار دهد.

کلیدواژه‌ها: اسپرم ، باکتریواسپرمی ، پارامترهای سیمن، تزریق داخل سیتوپلاسمی ، حاملگی کلینیکی.

مقدمه

حدود ۱۵-۱۰ درصد از زوج‌ها در گروه سنی باروری با مشکل ناباروری مواجه هستند [۳] که از این میزان حدود ۴۵-۴۰ درصد از علل ناباروری را فاکتور مردانه شامل می‌شوند [۲۷]. متداول‌ترین عوامل ناباروری/کم‌باروری مردان می‌توان به اختلالات

جنسی، اختلال در انتقال اسپرم، ناهنجاری‌های بیضه‌ای و علل هورمونی اشاره کرد [۲]. این درحالی است که عفونت‌ها/التهابات مسیر ادراری-تناسلی مساله بسیار مهم در اندرولوژی است و تقریبا عامل ۱۵ درصد از موارد ناباروری در مردان هستند [۲۰]. طیف وسیعی از باکتری‌ها با درجات مختلف، در ایجاد ناباروری مردان نقش دارند. به طوریکه عفونت باکتریایی باعث به هم چسبیدن اسپرم (آگلوتیناسیون) می‌شوند، که عدم تحرک اسپرم را به دنبال دارد. یکی از باکتری‌های ایجاد کننده آگلوتیناسیون، باکتری اشرشیاکلی است [۱۶و۲۸]. همچنین مشخص شده است که سد خونی - بیضه ای در اثر عفونت تخریب می‌شود و آنتی‌بادی‌های ضداسپرم و اختلال در عملکرد اسپرم ایجاد می‌شود [۲۳]. وجود این باکتری‌ها از طریق مکانیسم‌های متعددی بر فرایند طبیعی باروری اثر می‌گذارند که می‌توان به موارد زیر اشاره کرد: تخریب در اسپرماتوژنز، کاهش تحرک اسپرم، تغییر در مورفولوژی و واکنش آکروزومی اسپرم، تشکیل رادیکال‌های آزاد که منتج به افزایش فراگمنتاسیون DNA می‌شود، تشکیل آنتی‌بادی‌های آنتی‌اسپرم و انسداد مسیر تناسلی به واسطه التهاب و فیبروز [۱۰و۱۲و۱۷].

مطالعات متعددی به بررسی اثر باکتریواسپرمی بر پارامترهای اسپرم و پتانسیل باروری در مردان پرداخته است. به طوریکه در مطالعه‌ای، ویلواناتان و همکارانش (۲۰۱۶) شیوع باکتریواسپرمی را در میان مردان نابارور بررسی کردند و بیان کردند که وجود باکتریواسپرمی با پارامترهای غیرطبیعی سیمن مرتبط نیست [۲۵]. این در حالی است که بعضی از مطالعات بیان‌کننده اثر منفی باکتریواسپرمی بر باروری است [۶ و ۹]. در مطالعه‌ای گزارش شده است که باکتریواسپرمی به طور معنی‌داری با پارامترهای سیمن مانند تعداد، تحرک و مورفولوژی اسپرم مرتبط است [۹]. کاهش تعدادی از پارامترهای اسپرم مانند تعداد، تحرک، مورفولوژی و بقای اسپرم در حضور اشرشیاکلی گزارش شده است [۹]. همچنین مشاهدات ضدونقیضی در رابطه با تاثیر استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس بر پارامترهای اسپرم گزارش شده است [۸و۹]. در مطالعه‌ای گزارش شده است که در هر دو نمونه سیمن از مردان بارور و نابارور آلودگی‌های باکتری وجود دارد اما میزان تاثیر این آلودگی بر پتانسیل باروری اسپرم هنوز در سایه‌ای از ابهام قرار دارد [۱۹]. بنابراین علی‌رغم مطالعات متعدد در مورد ارتباط بین عفونت‌های باکتریایی و ناباروری مردان، بسیاری از جنبه‌های مهم هنوز بررسی نشده است [۲۲].

