● مجلة دانشگاه علوم پزشكي بابل، دوره هشتم، شمارة ۲، فروردين – ارديبهشت ۱۳۸۵، صفحه ۱۸-۱۴

دريافت: ۸۱/٤/١٦، پذيرش: ۸٤/۱۰/۷

بررسی پارامترهای اسپرم در بیماران مبتلا به واریکوسل قبل و بعد از Sperm Processing

يوسف رضا يوسف نياپاشا[1]، سيدغلامعلي جورسرايي[2*]، حميد شافي[1]، احمدعلي رمضاني[3]

۱-استادیار گروه ارولوژی دانشگاه علوم پزشکی بابل ۲- استادیار گروه علوم تشریح دانشگاه علوم پزشکی بابل ۳- پزشک عمومی

سابقه و هدف: واریکوسل از جمله عوامل ناباروری در مردان است. این بیماری، با تغییر در دما و درناژ وریدهای بیضوی موجب اختلال در اسپرماتوژنز و کاهش باروری می گردد. هر چند واریکوسلکتومی، درمان اینگونه بیماران می باشد اما امروزه روشهای کمک باروری و آماده کردن اسپرم به روشهای مختلف از جمله Sperm processing و انجام swim up کمک قابل توجهی به این بیماران جهت بارور شدن می نماید.

مواد و روشها: این مطالعه به روش مداخله ای در ۱۵۵ نفر در سال ۸۳ در مرکز ناباروری دانشگاه علوم پزشکی بابل انجام شد. پارامترهای اسپرم افراد واریکوسل قبل و بعد از Processing مورد بررسی قرار گرفت.

یافته ها: میانگین سن بیماران ۳۱/۸ سال بود. حرکت اسپرم در Grade III و Grade IV قبل از Sperm processing بترتیب ۵۳/۹٪ و ۱۲/۹٪ بود که بعد از آماده سازی، بترتیب به ۷۸/۷٪ و ۵٦/۸٪ افزایش یافت. Total motility در گروه کمتر از ٤۰درصد حرکت اسپرم، از ۱۹ نفر به ۸۷ نفر یعنی بیش از ۸۰ درصد افزایش یافت.

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که در این نوع بیماران می توان با آماده سازی و جمع آوری اسپرمهای مناسب، شانس باروری را افزایش داد.

واژه های کلیدی: شستشوي اسپرم، حرکت، گریدینگ.

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل، دوره هشتم، شمارهٔ ۲، فروردین - اردیبهشت ۱۳۸۵، صفحه ۱۸-۱۴

مقدمه

واریکوسل به پیچ خوردگی غیر طبیعی و گشاد شدن وریدهای بیضه در مسیر طناب اسپرماتیک گفته می شود که تقریباً در ۱۵٪ مردان جوان و ۳۰٪ مردان مسن دیده می شود(۲و۱). این عارضه با اختلال در دمای اسکروتوم، ریفلاکس و کاهش جریان خون بیضه، باعث تغییراتی در روند اسپرماتوژنز می گردد(۳). با اینکه این بیماری شایعترین علت ناباروری مردان است ولی تقریباً دوسوم آنها دارای قدرت باروری هستند(۴و۱). بررسیهای اپیدمیولوژی نشان می دهد که واریکوسل در شروع بلوغ جنسی ظاهر شده و بتدریج بعد از سن ۱۶ سالگی افزایش می یابد و ممکن است تا ۸۰ درصد موارد هر دو بیضه را درگیر سازد(۷-۵). ثابت شده است که واریکوسل کیفیت مایع منی را کاهش داده و باعث پائین آمدن میزان باروری می گردد(۸و۱). ولی اگر تحت عمل جراحی قرار گرفته و ترمیم شود، متعاقباً باعث بهبود در پارامترهای اسپرم شده و بروز حاملگی را بین ۳۵ تا ۴۸ درصد افزایش خواهد داد(۱۰و۹و۴). شایعترین تغییرات در پارامترهای مربوط به مایع منی در بیماران واریکوسل، کاهش حرکت تا ۹۰٪ و کاهش تعداد اسپرم تا کمتر از ۲۰ میلیون یا ۶۵٪ می باشد(۱۱). البته واریکوسلکتومی، درمان اصلی اینگونه بیماران است و حدود ۷۰٪ از آنهائیکه تحت عمل قرار می گیرند، در پارامتر اسپرم آنها بهبود قابل ملاحظه ای حاصل می شود و بعضی از گزارشات بهبود اینگونه پارامترها را برای حرکت تا ۷۰٪ و افزایش تعداد تا ۵۰٪ و در مورفولوژی تا ۴۴٪، ذکر کرده اند(۱۲). گرچه دلایل زیادی وجود دارد که واریکوسل، باعث

