

## بررسی تاثیر واریکوسلکتومی بر پارامترهای اسپرمی و وضعیت کروماتین اسپرم

محمد حسین نصر اصفهانی Ph.D.\*<sup>‡</sup>، 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 جنین شناسی

\* دانشگاه آزاد اسلامی نجف آباد، دانشکده پزشکی

‡ آدرس مکاتبه: تهران، صندوق پستی: ۴۶۴۴-۱۹۳۹۵، پژوهشکده رویان، گروه جنین شناسی

پست الکترونیک: Email: mh\_nasr@med.mui.ac.ir

### چکیده

دریافت مقاله: ۸۴/۵/II، پذیرش مقاله: ۸۴/۹/III

**\* هدف:** ارزیابی اثرات واریکوسلکتومی 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 رنگ آمیزی کرومومایسین A3، 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 ۲۵/۷ درصد 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.

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

فصلنامه پزشکی یاخته، سال هفتم، شماره ۳، پاییز ۸۴، صفحات ۱۶۳-۱۵۸

### مقدمه

اصطلاح واریکوسل به اتساع پاتولوژیک وریدهای اسپرماتیک اطلاق می‌شود. واریکوسل تقریباً در ۱۵ درصد جمعیت معمول مشاهده می‌شود. اگر چه ۴۰ درصد از مردان نابارور علائم 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 کارایی 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 کارایی 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 کارایی 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 پروتئین‌های انتقالی و سپس پروتامین رخ می‌دهد

(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 واریکوسلکومی بر پارامترهای اسپرمی، وضعیت کروماتین در بیماران مبتلا به واریکوسل طی ۲ سال است. بدین ترتیب از روش‌های رنگ‌آمیزی کرومومایسین A3، آنیلین بلو 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 تتراسیتیک 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 تأیید 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 اسکرونتال تأیید 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 سیمین را یک هفته قبل از عمل، ۱/۵، ۳، ۶، ۱۲، ۱۸، ۲۴ ماه بعد از عمل جراحی به آزمایشگاه تحویل دهند. آنالیز سیمین و تستهای SDS+EDTA، SDS و رنگ‌آمیزی کرومومایسین A<sub>3</sub> و آنیلین بلو بر روی هر نمونه سیمین انجام گرفت. لازم به ذکر است در هر اسپرم ۲۰۰ اسپرم مورد بررسی قرار گرفت. جهت آنالیز سیمین 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 نیکولانو 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 رنگ‌آمیزی آنیلین بلو بیانگر وجود هیستون اضافه در هسته اسپرم**  
اسپرم‌های تهیه شده در گلوکارآلدیید ۳ درصد در بافر فسفات ۲/۰ مولار با pH=۷ به مدت ۳۰ دقیقه تثبیت شدند و سپس توسط محلول آنیلین بلو ده درصد در بافر استات 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 رنگ‌گرفته (A2) نسبتاً رنگ‌گرفته (A1) و فاقد رنگ (A0) مشخص شد و با استفاده از فرمول زیر Total Score برای هر نمونه تعیین گردید.

$$\text{Total Score} = (A0X0)+(A1X1)+(A2X2)$$

**روش رنگ‌آمیزی کرومومایسین A3 بیانگر کمبود پروتامین**  
نمونه سیمین 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 اسپمیر از آن تهیه شد. برای رنگ‌آمیزی هر اسلاید از ۱۰۰ میکرولیتر محلول کرومومایسین A3 (Sigma USA) (۰/۲۵ میلی‌گرم در یک میلی‌لیتر بافر مک الوین MClivain 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 رنگ‌گرفته به رنگ زرد درخشان (CMA3 مثبت) و رنگ نگرفته (CMA3 منفی) محاسبه شد (۱۸).

### تست SDS

۲۰ میکرولیتر از مایع سیمین 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 گلوکارآلدیید ۲/۵ درصد به این محلول از روند واکنش جلوگیری گردید پس از تهیه اسپرم 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).

$$\text{Total Score}=(S0X0)+(S1X1)+(S2X2)+(S3X3)$$

### 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 واریکوسلکومی 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