تغییر در هریک از پارامترهای اسپرم این سوال را ایجاد می‌کند، آیا فراوانی عفونت‌های باکتریایی در مردانی با فاکتورهای مختلف ناباروری متفاوت است؟ و آیا این عفونت‌ها می‌تواند بر پتانسیل باروری مردانی که تحت درمان با روش‌های کمک باروری قرار می‌گیرند، تاثیر بگذارد؟ جهت پاسخ به این سوالات، در این مطالعه سعی شده است که شیوع باکتریواسپرمی را در مردان نابارور با فاکتورهای مختلف ناباروری (نرموزواسپرمی، آستنوزواسپرمی، تراتوزواسپرمی و الیگوآستنوتراتوزواسپرمی) بررسی شود. در ادامه اثر باکتریواسپرمی بر پارامترهای متداول سیمن در هر گروه ارزیابی و میزان لقاح در هر یک از گروه‌ها به دنبال تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم مقایسه می‌گردد.

مواد و روش‌ها

بیماران

این یک مطالعه توصیفی-تحلیلی است که در آن نمونه‌های سیمن از تعداد ۹۸ نفر از مردان مراجعه‌کننده با ناباروری فاکتور مردانه به مرکز درمان ناباروری الزهرا (رشت) با میانگین سنی ٤/٠٦ ± ٣٣/٤ سال از اردیبهشت تا آذر سال ١٣٩٦ مورد بررسی قرار گرفت. رضایت آگاهانه از تمامی زوج‌های شرکت‌کننده در این مطالعه کسب شد. آنالیز استاندارد مایع سمینال در مرکز درمان ناباروری (IVF) مطابق با معیارهای سازمان جهانی بهداشت (WHO) انجام شد [۲۹] و تنها نمونه‌هایی با ناباروی فاکتور مردانه وارد مطالعه شدند. افراد وارد شده در مطالعه به مدت یک هفته قبل از شروع سیکل درمان ناباروری، آنتی‌بیوتیک دریافت نکرده بودند. نمونه‌های سیمن در کمتر از یک ساعت به آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه گیلان منتقل شد و از نظر آلودگی میکروبی و لکوسیتواسپرمی (وجود سلول‌های سفید خون در نمونه‌های سیمن) ارزیابی شدند. کشت مایع سیمن افراد شرکت‌کننده در مطالعه، برای تشخیص عفونت‌های میکروبی، باکتریایی و قارچی انجام شد.

آنالیز مایع سیمن

پس از گذشت ۳ تا ٤ روز از عدم مقاربت در مردان نابارور مراجعه‌کننده به بیمارستان، نمونه مایع سیمن طی آموزش صحیح نمونه گیری به افراد، با جمع‌آوری مایع انزال در ظروف استریل گردآوری شد. پس از گذشت ۱۵ دقیقه جهت مایع شدن نمونه، آنالیز پارامترهای اسپرم مانند حجم، تعداد، تحرک، مورفولوژی، قابلیت حیات و pH بر اساس استانداردهای WHO انجام شد [۲۹]. برای شمارش تعداد و تحرک اسپرم از لام نئوبار و برای ارزیابی قابلیت حیات از رنگ‌آمیزی تولوئیدین‌بلو استفاده گردید. مورفولوژی اسپرم با استفاده از رنگ‌آمیزی پاپانیکولا بررسی شد [۱۸]. سپس براساس نتایج ارزیابی‌ها، نمونه‌های سیمن به گروه‌های مختلف نرموزواسپرمی (غلظت اسپرم بالاتر از ۱۵ میلیون در هر میلی‌لیتر سیمن، مورفولوژی طبیعی بالاتر از ٤ درصد و تحرک بالاتر از ۳۲ درصد)، تراتوزواسپرمی (مورفولوژی طبیعی اسپرم کمتر از ٤ درصد)، آستنوزواسپرمی (تحرک اسپرم کمتر از ۳۲ درصد) و الیگوآستنوتراتوزواسپرمی (غلظت اسپرم کمتر از ۱۵ میلیون در هر میلی‌لیتر سیمن، مورفولوژی طبیعی کمتر از ٤ درصد و تحرک کمتر از ۳۲ درصد) تقسیم شدند [۲۹].

آنالیز میکروبی

ابتدا نمونه‌های سیمن با آب مقطر استریل رقیق شدند و سپس سانتریفیوژ گردیدند. با استفاده از سرسمپلر استریل مقدار ۳۰ میکرولیتر از محلول رویی به سه محیط کشت افتراقی بلاد آگار، شکلات آگار و سابرودکستروزآگار اضافه گردید (جدول ۱). محیط شکلات آگار در جار بیهوازی و محیط‌های بلاد آگار و سابرودکستروزآگار به مدت ٢٤ تا ٤٨ ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شدند. در مواردی که تعداد کلنی‌ها بیشتر از (colony-forming unites/ml) 10^3 CFU/ml مشاهده شد، شناسایی و با مقاومت آنتی‌بیوتیکی آزمایش شدند. بدین صورت که جهت تشخیص هویت کلنی‌های باکتری مشاهده شده، رنگ‌آمیزی گرم انجام شد. سپس، بعد از مشاهده لام رنگ‌آمیزی شده و بررسی مورفولوژی آن؛ تست‌های تشخیصی برای کلنی‌های گرم مثبت برحسب کوکسی و باسیل بودن اجرا شد. سپس تست کاتالاز برای

