مقاله پژوهشی

مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال بیست و پنجم/شماره ۸۷/زمستان ۱۳۸۶

# تأثیر واریکوسلکتومی بر پارامترهای سمن و کمبود پروتامین اسپرم سه و شش ماه پس از عمل جراحی

سمیرا اشرفی*، محمد حسین نصر اصفهانی**، شهناز رضوی***، همایون عباسی****، فرحناز مولوی****، مرضیه تولایی**.

* کارشناسی ارشد فیزیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور اصفهان

** گروه جنین‌شناسی، پژوهشکده‌ی رویان پایگاه اصفهان و مرکز باروری و ناباروری اصفهان

*** گروه علوم تشریحی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

**** مرکز باروری و ناباروری اصفهان

**تاریخ دریافت:** ۸۶/۵/۸

**تاریخ پذیرش:** ۸۶/۹/۲۰

## چکیده

**مقدمه:** برای ارزیابی کارایی عمل واریکوسلکتومی از روش‌های متفاوت مانند بررسی پارامترهای سمن یا موفقیت در حاملگی استفاده می‌شود، اما به دلیل تغییرات بیولوژیکی فراوان پارامترهای سمن، عوامل دیگری هم پیشنهاد شده است. هدف از این مطالعه، ارزیابی تأثیر عمل واریکوسلکتومی بر روی پارامترهای سمن و کمبود پروتامین در بیماران مبتلا به واریکوسل بود.

**روش‌ها:** نمونه‌ی سمن از ۱۹۲ بیمار مراجعه‌کننده به مرکز باروری و ناباروری اصفهان جمع‌آوری شد و پارامترهای آن (غلظت، تحرک و مورفولوژی) و ارزیابی کمبود پروتامین (با رنگ‌آمیزی کروموماسین $A_3$) قبل، سه و شش ماه پس از جراحی، بررسی گردید. نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون آماری t-test تحلیل شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که سه پارامتر سمن و درصد اسپرم با محتوای طبیعی پروتامین پس از عمل بهبودی می‌یابد ($p<۰/۰۱$). همچنین پس از عمل جراحی ۳۴/۶٪ زوج‌ها حامله شدند. مقایسه‌ی پارامترهای سمن و کمبود پروتامین نشان داد که بین غلظت و درصد مورفولوژی طبیعی اسپرم قبل و بعد از عمل، در دو گروه حامله و غیرحامله تفاوت وجود دارد ($p<۰/۰۵$)؛ بعد از عمل، درصد اسپرم با سر طبیعی و درصد اسپرم با زوائد سیتوپلاسمی نیز بین دو گروه حامله و غیر حامله تفاوت نشان می‌دهد ($p<۰/۰۵$).

**نتیجه‌گیری:** عمل واریکوسلکتومی می‌تواند باعث کاهش عوامل مخرب اسپرماتید در مرحله‌ی اسپرمیوژنز شود. یافته‌های این مطالعه بیان می‌کند که علاوه بر پارامترهای سمن، محتوای طبیعی پروتامین، درصد زائده‌ی سیتوپلاسمی و مورفولوژی طبیعی آکروزوم، به عنوان شاخص بلوغ اسپرم پس از عمل جراحی بهبودی نشان می‌دهند. پیشنهاد می‌شود بیماران با آکروزوم غیرطبیعی و ناهنجاری هسته، کاندید مناسبی برای عمل واریکوسلکتومی باشند. افزون بر این، در بیمارانی که دارای تعداد اسپرم اولیه‌ی پایینی بوده‌اند شانس باروری پس از عمل جراحی کم است. همچنین برای بیمارانی که تعداد اسپرم آنان کم یا درصد زوائد سیتوپلاسمی آنان زیاد است استفاده از روش‌های کمک باروری یا واریکوسلکتومی به همراه این روش‌ها پیشنهاد می‌شود.

**واژگان کلیدی:** واریکوسل، واریکوسلکتومی، کروماتین اسپرم، باروری، زائده‌ی سیتوپلاسمی، کمبود پروتامین

تعداد صفحات: ۱۲

تعداد جدول‌ها: ۳

تعداد نمودارها: ۲

تعداد منابع: ۵۶

**آدرس نویسندهٔ مسئول:** سمیرا اشرفی، پژوهشکده‌ی رویان، اصفهان

E-mail: sa_ashrafi @yahoo.com



www.mui.ac.ir

**مقدمه**

واریکوسل به اتساع پاتولوژیک وریدهای اسپرماتیک اطلاق می‌شود. این بیماری در نزدیک به ۱۵ درصد جمعیت مردان وجود دارد. اگرچه علائم بالینی واریکوسل در مردان نابارور تا ۴۰ درصد دیده می‌شود (۳-۱). این موضوع که واریکوسل به چه میزان و چگونه سیستم تولید مثلی را تخریب می‌کند، هنوز مورد بحث و بررسی می‌باشد (۵-۴). هنوز به طور کامل مشخص نشده است که درمان واریکوسل جهت بازیابی عملکرد تستیکولار به طور واقعی مؤثر باشد. هرچند اهمیت درمان در مردان بالغ و نیز در پیش از بلوغ به طور معمول پذیرفته شده است، با این وجود بیشتر مقالات اخیر اختلاف نظر فراوانی درخصوص تأثیر درمان در افراد بالغ دارند (۷-۶). واریکوسل با روش‌هایی مانند آمبولیزاسیون رادیولوژیکال، یا جراحی مانند واریکوسلکتومی قابل درمان است که در این زمینه از میکروسرجری به عنوان استاندارد طلایی ترمیم واریکوسل نام برده می‌شود (۹-۸).

امروزه با وجود تکنیک‌های کمک باروری (ART)، جراحی رایج‌ترین روش درمان واریکوسل محسوب می‌شود (۱۰). برای ارزیابی کارآیی واریکوسلکتومی از روش‌های مختلف مانند میزان موفقیت در حاملگی یا بهبودی یک، دو و یا همه‌ی پارامترهای اسپرمی استفاده می‌شود (۶). در صورتی که فقط حاملگی برای ارزیابی کارآیی واریکوسلکتومی مورد نظر باشد، فاکتورهای زنانه نیز نتایج را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۱۱).

