فصلنامه (علمی – پژوهشی)

زیست شناسی تکوینی

سال سیزدهم، شماره ۴، پاییز ۱۴۰۰ ص. ۱۰-۱

مقاله پژوهشی

بررسی مورفولوژی اسپرم در بیماران مبتلا به واریکوسل با درجه‌های مختلف با استفاده از روش استریولوژی

نرگس شوهانی‌زاد، شبنم موثقی، هانیه بیات و شبنم عبدی*

گروه علوم تشریح و علوم اعصاب شناختی، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران

* (نویسنده مسئول مکاتبات): sh.abdi@iautmu.ac.ir

تاریخ دریافت: تیر ۱۴۰۰ تاریخ پذیرش: آذر ۱۴۰۰

چکیده

واریکوسل از شایع‌ترین علل ناباروری مردان می باشد که در آن عملکرد بیضه و فرایند اسپرم سازی دچار آسیب می گردد. در این مطالعه، پارامترهای اسپرم و مورفولوژی اسپرم بین بیماران مبتلا واریکوسل در درجات مختلف مقایسه شد. این مطالعه بر روی ۵۵ بیمار مبتلا به واریکوسل با درجه۲،۱و۳ همچنین ۳۲ فرد بارور (کاندیدهای اهدای جنین یا تعیین جنسیت) به عنوان گروه کنترل انجام شد. پس از جمع آوری مایع منی از بیماران، پارامترهای اسپرم (تعداد، تحرک و مورفولوژی اسپرم) و میزان زنده ماندن اسپرم در نمونه‌های مختلف مایع منی مورد بررسی قرار گرفت. همچنین، با روش استریولوژی مورفولوژی اسپرم (حجم سر، گردن و طول دم) در گروه‌های مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت. پارامترهای اسپرمی شامل تعداد، تحرک و مورفولوژی اسپرم به طور معنی داری در بیماران واریکوسل کیفیت پایین‌تری نسبت به افراد بارورداشتند و درصد حرکت اسپرم، زنده مانی، تعداد اسپرم در گروه واریکوسل درجه سه به طور معناداری کمتر از سایر گروه‌ها بود. اختلاف معناداری در مقایسه حجم سر اسپرم و طول قطعه میانی بین گروه‌های واریکوسل درجه ۱ ،۲و ۳ وجود نداشت، ولی اندازه طول دم در گروه واریکوسل درجه سه به طور معناداری از سایر گروه‌های مورد مطالعه کمتر بود. واریکوسل، در تمام درجه‌های آن، از نظر مورفولوژیکی و تعداد اسپرم‌ها با کاهش همراه است. همچنین، مطالعه ما نشان می‌دهد که درجه واریکوسل بر تحرک، مورفولوژی و زنده ماندن اسپرم و اندازه طول دم اسپرم تأثیر می‌گذارد.

کلیدواژه‌ها: اسپرم، استریولوژی، واریکوسل، مورفولوژی.

مقدمه

بیضه‌ها، بخشی از اندام‌های تناسلی مردانه هستند که حاوی سلول‌های زایا (اسپرماتوگونیا، اسپرماتوسیت و اسپرماتید) و اسپرم و همچنین سلول‌هایی پشتیبان(سرتولی) و سلول‌های ترشح کننده هورمون تستوسترون (سلول‌های لیدیگ) هستند، بنابراین هرگونه ناهنجاري‌های در این عضو موجب ناباروري فرد می‌شود[۱]. در بیشتر پستانداران، بیضه که در آن فرآیند اسپرماتوژنز رخ می‌دهد، در کیسه بیضه

(Scrotum) و خارج حفره‌ی بدن قرار دارد[۲]. در حالت طبیعی، دمای بیضه‌ای در اسکروتوم ۱ تا ۲ درجه سانتی‌گراد از دمای داخلی بدن کمتر بوده و افزایش دمای بیضه‌ای می‌تواند بر روی فرآیند اسپرماتوژنز تأثیر بگذارد [۳-۷]. فرآیند اسپرماتوژنز در موش ۳۵ روز و در انسان ۷۵ روز طول می‌کشد[۲]. فرآیند اسپرماتوژنز می‌تواند توسط فاکتورهای متعددی مانند مواد شیمیایی، گنادوتروپین یا تستوسترون، گرما، اشعه و غیره دچار تداخل گردد، برای مثال، افزایش سطح دمای بیضه باعث سرکوب اسپرماتوژنز در گونه‌های مختلف پستانداران از جمله انسان می‌شود [۸] تنظیم حرارت بیضه توسط چند ویژگی کیسه‌ی بیضه مانند پوست نازک با حداقل چربی زیرپوستی، غدد عرق متراکم و توزیع موی اندک، همچنین عضلات و عروق خونی در ناحیه‌ی تناسلی تنظیم می‌شود [۷]. بیماری واریکوسل شایع‌ترین بیماری قابل درمان با روش جراحی در مردان نابارور است که منجر به تولید اسپرم ضعیف و کاهش کیفیت مایع منی می‌باشد و تقریباً در ۱۵ تا ۲۰ درصد از کل مردان و در ۴۰ درصد از مردان نابارور رخ می‌دهد[۱, ۹]. این عارضه، اتساع شبکه‌ی وریدی پامپینی فرم و ورید اسپرماتیک داخلی است. محققان معتقدند که واریکوسل در تنظیم درجه حرارت بیضه تداخل ایجاد کرده و باعث اختلال در ساختار، عملکرد و تولید اسپرم می‌شود[۹, ۱۰]. از علل واریکوسل می‌توان به عدم وجود دریچه‌های ضد رفلاکس مؤثر در محل اتّصال ورید بیضه و ورید کلیه، همچنین افزایش فشار ورید کلیوی به‌دلیل فشرده‌سازی آن بین شریان مزانتریک فوقانی و آئورت اشاره کرد[۱۱, ۱۲]. مطالعات متعدد نشان دادند که در بیماران واریکوسل کیفیت پارامترهای اسپرمی (تعداد، تحرک و مورفولوژی) نسبت به افراد بارور کاهش می‌یابد[۵, ۱۳-۱۵]. رابطه ی بین واریکوسل و اختلال در روند اسپرماتوژنز به خوبی شناخته شده است و از روش‌های مختلفی جهت بررسی آسیب به رده‌های سلول‌های زایا، تحرک و مورفولوژی و DNA اسپرم استفاده شده است ولی تا کنون تغییرات موفولوژی اسپرم در درجات مختلف این بیماری مورد بررسی نگرفته است لذا در این مطالعه سعی شده است با استفاده از روش استریولوژی اطلاعات دقیق در خصوص موفولوژی اسپرم در این بیماران کسب گردد.