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 ۱۰ <sup>۶</sup> بر میلی لیتر	۵۴/۸۶±۲۲/۵۶ <sup>a</sup>	۴۰/۵۵±۱۶/۵۴ <sup>a</sup>	۴۳/۵۵±۲۵/۲۲	۴۸/۲۵±۲۹/۵۵	۴۹/۵۳±۲۲/۹۶	۶۳/۰۰±۳۶/۷۹	۳۹/۷۳±۲۰/۰۴
دانسیتیه کل اسپرم	۱۳۰/۵۹±۹۷/۳ <sup>b</sup>	۱۱۷/۹۶±۸۴/۴۹ <sup>b</sup>	۹۸/۹۶±۵۶ <sup>b</sup>	۱۳۵/۵۲±۱۲۹/۱۴	۱۲۱/۵۸±۸۴/۲۰	۱۱۳/۱۰±۸۷/۱	۱۲۴/۸۹±۹۲/۲۶
درصد حرکت اسپرم	۴۱/۰۰±۱۲/۹۳ <sup>c</sup>	۴۲/۰۶±۱۳/۱۹	۴۲/۹۳±۱۴/۴۸	۴۶/۲۵±۱۳/۳۷ <sup>c</sup>	۴۱/۶۶±۱۲/۶۳	۴۶/۴۲±۲۳/۵۶ <sup>c</sup>	۳۶/۳۶±۱۵/۶۶
درصد مورفولوژی	۳۷/۷۴±۱۸/۰۸ <sup>d</sup>	۳۴/۸۶±۱۵/۰۷	۳۴/۳۵±۱۸/۲۹	۳۵/۹۵±۱۶/۱۱	۲۹/۴۶±۱۷/۵۱	۲۲/۷۱±۱۵/۰۴ <sup>d</sup>	۲۰/۳۰±۱۴/۰۵

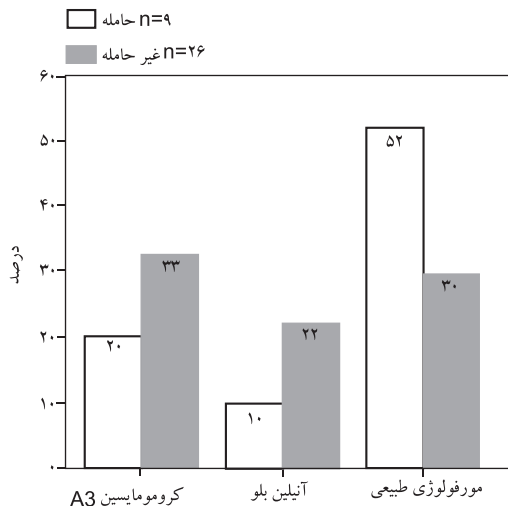
حروف مشترک a, b, c و d نشان دهنده اختلاف معنی دار می باشد (P<۰/۰۵).

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

تست های 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)
کرومومایسین 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 نشان دهنده اختلاف معنی دار بین قبل و بعد از عمل می باشد (P<۰/۰۵).

بر اساس دستیابی به حاملگی به ۲ گروه بارور و نابارور تفکیک شدند. که میانگین تست های ارزیابی وضعیت کروماتین و پارامترهای اسپرمی در این دو گروه مقایسه شد. به طوری که از میان پارامترهای اسپرمی، مورفولوژی اسپرم و از میان تست های ارزیابی وضعیت کروماتین اسپرم، آنیلین بلو و کرومومایسین A3 تفاوت معنی داری را ۳ ماه بعد از عمل بین دو گروه نشان می دهند (P<۰/۰۵) (نمودار ۱).



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 می باشد (P<۰/۰۵).

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

همچنین یک کاهش خفیف اما معنی دار در میزان دانسیته اسپرم در ۱/۵ و ۳ ماه بعد از عمل جراحی مشاهده می شود. در حالی که در ۶، ۱۲، ۱۸ و ۲۴ ماه بعد از عمل در این پارامترها تفاوت معنی داری بین قبل و بعد از عمل نشان نمی دهد. درصد تحرک اسپرم به طور خفیف اما معنی دار در ۶ و ۱۸ ماه بعد از عمل بهبود یافت. همچنین جدول ۱ نشان می دهد 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 معنی دار است.

جدول ۲ میانگین پارامترهای مربوط به تست های وضعیت کروماتین اسپرم قبل و در طی ۲۴ ماه پس از عمل را نشان می دهد. میانگین اسپرم های کرومومایسین A3 مثبت (دارای کمبود پروتامین) به طور معنی داری ۱/۵ ماه بعد از عمل افزایش یافته است. اگر چه بعد از ۱/۵ ماه میانگین اسپرم های کرومومایسین A3 مثبت کاهش یافته است. میانگین اسپرم های رنگ گرفته با آنیلین بلو که بیان گر وجود میزان هیستون اضافه در هسته اسپرم بود، ۳ ماه پس از عمل جراحی به طور معنی داری کاهش یافته است. در حالی که میانگین اسپرم های با سر نامتراکم در تست SDS (بیانگر اسپرم های با کروماتین ناپایدار) و SDS+EDTA (بیانگر مقاومت در برابر خروج از تراکم اسپرم) هیچ گونه تفاوت معنی داری 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

## بحث

از مدت‌ها پیش مشخص شده است که ما بین واریکوسل و اختلال در اسپرماتوژنز، ارتباط وجود دارد (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 مذکور بالغ مورد بحث است (۲۳)، 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 ۳۲ درصد و حداکثر ۳۹/۹۵ درصد را نشان داد (۵). نتیجه مطالعه حاضر نشان می‌دهد که در مجموع، میزان حاملگی ۲۵/۷ درصد، ۶ ماه بعد از عمل واریکوسلکتومی است و در طی ۱۸ ماه بعد افزایشی نشان نداد.