مطالعه‌ی Fisher و Sandlow حاکی از آن است که در اغلب تحقیقات، دانسیته‌ی اسپرم پس از عمل واریکوسلکتومی بهبود یافته است (۱۲). اما برخی از مطالعات جدید نشان می‌دهد که عمل جراحی در بهبود دانسیته تأثیر نداشته است (۱۴-۱۳). اگر چه این پارامترها برای ارزیابی کارآیی واریکوسلکتومی کاربرد دارد اما ارزش نتایج آن به دلیل تغییرات بیولوژیکی فراوان پارامترها محدود است؛ بنابراین عوامل دیگری که میزان کم‌تری از تغییرات بیولوژیک را داشته باشند مانند سلامت DNA، جهت ارزیابی واریکوسلکتومی پیشنهاد می‌شود (۱۶-۱۵). سلامت DNA به تراکم ساختار کروماتین بستگی دارد که با جایگزینی پروتامین به جای هیستون‌های هسته‌ای در طی اسپرمیوژنز رخ می‌دهد (۱۸-۱۷). بیماران نابارور مبتلا به واریکوسل به طور بارز دارای تعداد بیشتری اسپرماتوزوآی حاوی اختلالات کروماتین نسبت به افراد بارور نرمال و افراد بارور مبتلا به واریکوسل می‌باشند (۱۹). رنگ‌آمیزی کروموماسین $A_3$ ($CMA_3$) به دلیل جایگزینی $CMA_3$ در مکان‌های دارای کمبود پروتامین به طور معکوس با میزان پروتامین رابطه دارد و کمبود پروتامین را به صورت کلی و به طور غیرمستقیم ارزیابی می‌نماید (۲۰). کمبود پروتامین نیز بر ناهنجارهای فراساختاری کروماتین اسپرم تأثیرگذار است (۲۱).

قابل توجه است که در بیماران نابارور، درصد اسپرم‌های $CMA_3$ مثبت افزایش نشان می‌دهد (۲۶-۲۲). افزون بر این، رابطه‌ی بین رنگ‌آمیزی $CMA_3$ اسپرم و نتایج باروری نیز مشخص شده است (۲۸-۲۷). کمبود پروتامین یکی از دلایل اساسی عدم موفقیت در باروری به هنگام استفاده از تکنیک‌های کمک باروری از جمله Intact Cytoplasmic Sperm Insemination (ICSI) است (۲۴). بنابراین هدف از این مطالعه، ارزیابی تأثیر واریکوسلکتومی بر پارامترهای اسپرم و کمبود پروتامین سه و شش ماه پس از عمل جراحی بود.



www.mui.ac.ir

## روش‌ها

• *انتخاب بیماران:*

این مطالعه بر روی ۱۷۹ زوج نابارور و ۱۳ مرد مجرد مراجعه‌کننده به مرکز ناباروری و باروری اصفهان جهت انجام عمل واریکوسلکتومی (میکروسرجری) انجام شده است. این افراد به روش نمونه‌گیری آسان انتخاب شدند. زوج‌ها دارای دست کم یک سال ناباروری و همه‌ی بیماران دارای واریکوسل بالینی درجه‌ی ۲ یا ۳ بودند که واریکوسل آنها به وسیله‌ی سونوگرافی داپلر و توسط پزشک اورولوژیست تشخیص داده شد.

تعدادی از بیماران با علائم لوکوسیتواسپرمیا (در نمونه‌ی سمن تعداد لوکوسیت‌ها بیش از یک درصد باشد)، هایپوگنادیسم (حجم بیضه‌ی کم‌تر از ۱۵ میلی‌لیتر) یا عفونت در دستگاه ادراری تناسلی از مطالعه خارج شدند. از بیماران جهت انجام تحقیق رضایت‌نامه‌ی کتبی دریافت شد. ضمن این که اجرای آن توسط کمیته‌ی تحقیقاتی اخلاقی پژوهشکده‌ی رویان و مرکز باروری و ناباروری اصفهان تأیید شد.

• *جمع آوری سمن:*

نمونه‌ی سمن بیماران بعد از ۴-۳ روز جلوگیری جمع‌آوری شد. نیم ساعت پس از جمع‌آوری نمونه و مایع شدن سمن (liquification) آنالیز پارامترهای سمن (غلظت، تحرک و ...) ارزیابی گردید. پس از آنالیز سمن، ارزیابی مورفولوژی اسپرم توسط رنگ‌آمیزی پاپانیکولا و بررسی وضعیت کروماتین توسط رنگ‌آمیزی کروموماپسین $A_3$ ($CMA_3$) انجام گرفت.

• *ارزیابی اسپرم:*

پس از استفاده از محلول فیکساتیو و ثابت نمودن اسپرم‌ها، شمارش آنها برحسب میلیون در لیتر با استفاده از دستگاه شمارش اسپرم (Makler Counting Chumber) انجام گرفت. بررسی میزان تحرک اسپرم توسط مشاهده‌ی مستقیم در زیر میکروسکوپ براساس معیار سازمان جهانی بهداشت (WHO) شامل ۴ نوع حرکت پیشرونده‌ی سریع و خطی، حرکت پیشرونده‌ی آهسته خطی یا غیرخطی، حرکت غیرپیشرونده و اسپرم‌های غیرمتحرک می‌باشد.

• *استفاده از رنگ‌آمیزی پاپانیکولا جهت ارزیابی مورفولوژی اسپرم:*

پس از فیکس کردن نمونه‌ی سمن توسط محلول اتانول-اتر و رنگ‌آمیزی به مدت ۲ دقیقه با محلول هماتوکسیلین هاریس ($pap_1$)، لام‌ها برای حذف رنگ اضافی در آب جاری شستشو گردید و سپس به مدت ۲ دقیقه در الکل آمونیاکی قرار داده شد. آب‌گیری با غوطه‌ور کردن در اتانول ۷۰ درصد و ۹۶ درصد به مدت چند ثانیه انجام شد. در مرحله‌ی بعد به ترتیب، رنگ‌آمیزی با محلول اورانژ-G6 ($pap_2$) به مدت ۱ دقیقه، غوطه‌ور کردن در اتانول ۹۶ درجه به مدت چند ثانیه، رنگ‌آمیزی با ائوزین آزو ۵۰ ($pap_3$) به مدت ۱ دقیقه، غوطه‌ور کردن در اتانول ۹۶ درجه به مدت چند ثانیه و غوطه‌ور کردن در اتانول مطلق انجام گرفت. در پایان برای شفاف‌سازی، لام‌ها به مدت ۵ دقیقه در گزیلل قرار گرفته، با یک قطره‌ی چسب انتلان لامل‌گذاری شد.