[DOR: 20.1001.1.15614107.1385.8.2.2.8]

کاهش کیفیت مایع منی می گردد، اما افراد زیادی هستند که علی رغم داشتن واریکوسل، توانایی تولید مثل نیز دارند(۱۳). لذا می توان با استفاده از روشهای کمک باروری منجملهSperm Processing برای آن گروه از افرادی که تحت واریکوسلکتومی قرار نمی گیرند بهترین و مناسبترین سیکلهای درمانی را ارائه داد.

مواد و روشها

این مطالعه به روش آزمایشگاهی و در پارامترهای اسپرم ۱۵۵نفر بیمار مبتلا به واریکوسل انجام گرفت، ابتدا نمونه منی، تحت شرایط معمول و به صورت استریل تهیه گردید. سپس نمونه ها در داخل انکوباتور ۳۷ درجه به مدت ۲۰ دقیقه و در صورت نیاز حداکثر تا ۶۰ دقیقه جهت روان شدن، قرار داده شد. با تهیه اسمیر، حرکت و گریدینگ اسپرم ثبت گردید.

سپس برای شستشو (Sperm processing)، نمونه منی را داخل تیوپ های مخصوص قرار داده (داخل هر تیوب، ۲ سی سی) و دو برابر آن محیط کشت اضافه شد و با دور ۲۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه، سانتریفیوژ گردید. با جمع شدن اسپرمها در قسمت ته لوله، مایع بالای آن خارج شد و با باقی گذاشتن یک سی سی محیط در داخل لوله برای انجامswim up، به انکوباتور ۳۷ درجه منتقل گردید.

با گذشت ۳۰ تا ۴۵ دقیقه، اسپرم هائی که دارای حرکت مناسب بودند در لایه های بالایی محیط جمع می شدند که معمولاباید از ویژگی بهتری نسبت به نمونه اولیه برخوردار باشند. سپس با تهیه اسمیر از نمونه شستشو شده، اقدام به ثبت مجدد پارامترهای اسپرم در مرحله دوم گردید.

سپس داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS آنالیز گردید و برای مقایسه پارامترهای اسپرم قبل و بعد از Prosessing از paired t-test و تست Anova در صورت لزوم استفاده شد.

یافته ها

در طی این بررسی ۴۳۰ افراد نابارور مراجعه داشتند که ۱۵۵ نفر آنها دارای واریکوسل بودند. ۵۵٪ بیماران در گروه سنی ۳۰-۲۰ سال بوده و میانگین سنی آنها ۳۱/۸ سال بود. ۸۹ نفر مدت ۵-۱ سال (۵۷/۴٪)، ۴۴ نفر ۱۰-۶ سال (۲۸/۴٪)، ۱۱ نفر ۱۵-۱۱ سال (۷/۲٪)، ۹ نفر ۲۰-۱۶ سال (۵/۸٪) و ۲ نفر بیشتر از ۲۰ سال (۱/۳٪) ناباروری داشته اند. از نظر امتیاز بندی در حرکت اسپرم (Grading)، قبل از Sperm processing، ۱۳۰ نفر Grade I (۸۳/۹٪)، ۱۴۳ نفر Grade II (۹۲/۳٪)، ۸۳ نفر Grade III (۲۳/۹٪) و ۲۰ نفر (۱۲/۹٪) دارای Grade IV بودند. پس از شستشو، در حرکت اسپرمها، تغییرات اساسی ایجاد گردید. بدینصورت که از Grade I (حرکت درجا) و Grade II (حرکت کند و زیکزاکی)، کاسته شده و به Grade III (حرکت متوسط، مستقیم و رو به جلو) و Grade IV (حرکت مستقیم، سریع و رو به جلو) افزوده گردیدکه این اختلاف از نظرآماری معنی دار بود($p<0/05$)(جدول ۱).