کوکسی گرم مثبت گذاشته شد. کلنی‌های مثبت بعد از تست کاتالاز به عنوان استافیلوکوک و کاتالاز منفی به عنوان استرپتوکوک در نظر گرفته شدند. همچنین کلنی‌ها روی محیط‌های TSI (Triple sugar iron agar) و EMB (Eosin methylene blue) کشت داده شدند. بعد از مشاهده واکنش‌های بیوشیمیایی و افتراقی روی این محیط‌ها انواع دیگر باکتری مشخص شدند. بنابراین براساس نتایج آنالیز میکروبی مایع سیمن، نمونه‌های بدون لکوسیتواسپرمی (به دنبال ارزیابی با تست پراکسیداز) به دو گروه با عفونت باکتریایی و بدون عفونت باکتریایی تقسیم شدند. تعداد کلنی‌های بیشتر یا مساوی 10^4 CFU/mL، به عنوان کشت باکتریایی مثبت در نظر گرفته شد.

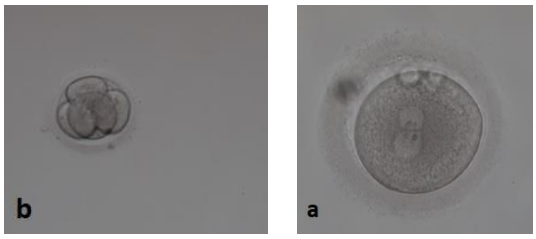
جدول ۱. محیط کشت، شرایط و مدت زمان انکوباسیون برای نمونه های سیمن

میکروارگانیسم‌ها	محیط کشت	شرایط	مدت (ساعت)
باکتری‌های هوازی	بلاد آگار	هوازی	۲٤
قارچ	سابرودکستروزآگار	هوازی	٤۸
سایرین	شکلات آگار	٪۵ CO_2	٤۸

روش لقاح آزمایشگاهی

با در نظر گرفتن پارامترهای اسپرم (نرموزواسپرمی، آستنوزواسپرمی، الیگوآستنوتراتوزواسپرمی و تراتوزواسپرمی)، تخمک‌های برداشت شده انسان مطابق با روش ایکسی (Intractytoplasmic Sperm Injection: ICSI) تزریق شدند. تزریق با استفاده از میکروسکوپ معکوس (Olympus IX70, Tokoyo, Japan) انجام شد. تخمک‌های تزریق شده به محیط کشت $G1^{PLUS}$ (Vitrolife Co., Sweden) منتقل و در یک محیط مرطوب با ۵٪ CO_2 و دمای ۳۷ °C انکوبه شدند. محیط $G1^{PLUS}$ یک محیط‌کشت اختصاصی برای تخمک‌های تزریق شده و جنین است. ارزیابی لقاح در ۱٦–۱۸ ساعت بعد از تزریق با مشاهده دو پیش هسته (Two Pronucleus: 2PN) صورت گرفت (شکل a–۱). دو تا سه روز پس از لقاح، جنین‌ها ارزیابی و میزان تکوین جنین براساس مشاهده میزان کلیواژ و کیفیت جنین‌ها بررسی شد (شکل b–۱).

انتقال جنین‌های مناسب به داخل رحم انسان در سومین روز بعد از ایکسی اجرا شد. حاملگی بیوشیمیایی با افزایش غلظت بتای سرم (Beta-human chorionic gonadotropin: B-hCG) در ١٤ روز بعد از انتقال جنین تعیین شد. مشاهده کیسه آمنیون همراه با ضربان قلب در ۳ هفته بعد از انتقال جنین با استفاده از سونوگرافی (HS-4000, Japan) در بیمارستان الزهرا رشت به عنوان حاملگی کلینیکی درنظر گرفته شد.



شکل ۱. a: تخمک لقاح یافته با مشاهده دوپیش هسته (بزرگنمایی ۱۵۰×)، b: جنین در مرحله کلیواژ (٤ سلولی) در روز دوم بعد از لقاح (بزرگنمایی ۱۰۰×).