• *ارزیابی مورفولوژی اسپرم بر اساس معیار دقیق Strict criteria:*

برای ارزیابی مرفولوژی اسپرم از معیار Strict criteria استفاده شد. براساس این معیار، هر یک از ناهنجاری‌های سر، گردن و دم اسپرم تعیین گردید. درصد انواع ناهنجاری سر اسپرم شامل سر کروی، کشیده، بدون شکل (جزئی، شدید)، ماکروسفال،



www.mui.ac.ir

میکروسفال، گلابی شکل، دوتایی و سر سوزنی است.

در معیار Strict criteria اسپرم‌هایی نرمال در نظر گرفته می‌شوند که شکل سر بیضی با یک محیط صاف و اندازه‌ی کلاهک آکروزومی در حدود ۴۰ تا ۷۰ درصد سر اسپرم و همچنین فاقد آنومالی در ناحیه‌ی گردن، قطعه‌ی میانی یا دم باشد. لازم به ذکر است در هر اسمیر ۱۰۰ اسپرم مورد بررسی قرار گرفت.

• *استفاده از رنگ‌آمیزی کروموماپسین $A_3$ جهت بررسی کمبود پروتامین:*

پس از فیکس کردن نمونه‌ی سمن در محلول کارنوی (متانول و اسید استیک گلاسیال به نسبت ۳:۱) به مدت ۵ دقیقه در ۴ درجه سانتی‌گراد، اسمیر از آن تهیه شد. برای رنگ‌آمیزی هر اسلاید از ۱۰۰ میکرولیتر محلول کروموماپسین $A_3$ (Sigma USA) ۰/۲۵ میلی‌گرم در یک میلی‌لیتر بافر مک الوین Mcllvain buffer با pH=۷ حاوی ۱۰ میلی‌مولار کلرید منیزیم) به مدت ۲۰ دقیقه استفاده شد و برای حذف باقی مانده‌ی رنگ اضافی، اسلایدها در محلول بافر مک الوین شسته و با استفاده از یک قطره بافر گلیسرول لامل روی آن چسبانده شد. بررسی میکروسکوپی اسلایدها در همان روز و با فیلترهای مناسب توسط میکروسکوپ Nikon Eclipse 600 صورت گرفت. درصد اسپرم‌های رنگ گرفته به رنگ زرد درخشان ($CMA_3$ مثبت) و رنگ نگرفته ($CMA_3$ منفی) محاسبه شد.

• *روش بررسی آماری:*

پس از جمع‌آوری داده‌ها آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS (SPSS, Inc. Chicago, IL) انجام گرفت، با استفاده از آنالیز توصیفی، پائین‌ترین، بیشترین میانگین ± انحراف معیار تمام پارامترهای مورد مطالعه تعیین گردید (جدول ۱). همچنین با استفاده از آزمون paired t-test مقایسه‌ی پارامترهای مورد نظر در سه و شش ماه پس از عمل واریکوسلکتومی نسبت به قبل از آن انجام شد (جداول ۲ و ۳).

**جدول ۱. آنالیز توصیفی پارامترهای سمن و در صد اسپرم CMA3 مثبت قبل از عمل جراحی در کل بیماران**

| | حداقل | حداکثر | میانگین ± انحراف معیار |
|---|---|---|---|
| سن مردان | ۱۹ | ۴۵ | ۳۰/۰۴ ± ۴/۳۹ |
| سن زنان | ۱۸ | ۴۰ | ۲۶/۱۰ ± ۴/۲۷ |
| مدت زمان ناباروری (سال) | ۱ | ۱۰ | ۳/۰۰ ±۲ /۰۶ |
| حجم سمن (mL) | ۰/۲ | ۸/۳ | ۲/۹۴±۱/۶۵ |
| غلظت اسپرم (۱۰^۶/ ml)* | ۰/۲۰ | ۱۶۰/۰۰ | ۴۴/۸۴ ± ۳۹/۱۲ |
| غلظت کل اسپرم** | ۰/۴ | ۷۶۳ | ۱۳۴/۶۷±۱۳۹/۳۲ |
| تحرک اسپرم | ۰/۰۰ | ۸۲/۰۰ | ۴۹/۵۱ ± ۱۸/۰۶ |
| درصد اسپرم با مرفولوژی طبیعی | ۰/۰۰ | ۵۹/۰۰ | ۱۵/۱۹ ± ۷/۸۹ |
| درصد اسپرم CMA3+ | ۱۵/۰۰ | ۹۰/۰۰ | ۶۰/۱۸ ± ۱۵/۲۵ |

* غلظت اسپرم: تعداد اسپرم در ml ۱

** غلظت کل اسپرم: تعداد کل اسپرم در کل حجم نمونه‌ی سمن

**جدول ۲. مقایسه‌ی میانگین پارامترهای سمن و درصد اسپرم‌های CMA3 مثبت قبل، سه و شش ماه پس از عمل جراحی در کل بیماران**

| | قبل از عمل (A) | ۳ ماه پس از عمل (B) | ۶ ماه پس از عمل (C) | Pvalue |
|---|---|---|---|---|
| غلظت اسپرم (۱۰^۶/ ml) | ۴۴/۷۵ ±۳/۲۳ | ۵۷/۲۱±۳/۱۷ | ۵۹/۲۴±۳/۹۳ | (A,B)* *-(A,C) ** |
| غلظت کل اسپرم | ۱۳۴/۹۱±۱۵/۶۰ | ۱۷۹/۴۹±۱۲/۹۲ | ۲۳۸/۶۱±۴۳/۸۸ | (A,B)* *-(A,C) ** |
| درصد تحرک اسپرم | ۴۸/۸۳±۱/۵۶ | ۵۱/۸۵±۱/۴۵ | ۵۴/۰۴±۱/۹۹ | (A,B)* *-(A,C) ** |
| درصد اسپرم با مورفولوژی طبیعی | ۱۴/۶۲±۰/۶۸ | ۲۰/۴۸±۰/۸۱ | ۲۸/۱±۱/۲۱ | (A,B) **-(A,C) **-(B,C) ** |
| درصد اسپرم‌های CMA3 مثبت | ۵۸/۹۰±۱/۳۵ | ۴۷/۰۸±۱/۵۸ | ۳۲/۹۶±۱/۶۵ | (A,B) **-(A,C) **-(B,C) ** |

* از نظر آماری نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار می‌باشد (p<۰/۰۱).



