

## مقایسه پارامترهای اسپرمی و سلامت DNA اسپرم بین افراد بارور و واریکوسل

الهه نوائیان کلات<sup>۱</sup>، M.Sc.، مرضیه تولایی<sup>۱\*</sup>، M.Sc.، همایون عباسی<sup>۲</sup>، محمد حسین نصرافهانی<sup>۳</sup> Ph.D.

- ۱- پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست فناوری جهاد دانشگاهی، مرکز تحقیقات علوم سلولی، گروه زیست فناوری، اصفهان، ایران
  - ۲- مرکز باروری و ناباروری اصفهان، اصفهان، ایران
  - ۳- پژوهشگاه رویان، پژوهشکده علوم تولید مثل جهاد دانشگاهی، مرکز تحقیقات پزشکی تولید مثل، گروه جنین شناسی، تهران، ایران
- \* پست الکترونیک نویسنده مسئول: tavalae.royan@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۵/۱۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۲/۱۶

### چکیده

**هدف:** واریکوسل از جمله شایعترین علل ناباروری مردان می باشد که در آن عملکرد بیضه بطور پیشرونده آسیب می بیند. در این مطالعه پارامترهای اسپرمی و همچنین سلامت DNA بین بیماران واریکوسل و افراد بارور مقایسه شد.

**مواد و روشها:** این مطالعه بر روی ۵۵ بیمار مبتلا به واریکوسل به درجه II و III و ۲۵ فرد بارور انجام شد. پارامترهای اسپرمی (تعداد، تحرک و مورفولوژی اسپرم) و سلامت DNA اسپرم بر روی نمونههای منی بیماران ارزیابی گردید. جهت ارزیابی میزان شکستگی DNA از روش TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling) استفاده گردید. داده ها با استفاده از آزمون t-test تحلیل شد.

**نتایج:** پارامترهای اسپرمی شامل تعداد، تحرک و مورفولوژی اسپرم به طور معنی داری در بیماران واریکوسل کیفیت پایین تری نسبت به افراد بارور داشتند. همچنین درصد اسپرمهای دارای آسیب DNA در این بیماران  $14/34 \pm 1/43$  نسبت به افراد بارور  $9/2 \pm 1/36$  افزایش معنی دار داشت. ارتباط پارامترهای اسپرمی و آسیب DNA اسپرم نشان داد که بین درصد آسیب DNA با غلظت اسپرم رابطه معکوس و با اسپرمهای دارای مورفولوژی غیرطبیعی رابطه مثبت و معنی داری وجود داشت.

**نتیجهگیری:** افزایش دمای بیضه افراد واریکوسل علاوه بر اینکه سبب کاهش کیفیت پارامترهای اسپرمی می گردد، DNA اسپرمها را نیز تحت تاثیر قرار داده و بنابراین این افراد با نقص در روند اسپرماتوزنز مواجه هستند.

**واژگان کلیدی:** آسیب DNA، پارامترهای اسپرم، واریکوسل.

## مقدمه

عوامل متفاوتی در ناباروری مردان نقش دارند که از جمله شایعترین این عوامل، بیماری واریکوسل می باشد. واریکوسل به اتساع و پیچش غیرطبیعی وریدهای اسپرماتیک اطلاق می شود (۱). شیوع واریکوسل در جمعیت عمومی مردان حدود ۱۵ تا ۲۰ درصد بوده در حالی که در زوج های نابارور که دلیل ناباروری آنها فاکتورهای مردانه است حدود ۲۵ تا ۴۰ درصد (۲) و در مردان با ناباروری ثانویه به حدود ۷۰ تا ۸۰ درصد می رسد. این امر نشان دهنده این است که مردانی که در ابتدا بارور بودند ممکن است با واسطه واریکوسل نابارور شوند (۳).

در بیماران واریکوسل عملکرد بیضه بطور پیشرونده آسیب می بیند ولی مکانیسم های دقیق عملکرد غیرطبیعی بیضه در این بیماران کاملا شناخته شده نیستند. با این وجود افزایش دمای بیضه، گرفتگی وریدها و هیپوکسی بیضه از عوامل ممکن در ایجاد واریکوسل می باشند (۴). مطالعات نشان دادند که دمای بیضه افراد نابارور واریکوسل در مقایسه با افراد بارور به میزان قابل توجهی افزایش می یابد ولی در مقایسه افراد بارور یا سایر افراد نابارور تفاوت قابل توجهی ای در دمای بیضه مشاهده نشده است (۵و۶).

