# بررسی تاثیر واریکوسلکتومی بر پارامترهای اسپرمی و وضعیت کروماتین اسپرم

محمد حسین نصر اصفهانی Ph.D.☆☆♦، شهناز رضوی Ph.D.*، همایون عباسی M.D.**
فرشته حاجی میرزاعلیان M.D.☆، بهاره هفت برادران M.D.☆، مریم صادقی M.D.☆

☆ پژوهشکده رویان، گروه جنین شناسی
* پژوهشکده رویان، مرکز باروری و ناباروری اصفهان
** پژوهشکده رویان، گروه ناباروری مردان
* دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، دانشکده پزشکی، گروه جنین‌شناسی
☆ دانشگاه آزاد اسلامی نجف آباد، دانشکده پزشکی

♦ آدرس مکاتبه: تهران، صندوق پستی: ۴۶۴۴-۱۹۳۹۵، پژوهشکده رویان، گروه جنین‌شناسی
پست الکترونیک: Email: mh_nasr@med.mui.ac.ir

## چکیده

دریافت مقاله: ۸۴/۵/۱۱، پذیرش مقاله: ۸۴/۹/۱۳

* **هدف:** ارزیابی اثرات واریکو سلکتومی بر باروری از طریق بررسی پارامترهای اسپرمی و وضعیت کروماتین اسپرم به مدت دو سال

* **مواد و روش‌ها:** علاوه بر آنالیز پارامترهای اسپرمی، کمبود پروتامین، حضور هیستون اضافی، پایداری کروماتین و توانایی اسپرم برای غیر متراکم شدن به ترتیب با روش رنگ‌آمیزی کرومومایسین $A_3$ ، آنیلین بلو ، روش SDS و SDS+EDTA و در ۳۵ بیمار به مدت دو سال بررسی شد.

* **یافته‌ها:** نتایج این مطالعه با استفاده از آزمون Student-t-test نشان داد که از میان پارامترهای اسپرمی تنها حرکت اسپرم و از بین تست‌های مذکور کمبود پروتامین و حضور هیستون اضافی در ساختار کروماتین اسپرم بهبود قابل توجهی پس از عمل داشته است ($P<0/05$). میزان حاملگی افزایشی در این مطالعه ۲۵/۷درصد بود. نتایج به دست آمده از بیمارانی که همسرانشان بارور شده‌اند در مقایسه با کسانی که پس از انجام واریکوسلکتومی همسرانشان بارور نگردیده‌اند، نشان می‌دهد بیمارانی از واریکوسلکتومی نتیجه می‌گیرند که کمبود پروتامین اسپرم و حضور هیستون اضافی در ساختمان کروماتین ۳ ماه پس از عمل کاهش یافته باشد ($P<0/05$).

* **نتیجه گیری:** نتایج این مطالعه به بیمارانی که تحت عمل واریکوسلکتومی قرار می‌گیرند توصیه می‌نماید در صورتی که کمبود پروتامین و یا حضور هیستون اضافی ۳ ماه پس از عمل بهبود نیابد از روشهای نوین نازایی مانند IVF و ICSI استفاده نمایند.

**کلیدواژگان:** واریکوسلکتومی، کروماتین اسپرم، پارامترهای اسپرمی، باروری

فصلنامه پزشکی یاخته، سال هفتم، شماره۳، پاییز ۸۴، صفحات ۱۶۳-۱۵۸

## مقدمه

اصطلاح واریکوسل به اتساع پاتولوژیک وریدهای اسپرماتیک اطلاق می شود. واریکوسل تقریبا در ۱۵درصد جمعیت معمول مشاهده می شود. اگر چه ۴۰درصد از مردان نابارور علایم کلینیکی واریکوسل را نشان می‌دهند (۱، ۲، ۳).