www.mui.ac.ir

جدول ۳. مقایسه‌ی درصد مرفولوژی طبیعی و زیرگروه‌های آن قبل، سه و شش ماه پس از عمل جراحی واریکوسلکتومی

| | قبل از عمل (A) | ۳ ماه پس از عمل (B) | ۶ ماه پس از عمل (C) | Pvalue |
|---|---|---|---|---|
| درصد مرفولوژی غیر طبیعی (کل) | ۸۵/۳۸±۰/۶۸ | ۷۹/۵۲±۰/۸۱ | ۷۱/۹۰±۱/۲۱ | (A,B) **-(A,C) **-(B,C) ** |
| درصد اسپرم با سر غیر طبیعی | ۸۲/۲۳±۰/۸۰ | ۷۶/۱۴±۰/۹۳ | ۶۸/۸۹±۱/۳۰ | (A,B) **-(A,C) **-(B,C) ** |
| درصد اسپرم با گردن غیر طبیعی | ۲۴/۲۸±۱/۰۶ | ۲۱/۳۶±۰/۹۶ | ۲۱/۴۸±۱/۳۳ | (A,B)* *-(A,C) ** |
| درصد اسپرم با دم غیر طبیعی | ۱۷/۸۴±۱۱/۶۳ | ۱۶/۲۴±۱۱/۰۸ | ۱۲/۴۵±۹/۱۲ | ---------- |
| درصد اسپرم با آکروزوم غیر طبیعی | ۳۰/۵۳±۱/۲۵ | ۲۷/۳۹±۱/۱۶ | ۲۶/۶۹±۱/۹۷ | (A,B)* *-(A,C) ** |
| درصد زائده‌ی سیتوپلاسمی | ۸/۵۶±۰/۵۰ | ۶/۱۲±۰/۴۲ | ۵/۳۶±۰/۵۰ | (A,B) **-(A,C) **-(B,C) ** |

** از نظر آماری نشان دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($p<۰/۰۱$).

## یافته‌ها

بررسی بر روی ۱۹۲ بیمار مبتلا به که تحت عمل جراحی واریکوسلکتومی قرار گرفته بودند، انجام شد. از این تعداد ۱۲۶ بیمار سه ماه پس از عمل جراحی و ۶۱ نفر تا ۶ ماه پس از عمل جهت نمونه‌گیری مجدد سمن مراجعه نمودند. از ۱۹۲ بیمار، ۱۳ بیمار مجرد بودند. شش ماه پس از عمل جراحی، وضعیت حاملگی بیماران مورد ارزیابی قرار گرفت. در زوج‌های مراجعه‌کننده ۵۳ مورد حاملگی و ۱۰۰ مورد عدم حاملگی مشاهده شد. در ضمن از نتایج حاملگی ۲۶ زوج اطلاعی در دسترس نبود.

جدول شماره‌ی ۱ یافته‌های تحلیل توصیفی پارامترهای سمن، درصد اسپرم‌های ($CMA_3$) مثبت، سن بیماران و همسرانشان و طول مدت ناباروری زوج‌های مراجعه‌کننده را نشان می‌دهد.

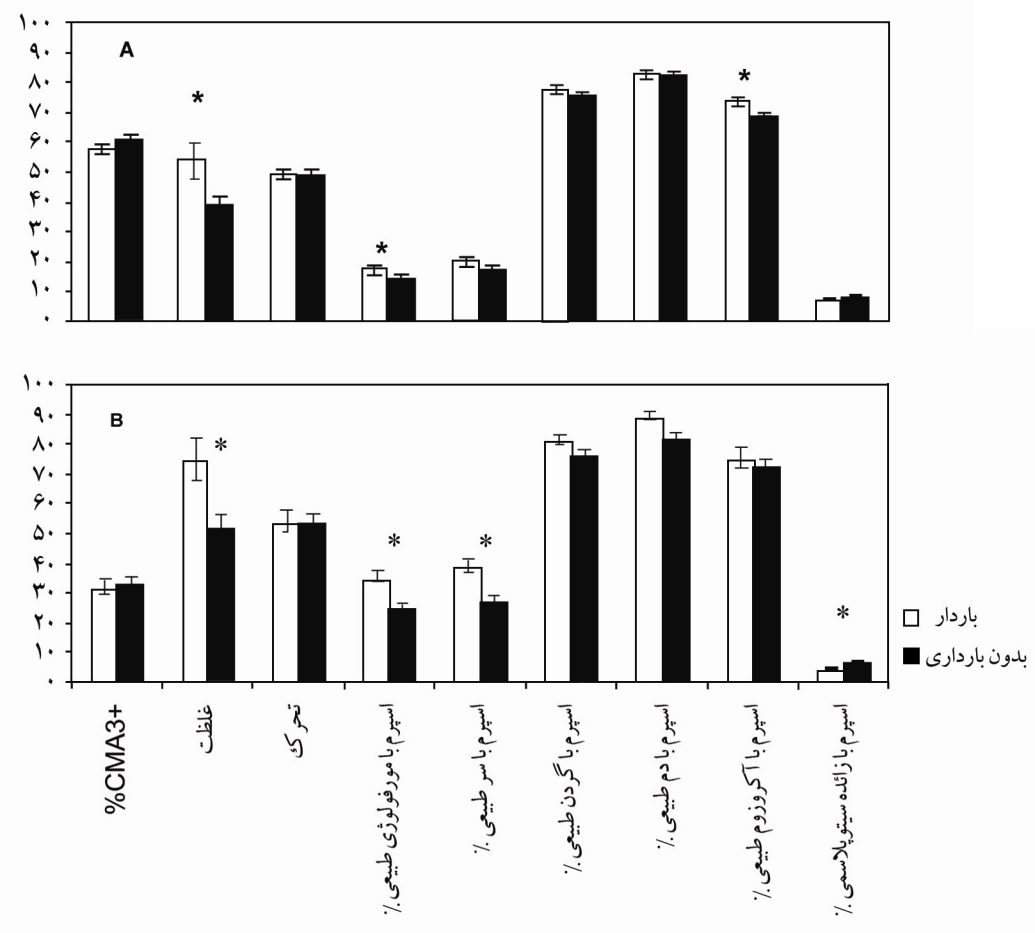
در جدول شماره‌ی ۲ مقایسه‌ی بین میانگین پارامترهای سمن و درصد اسپرم‌های ($CMA_3$) مثبت قبل از عمل جراحی، سه و شش ماه پس از آن دیده می‌شود. نتایج این جدول حاکی از آن است که هر سه پارامتر سمن و کمبود پروتامین سه و شش ماه پس از عمل جراحی بهبودی داشته است. همچنین در صورت مقایسه‌ی اطلاعات مربوط به سه و شش ماه پس از عمل جراحی مشاهده می‌شود که درصد اسپرم‌های دارای مورفولوژی و محتوای پروتامین طبیعی شش ماه پس از عمل نسبت به سه ماه پس از آن بهبودی معنی‌دار نشان می‌دهد.