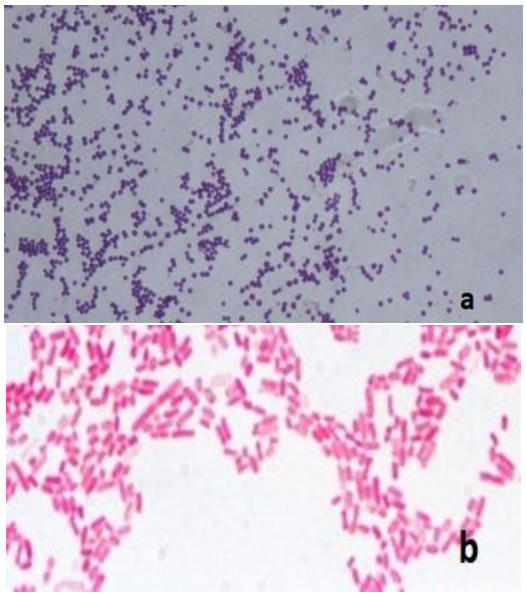
آنالیز آماری

با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون χ^2 ارتباط بین متغیرها بررسی شد. $p<۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد. در این مطالعه حجم نمونه با استفاده از فرمول کوکران به دست آمد. سطح اطمینان ٪۹۵، درصد خطای ۰/۰۵ و جمعیت ۱۳۰ نفری که به طور متوسط در سال به مرکز درمان ناباروی الزهرا

مراجعه می‌کنند در نظر گرفته شد و حجم نمونه ۹۸ به دست آمد.

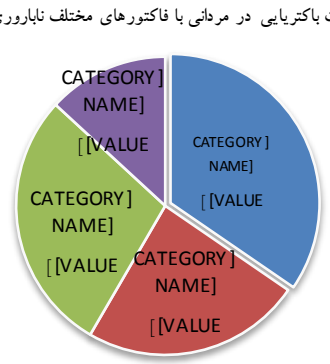
یافته‌ها

در این مطالعه، ۹۸ زوج نابارور مراجعه‌کننده به مرکز درمان ناباروری الزهرا رشت در سال ۱۳۹۶ مورد بررسی قرار گرفتند. میانگین سن افراد مورد مطالعه، ٤/٠٦ ± ٣٣/٤ سال بود. از بین ۹۸ مرد مراجعه‌کننده، ٤٠ (٤٠/٨١ درصد) مورد عفونت باکتریایی داشتند. ۲۸ مورد (۲۸/۵۷ درصد) کوکوس گرم مثبت بودند که با آزمون‌های افتراقی بیوشیمیایی و آنتی‌بیوگرام (آزمایش‌های حساسیت دارویی)، استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس تشخیص داده شدند و ۱۲ مورد (۱۲/۲٤ درصد) کوکوباسیل گرم منفی بوده که با آزمون‌های افتراقی بیوشیمیایی و آنتی‌بیوگرام، *اشرشیاکلی* تشخیص داده شدند (شکل ۲).



شکل ۲. a: باکتری استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس با استفاده از رنگ آمیزی گرم مثبت، b: باکتری E.coli با استفاده از رنگ آمیزی گرم منفی (بزرگنمایی ۱۰۰×).

بررسی فراوانی عفونت باکتریایی در مردان نابارور با فاکتورهای مختلف ناباروری (آستنوزواسپرمی، نرموزواسپرمی، تراتوزواسپرمی و الیگوآستنوتراتوزواسپرمی) نشان داد که بیشترین فراوانی عفونت باکتریایی مربوط به نمونه‌های الیگوآستنوتراتوزواسپرمی (٥٧/١٤٪) و کمترین فراوانی مربوط به نمونه‌های نرموزواسپرمی (٢١/٧٣٪) است (شکل ۳) ($p<۰/۰۱$).



شکل ۳. فراوانی عفونت باکتریایی در مردان با فاکتورهای مختلف ناباوری. بیشترین درصد عفونت باکتریایی در فاکتور ناباروری الیگوآستنوتراتوزواسپرمی مشاهده شد ($p<۰/۰۱$).