واریکوسل با روش‌های جراحی تحت عنوان واریکوسلکتومی یا آمبولیزاسیون رادیولوژیکال قابل درمان است. با وجود تکنیک‌های کمکی باروری، جراحی هنوز هم رایج‌ترین درمان محسوب می‌شود (۴). هنگامی که کارآیی واریکوسلکتومی ارزیابی شود درصد موفقیت این روش به صورت مختلف گزارش می‌شود که ۲ هدف را در بر دارد. اول: میزان موفقیت در حاملگی یا بهبودی یک، دو یا همه پارامترهای اسپرمی (۵). دوم: اگر صرفاً حاملگی در کارآیی واریکوسلکتومی مطرح شود فاکتورهای زنانه نیز نتایج را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۶). برخی از مطالعات نشان می‌دهد که عمل واریکوسلکتومی موجب بهبودی پارامترهای اسپرمی می‌شود در حالی که در سایر مطالعات گزارش شده است که واریکوسلکتومی تاثیر مثبت بر پارامترهای اسپرمی ندارد. به هر حال تحقیقات انجام شده در این زمینه با یکدیگر هم‌خوانی ندارد (۷، ۸، ۹، ۱۰). با وجود اینکه این پارامترها برای ارزیابی کارآیی واریکوسلکتومی استفاده می‌شود ، ولی ارزش نتایج آنها به واسطه تغییرات بیولوژیکی این عوامل محدود است. در حالی که عواملی با تغییرات بیولوژیکی کم مثل سلامت DNA یا سلامت غشای اسپرم می‌تواند در ارزیابی واریکوسلکتومی استفاده شود (۱۱، ۱۲). سلامت DNA بستگی به تراکم هسته دارد که در طی اسپرمیوژنز با جایگزینی هیستون‌های هسته با پروتیین‌های انتقالی و سپس پروتامین رخ می‌دهد



Archive of SID
www.SID.ir

(۱۳، ۱۴). در بیماران نابارور مبتلا به واریکوسل تعداد اسپرماتوزوای حاوی اختلالات کروماتین نسبت به افراد بارور نرمال و افراد باروری که مبتلا به واریکوسل بوده‌اند به طور بارز بالاتر است (۱۵). بنابراین هدف از این بررسی تاثیر واریکوسلکتومی بر پارامترهای اسپرمی، وضعیت کروماتین در بیماران مبتلا به واریکوسل طی ۲ سال است. بدین ترتیب از روش‌های رنگ‌آمیزی کروموماسین A3، آنیلین‌بلو برای ارزیابی کمبود پروتامین، وجود هیستون اضافه و از تست‌های سدیم دو دسیل سولفات (SDS) و سدیم دو دسیل سولفات همراه با اتیلن دی امین تترااستیک اسید (SDS+EDTA) جهت بررسی پایداری کروماتین اسپرم و توانایی خروج از تراکم استفاده شد.

## مواد و روش‌ها

این مطالعه به وسیله کمیته تحقیقاتی اخلاقی مرکز باروری ناباروری تایید شده است. افرادی که دارای سابقه ناباروری برای حداقل یک سال داشته‌اند و به کلینیک ناباروری مراجعه نمودند، تشخیص واریکوسل در این بیماران به صورت معاینه کلینیکی توسط اورولوژیست انجام و از طریق سونوگرافی داپلر اسکروتال تایید شد. ۳۵ نفر از بیماران مبتلا به واریکوسل (درجه ۳) وارد این مطالعه شدند. سپس اطلاعات لازم در اختیار آنها قرار گرفت. از بیماران خواسته شد که نمونه سیمن را یک هفته قبل از عمل،۱/۵، ۳، ۶، ۱۲، ۱۸، ۲۴ ماه بعد از عمل جراحی به آزمایشگاه تحویل دهند. آنالیز سیمن و تستهای SDS+EDTA، SDS و رنگ‌آمیزی کروموماسین $A_3$ و آنیلین‌بلو بر روی هر نمونه سیمن انجام گرفت. لازم به ذکر است در هر اسمیر ۲۰۰ اسپرم مورد بررسی قرار گرفت. جهت آنالیز سیمن پس از استفاده از محلول فیکساتیو و ثابت نمودن سلول‌ها، شمارش اسپرم بر حسب میلیون در لیتر با استفاده از دستگاه Makler counting chamber انجام گرفت. میزان تحرک توسط مشاهده مستقیم در زیر میکروسکوپ بر اساس معیارهای سازمان بهداشت جهانی و شاخص مورفولوژی پس از رنگ‌آمیزی پاپا نیکولائو مطابق معیار (strict criteria) بررسی شد (۱۶). لازم به ذکر است تمامی مواد مورد استفاده در این مطالعه به جز موارد ذکر شده از شرکت مرک آلمان خریداری شده است.

