JAMS
Journal of Arak University of Medical Sciences
2019; 22(1)
Journal Homepage: http://jams.arakmu.ac.ir

REVIEW ARTICLE

Study of Sperm Chromatin in Infertile Men with Globozoospermia: A Systematic Review Article

Marziyeh Tavalaee [1], Nasim Eskandari [1], Mohammad Hossein Nasr-Esfahani [1, 2*]

1. Department of Reproductive Biotechnology, Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Biotechnology, ACECR, Isfahan, Iran.

2. Isfahan Fertility and Infertility Center, Isfahan, Iran.

ARTICLE INFORMATION

Article history

Received: *26 September 2018*

Accepted: *26 January 2019*

Published online: *20 April 2019*

Keywords

Aneuploidy

DNA Damage

Protamine

Teratozoospermia

**** Corresponding Author:***

Mohammad Hossein Nasr-Esfahani; P.O. Box 8165131378, Royan Institute for Biotechnology, ACECR, Royan Institute, Royan Street, Salman Ave, Khorasgan Square, Jey Ave, Isfahan, Iran.

Fax: *+98 31 9501 5687*

Email:

mh.nasr-esfahani@royaninstitute.org

ABSTRACT

Background and Aim: Globozoospermia is a severe sperm morphological abnormality in men that characterized by round-headed spermatozoa with low or absence acrosome structure in their sperm samples. In these men, high level of DNA damage and abnormal chromatin packaging also were reported. These deficiencies can consider as the main etiologies of infertility in these infertile men. The aim of this article is to study the sperm chromatin structure in infertile men with globozoospermia.

Materials and Methods: In this systematic review article, 77 articles related to protamine deficiency, DNA damage, aneuploidy in globozoospermic men were collected via data bases such as PubMed, Google Scholar, Scopus since 1971-2017.

Ethical Considerations: This study with research ethics code IR.ACECR.ROYAN.REC.1396.204 have been approved at research ethics committee of Royan Institute.

Findings: Mean percentage of sperm DNA fragmentation and protamine deficiency were significantly higher in infertile men with globozoospermia compared to fertile men. While, the results of chromosome aneuploidy were controversial in infertile men with globozoospermia within studies.

Conclusion: In addition to abnormal acrosome formation, as main etiology of failed fertilization, in infertile men with globozoospermia, high level of sperm abnormal chromatin packaging and DNA damage can be also involved in this phenomenon. Therefore, antioxidant therapy before intra-cytoplasmic sperm injection technique were suggested for these individuals to minimize sperm chromatin damage.

© Copyright (2019) Arak University of Medical Sciences

Use your device to scan and read this article online:

Tavalaee M., Eskandari N., Nasr-Esfahani MH. Study of Sperm Chromatin in Infertile Men with Globozoospermia: A Systematic Review Article. J Arak Uni Med Sci. 2019; 22(1): 126-138.

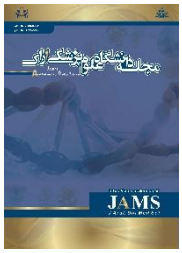
This open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution NonCommercial 4.0 License (CC BY-NC 4.0).

JAMS

مجله دانشگاه علوم پزشکی اراک

دوره بیست و دو، شماره یک، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۸

journal homepage: http://jams.arakmu.ac.ir



مقاله مروری

بررسی کروماتین اسپرم در مردان نابارور گلوبوزواسپرمی: یک مقاله مروری نظام مند

مرضیه تولائی[۱]، نسیم اسکندری[۱]، محمد حسین نصراصفهانی[۱،۲*]

۱. گروه زیست فناوری تولید مثل، مرکز تحقیقات پزشکی تولید مثل، پژوهشکده زیست فناوری جهاد دانشگاهی، پژوهشگاه رویان، اصفهان، ایران.

۲. مرکز باروری و ناباروری اصفهان، اصفهان، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۷/۰۴

تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۱/۰۶

تاریخ انتشار: ۹۸/۰۱/۳۱

واژگان کلیدی

آسیب DNA

آنوپلوئیدی

پروتامین

تراتوزواسپرمیا

*نویسنده مسئول:

محمد حسین نصراصفهانی

آدرس پستی: ایران، اصفهان، خیابان جی، میدان خوراسگان، خیابان سلمان، خیابان رویان، پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست فناوری، کد پستی: ۸۱۶۵۱۳۱۳۷۸.

نمابر: +98 31 9501 5687

E-mail:
mh.nasr-esfahani@royaninstitute.org

چکیده

زمینه و هدف: گلوبوزواسپرمی یک ناهنجاری مورفولوژیکی شدید اسپرم در مردان است که در آن اسپرم‌ها دارای سر کروی شکل هستند و با کاهش یا عدم وجود آکروزوم در نمونه اسپرم آن‌ها تشخیص داده می‌شود. در این مردان، سطح بالایی از آسیب DNA و بسته‌بندی کروماتین غیرطبیعی گزارش شده است. این کمبودها می‌تواند به عنوان علل اصلی نابارور در این افراد در نظر گرفته شود. هدف از این مقاله، بررسی ساختار کروماتین اسپرم در مردان نابارور با گلوبوزواسپرمی است.

مواد و روش‌ها: در این مقاله مروری نظام‌مند، ۷۷ مقاله مرتبط با کمبود پروتامین، آسیب DNA و آنوپلوئیدی در افراد گلوبوزواسپرمی در فاصله سال‌های ۱۹۷۱ تا ۲۰۱۷ از طریق پایگاه‌های اینترنتی PubMed، Google Scholar و Scopus جمع‌آوری شد.

ملاحظات اخلاقی: این مطالعه با کد IR.ACECR.ROYAN.REC.1396.204 در کمیته اخلاق پژوهشگاه رویان مورد تایید قرار گرفته است.

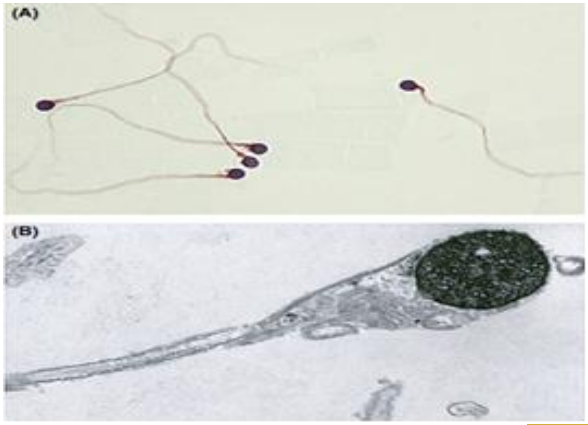
یافته‌ها: میانگین درصد آسیب DNA اسپرم و نقص پروتامین به طور معناداری در مردان نابارور گلوبوزواسپرمی در مقایسه با مردان بارور بالاتر بود. با این وجود نتایج متناقضی در رابطه با آنوپلوئیدی کروموزومی اسپرم در مردان نابارور گلوبوزواسپرمی در بین مطالعات وجود داشت.

نتیجه‌گیری: در مردان نابارور گلوبوزواسپرمی، علاوه بر تشکیل غیرطبیعی آکروزوم، به عنوان مهم‌ترین اتیولوژی شکست در لقاح، میزان بالای بسته‌بندی غیرطبیعی کروماتین و آسیب DNA اسپرم نیز می‌تواند در این پدیده درگیر باشد. بنابراین درمان آنتی اکسیدان قبل از تکنیک تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم برای کاهش آسیب کروماتین اسپرم در این افراد پیشنهاد شده است.

تمامی حقوق انتشار این اثر، متعلق به دانشگاه علوم پزشکی اراک می‌باشد.