جدول شماره‌ی ۳ مقایسه‌ی درصد اسپرم با مورفولوژی غیرطبیعی و زیرگروه‌های آن قبل، سه و شش ماه پس از عمل واریکوسلکتومی را نشان می‌دهد. این جدول نشانگر آن است که درصد سر، گردن، آکروزم غیرطبیعی و زوائد سیتوپلاسمی، سه و شش ماه پس از عمل جراحی کاهش چشمگیر دارد. این در صورتی است که درصد دم غیرطبیعی اسپرم کاهش معنی‌داری نسبت به قبل از عمل نشان نمی‌دهد.

در این مطالعه، وضعیت بارداری ۱۵۳ زوج پس از عمل جراحی بررسی شد که ۵۳ زوج (۳۴/۶ درصد) پس از عمل جراحی باردار شده بودند. لذا بیماران بر اساس وضعیت حاملگی و عدم حاملگی پس از عمل واریکوسلکتومی به دو گروه تقسیم شدند؛ سپس وضعیت پارامترهای سمن و کمبود پروتامین این دو گروه قبل از عمل (نمودار ۱.A) و شش ماه پس از عمل (نمودار ۱.B) مقایسه شد. ارزیابی نتایج نمودار ۱.A مشخص می‌کند که فقط میانگین غلظت اسپرم و درصد اسپرم با مورفولوژی طبیعی قبل از عمل جراحی بین دو گروه متفاوت است. همچنین بررسی زیرگروه‌های مورفولوژی نشان می‌دهد که فقط درصد آکروزم طبیعی قبل عمل جراحی بین دو گروه تفاوت دارد.



www.mui.ac.ir




**نمودار ۱. مقایسه‌ی پارامترهای سمن و محتوای پروتامین بیمارانی که همسرانشان پس از عمل جراحی باردار شده‌اند با گروهی که باردار نشده‌اند، قبل از عمل جراحی (A) و شش ماه پس از عمل جراحی (B)**

* از نظر آماری نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($p<۰/۰۵$)

(منظور از غلظت، غلظت اسپرم ($۱۰^۶$/ml) است).

نمودار ۱.B نشان می‌دهد که شش ماه پس از عمل جراحی غلظت و درصد مورفولوژی طبیعی اسپرم، درصد اسپرم با سر طبیعی و زوائد سیتوپلاسمی بین دو گروه بارور و نابارور تفاوت معنی‌دار دارد.

## بحث

رابطه‌ی بین واریکوسل و اختلال در روند اسپرماتوژنز به خوبی شناخته شده است (۳۱). در مطالعات مختلف، هر یک جنبه‌ای خاص از واریکوسل را بررسی نموده‌اند از جمله: هیپواسپرماتوژنز، اختلال در عملکرد سلول سرتولی، افزایش آسیب به DNA، ریزش سلول ژرم به طور زودرس و افزایش میزان اکسیژن فعال شده یا ROS (Reactive oxygen species) و ... (۳۲). اگرچه در برخی از تحقیقات، بهبودی پارامترهای اسپرمی و میزان حاملگی بعد از درمان واریکوسل گزارش شده است (۳۶،۶-۳۳). اما اثر واقعی واریکوسلکتومی بر باروری مردان بالغ همچنان مورد بحث است (۳۷،۷). افزون بر این برخی مطالعات تأثیر سودمند عمل واریکوسلکتومی را زیر سوال برده‌اند زیرا این تحقیقات، از نوع مورد- شاهدی بوده‌اند و مطالعات آینده‌نگر و به طور تصادفی کم‌تر انجام شده است (۷).



www.mui.ac.ir

برخی از متخصصان آندرولوژی روش IVF (In Vitro Fertilization) و ICSI را به جای عمل واریکوسلکتومی پیشنهاد می‌کنند (۱۲،۳۹–۳۸)؛ این در حالی است که تعدادی از مطالعات نشان می‌دهد که روش IVF و ICSI از واریکوسلکتومی مؤثرتر نمی‌باشد (۴۰).

بنابراین هدف از این مطالعه، ارزیابی تأثیر عمل واریکوسلکتومی بر روی وضعیت کروماتین اسپرم، پارامترهای سمن و میزان حاملگی بود. همچنین این فاکتورها در بیمارانی که همسرانشان بارور شده‌اند با کسانی که پس از انجام واریکوسلکتومی همسرانشان بارور نشده‌اند، مقایسه گردید.

در مطالعات مختلف، متوسط میزان باروری بعد از انجام واریکوسلکتومی ۳۲٪ گزارش شده است (۶). نتیجه‌ی مطالعه حاضر نشان می‌دهد که در مجموع، میزان حاملگی ۳۴/۶ درصد، شش ماه بعد از عمل واریکوسلکتومی است.

در اغلب مطالعات، دانسیته‌ی اسپرم پس از عمل واریکوسلکتومی بهبودی یافته است (۱۲). نتایج مطالعه‌ی حاضر با نتایج اکثر مطالعات در این زمینه همخوانی دارد. گرچه معدودی از پژوهش‌های اخیر بیان می‌کنند که دانسیته‌ی بعد از عمل جراحی بهبودی نشان نمی‌دهد (۱۴–۱۳).

مشابه با مطالعات دیگر، تحرک اسپرم و درصد اسپرم با مورفولوژی طبیعی بعد از عمل جراحی افزایش داشته است (۶). همچنین در این تحقیق محتوای طبیعی پروتامین نیز پس از عمل جراحی بهبودی داشت (جدول ۲). افزون بر این آنالیز زیرگروه‌های مورفولوژی اسپرم گویای آن است که به جز درصد اسپرم با دم طبیعی، بقیه‌ی زیرگروه‌های مورفولوژی که شامل درصد سر، آکروزم، گردن طبیعی و همچنین زوائد سیتوپلاسمی است، سه و شش ماه پس از عمل جراحی بهبودی نشان می‌دهد. بنابراین می‌توان احتمال داد که در این مطالعه بهبودی باروری ناشی از افزایش میزان اسپرم با سر طبیعی باشد.

بهبودی در مورفولوژی آکروزم بیانگر اتصال بهتر اسپرماتوزوآ به زونا است. برای اتصال اسپرم به زونا، افزون بر مورفولوژی طبیعی، آکروزم نرمال اسپرم نیز اهمیت دارد (۴۱). بنابراین افزایش درصد اسپرم با آکروزم طبیعی و بهبودی مورفولوژی آکروزم بعد از عمل جراحی می‌تواند باعث افزایش میزان باروری شود. به علاوه Cedenho و همکاران نشان دادند که در بیماران مبتلا به واریکوسل اتصال اسپرم به زونا ضعیف است (۴۲).

