Journal of Preventive Medicine

Winter 2023. Vol 9. Issue 4

Review Paper

The Role of Peripheral Blood miRNAs as Non-invasive Biomarkers to Diagnose Male Infertility: A Systematic Review

Nasim Naeimi[1,2], *Homa Mohseni Kouchesfehani[1], Zahra Heidari[3], Hamidreza Mahmoudzadeh Sagheb[1], Saeed Movahed[4]

1. Department of Animal Biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran.
2. Department of Biology, Faculty of Science, University of Sistan and Baluchestan, Zahedan ,Iran.
3. Department of Histology, Faculty of Medicine, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran.
4. Department of Urology, Faculty of Medicine Ali Ibne Abitaleb Hospital Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran.

Use your device to scan and read the article online

Citation Naeimi N, Mohseni Kouchesfehani H, Heidari Z, Mahmoudzadeh Sagheb H, Movahed S. [The Role of Peripheral Blood miRNAs as a Non-Invasive Biomarker to Identify Male Infertility: A Systematic Review (Persian)]. Journal of Preventive Medicine. 2023; 9(4):320-331. https://doi.org/10.32598/JPM.9.4.612.1

https://doi.org/10.32598/JPM.9.4.612.1

CC BY NC

Article Info:

Received: 18 Sep 2022

Accepted: 24 Dec 2022

Available Online: 01 Jan 2023

Keywords:
Male infertility, Diagnosis, miRNAs, Biomarkers, Peripheral blood

ABSTRACT

Objective Infertility refers to the inability to achieve a pregnancy after one year of regular sexual intercourse, without the use of contraceptive methods, half of which is due to male factor. The couples with infertility suffers from emotional and psychological problems which affect the health of the family. MicroRNAs (miRNAs) play an essential role in the process of spermatogenesis and infertility. The study aims to investigate the role of peripheral blood miRNAs, as non-invasive biomarkers, for the diagnosis and prognosis of male infertility. Information sources or data: In this review study, related articles published in English or Persian from 2012 to 2022 were searched and evaluated based on inclusion and exclusion criteria independently by three researchers.

Methods The search was conducted using the keywords: Male infertility, Diagnosis, Identification, miRNAs, Biomarkers, Non-invasive, Peripheral blood, Semen analysis, Testicular biopsy, and Treatment in both English and Persian in ScienceDirect, PubMed, Medline, Google Scholar, SID, and Magiran databases.

Results Of 114 found articles, 47 were finally selected for the review. Their results showed that the diagnosis of male infertility by semen analysis do not provide accurate results due to the lack of molecular investigation and invasive testicular biopsy. They suggested the use of peripheral blood miRNAs to screen male infertility.

Conclusion Considering the importance of childbearing and the global need for new and efficient diagnostic tools, miRNAs can be used as non-invasive, specific, stable, reproducible, and available biomarkers for screening and diagnosis of male infertility. This is a promising and challenging issue and needs further investigations.

Corresponding Author:
Homa Mohseni Kouchesfehani, PhD.
Address: Department of Animal Biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran.
Tel: +98 (912) 3844874
E-mail: kouchesfehani@khu.ac.ir

Extended Abstract

Introduction

According to the definition of the World Health Organization, infertility is the inability of couples to have children without using contraceptive methods after one year of regular sexual intercourse. Infertility is a big crisis. Couples with infertility experience various emotional disorders, reduced communication with each other and others, and disruption in activities and decision-making in life. With the development of human societies, changes in lifestyles and individual habits, there is a possibility that the rate of infertility will increase in the future, which, in addition to damaging the family foundation, will cause problems for the society; therefore, medical science is always trying to find ways to identify and prevent this impairment. Epigenetics is the study of change in gene expression that causes a difference in phenotype or effect on the gene without changing the structure and sequence of DNA. As one of the epigenetic factors, miRNAs have an important impact on vital biological processes such as growth and development, differentiation, proliferation, apoptosis, metabolism, and response to stress, which play a role in regulating gene expression and exert their effects through down-regulation or upregulation. They can be used as prognostic molecules and for diagnostic purposes, because they have the characteristics of a good biomarker such as high specificity, sensitivity, stability, non-invasiveness, and easy access. Considering the importance of infertility in medical sciences, the purpose of this study is to review the studies conducted on peripheral blood miRNAs for the prevention and diagnosis of male infertility.

Methods

This is a review study that was conducted in 2022. A search was conducted in databases such as ScienceDirect, PubMed, Medline, Google Scholar, SID and MagIran using the keywords: Male infertility, Diagnosis, Identification, miRNAs, Biomarkers, Non-invasive, Peripheral blood, Semen analysis, Testicular biopsy, and Treatment in Persian and English to find related studies conducted in the last 10 years with no limitation in the study country and population. To select the articles, their titles and abstracts were examined based on the inclusion criteria.

Results

Diagnosing and identifying male infertility in the early stages of referral is very important in facilitating the treatment and creating peace in couples for childbearing. In this regard, accurate and reliable methods should be used. Semen analysis in men has many limitations; as a primary diagnostic test in examining male infertility, it cannot directly identify and measure the causes of infertility and there is a need to find new molecular biomarkers for diagnosis and classification. Testicular biopsy lacks the sensitivity and specificity necessary to provide an accurate diagnosis, and it is not successful in some non-obstructive azoospermia patients; an in-vitro fertilization program was thus suggested by donating male gametes. However, so far, no precise test or factor has been identified that can predict the presence of mature spermatozoa in azoospermia. Therefore, non-invasive molecular testing using peripheral blood miRNAs can provide valuable information for prognosis and diagnosis of male infertility. The use of miRNAs, due to their role in cell regulation disorders and infertility, seems necessary to confirm sperm analysis tests, and is suggested as a less invasive, simple and cost-effective method in clinical studies for screening of male infertility. Their use in peripheral blood samples has been less studied; global standardization and correct analyses are needed to avoid errors.

Discussion

The present review study with the aim of investigating the use of peripheral blood miRNAs as a non-invasive biomarker for identifying male infertility indicated that early, rapid and timely diagnosis and screening of infertility in men using accurate and efficient molecular methods along with effective treatments can be useful in reducing the rate of male infertility and increasing childbearing. Peripheral blood miRNAs in infertile men have diagnostic and prognostic value and are proposed as biological biomarkers of male infertility due to their ability to increase or decrease the expression of genes effective in the process of spermatogenesis. Therefore, miRNAs, by determining the gene expression profile, can be useful, because diagnosis and treatment based on these molecular biomarkers, due to the features mentioned in preventing unnecessary biopsies, confirming and increasing the accuracy of sperm analysis results and preventing long treatment processes, seem necessary. In recent years, many efforts have been made to compensate for the decline in growth and fertility rates in Iran. Comprehensive plans for prevention

or early screening of infertility can increase the hopes for its treatment. Despite many advances regarding the role of miRNAs as a biomarker in infertility, this topic is in the initial stages of research and needs more information and investigation. We hope that, with the development of technology and techniques for using miRNAs, new methods for prevention, screening, identification and targeted treatment of male infertility be found in the future to bring happiness and peace for the couples who want children.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

The consent of the patients who gave blood samples was taken and all the legal work of the article has been done. But the data and findings were not used in this work, because it was a review and comparison work. The code of ethics is registered in Zahedan University of Medical Sciences (Code: IR.ZAUMS.REC.1399.167).