پارامترهای متداول اسپرم برای همه گروه‌های مطالعه شده در جدول ۲ مشاهده می‌شود. تفاوت معنی‌داری در حجم سیمن در میان گروه‌ها مشاهده نشد. درحالیکه نتایج اختلاف معنی‌داری در مورفولوژی ($p<۰/۰۱$) و قابلیت حیات ($P<۰/۰۵$) اسپرم بین نمونه‌های مبتلا به باکتریواسپرمی و غیرباکتریواسپرمی نشان می دهد. همچنین تحرک روبه جلوی اسپرم در گروه باکتریواسپرمی در مقایسه با غیرباکتریواسپرمی تفاوت معنی‌دار نشان داد ($P<۰/۰۵$). اگرچه بین میانگین تعداد اسپرم در نمونه‌های سالم و باکتریواسپرمی تفاوت وجود داشت، اما این تفاوت معنی‌دار نبود.

جدول ۲. پارامترهای استاندارد سیمن در گروه‌های با و بدون عفونت باکتریایی

پارامترهای سیمن	گروه کنترل (تعداد= ۵۸)	باکتریواسپرمی (تعداد= ٤٠)
حجم (میلی‌لیتر)	۳/۰۵±۱/۷	۳/۰۸±۱/۹
pH	۷/۹±۰/۱	۷/۹±۰/۳
غلظت اسپرم (10^6 در هر میلی‌لیتر)	۹٦±۳۹/٦	۸۹±۵۲/٦
حرکت روبه جلوی اسپرم (٪)	۵۹/۵±۹/۷٦	۳۸/۸۹±۱٦/۱۲[a]
تحرک کلی اسپرم (٪)	٦۵/٤±۸/۱۷	۵۹/۵±۱۸/۱٤
قابلیت حیات اسپرم (٪)	۸۵/۰۷±۱۱/۸۷	٦۷/۱۱±۱۵/۱۸[a]
اسپرم با مورفولوژی طبیعی (٪)	۳۵/۳±۱۰/۵٤	۱٤/۱۵±۸/۱۹[b]

تفاوت معنی‌داری در غلظت، حرکت پیشرونده، قابلیت حیات و مورفولوژی طبیعی اسپرم بین گروه کنترل و گروه با آلودگی باکتریایی وجود دارد. P value: a<۰/۰۵ و b< ۰/۰۱

نتایج حاصل از تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم در گروه‌های مختلف در جدول ۳ خلاصه شده است. نتایج نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری در میزان لقاح تخمک و میزان تکوین جنین در گروه‌های مختلف وجود ندارد (p>۰/۰۵). درحالیکه میزان حاملگی کلینیکی در نمونه‌های آلوده با باکتری در زوج‌های نابارور با فاکتورهای مختلف ناباروری (آستنوزواسپرمی، تراتوزواسپرمی و الیگو آستنوتراتوزواسپرمی) (p<۰/۰۵) و گروه نرموزواسپرمی (p<۰/۰۱) در مقایسه با گروه‌های بدون آلودگی باکتریایی به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. این نتایج می‌تواند بیان‌کننده این مطلب باشد که کیفیت پایین نمونه‌های سیمن آلوده به باکتری در نتایج تکنیک‌های کمک باروری منعکس می‌شود.

تفاوت معنی‌داری در میزان حاملگی کلینیکی بین نمونه‌های با (گروه ۱) و بدون (گروه ۲) عفونت باکتریایی در گروه‌هایی با فاکتورهای ناباروری نرموزواسپرمی (گروه I)، تراتوزواسپرمی (گروه II)، آستنوزواسپرمی (گروه III) و الیگوآستنوتراتوزواسپرمی (گروه IV) وجود دارد. P value: a<۰/۰۵ و b< ۰/۰۱

جدول ۳. ارزیابی نتایج کلینیکی در زوج‌هایی با فاکتورهای مختلف ناباروری مردانه همراه با عفونت باکتریایی

		گروه I (تعداد= ۲٤)	گروه II (تعداد= ۳٤)	گروه III (تعداد= ۱۸)	گروه IV (تعداد= ۲۲)
میزان لقاح (٪)	گروه ۱	۷۸/۳	۷۳/۵	٦۹/۵	۵۰/٦
	گروه ۲	۸۰/٦	۷۳/٤	۷۸/۱	۵٦/۵
میزان تکوین (٪)	گروه ۱	۸۱/۱	۷۵/۹	۸۳/۵	۷۵/٤
	گروه ۲	۸۰/٦	۷۹/٤	۹۲/۱	۷۵/٤
میزان حاملگی کلینیکی (٪)	گروه ۱	۱۸/۱[b]	۱٦/٦[a]	۲۵[a]	۱۱/۱[a]
	گروه ۲	۳۳/۳	۲۸/۵	۳۳/۳	۲۷/۲