**روش رنگ آمیزی آنیلین بلو بیانگر وجود هیستون اضافه در هسته اسپرم**

اسمیرهای تهیه شده در گلوتارآلدیید ۳ درصد در بافرفسفات ۰/۲ مولار با pH=۷ به مدت ۳۰ دقیقه تثبیت شدند و سپس توسط محلول آنیلین بلو ده درصد در بافراستات با pH=۳/۵ به مدت ۵ دقیقه رنگ‌آمیزی شدند (۱۷). اسلایدها با استفاده از میکروسکوپ نوری (Nikon) توسط عدسی ابژکتیو ۱۰۰x ارزیابی شد. درصد اسپرمهای کاملاً رنگ گرفته (A2) نسبتاً رنگ گرفته (A1) و فاقد رنگ (A0) مشخص شد و با استفاده از فرمول زیر Total Score برای هر نمونه تعیین گردید.

Total Score = (A0X0)+(A1X1)+(A2X2)

**روش رنگ آمیزی کروموماسین A3 بیانگرکمبود پروتامین**

نمونه سیمن در محلول کارنوی (متانول و اسید استیک گلاسیال به نسبت ۳:۱ به مدت ۵ دقیقه در ۴ درجه سانتی‌گراد فیکس شد و سپس چندین اسمیر از آن تهیه شد. برای رنگ‌آمیزی هر اسلاید از ۱۰۰ میکرولیتر محلول کروموماسین A3(Sigma USA) (۰/۲۵ میلی‌گرم در یک میلی‌لیتر بافر مک الوین MCIlvain buffer با pH=۷ حاوی ۱۰ میلی‌مولار کلرید منیزیم) به مدت ۲۰ دقیقه استفاده نموده و برای حذف باقی‌مانده رنگ اضافی اسلایدها را 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 بررسی شد. درصد اسپرم‌های رنگ گرفته به رنگ زرد درخشان (CMA3 مثبت) و رنگ نگرفته (CMA3 منفی) محاسبه شد (۱۸).

**تست SDS**

۲۰ میکرولیتر از مایع سیمن با ۸۰ میکرولیتر محلول SDS یک درصد در بورات بافر ( ۰/۰۵ مولار با pH=۹) به مدت ۶۰ دقیقه مجاور شد و سپس با اضافه نمودن ۲۰۰ میکرولیتر گلوتارآلدیید ۲/۵درصد به این محلول از روند واکنش جلوگیری گردید پس از تهیه اسمیر و رنگ‌آمیزی گیمسا در هر اسلاید ۲۰۰ اسپرم با استفاده از میکروسکوپ نوری ارزیابی و درصد اسپرمهای کاملاً متورم (S3) متورم (S2) نسبتاً متورم (S1) فاقد تورم (S0) مشخص شد. با استفاده از فرمول زیر Total Score برای هر نمونه تعیین شد (۱۹).

Total Score=(S0X0)+(S1X1)+(S2X2)+(S3X3)

**تست SDS + EDTA**

این تست مشابه تست SDS بوده و صرفاً به جای محلول SDS یک درصد از این محلول همراه ۶ میلی‌مولار EDTA استفاده شد (۱۹).

**روش‌های بررسی آماری**

پس از جمع‌آوری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS-11.5 آنالیز آماری انجام گرفت. بدین ترتیب که میانگین نتایج در دو گروه حامله و غیرحامله از طریق آزمون Student-t-test مقایسه شده همچنین جهت مقایسه تاثیر عمل واریکوسلکتومی قبل ۱/۵، ۳، ۶، ۱۲، ۱۸ و ۲۴ ماه پس از عمل از آزمون Paired t-test استفاده شد.

## یافته‌ها

از بین ۳۵ بیماری که در ابتدا وارد این مطالعه گردیدند در طی ۱/۵، ۳، ۶، ۱۲، ۱۸ و ۲۴ ماه پس از عمل به ترتیب ۲۹، ۲۹، ۲۴، ۱۵، ۱۴ و ۱۱ نفر در این مطالعه شرکت کردند.

در صورتی که میانگین هر پارامتر قبل و بعد از عمل مقایسه شود نتایج در جدول ۱ نشان می‌دهد که غلظت اسپرم به طور خفیف ۱/۵ ماه

Archive of SID


www.SID.ir

جدول ۱: مقایسه میانگین پارامترهای اسپرمی بین قبل از عمل و ۱/۵، ۳، ۶، ۱۲، ۱۸ و ۲۴ ماه بعد از عمل