Funding

This research did not receive any grant from funding agencies in the public, commercial, or non-profit sectors.

Authors' contributions

Reviewing the articles and writing the first version of the article: Nasim Naeimi; Review and approval of the final version of the article: Homa Mohseni Kouchesfehani; Consultation, study design, review and approval of the original version of the article: Zahra Heidari; Extraction of articles, guidance and advice: Hamidreza Mahmoudzadeh Sagheb; Collection and review of articles: Saeed Movahed.

Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest.

مقاله مروری

نقش میکرو آرِان‌ای‌های خون محیطی به‌عنوان بیومارکر غیر تهاجمی در ناباروری مردان: یک مطالعه مروری

نسیم نعیمی[۱،۲]، *هما محسنی کوچصفهانی[۳]، زهرا حیدری[۴]، حمیدرضا محمودزاده ثاقب[۴]، سعید موحد[۵]

۱. دانشجوی دکتری زیست‌شناسی سلولی تکوینی جانوری، گروه علوم جانوری، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران.
۲. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران.
۳. گروه علوم جانوری، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران.
۴. گروه بافت‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم‌پزشکی، زاهدان، ایران.
۵. گروه اورولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم‌پزشکی، زاهدان، ایران.

Use your device to scan and read the article online

Citation Naeimi N, Mohseni Kouchesfehani H, Heidari Z, Mahmoudzadeh Sagheb H, Movahed S. [The Role of Peripheral Blood miRNAs as a Non-Invasive Biomarker to Identify Male Infertility: A Systematic Review (Persian)]. Journal of Preventive Medicine. 2023; 9(4):320-331. https://doi.org/10.32598/JPM.9.4.612.1

https://doi.org/10.32598/JPM.9.4.612.1

اطلاعات مقاله:
تاریخ دریافت: ۲۷ شهریور ۱۴۰۱
تاریخ پذیرش: ۰۳ دی ۱۴۰۱
تاریخ انتشار: ۱۱ دی ۱۴۰۱

چکیده

هدف ناباروری، عدم موفقیت در باروری پس از یک سال مقاربت منظم، بدون استفاده از روش‌های پیشگیری است که نیمی از آن مربوط به مردان است. زوجین نابارور مشکلات زیادی را تحمل می‌کنند که سلامت خانواده را تحت تأثیر قرار می‌دهد. میکرو آرِان‌ای‌ها در فرایند اسپرماتوژنز و ناباروری نقش اساسی دارند. هدف این مطالعه مروری بررسی نقش میکرو آرِان‌ای‌های خون محیطی به‌عنوان بیومارکر زیستی غیرتهاجمی برای تشخیص و پیش‌آگهی ناباروری است. مقالات انگلیسی و فارسی در محدوده سال‌های ۲۰۱۲ تا ۲۰۲۲ به‌صورت هدفمند، براساس معیارهای ورود و خروج به‌صورت مستقل توسط ۳ پژوهشگر ارزیابی و موارد تناقض با سایر نویسندگان بررسی شد.

روش‌ها جست‌وجوی کلیدواژه‌های تخصصی فارسی و معادل انگلیسی واژه‌ها مانند ناباروری مردان، تشخیص، شناسایی، میکرو آرِان‌ای‌ها، خون محیطی، غیرتهاجمی، بیومارکر زیستی، آنالیز سمن، بیوپسی بیضه، درمان در پایگاه‌های اطلاعاتی گوگل اسکالر، مدلاین، پابمد، ساینس دایرکت، پایگاه اطلاعاتی علمی جهاد دانشگاهی و بانک اطلاعات نشریات کشور انجام شد.

یافته‌ها از ۱۱۴ مقاله یافت‌شده، درنهایت ۴۷ مورد برای بررسی انتخاب شد. نتایج نشان داد تشخیص ناباروری مردان با آنالیز مایع منی به دلیل فقدان بررسی مولکولی و بیوپسی تهاجمی بیضه نتایج دقیقی ارائه نمی‌دهد و استفاده از miRNAهای خون محیطی برای غربالگری نا باروری مردان پیشنهاد شد.

نتیجه‌گیری با توجه به اهمیت فرزندآوری و نیاز جهانی به ابزارهای تشخیصی جدید و کارآمد، میکرو آرِان‌ای‌های خون محیطی می‌توانند در فرایندهای مهم سلولی به‌عنوان بیومارکر غیرتهاجمی، اختصاصی، پایدار، تکرارپذیر و در دسترس برای غربالگری و شناسایی ناباروری استفاده شوند. این موضوع امیدوارکننده و چالش‌برانگیز است و به بررسی‌های بیشتر نیاز دارد.

کلیدواژه‌ها:
ناباروری مردان، میکرو آرِان‌ای‌ها، تشخیص، بیومارکر زیستی، خون محیطی

* **نویسنده مسئول:**
دکتر هما محسنی کوچصفهانی
نشانی: تهران، دانشگاه خوارزمی، دانشکده علوم زیستی، گروه علوم جانوری.
تلفن: ۳۸۴۴۸۷۴ (۹۱۲) ۹۸+
رایانامه: kouchesfehani@khu.ac.ir

مقدمه

براساس تعریف سازمان بهداشت جهانی[1] ناباروری، بچه‌دار نشدن زوجین بدون استفاده از روش‌های پیشگیری، پس از یک سال مقاربت متوالی است [۱، ۲]. ناباروری بحرانی بزرگی است که می‌تواند استرس و واکنش‌های منفی شامل افسردگی، اضطراب، نگرانی، خشم، شرم، حسادت، تنهایی، یأس و ناامیدی، کاهش عزت نفس، عدم تعادل روحی‌روانی و اختلال عملکرد جنسی ایجاد کند [۳].

اگرچه اطلاعات دقیقی درباره ناباروری در سطح جهان وجود ندارد، تخمین زده شده است که ۴۸ میلیون زوج و ۱۸۶ میلیون نفر در سراسر جهان با ناباروری زندگی می‌کنند [۴] که نیمی از دلایل آن مربوط به مردان است [۵]. با توسعه جوامع بشری و تغییر الگو و سبک زندگی این احتمال وجود دارد در سال‌های آینده میزان ناباروری افزایش یابد؛ بنابراین علم پزشکی در تلاش برای یافتن روش‌های شناسایی و پیشگیری ناباروری است [۳].

میزان ناباروری در کشورهای مختلف از ۵ درصد در برخی از کشورهای توسعه‌یافته تا بیش از ۳۰ درصد در صحرای آفریقا متفاوت است [۶]. ناباروری به عوامل مادرزادی، جهش‌های ژنتیکی، اختلالات هورمونی، بیماری‌های عفونی و نقص‌های آناتومیک، ناهنجاری‌های مجاری ادراری‌تناسلی، واریکوسل، آنتی‌بادی ضداسپرم، عومل محیطی (رفتاری، فیزیکی، شیمیایی، اجتماعی و اقتصـادی) نسبت داده می‌شود [۷].