جدول ۱. توزیع فراوانی گریدینگ حرکت اسپرم در بیماران واریکوسل قبل و بعد از شستشو در بیماران مراجعه کننده به مرکز ناباروری حضرت فاطمه الزهرا (س) بابل در سال ۸۳

حرکت اسپرم (Total Motility)	قبل از شستشو (Sperm processing) تعداد(٪)	بعد از شستشو (Sperm processing) تعداد(٪)
I	(۸۳/۹)۱۳۰	(۲۰/۶)۳۲
II	(۹۲/۳)۱۴۳	(۵۴/۲)۸۴
III	(۵۳/۵)۸۳	(۷۸/۷)۱۲۲
IV	(۱۲/۹)۲۰	(۵۶/۸)۶۷

$p<0/05$

توجه: (گریدینگ I تا IV را همزمان در نمونه مایع منی یک فرد، میتوان مشاهده کرد لذا جمع افقی وعمودی ستونها برابر۱۵۵ بیمار و یا ۱۰۰٪ نخواهد بود)

همچنین، Total motility اسپرم، قبل و بعد از Sperm processing، مورد بررسی قرار گرفت. قبل از شستشو، بیشترین فراوانی در ۷۱ نفر (۴۵/۸٪) و بعد از آماده سازی اسپرم، تا سطح ۸۷ نفر (۵۳/۲٪) افزایش پیدا نمود، که از نظر آماری معنی دار بود ($p<0/05$)(جدول ۲). همچنین بیشترین فراوانی اسپرم با در نظر

[DOR: 20.1001.1.15614107.1385.8.2.2.8]

گرفتن پایه ۳۰ میلیون در یک میلی متر مکعب مایع منی، از ۷۰ نفر، قبل از شستشو به ۹۱ نفر، بعد از شستشو افزایش پیدا نمود.

جدول ۲. توزیع فراواني حرکت اسپرم در بیماران واریکوسل قبل و بعد از شستشو در بیماران مراجعه کننده به مرکز ناباروري حضرت فاطمه الزهرا (س) بابل

حرکت اسپرم (Total motility)	قبل از شستشو (Sperm processing)	بعد از شستشو (Sperm processing)
(به درصد)	تعداد(٪)	تعداد(٪)
۰-۲۰	(۷/۱)۱۱	(۱/۳)۲۰
۲۰-٤۰	(۱۸/۸)۱۹	(۳/۲)۵
٤۰-٦۰	(٤۵/۸)۷۱	(۱۱/۰)۱۷
٦۰-۸۰	(۲۷/۱)٤۲	(۲۸/٤)٤٤
۸۰-۱۰۰	(۱/۳)۲	(۵۳/۲)۸۷
جمع	(۱۰۰)۱۵۵	(۱۰۰)۱۵۵

$p<۰/۰۵$

بحث و نتیجه گیری

افرادیکه با داشتن واریکوسل دچارمشکل ناباروری هستند، حدود ۳۰٪ مردان نابارور را تشکیل می دهند و در بعضی از مطالعات، آنرا همراه با عوارض دیگر تا ۴۰٪ نیز گزارش کرده اند (۱۴). در مطالعه ما، حدود ۳۶٪ از مردان نابارور، دارای واریکوسل بودند. این عارضه گرچه به عنوان یکی از عوامل ناباروری در مردان محسوب می شود، اما آیا غیر از جراحی، راههای دیگری وجود دارد که علی رغم توانایی عده ای از افراد مبتلا به واریکوسل در تولید مثل، بتواند شرایط بهتری را در مسئله باروری، برای آنها فراهم نماید. لذا سعی شده تا با بهره گیری از روشهای ART و شستشوی اسپرمها (Sperm processing) با محیط کشت و انجام swim up، کمک های لازم به اینگونه افراد صورت پذیرد. شستشوی اسپرم باعث می گردد تا اسپرمهائی که دارای کیفیت مناسبی هستند و از نظر حرکت و مورفولوژی دارای وضعیت بهتری می باشند، جهت تلقیح مصنوعی مورد استفاده قرار گیرند. عده ای از محققین، swim up را روش مناسبی برای آماده سازی اسپرم دانسته و معتقدند اگرچه ممکن است تعداد کل اسپرم ها کاهش یابد، ولی با حذف عواملی مثل ویسکوزیته محیط منی و اسپرم های غیر طبیعی، تعداد اسپرمهای متحرک افزایش خواهد یافت(۱۶و۱۵). متعاقبا با افزایش حرکت اسپرم، گریدینگ آنها نیز افزایش پیدا می کند، چون حرکت بسیاری از اسپرم ها به دلیل ویسکوزیته بالای مایع منی و تشکیل آگلوتیناسیون، کاهش می یابد. لذا با آزاد شدن اسپرم ها بعد از شستشو و swim up، حرکت و گریدینگ آنها افزایش می یابد. در این مطالعه با توجه به نتایج بدست آمده، مشاهده گردید، گریدینگ اسپرمها که شاخص حرکت رو به جلو و مستقیم آن می باشد، بعد از انجام Sperm processing، بهبود قابل توجهی یافته است. بطوریکه افزایش ۲۵ درصدی Grade III و ۴۴ درصدی Grade IV نتیجه قابل قبولی است که دستیابی به آن، در این مطالعه میسر گشته است. همانطور که ملاحظه گردید بهینه سازی اسپرم، می تواند بهبود قابل توجهی را در گریدینگ اسپرمها بوجود آوردکه قدمی برای فراهم نمودن شرایطی مناسب جهت ایجاد باروری در مردان است.