روش استریولوژی تکنیک‌های عملی را برای استخراج اطلاعات کمیّ درباره یک جسم سه بعدی با استفاده از اندازه گیری‌های به‌دست آمده در مقاطع مسطح دو بعدی فراهم می‌کند. با توجه به افزایش شیوع ناباروری و اهمیّت بیماری واریکوسل در ناباروری و تمرکز کمتر مطالعات انجام شده در تأثیر این بیماری بر مورفولوژی اسپرم، بر خود واجب دانستیم با بررسی دقیق مورفولوژی با روش استریولوژی در بیماران با درجه‌های متفاوت واریکوسل، به بررسی بیشتر این مسأله بپردازیم. بنابراین در این مطالعه سعی بر آن است که علاوه بر مقایسه پارامترهای اسپرمی، مورفولوژی اسپرم نیز بین افراد بارور و نابارور واریکوسل مورد ارزیابی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در کمیته‌ی اخلاق برای تحقیقات انسانی، در دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم پزشکی تهران به تصویب رسیده است. افراد شرکت‌کننده در این مطالعه به دو گروه تقسیم شدند که گروه اول شامل ۴۳ مرد نابارور مبتلا به واریکوسل بودند. معیارهای ورود این افراد به مطالعه مطابق طبقه‌بندی Dubin و Amelar که معمولاً برای تشخیص بالینی واریکوسل استفاده می‌شود، کهشامل اندازه‌ی بیضه طبیعی و واریکوسل بالینی درجه I، درجه II (در این حالت اتساع وریدهای بیضه قابل لمس است) و درجه III (در این حالت اتساع وریدهای بیضه قابل رؤیت است) بود. افراد آزواسپرمی، لوکوسیتواسپرمی، دارای سابقه عفونت ادراری، سندرم کلاینفلتر و ناباروری با فاکتور زنانه از مطالعه حذف شدند. گروه دوم شامل۳۲ فرد بارور (افراد کاندیدای اهدای جنین یا تعیین جنسیت) هستند که به عنوان گروه کنترل در نظرگرفته شدند. از افراد شرکت‌کننده در این مطالعه رضایت‌نامه کتبی گرفته شد. در این مطالعه ۴۳ نفر مبتلا به بیماري واریکوسل که ۳۰ نفر درجه I و ۸ نفر درجه II و ۵ نفر درجه III بودند،شناسایی شدند.

جمع آوری مایع منی: نمونه مایع منی بیماران در همه گروه‌ها بعد از ۴-۳ روز جلوگیری از مقاربت جمع آوری شد. نمونه مایع منی جهت بررسی پارامترهای اسپرمی (تعداد، تحرک و مورفولوژی) با استفاده از میکروسکوپ نوری بر اساس معیار سازمان جهانی بهداشت (WHO) بررسی استریولوژی موفولوژی اسپرم مورد استفاده قرار گرفت.

ارزیابی اسپرم

جهت شمارش اسپرم از لام هموسیتومترنئوبار استفاده گردید. پس از خارج کردن نمونه از انکوباتور توسط سمپلر مقدار ۱۰ میکرولیتر محلول PBS به همراه اسپرم به داخل یک میکروفیوژ تخلیه گردید و با ۹۰ میکرولیتر آب مقطر مخلوط شد. سپس میزان 10 میکرولیتر از این محلول زیر میکروسکوپ قرار گرفت و با بزرگنمایی 400× اسپرم‌ها شمارش شدند. سپس تعداد اسپرم‌ها در هر میلی‌لیتر تعیین شد. قبل از ارزیابی غلظت اسپرم به وسیله‌ی لام نئوبار، ابتدا غلظت اسپرم روی لام با بزرگنمایی **x400** تخمین زده شد و براساس دستورالعمل، مایع منی با استفاده از محلول ثبوت رقیق گردید. در تکرار اول، حداقل ۲۰۰ اسپرم شمارش شد. در ابتدا شمارش اسپرم از خانه شماره ۵ شروع شد و اسپرم‌ها به صورت ردیفی یا ستونی شمارش شده تا حداقل ۲۰۰ اسپرم شمارش شود. سپس تعداد اسپرم شمارش‌شده را بر تعداد ردیف یا ستون شمارش‌شده تقسیم کردیم تا غلظت اسپرم در این تکرار مشخص شود، همان مراحل را در محفظه‌ی مقابل نیز تکرار کرده و همان تعداد ردیف یا ستون را شمارش نموده، سپس تعداد اسپرم شمارش شده را ثبت و بر تعداد ردیف یا ستون شمارش شده تقسیم کرده تا غلظت اسپرم در تکرار دوم نیز محاسبه شود. در نهایت، مجموع تعداد اسپرم شمارش شده در دو تکرار را مشاهده و در صورت اختلاف غیرقابل قبول مجدداً شمارش اسپرم را تکرار شد.