این اختلال پیچیده علاوه بر عوامل ذکرشده تحت تأثیر فاکتورهای اپی‌ژنتیک نیز قرار می‌گیرد [۸]. اپی‌ژنتیک تغییرات برگشت‌پذیری در بیان ژن بدون تغییر در ساختار و توالی دی‌ان‌ای است که قابل انتقال به نسل‌های بعدی بوده و باعث روشن و خاموش شدن ژن‌ها در سلول‌های مختلف می‌شود [۹].

میکرو آرِان‌ای‌های[2] تک‌رشته‌ای با طول تقریباً ۱۸ تا ۲۲ نوکلئوتید به‌عنوان یکی از عوامل اپی‌ژنتیک در فرایندهای بیولوژیک حیاتی مانند رشد و نمو، تمایز، تکثیر، آپوپتوز، متابولیسم و پاسخ به استرس نقش مهمی داشته و با تنظیم کاهشی یا افزایشی اثرات‌شان را اعمال می‌کنند [۱۰]. بررسی میزان بیان میکرو آرِان‌ای‌ها با روش‌های ایمونوهیستوشیمی و واکنش زنجیره‌ای پلیمر از رونویسی معکوس کمّی[3] قابل تجزیه‌وتحلیل است [۱۱، ۱۲].

بیان میکرو آرِان‌ای‌ها در شرایط فیزیولوژیکی و پاتولوژیک تغییر می‌کند و با تنظیم و کنترل بیان ژن‌ها در سطح پس از رونویسی از طریق تخریب یا مهار ترجمه، از عملکرد پروتئین‌ها جلوگیری به عمل می‌آورند [۱۳]. اثرات تنظیمی میکرو آرِان‌ای‌ها می‌تواند در پیش‌آگهی و تشخیص به‌موقع و درمان هدفمند بیماری‌ها به‌عنوان شناساگر زیستی به‌کار رود [۱۴]. نقش پیشگیری و درمان در سرطان سلول‌های هپاتوسیتی کبد[4] با استفاده از فناوری میکرو آرِان‌ای بررسی شده است که با اثر بر مسیرهای سیگنال‌دهی خاص سرطان می‌توانند استراتژی خوبی برای پیشگیری و درمانی جدید در برابر سلول‌های هپاتوسیتی کبد باشند [۱۵].

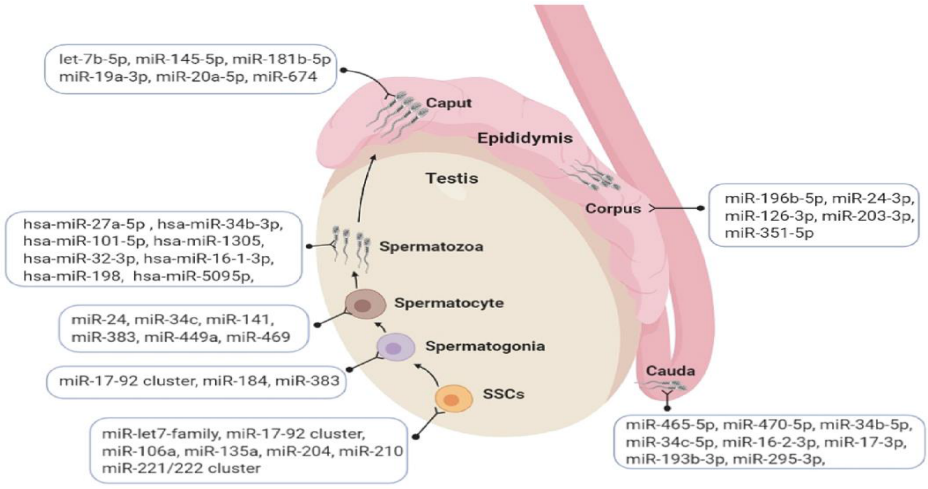
بنابراین میکرو آرِان‌ای‌ها به‌عنوان بیومارکر در پیشگیری از ناباروری، نقطه امیدوارکننده در تحقیقات تولید مثل هستند، زیرا یک نشانگر زیستی خوب به دلیل اختصاصی بودن بالا، حساسیت، پایداری در نمونه، غیرتهاجمی بودن و دسترسی آسان می‌تواند یک مولکول پیش‌آگهی‌دهنده برای اهداف تشخیصی باشد [۱۶]. شناسایی میکرو آرِان‌ای‌ها مرتبط با اختلالات تولید مثلی می‌تواند محققان را به درک بیشتر سازوکارهای مولکولی ناباروری مردان جهت تشخیص اولیه و درنهایت، استراتژی‌های درمانی مؤثر سوق دهد [۱۷].

میکرو آرِان‌ای‌های گردشی در سرم و پلاسمای خون حتی در غلظت‌های پایین به راحتی قابل تشخیص بوده و بیان آن‌ها اغلب مربوط به یک مرحله بافتی‌بیولوژیکی خاص است و می‌توان از آن‌ها به‌عنوان بیومارکر برای شناسایی قبل از ظهور علائم بیماری استفاده کرد؛ بنابراین میکرو آرِان‌ای‌ها کاندیداهای بالقوه شناسایی و پیشگیری ناباروری در مردان هستند [۱۸، ۱۹]. وجود میکرو آرِان‌ای‌ها در بیشتر مایعات بدن و ارتباط مستقیم با بیماری‌ها، دانشمندان را بر آن داشت که از آن‌ها علاوه بر تشخیص و درمان استفاده کنند؛ بنابراین به سرعت وارد فاز کلینیکی (تولید دارو، درمان و تشخیص) شدند و کمپانی‌های بزرگ دارویی در دنیا به تحقیقات، ساخت دارو و درمان با استفاده از میکرو آرِان‌ای‌ها توجه ویژه‌ای دارند [۲۰]. مطالعه مروری لاویر و همکاران، نشان داد ناباروری با میکرو آرِان‌ای‌های گردشی خون مرتبط است [۲۱].

بیش از ۲۰۰، میکرو آرِان‌ای در اسپرم انسان یافت شده و این تعداد بالا بیانگر نقش بسیار مهم آن‌ها در کنترل، تنظیم، تکثیر و تمایز سلول است و هرگونه اختلال یا مهار در آن‌ها باعث اختلال در مسیر اسپرماتوژنز و باروری می‌شود [۱۹].

تفاوت در میزان بیان میکرو آرِان‌ای‌ها در بررسی‌های مایع منی با تغییر در تعداد، تحرک و مورفولوژی غیرطبیعی اسپرم همراه است. بارگوس و همکاران نشان دادند سازوکار اثر ۴ میکرو آرِان‌ای (hsa-miR-16-5p، hsa-miR-19a-3p، hsa-miR-92a-3p و hsa-miR-30b-5p) به صورت یک شبکه تعاملی در همین راستا عمل می‌کنند [۲۲].