۱. مقدمه

دیابت نوع ۲، یک نوع بیماری مزمن است و به عنوان دلیل اصلی مرگ در بسیاری از بیماری‌ها مانند رتینوپاتی، نفروپاتی و نوروپاتی و هم‌چنین بیماری‌های قلبی و عروقی مثل سکته، کرونر قلبی و بیماری عروق محیطی شناخته شده است. دیابت نوع ۲ مقاوم به انسولین و هایپر انسولینمیا می‌باشد (۱). سندروم گلوبوزواسپرمی (globozoospermia)، یک نوع نادر (کمتر از ۰/۱ درصد) اما شدید تراتوزواسپرمی (Teratozoospermia) است که در آن اسپرماتوزوییدها فاقد آکروزوم بوده و سر آن‌ها به شکل کروی می‌باشد (شکل ۱). بنابراین در چنین حالتی اسپرم توانایی نفوذ به لایه زونا پلوسیدای (Zona pellucida) اطراف تخمک و در نتیجه بارورسازی تخمک را نخواهد داشت (۱).

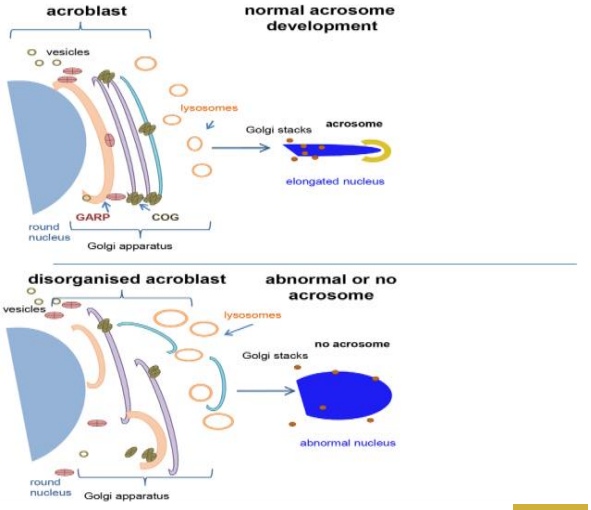


شکل ۱. اسپرم گلوبوزواسپرمی A: اسپرم با سر گرد. B:اسپرم بدون آکروزوم (۱).

نام "globozoospermia" توسط ولف و همکاران در سال ۱۹۷۶ معرفی شد (۲). به طور کلی، بیماران گلوبوزواسپرمی رشد جسمی و روانی طبیعی، ویژگی‌های بالینی و وضعیت هورمونی طبیعی دارند و حتی در بیشتر موارد دارای کاریوتیپ طبیعی می‌باشند، ولی در برخی از این افراد حذف‌های کوچکی (Microdeletion) در نواحی از کروموزوم Y مشاهده شده است (۳).

مطالعات متعدد علاوه بر فقدان آکروزوم و سرگرد، ناهنجاری‌های دیگری نظیر فقدان کلاهک پیش آکروزومی، ناهنجاری در غشاء هسته‌ای، حضور تاژک پیچ خورده، ناهنجاری در بلوغ هسته‌ای و تراکم کروماتین، به‌هم‌ریختگی میتوکندری در قطعه انتقالی، ناهنجاری در آکسونم (Axenome) و حضور بقایای سیتوپلاسم را گزارش کرده‌اند (۱). گلوبوزواسپرمی دارای الگوی اتوزومی مغلوب می‌باشد و دارای دو فرم می‌باشند (۴)، نوع ۱ یا گلوبوزواسپرمیای کامل (Complete globozoospermia) که ۱۰۰ درصد اسپرم‌ها دارای سرگرد بدون آکروزوم، آنزیم‌ها و کلاهک پیش آکروزومی هستند و توانایی باروری تخمک را ندارند (۵). در نوع ۲ یا گلوبوزواسپرمیای ناقص (Partial globozoospermia)، مقدار جزئی آکروزوم در اسپرم مشاهده می‌شود و گاهی اوقات با دیگر ناهنجاری‌های مورفولوژیکی همراه است ولی اسپرم‌های این نوع امکان باروری تخمک را دارا می‌باشند که می‌تواند به این علت باشد که تقریبا ۲۰ تا ۶۰ درصد اسپرم‌های آن‌ها دارای سرگرد است (۶، ۷). با وجود این طبقه بندی، در برخی از مطالعات، میکروسکوپ نوری توانایی نشان دادن سرگرد برای همه اسپرم‌ها را نداشت در حالی که فقدان آکروزوم با میکروسکوپ الکترونی نشان داده شد (۸). در مطالعات دیگر، تنها اسپرم‌های با سرگرد بدون آکروزوم بودند (۹، ۱۰). در نتیجه، اگر اسپرم‌های کروی یا غیر کروی در نمونه منی وجود داشته باشد با کاهش یا عدم وجود آکروزوم مواجه هستند که این تفاوت‌ها منعکس کننده تنوع فنوتیپی مهم ناشی از اختلالات بلوغ در طول اسپرمیوژنز است (۱۱).

در حالت طبیعی، آکروزوم ساختاری است که در طی فرآیند اسپرمیوژنز از وزیکول‌های دستگاه گلژی منشا می‌گیرد. از به‌هم‌پیوستن این وزیکول‌ها، کیسه آکروزومی تشکیل می‌شود که به صورت تدریجی این کیسه آکروزومی بسط پیدا کرده و تقریبا ۲/۳ اندازه سر اسپرم بالغ را می‌پوشاند. تقریبا در انتهای اسپرمیوژنز این کیسه تشکیل شده و حاوی آنزیم‌های لازم هیدرولازی، پروتئازی و غیره می‌شود که جهت نفوذ اسپرم به داخل لایه‌های اطراف تخمک و واکنش آکروزومی ضروری می‌باشند (شکل ۲) (۱۲).



شکل ۲. مقایسه بیوژنز آکروزوم در اسپرم نرمال و اسپرم سرگرد. شکل بالایی عملکرد آکروبلاست را در تشکیل آکروزوم نشان داده که نهایتا سبب توسعه آکروزوم در سر اسپرم می‌شود. در شکل پایینی، عدم عملکرد آکروبلاست سبب نقص در تشکیل آکروزوم، طویل شدن هسته و شکست نهایی در اسپرمیوژنز می‌شود (۷۶).