بررسی حرکت و زنده مانی اسپرم[1]

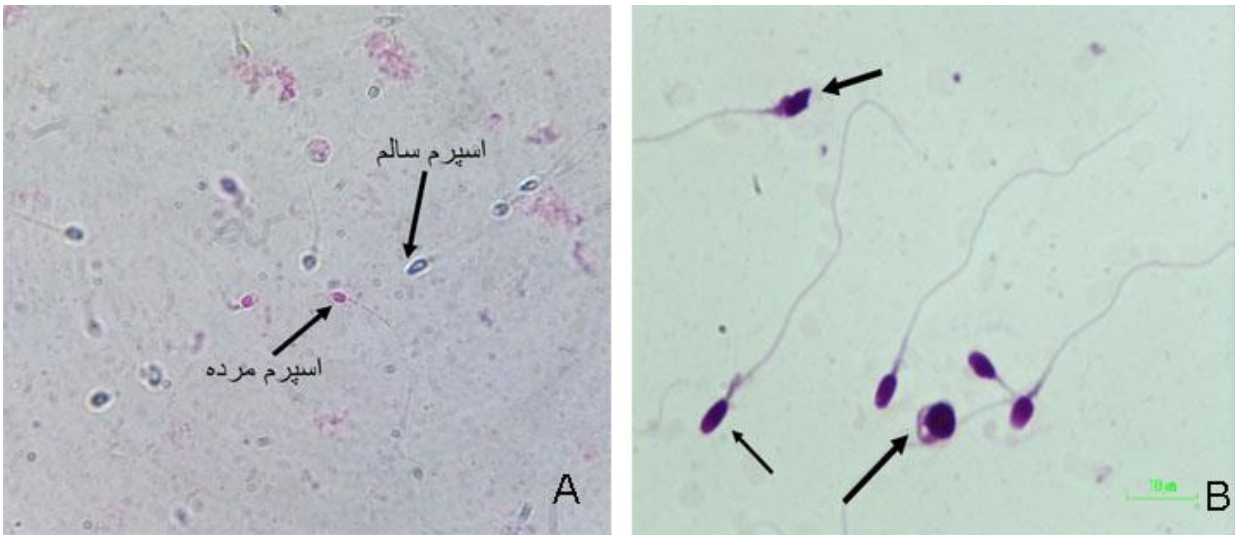
بررسی قابلیت تحرک اسپرم بر اساس دستورالعمل WHO انجام شد. بدین ترتیب که ابتدا ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون اسپرم درون chamber Makler که از پیش در دمای۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم شده بود، منتقل و حرکات اسپرم زیر میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفت. تعداد۲۰۰ اسپرم برای هر نمونه بررسی و درصد اسپرم‌های دارای حرکت پیشرونده، حرکت درجا و بدون حرکت محاسبه گردید. براي ارزیابی درصد اسپرم‌هاي زنده و همچنین تشخیص اسپرم‌هاي زنده از مرده، از روش رنگ‌آمیزي ائوزین-نگروزین استفاده شد. بر اثر آسیب به غشاي پلاسمایی، اسپرم‌ها در برابر رنگ ائوزین نفوذ پذیر می‌شوند. در نتیجه، اسپرم‌هایی که در نواحی سر، گردن و دم رنگ را به خود جذب کنند، به‌عنوان اسپرم‌هاي مرده اطلاق می‌شوند. نتایج برحسب درصد بیان شدند (شکل A ۱).

مورفولوژی اسپرم

در این مطالعه جهت بررسی شکل اسپرم، اسپرم‌ها با رنگ دیفکوئیک[2] رنگ‌آمیزی شدند. اسپرم‌های طبیعی در ناحیه‌ی سر، گردن و دم هیچ مشکلی ندارند. درحالی‌که اسپرم غیرطبیعی با دم پیچ‌خورده سر، ماکروسفال، میکروسفال، اسپرم دو سر یا اسپرم بدون سر مشخص می‌شوند. جهت تعیین میزان اسپرم‌های نرمال از نظر شکل، ۵ میدان دید میکروسکوپی در نظر گرفته شد و اسپرم‌های نرمال و غیر نرمال شمارش شدند و سپس درصد اسپرم‌های نرمال از نظر مورفولوژی محاسبه شدند. برای بررسی مورفولوژی، از بزرگ‌نمایی۱۰۰۰ استفاده کردیم. در اسپرم نرمال، سر باید صاف بوده و دارای حاشیه‌ای منظم باشد. در آکروزوم نباید واکوئل درشت دیده شود و حداکثر ۲ واکوئل کوچک ممکن است دیده شود که نباید بیش از ۲۰ درصد حجم سر را اشغال نماید.قطعه‌ی میانی ظریف و منظم بوده و طول آن تقریباً مساوی با طول اسپرم است. اگر در قطعه‌ی میانی، سیتوپلاسم اضافی بیش از ⅓ اندازه‌ی سر اسپرم باشد، غیرطبیعی محسوب می‌شود. قطعه‌ی اصلی در تمام طول خود اندازه‌ای یکنواخت داشته و از قطعه‌ی میانی نازک‌تر است. طول این ناحیه حدوداً $۴۵\mu m$ است که تقریباً ۱۰ برابر طول سر اسپرم است) شکل B ۱).

[1] Motility, viability

[2] Diff-quick staining s



شکل- ۱ بررسی حرکت و زنده مانی اسپرم و مورفولوژی اسپرم

برآورد میانگین حجم سر اسپرم به روش استریولوژی

نمونه اسپرم‌های که Quik-Diff رنگ‌آمیزی شدند با استفاده از روش nucleator حجم سر تخمین زده شد. با استفاده از روش جهت‌یابی، سر اسپرم، به قطعات تصادفی یکنواخت ایزوتروپی بریده شد. از سر اسپرم با استفاده از یک جدا کننده‌ی نوری نمونه تهیه شد. برای هر نمونه‌ی سر اسپرم، دو جهت افقی متقاطع از نقطه‌ی مرکز به سمت مرزهای سر اسپرم در نظر گرفته شد. از یک سری از این اندازه‌گیری‌ها (۱۲۰ تا ۲۰۰ تقاطع در هر گروه) ، میانگین حجم سر اسپرم در توزیع موزون برآورد شد.