1. World Health Organization (WHO)
2. miRNAs
3. Quantitative Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (QRT-PCR)
4. Hepatocellular Carcinoma (HCC)



تصویر ۱. miRNAs در مراحل مختلف اسپرماتوژنز [۱۶]

رادکه و همکاران، بیان بسیار پایین miR-371a-3p را در گروه الیگواسپرم (تعداد اسپرم کمتر از ۱۵ میلیون در میلی‌لیتر) (Oligo-zoospermia) با رابطه معنادار در مقایسه با گروه نورمواسپرم گزارش کردند؛ بنابراین میزان بیان میکرو آرانای‌ها اطلاعات زیادی درباره تعداد و کیفیت اسپرم ارائه می‌دهد و ابزار ارزشمندی برای ارزیابی غیرتهاجمی خواهد بود [۲۳]. میکرو آرانای‌ها که در اسپرماتوژنز و بلوغ اپیدیدیم نقش دارند، در تصویر شماره ۱ نشان داده شده است.

الگوی بیان miR-19b و let-7a در سمینال پلاسمای ۱۹۲ بیمار آزواسپرمی غیرانسدادی (عدم مشاهده اسپرم)[5] یا الیگواسپرم توسط وُو و همکاران، بیان بالاتری را در مقایسه با افرادکنترل نشان داد. بنابراین افزایش یا کاهش بیان میکرو آرانای‌ها در رشد و نمو اسپرم بالغ و باروری مؤثر است و این ۲ میکرو آرانای‌ها می‌توانند نشانگرهای زیستی خوبی برای غربالگری افراد NOA یا الیگواسپرم باشند [۲۴]. همچنین عماری و همکاران، افزایش بیان miR-155 را یک نشانگر ناباروری معرفی کردند که منعکس‌کننده آسیب بافتی بود. بیان نابجای میکرو آرانای‌ها در پروفایل بیماران نابارور به شدت از نقش آن‌ها در ناباروری عامل مردانه، به‌خصوص ناباروری با دلایل نامشخص حمایت می‌کند [۲۵]. مطالعات مختلف نشان داد میکرو آرانای‌ها در اسپرماتوژنز و اختلالات باروری نقش دارد [۲۶].

میکرو آرانای‌ها پتانسیل بسیار زیادی برای استفاده به‌عنوان نشانگرهای تشخیصی و پیش‌آگهی و همچنین اهداف درمانی در ناباروری مردان و بیماری‌های دستگاه تناسلی دارند. با این حال، برای بهره‌برداری کامل این پتانسیل، باید درک بهتر و تحقیقات بیشتری درباره تنظیم اسپرماتوژنز با واسطه میکرو آرانای‌ها و سازوکارهای تنظیمی مرتبط انجام شود [۲۷، ۲۸]. تغییر در میزان بیان میکرو آرانای‌ها در بافت‌های مختلف و تنظیم افزایشی یا کاهشی در انواع اختلالات ناباروری را نشان می‌دهد که می‌توانند به‌عنوان نشانگرهای زیستی تشخیصی در ناباروری مردان به‌عنوان ابزار جدید استفاده شوند [۱۶].

ناباروری، مشکلی اساسی در زندگی زوجین در نظر گرفته می‌شود که بهداشت و سلامت خانواده و جامعه را تحت تأثیر قرار می‌دهد، زیرا زوجین نابارور معمولاً دچار کاهش ارتباط با یکدیگر و اطرافیان، اختلال در فعالیت‌ها و تصمیم‌گیری در زندگی، اختلالات عاطفی و هیجانی گوناگون می‌شوند. علی‌رغم اینکه بیش از یک سوم موارد ناباروری مربوط به مردان است، به تحقیقات تولید مثل در مورد آن‌ها کمتر توجه شده، در حالی که این شرایط برای آن‌ها نیز ناخوشایند بوده و بار روانی سنگینی به همراه دارد [۲۹].

از طرفی، آنالیز مایع منی در مردان به‌عنوان اولین راهکار تشخیصی نمی‌تواند اطلاعات دقیق مولکولی در اختیار پزشک قرار دهد و انجام نمونه‌برداری از بافت بیضه نیز به دلیل عدم همکاری بیمار جهت جراحی، تهاجمی بودن، هزینه بالا و درصد موفقیت پایین در به دست آوردن اسپرم بازیافتی، ازجمله محدودیت‌های تشخیصی و شناختی است [۳۰]. با توجه به شیوع گسترده ناباروری مردان در کشور که ۲۰/۲ درصد در مقابل آمار مشابه جهانی که ۱۵-۱۲ درصد است [۳۱] باید به دنبال راهکارهای جدید بود.

در مقاله مروری حاضر، تمرکز، توصیف، بررسی و بحث پیرامون مطالعات انجام‌شده روی میکرو آرانای‌های گردشی در خون به علت دسترسی راحت و غیرتهاجمی به‌عنوان بیومارکر، جهت تشخیص و شناسایی ناباروری در مردان است. مقاله مروری مشابهی مربوط به استفاده از میکرو آرانای‌ها با تأکید بر استفاده از نمونه خون محیطی گزارش نشده است.

5. Non-Obstructive Azoospermia (NOA)

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در سال ۱۴۰۱ با استفاده از جست‌وجوی کلیدواژه‌های تخصصی فارسی، ناباروری مردان، تشخیص، شناسایی میکرو آرِان‌ای‌ها، بیومارکر زیستی، خون محیطی، غیرتهاجمی، آنالیز مایع منی، بیوپسی بیضه، درمان و معادل انگلیسی واژه‌ها Male infertility, Diagnosis, Identification, miRNAs, Biomarkers, Non-invasive, Peripheral blood, Semen analysis, Testicular biopsy, Treatment در پایگاه‌های اطلاعاتی گوگل اسکالر[6]، مدلاین[7]، پاب‌مد[8]، ساینس دایرکت[9]، پایگاه اطلاعاتی علمی جهاد دانشگاهی[10] و بانک اطلاعات نشریات کشور[11] انجام شد.

در این مطالعه مروری برای دستیابی به مقالات به صورت هدفمند از روش پریسما استفاده شد و براساس معیارهای خروج (در دسترس نبودن متن کامل مقاله، نامه به سردبیر، چاپ در نشریات نامعتبر) و ورود به پژوهش (مرتبط بودن با اهداف تحقیق، برخورداری از چارچوب ساختاریافته پژوهشی و انتشار در مجله معتبر و داشتن چکیده و متن کامل) ۴۷ مقاله بررسی و تحلیل نهایی شد. هیچ محدودیتی در انتخاب کشور انجام مطالعه، جامعه موردمطالعه (اقلیت قومی و مذهبی) لحاظ نشد.

مقالات مرتبط چاپ‌شده در محدوده زمانی سال‌های ۲۰۱۲ تا ۲۰۲۲ انتخاب شد. مقالات به کمک ۳ پژوهشگر از پایگاه‌های مورد نظر جمع‌آوری، استخراج و مطالعه اولیه شد. سپس سایر نویسندگان، ارزیابی کیفیت مقالات را انجام داده و تأیید و بررسی نهایی شد.

کیفیت مقالات توسط پژوهشگران و الگوهای به‌کاررفته در سایر مقالات سنجیده شد که شامل بررسی عناوین، چکیده، متن اصلی و داشتن معیارهای لازم مانند سال انجام، توصیف طراحی، روش‌های استاندارد آزمایشگاهی، گزارش نتایج، روش‌های آماری حجم نمونه بیشتر و غیره بود.