نکته حائز اهمیت این است که طی این فرآیند، یک سری فاکتورهایی در اطراف هسته یا ناحیه پری نوکلئار یا تقریبا ناحیه خلف آکروزومی قرار می‌گیرند که جهت فعال‌شدن تخمک ضروری می‌باشند. از این فاکتورها می‌توان به فسفولیپاز C زتا (PLCζ)، Tr-Kit، پروتئین متصل‌شونده به دومین WWی صفحه‌ی پست آکروزومی (PAWP) و غیره اشاره نمود. مطالعات متعددی در این زمینه انجام گرفته و مشخص شده که عدم وجود این فاکتورها در اسپرم می‌تواند عدم لقاح و فعال‌شدن تخمک را به همراه داشته باشد (۱۳). جهت درمان افرادی که با کاهش PLCζ مواجه هستند، از روش فعال‌شدن مصنوعی تخمک به همراه تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم (ICSI-AOA) استفاده می‌شود. اخیرا مشخص گردیده که افراد نابارور گلوبوزواسپرمی نیز با عدم یا کاهش بیان PLCζ، Tr-Kit و PAWP مواجه هستند و درصورت استفاده از روش ICSI-AOA می‌توان میزان موفقیت در لقاح و باروری این افراد را افزایش داد (۲۰-۱۳). با مشاهده چندین مورد گلوبوزواسپرمی در یک خانواده، این فرض ارائه شد که احتمالا این سندروم دارای منشا ژنتیکی است (۳، ۲۱) و ژن اصلی دخیل در این بیماری، DPY19L2 است (۲۲، ۲۳). مطالعات ژنتیکی در موش نشان داده‌اند که جهش در حداقل ۱۳ ژن از جمله Golgi-associated PDZ and coiledcoil motif) Gopc (protein (۲۴)، HRB (HIV-1 rev binding protein) (containing (۲۵)، Csnk2a2 (Casein kinase 2, a prime polypeptide) (۲۶) و Spaca1 (Sperm acrosome associated 1) (۲۷)، نقش بالقوه آن‌ها را در این آسیب‌شناسی در یک فنوتیپ با گلوبوزواسپرمی نشان می‌دهد (۲۸). با این حال، ارتباط جهش در این ژن‌ها با گلوبوزواسپرمی در انسان به روشنی شناسایی نشده است (۳۱-۲۹). در سال‌های اخیر، با مطالعاتی که بر روی مردان مبتلا به گلوبوزواسپرمی انجام گرفته، محققین توانستند دو ژن مؤثر در این بیماری به نام‌های SPATA16 (Spermatogenesis-associated 16) و DPY19L2 (Dpy-19 like 2) را کشف کنند که موتاسیون یا حذف در آن‌ها منجر به بروز بیماری گلوبوزواسپرمی می‌شود (۳۲، ۲۳). در موش، Pick1 (پروتئین تعاملی با C کیناز ۱) یک پروتئین سیتوزولی دخیل در ترافیک پروتئینی می‌باشد و به مقدار فراوان در مغز، بیضه و لوزالمعده بیان می‌شود. در بیضه، Pick1 در وزیکول‌های پیش آکروزومی در اسپرماتیدهای گرد بیان می‌شود و حذف این ژن منجر به اسپرم سرگرد می‌گردد (۳۲). به‌طورکلی، در میان مطالعات انجام گرفته بر روی بیماری گلوبوزواسپرمی با هدف یافتن ژن‌های مؤثر در بروز این بیماری در انسان، محققین با مشاهده و بررسی چندین مورد فامیلی تاکنون موفق به کشف سه ژن SPATA16، PICK1 و DPY19L2 شدند (۲۳، ۳۳، ۳۴). علاوه بر عوامل ژنتیکی، فاکتورهای دیگری هم می‌تواند در عدم موفقیت لقاح و باروری این افراد موثر باشد. ناهنجاری کروماتینی و یا شکست در رشته DNA که هر دو می‌تواند به عنوان عوامل اصلی در ناباروری در نظرگرفته شود نیز مطرح می‌باشد (۳). در برخی موارد، بدشکلی‌های مورفولوژیکی اسپرم می‌تواند نشان‌دهنده ناهنجاری در DNA و ساختار کروماتین و هم‌چنین نقایص سیتوژنتیکی باشد، ولی در برخی موارد نمی‌توان نتیجه گرفت که مورفولوژی سالم اسپرم دلیل سلامت کروماتین اسپرم است، بنابراین با توجه به این‌که ژنوم اسپرم نیمی از ژنوم آینده جنین است و از اهمیت به‌سزایی برخوردار است، در ادامه به شرح این ساختار پرداخته خواهد شد. جابه‌جایی پروتامین با هیستون‌ها در سلول‌های اسپرمی سبب انسجام و فشردگی لازم هسته اسپرم برای تحرک، حفظ و نگهداری از ژنوم این سلول‌ها در

برابر اکسیداسیون‌ها و حفاظت آن در برابر عوامل آسیب‌رسان در طی عبور از دستگاه ژنیتال مونث می‌گردد (۳۷- ۳۵). هیستون‌ها پروتئین‌هایی دارای بار مثبت بوده که دارای اسید آمینه‌های لیزین و آرژنین هستند. پروتئین‌های انتقالی (Transition nuclear protein) حدود ۱۰ درصد از پروتئین‌های هسته اسپرم را تشکیل می‌دهند و دو نوع TNP1 و TNP2 هستند که در تسهیل جابه‌جایی هیستون‌ها با پروتامین‌ها نقش دارند (۳۹-۳۷). با توجه به اهمیت سلامت کروماتین و تاثیر آسیب کروماتین اسپرم بر میزان باروری مردان، امروزه از روش‌های مختلفی برای بررسی سلامت کروماتین اسپرم استفاده می‌شود. از روش‌هایی که آسیب DNA اسپرم را بررسی می‌کنند می‌توان به رنگ آمیزی‌های TUNEL (Transferase-mediated deoxynucleotidyl dUTP nick end labeling)، SCSA (Sperm chromatin structure assay)، SCD (Sperm chromatin dispersion)، COMET یا SCGE (Single cell gel electrophoresis) و AO (Acridine orange) و از روش‌هایی که کمبود پروتامین را برررسی می‌کنند می‌توان به رنگ‌آمیزی‌های CMA3 (Chromomycin A3)، AB (Aniline blue) و TB (Toluidine blue) اشاره نمود (۴۰). مطالعات زیادی نشان دادند که آسیب DNA اسپرم دلیل مهمی برای ناباروری در مردان است. در مقالات نظریه‌های مختلفی وجود دارد که به اتیولوژی آسیب DNA اسپرم اشاره دارد. آپوپتوز، افزایش سطح استرس اکسیداتیو و بسته‌بندی غیرطبیعی کروماتین از جمله عوامل اصلی اندوژنی است که می‌تواند آسیب DNA اسپرم را القا نماید (۴۱). مطالعات قبلی نشان داده‌اند که کمبود پروتامین با عدم لقاح مرتبط است. دلیل آن می‌تواند تراکم زودرس کروموزوم یا عوامل دیگری همچون نقص‌های کروموزومی یا فاکتورهای فعال‌کننده تخمک وابسته به اسپرم SOAFs (Sperm associated oocyte activating factors) باشد (۴۴-۴۲، ۱۵). آسیب DNA اسپرم نتیجه باروری را تحت تاثیر قرار می‌دهد، پس از اتمام مراحل تکنیک‌های کمک باروری ART (Assisted Reproductive Technology)، حتی اگر اسپرم با DNA غیرطبیعی تخمک را بارور کند و تولد زنده رخ دهد، احتمال اختلال مادرزادی در فرزندان وجود دارد. نتایج حاصل از ارزیابی آسیب DNA اسپرم ممکن است به پزشکان در مشاوره بهتر زوج نابارور مراجعه‌کننده در درک شانس خود برای داشتن تولد یک نوزاد سالم زنده کمک می‌کند. با توجه به مطالبی که در بالا قید شده است، در حال حاضر یک مقاله مروری نظام‌مند که تمام نتایج بررسی ساختار کروماتین اسپرم را در افراد گلوبوزواسپرمی گزارش کرده باشد، وجود ندارد، از این‌رو، در این مطالعه سعی بر آن شده است که به‌طور کامل به نتایج آن‌ها پرداخته شود.

۲. مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر، یک مطالعه مروری نظام‌مند می‌باشد که تمام مراحل تحقیق اعم از جستجو، انتخاب مقالات و ارزیابی کیفی در مورد آن صورت گرفته است. جمع‌آوری اطلاعات از پایگاه‌های معتبر علمی به ترتیب Pubmed، Scopus و هم‌چنین موتور جستجوی Google Scholar براساس کلید واژه‌ها انجام گرفت. در ابتدا کلید واژه‌های گلوبوزواسپرمی، آنوپلوئیدی، کمبود پروتامین و آسیب DNA استفاده شد که نتیجه ۳۵ مقاله تحقیقاتی از سال ۱۹۹۹ تا ۲۰۱۶ بود. در مرحله بعد، از کلید واژه‌های round sperm، آنوپلوئیدی، کمبود پروتامین و آسیب DNA استفاده شد که بر این اساس در فاصله سال‌های ۱۹۷۱-۲۰۱۷، تقریباً ۷۷ مقاله قابل بررسی بود. در بین این مقالات ۱۵ مقاله مروی و دو فصل کتاب در راستای این کلید واژه‌ها گزارش شده است. از مقالات مروری، از قسمت‌های تئوری و نتیجه‌گیری‌های کلی آن برای این مقاله حاضر استفاده شد. در راستای مقالات تحقیقاتی، تمام نتایج آن‌ها بررسی و در جداول این مقاله حاضر جهت تسهیل در تفهیم برای خوانندگان گنجانده شد. یافته‌های غیر از مقاله مانند کنفرانس و نظرسنجی نیز حذف شدند. هم‌چنین یافته‌های غیر زبان انگلیسی و آن‌هایی که با موضوع مرتبط نبودند از مطالعه خارج شدند.