برآورد طول قطعه‌ی میانی و دم اسپرم

هر اسلاید با یک سیستم میکروسکوپ تصویری ساخته شده از میکروسکوپ (E-۲۰۰، نیکون، توکیو، ژاپن) متصل به یک دوربین فیلم برداری مورد مطالعه قرار گرفت. برای دستیابی به شناسایی بهتر سر، قطعه‌ی میانی و دم، از عدسی غوطه‌ور در روغن ۱۰۰× استفاده شد. روش برآورد طول قطعه‌ی میانی اسپرم و دم در اسلایدهای میکروسکوپی نمونه‌ای از کاربرد برآورد طول در فضای دو بعدی است. کل اسلاید با استفاده از روش تصادفی سیستماتیک، منطبق شد. به‌طور خلاصه، میدان‌های میکروسکوپی، به‌صورت تصادفی سیستماتیک و با حرکت میکروسکوپ در یک فاصله‌ی مساوی در امتداد جهت X و Y و با استفاده از میکرومتر، نمونه برداری شدند. از هر اسلاید (هر موضوع) صد اسپرم نمونه برداری شد. برخی از دستورالعمل‌ها برای داشتن اندازه‌ی نمونه‌ی استریولوژیک که دقت لازم را دارند، کافی هستند.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

نتایج حاصل از آزمایشات مختلف به صورت میانگین ± انحراف معیار (Mean ± SD) بیان گردید. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Spss (version 16) و آزمون آنالیز واریانس ANOVA و آزمون تکمیلی post hoc (LSD) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. سطح معنی‌داری معادل $p\leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

تعداد اسپرم‌ها

میانگین تعداد اسپرم در گروه کنترل $85\times10^6\pm4\times10^6$ بود در حالی‌که در گروه‌های واریکوسل درجه ۱ ، ۲ و ۳ به ترتیب تعداد اسپرم $36\times10^6\pm4\times10^6$، $24\times10^6\pm5\times10^6$، $11\times10^6\pm3\times10^6$ بود. با افزایش درجه واریکوسل تعداد اسپرم‌ها کاهش قابل توجّهی داشته و اختلاف معناداری بین تعداد اسپرم‌ها و افزایش درجه واریکوسل وجود دارد ($p<0.05$) (نمودار-۱).

درصد مورفولوژی اسپرم

در گروه کنترل 0.1±10 درصد اسپرم‌ها دارای مورفولوژی نرمال بودند در حالی که در گروه‌های واریکوسل درجه ۱، ۲ و ۳ به ترتیب این مقدار 0.05±4، 0.01±1و 0.08±1 درصد بود. اختلاف معناداری بین تعداد اسپرم‌ها و افزایش درجه واریکوسل وجود دارد ($p<0.05$).

تعیین درصد بقای اسپرم

میانگین قابلیت زنده‌مانی اسپرم‌ها در گروه کنترل 9.10±62 درصد بود در حالی که در گروه‌های واریکوسل درجه ۱ ، ۲ و ۳ به ترتیب این مقدار 3.60±55، 5.09±54 و 6±43 درصد بود. اختلاف معناداری بین گروه واریکوسل درجه یک و دو با واریکوسل درجه ۳ وجود داشت (نمودار-۲).

اختلالات سر اسپرم

میانگین حجم سر اسپرم در گروه کنترل 4.50±91.62 میکرومتر بود در حالی که در گروه‌های واریکوسل درجه ۱، ۲ و ۳ به ترتیب 5.13±80.22، 7.12±75.56 و 3.44±73.01 بود.اختلف معناداری بین گروه‌های واریکوسل مشاهده نشد. (نمودار-۳)

اختلالات گردن و قطعه‌ی میانی اسپرم

میانگین حجم قطعه‌ی میانی اسپرم در گروه کنترل 0.35±3.46 میکرومتر بود در حالی که در گروه‌های واریکوسل درجه ۱، ۲ و ۳ به ترتیب 0.69±3.12، 0.33±2.83 و 0.10±2.82 کرده بود.اختلاف معناداری بین گروه‌های مختف واریکوسل مشاهده نشد. (نمودار-۳)

اختلالات دم اسپرم

میانگین و انحراف معیار طول دم اسپرم در گروه کنترل 4±50.66 میکرومتر بود در حالی که در گروه‌های واریکوسل درجه ۱، ۲ و ۳ به ترتیب 4.60±45.50، 7.01±42.66 و 2.17±35.11 بود. اختلاف معناداری بین گروه واریکوسل درجه یک و دو با واریکوسل درجه ۳ وجود داشت (نمودار-۲).

قابلیت تحرک اسپرم

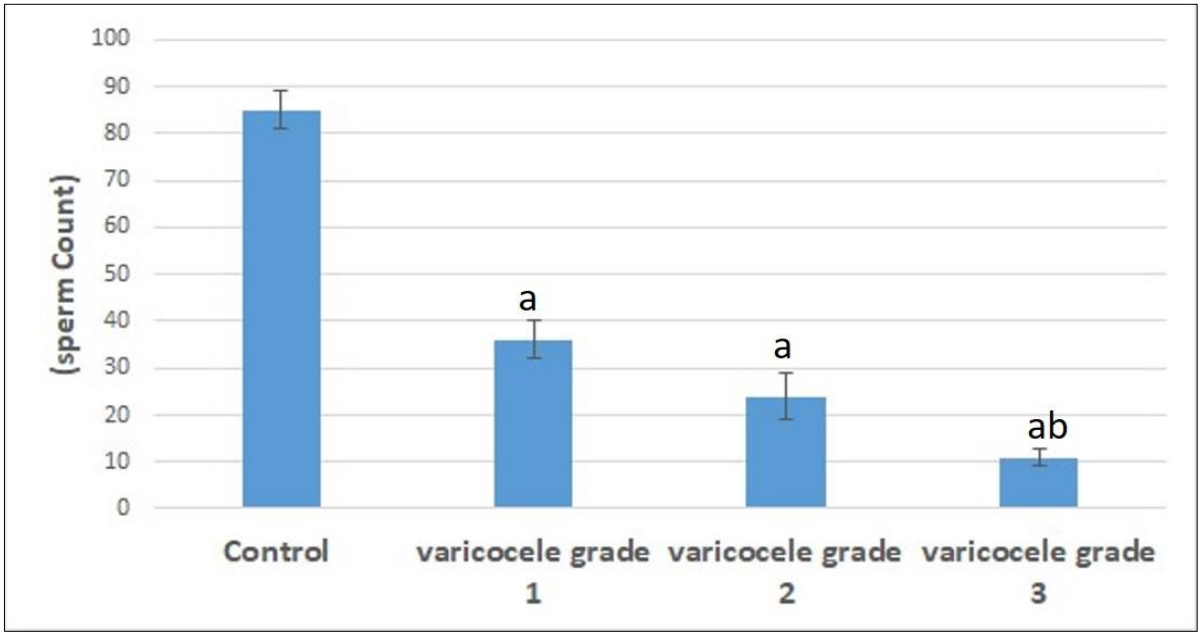
در گروه کنترل به‌طور میانگین تحرک 0.7 ± 14درصد اسپرم‌ها به صورت پیشرونده بود در حالی که در گروه‌های واریکوسل درجه ۱، ۲ و ۳ به ترتیب 0.1±6، 0.09±5 و 0.05±1درصد بود. (نمودار-۴) در گروه کنترل تحرّک 1.4±26 درصد اسپرم‌ها به صورت پیشرونده بود درحالی‌که در گروه‌های واریکوسل درجه ۱ ، ۲ و ۳ به ترتیب 1±18، 0.2±15 و 0.4±8 درصد بود. (نمودار-۴) همچنین تحرّک اسپرم‌ها به صورت غیرپیشرونده در گروه کنترل 1.3±22 درصد و در گروه‌های واریکوسل درجه ۱ ، ۲ و ۳ به ترتیب 0.4±21، 0.1±24 و 0.5±22 درصد بود. میانگین اسپرم غیر متحرک در گروه کنترل 1.2±38 درصد بود، درحالی‌که در گروه‌های واریکوسل درجه ۱، ۲ و ۳ به ترتیب 3.4±55، 2.5±56 و 1.45±69 درصد بود (نمودار-۴).