بحث

این مطالعه به بررسی میزان شیوع عفونت باکتری در نمونه‌های سیمن مردان نابارور و اثر آن بر نتایج تکنیک‌های کمک باروری در مرکز درمان ناباروری (IVF) انجام شد. نتایج این مطالعه نشان داد که دو گونه باکتری یعنی اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس بیشترین فراوانی را در نمونه‌های سیمن مردانی با فاکتور ناباروری الیگوآستنوتراتوزواسپرمی داشتند. وجود این دو باکتری باعث تاثیر منفی بر روی مورفولوژی، تحرک رو به جلو و قابلیت حیات اسپرم‌ها دارد. از آنجاییکه این باکتری‌ها از مهمترین عوامل ایجادکننده ناباروری در مردان به شمار می‌آیند نتایج کلینیکی نمونه‌های آلوده به این باکتری‌ها دنبال شد. به طوریکه نتایج نشان داد که میزان حاملگی کلینیکی در این نمونه‌ها کمتر از حالت طبیعی است.

گزارش شده است که رنج وسیعی از ۱۵ تا ۷۰ درصد باکتریواسپرمی در نمونه‌های سیمن افراد کم‌بارور و نابارور وجود دارد. همچنین این مطالعه گزارش داد که باکتری دارای اثرات توکسیک بالا بر سلول های اسپرم است [۵]. هولمس و همکارانش نشان دادند که اشرشیاکلی یکی از مهمترین عفونت‌های دستگاه ادراری–تناسلی در مردان است و می‌تواند پارامترهای اسپرم مانند تحرک و متابولیسم را تغییر دهد و میزان مرگ اسپرم را در خارج از بدن تا ۸۰ درصد افزایش دهد [۷]. در مطالعه‌ای دیگر گزارش شد که عفونت باکتریایی در ۱۵ درصد از سیمن افراد بارور و ۳۶٪ از مردان نابارور وجود دارد [۱۴]. مطالعات توسط مرینو و همکاران نشان داد که بیشترین عفونت باکتریایی در سیمن مربوط به استافیلوکوکوس (۶۴٪) است و وجود باکتری‌ها در سیمن اثرات نامطلوب بر کیفیت سیمن دارد و احتمال آزواسپرمی را افزایش می‌دهد [۱۵].

مطالعات محدودی نشان می‌دهد که باکتری‌ها، مخمرها و پرتوزوآ ممکن است به طور مستقیم با اسپرم برهمکنش دهد. این برهمکنش‌ها منتج به اتصال بین باکتری و اسپرم می‌شود و آگلوتیناسیون و تغییرات مورفولوژیکی در اسپرم رخ می‌دهد. یکی از این گونه‌های پاتوژن شناخته شده اشرشیاکلی است [۱۱]. مرینو و همکارانش نشان دادند که تحرک و بقای اسپرم در نمونه‌های سیمن آلوده به میکروارگانیسم‌ها کمتر است [۱۵].

نقش گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در بیولوژی سلول اسپرم انکارناپذیر است. در سطوح کم، ROS نقش فیزیولوژیکی مهمی در فعال‌سازی بیش از حد اسپرم، ظرفیت‌یابی و واکنش آکروزومی ایفا می‌کند. اما در سطوح بالاتر، آنها منجر به استرس اکسیداتیو می‌شوند و پتانسیل لقاح اسپرم را محدود می‌سازد که منجر به آسیب پراکسیداتیو ماکرومولکول‌های سلولی می‌شوند [۱]. مطالعات نشان می‌دهد که عدم تعادل بین میزان ROS و آنتی‌اکسیدان‌های موجود در سیمن منجر به ناهنجاری‌هایی در اسپرم می‌شود که در آنالیز روتین سیمن قابل مشاهده است و ممکن است با پاتولوژی مسیر تناسلی مردان مانند عفونت‌ها و التهابات مسیر ادراری–تناسلی مرتبط باشد [۴ و۲۱]. گزارش شده است که باکتری‌ها به واسطه متابولیت‌های سمی خود تولید ROS را افزایش می‌دهد و به عنوان منبع اصلی ROS در عفونت‌های باکتریایی سیمن محسوب می‌شوند [۲۶]. بنابراین در این مطالعه با توجه به تغییراتی که در کیفیت پارامترهای سیمن آلوده به باکتری و نتایج کلینیکی حاصل از این نمونه‌ها مشاهده شد، می‌توان استنباط

کرد که افزایش استرس اکسیداتیو به واسطه عفونت باکتریایی می‌تواند پتانسیل باروری اسپرم را کاهش دهد.