| پارامترهای اسپرمی | قبل از عمل (۳۵) | ۱/۵ ماه بعد از عمل (۲۹) | ۳ ماه بعد از عمل (۲۹) | ۶ ماه بعد از عمل (۲۴) | ۱۲ ماه بعد از عمل (۱۵) | ۱۸ ماه بعد از عمل (۱۵) | ۲۴ ماه بعد از عمل (۱۱) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| غلظت اسپرم $\times 10^6$ بر میلی‌لیتر | ۵۴/۸۶±۲۲/۵۶ [a] | ۴۰/۵۵±۱۶/۵۴ [a] | ۴۳/۵۵±۲۵/۲۲ | ۴۸/۲۵±۲۹/۵۵ | ۴۹/۵۳±۲۲/۹۶ | ۶۳/۰۰±۳۶/۷۹ | ۳۹/۷۳±۲۰/۰۴ |
| دانسیته کل اسپرم | ۱۳۰/۵۹±۹۷/۳ [b] | ۱۱۷/۹۶±۸۴/۴۹ [b] | ۹۸/۹۶±۵۶ [b] | ۱۳۵/۵۲±۱۲۹/۱۴ | ۱۲۱/۵۸±۸۴/۲۰ | ۱۱۳/۱۰±۸۷/۱ | ۱۲۴/۸۹±۹۲/۲۶ |
| درصد حرکت اسپرم | ۴۱/۰۰±۱۲/۹۳ [c] | ۴۲/۰۶±۱۳/۱۹ | ۴۲/۹۳±۱۴/۴۸ | ۴۶/۲۵±۱۳/۳۷ [c] | ۴۱/۶۶±۱۲/۶۳ | ۴۶/۴۲±۲۳/۵۶ [c] | ۳۶/۳۶±۱۵/۶۶ |
| درصد مورفولوژی نرمال | ۳۷/۷۴±۱۸/۰۸ [d] | ۳۴/۸۶±۱۵/۰۷ | ۳۴/۳۵±۱۸/۲۹ | ۳۵/۹۵±۱۶/۱۱ | ۲۹/۴۶±۱۷/۵۱ | ۲۲/۷۱±۱۵/۰۴ [d] | ۲۰/۳۰±۱۴/۰۵ |

حروف مشترک a، b، c و d نشان دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵).

جدول ۲: مقایسه میانگین کمبود پروتامین و حضور هیستون اضافی بین قبل از عمل و ۱/۵، ۳، ۶، ۱۲، ۱۸ و ۲۴ ماه بعد از عمل

| تست‌های کروماتین اسپرم | قبل از عمل (۳۵) | ۱/۵ ماه بعد از عمل (۲۹) | ۳ ماه بعد از عمل (۲۹) | ۶ ماه بعد از عمل (۲۴) | ۱۲ ماه بعد از عمل (۱۵) | ۱۸ ماه بعد از عمل (۱۵) | ۲۴ ماه بعد از عمل (۱۱) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| کروموماپسین A3 | ۲۹/۶۳±۱۵/۲۴ | ۳۴/۰۳±۱۹/۹۰* | ۲۸/۸۳±۱۸/۱۹ | ۲۸/۳۳±۱۵/۹۴ | ۳۸/۶۰±۲۵/۴۲ | ۳۳/۵۰±۱۷/۹۰ | ۳۵/۹۱±۲۴/۳۰ |
| آنیلین بلو | ۲۶/۲۲±۲۳/۳۷ | ۱۸/۱۷±۱۶/۷۶ | ۱۸/۸۲±۱۶/۹۵* | ۲۲/۶۶±۱۹/۸۹ | ۲۲/۲۶±۱۹/۶۰ | ۲۳/۱۴±۲۰/۷۵ | ۱۴/۴۵±۱۸/۵۰ |

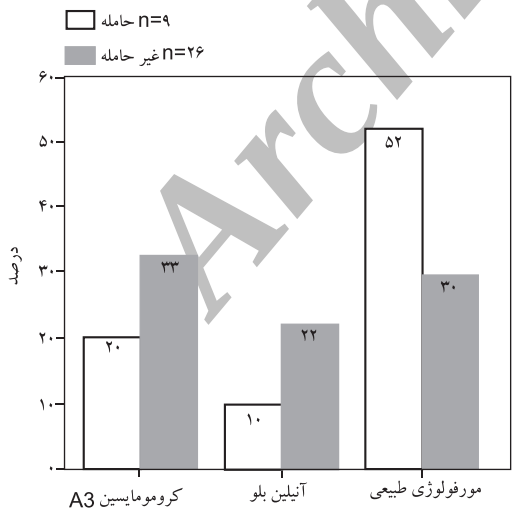
* از نظر آماری نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین قبل و بعد از عمل می‌باشد (P<۰/۰۵).

پس از عمل کاهش یافت اگر چه این کاهش معنی‌داری بود ولی به مرور به میزان قبل از عمل افزایش یافته است.