همچنین باید در نظر داشت که اگرچه swim up تاثیر چندانی بر روی پارامتر های اسپرم در یک نمونه طبیعی نخواهد داشت ولی روش مناسبی برای آماده سازی اسپرم در بسیاری از فاکتورهای ناباروری مربوط به مردان خواهد بود ودر بعضی از مطالعات، اثر مثبت آنرا در اولیگواسپرمی تا ۲۰٪، در تتراتواسپرمی تا ۱۷٪ و آستنواسپرمی تا ۱۲٪ ذکر کرده اند(۱۷).

برخی دیگر بر این باورند که swim up باعث می گردد تا تعداد و حرکت اسپرم ها در افرادی که نرموآزواسپرمی و یا آستنوتترازوسپرمی هستند، افزایش می یابد(۱۸) و یا اینکه با حذف اسپرم هایی که از بلوغ کمتری بر خوردار ند(۱۹) و همچنین کاهش میزان فراگمانتاسیون DNA (۲۰) و جدا شدن اسپرم هایی که با سر بیضی شکل خود دارای ناحیه آکروزومی بزرگتری هستند(۲۱)، لقاح نیز افزایش یافته و به ازای هر سیکل ممکن است تا ۱۰٪ حاملگی نیز افزایش نشان دهد(۲۲). لذا درست است که در بسیاری از مطالعات، افزایش روند رو به بهبود پارامترهای اسپرم، بعد از واریکوسلکتومی به چشم می خورد(۲۳)، اما هدف این مطالعه کمک

[DOR: 20.1001.1.15614107.1385.8.2.2.8]

به افرادی است که علی رغم داشتن واریکوسل، بتوان با انجام Sperm processing و جمع آوری تمام اسپرمهای نمونه مایع منی، بهترین شرایط ممکن را برای انتقال اسپرمهای بدست آمده فراهم نمود. لذا با این روش، در افرادی که درجه پائینی از واریکوسل را دارند و یا به دلایل خاصی، کاندیدای جراحی نیستند، بدینصورت متذکر شد که با حذف اسپرمهای بی حرکت و فاکتورهای منفی در پارامترهای اسپرم، نسبت به جمع آوری و تهیه نمونه منی اقدام مناسبی انجام داد و خاطر نشان می کنیم که در افراد واریکوسل، بدست آوردن Total motility از اهمیت ویژه ای برخوردار است و افزایش آن بعد از شستشو، نقش تعیین کننده آنرا می رساند که خود می تواند در ایجاد باروری، نقش کلیدی اش را ایفا نماید.

تقدیر و تشکر

از ریاست، مدیریت و پرسنل محترم مرکز باروری و ناباروری حضرت فاطمه الزهرا (س)، به ویژه از خانمها، حیدری، فصیحیان و هاشمی تشکر و قدر دانی می گردد.