همچنین احتمال آسیب به ساختار درون سلول و DNA اسپرم در عفونت‌های باکتریایی وجود دارد [۲۴]، لذا بررسی تاثیر آن بر روی مسیر کلینیکی و نتایج لقاح در شرایط آزمایشگاهی را می‌توان بسیار مهم و مفید دانست و با توجه به بررسی‌های صورت گرفته این مطالعه برای اولین بار به بررسی تاثیر عفونت‌های باکتریایی سیمن بر نتایج کلینیکی تکنیک‌های کمک باروری (IVF) پرداخته است.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که بیشتر نمونه‌های سیمن در مردان نابارور آلودگی باکتریایی دارند که بر مورفولوژی، تحرک روبه جلو و قابلیت حیات اسپرم تاثیر منفی دارد. این آلودگی‌ها شامل گونه‌های استافیلوکوکوس و اشرشیاکلی بودند که می‌تواند حتی نتایج لقاح آزمایشگاهی را تحت تاثیر قرار دهد. با توجه به بررسی‌های صورت گرفته، این اولین گزارش از تاثیر آلودگی باکتریایی استافیلوکوک و اشرشیاکلی بر نتایج کلینیکی مانند لقاح، میزان تکوین جنین و حاملگی در شرایط آزمایشگاهی است. لذا تجویز آنتی‌بیوتیک مناسب توسط پزشک و رفع عفونت میکروبی و برگشت کیفیت اسپرم به حالت طبیعی می‌تواند باعث بهبود نتایج تکنیک‌های کمک باروری در مردان نابارور و کم‌بارور شود. همچنین با توجه به شیوع بالای این آلودگی‌ها، گذاشتن تست‌های میکروبی برای مردان نابارور می‌تواند در جهت درمان مفید واقع شود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاران مرکز درمان ناباروری (IVF) بیمارستان الزهرا(س) رشت که در تهیه نمونه‌های سیمن همکاری لازم را داشتند و همچنین از خانم میرداودی بخاطر همکاری در آزمایشگاه میکروبیولوژی کمال تشکر و قدردانی می‌شود.

این یک طرح تحقیقاتی است که با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه گیلان انجام شده است (کد طرح: ۱۳۲۹).

References

[1] Aitken R.J., Smith T.B., Jobling M.S., Baker M.A., De Iuliis G.N. 2014, Oxidative stress and male reproductive health. Asian J Androl, 16:31–38.

[2] Anawalt B.D. 2013, Approach to male infertility and induction of spermatogenesis. J Clin Endocrinol Metab, 98: 3532-3542.

[3] Deka P.K., Sarma S. 2010, Psychological aspects of infertility. BJMP, 3(3): a336

[4] Du Plessis S.S., Agarwal A., Halabi J., Tvrda E. 2015, Contemporary evidence on the physiological role of reactive oxygen species in human sperm function. J Assist Reprod Genet, 32: 509–520.

[5] Fraczek M., Hryhorowicz M., Gill K., Zarzycka M., Gaczarzewicz D., Jedrzejczak P., Bilinska B., Piasecka M., Kurpisz M. 2016, The effect of bacteriospermia and leukocytospermia on conventional and nonconventional semen parameters in healthy young normozoospermic males. J Reprod Immunol, 118: 18-27.

[6] Golshani M., Taheri S., Eslami G., SuleimaniRahbar A.A., Fallah F., Goudarzi H. 2006, Genital tract infection in asymptomatic infertile men and its effect on semen quality. Iranian Journal of Public Health, 35:81–84.

[7] Holmes K., Berger R., Alexander E. 1979, Acute epididymitis: Etiology and therapy. Arch Androl, 3:309-316.