همچنین یک کاهش خفیف اما معنی‌دار در میزان دانسیته اسپرم در۱/۵ و ۳ ماه بعد از عمل جراحی مشاهده می‌شود. در حالی که در ۶، ۱۲، ۱۸ و ۲۴ ماه بعد از عمل در این پارامترها تفاوت معنی‌داری بین قبل و بعد از عمل نشان نمی‌دهد. درصد تحرک اسپرم به طور خفیف اما معنی‌دار در ۶ و ۱۸ ماه بعد از عمل بهبود یافت. همچنین جدول ۱ نشان می‌دهد که اگر چه درصد مورفولوژی طبیعی اسپرم‌ها در ۶ ماه پس از عمل کاهش یافت، اما این کاهش ۱۸ ماه پس از عمل از لحاظ آماری معنی‌دار است.

جدول ۲ میانگین پارامترهای مربوط به تست‌های وضعیت کروماتین اسپرم قبل و در طی ۲۴ ماه پس از عمل را نشان می‌دهد. میانگین اسپرم‌های کروموماپسین A3 مثبت (دارای کمبود پروتامین) به طور معنی‌داری۱/۵ ماه بعد از عمل افزایش یافته است. اگر چه بعد از۱/۵ ماه میانگین اسپرم‌های کروموماپسین A3 مثبت کاهش یافته است. میانگین اسپرم‌های رنگ گرفته با آنیلین‌بلو که بیان‌گر وجود میزان هیستون اضافه در هسته اسپرم بود، ۳ ماه پس از عمل جراحی به طور معنی‌داری کاهش یافته است. در حالی که میانگین اسپرم‌های با سر نامتراکم در تست SDS (بیانگر اسپرم‌های با کروماتین ناپایدار) و SDS+EDTA (بیانگر مقاومت در برابر خروج از تراکم اسپرم) هیچ‌گونه تفاوت معنی‌داری را در طی ۲۴ ماه نشان نداد (نتایج دو تست اخیر در جدول ذکر نشده است).

تعداد افراد حامله در این مطالعه ۹ نفر (۲۵/۷ درصد) بود و بیماران بر اساس دستیابی به حاملگی به ۲ گروه بارور و نابارور تفکیک شدند. که میانگین تست‌های ارزیابی وضعیت کروماتین و پارامترهای اسپرمی در این دوگروه مقایسه شد. به طوری که از میان پارامترهای اسپرمی، مورفولوژی اسپرم و از میان تستهای ارزیابی وضعیت کروماتین اسپرم، آنیلین بلو و کروموماپسین A3 تفاوت معنی‌داری را ۳ ماه بعد از عمل بین دو گروه نشان می دهند (P<۰/۰۵) (نمودار۱).




نمودار ۱: اختلاف میانگین کمبود پروتامین (CMA3 مثبت)،هیستون اضافی (آنیلین بلو) و مورفولوژی طبیعی در دو گروه دارای حاملگی و فاقد حاملگی سه ماه پس از عمل واریکوسلکتومی از لحاظ آماری معنی دار می‌باشد (P<۰/۰۵).



Archive of SID
www.SID.ir

## بحث

از مدت‌ها پیش مشخص شده است که ما بین واریکوسل و اختلال در اسپرماتوژنز، ارتباط وجوددارد (۲۰). محققین، هریک جنبه‌ای خاص از این بیماری را مورد بررسی قرار دادند، از جمله هیپو اسپرماتوژنز، اختلال در عملکرد سلول سرتولی، ریزش سلول‌های ژرم به طور زودرس، افزایش آسیب DNA، افزایش میزان اکسیژن فعال شده و غیره (۲۱).

برخی از مطالعات انجام گرفته حاکی از آن است که با درمان واریکوسل وضعیت پارامترهای اسپرمی بهبود و میزان حاملگی در افراد نابارور افزایش می‌یابد (۵، ۷، ۸، ۹، ۱۰). اما هنوز تاثیر واقعی واریکوسلکتومی بر روی باروری افراد مذکر بالغ مورد بحث است (۲۳، ۲۲) . به علاوه برخی از مطالعات اثرات سودمند واریکوسلکتومی را زیر سوال برده‌اند. زیرا مطالعاتی که در این زمینه انجام گرفته غالباً مطالعات مورد- شاهد بوده‌اند و کمتر مطالعات آینده‌نگر و به طور تصادفی در این زمینه انجام گرفته است.