۳.ملاحظات اخلاقی

در این مطالعه، مقالات رفرنس داده شده از نویسنده مسئول دارای کدهای اخلاق مصوب در کمیته علمی پژوهشی پژوهشگاه رویان می‌باشد که عبارت اند از:

IR.ACECR.ROYAN.REC.1396.127
IR.ACECR.ROYAN.REC.1395.13
IR.ACECR.ROYAN.REC.1396.210

۴. یافته‌ها

تاکنون مطالعات زیادی در رابطه با شکست کروماتین در مردان نابارور گلوبوزواسپرمی انجام شده است. جدول ۱ به صورت خلاصه مقالاتی که کمبود پروتامین و آسیب DNA اسپرم در افراد گلوبوزواسپرمی را از سال ۱۹۹۹ تا ۲۰۱۷ بررسی کرده‌اند، نشان می‌دهد.

جدول ۱. مروری بر مطالعات انجام شده بر روی کمبود پروتامین و آسیب DNA اسپرم در افراد نابارور گلوبوزواسپرمی

نتیجه	تست	پارامتر	نوع	تعداد	رفرنس
سطح پروتامین ۱ و ۲ در برادر اول↓	الکتروفورز–وسترن بلات	پروتامین ۱ و ۲	کامل	۲ برادر	۱۰
آسیب DNA ↑	SCSA- COMET	آسیب DNA	کامل	۱	۱۱
تراکم کروماتین↓– آسیب DNA ↑	SCSA- TUNEL	آسیب DNA	کامل	۱	۵۱
کمبود پروتامین↑– آسیب DNA↑	CMA3-SCD	کمبود پروتامین	جزئی–کامل	۲	۴۱
کاریوتایپ طبیعی– آسیب DNA ↑	خون– SCD	کاریوتایپ – آسیب DNA	کامل	۱	۵۲
کاریوتایپ طبیعی– آسیب DNA↑	خون– AO	کاریوتایپ – آسیب DNA	کامل	۱	۵۳
کاریوتایپ طبیعی– آسیب DNA↑	خون– TUNEl	کاریوتایپ – آسیب DNA	کامل	۱	۵۴
کاریوتایپ طبیعی– آسیب DNA↑	خون– TUNEl	کاریوتایپ – آسیب DNA	کامل	۸	۵۵
کاریوتایپ طبیعی– کمبود پروتامین↑– آسیب DNA ↑	خون– CMA3- TUNEl	کاریوتایپ–کمبود پروتامین– آسیب DNA	جزئی–کامل	۲	۵۶
آسیب DNA ↑	TUNEL	آسیب DNA	کامل	۱	۴۷
کاریوتایپ طبیعی–عدم تفاوت معنادار درآسیبDNA	خون– TUNEl	کاریوتایپ – آسیب DNA	کامل	۱	۵۷
در ۴ مورد آسیب DNA ↑	TUNEL	آسیب DNA	۴ کامل– ۲ جزئی	۶	۵۸
عدم تفاوت معنادار TUNEl و SCSA–درصد هسته نابالغ با AB	TUNEL-SCSA-AB	کمبود پروتامین– آسیب DNA	کامل	۲	۵۹
کمبود پروتامین↑– آسیب DNA↑	TUNEL-TB-AB-CMA3-SCSA COMET	کمبود پروتامین– آسیب DNA	کامل	۱	۶۰
کمبود پروتامین↑– آسیب DNA↑	TUNEL-CMA3-AB	کمبود پروتامین– آسیب DNA	موش فاقد ژن DPY19L2	۱	۶۱
آسیب DNA↑	TUNEL	آسیب DNA	جزئی	۳۳	۶۲
کمبود پروتامین↑– آسیب DNA↑	TUNEL-CMA3	کمبود پروتامین– آسیب DNA	کامل	۱۵	۶۳
کمبود پروتامین– آسیب DNA	CMA3-SCSA	کمبود پروتامین– آسیب DNA	۹۰٪ >	۲۰	۶۴
آسیب DNA	TUNEl	آسیب DNA	٪ ۵۰–۱۰۰	۸	۶۵
کمبود پروتامین– آسیب DNA	TUNEl-CMA3	کمبود پروتامین– آسیب DNA	کامل	۳۰	۱۹
کمبود پروتامین– آسیب DNA	TUNEl-SCD-AO-CMA3-AB-TB	کمبود پروتامین– آسیب DNA	۱۷ جزئی– ۱۰ کامل	۲۷	۶۶

TUNEL: Transferase-mediated deoxynucleotidyl dUTP nick end labeling- SCSA: Sperm chromatin structure assay- SCD: Sperm chromatin dispersion- COMET or SCGE: Single cell gel electrophoresis- AO: Acridine orange staining- CMA3:Chromomycin- AB: Anilie blue- TB: Toluidine blue

به‌طورکلی، ثابت شده است که در افراد نابارور گلوبوزواسپرمی درصد کمبود پروتامین و میزان هیستون باقیمانده در کروماتین بسیار بالا است و این افراد دارای آسیب DNA بیشتری نسبت به افراد بارور هستند. از این‌رو، در این افراد علاوه بر آن‌که تشکیل آکروزوم در طی فرآیند اسپرمیوژنز با نقص مواجه است، تراکم کروماتین نیز که از رخدادهای اصلی این فرآیند می‌باشد، به طور صحیح انجام نمی‌گیرد و پروتامین‌ها به طور دقیق و کامل جایگزین هیستون‌ها نمی‌شوند. بنابراین این اسپرم‌ها

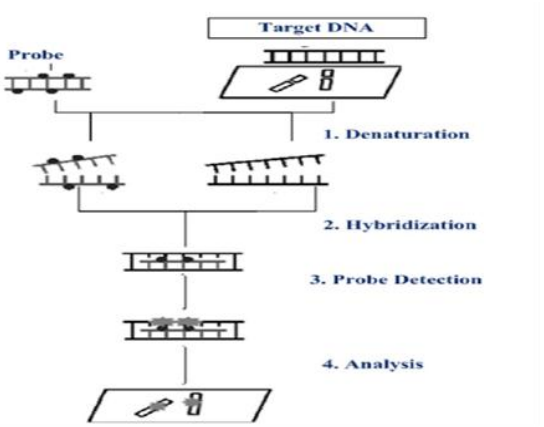
بیشتر مستعد آسیب DNA هستند (۱۹، ۴۵). علاوه بر مرور مقالاتی که ساختار کروماتین اسپرم افراد گلوبوزواسپرمی را بررسی کرده‌اند، مطالعه آنوپلوئیدی افراد نابارور گلوبوزواسپرمی نیز از اهداف اصلی این مقاله مروری بود و خلاصه ای از این مقالات از سال ۱۹۹۹ تا ۲۰۱۵ در جدول ۲ قید شده است.