مطالعات متعدد نشان دادند که در بیماران واریکوسل کیفیت پارامترهای اسپرمی (تعداد، تحرک و مورفولوژی) نسبت به افراد بارور کاهش می یابد (۷و۸). رابطه ی بین واریکوسل و اختلال در روند اسپرماتوژنز به خوبی شناخته شده است. از آنجائیکه روند اسپرماتوژنز به افزایش دما حساس است، در نتیجه در افراد واریکوسل عملکرد آن دچار اختلال خواهد شد و مختل شدن اسپرماتوژنز سبب آسیب به رده های سلول های اسپرماتید شده و DNA اسپرم، مستعد آسیب می گردد (۹). در نتیجه بررسی آسیب DNA اسپرم علاوه بر پارامترهای اسپرمی ضروری به نظر می رسد. در دهه گذشته مطالعات فراوانی درباره نقش DNA هسته در ناباروری مردان صورت پذیرفت. مطالعات متعدد نشان دادند که اسپرم افراد نابارور دارای آسیب DNA بیشتری نسبت به افراد بارور می باشد. آسیب DNA امکان دارد اثر منفی بر روی پتانسیل باروری این بیماران داشته باشد. بعلاوه سطح بالای آسیب DNA ممکن است با کیفیت پایین پارامترهای اسپرمی رابطه داشته باشد (۱۰و۱۱).

روش های متعددی برای تشخیص میزان آسیب DNA اسپرم وجود دارد که از جمله آنها می توان به آکریدین

اورنج، SCSA (Sperm Chromatin Structure Assay)، SCD، (Sperm Chromatin Dispersion) و TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling) اشاره کرد. در این میان TUNEL روشی بسیار حساس و دقیق است که جهت تشخیص شکستگی های تک رشته و یا دو رشته DNA استفاده می شود (۱۲). ارزیابی میزان آسیب DNA اسپرم به وسیله رنگ آمیزی TUNEL نشان می دهد که افراد نابارور نسبت به افراد بارور دارای تعداد بیشتری اسپرم با آسیب DNA می باشند (۱۳).

بنابراین در این مطالعه سعی بر آن است که علاوه بر مقایسه پارامترهای اسپرمی، سلامت DNA اسپرم نیز بین افراد بارور و نابارور واریکوسل مورد ارزیابی قرار گیرد.

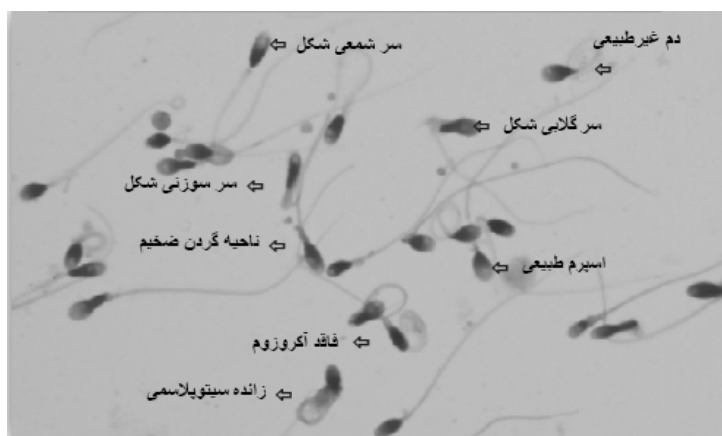
## مواد و روش ها

این مطالعه بر روی ۵۵ بیمار مبتلا به واریکوسل با درجه II) حالتی که اتساع وریدها در بیماران قابل لمس باشد) یا درجه III) حالت شدید بیماری که اتساع وریدها قابل رویت است) مراجعه کننده به مرکز باروری و ناباروری اصفهان و ۲۵ فرد بارور به عنوان گروه کنترل انجام شد. پس از تشخیص نوع واریکوسل توسط جراح مربوطه، پرسشنامه ای حاوی اطلاعات شخصی افراد، نوع ناباروری و مدت زمان ناباروری و همچنین رضایت نامه شرکت در طرح از مراجعه کنندگان تهیه شد. میانگین سن افراد واریکوسل مورد مطالعه  $4/83 \pm 30/11$  و میانگین سن افراد بارور  $5/5 \pm 36/09$  و میانگین سن همسران آنها به ترتیب  $4/60 \pm 25/54$  و  $5/56 \pm 30/40$  بود. میانگین طول مدت ناباروری بیماران واریکوسل نیز  $2/50 \pm 3/21$  سال بود. بررسی پارامترهای اسپرمی و سلامت DNA اسپرم بر روی نمونه های منی بیماران انجام شد.