از میان پارامترهای سیمین غلظت اسپرم به طور خفیف ۱/۵ ماه پس از عمل کاهش یافت اگرچه این کاهش معنی داری 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 بعد از عمل جراحی از لحاظ آماری معنی دار است. درصد اسپرم با مورفولوژی طبیعی بعد از عمل جراحی کاهش یافته در حالی که این کاهش تا ۱۸ ماه بعد از عمل جراحی معنی دار 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. اگرچه 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 بعد از عمل جراحی می‌تواند ناشی از اثرات عمل واریکوسلکتومی باشد.

جدول ۱ 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 سیمین در آنها قبل از عمل غیر طبیعی بوده است.

بهبودی در پارامترهای سیمین، 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 (رنگ آمیزی آنیلین بلو معرف وجود هستون اضافی) به طور معنی دار 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 آنیلین بلو 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.

اگرچه آنالیز پارامترهای سیمین 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 پروتئین پایین تری هستند (درصد اسپرم‌های CMA3 مثبت پایین)، درصد هستون اضافی در ساختمان کروماتین اسپرم آنها کمتر است (درصد سلول‌های رنگ‌پذیر با آنیلین بلو کمتر) و درصد اسپرم با مورفولوژی طبیعی بیشتری دارند، عمل واریکوسلکتومی در این افراد مثر 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 پایین تری دارند. در صورتی که میانگین اسپرم‌های CMA3 مثبت در این دو گروه از بیماران (بارور و نابارور) قبل از عمل جراحی اختلاف معنی داری را نشان نمی‌دهند.

همچنین نتایج مشابهی در مورد مورفولوژی طبیعی اسپرم در این مطالعه به دست آمد که از لحاظ آماری معنی دار بود، در حالی که تست رنگ آمیزی آنیلین بلو در بین این دو گروه از بیماران قبل از عمل اختلاف معنی داری را نشان نمی‌دهد. لازم به ذکر است برای تست‌های SDS و SDS+EDTA اختلاف معنی داری 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

بنابراین در بیمارانی که قبل از عمل درصد کمبود پروتئین، 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 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.



### References

- Kursh ED: What is the incidence of varicocele in a fertile population? *Fertil Steril.* 1987; 48(3): 510-5111
- Ismail MT, Sedor J, Hirsch IH: Are sperm motion parameters influenced by varicocele ligation? *Fertil Steril.* 1999; 71(5): 886-890.
- Greenberg SH, Lipshultz LI, Wein AJ: Experience with 425 subfertile male patients. *J Urol.* 1978; 119(4): 507-510
- 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
- Schlesinger MH, Willets IF, Nagler HM: Treatment outcome after varicocelectomy. A critical analysis. *Urol Clin North Am.* 1994; 21(3): 517-529
- 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
- Stewart BH: Varicocele in infertility: incidence and results of surgical therapy. *J Urol.* 1974; 112(2): 222-223
- Dubin M Amelar: MD varicocele. *Urol Clin N Am* 1987; 5: 563-572
- Newton R, Schinfeld JS, Schiff I: The effect of varicocelectomy on sperm count, motility, and conception rate. *Fertil Steril.* 1980; 34(3): 250-254
- 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
- Evenson DP, Jost LK, Baer RK, Turner TW, Schrader SM: Individuality of DNA denaturation patterns

تکامل بعدی جنین ارتباطی وجود ندارد (۱۹، ۳۰). مطالعات قبلی نشان می‌دهد که در بیمارانی که درصد اسپرم‌های CMA3 مثبت کمتر از ۳۰ درصد 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  $32/50 \pm 18/74$  بود که در مقایسه با بیمارانی که همسرانشان حامله شدند ( $17/26 \pm 10/45$ ) به طور چشم‌گیری بیشتر بود.

### نتیجه‌گیری

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

- in human sperm as measured by the sperm chromatin structure assay. *Reprod Toxicol.* 1991; 5(2): 115-125
- 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
- Balhorn R: A model for the structure of chromatin in mammalian sperm. *J Cell Biol.* 1982; 93(2): 298-305
- Mills NC, Means AR: Nonhistone chromosomal proteins of the developing rat testis. *Biol Reprod.* 1977; 17(5): 769-779
- 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
- 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
- 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
- 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): 199-205
- 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
- Naughton CK, Nangia AK, Agarwal A: Pathophysiology of varicoceles in male infertility. *Hum*



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, Fishedick 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; 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, Wagner I, Jaquenoud N, Manicardi G: Campana Sperm chromatin anomalies can influence decondensation after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1996; 11: 837-843