وجود زوائد سیتوپلاسمی در اسپرماتوزوآ با عملکرد ضعیف اسپرم و ناهنجاری‌های دیگر مانند اکسونم کوتاه‌تر (۴۳)، کاهش تحرک اسپرم (۴۴)، مورفولوژی غیرطبیعی در ناحیه‌ی سر و قطعه میانی (۴۶،۴۳–۴۵)، کاهش پتانسیل باروری (۴۷)، کاهش اتصال به زوناپلاسیدا (۴۸،۴۱)، افزایش میزان آسیب یا فراگمانتاسیون کروماتین و تخریب DNA (۴۹) و افزایش دایزومی کروموزوم (۵۰) ارتباط دارد. مکانیسم کاهش عملکرد اسپرم توسط زوائد سیتوپلاسمی با تغییرات مخرب در غشاء و افزایش میزان پراکسیداسیون لیپدها مرتبط است (۵۲–۵۱). همچنین ارتباط بین افزایش زوائد سیتوپلاسمی با ناباروری در مردان سیگاری یا مبتلا به واریکوسل مشاهده شده است. همچنین وجود زوائد سیتوپلاسمی به عنوان شاخص بلوغ اسپرم به کار برده می‌شود و نتایج این مطالعات مانند مطالعات قبلی (۵۳) حاکی از کاهش درصد



www.mui.ac.ir

زوائد سیتوپلاسمی و افزایش کیفیت نمونه‌ی اسپرمی پس از عمل جراحی است.

بهبودی پارامترهای سمن، به عنوان نتایج قابل اندازه‌گیری تأثیر عمل واریکوسلکتومی محسوب می‌شود، اما این پارامترها به علت تغییرات بیولوژیکی فراوان ارزش محدودی دارند. بنابراین بررسی بهبودی از طریق تست‌های عملکرد اسپرم مانند سلامت کروماتین اسپرم، که درجات پایینی از تغییرات را نشان می‌دهد، جهت ارزیابی تأثیر واریکوسلکتومی پیشنهاد می‌شود (۱۴).

ارزیابی وضعیت کروماتین اسپرم به وسیله رنگ آمیزی $CMA_3$، بیانگر کاهش درصد اسپرم‌های $CMA_3$ مثبت، سه و شش ماه پس از عمل جراحی است. پژوهش Ensico و همکاران نشان داد که در بیماران نابارور مبتلا به واریکوسل، نسبت به افراد بارور طبیعی و افراد دارای واریکوسل اما بارور، اختلال تراکم کروماتین و تخریب DNA بیشتری مشاهده می‌شود (۵۴). این بدان معناست که یکی از عواملی که در پتانسیل باروری بیماران مبتلا به واریکوسل تأثیر دارد در سطح سلول اسپرماتید است (۱۹) و بهبودی محتوای طبیعی پروتامین پس از عمل جراحی واریکوسلکتومی می‌تواند باعث کاهش احتمال آسیب یا قطعه قطعه شدن DNA شود (۲۸).

آنالیز پارامترهای سمن و کمبود پروتامین در بیمارانی که پس از عمل جراحی باردار شده‌اند، در مقایسه با کسانی که همسرانشان بعد از عمل باردار نشده‌اند، نشان می‌دهد که دانسیته و درصد مورفولوژی و آکروزم طبیعی قبل از عمل در زوج‌های دارای بارداری بالاتر بوده است (نمودار ۱.A). به علاوه شش ماه پس از عمل جراحی، در بیمارانی که همسرانشان پس از عمل جراحی باردار شده‌اند، بهبودی دانسیته بالاتری مشاهده می‌شود (۴۰ درصد در مقابل ۳۲ درصد). برخلاف تحرک اسپرم، بهبودی مشابهی با توجه به درصد مورفولوژی طبیعی اسپرم دیده شد (نمودار ۱.B).

بررسی زیرگروه‌های مورفولوژی اسپرم، شش ماه پس از عمل جراحی، نسبت به گروه دیگر، حاکی از افزایش درصد مورفولوژی طبیعی سر و کاهش درصد زوائد سیتوپلاسمی در بیمارانی است که همسرانشان باردار شده‌اند، این در صورتی است که درصد آکروزم طبیعی قبل از عمل جراحی در گروه دارای بارداری، نسبت به گروه دیگر، به طور آشکار بالاتر بود و شش ماه پس از عمل بین دو گروه تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

به طور کلی، پژوهشگران با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه پیشنهاد می‌کنند که مجموعه پارامترهای سمن و انسجام DNA در نتیجه‌ی عمل واریکوسلکتومی بهبودی می‌یابد ولی عوامل مهم ایجاد اختلاف در توانایی باروری عبارتست از بهبودی در وقایع تقسیم میوزی یا اسپرماتوسیتوژنز (Early spermatocytogensis) که منجر به افزایش تعداد اسپرم می‌گردد. همچنین بهبودی در مراحل نهایی اسپرمیوژنز (late spermiogenesis) که با خروج سیتوپلاسم اضافی از اسپرم اتفاق می‌افتد. تغییرات کروماتین و تشکیل آکروزم که پس از عمل جراحی در بین دو گروه دارای حاملگی و فاقد حاملگی تفاوتی ندارد، از وقایع اوایل اسپرمیوژنز است.

نکته‌ی جالب آن است که پروتین‌های چاپرون در دو موج تولید می‌شوند: در حین تقسیمات کاهشی و



www.mui.ac.ir

در انتهای اسپرمیوژنز (۵۵). لیما و همکاران در تأیید این نتایج کاهش قابل توجهی در بیان $HspA_2$ mRNA را به عنوان یک عضو از خانواده‌ی چاپرون‌ها در بیماران مبتلا به واریکوسل دارای کاهش تعداد اسپرم گزارش نمودند (۵۶).

برای بیمارانی با تعداد اسپرم کم یا درصد زوائد سیتوپلاسمی زیاد استفاده از روش‌های کمک باروری (ART) یا واریکوسلکتومی به همراه این تکنیک پیشنهاد می‌شود.