**جمع آوری مایع منی:** نمونه مایع منی بیماران بعد از ۳-۴ روز جلوگیری از مقاربت جمع آوری شد. قسمتی از نمونه مایع منی جهت بررسی پارامترهای اسپرمی (تعداد، تحرک و مورفولوژی) با استفاده از میکروسکوپ نوری بر اساس معیار سازمان جهانی بهداشت (WHO) (۱۴) و باقیمانده نمونه جهت ارزیابی درصد شکستگی DNA با استفاده از رنگ آمیزی TUNEL مورد استفاده قرار گرفت.

**ارزیابی اسپرم:** شمارش اسپرمها بر حسب میلیون در لیتر با استفاده از دستگاه شمارش اسپرم (Mackler Counting Chamber) انجام گرفت. بررسی میزان تحرک اسپرم توسط

اسپرم‌هایی طبیعی در نظر گرفته می‌شد که شکل سر بیضی با یک محیط صاف بوده و آکروزوم حدود ۴۰ تا ۷۰ درصد سر اسپرم را در بر گرفته باشد و همچنین ناحیه گردن و دم اسپرم نیز طبیعی باشد. درصد انواع ناهنجاری سر اسپرم شامل سر کروی، کشیده، گلابی شکل، بدون شکل، دوتایی، سوزنی، ماکروسفال و میکروسفال است و ناهنجاری های ناحیه گردن و دم اسپرم نیز مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۱).



شکل ۱: مورفولوژی اسپرم با استفاده از رنگ آمیزی پاپانیکولائو

مشاهده‌ی مستقیم در زیر میکروسکوپ بر اساس معیار WHO شامل ۳ نوع حرکت پیشرونده، حرکت غیرپیشرونده و اسپرم‌های غیرمتحرک بود که بصورت مجموع درصد پیشرونده و غیر پیشرونده در این مطالعه گزارش شد.

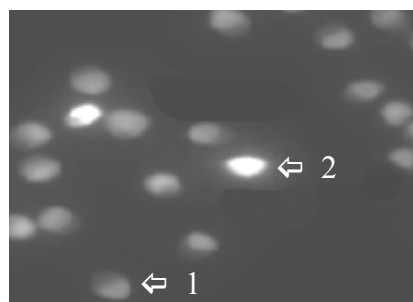
**ارزیابی مورفولوژی اسپرم:** در این مطالعه جهت ارزیابی مورفولوژی اسپرم از معیار Strict criteria و رنگ آمیزی پاپانیکولائو استفاده شد. بر اساس این معیار، هر یک از ناهنجاری های سر، گردن و دم اسپرم تعیین گردید. در این معیار

Terminal Deoxynucleotidyl transferase (TdT) به انتهای 3'-OH DNA (قطع‌ات شکسته DNA) اتصال می‌یابد. fluorescein-12-dUTP، DNA را نشان‌دهنده امکان مشاهده مستقیم آن را فراهم می‌نماید. میزان fluorescein-12-dUTP به وسیله میکروسکوپ فلئورسنتس اندازه‌گیری شد. رنگ فلئورسنت مشاهده شده در هر اسپرم، نشانگر شکستگی در رشته یا رشته‌های DNA است. بر اساس حضور یا عدم حضور رنگ سبز فلئورسنت در ناحیه سر اسپرم، اسپرم‌ها به عنوان TUNEL مثبت (اسپرم‌های دارای شکستگی DNA) یا منفی (اسپرم‌های دارای DNA سالم) در نظر گرفته می‌شوند (۱۲ و ۱۵).

**ارزیابی آسیب DNA/اسپرم:** در این مطالعه جهت بررسی میزان شکستگی DNA از روش TUNEL استفاده گردید (کیت TUNEL از شرکت پرومگا آمریکا تهیه شد). این روش به بررسی میزان شکستگی DNA در سلول‌های آپوپتیکم‌پدازد و از جمله تکنیک‌های بسیار حساس و اختصاصی در شناسایی اسپرم‌های غیر طبیعی از اسپرم‌های سالم می‌باشد. در این روش ابتدا اسپرم‌ها را با استفاده از محلول PBS شستشو داده، سپس بر روی لام اسمیر تهیه شد و بر طبق دستورالعمل TUNEL رنگ آمیزی انجام گردید. بر اساس این تکنیک، رنگ فلئورسنت fluorescein-12-dUTP با استفاده از آنالیز



(B)



(A)

شکل ۲: تصویری از DNA اسپرم با استفاده از رنگ آمیزی TUNEL (A) گروه واریکوسل و B) گروه بارور) در قسمت A پیکان شماره ۱ نشان‌دهنده اسپرم‌های با DNA سالم و پیکان شماره ۲ نشان‌دهنده اسپرم‌های دارای شکستگی DNA می‌باشد.

