

تأثیر انجماد اسپرم بر بیان miRNAs و ارتباط آن‌ها با پارامترهای اسپرمی در مردان اولیگوآستنوترا توزو اسپرمی

علی ایزدپناه^{۱*}، منیره محمودی^۲، راحیل جنتی^۳

۱- کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اراک، اراک، ایران

۲- استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اراک، اراک، ایران

۳- دکتری، گروه بیولوژی تولید مثل، مرکز آموزشی، فرهنگی و تحقیقاتی، جهاد دانشگاهی واحد قم، قم، ایران

علی ایزدپناه: aliizadpanah22@gmail.com

چکیده

هدف: اگر چه انجماد اسپرم یک روش رایج برای حفظ باروری می‌باشد، اما ممکن است با تغییر بیان رونوشت‌های miRNAs بر روند اسپرم‌زایی و ناباروری مردان تأثیر بگذارند. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط بیان miRNAs 34c (mir 34C) و miRNAs 15b (mir15b) با پارامترهای اسپرمی در افراد نابارور اولیگوآستنوترا توزو اسپرمی در طی فرایند انجماد اسپرم بود. مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۲۵ نمونه اسپرم اولیگوآستنوترا توزو اسپرمی از افراد مراجعه‌کننده به مرکز درمان ناباروری قم جمع‌آوری شد. هر نمونه به دو گروه غیرمنجمد (شاهد) و منجمد تقسیم شد. پس از انجماد سریع و نگهداری سه روزه در نیتروژن مایع، نمونه‌ها در آب لوله‌کشی ذوب شدند و به مدت ۲ ساعت در انکوباتور CO₂ انکوبه شدند. با استفاده از معیارهای WHO، پارامترهای اسپرم مورد ارزیابی قرار گرفت. میزان بیان miRNAها (34c و 15b) با تکنیک Real-time PCR ارزیابی شد. نتایج با روش اندازه‌گیری‌های مکرر ANOVA تجزیه و تحلیل و اختلاف در سطح ($P < 0.05$) معنی‌داری در نظر گرفته شد. یافته‌ها: بیان miRNAs 34c کاهش و miRNAs 15b افزایش معنی‌داری در گروه انجمادی نسبت به گروه تازه نشان داد ($P \leq 0.05$). کاهش معنی‌داری در غلظت، تحرک کل و مورفولوژی اسپرم در گروه انجماد در مقایسه با گروه تازه وجود داشت ($P \leq 0.05$). کاهش سطح GPx، SOD و TAC و افزایش سطح MDA و قطعه قطعه شدن DNA در طی فرآیند انجماد-ذوب در الیگوآستنوترا توزو اسپرمی مشاهده شد ($P \leq 0.05$). غلظت، تحرک و مورفولوژی اسپرم و همچنین عوامل استرس اکسیداتیو و یکپارچگی DNA با میزان بیان miRNAها (34c و 15b) همبستگی داشت ($P \leq 0.05$). نتیجه‌گیری: مطالعه ما نشان داد که انجماد اسپرم می‌تواند بیان miRNAها که می‌توانند در کیفیت اسپرم دخیل باشند را تغییر دهد. این RNAهای غیرکدکننده ممکن است به‌عنوان نشانگر زیستی باروری برای توسعه استراتژی‌های انجماد-ذوب شناخته شوند.

واژه‌های کلیدی: اسپرم، miRNA، انجماد



Effect of sperm cryopreservation on miRNAs expression and their correlation with sperm parameters in oligoasthenoteratozoospermia men

Ali Izadpanah^{1*}, Monireh Mahmoodi², Rahil Jannatifar³

1- M.Sc, Department of Biology, Faculty of Science, Arak University, Arak, Iran

2- Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Arak University, Arak, Iran

3- Ph.D, Department of Reproductive Biology, Academic Center for Education, Culture and Research, Qom Branch, Qom, Iran

Ali Izadpanah: aliizadpanah22@gmail.com

Introduction: Although sperm cryopreservation is a common method to preserve fertility, it may affect spermatogenesis and male infertility by changing the expression of miRNA transcripts. This study aimed to investigate the relationship between the expression of miRNAs 34c (mir 34C) and miRNAs 15b (mir15b) with sperm parameters in infertile oligoasthenoteratozoospermia men during the sperm freezing-thawing process.

Methods and Materials: In this experimental study, 25 semen samples in terms of oligoasthenoteratozoospermia parameters were collected from individuals referred to Infertility Treatment Center Qom. Each sample was divided into two, non-frozen (Fresh) and frozen groups. After rapid freezing and three-day storage in liquid nitrogen, samples were thawed in tap water and incubated for 2 hours in a CO2 incubator. Sperm parameters were evaluated using WHO criteria. The expression level of miRNAs (34c and 15b) was assessed by Real-time PCR technique. The results were analyzed by repeated measures ANOVA and the difference was considered significant at the level ($p < 0.05$).

Results: The expression of miRNAs 34c decreased and miRNAs 15b increased significantly in the frozen group compared to the fresh group ($P \leq 0.05$). There was a significant decrease in sperm concentration, total motility, and morphology in the frozen group compared to the fresh group ($P \leq 0.05$). A decrease in the level of GPx, SOD, and TAC and an increase in the level of MDA and DNA fragmentation were observed during the freeze-thaw process in oligoasthenoteratozoospermia. ($P \leq 0.05$). Sperm concentration, motility, and morphology as well as oxidative stress factors and DNA integrity were correlated with the expression level of miRNAs (34c and 15b) ($P \leq 0.05$).

Conclusion: Our study suggested that cryopreservation of sperm can change the expression of miRNAs that can be involved in sperm quality. These non-coding RNAs may be considered fertility biomarkers for developing freeze-thaw strategies.

Keywords: Sperm, miRNAs, Cryopreservation