جدول ۲. مروری بر مطالعات انجام شده بر روی آنوپلوئیدی کروموزومی در افراد نابارور گلوبوزواسپرمی

نتیجه	تست	پارامتر	نوع	تعداد	رفرنس
برادر اول آنوپلوئیدی کروموزوم های ۱۳و۲۱و$Y\uparrow$ و برادر دوم آنوپلوئیدی کروموزوم ۲۱↑	FISH	آنوپلوئیدی کروموزوم های ۱۳و۱۸و۲۱وYoX	کامل	۲ برادر	۱۰
کاریوتایپ طبیعی– عدم تفاوت معنادار آنوپلوئیدی و دیپلوئیدی	خون– FISH	کاریوتایپ–آنوپلوئیدی و دیپلوئیدی کروموزوم های ۱و YoX	کامل	۱	۶۷
کاریوتایپ طبیعی–برادر اول آنوپلوئیدی کروموزوم ۱۵↑	خون– FISH	کاریوتایپ–آنوپلوئیدی کروموزوم های ۱۳و۱۵و۱۸و۲۱وYoX	جزئی–کامل	۲	۶۸
عدم تفاوت معنادار آنوپلوئیدی و دیپلوئیدی	FISH	آنوپلوئیدی و دیپلوئیدی کروموزوم های ۸و۱۲و۱۸وYoX	کامل	۱	۵۱
کاریوتایپ طبیعی–ناهنجاری عددی کروزوم ها↑–حذف کوچک در مناطق AZFa و AZFb کروموزوم Y	خون– FISH	کاریوتایپ–آنوپلوئیدی کروموزوم های ۱۳و۱۸و۲۱وYoX	کامل	۱	۶۹
کاریوتایپ طبیعی–دیزومی XY↑	خون– FISH	کاریوتایپ–آنوپلوئیدی و دیپلوئیدی کروموزوم های ۱و۱۵و۲۱وYoX	کامل	۱	۷۰
کاریوتایپ طبیعی–بیمار اول دیپلوئیدی↑ و دیزومی کروموزوم های ۱۳و۲۱ نسبت به بیمار دوم↑	خون– FISH	کاریوتایپ–آنوپلوئیدی و دیپلوئیدی کروموزوم های ۷و۹و۱۳و۱۸و۲۱وYoX	کامل	۲	۷۱
آنوپلوئیدی در هر سه کروموزوم ۱۳و۱۶و۲۱↑	FISH	آنوپلوئیدی و دیپلوئیدی کروموزوم های ۱۳و۱۶و۲۱	کامل	۱	۷۲
دیزومی Y و دیپلوئیدی↑	FISH	آنوپلوئیدی و دیپلوئیدی کروموزوم های ۱۸وY	کامل	۲	۷۳
دیزومی و دیپلوئیدی↑	FISH	آنوپلوئیدی کروموزوم های ۱۸وYoX	٪ ۷۵	۱	۷۴
کاریوتایپ طبیعی–عدم تفاوت معنادار در آنوپلوئیدی	خون– FISH	کاریوتایپ–آنوپلوئیدی کروموزوم های ۱۳و۱۸و۲۱وYoX	٪ ۸۶	۱	۷۵
کاریوتایپ طبیعی–ناهنجاری های عددی در کروموزوم های جنسی↑	خون– FISH	کاریوتایپ–آنوپلوئیدی و دیپلوئیدی کروموزوم های ۱۳و۱۸و۲۱وYoX	کامل	۱	۵۲
کاریوتایپ طبیعی– عدم تفاوت معنادار آنوپلوئیدی	خون– FISH	کاریوتایپ–آنوپلوئیدی	کامل	۱	۷۶
کاریوتایپ طبیعی–عدم تفاوت معنادار آنوپلوئیدی	خون– FISH	کاریوتایپ–آنوپلوئیدی کروموزوم های ۱۵و۱۶و۱۷وYoX	کامل	۱	۵۴
کاریوتایپ– آنوپلوئیدی و دیپلوئیدی↑	خون– FISH	کاریوتایپ–آنوپلوئیدی و دیپلوئیدی کروموزوم های ۱۸و YoX	کامل	۸	۵۵
کاریوتایپ طبیعی–آنوپلوئیدی کروموزوم های جنسی↑– دیزومی کروموزوم۸↑– دیپلوئیدی بیمار دوم↑	خون– FISH	کاریوتایپ–آنوپلوئیدی و دیپلوئیدی کروموزوم های ۸و۱۲و۱۸وYoX	جزئی–کامل	۲	۵۶
دیزومی کروموزوم های ۲۱وYoXو XY↑	FISH	آنوپلوئیدی و دیپلوئیدی کروموزوم های ۱۳و۱۸و۲۱وYoX	کامل	۱	۴۷
کاریوتایپ طبیعی–عدم تفاوت معنادار آنوپلوئیدی	خون– FISH	کاریوتایپ–آنوپلوئیدی کروموزوم های ۱۳و۱۸و۲۱وYoX	کامل	۱	۵۷
عدم تفاوت معنادار آنوپلوئیدی	FISH	آنوپلوئیدی کروموزوم های ۱۸وYoX	۲ جزئی–۴ کامل	۶	۵۵
آنوپلوئیدی و دیزومی کروموزوم های جنسی↑	FISH	آنوپلوئیدی و دیپلوئیدی کروموزوم های ۸و۱۸و۲۱وYoX	کامل	۱	۶۰
دیزومی↑– دیپلوئیدی↑	FISH	آنوپلوئیدی و دیپلوئیدی کروموزوم	٪ ۵۰–۱۰۰	۴	۶۵

FISH: Fluorescence in situ hybridization

سیتوژنتیک با معرفی روش هیبریداسیون درجا (FISH) دریچه جدیدی به علم زیست شناسی مولکولی گشود که به محققان برای تعیین مکان موقعیت توالی‌های DNA خاص روی کروموزوم و بررسی آنوپلوئیدی کروموزومی کمک می‌کند. در سال ۱۹۹۰، FISH تکنیکی بود که اجازه تشخیص توالی اسید نوکلئیک با استفاده از پروب‌هایی که با فلورسانس علامت‌گذاری شده را می‌دهد (به طور مستقیم یا غیرمستقیم با یک هاپتن). سپس، DNA هدف و پروب‌های علامت‌گذاری شده از هم باز شده و پروب‌ها به DNA هدف متصل شده و در نهایت آنالیز صورت می‌گیرد (شکل ۳). بنابراین از این روش برای مطالعه محتوای کروموزومی اسپرم انسان استفاده شد که یک روش جایگزین برای Heterospecific fecundation بوده و سریع و آسان‌تر انجام می‌شود (۴۶).



شکل ۳. مراحل اصلی تکنیک هیبریداسیون درجا. در مرحله اول توالی‌های کوتاه DNA تک رشته‌ای به نام پروب به قسمتی از ژن که موردنظر می‌باشد متصل شده، سپس در پروب نشانه‌گذاری شده و DNA هدف رشته‌ها از یکدیگر باز شده و پروب موردنظر به قسمت موردنظر از DNA هدف متصل می‌شود و نهایتا آنالیز صورت می‌گیرد (۷۷).

در رابطه با آنوپلوئیدی در مردان نابارور گلوبوزواسپرمی در برخی مطالعات هیچ رابطه‌ای بین گلوبوزواسپرمی و آنوپلوئیدی در هسته اسپرم گزارش نشده است، ولی تعدادی از مطالعات حاکی از افزایش آنوپلوئیدی حداقل در یک کروموزوم بودند. بر اساس یک مقاله مروری منتشرشده از این افراد این‌گونه نتیجه‌گیری شد که آنوپلوئیدی عمدتا برای کروموزوم‌های جنسی و آکروسنتریک افزایش می‌یابد (۲۱). افزایش نامحسوس میزان آنوپلوئیدی در برخی بیماران می‌تواند منعکس‌کننده اختلال در اسپرماتوژنز باشد که به طور معمول در بیماران مبتلا به الیگوآستنوزواسپرمیا مشاهده می‌شود. هرچند تنوع مشاهده‌شده در مطالعات، مشابه با مقاله‌هایی در مورد مردان نابارور با یک کاریوتایپ طبیعی است، اما ازنظر دیگر پارامترهای اسپرمی غیرطبیعی می‌باشند (۴۷، ۴۸)؛ درنتیجه، نمی‌توان میزان بالای آنوپلوئیدی موجود در گامت‌ها را شاخصه‌ای از این شکل تراتوزواسپرمی شدید دانست (۴۶).