در شکل ۳ مقایسه درصد شکستگی DNA اسپرم در افراد بارور و واریکوسل نشان داد که شکستگی DNA اسپرم در افراد واریکوسل ( $14/34 \pm 1/43$ ) نسبت به افراد بارور ( $9/2 \pm 1/36$ ) بطور معنی دار ( $p < 0/05$ ) افزایش نشان داد.

رابطه‌ی بین پارامترهای اسپرم و درصد شکستگی DNA اسپرم در جدول ۲ مشخص شده است. از لحاظ آماری بین درصد اسپرم‌های دارای شکستگی DNA با تعداد اسپرم و درصد اسپرم‌های با مورفولوژی غیرطبیعی در افراد نابارور واریکوسل رابطه‌ی معنی دار معکوسی وجود داشت. در حالی که این روابط در افراد بارور معنی دار نبود.

همچنین در این مطالعه بیماران نابارور واریکوسل از لحاظ درصد شکستگی DNA به ۲ گروه کمتر و بیشتر از ۱۵ درصد تقسیم شدند که این تقسیم بندی طبق مطالعه‌ی گریکو و همکاران (۱۸)، نتایج نشان داد که ۶۱/۸ درصد افراد واریکوسل دارای آسیب DNA کمتر از ۱۵ درصد بودند در حالی که آسیب DNA در ۸۴ درصد افراد بارور کمتر از ۱۵ درصد بود.

روش بررسی آماری: اطلاعات بدست آمده در محیط نرم افزار SPSS 11.5 وارد شد و با استفاده از آنالیزهای آماری  $Correlation Coefficient$ ،  $Descriptive analysis$  و  $independent Paired t-test$  مورد ارزیابی قرار گرفتو در صورتی که  $P-Value \leq 0/05$  بود، از لحاظ آماری معنی دار محسوب شد.

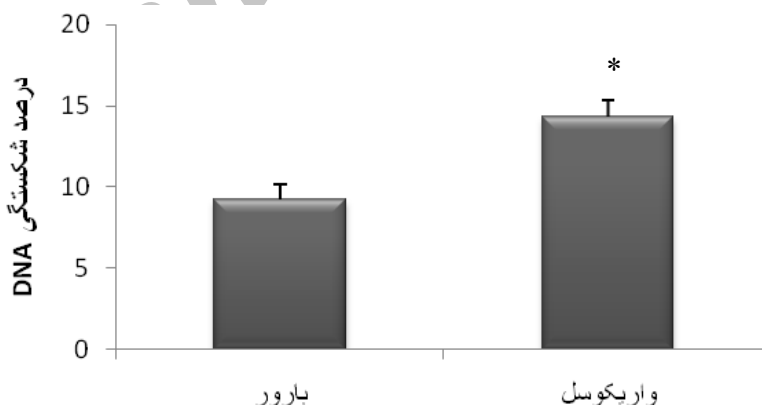
## نتایج

نتایج حاصل از ارزیابی پارامترهای اسپرمی در افراد واریکوسل و مقایسه‌ها با پارامترهای اسپرمی افراد بارور در جدول ۱ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می شود، تفاوت بین میانگین پارامترهای اسپرمی بین افراد بارور و نابارور واریکوسل معنی داری باشد. میانگین تعداد اسپرم در افراد بارور  $106/84 \pm 16/92$  و در افراد واریکوسل  $44/85 \pm 7/49$ ، میانگین درصد تحرک اسپرم در افراد بارور  $57/8 \pm 2/1$  و در افراد واریکوسل  $49/87 \pm 1/71$  و میانگین درصد مورفولوژی غیرطبیعی در افراد بارور  $94/72 \pm 0/6$  و در افراد واریکوسل  $97/27 \pm 0/22$  می باشد.

جدول ۱: مقایسه‌ی پارامترهای اسپرمی بیماران واریکوسل با افراد بارور. (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) ( $p < 0/05$ ) \* نسبت به گروه بارور

تعداد اسپرم $\times 10^6$	درصد تحرک اسپرم	درصد مورفولوژی غیرطبیعی اسپرم
$44/85 \pm 7/49^*$	$49/87 \pm 1/71^*$	$97/27 \pm 0/22^*$
$106/84 \pm 16/92$	$57/8 \pm 2/1$	$94/72 \pm 0/6$

شکل ۳: مقایسه‌ی آسیب DNA اسپرم بین بیماران واریکوسل و افراد بارور (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) ( $p < 0/05$ ) \*



جدول ۲: ارتباط بین پارامترهای اسپرم و درصد شکستگی DNA اسپرم. (میانگین  $\pm$  انحراف معیار) ( $p < 0/05$ ) \*