درمجموع از ۱۱۴ مقاله مرتبط با موضوع با استفاده از کلمات کلیدی ذکرشده، ۴۳ منبع انگلیسی و ۴ منبع فارسی و از این تعداد، ۲۶ مقاله اصلی و ۲۱ مقاله مروری بودند که به طور کامل بررسی شدند. دستیابی به مقالات به روش پریسما در تصویر شماره ۲ ارائه شده است.

6. Google Scholar
7. Medline
8. PubMed
9. Science Direct
10. SID
11. Magiran

یافته‌ها

تشخیص و شناسایی ناباروری در مراحل اولیه، اهمیت بسزایی در تسهیل مسیر درمان و ایجاد آرامش زوجین جهت فرزندآوری دارد و در این راستا باید از روش‌های دقیق و مطمئن استفاده کرد.

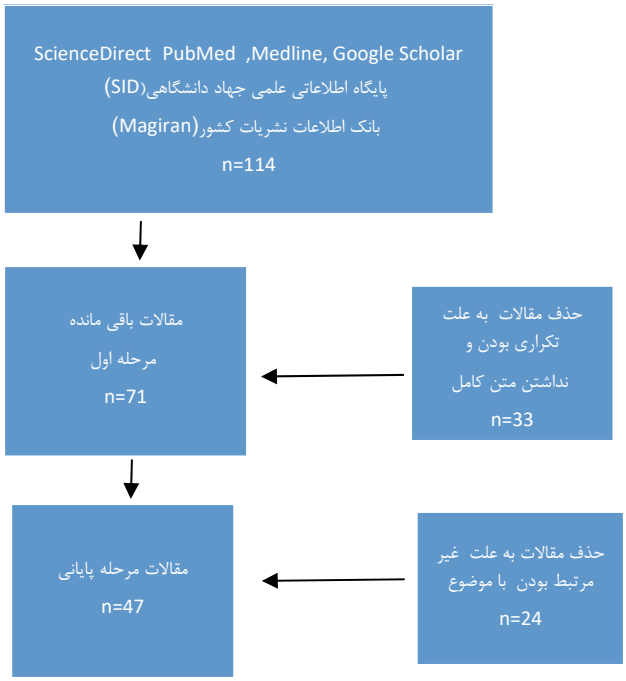
دلایل مختلفی در اهمیت استفاده از میکرو آرِان‌ای‌های نمونه خون محیطی و نقش آن‌ها به‌عنوان بیومارکر مطرح شده است. از جمله نقاط ضعف آنالیز منی به‌عنوان اولین آزمایش در بررسی دلایل ناباروری مردان است که همیشه نتایج نرمال آن دلیلی بر احتمال بروز باروری نبوده، زیرا نتایج آنالیز منی بین مردان بارور و نابارور هم‌پوشانی بالایی دارد، ضمن اینکه اطلاعاتی درباره سازوکارهای مولکولی داخلی اسپرم نیز نشان نمی‌دهد. بررسی مایع منی به‌عنوان یک تست تشخیصی اولیه در بررسی ناباوری مردان نمی‌تواند مستقیماً دلایل ناباروری را شناسایی و اندازه‌گیری کند و یافتن مارکرهای مولکولی جدید به منظور تشخیص و طبقه‌بندی حائز اهمیت است [۳۲].

عامل مهم دیگر در استفاده از میکرو آرِان‌ای‌های خون محیطی چالش استفاده از روش مرسوم بیوپسی بیضه برای به دست آوردن اسپرم و تشخیص وجود اسپرم در بیماران به آزواسپرمی است [۳۳]، اما این روش نیز فاقد حساسیت و ویژگی لازم جهت ارائه تشخیص دقیق است و در ۴۰ تا ۶۰ درصد بیماران NOA، جراحی بیوپسی موفقیت‌آمیز نیست و درنهایت، یک برنامه کمک باروری لقاح آزمایشگاهی[12] با اهدای گامت‌های مردانه به بیمار پیشنهاد می‌شود و در سال‌های اخیر نیز شاهد کاهش تدریجی این روش به دلیل اهداف تشخیصی منحصر به فرد، تهاجمی بودن و رنج بیماران، به خطر افتادن ایمنی و سلامت بافت بیضه و ریسک ونتیجه ضعیف بودیم [۳۴].

علاوه بر دلایل ذکرشده، عدم همکاری و رضایت بیماران جهت انجام جراحی و احتمال ضعیف به دست آوردن اسپرم بازیافتی در مردان مبتلا به NOA و نیافتن اطلاعات مفید در معاینه فیزیکی، ازجمله بررسی حجم بیضه یا پارامترهای هورمونی، به اهمیت استفاده از روش تشخیصی صحیح می افزاید و استفاده از میکرو آرِان‌ای‌های پلاسمای خون می‌تواند اطلاعات ارزشمندی برای پزشکان جهت پیش آگهی و تشخیص ناباروری فراهم کند [۳۵].ژن‌های زیادی در غالب بررسی پلی مورفیسم در نمونه خون به‌عنوان بیومارکر مطرح شده‌اند، ازجمله مطالعه نعیمی و همکاران نشان داد پلیمورفیسم ژن CHD5(rs9434741) در بیماران آزواسپرمی غیرانسدادی والیگواسپرمی شدید می‌تواند یک ریسک فاکتور مستعدکننده و تشخیصی باشد [۳۶].

تحقیقات زیادی درباره ارتباط بیان میکرو آرِان‌ای‌ها در بافت بیضه و سمینال پلاسما انجام شده، اما نمونه خون محیطی

12. In vitro fertilization (IVF)



تصویر ۲. دستیابی به مقالات براساس روش پریسما

کمتر در بیماری‌های دیگر مورد مطالعه قرار گرفته است [۳۷]. تغییرات بیان میکرو آرانِ‌ای‌ها در نمونه خون، توانایی شناسایی بیماری‌های مختلفی را دارد. مطالعه غایبی و همکاران، نشان داد میزان بیان miR-، miR29a-3p، miR-27a-3p، miR-23a-3p، miR-127-3p، 100-5p و miR-486-5 خون محیطی با سقط مکرر ارتباط داشت و درنتیجه نشانگرهای زیستی تشخیصی یا پیش‌بینی‌کننده موجب توسعه روش‌های جدید و بهبود پیش‌بینی‌ها و مدیریت ناباروری بالینی خواهد شد [۳۸].