همچنین درصد تحرک اسپرم در افراد نابارور مبتلا به واریکوسل (۴.۹ ± ۲.۳۹) به‌طور معنی‌داری کمتر از افراد بارور (۹.۲ ± ۵.۶۶) (p <۰/۰۰۱) و درصد درصد تحرک در واریکوسل درجه سه در مقایسه با سایر گروه‌ها به طور معناداری کمتر بود.

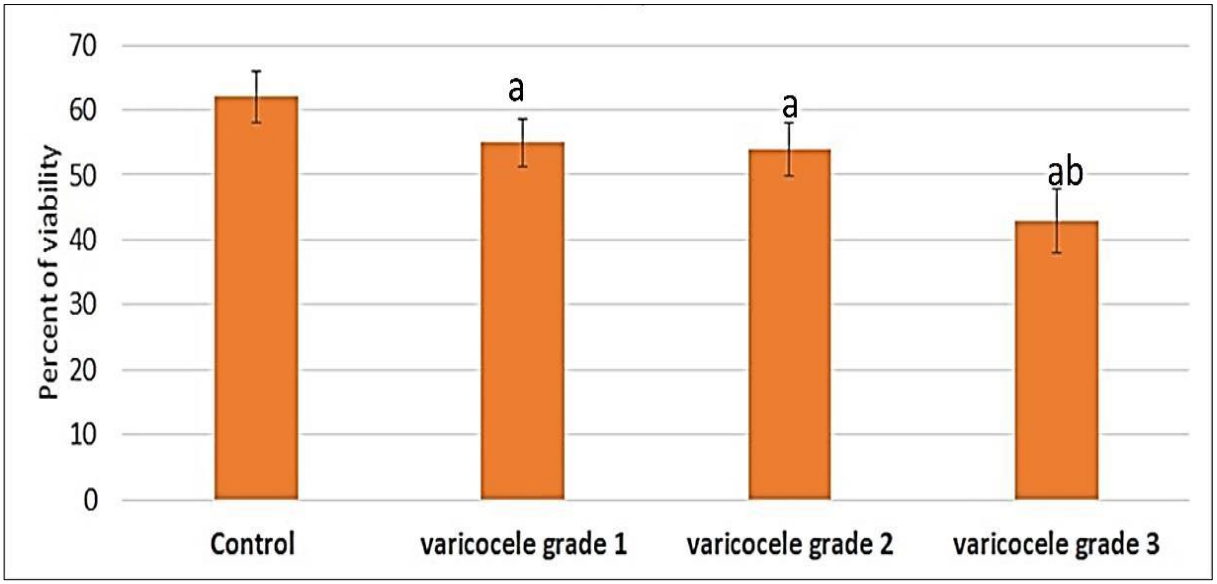
بحث

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که ابتلا به واریکوسل در تمام درجه‌های آن با کاهش درصد اسپرم‌های با مورفولوژی نرمال و درصد تحرک و تعداد اسپرم‌ها همراه است. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که میانگین تعداد اسپرم با افزایش درجه واریکوسل تعداد اسپرم‌ها کاهش قابل توجهی داشته و اختلاف معناداری بین تعداد اسپرم‌ها و افزایش درجه واریکوسل وجود دارد ($p<0.05$)، که از گروه کنترل کمتر بود. غلظت اسپرم در افراد نابارور مبتلا به واریکوسل به‌طور معنی‌داری کمتر از افراد بارور بود (p<۰/۰۰۱) که مشابه