تعداد اسپرم $\times 10^6$	درصد تحرک اسپرم	درصد مورفولوژی غیرطبیعی اسپرم
$-0/301 (0/026)^*$	$-0/207 (0/130)$	$0/305 (0/023)^*$
$-0/221 (0/288)$	$-0/183 (0/381)$	$0/256 (0/217)$

## بحث

افزایش دمای بیضه در مردان مبتلا به واریکوسل، اسپرماتوژنز غیرطبیعی را به همراه دارد و به دنبال آن اختلال در فرایند اسپرماتوژنز می تواند منجر به ساخت اسپرمهایی شود که علاوه بر نقص در پارامترهای اسپرمی سطوح متفاوتی از میزان نقص در ساختار کروماتین را نشان می دهند (۹). بنابراین هدف از این مطالعه مقایسه تعداد، تحرک و مورفولوژی اسپرم و همچنین مقایسه سلامت DNA اسپرم در بیماران نابارور واریکوسل با افراد بارور بود.

نتایج این مطالعه نشان داد که در بیماران واریکوسل تعداد اسپرم و تحرک به طور معنی داری نسبت به افراد بارور پایین تر بود که با مطالعه اسمیت و همکاران (۱۳) و همچنین ملا و همکاران (۱۶) مطابقت دارد. نصر و همکاران (۷) نشان دادند که افراد واریکوسلی که دارای پارامترهای اسپرمی غیرطبیعی بودند، با انجام عمل واریکوسلکتومی و احتمالاً حذف شدن استرس گرمایی پس از ۶ ماه از عمل با بهبودی پارامترهای اسپرمی مواجه شده اند. بنابراین نقص در روند اسپرماتوژنز در افراد واریکوسل که احتمالاً به دلیل افزایش دمای بیضه می باشد، منجر به غیر طبیعی شدن پارامترهای اسپرمی می گردد.

یکی از علل ناباروری مردان علاوه بر کاهش کیفیت پارامترهای اسپرمی، آسیب DNA هم می تواند باشد. فاکتورهای مختلفی در بیماران واریکوسل سبب ایجاد آسیب DNA می گردند که از جمله آنها می توان به استرس گرمایی، عدم جایگزینی پروتامین به جای هیستون، استرس اکسیداتیو و آپوپتوزیس اشاره نمود (۱۷).

مطالعات اخیر نقش استرس های اکسیداتیو را در ایجاد ناباروری مردان مطرح کرده و نشان دادند که بیماران واریکوسل دارای سطح بالای رادیکال های آزاد اکسیژن (ROS) در پلاسما می مایع منی می باشند (۱۸ و ۱۹). تعداد زیادی از مطالعات نیز گزارش کردند که علاوه بر بالاتر بودن سطح ROS در این بیماران، میزان آنتی اکسیدانت در مایع منی این بیماران نسبت به افراد بارور کاهش می یابد (۲۰). در نتیجه احتمالاً عملکرد غیرطبیعی اسپرم در این بیماران با استرس اکسیداتیو ارتباط دارد. به علاوه استرس اکسیداتیو بر سلامتی ژنوم اسپرم تاثیر داشته و سبب ایجاد شکستگی در تک رشته و یا دو رشته DNA خواهد شد (۲۱).

یکی دیگر از دلایل آسیب DNA در بیماران واریکوسل آپوپتوزیس است. آپوپتوزیس بطور طبیعی حدود ۷۵ درصد اسپرماتوگونی ها را، در لوله های منی ساز حذف می کند (۲۲). با توجه به مطالعه ساکاس و همکاران (۲۳) مشخص گردید که درصدی از اسپرم های غیر طبیعی از فرایند آپوپتوزیس در بیضه فرار کرده و در مایع منی مشاهده می شوند که تحت عنوان فرار از آپوپتوزیس نامگذاری می شوند. برخی مطالعات نشان داده اند که اختلال روند اسپرماتوژنز در ناباروران واریکوسل، افزایش درصد اسپرم های آپوپتیک که باید در بیضه حذف می شدند را به همراه داشته است و این اسپرم ها بیشتر مستعد آسیب DNA هستند (۲۴).