ازجمله مطالعاتی که به نقش میکرو آرانِ‌ای‌های خون محیطی به‌عنوان بیومارکر زیستی غیرتهاجمی برای شناسایی ناباروری اشاره می‌کند، بررسی سیتو و همکاران است که نشان داد میزان miR-20a-5p با استفاده از روش RT qPCR در پلاسمای خون ۵۲ فرد آزواسپرمی غیرانسدادی در مقایسه با ۱۰ نفر افراد سالم در گروه کنترل نرمواسپرمی، به طور قابل‌توجهی بالاتر بود که باعث شکست و اختلال در مراحل اسپرماتوژنز شد و می‌تواند نشانگر بی‌خطری برای تشخیص ناباروری مردان باشد [۳۹]. همچنین دیکمان و همکاران در تومورهای سلول زایای جنسی مشاهده کردند که سطح miR-371 در سرم بیماران بسیار بیشتر از سمینال پلاسما بود [۴۰].

miR-155-5p و miR-200c-3p در سرم خون مردانی که تعداد اسپرم کمتر 10^6ml 20× داشتند، از نظر آماری بالاتر از گروه کنترل بود و با پارامترهای منی مردان نابارور و اختلالات متابولیکی ارتباط داشت. به این معنا که این میکرو آرانِ‌ای‌ها می‌توانند با ناباروری مرتبط و منعکس‌کننده تغییرات پاتوفیزیولوژیکی باشد [۴۱].

miR-155 و miR-146a تنظیم‌کننده‌های مرکزی التهاب بوده و سطح بیان آن‌ها در سلول‌ها و سرم با چندین بیماری التهابی ارتباط دارد و در سرم افراد بیمار هیپوگنادیسم به‌عنوان یک بیومارکر جدید شناسایی شدند [۴۲]. کوتاجا در مطالعه مروری در سال ۲۰۱۴ نشان داد میکرو آرانِ‌ای‌ها در تنظیم اسپرم‌زایی و باروری مردان نقش مهمی دارند [۴۳].

با توجه به مطالعات گذشته، ازجمله مزایای استفاده از میکرو آرانِ‌ای‌های خون محیطی، سهولت در نمونه‌گیری، پایداری در شرایط مختلف، الگوی منظم بیانی و حساسیت در اندازه‌گیری، به‌خصوص روش‌هایی که قابلیت تمایز حتی یک نوکلئوتید در تعداد کم کپی‌های نمونه را دارند که سبب مطرح شدن آن‌ها به‌عنوان بیومارکرهای ارزشمند و جدید در تشخیص‌های آزمایشگاهی بیماری‌ها شده است. پویا بودن و خاصیت برگشت‌پذیری الگوهای اپی‌ژنتیکی، باعث شده تا تصحیح آن‌ها بسیار راحت‌تر از تصحیح عوامل ژنتیکی باشد [۴۴]. این موضوع می‌تواند استفاده از این نشانگرهای مولکولی به‌عنوان ابزاری پیشگیری‌کننده و درمانی تقویت کرده و امیدوارکننده باشد.

امروزه با شناسایی رقبای بالقوه، استفاده به‌عنوان نشانگرهای زیستی به یک فرایند سخت تبدیل شده است و از محدودیت‌های استفاده از میکرو آرانِ‌ای‌ها، اتصال چند میکرو آرانِ‌ای به یک ژن (این ویژگی کار بررسی را دشوار می‌کند) و فقدان پروتکل‌های جهانی برای جمع‌آوری، ذخیره‌سازی و پردازش نمونه‌ها و عدم وجود اعتبارسنجی داده‌های به دست آمده است [۴۵].

این نکته را باید در نظر گرفت که نتایج متفاوت در تحقیقات، می‌تواند ناشی از تفاوت در پردازش نمونه، رویکردهای مختلف روش‌شناختی و فنی بین آزمایشگاه‌ها باشد [۸، ۴۶، ۴۷]؛ بنابراین استانداردسازی جهانی و دقیق و روش‌های تحلیل صحیح به منظور اجتناب از خطا، مورد نیاز است که در آینده نزدیک به تشخیص و درمان ناباروری مبتنی بر میکرو آرِان‌ای‌ها به‌عنوان یک روش بالینی کمک خواهد کرد [۱۴].

در مقالات، حجم‌های متفاوتی از نمونه‌های افراد با انواع ناباروری‌ها مطالعه شدند و روش‌های آزمایشگاهی بررسی میزان و بیان میکرو آرِان‌ای‌ها متفاوت بود. تحقیق در زمینه اثرات میکرو آرِان‌ای‌ها درکشورهای زیادی انجام شده است، اما در ارزیابی کیفی مقالات، استفاده از تکنیک‌های جدید در گروه‌های بزرگ‌تر و جمعیت‌های متفاوت در اولویت ارزیابی قرار گرفت.

بحث و نتیجه‌گیری

در پژوهش‌های اخیر به نقش میکرو آرِان‌ای‌ها به‌عنوان بیومارکر ناباروری پرداخته و به اثرات آن توجه شده است. براساس تحقیقات ذکرشده میکرو آرِان‌ای‌های خون محیطی در مردان نابارور، ارزش تشخیصی و پیش‌آگهی داشته و به دلیل توانایی تنظیم افزایشی یا کاهشی در بیان ژن‌های مؤثر در فرایند اسپرماتوژنز و باروری به‌عنوان بیومارکرهای بیولوژیکی ناباروری مردان مطرح می‌شوند. میکرو آرِان‌ای‌ها می‌توانند با تعیین پروفایل بیان، ابزاری قدرتمند باشند، زیرا تشخیص و درمان بر مبنای این بیومارکرهای مولکولی زیستی، به دلیل اختصاصی بودن، حساسیت، دقت، تکرارپذیری، ثبات، دسترسی آسان، غیرتهاجمی وارزان بودن در پیشگیری از انجام بیوپسی‌های غیرضروری، تأیید و افزایش دقت نتایج آنالیز منی و جلوگیری از فرایندهای درمان طولانی، ضروری به نظر می‌رسد.

مطالعه مروری حاضر با هدف بررسی نقش میکرو آرِان‌ای‌های خون محیطی به‌عنوان بیومارکر زیستی غیرتهاجمی برای شناسایی ناباروری مردان، حاکی از این واقعیت است که تشخیص و غربالگری اولیه ، سریع و به موقع ناباررووی در مردان با استفاده از روش‌های مولکولی دقیق و کارآمد و در ادامه درمان مؤثر می‌تواند در کاهش نرخ ناباروری و افزایش فرزندآوری مؤثر باشد.

ازجمله محدودیت‌های این مطالعه، تأکید جهت استفاده از مقالات جدید، تحقیقات محدود در زمینه میکرو آرِان‌ای‌های خون محیطی و ناباررووی بود. در شرایط کنونی موضوع جمعیت در اقتدار ملی، با توجه به پویندگی، بالندگی و جوانی جمعیت کنونی کشور به‌عنوان یک فرصت و امتیاز است. در سال‌های اخیر تلاش‌های بسیاری جهت جبران کاهش نرخ رشد و باروری انجام شده و از جمله سیاست‌های کلی افزایش جمعیت، برنامه‌ریزی‌های جامع برای پیشگیری یا غربالگری اولیه ناباروری است که امید به درمان را افزایش دهد. امید است با توسعه فناوری و روش‌های جدید بتوان با استفاده از میکرو آرِان‌ای‌های خون محیطی، شاهد یافتن روش‌های پیشگیری، غربالگری، شناسایی و درنهایت، درمان سریع و هدفمند جهت برقراری سلامت و آرامش در خانواده‌های خواستار فرزند باشیم.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

رضایت بیماران که نمونه خون دادند گرفته شد و تمام کارهای قانونی مقاله انجام شده است. ولی از داده‌ها و یافته‌ها در این کار استفاده نشد، چون کار مروری و مقایسه‌ای بود. کد اخلاق در دانشگاه علوم‌پزشکی زاهدان ثبت شده است (IR.ZAUMS.REC.1399.167).