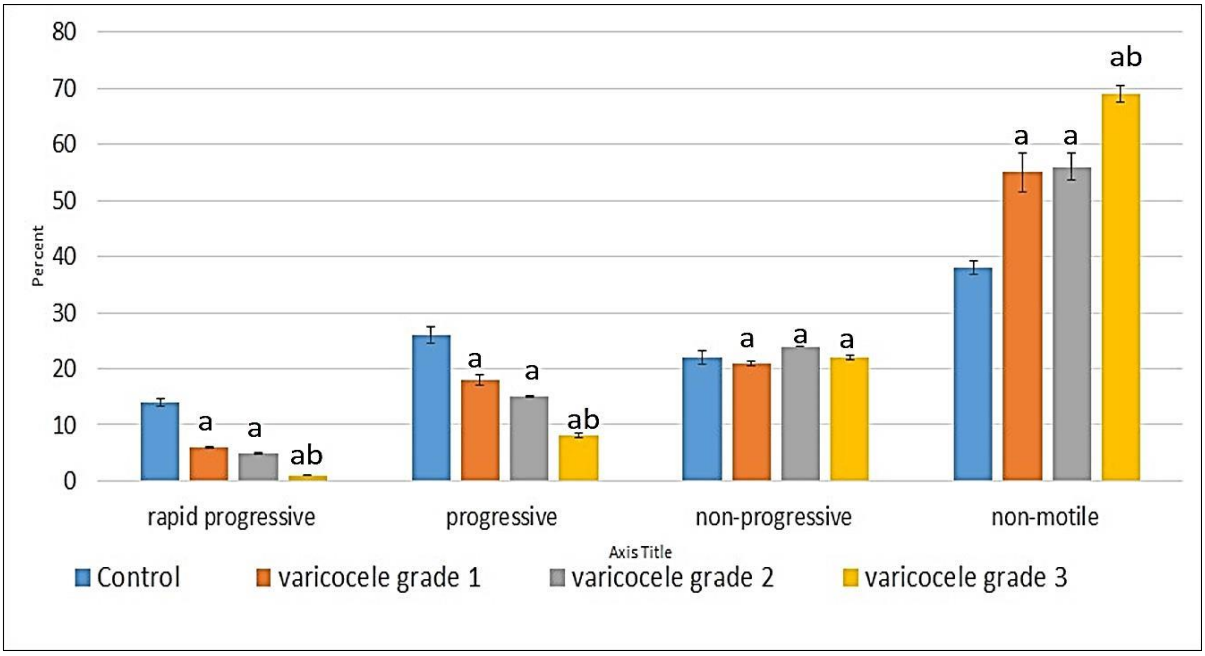
مطالعه‌ای است که توسط برکت و همکاران در سال ۱۳۹۴ با عنوان «مقایسه پارامترهای اسپرمی و ویژگی‌های عملکردی آن بین افراد بارور و نابارور مبتلا به واریکوسل» انجام شد. نتایج این مطالعه نشان داد که غلظت، درصد تحرک و مورفولوژی طبیعی اسپرم در افراد مبتلا به واریکوسل نسبت به افراد بارور به طور معنی‌داری کمتر است.



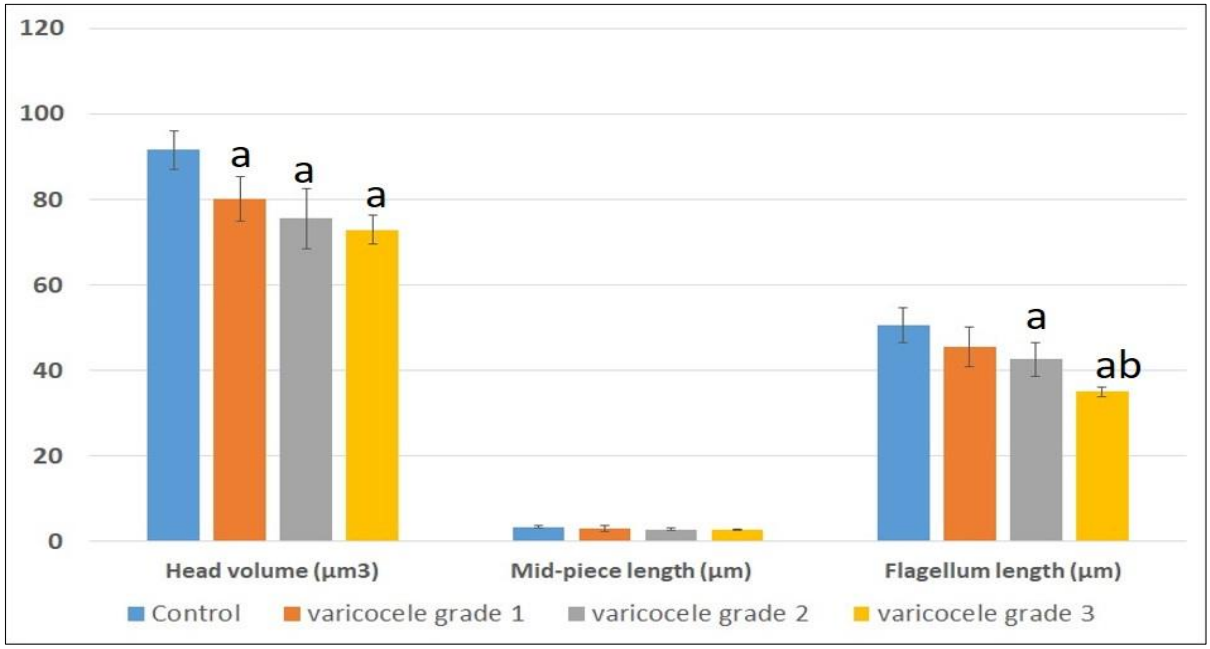
نمودار-۱ مقایسه تعداد اسپرم ها درگروه های واریکوسل در درجات مختف با گروه کنترل. a نشانگر اختلاف معناداربا گروه کنترل می باشد و b نشانگر اختلاف معنادار با واریکوسل درجه یک و دو می باشد.



نمودار-۲ مقایسه درصد زنده مانی گروه های واریکوسل در درجات مختف با گروه کنترل. a نشانگر اختلاف معناداربا گروه کنترل می باشد و b نشانگر اختلاف معنادار با واریکوسل درجه یک و دو می باشد.



نمودار-۳ مقایسه درصد حرکت اسپرم گروه های واریکوسل در درجات مختف با گروه کنترل. a نشانگر اختلاف معناداربا گروه کنترل می باشد و b نشانگر اختلاف معنادار با واریکوسل درجه یک و دو می باشد.



نمودار-۳مقایسه میانگین حجم سر، طول دم وقطعه میانی سپرم در گروه های واریکوسل در درجات مختف با گروه کنترل. a نشانگر اختلاف معناداربا گروه کنترل می باشد و b نشانگر اختلاف معنادار با واریکوسل درجه یک و دو می باشد.