بررسی آسیب DNA اسپرم در این مطالعه با استفاده از روش TUNEL نشان داد که بیماران واریکوسل به طور معنی داری واجد درصد بالاتری از اسپرم با آسیب DNA نسبت به افراد بارور بودند. در مطالعه حاضر میزان شکستگی DNA در بیماران واریکوسل ۱۴/۳۴ درصد و در افراد بارور ۹/۲ درصد گزارش شد. روش TUNEL بعنوان یک روش دقیق جهت بررسی شکستگی های تک رشته ای و دو رشته ای DNA در بیشتر مقالات گزارش شده است. به علاوه صالح و همکاران (۲۵) با استفاده از روش SCSA آسیب DNA را بررسی کرده و گزارش کردند که افراد نابارور واریکوسل دارای تعداد زیادی اسپرم با آسیب DNA می باشند. با توجه به نتایج این مطالعه می توان استنباط کرد که در افراد بارور با وجود طبیعی بودن پارامترهای اسپرمی، درصدی از اسپرم ها نیز با آسیب DNA (۹/۲ درصد) مواجه هستند ولی به دلیل حضور سدهای طبیعی در دستگاه تولید مثلی زنان، این اسپرم ها حذف می گردد. در صورتی که در افراد واریکوسل این درصد بیشتر بوده و حتی در حدود ۳۰ درصد افراد واریکوسل با آسیب DNA بیشتر از ۱۵ درصد مواجه هستند. بنابراین می توان احتمال داد که یکی از علل ناباروری این افراد نقص ژنوم می تواند باشد. در افراد واریکوسل عملکرد اسپرماتوژنز در اثر دمای بالای بیضه، دچار اختلال شده در نتیجه احتمالاً DNA اسپرم، مستعد آسیب می گردد. مطالعات متعدد نشان دادند که در بیماران واریکوسل با انجام عمل واریکوسلکتومی استرس گرمایی برداشته می شود و پس از عمل احتمالاً اسپرماتوژنز به طور صحیح صورت می گیرد و در نتیجه این امر سبب کاهش اسپرم های با آسیب DNA خواهد شد (۲۶ و ۲۷). در راستای این تئوری، آزادی و همکاران (۲۸) گزارش کردند که افراد واریکوسل دارای میزان بالایی اسپرم با آسیب

پس از عمل باز هم میزان آسیب DNA بالا بود از روش‌های نوین جداسازی اسپرم جهت جدا نمودن جمعیت اسپرمی با آسیب کروماتین پایین تر به منظور به کار گیری در روش‌های کمک باروری استفاده نمود.

### تشکر و قدردانی

بدینوسیله از همکاری متخصصین زنان و زایمان، و پرسنل آزمایشگاه نازایی مرکز باروری و ناباروری اصفهان، همچنین از همکاری مسئولین پژوهشکده رویان اصفهان که زمینه اجرای این تحقیق را فراهم آوردند تقدیر و تشکر می‌کنیم. کلیه هزینه‌های مصرفی و غیر مصرفی این تحقیق از بودجه تحقیقاتی پژوهشکده رویان جهاد دانشگاهی تامین گردیده است.

### منابع

1. Zucchi A, Mearini L, Mearini E, Fioretti F, et al. Varicocele and fertility: relationship between testicular volume and seminal parameters before and after treatment, *J Androl*. 2006; 27(4): 548-51.
2. Naughton CK, Nangia AK, Agarwal A. Pathophysiology of varicoceles in male infertility, *Hum Reprod Update*. 2001; 7:473-481.
3. Gorelick J, Goldestien M. Loss of fertility in men with varicocele, *Fertil, Steril*. 1993; 59: 613-616.
4. Ashok Agarwal, Rakesh K. Sharma, Nisarg R. Desai, Sushil Prabakaran, Antonio Tavares, and Edmund Sabanegh. Role of Oxidative Stress in Pathogenesis of Varicocele and Infertility, *UROLOGY*. 2009; 73(3): 461-469.
5. Mieusset R, Biyan L, Mondinat C, et al. Association of scrotal hyperthermia with impaired spermatogenesis in infertile men, *Fertil. Steril*. 1987; 48: 1006-1011.
6. Zorgniotti AW, MacLeod J. Studies in temperature, human semen quality, and varicocele, *Fertil. Steril*. 1973; 24(11): 854-863.
7. Nasr-Esfahani MH, Abasi H, Razavi S, Ashrafi S, et al. Varicocelectomy: semen parameters and protamine deficiency, *Int J Androl*. 2009; 32(2):115-22.
8. Kondo Y, Ishikawa T, Yamaguchi K, Fujisawa M. Predictors of improved seminal characteristics by varicocele repair, *Andrologia*. 2009; 41(1): 20-3.
9. Comhaire F, Kunnun M. Selective retrography of the internal spermatic vein: a conclusive approach to the diagnosis of varicocele, *Andrologia*. 1976; 8: 11-24.

DNA می‌باشند که پس از عمل واریکوسلکتومی بهبود یافته و درصد اسپرم‌های دارای آسیب DNA کاهش می‌یابد.