حامی مالی

این مقاله از طرف هیچ نهاد یا مؤسسه‌ای حمایت مالی نشده است.

مشارکت نویسندگان

بررسی مقالات و نگارش نسخه اولیه مقاله: نسیم نعیمی؛ بازبینی و تأیید نسخه نهایی مقاله: هما محسنی کوچصفهانی؛ مشاوره، طراحی مطالعه، بازبینی و تأیید نسخه اصلی مقاله: زهرا حیدری؛ استخراج مقالات، راهنمایی و مشاوره: حمیدرضا محمودزاده ثاقب؛ جمع‌آوری و بررسی مقالات: سعید موحد.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.

References

[1] Chambers GM, Dyer S, Zegers-Hochschild F, de Mouzon J, Ishihara O, Banker M, et al. International committee for monitoring assisted reproductive technologies world report: Assisted reproductive technology, 2014. Hum Reprod. 2021; 36(11):2921-34. [DOI:10.1093/humrep/deab198] [PMID]

[2] Chung E, Arafa M, Boitrelle F, Kandil H, Henkel R, Saleh R, et al. The new 6th edition of the WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen: Is it a step toward better standard operating procedure? Asian J Androl. 2022; 24(2):123-4. [DOI:10.4103/aja2021118] [PMID] [PMCID]

[3] Hosseini J, Emadedin M, Mokhtarpour H, Sorani M. [Prevalence of primary and secondary infertility in four selected provinces in Iran, 2010-2011 (Persian)]. Iran J Obstet Gynecol Infertility. 2012; 15(29):1-7. [DOI:10.22038/IJOGI.2012.56]

[4] The Lancet Global Health. Infertility-why the silence? Lancet Glob Health. 2022; 10(6):e773. [DOI:10.1016/S2214-109X(22)00215-7] [PMID]

[5] Agarwal A, Mulgund A, Hamada A, Chyatte MR. A unique view on male infertility around the globe. Reprod Biol Endocrinol. 2015; 13:37. [DOI:10.1186/s12958-015-0032-1] [PMID] [PMCID]

[6] Saei Ghare Naz M, Ozgoli G, Sayehmiri K. Prevalence of infertility in Iran: A systematic review and meta-analysis. Urol J. 2020; 17(4):338-45. [DOI:10.22037/uj.v0i0.5610] [PMID]

[7] Tang Q, Wu W, Zhang J, Fan R, Liu M. Environmental factors and male infertility. In: Meccariello R, Chianese C, editors. Spermatozoa. London: IntechOpen; 2017. [DOI:10.5772/intechopen.71553]

[8] Forouhari S, Mahmoudi E, Safdarian E, Beygi Z, Gheibihayat SM. MicroRNA: A potential diagnosis for male infertility. Mini Rev Med Chem. 2021; 8(2):113-8. [DOI:10.2174/1389557520999201209213319]

[9] Khazaie Y, Nasr Esfahani MH. MicroRNA and male infertility: A potential for diagnosis. Int J Fertil Steril. 2014; 8(2):113-8. [PMID] [PMCID]

[10] Niederberger C. Re: Using miRNAs as diagnostic biomarkers for male infertility: Opportunities and challenges. J Urol. 2020; 204(5):1082-3. [DOI:10.1097/JU.0000000000001253.04]

[11] Heidari Z, Moudi B, Sheibak N, Asemi-Rad A, Keikha N, Mahmoudzadeh-Sagheb H, et al. Interleukin 22 expression during the implantation window in the endometrium of women with unexplained recurrent pregnancy loss and unexplained infertility compared to healthy parturient individuals. J Interferon Cytokine Res. 2021; 41(12):461-8. [DOI:10.1089/jir.2021.0160] [PMID]

[12] Kiani M, Salehi M, Mogheiseh A. MicroRNA expression in infertile men: Its alterations and effects. Zygote. 2019; 27(5):263-71. [DOI:10.1017/S0967199419000340] [PMID]

[13] Alves MBR, Celeghini ECC, Belleannée C. From sperm motility to sperm-borne microRNA signatures: New approaches to predict male fertility potential. Front Cell Dev Biol. 2020; 8:791. [DOI:10.3389/fcell.2020.00791] [PMID] [PMCID]

[14] Barbu MG, Thompson DC, Suciu N, Voinea SC, Cretoiu D, Predescu DV. The roles of microRNAs in male infertility. Int J Mol Sci. 2021; 22(6):2910. [DOI:10.3390/ijms22062910] [PMID] [PMCID]

[15] Farzaneh Z, Farzaneh M. Prevention and treatment of hepatocellular carcinoma using miRNAs. Arch Iran Med. 2022; 25(2):133-8. [DOI:10.34172/aim.2022.23] [PMID]

[16] Vashisht A, Gahlay GK. Using miRNAs as diagnostic biomarkers for male infertility: Opportunities and challenges. Mol Hum Reprod. 2020; 26(4):199-214. [DOI:10.1093/molehr/gaaa016] [PMID]

[17] Corral-Vazquez C, Salas-Huetos A, Blanco J, Vidal F, Sarrate Z, Anton E. Sperm microRNA pairs: New perspectives in the search for male fertility biomarkers. Fertil Steril. 2019; 112(5):831-41. [PMID]

[18] Abu-Halima M, Hammadeh M, Backes C, Fischer U, Leidinger P, Lubbad AM, et al. Panel of five microRNAs as potential biomarkers for the diagnosis and assessment of male infertility. Fertil Steril. 2014; 102(4):989-97.e1. [DOI:10.1016/j.fertnstert.2014.07.001] [PMID]

[19] Abu-Halima M, Hammadeh M, Schmitt J, Leidinger P, Keller A, Meese E, et al. Altered microRNA expression profiles of human spermatozoa in patients with different spermatogenic impairments. Fertil Steril. 2013; 99(5):1249-55.e16. [DOI:10.1016/j.fertnstert.2012.11.054] [PMID]

[20] Glinge C, Clauss S, Boddum K, Jabbari R, Jabbari J, Risgaard B, et al. Stability of circulating blood-based microRNAs-pre-analytic methodological considerations. Plos One. 2017; 12(2):e0167969. [DOI:10.1371/journal.pone.0167969] [PMID] [PMCID]

[21] Lawrie CH, Gal S, Dunlop HM, Pushkaran B, Liggins AP, Pulford K, et al. Detection of elevated levels of tumour-associated microRNAs in serum of patients with diffuse large B-cell lymphoma. Br J Haematol. 2008; 141(5):672-5. [DOI:10.1111/j.1365-2141.2008.07077.x] [PMID]

[22] Burgos CF, Cikutovic R, Alarcón M. MicroRNA expression in male infertility. Reprod Fertil Dev. 2022; 34(12):805-18. [DOI:10.1071/RD21131] [PMID]

[23] Radtke A, Dieckmann KP, Grobelny F, Salzbrunn A, Oing C, Schulze W, et al. Expression of miRNA-371a-3p in seminal plasma and ejaculate is associated with sperm concentration. Andrology. 2019; 7(4):469-74. [DOI:10.1111/andr.12664] [PMID]