در این میان عده‌ای از متخصصان غدد درون ریز تولید مثلی، روش لقاح آزمایشگاهی (In Vitro Fertilization: IVF) و یا تزریق اسپرم به داخل سیتوپلاسم تخمک (Intra-Cytoplasmic Sperm Insemination: ICSI) را به عنوان جایگزین واریکوسلکتومی معرفی می‌نمایند (۲۴، ۲۵، ۲۶). اگرچه برخی از مطالعات حاکی از آن است که روش IVF یا ICSI موثرتر از واریکوسلکتومی نیست (۲۷).

مطالعه شل سینگر و همکاران بر روی ۶۹۸۳ بیمار در طی ۶۵ روز بعد از انجام واریکوسلکتومی صورت گرفته بود که متوسط حاملگی ۳۲درصد و حداکثر ۳۹/۹۵ درصد را نشان داد (۵). نتیجه مطالعه حاضر نشان می‌دهد که در مجموع، میزان حاملگی ۲۵/۷درصد، ۶ ماه بعد از عمل واریکوسلکتومی است و در طی ۱۸ ماه بعد افزایشی نشان نداد.

از میان پارامترهای سیمن غلظت اسپرم به طور خفیف ۱/۵ ماه پس از عمل کاهش یافت اگر چه این کاهش معنی‌داری بود ولی به مرور به میزان قبل از عمل افزایش یافت. اما در کل نسبت به قبل از عمل جراحی کاهش پیدا کرده است. تحرک اسپرم به طور خفیف افزایش یافته، در حالی که افزایش تحرک در ۶ و ۱۸ ماه بعداز عمل جراحی از لحاظ آماری معنی‌دار است. درصد اسپرم با مورفولوژی طبیعی بعد از عمل جراحی کاهش یافته در حالی که این کاهش تا ۱۸ ماه بعد از عمل جراحی معنی‌دار نیست.

مطالعاتی که توسط Fisher و Sandlow صورت گرفت حاکی از آن است که در اغلب مطالعات دانسیته اسپرم پس از عمل واریکوسلکتومی بهبود یافته است. اگر چه برخی مطالعات نشان می‌دهد که عمل واریکوسلکتومی در بهبود غلظت، تحرک و مورفولوژی اسپرم تاثیر مثبت ندارد (۲۸، ۲۹). کاهش در میزان دانسیته اسپرم در طی ۱/۵ ماه بعدا زعمل جراحی می‌تواند ناشی از اثرات عمل واریکوسلکتومی باشد.

جدول۱ نشان می‌دهد که کاهش درصد اسپرم‌های با مورفولوژی طبیعی می‌تواند به خاطر از دست دادن تعدادی از بیمارانی باشد که همسران آنها حامله شده‌اند و احتمالاً بیمارانی که تا انتهای این مطالعه مورد بررسی قرار گرفته‌اند، بیمارانی بوده‌اند که پارامترهای سیمن در آنها قبل از عمل غیر طبیعی بوده است.

بهبودی در پارامترهای سیمن، به عنوان یکی از نتایج عمل واریکوسلکتومی محسوب می‌شود که قابل اندازه‌گیری است اما ارزش این پارامترها به علت تغییرات بیولوژیک زیاد، محدود است. بنابراین استفاده از تست‌های عملکرد اسپرم، مانند تست سلامت کروماتین اسپرم که درجات پایینی از تغییرات بیولوژیک را نشان می‌دهد، جهت ارزیابی تاثیر واریکوسلکتومی توسط زینی پیشنهاد می‌شود (۱۲).