درصد مورفولوژی غیرطبیعی در افراد نابارور مبتلا به واریکوسل به‌طور معنی‌داری بیشتر از افراد بارور بود (p<۰/۰۰۱). مشابه مطالعه‌ی ما، نوائیان کلات و همکاران در سال ۱۳۹۱ با مطالعه‌ای تحت عنوان «پارامترهای اسپرمی و سلامت DNA اسپرم بین افراد بارور سالم و مبتلا به واریکوسل» نشان دادند که پارامترهای اسپرمی شامل تعداد،

تحرک و مورفولوژی اسپرم به طور معنی‌داری در بیماران واریکوسل کیفیت پایین‌تری نسبت به افراد بارور داشتند. همچنین درصد اسپرم‌های دارای آسیب DNA در این بیماران، نسبت به افراد بارور افزایشی معنی‌دار داشت. ارتباط پارامترهای اسپرمی و آسیبDNA اسپرم نشان داد که بین درصد آسیبDNA با غلظت اسپرم رابطه‌ی معکوس و با اسپرم‌های دارای مورفولوژی غیرطبیعی رابطه‌ی مثبت و معنی‌داری وجود دارد[۱]. در این مطالعه، در افراد مبتلا به واریکوسل، ارتباط مثبت و معنی‌داری بین درجه واریکوسل و طول دم اسپرم وجود دارد، همچنین مطالعه‌ی ما نشان داد که درصد تحرک اسپرم در افراد نابارور مبتلا به واریکوسل به‌طور معنی‌داری کمتر از افراد بارور (p <۰/۰۰۱) بود. همانطور که سهرابی و همکاران نیز در یک مطالعه مقطعی تحت عنوان «تاثیر درمان واریکوسل بر شاخص‌های آنالیز اسپرم» نشان دادند که کلیه شاخص‌های اسپرم با عمل واریکوسلکتومی وضعیت بهتر و مطلوب‌تری پیدا نموده به طوری که بین شاخص‌های اسپرم مثل افزایش میانگین حجم مایع منی (p<0.001)، افزایش میانگین تعداد اسپرم (p<0.001)، افزایش تحرک اسپرم (p=0.001) بهترشدن مورفولوژی اسپرم (p<۰/۰۰۱)، اصلاح PH مایع منی (p<0.001)، و عمل واریکوسلکتومی رابطه‌ی معناداری وجود داشت [۳۴]. در مطالعات مختلفی ارتباط ناباروری با مورفولوژی اسپرم بررسی شده که با توجه به تغییرات مورفولوژی در واریکوسل نشان دهنده‌ی تاثیر واریکوسل در ناباروری است. در بررسی طول دم اسپرم مطالعه‌ی ما نشان داد که میانگین و انحراف معیار طول دم اسپرم در گروه کنترل 50.66±4 میکرومتر بود در حالی که در گروه‌های واریکوسل درجه ۱، ۲ و ۳ به ترتیب این مقدار 45.50±4.60، 42.66±7.01 و 35.11±2.17 میکرومتر بود. نورافشان در سال ۲۰۱۰ مطالعه‌ای با هدف ارائه توصیف روش استریولوژیکی برای اندازه‌گیری طول دم اسپرم و مقایسه‌ی آن در افراد با تحرک طبیعی و غیر طبیعی اسپرم، تحت عنوان «یک روش ساده برای برآورد بی‌طرفانه از انزال افراد با تحرک طبیعی و غیر طبیعی اسپرم» انجام دادند. یافته‌های آن‌ها نشان داد که طول دم اسپرم به طور متوسط در افراد با تحرک اسپرم غیرطبیعی پایین‌تر از افراد با تحرک طبیعی است[۱۶]. یکی از اهداف مهم این مطالعه ارزیابی اثر درجه‌های مختلف واریکوسل بر میزان تغییر در پارامترهای مایع منی است. به این منظور تمامی پارامترهای اسپرم در افراد با درجه‌های مختلف را به صورت کمی و جداگانه ثبت و مقایسه شدند. تحقیقات اخیر در نوجوانان نشان داده که واریکوسل در درجه‌های II و III باعث کاهش حجم بیضه و کیفیت منی می‌شود که مستقل از درجه است؛ اما نتایج نشان داد که درصد حرکت پیشرونده‌ی اسپرم در درجه ۳ در مقایسه با درجه ۲ کاهش یافته است [۳۵]. در مطالعه‌ی حاضر نشان داد که میزان تحرک اسپرم به صورت به‌سرعت‌پیشرونده و پیشرونده در واریکوسل درجه ۳ به طور معناداری از درجه ۲ و ۱ کمتر است (p<0.001) در یک مطالعه‌ی بالینی که توسط جیوانی و همکاران در سال ۲۰۱۰ انجام شد، بیان شد که تحرک اسپرم، احتمالاً به دلیل از بین رفتن غشای اسپرم، در تمامی درجه‌های واریکوسل تقلیل یافته که در تست HOS (تورم هیپواسموتیک)، احتمالاً توسط رادیکال‌های آزاد، نشان داده شده است که این امر، در مطالعات قبلی در تغییر جریان یونی لازم برای تحرک عادی اسپرم نیز، نمایان است. نتیجه این مطالعه نشان داد که هم درجه واریکوسل و هم افزایش سن در مردان مبتلا به واریکوسل می‌تواند میزان تغییر در کیفیت اسپرم را تعیین کند [۱۸,۱۷].

همچنین یک مطالعه نشان داد که اندوتلیوم جداشده از رگ‌های اسپرماتیک واریسی انسان مواد گشادکننده‌ی عروقی کمتری تولید می‌کند، که منجر به افزایش اثر مواد منقبض‌کننده عروق در واریکوسل درجه III می‌شود، که این مسئله نشان می‌دهد که یک اختلال عملکرد اندوتلیال می‌تواند در درجه‌های بالایی از واریکوسل ایجاد شود و در واریکوسل درجه ۳ بر مورفولوژی اسپرم تأثیر بگذارد[۱۹]. همچنین بسیاری از مطالعات بیان کردند که در افراد واریکوسل علاوه بر افزایش سطح استرس اکسیداتیو، میزان آنتی‌اکسیدانت‌ها در مایع‌منی نیز نسبت به افراد بارور کاهش می‌یابد. بنابراین می‌توان بیان کرد که احتمالا کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی می‌تواند باعث افزایش سطح

استرس اکسیداتیو و بر هم خوردن تعادل در مایع منی افراد نابارور مبتلا به واریکوسل شود[۱۵].