۵. بحث

فنوتیپ گلوبوزواسپرمی به اشکال مختلف از گلوبوزواسپرمی جزئی تا کامل بسته به درصد اسپرم‌های سرگرد موجود در انزال دسته‌بندی می‌شود (۳، ۶). با وجود این‌که دلیل گلوبوزواسپرمی هنوز روشن نشده است، یک دلیل ژنتیکی که ارتباط قوی با این بیماری را نشان می‌دهد مربوط به ژن *DPY19L2* می‌باشد و برای تائید این موضوع چندین مطالعه برروی حذف *DPY19L2* یا دیگر ژن‌های درگیر در تشکیل آکروزوم انجام گرفته است (۴۹). یکی از ویژگی‌های این سندرم فقدان یا کمبود آکروزوم و سر با مورفولوژی گرد در اسپرم می‌باشد (۳).

وضعیت کروماتین اسپرم از مباحثی است که مطالعات زیادی روی آن صورت گرفته، زیرا اسپرم نه تنها در فعال‌سازی تخمک موثر است، بلکه نیمی از ژنوم نسل آینده توسط اسپرم منتقل می‌شود و سلامت آن برای تکوین جنینی اهمیت دارد. آسیب DNA می‌تواند تاثیر منفی روی پتانسیل باروری، افزایش سقط و اختلال در تکوین جنین و افزایش سرطان در بچه‌ها بعد از تولد داشته باشد. شکستگی در دو یا تک رشته DNA ممکن است در بیضه، بعد ازاسپرماتوژنز و همچنین در طی انتقال اپیدیدیم رخ دهد (۵۰). بررسی‌ها نشان داده حدود ۱۵ درصد مردان نابارور پارامترهای اسپرمی طبیعی دارند، بنابراین تشخیص نهایی و قطعی برای ناباروری در مردان اغلب از طریق بررسی مایع منی انجام نمی‌شود و می‌توان با بررسی سلامت DNA اسپرم ناباروری در مردان را بهتر پیش‌گویی کرد. در این مقاله آسیب DNA در گروهی از افراد نابارور خاص که

گلوبوزواسپرمی بودند مورد بررسی قرار گرفت و مشخص گردید که در این افراد نابارور، فرآیند اسپرمیوژنز به شدت آسیب دیده، به طوری‌که دو رخداد اصلی در این فرآیند که شامل بیوژنز آکروزوم و تراکم کروماتین اسپرم است، ناهنجار است. اگرچه مشکل اساسی این افراد فقدان آکروزوم و نقص در فرآیند لقاح آن‌ها می‌باشد و همه توجهات به سمت این است که جهت درمان این افراد از روش‌های فعال‌سازی مصنوعی تخمک به همراه تکنیک ICSI استفاده شود، ولی با توجه به آن‌که احتمال دارد این اسپرم‌ها از آسیب DNA برخوردار باشند باید توجه داشت که آن‌ها را طی روش تزریق اسپرم به داخل تخمک انتخاب کرد. از این‌رو، این امکان وجود دارد که لقاح رخ دهد ولی در عین حال سرنوشت آینده این جنین یا فرزند متولدشده با خطر مواجه شود. پیشنهاد می‌شود که قبل از تکنیک‌های کمک باروری، افراد نابارور گلوبوزواسپرمی از آنتی اکسیدانت‌ها استفاده کنند که تا حدودی میزان آسیب DNA کاهش یابد. با این وجود، مطالعات نشان می‌دهد که وجود آنوپلوئیدی در این افراد نابارور متناقض است، ولی انجام FISH برای این افراد را نباید نادیده گرفت. به‌طور کلی، می‌توان نتیجه گرفت که آنوپلوئیدی در افراد گلوبوزواسپرمی اغلب در کروموزوم‌های آکروسنتریک (۱۳، ۱۶، ۱۹، ۲۲) و کروموزوم‌های جنسی رخ می‌دهد. هرچند این یافته با سایر انواع ناباروری مغایر نیست، ولی برای تمامی موارد گلوبوزواسپرمی صادق نمی‌باشد (۲۱). بر اساس این مقاله مروری نظام‌مند، مشخص گردیده که ساختار کروماتین اسپرم در افراد نابارور گلوبوزواسپرمی بیش از حد مستعد آسیب می‌باشد. آسیب DNA می‌تواند به‌علت عوامل مختلفی باشد که از مهم‌ترین آن‌ها حمله رادیکال‌های آزاد به رشته DNA می‌باشد. می‌توان قبل از درمان این افراد، از مکمل‌های آنتی اکسیدانی جهت کاهش سطح استرس‌های اکسیداتیوی و بهبود سلامت DNA اسپرم استفاده نمود و با توجه به این‌که این افراد در بیوژنز آکروزوم نقص دارند و دارای کمبود و یا عدم فاکتورهای اسپرمی فعال‌کننده تخمک هستند، می‌توان در زمان درمان از روش‌های مصنوعی فعال شدن تخمک استفاده نمود.

۶. نتیجه‌گیری

نتایج نشان می‌دهد که سطح آسیب DNA اسپرم و کمبود پروتامین در افراد نابارور گلوبوزواسپرمی به‌طور معنی‌داری بیشتر از افراد بارور می‌باشد. در حالی که نتایج آنوپلوئیدی در آن‌ها متناقض گزارش شده است. اگرچه نقص بیوژنز آکروزوم در این افراد فاحش است، ولی کاهش سطح آسیب DNA اسپرم از طریق استفاده مکمل‌های آنتی اکسیدانی می‌تواند جهت بهبود نتایج درمان موثر باشد.

۷. تقدیر و تشکر

این مطالعه هیچ‌گونه حامی مالی نداشته است. نویسندگان مراتب تقدیر و تشکر خود را از پرسنل محترم پژوهشکده زیست فناوری و مسئولان گرامی پژوهشگاه رویان ابراز می‌دارند.

۸. سهم نویسندگان

تمامی نویسندگان معیارهای استاندارد نویسندگی بر اساس پیشنهادات کمیته بین المللی ناشران مجلات پزشکی را دارا بودند.

۹. تضاد منافع

بدین‌وسیله نویسندگان تصریح می‌نمایند که هیچ‌گونه تضاد منافعی در خصوص پژوهش حاضر وجود ندارد.