از بین تستهای کروماتین اسپرم صرفاً درصد اسپرم‌هایی که با رنگ آنیلین بلورنگ گرفته‌اند (رنگ‌آمیزی آنیلین‌بلو معرف وجود هیستون اضافی) به طور معنی‌دار ۳ ماه بعد از عمل جراحی کاهش یافت. این نتایج با گزارشات قبلی ال – سگین و همکاران که نشان داد در بیماران نابارور مبتلا به واریکوسل درصد اسپرم‌های رنگ گرفته با آنیلین‌بلو بیشتر از افراد طبیعی بارور و افراد دارای واریکوسل، اما بارور است، مطابقت دارد. این بدان معنا است که یکی از عواملی که در قدرت باروری بیماران مبتلا به واریکوسل تاثیر دارد در سطح سلول اسپرماتید است (۱۵). با وجودی که آنالیز پارامترهای اسپرمی و تست‌های عملکرد اسپرم اطلاعاتی را در مورد اختلال در مرحله اسپرماتوژنز در بیماران نابارور مبتلا به واریکوسل فراهم می‌آورد، اما ارزش افزوده‌ای را برای بیمارانی که از تاثیر مثبت واریکوسلکتومی سود می‌برند، فراهم نمی‌آورد. اگر چه آنالیز پارامترهای سیمن و تست‌های عملکرد اسپرم بین افرادی که همسرانشان سه ماه بعد از عمل باردار شده‌اند در مقایسه با آنهایی که به حاملگی دست نیافته‌اند، نشان می‌دهد بیمارانی که پس از عمل دارای کمبود پروتامین پایین‌تری هستند (درصد اسپرم‌های CMA3 مثبت پایین)، درصد هیستون اضافی در ساختمان کروماتین اسپرم آنها کمتر است (درصدسلول‌های رنگ‌پذیر با آنیلین‌بلو کمتر) و درصد اسپرم با مورفولوژی طبیعی بیشتری دارند، عمل واریکوسلکتومی دراین افراد مثمر ثمر واقع می‌شود، اما مرز تشخیصی جهت هر یک از این تست‌ها برای بیمارانی که ممکن است از عمل جراحی سود ببرند نیاز به مطالعات بیشتری دارد. بدین ترتیب می‌توان دریافت که بیمارانی که از عمل جراحی نتیجه گرفتند درصد CMA3 مثبت پایین‌تری دارند. در صورتی که میانگین اسپرم‌های CMA3 مثبت در این دو گروه از بیماران (بارور و نابارور) قبل از عمل جراحی اختلاف معنی‌داری را نشان نمی‌دهند.

همچنین نتایج مشابهی در مورد مورفولوژی طبیعی اسپرم در این مطالعه به دست آمد که از لحاظ آماری معنی‌دار بود، در حالی که تست رنگ‌آمیزی آنیلین‌بلو در بین این دو گروه از بیماران قبل از عمل اختلاف معنی‌داری را نشان نمی‌دهد. لازم به ذکر است برای تست‌های SDS و SDS+EDTA اختلاف معنی‌داری بین دو گروه قبل و بعد از عمل مشاهده نشد، مطالعات قبلی نیز نشان می‌دهد که بین ارزیابی کیفیت کروماتین با استفاده از SDS،SDS+EDTA و میزان لقاح و



Archive of SID
www.SID.ir

تکامل بعدی جنین ارتباطی وجود ندارد (۱۹، ۳۰).

مطالعات قبلی نشان می‌دهد که در بیمارانی که درصد اسپرم‌های CMA3 مثبت کمتر از ۳۰درصد دارند، شانس بالاتری برای لقاح پس از عمل IVF یا ICSI وجود دارد (۱۸، ۳۰، ۳۱). در این مطالعه بیمارانی که همسرانشان ۳ ماه پس از عمل جراحی به حاملگی دست نیافته بودند میانگین درصد اسپرم‌های CMA3 مثبت ۱۸/۷۴±۳۲/۵۰ بود که در مقایسه با بیمارانی که همسرانشان حامله شدند (۱۰/۴۵±۱۷/۲۶) به طور چشم‌گیری بیشتر بود.

## نتیجه‌گیری

در مجموع می‌توان دریافت کرد که ارزش تشخیصی برخی از تست‌های عملکرد اسپرم قبل و پس ازعمل واریکوسلکتومی می‌تواند در پیش‌گویی نتایج عمل و نحوه درمان بیماران به متخصصین کمک کند.

بنابراین در بیمارانی که قبل از عمل درصد کمبود پروتامین، وجود هیستون اضافی و یا اسپرم غیرطبیعی بالاتری دارند و این پارامترها سه ماه پس از عمل واریکوسلکتومی بهبود نیافته است توصیه می‌شود جهت دستیابی به حاملگی از از روش‌های نوین نازایی مانند IVF و ICSI استفاده نمایند.

## تقدیر و تشکر

نویسندگان مراتب تقدیر و تشکر خود را از مسئولین محترم پژوهشکده رویان، معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد نجف آباد و همچنین متخصصین و کارشناسان محترم مرکز باروری و ناباروری اصفهان که در انجام این تحقیق ما را یاری نموده‌اند، ابراز می‌نمایند.

## Refrences

1. Kursh ED: What is the incidence of varicocele in a fertile population? Fertil Steril. 1987; 48(3): 510-5111

2. Ismail MT, Sedor J, Hirsch IH: Are sperm motion parameters influenced by varicocele ligation? Fertil Steril. 1999; 71(5): 886-890.