درنتیجه، مطالعه‌ی حاضر نشان دادند که درجه واریکوسل در میزان تحرک، مورفولوژی و قابلیت زنده‌مانی اسپرم‌ها تأثیرگذار است. بر خلاف مطالعه‌ی حاضر، در مطالعه‌ای که توسط جیوانی انجام شد، مقایسه پارامترهای منی بین درجه‌های مختلف واریکوسل سمت چپ (I، II یا III) نشان داد که درصد اسپرم با مورفولوژی طبیعی در درجه III کاهش می‌یابد، در حالی که پارامترهای دیگر تحت تأثیر قرار نمی‌گیرند (۱۷) .

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که ابتلا به واریکوسل، در تمام درجه‌های آن، با کاهش درصد اسپرم‌های با مورفولوژی نرمال و درصد تحرک و تعداد اسپرم‌ها همراه است. همچنین، مطالعه‌ی ما نشان می‌دهد که طول دم اسپرم در درجات بالاتر واریکوسل تحت تاثیر قرار می گیرد.

منابع

[۱] برکت، فروغ، تولایی، آزادی، نصراصفهانی، حسین م. مقایسه پارامترهای اسپرمی و ویژگی‌های عملکردی آن بین افراد بارور و نابارور مبتلا به واریکوسل. سلول و بافت.(Cell and Tissue) 2016; 6(4): 523-32.

[2] Cheng CY, Mruk DD. The blood-testis barrier and its implications for male contraception. Pharmacological reviews. 2012; 64(1): 16-64.

[3] Kim B, Park K, Rhee K. Heat stress response of male germ cells. Cellular and Molecular Life Sciences. 2013; 70(15): 2623-36.

[4] Skau PA, Folstad I. Does immunity regulate ejaculate quality and fertility in humans? Behavioral Ecology. 2005; 16(2): 410-6.

[5] Ishijima S, Oshio S, Mohri H. Flagellar movement of human spermatozoa. Gamete research. 1986; 13(3): 185-97.

[6] Smith D, Gaffney E, Blake J, Kirkman-Brown J. Human sperm accumulation near surfaces: a simulation study. Journal of Fluid Mechanics. 2009; 621: 289-320.

[7] othandaraman R, Andavar S, Raj RSP. Dynamic Model for Assisted Reproductive Technology Outcome Prediction. Brazilian Archives of Biology and Technology. 2021; 64.

[8] Orr TJ, Brennan PL. Sperm storage: distinguishing selective processes and evaluating criteria. Trends in Ecology & Evolution. 2015; 30(5): 261-72.

[9] Lomboy JR, Coward RM, editors. The varicocele: clinical presentation, evaluation, and surgical management. Seminars in interventional radiology; 2016: Thieme Medical Publishers.

[10] Hauser R, Paz G, Botchan A, Yogev L, Yavetz H. Varicocele and male infertility: part II: varicocele: effect on sperm functions. Human reproduction update. 2001; 7(5): 482-5.

[11] Majzoub A, Esteves SC, Gosálvez J, Agarwal A. Specialized sperm function tests in varicocele and the future of andrology laboratory. Asian Journal of Andrology. 2016; 18(2): 205.

[12] Jarow JP. Effects of varicocele on male fertility. Human reproduction update. 2001; 7(1): 59-64.

[13] Wang Y-J, Zhang R-Q, Lin Y-J, Zhang R-G, Zhang W-L. Relationship between varicocele and sperm DNA damage and the effect of varicocele repair: a meta-analysis. Reproductive biomedicine online. 2012; 25(3): 307-14.

[14] Blumer CG, Restelli AE ,Giudice PTD, Soler TB, Fraietta R, Nichi M, et al. Effect of varicocele on sperm function and semen oxidative stress. BJU international. 2012; 109(2): 259-65.

[15] Breznik R, Vlaisavuevic V, Borko E. Treatment of varicocele and male fertility. Archives of andrology. 1993;30(3):157-60.

[16] Noorafshan A, Karbalay-Doust S. A simple method for unbiased estimating of ejaculated sperm tail length in subjects with normal and abnormal sperm motility. Micron. 2010; 41(1): 96-9.

[17] Vivas-Acevedo G, Lozano JR, Camejo MI . Effect of varicocele grade and age on seminal parameters. Urologia internationalis. 2010; 85(2): 194-9.

[18] Baccetti BM, Bruni E, Capitani S, Collodel G, Mancini S, Piomboni P, et al. Studies on varicocele III: ultrastructural sperm evaluation and 18, X and Y aneuploidies. Journal of andrology. 2006; 27(1): 94-101.

[19] Yildiz O, Gul H, Ozgok Y, Onguru O, Kilciler M, Aydin A, et al. Increased vasoconstrictor reactivity and decreased endothelial function in high grade

varicocele; functional and morphological study. Urological research. 2003; 31(5): 323-8.

Evaluation of sperm morphology in patients with different varicocele grades by stereology method

ShoohaniZad N., Movassaghi Sh., Bayat H., Abdi Sh.*

Department of Anatomical Sciences and Cognitive Neuroscience, Faculty of Medicine, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

* (Corresponding author): sh.abdi@iautmu.ac.ir

Received: July 2021 Accepted: December.2021

Abstract

Varicocele is one of the most common causes of male infertility in which testicular function and sperm production process are impaired. In this study, sperm parameters and sperm morphology were compared between patients with different varicocele grades. This study was performed on 55 patients with grade 1, 2 and 3 varicocele as well as 32 fertile individuals (candidates for embryo donation or sex determination) as a control group. After collecting semen from patients, sperm parameters (number, motility and morphology of sperm) and sperm viability in different semen samples were examined. Also, sperm morphology (head, neck and tail length) was evaluated in different groups by stereology technique. Sperm parameters including sperm count, motility and morphology were significantly lower in varicocele patients in comparison to control group and also sperm motility, survival, sperm count in the third degree varicocele group were significantly lower than other groups. There was no significant difference in sperm head volume and midline length between grade 1, 2 and 3 varicocele groups, but tail length in grade 3 varicocele group was significantly shorter than the other groups. Varicocele, in all its degrees, is associated with a decrease in morphology and sperm count. Also, our study shows that the degree of varicocele affects sperm motility, morphology and viability, and sperm tail length.

Keywords: varicocele, sperm, morphology, stereology.