References

1. Holstein AF, Schirren CG, Schirren C, Mauss J. Round headed spermatozoa: a cause of male infertility. Dtsch Med Wochenschr. 1973; 98(2): 61-2.
2. Wolff HH, Schill WB, Moritz P. Round-headed spermatozoa: a rare andrologic finding ("globe-headed spermatozoa", "globozoospermia"). Hautarzt. 1976; 27(3): 111-6.
3. Dam AH1, Feenstra I, Westphal JR, Ramos L, van Golde RJ, Kremer JA. Globozoospermia revisited. Hum Reprod Update. 2007; 13(1): 63-75.
4. De Braekeleer M, Nguyen MH, Morel F, Perrin A. Genetic aspects of monomorphic teratozoospermia: a review. J Assist Reprod Genet. 2015; 32(4): 615-23.
5. Schirren C.G, Holstein A.F., Schirren C. Uber die Morphogenese rundkopfiger Spermatozoen des Menschen. Andrologie. 1971; 3(3):117–125.
6. Singh G. Ultrastructural features of round-headed human spermatozoa. Int J Fertil. 1992; 37(2): 99-102.
7. Dam AH, Ramos L, Dijkman HB, Woestenenk R, Robben H, van den Hoven L, et al. Morphology of partial globozoospermia. J Androl. 2011; 32(2): 199-206.
8. Pedersen H, Rebbe H. Fine structure of round-headed human spermatozoa. J Reprod Fertil. 1974; 37(1): 51-4.
9. Syms AJ, Johnson AR, Lipshultz LI, Smith RG. Studies on human spermatozoa with round head syndrome. Fertil Steril. 1984; 42(3): 431-5.
10. Carrell DT, Emery BR, Liu L. Characterization of aneuploidy rates, protamine levels, ultrastructure, and functional ability of round-headed sperm from two siblings and implications for intracytoplasmic sperm injection. Fertil Steril. 1999; 71(3): 511-6.
11. Larson KL, Brannian JD, Singh NP, Burbach JA, Jost LK, Hansen KP, et al. Chromatin structure in globozoospermia: a case report. J Androl. 2001; 22(3): 424-31.
12. Nasr-Esfahani MH, Tavalaee M. Cellular and molecular aspects of reproductive biology.1th ed. Tehran: Royan institute Pub; 2015.(In Persian).
13. Aghajanpour S, Ghaedi K, Salamian A, Deemeh MR, Tavalaee M, Moshtaghian J, et al. Quantitative expression of phospholipase C zeta, as an index to assess fertilization potential of a semen sample. Hum Reprod. 2011; 26(11): 2950-6.
14. Nasr-Esfahani MH, Deemeh MR, Tavalaee M. Artificial oocyte activation and intracytoplasmic sperm injection. Fertil Steril. 2010; 94(2): 520–6.
15. Tavalaee M, Nasr-Esfahani MH. Expression profile of PLCζ, PAWP, and TR-KIT in association with fertilization potential, embryo development, and pregnancy outcomes in globozoospermic candidates for intra-cytoplasmic sperm injection and artificial oocyte activation. Andrology. 2016; 4(5): 850-6.
16. Tavalaee M, Kiani-Esfahani A, Nasr-Esfahani MH. Relationship between phospholipase C-zeta, semen parameters, and chromatin status. Syst Biol Reprod Med. 2017; 63(4): 259-268.
17. Tavalaee M, Kiani-Esfahani A, Nasr-Esfahani MH. Relationship between sperm factors involved in oocyte activation sperm DNA fragmentation with intra-cytoplasmic sperm injection clinical outcomes. Cell J. 2017; 18(4): 588-596.
18. Tavalaee M, Parivar K, Shahverdi AH, Ghaedi K, Nasr-Esfahani MH. Status of sperm-born oocyte activating factors (PAWP, PLCζ) and sperm chromatin in uncapacitated, capacitated and acrosome-reacted conditions. Hum Fertil (Camb). 2017; 20(2): 96-103.
19. Eskandari N, Tavalaee M, Zohrabi D, Nasr-Esfahani MH. Association between total globozoospermia and sperm chromatin defects. Andrologia. 2017. [Epub ahead of print]
20. Kamali-Dolat Abadi M, Tavalaee M, Shahverdi A, Nasr-Esfahani MH. Evaluation of PLCζ and PAWP Expression in Globozoospermic Individuals. Cell J. 2016; 18(3): 438-45.
21. Machev N, Gosset P, Viville S. Chromosome abnormalities in sperm from infertile men with normal somatic karyotypes: teratozoospermia. Cytogenet Genome Res. 2005; 111(3-4): 352-7.
22. Harbuz R, Zouari R, Pierre V, Ben Khelifa M, Kharouf M, Coutton C, et al. A recurrent deletion of DPY19L2 causes infertility in man by blocking sperm head elongation and acrosome formation. Am J Hum Genet. 2011; 88(3): 351-61.
23. Koscinski I, Elinati E, Fossard C, Redin C, Muller J, Velez de la Calle J, et al. DPY19L2 deletion as a major cause of globozoospermia. Am J Hum Genet. 2011; 88(3): 344-50.

24. Yao R, Ito C, Natsume Y, Sugitani Y, Yamanaka H, Kuretake S, et al. Lack of acrosome formation in mice lacking a Golgi protein, GOPC. Proc Natl Acad Sci USA. 2002; 99(17): 11211-6.
25. Kang-Decker N, Mantchev GT, Juneja SC, McNiven MA, van Deursen JM. Lack of acrosome formation in Hrb-deficient mice. Science. 2001; 294(5546): 1531-3.
26. Xu X, Toselli PA, Russell LD, Seldin DC. Globozoospermia in mice lacking the casein kinase II alpha' catalytic subunit. Nat Genet. 1999; 23(1): 118-21.
27. Fujihara Y, Satouh Y, Inoue N, Isotani A, Ikawa M, Okabe M. SPACA1-deficient male mice are infertile with abnormally shaped sperm heads reminiscent of globozoospermia. Development. 2012; 139(19): 3583-9.
28. Coutton C, Escoffier J, Martinez G, Arnoult C, Ray PF. Teratozoospermia: spotlight on the main genetic actors in the human. Hum Reprod Update. 2015; 21(4): 455-85.
29. Chianese C, Fino MG, Riera Escamilla A, López Rodrigo O, Vinci S, Guarducci E, et al. Comprehensive investigation in patients affected by sperm macrocephaly and globozoospermia. Andrology. 2015; 3(2): 203-12.
30. Christensen GL, Ivanov IP, Atkins JF, Campbell B, Carrell DT. Identification of polymorphisms in the Hrb, GOPC, and Csnk2a2 genes in two men with globozoospermia. J Androl. 2006; 27(1): 11-5.
31. Pirrello O, Machev N, Schimdt F, Terriou P, Ménézo Y, Viville S. Search for mutations involved in human globozoospermia. Hum Reprod. 2005; 20(5): 1314-8.
32. Dam AH, Koscinski I, Kremer JA, Moutou C, Jaeger AS, Oudakker AR, et al. Homozygous mutation in SPATA16 is associated with male infertility in human globozoospermia. Am J Hum Genet. 2007; 81(4): 813-20.
33. Xiao N, Kam C, Shen C, Jin W, Wang J, Lee KM, et al. PICK1 deficiency causes male infertility in mice by disrupting acrosome formation. J Clin Invest. 2009; 119(4): 802-12.
34. Liu G, Shi QW, Lu GX. A newly discovered mutation in PICK1 in a human with globozoospermia. Asian J Androl. 2010; 12(4): 556-60.
35. van Holde K, Zlatanova J. What determines the folding of the chromatin fiber? Proc Natl Acad Sci U S A. 1996; 93(20): 10548-55.
36. Oliva R. Protamines and male infertility. Hum Reprod Update. 2006; 12(4): 417-35.
37. Douglas T, Carrell DT. Epigenetics of the male gamete. Fertil Steril. 2011; 97(2): 267-4.
38. Meistrich ML, Mohapatra B, Shirley CR, Zhao M. Roles of transition nuclear proteins in spermiogenesis. Chromosoma. 2003; 111(8): 483-8.
39. Björndahl L, Kvist U. Human sperm chromatin stabilization: a proposed model including zinc bridges. Mol Hum Reprod. 2010; 16(1): 23-9.
40. Tavalaee M, Nasr-Esfahani MH, Deemeh MR. Etiology and evaluation of sperm chromatin anomalies. Int J Fertil Steril. 2008; 2(1): 1-8.
41. Deemeh MR, Tavalee M, Razavi S, Nasr-Esfahani MH. Evaluation of protamine deficiency and DNA fragmentation in two globozoospermia patients undergoing ICSI. Int J Fertil Steril. 2007; 1(2): 85-88.
42. Nasr-Esfahani MH, Razavi S, Tavalaee M. Failed fertilization after ICSI and spermiogenic defects. Fertil Steril. 2008; 89(4): 892-8.
43. Razavi S, Nasr-Esfahani MH, Mardani M, Mafi A, Moghdam A. Effect of human sperm chromatin anomalies on fertilization outcome post-ICSI. Andrologia. 2003; 35(4): 238-43.
44. Nasr-Esfahani MH, Razavi S, Vahdati AA, Fathi F, Tavalaee M. Evaluation of sperm selection procedure based on hyaluronic acid binding ability on ICSI outcome. J Assist Reprod Genet. 2008; 25(5):197-203.
45. Rubino, P, Viganò, P, Luddi, A, Piomboni, P. The ICSI procedure from past to future: A systematic review of the more controversial aspects. Hum Reprod Update. 2016; 22(2): 194–227.
46. Perrin A, Coat C, Nguyen MH, Talagas M, Morel F, Amice J, et al. Molecular cytogenetic and genetic aspects of globozoospermia: a review. Andrologia. 2013; 45(1): 1-9.
47. Perrin A, Louanjli N, Ziane Y, Louanjli T, Le Roy C, Gueganic N, et al. Study of aneuploidy and DNA fragmentation in gametes of patients with severe teratozoospermia. Reprod Biomed Online. 2011; 22(2): 148-54.
48. Kirkpatrick G, Ferguson KA, Gao H, Tang S, Chow V, Yuen BH, et al. A comparison of sperm aneuploidy rates between infertile men with normal and abnormal karyotypes. Hum Reprod. 2008; 23(7): 1679-83.
49. Elinati E, Kuentz P, Redin C, Jaber S, Vanden Meerschaut F, Makarian J, et al. Globozoospermia is mainly due to DPY19L2