****

References

1. Sandlow J. Pathogenesis and treatment of varicocles. BMJ 2004; 328 (7446): 967-8.

2. Walsh PC, Retik AB, Vaughan ED. Campbell's urology, 7th ed, Philadelphia, W.B. Saunders 1998; pp: 1287-322.

3. Amelar RD. Coagulation, liquefaction and viscosity of human semen. J Urol 1962; 87: 187-90.

4. Kumar R, Gupta NP. Subinguinal microsurgical varicocelectomy: evaluation of the results. Urol Int 2003; 71(4): 368-72.

5. Belloli G, D'Agostino S, Zen F, Ioverno E. Fertility rates after successful correction of varicocele in adolescence and adulthood. Eur J Pediatr Surg 1995; 5(4): 216-8.

6. Gat Y, Bachar GN, Zukerman Z, Belenky A, Gornish M. Varicocels: a bilateral disease. Fertil Steril 2004; 81(2): 424-9.

7.Trussell JC, Haas GP, Wojtowycz A, Landas S, Blank W. High prevalence of bilateral varicoceles confirmed with ultrasonography. Int Urol Nephrol 2003; 35(1): 115-8.

8. Walsh PC, Retik AB. Campbell's urology, 8th ed, Philadelphia, W.B. Saunders Co 2002; pp: 2384-6.

9. Younes AK. Improvement of sexual activity, pregnancy rate, and low plasma testosterone, after bilateral varicocelectomy in impotence and male infertility patient. Arch Androl 2003; 49(3): 219-28.

10. Kamal KM, Jarvi K, Zini A. Microsurgical varicocelectomy in the era of assisted reproductive technology: influence of initial semen quality of pregnancy rates. Fertil Steril 2001; 75(5): 1013-6.

11. Burkman LJ. Characterization of hyperactivated motility by human spermatozoa during capacitation: comparison of fertile and oligozoospermic sperm populations. Arch Androl 1984; 13(2-3): 153-65.

12. Smith, KD, Rodriguez Rigau LJ, Steinberger E. Relation between indices of semen analysis and pregnancy rate in fertile couples. Fertil Steril 1977; 28(12): 1314-19.

13. Yanagimachi R. The movement of golden hamster spermatozoa before and after capacitation. J Repod Fertil 1970; 23(1): 193-6.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1385.8.2.2.8]

14. Martin Du Pan RC, Bischof P, Campana A, Morabia A. Relationship between etiological factors and total motile sperm count in 350 infertile patients. Arch Androl 1997; 39(3): 197-210.

15. Moslein Rossmessl S, Taubert HD. Male subfertility and the outcome of intrauterine insemination. Anderologia 1989; 21(6): 519-22.

16. Esterves SC, Sharma PK, Thomas AJ, Agrawal A. Effect of swim up sperm washing and subsequent capacitation on acrosome status and functional membrane integrity of normal sperm. Int J Fertil Womens Med 2000; 45(5): 335-41.

17. Adiga SK, Kumar P. Influence of swim up method on the recovery of spermatozoa from different types of semen samples. J Assist Reprod Genet 2001; 18(18): 160-4.

18. Purris K, Egdetveit I. Factors affecting sperm yield during swim up. J Assist Reprod Genet 1993; 10(20): 145-50.

19. Scott RT Jr, Oehninger SC, Menkveld R, Veeck LL, Acosta AA. Critical assessment of sperm morphology before and after double wash swim up preparation for in vitro fertilization. Arch Androl 1989; 23(2): 123-9.

20. Younglai EV, Holt D, Brown P, Jurisicova A, Casper RF. Sperm swim up techniques and DNA fragmentation. Hum Reprod 2001; 16(9): 1950-3.

21. Dominguez LA, Burgos MH, Fornes MW. Morphometrical comparison of human spermatozoa obtained from semen and swim up methodology. Andrologia 1999; 31(1): 23-6.

22. Berg U, Brucker C, Berg FD. Effect of motile sperm count after swim up on outcome intrauterine insemination. Fertil Steril 1997; 67(4): 747-50.

23. Parikh FR, Kamat SA, Kodwaney GG, Balaiah D. Computer assisted semen analysis parameters in men with varicocele: is surgery helpful? Fertil Steril 1996; 66(3): 440-5.

* آدرس نویسنده مسئول: دانشگاه علوم پزشکی، گروه آناتومی و جنین شناسی، تلفن: ۴-۲۲۲۹۵۹۱-۰۱۱۱.
alijorsara@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1385.8.2.2.8]