در نهایت، افزایش اسپرم‌هایی با مورفولوژی غیرطبیعی وکاهش تحرک و دانسیته‌ی اسپرم، به عنوان رایج‌ترین مشاهدات در آنالیز سمن بیماران نابارور مبتلا به واریکوسل در این مطالعه و سایر مطالعات دیده شد. احتمال دارد عمل واریکوسلکتومی باعث کاهش عوامل مخرب اسپرماتید در مرحله‌ی اسپرمیوژنز شود. نتایج این مطالعه بیان می‌کند که علاوه بر پارامترهای سمن، محتوای طبیعی پروتامین، درصد زائده‌ی سیتوپلاسمی و مورفولوژی طبیعی آکروزوم به عنوان شاخص بلوغ اسپرم پس از عمل جراحی بهبودی نشان می‌دهند. پیشنهاد می‌شود که بیمارانی با آکروزوم غیرطبیعی و ناهنجاری هسته، کاندید مناسبی برای عمل واریکوسلکتو باشند. افزون بر این، در بیمارانی که دارای تعداد اسپرم اولیه‌ی پایینی بوده‌اند، شانس باروری پس از عمل جراحی کم است. برای بیمارانی با تعداد اسپرم کم یا درصد زوائد سیتوپلاسمی زیاد استفاده از روش‌های کمک باروری یا واریکوسلکتومی به همراه این روش‌ها پیشنهاد می‌شود.

## تقدیر و تشکر

مجریان این پژوهش، مراتب تقدیر و تشکر خود را از مسؤولین محترم پژوهشکده‌ی رویان و همچنین متخصصان و کارشناسان محترم مرکز باروری و ناباروری اصفهان، که در انجام این پژوهش ما یاری نمودند، ابراز می‌نمایند.

## منابع

**1.** Greenberg SH, Lipshultz LI, Wein AJ. Experience with 425 subfertile male patients. J Urol 1978; 119(4):507-10.
**2.** Kursh ED. What is the incidence of varicocele in a fertile population? Fertil Steril 1987; 48(3):510-1.
**3.** Ismail MT, Sedor J, Hirsch IH. Are sperm motion parameters influenced by varicocele ligation? Fertil Steril 1999; 71(5):886-90.
**4.** Segenreich E, Israilov SR, Shmueli J, Niv E, Servadio C. Correlation between semen parameters and retrograde flow into the pampiniform plexus before and after varicocelectomy. Eur Urol 1997; 32(3):310-4.
**5.** Onozawa M, Endo F, Suetomi T, Takeshima H, Akaza H. Clinical study of varicocele: statistical analysis and the results of long-term follow-up. Int J Urol 2002; 9(8):455-61.
**6.** Schlesinger MH, Wilets IF, Nagler HM. Treatment outcome after varicocelectomy. A critical analysis. Urol Clin North Am 1994; 21(3):517-29.
**7.** Evers JL, Collins JA. Assessment of efficacy of varicocele repair for male subfertility: a systematic review. Lancet 2003; 361(9372):1849-52.
**8.** Grober ED, O'brien J, Jarvi KA, Zini A. Preservation of testicular arteries during subinguinal microsurgical varicocelectomy: clinical considerations. J Androl 2004; 25(5):740-3.
**9.** Goffette P, Hammer F, Mathurin P, Wese FX, Opsomer RJ, De CS et al. Recurrence of varicocele after spermatic vein embolization in young patients: radiological aspect. Acta Urol Belg 1995;63(2):55-6.
**10.** Cornud F, Belin X, Amar E, Delafontaine D, Helenon O, Moreau JF. Varicocele: strategies in diagnosis and treatment. Eur Radiol 1999; 9(3):536-45.
**11.** Barbalias GA, Liatsikos EN, Nikiforidis G, Siablis D. Treatment of varicocele for male infertility: a comparative study evaluating currently used approaches. Eur Urol 1998; 34(5):393-8.
**12.** Fisher L, Sandlow J. The role of varicocele treatment in the era of Assisted Reproductive



www.mui.ac.ir

Technology. Brazilian Journal of Urology 2001; 27(1):19-25.
**13.** Daitch JA, Bedaiwy MA, Pasqualotto EB, Hendin BN, Hallak J, Falcone T et al. Varicocelectomy improves intrauterine insemination success rates in men with varicocele. J Urol 2001; 165(5):1510-3.
**14.** Zini A, Blumenfeld A, Libman J, Willis J. Beneficial effect of microsurgical varicocelectomy on human sperm DNA integrity. Hum Reprod 2005; 20(4):1018-21.
**15.** Evenson DP, Jost LK, Baer RK, Turner TW, Schrader SM. Individuality of DNA denaturation patterns in human sperm as measured by the sperm chromatin structure assay. Reprod Toxicol 1991; 5(2):115-25
**16.** Zini A, Kamal K, Phang D, Willis J, Jarvi K. Biologic variability of sperm DNA denaturation in infertile men. Urology 2001; 58(2):258-61.
**17.** Mills NC, Means AR. Nonhistone chromosomal proteins of the developing rat testis. Biol Reprod 1977; 17(5):769-79.
**18.** Balhorn R. A model for the structure of chromatin in mammalian sperm. J Cell Biol 1982; 93(2):298-305.
**19.** El-Segini Y, Schill WB, Kohn FM, Zeid SA, Kamshushy AA, Marzouk S. Assessment of sperm functions in infertile patients with varicoceles. Andrologia 2002; 34(5):291-5.
**20.** Bizzaro D, Manicardi GC, Bianchi PG, Bianchi U, Mariethoz E, Sakkas D. In-situ competition between protamine and fluorochromes for sperm DNA. Mol Hum Reprod 1998; 4(2):127-32.
**21.** Iranpour FG, Nasr-Esfahani MH, Valojerdi MR, al-Taraihi TM. Chromomycin A3 staining as a useful tool for evaluation of male fertility. J Assist Reprod Genet 2000; 17(1):60-6.
**22.** Lolis D, Georgiou I, Syrrou M, Zikopoulos K, Konstantelli M, Messinis I. Chromomycin A3-staining as an indicator of protamine deficiency and fertilization. Int J Androl 1996; 19(1):23-7.
**23.** Franken DR, Franken CJ, de la GH, de VA. Normal sperm morphology and chromatin packaging: comparison between aniline blue and chromomycin A3 staining. Andrologia 1999; 31(6):361-6.
**24.** 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.
**25.** Nasr-Esfahani MH, Razavi S, Mozdarani H, Mardani M, Azvagi H. Relationship between protamine deficiency with fertilization rate and incidence of sperm premature chromosomal condensation post-ICSI. Andrologia 2004; 36(3):95-100.
**26.** Nasr-Esfahani MH, Salehi M, Razavi S, Mardani M, Bahramian H, Steger K et al. Effect of protamine-2 deficiency on ICSI outcome. Reprod Biomed Online 2004; 9(6):652-8.
**27.** Nasr-Esfahani MH, Razavi S, Mardani M. Relation between different human sperm nuclear maturity tests and in vitro fertilization. J Assist Reprod Genet 2001; 18(4):219-25.
**28.** Nasr-Esfahani MH, Salehi M, Razavi S, Anjomshoa M, Rozbahani S, Moulavi F et al. Effect of sperm DNA damage and sperm protamine deficiency on fertilization and embryo development post-ICSI. Reprod Biomed Online 2005; 11(2):198-205.
**29.** World Health Organization. WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Semen-Cervical Mucus Interaction. London: Cambridge University Press; 1999.
**30.** Kruger TF, Acosta AA, Simmons KF, Swanson RJ, Matta JF, Oehninger S. Predictive value of abnormal sperm morphology in in vitro fertilization. Fertil Steril 1988; 49(1):112-7.
**31.** Naughton CK, Nangia AK, Agarwal A. Pathophysiology of varicoceles in male infertility. Hum Reprod Update 2001; 7(5):473-81.
**32.** Saleh RA, Agarwal A, Sharma RK, Said TM, Sikka SC, Thomas AJ, Jr. Evaluation of nuclear DNA damage in spermatozoa from infertile men with varicocele. Fertil Steril 2003; 80(6):1431-6.
**33.** Stewart BH. Varicocele in infertility: incidence and results of surgical therapy. J Urol 1974; 112(2):222-3.
**34.** Dubin L, Amelar RD. Varicocele. Urol Clin North Am 1978; 5(3):563-72.
**35.** Newton R, Schinfeld JS, Schiff I. The effect of varicocelectomy on sperm count, motility, and conception rate. Fertil Steril 1980; 34(3):250-4.
**36.** Madgar I, Weissenberg R, Lunenfeld B, Karasik A, Goldwasser B. Controlled trial of high spermatic vein ligation for varicocele in infertile men. Fertil Steril 1995; 63(1):120-4.
**37.** Nieschlag E, Hertle L, Fischedick A, Abshagen K, Behre HM. Update on treatment of varicocele: counselling as effective as occlusion of the vena spermatica. Hum Reprod 1998; 13(8):2147-50.
**38.** Girardi SK, Goldstein M. Varicocele. Curr Ther Endocrinol Metab 1997; 6:355-8.
**39.** Penson DF, Paltiel AD, Krumholz HM, Palter S. The cost-effectiveness of treatment for varicocele related infertility. J Urol 2002; 168(6):2490-4.
**40.** Schlegel PN. Is assisted reproduction the optimal treatment for varicocele-associated male infertility? A cost-effectiveness analysis. Urology 1997; 49(1):83-90.
**41.** Liu DY, Baker HW. Morphology of spermatozoa bound to the zona pellucida of human oocytes that failed to fertilize in vitro. J Reprod Fertil 1992; 94(1):71-84.
**42.** Cedenho AP, Spaine DM, Barradas V, Srougi M, Oehninger S. Adolescents with varicocele have an