در این مطالعه در بیماران واریکوسل بین تعداد اسپرم و درصد آسیب DNA رابطه معکوس و معنی‌داری مشاهده شد. این ارتباط می‌تواند بیانگر درجات متفاوت نقص اسپرماتوژنز باشد. افراد با تعداد کم اسپرم با شدت بالای آسیب اسپرماتوژنز و بنابراین با نقص بیشتر در آسیب DNA مواجه هستند و بالعکس در افراد با تعداد بالای اسپرم با شدت پایین تری از آسیب اسپرماتوژنز و بنابراین با نقص کمتری در آسیب DNA مواجه هستند. در این مطالعه بین درصد آسیب DNA اسپرم و درصد اسپرم‌های دارای مورفولوژی غیرطبیعی رابطه مثبت و معنی‌داری مشاهده شد. در مطالعه‌ای که توسط سان و همکاران (۲۹) انجام شد نیز گزارش شد که بین افزایش آسیب DNA و اشکال غیر طبیعی اسپرم و کاهش تعداد اسپرم رابطه وجود دارد، که تاییدی بر نتایج این مطالعه می‌باشد. آوندانو و همکاران (۳۰) در مطالعه‌ای گزارش نمودند که اسپرم‌های با مورفولوژی طبیعی نیز ممکن است دارای آسیب DNA باشند که این احتمال در اسپرم‌های طبیعی در افراد نابارور افزایش می‌یابد. لذا این امکان وجود دارد که در بیماران واریکوسل اسپرم‌های به ظاهر طبیعی نیز دارای آسیب DNA باشند. وجود ۹/۲ درصد آسیب DNA در افراد بارور با پارامترهای طبیعی می‌تواند نشانگری از اسپرم‌ها باشد که مورفولوژی طبیعی دارند ولی با آسیب DNA مواجهه هستند. با توجه به اینکه افراد بارور تعداد بی‌شماری اسپرم دارند، این اسپرم‌ها در طی عبور از سد‌های طبیعی حذف، و شانس لقاح با اسپرم‌هایی است که طبیعی هستند.

### نتیجه گیری

مطالعه حاضر نشان می‌دهد که بیماران واریکوسل دارای تعداد اسپرم‌های کمتر، درصد تحرک پایین‌تر، مورفولوژی غیرطبیعی‌تر و آسیب DNA بیشتر نسبت به افراد بارور می‌باشند که این امر سبب کاهش قدرت باروری این افراد می‌گردد. با توجه به گزارشات قبلی در بیماران واریکوسل پیشنهاد می‌شود که، از آنتی‌اکسیدانت‌ها جهت کاهش اکسیدانت‌ها و در نهایت کاهش آسیب DNA استفاده نمایند و در صورتی که درصد بالایی از آسیب DNA در نمونه مایع منی آن‌ها مشاهده شده است از عمل واریکوسلکتومی استفاده نموده تا با توجه به مطالعات متعدد که مشخص نموده اند آسیب DNA بعد از عمل کاهش می‌یابد، بتوان شانس باروری را در این بیماران افزایش داد و اگر