deletion via non-allelic homologous recombination involving two recombination hotspots. Hum Mol Genet. 2012; 21(16): 3695-702.
50. Agarwal A, Allamaneni SS. Sperm DNA damage assessment: a test whose time has come. Fertil Steril. 2005; 84(4): 850-3.
51. Vicari E, Perdichizzi A, De Palma A, Burrello N, D'Agata R, Calogero AE. Globozoospermia is associated with chromatin structure abnormalities: case report. Hum Reprod. 2002; 17(8): 2128-33.
52. Tejera A, Mollá M, Muriel L, Remohí J, Pellicer A, De Pablo JL. Successful pregnancy and childbirth after intracytoplasmic sperm injection with calcium ionophore oocyte activation in a globozoospermic patient. Fertil Steril. 2008; 90(4): 12021-5.
53. Egashira A, Murakami M, Haigo K, Horiuchi T, Kuramoto T. A successful pregnancy and live birth after intracytoplasmic sperm injection with globozoospermic sperm and electrical oocyte activation. Fertil Steril. 2009; 92(6): 2037.e5-9.
54. Taylor SL, Yoon SY, Morshedi MS, Lacey DR, Jellerette T, Fissore RA, et al. Complete globozoospermia associated with PLCζ deficiency treated with calcium ionophore and ICSI results in pregnancy. Reprod Biomed Online. 2010; 20(4): 559-64.
55. Brahem S, Elghezal H, Ghédir H, Landolsi H, Amara A, Ibala S, et al. Cytogenetic and molecular aspects of absolute teratozoospermia: comparison between polymorphic and monomorphic forms. Urology. 2011; 78(6): 1313-9.
56. Brahem S, Mehdi M, Elghezal H, Saad A. Analysis of sperm aneuploidies and DNA fragmentation in patients with globozoospermia or with abnormal acrosomes. Urology. 2011; 77(6): 1343-8.
57. Sermondade N, Hafhouf E, Dupont C, Bechoua S, Palacios C, Eustache F, et al. Successful childbirth after intracytoplasmic morphologically selected sperm injection without assisted oocyte activation in a patient with globozoospermia. Hum Reprod. 2011; 26(11): 2944-9.
58. Zhioua A, Merdassi G, Bhouri R, Ferfouri F, Ammar AB, Amouri A, et al. Apport de l'exploration cytogénétique et ultrastructurale dans le pronostic de fertilité des sujets globozoospermiques. Basic and Clinical Andrology. 2011; 21(4): 240-246.
59. Gatimel N, Léandri RD, Foliguet B, Bujan L, Parinaud J. Sperm cephalic vacuoles: new arguments for their non acrosomal origin in two cases of total globozoospermia. Andrology. 2013; 1(1): 52-6.
60. Vozdova M, Rybar R, Kloudova S, Prinosilova P, Texl P, Rubes J. Total globozoospermia associated with increased frequency of immature spermatozoa with chromatin defects and aneuploidy: a case report. Andrologia. 2014; 46(8): 831-6.
61. Yassine S, Escoffier J, Martinez G, Coutton C, Karaouzène T, Zouari R, et al. Dpy19l2-deficient globozoospermic sperm display altered genome packaging and DNA damage that compromises the initiation of embryo development. Mol Hum Reprod. 2015; 21(2): 169-85.
62. Rasouli F, Sabbaghian M, Sadighi-Gilani MA, Monajemi R. Assessment of Sperm DNA Fragmentation in Patients with Partial Globozoospermia. J Isfahan Med Sch. 2015; 32(313): 2124-33
63. Ghasemzadeh J, Talebi AR, Khalili MA, Fesahat F, Halvaei I, Nabi A, et al. Sperm parameters, protamine deficiency, and apoptosis in total globozoospermia. Iran J Reprod Med. 2015; 13(8): 495-502.
64. Hosseinifar H, Yazdanikhah S, Modarresi T, Totonchi M, Sadighi Gilani MA, Sabbaghian M. Correlation between sperm DNA fragmentation index and CMA3 positive spermatozoa in globozoospermic patients. Andrology. 2015; 3(3): 526-31.
65. Talebi AR, Ghasemzadeh J, Khalili MA, Halvaei I, Fesahat F. Sperm chromatin quality and DNA integrity in partial versus total globozoospermia. Andrologia. 2017. [Epub ahead of print].
66. Viville S, Mollard R, Bach ML, Falquet C, Gerlinger P, Warter S. Do morphological anomalies reflect chromosomal aneuploidies? case report. Hum Reprod. 2000; 15(12): 2563-6.
67. Carrell DT, Wilcox AL, Udoff LC, Thorp C, Campbell B. Chromosome 15 aneuploidy in the sperm and conceptus of a sibling with variable familial expression of round-headed sperm syndrome. Fertil Steril. 2001; 76(6): 1258-60.
68. Zeyneloglu HB, Baltaci V, Duran HE, Erdemli E, Batioglu S. Achievement of pregnancy in globozoospermia with Y chromosome

microdeletion after ICSI. Hum Reprod. 2002; 17(7): 1833-6.
69. Martin RH, Greene C, Rademaker AW. Sperm chromosome aneuploidy analysis in a man with globozoospermia. Fertil Steril. 2003; 79(3): 1662-4.
70. Morel F, Douet-Guilbert N, Le Bris MJ, Amice V, Le Martelot MT, Roche S, et al. Chromosomal abnormalities in couples undergoing intracytoplasmic sperm injection. A study of 370 couples and review of the literature. Int J Androl. 2004; 27(3): 178-82.
71. Ditzel N, El-Danasouri I, Just W, Sterzik K. Higher aneuploidy rates of chromosomes 13, 16, and 21 in a patient with globozoospermia. Fertil Steril. 2005; 84(1): 217-8.
72. Moretti E, Collodel G, Scapigliati G, Cosci I, Sartini B, Baccetti B. 'Round head' sperm defect. Ultrastructural and meiotic segregation study. J Submicrosc Cytol Pathol. 2005; 37(3-4): 297-303.
73. Strassburger D, Reichart M, Kaufman S, Kasterstein E, Komarovsky D, Bern O, et al. Morphology assessment and fluorescence in situ hybridization of the same spermatozoon using a computerized cell-scanning system. Hum Reprod. 2007; 22(1): 201-9.
74. Schmiady H, Pfüller B, Bloechle M, Eckel H. Fertilisation failure after intracytoplasmic sperm injection is not associated with sperm aneuploidy of a globozoospermic patient. Andrologia. 2007; 39(1): 38-42.
75. Sahu B, Ozturk O, Serhal P. Successful pregnancy in globozoospermia with severe oligoasthenospermia after ICSI. J Obstet Gynaecol. 2010; 30(8): 869-70.
76. Fári K, Takács S, Ungár D, Sinka R. The role of acroblast formation during Drosophila spermatogenesis. Biol Open. 2016; 5(8): 1102-10.
77. O'Connor C. Fluorescence in situ hybridization. Nat Edu. 2008; 1(1):171.