www.mui.ac.ir

impaired sperm-zona pellucida binding capacity. Fertil Steril 2002; 78(6):1339-40.
**43.** Gergely A, Kovanci E, Senturk L, Cosmi E, Vigue L, Huszar G. Morphometric assessment of mature and diminished-maturity human spermatozoa: sperm regions that reflect differences in maturity. Hum Reprod 1999; 14(8):2007-14.
**44.** Zini A, O'Bryan MK, Israel L, Schlegel PN. Human sperm NADH and NADPH diaphorase cytochemistry: correlation with sperm motility. Urology 1998; 51(3):464-8.
**45.** Huszar G, Vigue L. Incomplete development of human spermatozoa is associated with increased creatine phosphokinase concentration and abnormal head morphology. Mol Reprod Dev 1993; 34(3):292-8.
**46.** Gomez E, Buckingham DW, Brindle J, Lanzafame F, Irvine DS, Aitken RJ. Development of an image analysis system to monitor the retention of residual cytoplasm by human spermatozoa: correlation with biochemical markers of the cytoplasmic space, oxidative stress, and sperm function. J Androl 1996; 17(3):276-87.
**47.** Keating J, Grundy CE, Fivey PS, Elliott M, Robinson J. Investigation of the association between the presence of cytoplasmic residues on the human sperm midpiece and defective sperm function. J Reprod Fertil 1997; 110(1):71-7.
**48.** Huszar G, Vigue L. Correlation between the rate of lipid peroxidation and cellular maturity as measured by creatine kinase activity in human spermatozoa. J Androl 1994; 15(1):71-7.
**49.** Fischer MA, Willis J, Zini A. Human sperm DNA integrity: correlation with sperm cytoplasmic droplets. Urology 2003; 61(1):207-11.
**50.** Kovanci E, Kovacs T, Moretti E, Vigue L, Bray-Ward P, Ward DC et al. FISH assessment of aneuploidy frequencies in mature and immature human spermatozoa classified by the absence or presence of cytoplasmic retention. Hum Reprod 2001; 16(6):1209-17.
**51.** Huszar G, Sbracia M, Vigue L, Miller DJ, Shur BD. Sperm plasma membrane remodeling during spermiogenetic maturation in men: relationship among plasma membrane beta 1,4-galactosyltransferase, cytoplasmic creatine phosphokinase, and creatine phosphokinase isoform ratios. Biol Reprod 1997; 56(4):1020-4.
**52.** Ollero M, Powers RD, Alvarez JG. Variation of docosahexaenoic acid content in subsets of human spermatozoa at different stages of maturation: implications for sperm lipoperoxidative damage. Mol Reprod Dev 2000; 55(3):326-34.
**53.** Zini A, Buckspan M, Jamal M, Jarvi K. Effect of varicocelectomy on the abnormal retention of residual cytoplasm by human spermatozoa. Hum Reprod 1999; 14(7):1791-3.
**54.** Enciso M, Muriel L, Fernandez JL, Goyanes V, Segrelles E, Marcos M et al. Infertile men with varicocele show a high relative proportion of sperm cells with intense nuclear damage level, evidenced by the sperm chromatin dispersion test. J Androl 2006; 27(1):106-11.
**55.** Huszar G, Stone K, Dix D, Vigue L. Putative creatine kinase M-isoform in human sperm is identifiedas the 70-kilodalton heat shock protein HspA2. Biol Reprod 2000; 63(3):925-32.
**56.** Lima SB, Cenedeze MA, Bertolla RP, Filho PA, Oehninger S, Cedenho AP. Expression of the HSPA2 gene in ejaculated spermatozoa from adolescents with and without varicocele. Fertil Steril 2006; 86(6):1659-63.



www.mui.ac.ir