3. Greenberg SH, Lipshultz LI, Wein AJ: Experience with 425 subfertile male patients. J Urol. 1978; 119(4): 507-510

4. Cornud F, Belin X, Amar E, Delafontaine D, Helenon O, Moreau JF: Varicocele: strategies in diagnosis and treatment. Eur Radiol. 1999; 9(3): 536-545

5. Schlesinger MH, Wilets IF, Nagler HM: Treatment outcome after varicocelectomy. A critical analysis.Urol Clin North Am. 1994; 21(3): 517-529

6. 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): 393-398

7. Stewart BH: Varicocele in infertility: incidence and results of surgical therapy. J Urol. 1974; 112(2): 222-223

8. Dubin M Amelar: MDvaricocele. Urol Clin N Am 1987; 5: 563-572

9. Newton R, Schinfeld JS, Schiff I: The effect of varicocelectomy on sperm count, motility, and conception rate. Fertil Steril. 1980; 34(3): 250-254

10. 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): 120-124

11. 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): 115-125

12. Zini A, Kamal K, Phang D, Willis J, Jarvi K: Biologic variability of sperm DNA denaturation in infertile men. Uro 2001; 58(2): 258-261

13. Balhorn R: A model for the structure of chromatin in mammalian sperm. J Cell Biol. 1982; 93(2): 298-305

14. Mills NC, Means AR: Nonhistone chromosomal proteins of the developing rat testis. Biol Reprod. 1977; 17(5): 769-779

15. El-Segini Y, Schill WB, Kohn FM, Zeid SA, Kamshushy AA, Marzouk S: Assessment of sperm functions in infertile patients with varicoceles. Androl 2002; 34(5): 291-295

16. Kruger TF, Acosta AA, Simmons KF, Swanson RJ, Matta JF, Oehninger S: Predictive value of abnormal sperm morphology in vitro fertilization. Fertil Steril 1988; 49: 112-117

17. Terquem A, Dadoune JP: Aniline blue staining of human spermatozoa chromatin: Evaluation of nuclear maturation.1983; In Andr J (editor), The sperm cell, J andr (ed), London, Martinus Nijhoff publishers, 696-701

18. Nasr-Esfahani MH, Razavi S, Mardani M: Relation between different human sperm nuclear maturity tests and in vitro fertilizatin. J Assist Reprod Genet 2001; 18(4): 199-205

19. Gonzales GF, Salirrosas A, Dicina-Torres LN, Sanchez A, Villena A: Use of clomiphene citrate in the treatment of men with high sperm chromatin stability. Fertil Steril 1998; 69: 1109-11114

20. Naughton CK, Nangia AK, Agarwal A: Pathophysiology of varicoceles in male infertility. Hum



Archive of SID
www.SID.ir

Reprod Update. 2001; 7(5): 473-481
21. 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): 1431-1436
22. 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): 2147-2150
23. Evers JL, Collins JA: Assessment of efficacy of varicocele repair for male subfertility: a systematic review. Lancet. 2003; 31; 361(9372): 1849-1852
24. Penson DF, Paltiel AD, Krumholz HM, Palter S: The cost-effectiveness of treatment for varicocele related infertility J Urol 2002; 168(6): 2490-1494
25. Fisher L Sandlow J: The role of varicocele treatment in the era of Assisted Reproductive Technology .Cinical Urol 2001; 27(1): 19-25
26. Girardi SK, Goldstein M: Varicocele. Curr Ther Endocrinol Metab. 1997; 6: 355-358
27. Schlegel PN: Is assisted reproduction the optimal reatment for varicocele-associated male infertility? A cost-effectiveness analysis. Urol 1997; 49(1): 83-90
28. 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, 2004; 17
29. Daitch JA, Bedaiwy MA, Pasqualotto EB, Hendin BN, Hallak J, Falcone T, Thomas AJ Jr, Nelson DR, Agarwal A: Varicocelectomy improves intrauterine insemination success rates in men with varicocele. J Urol 2001; 165(5): 1510-1513
30. Razavi S, Nasr-Esfahani MH, Mardani M, Mafi A, Moghdam A: Effect of human sperm chromatin anomalies on fertilization outcome post-ICSI. Androl 2003; 35, 238-243
31. Sakkas D, Urner F, Bianchi PG, BizzaroD, Wagnar I, Jaquenoud N, Manicardi G: Campana Sperm chromatin anomalies can influence decondensation after intracytoplasmic sperm injection. Hum Reprod 1996; 11: 837-843

Archive of SID


www.SID.ir