10. Gatewood JM, Cook GR, Balhorn R, Bradbury EM, et al. Sequence-specific packaging of DNA in human sperm chromatin, *Science*. 1987; 236: 962-4.
11. Fuentes- Mascorro G, Serrano H, Rosado A. Sperm chromatin, *Arch Androl*. 2000; 45(3): 215-25.
12. Sharma PK, Sabanegh E, Mahfouz R, Gupta S, et al. TUNEL as a Test for Sperm DNA Damage in the Evaluation of Male Infertility, *j.urology*. 2010; 04:036.
13. Smith R, Kaune H, Parodi D, Madariaga M, et al. Increased sperm DNA damage in patients with varicocele: relationship with seminal oxidative stress, *Hum Reprod*. 2006; 21(4): 986-93.
14. Nasr-Esfahani MH, Tavalae M, Khazaei Y, Zarei M, et al. [Examination of Human Semen World Health Organization], Mir mah Publisher. 2010.
15. Aravindan GR, Bjordahl J, Jost LK. Susceptibility of human sperm to in situ DNA denaturation is strongly correlated with DNA strand breaks identified by single-cell electrophoresis. *Exp. Cell. Res*. 1997; 236: 231-237.
16. Mulla KF EI, Kohn FM, Beheiry AHEI, Schill WB. The effect of smoking and varicocele on human sperm acrosin activity and acrosome reaction. *Hum Reprod*. 1995; 10, 12; 3190-3194.
17. Saleh RA, Agarwal A, Nada EA, Mohamed H, et al. Negative effects of increased sperm DNA damage in relation to seminal oxidative stress in men with idiopathic and male factor infertility. *Fertil Steril*. 2003; 79:1597-605.
18. Greco E, Lacobelli M, Rienzi L, Ubaldi F, et al. Reduction of the incidence of sperm DNA fragmentation by oral antioxidant treatment. *J Androl*. 2005 , 26:349-53.
19. Jarow JP. Effects of varicocele on male fertility. *Hum Reprod Update*. 2001; 7(1): 59-64.
20. Barbieri ER, Hidalgo ME, Venegas A, Smith, et al. Varicocele associated decrease in antioxidant defenses. *J Androl*. 1999; 20: 713-717.
21. Agarwal A, Saleh RA, Bedaiwy MA. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertil Steril*. 2003; 79(4): 829-843.
22. Ryan T, Schulte Dana A, Ohl, Mark Sigman, et al. Sperm DNA damage in male infertility: etiologies, assays, and outcomes, *J Assist Reprod Genet DOI*. 2009; 10.1007/10815-009-9359.
23. Sakkas D, Mariethoz E, Manicardi G, Bizzaro D, et al. Origin of DNA damage in ejaculated human spermatozoa, *Rev Reprod*. 1999; 4:31-7.
24. Cam K, Simsek F, Yuksel M, Turkeri L, et al. The role of reactive oxygen species and apoptosis in the pathogenesis of varicocele in a rat model and efficiency of vitamin E treatment, *Int J Androl*. 2004; 27(4): 228-33.
25. Saleh RA, Agarwal A, Sharma R K, Said T M, et al. Evaluation of nuclear DNA damage in spermatozoa from infertile men with varicocele, *Fertil Steril*. 2003; 80(6):1431-1436.
26. Zini A, Azhar R, Baazeem A, Gabriel MS. Effect of microsurgical varicocelectomy on human sperm chromatin and DNA integrity: a prospective trial, *Int J Androl*. 2010.
27. Werthman P, Wixon R, Kaspersen K, Evenson DP. Significant decrease in sperm deoxyribonucleic acid fragmentation after varicocelectomy, *Fertil Steril*. 2008; 90(5): 1800-4.
28. Azadi L, Abbasi H, Deemeh MR, Tavalae M, et al. Zaditen (Ketotifen), as mast cell blocker, improves sperm quality, chromatin integrity and pregnancy rate after varicocelectomy. *Int J Androl*. 2010; 27(10): 1365-2605.
29. Sun JG, Jurisicova A, Casper RF. Detection of deoxyribonucleic acid fragmentation in human sperm: correlation with fertilization. *in vitro. Biology of Reproduction*. 1997; 56: 602-607.
30. Avendaño C, Franchi A, Taylor S, Morshedi M, et al. Fragmentation of DNA in morphologically normal human spermatozoa. *Fertil Steril*. 2009; 91 (4): 1078-1084.

## Comparison of Sperm Parameters and DNA Integrity between Fertile and Varicocele Individuals

, Abasi H, M.D.<sup>2</sup>, \*Elahe Navaeian Kalat E, M.Sc.<sup>1</sup>, Tavalae M, M.Sc.<sup>1</sup>  
Nasr Esfahani MH, Ph.D.<sup>1, 2, 3</sup>

1. Department of Reproduction and Development, Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Biotechnology, ACECR, Isfahan, Iran
2. Isfahan Fertility and Infertility Center, Isfahan, Iran
3. Department of Embryology, Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Reproductive Biomedicine, ACECR, Tehran, Iran

\* Email corresponding author: Tavalae.royan@gmail.com

Received: 6 Mar. 2012

Accepted: 6 Aug. 2012

### Abstract

**Aim:** Varicocele is the most common causes of male sterility that is caused progressive testicular damage over time. In this study sperm parameters and their DNA integrity was compared in varicocele and fertile people.

**Material and Methods:** The study performed on 55 grades II and III Varicocele people and 25 fertiles. Semen parameters (sperm count, motility and morphology) and sperm DNA health were assessed using TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling). Data were analyzed by SPSS software.

**Result:** Varicoceles semen parameters consist of sperm count, motility and morphology had significantly low quality in comparison with fertile people. Also damaged DNA sperms percentage of Varicocele people (14.34%±1.43) was significantly increased compared to fertile people (9.2%±1.36). Sperm parameters and DNA damage percentage correlation showed that there is a reversed correlation between DNA damage percentage and sperm density and significant and positive correlations with sperm abnormal morphology.

**Conclusion:** Testicular temperature increasing in Varicocele people, caused to low quality of sperm parameters and also high sperm DNA damages. Therefore, Varicocele people are confronted with spermatogenesis process deficiency.

**Keywords:** DNA damage, Semen parameters, Varicocele