[24] Wu W, Hu Z, Qin Y, Dong J, Dai J, Lu C, et al. Seminal plasma microRNAs: Potential biomarkers for spermatogenesis status. Mol Hum Reprod. 2012; 18(10):489-97. [DOI:10.1093/molehr/gas022] [PMID]

[25] Ammari M, Jorgensen C, Apparailly F. Impact of microRNAs on the understanding and treatment of rheumatoid arthritis. Curr Opin Rheumatol. 2013; 25(2):225-33. [DOI:10.1097/BOR.0b013e32835d8385] [PMID]

[26] Daneshmandpour Y, Bahmanpour Z, Hamzeiy H, Mazaheri Moghaddam M, Mazaheri Moghaddam M, Khademi B, et al. MicroRNAs association with azoospermia, oligospermia, asthenozoospermia, and teratozoospermia: A systematic review. J Assist Reprod Genet. 2020; 37(4):763-75. [DOI:10.1007/s10815-019-01674-9] [PMID] [PMCID]

[27] Khawar MB, Mehmood R, Roohi N. MicroRNAs: Recent insights towards their role in male infertility and reproductive cancers. Bosn J Basic Med Sci. 2019; 19(1):31-42. [DOI:10.17305/bjbms.2018.3477] [PMID] [PMCID]

[28] Chen X, Li X, Guo J, Zhang P, Zeng W. The roles of microRNAs in regulation of mammalian spermatogenesis. J Anim Sci Biotechnol. 2017; 8:355. [DOI:10.1186/s40104-017-0166-4] [PMID] [PMCID]

[29] Hanna E, Gough B. Experiencing male infertility: A review of the qualitative research literature. Sage Open. 2015; 5(4). [DOI:10.1177/2158244015610319]

[30] Hamada A, Esteves SC, Nizza M, Agarwal A. Unexplained male infertility: Diagnosis and management. Int Braz J Urol. 2012; 38:576-94. [DOI:10.1590/S1677-55382012000500002] [PMID]

[31] Dooley M, Dineen T, Sarma K, Nolan A. The psychological impact of infertility and fertility treatment on the male partner. Hum Fertil. 2014; 17(3):203-9. [DOI:10.3109/14647273.2014.942390] [PMID]

[32] Esteves SC, Zini A, Aziz N, Alvarez JG, Sabanegh ES Jr, Agarwal A. Critical appraisal of World Health Organization's new reference values for human semen characteristics and effect on diagnosis and treatment of subfertile men. Urology. 2012; 79(1):16-22. [DOI:10.1016/j.urology.2011.08.003] [PMID]

[33] Kapadia AA, Walsh TJ. Testicular mapping: A roadmap to sperm retrieval in nonobstructive azoospermia? Urol Clin North Am. 2020; 47(2):157-64. [DOI:10.1016/j.ucl.2019.12.013] [PMID]

[34] Malcher A, Rozwadowska N, Stokowy T, Kolanowski T, Jedrzejczak P, Zietkowiak W, et al. Potential biomarkers of nonobstructive azoospermia identified in microarray gene expression analysis. Fertil Steril. 2013; 100(6):1686-94.e1-7. [DOI:10.1016/j.fertnstert.2013.07.1999] [PMID]

[35] Salas-Huetos A, James ER, Aston KI, Carrell DT, Jenkins TG, Yeste M. The role of miRNAs in male human reproduction: A systematic review. Andrology. 2020; 8(1):7-26. [DOI:10.1111/andr.12714] [PMID]

[36] Naeimi N, Mohseni Kouchesfehani H, Heidari Z, Mahmoudzadeh-Sagheb H, Movahed S. CHD5 gene (rs9434741) might be a genetic risk factor for infertility in non-obstructive azoospermia and severe oligozoospermia. Andrologia. 2022; 54(11):e14590. [DOI:10.1111/and.14590] [PMID]

[37] Boissière A, Gala A, Ferrières-Hoa A, Mullet T, Baillet S, Petiton A, et al. Cell-free and intracellular nucleic acids: New non-invasive biomarkers to explore male infertility. Basic Clin Androl . 2017; 27:7. [DOI:10.1186/s12610-017-0052-0] [PMID] [PMCID]

[38] Ghaebi M, Abdolmohammadi-Vahid S, Ahmadi M, Eghbal-Fard S, Dolati S, Nouri M, et al. T cell subsets in peripheral blood of women with recurrent implantation failure. J Reprod Immunol. 2019; 131:21-9. [DOI:10.1016/j.jri.2018.11.002] [PMID]

[39] Cito G, Coccia ME, Salvianti F, Fucci R, Picone R, Giachini C, et al. Blood plasma miR-20a-5p expression as a potential non-invasive diagnostic biomarker of male infertility: A pilot study. Andrology. 2020; 8(5):1256-64. [DOI:10.1111/andr.12816] [PMID]

[40] Dieckmann KP, Radtke A, Spiekermann M, Balks T, Matthies C, Becker P, et al. Serum levels of microRNA miR-371a-3p: A sensitive and specific new biomarker for germ cell tumours. Eur Urol. 2017; 71(2):213-20. [DOI:10.1016/j.eururo.2016.07.029] [PMID]

[41] Trzybulska D, Bobjer J, Giwercman A, Tsatsanis C. Serum microRNAs in male subfertility-biomarkers and a potential pathogenetic link to metabolic syndrome. J Assist Reprod Genet. 2017; 34(10):1277-82. [DOI:10.1007/s10815-017-0989-0] [PMID] [PMCID]

[42] Tsatsanis C, Bobjer J, Rastkhani H, Dermitzaki E, Katrinaki M, Margioris AN, et al. Serum miR-155 as a potential biomarker of male fertility. Hum Reprod. 2015; 30(4):853-60. [DOI:10.1093/humrep/dev031] [PMID]

[43] Kotaja N. MicroRNAs and spermatogenesis. Fertil Steril. 2014; 101(6):1552-62. [DOI:10.1016/j.fertnstert.2014.04.025] [PMID]

[44] Macha MA, Seshacharyulu P, Krishn SR, Pai P, Rachagani S, Jain M, et al. MicroRNAs (miRNAs) as biomarker(s) for prognosis and diagnosis of gastrointestinal (GI) cancers. Curr Pharm Des. 2014; 20(33):5287-97. [DOI:10.2174/1381612820666140128213117] [PMID] [PMCID]

[45] Witwer KW. Circulating microRNA biomarker studies: Pitfalls and potential solutions. Clin Chem. 2015; 61(1):56-63. [DOI:10.1373/clinchem.2014.221341] [PMID]

[46] van Rooij E, Kauppinen S. Development of microRNA therapeutics is coming of age. EMBO Mol Med. 2014; 6(7):851-64. [DOI:10.15252/emmm.201100899] [PMID] [PMCID]

[47] Asadpour R, Mofidi Chelan E. Using microRNAs as molecular biomarkers for the evaluation of male infertility. Andrologia. 2022; 54(2):e14298. [DOI:10.1111/and.14298] [PMID]

This Page Intentionally Left Blank