[8] Huwe P., Diemer T., Ludwig M., Li J., Schiefer H.G., Weidner, W. 1998, Influence of different uropathogenic microorganisms on human sperm motility parameters in an in vitro experiment. Andrologia, 30: 55-59.
[9] Isaiah I.N., Nche B.T., Nwagu I.G., Nnanna I.I. 2011, Current studies on bacteriospermia the leading cause of male infertility: a prot´eg´e and potential threat towards mans extinction. N Am J Med Sci, 3: 562–564.
[10] Jarow J.P., Kirkland Jr J.A., Assimos D.G. 1990, Association of antisperm antibodies with chronic nonbacterial priostatitis. Urology, 36:154–156.
[11] Kaur K., Prabha V. 2014, Sperm agglutinating Escherichia coli and its role in infertility: In vivo study. Microbial pathogenesis, 69-70: 33-38.
[12] Keck C., Gerber-Sch¨afer C., Clad A., Wilhelm C., Breckwoldt M. 1998, Seminal tract infections: impact on male fertility and treatment options. Hum Reprod Update, 4:891–903.
[13] Kohn F.M., Erdmann I., Oeda T., EI Mulla K.F., Schiefer H.G., Schill W.B. 1998, Influence of urogenital infections on sperm functions. Andrologia, 30:73-80.
[14] McGowan M., Burger H., Baker H., Kretser D., Kovacs G. 1981, The incidence of non-specific infection in the semen in fertile and sub-fertile males. Int J Androl, 4:657-662.
[15] Merino G., Carranza-Lira S., Murrieta S., Rodriguez L., Cuevas E., Moran C. 1995, Bacterial infection and semen characteristics in infertile men. Arch Androl, 35:43-47.
[16] Monga M., Roberts J.A. 1994, Sperm agglutination by Bacteria: Receptor-specific Interactions. J Androl, 15:151-156.
[17] Moustafa M.H., Sharma R.K., Thorntonetal J. 2004, Relationship between ROS production, apoptosis and DNA denaturation in spermatozoa from patients examined for infertility. Hum Reprod, 19:129–138.
[18] Nabi A., Khalili M., Halvaei I., Roodbari F. 2014, Prolonged incubation of processed human spermatozoa will increase DNA fragmentation. Andrologia, 46:374-379.
[19] Ombelet W., Bosnians E., Janssenetа M. 1997, Semen parameters in a fertile versus subfertile population: a need for change in the interpretation of semen testing. Hum Reprod, 12: 987–993.
[20] Pellati D., Mylonakis I., Bertoloni G., Fiore C., Andrisani A., Ambrosini G., Armanini D. 2008, Genital tract infections and infertility. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 140:3-11.
[21] Sahnoun S., Sellami A., Chakroun N., Mseddi M., Attia H., Rebai T., Lassoued S. 2017, Human sperm Toll-like receptor 4 (TLR4) mediates acrosome reaction, oxidative stress markers, and sperm parameters in response to bacterial lipopolysaccharide in infertile men. J Assist Reprod Genet, 34: 1067-1077.
[22] Stojanov M., Baud D., Greub G., Vulliemoz N. 2018, Male infertility: the intracellular bacterial hypothesis. New Microbes New Infect, 26: 37–41.
[23] Svenstrup H.F., Fedder J., Kristoffersen S.E., Trolle B., Birkelund S., Christiansen G. 2008, Mycoplasma genitalium, chlamydia trachomatis, and tubal factor infertility-a prospective study. Fertil Steril, 90: 513-520.
[24] Talebi A., Vahidi S., Aflatoonian A., Ghasemi N., Ghasemzadeh J., Firoozabadi R., Moein M.R. 2012, Cytochemical evaluation of sperm chromatin and DNA integrity in couples with unexplained recurrent spontaneous abortions. Andrologia, 44: 462-470.
[25] Vilvanathan S., Kandasamy B., Jayachandran A.L., Sathiyanarayanan S., Tanjore Singaravelu V., Krishnamurthy V., Elangovan V. 2016, Bacteriospermia and Its Impact on Basic Semen Parameters among Infertile Men. Interdiscip Perspect Infect Dis, 2016: 2614692.
[26] Wang A., Fanning L., Anderson D.J., Loughlin K.R. 1997, Generation of reactive oxygen species by leukocytes and sperm following exposure to urogenital tract infection. Arch Androl, 39:11–17.
[27] Weng S.L., Chiu C.M., Lin F.M., Huang W.C., Liang C., Yang T., Yang T.L., Liu C.Y., Wu W.Y., Chang Y.A., Chang T.H., Huang H.D. 2014, Bacterial communities in semen from men of infertile couples: metagenomics sequencing reveals

relationships of seminal microbiota to semen quality. PLoSONE, 9: e110152.

[28] Wølner-Hanssen P., Mårdh P. 1984, In vitro tests of the adherence of Chlamydia trachomatis to human spermatozoa. Fertil Steril, 42:102-107.

[29] World Health Organization. 2010, WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen. 5th ed. Geneva: World Health Organization, 271.