مقاله پژوهشی مجله سلول و بافت (علمی - پژوهشی)
جلد ۳، شماره۲، تابستان ۱۳۹۱، ۱۷۷-۱۷۱

مقایسه پارامترهای اسپرمی و سلامت DNAاسپرم بین افراد بارور و واریکوسل

الهه نوائیان کلات.M.Sc[۱]، مرضیه تولایی.M.Sc[۱]*،همایون عباسی .M.D[۲] ، محمد حسین نصراصفهانی .Ph.D[۱و۲و۳]

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:tavalaee.royan@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۲/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۵/۱۶

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 با درجه IIوIII و ۲۵ فرد بارور انجام شد.پارامترهای اسپرمی (تعداد، تحرک و مورفولوژی اسپرم) و سلامت DNAاسپرم بر روی نمونهمایع 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 ۱/۴۳±۱۴/۳۴ نسبت به افراد بارور ۱/۳۶±۹/۲ افزایش معنی دار داشت. ارتباط پارامترهای اسپرمی و آسیب DNA اسپرم نشان داد که بین درصد آسیب DNA با غلظت اسپرم رابطه‌ی معکوس و با اسپرم‌های دارای مورفولوژی غیرطبیعی رابطه‌ی مثبت و معنی داری وجود داشت.

نتیجهگیری: افزایش دمای بیضه افراد واریکوسل علاوه بر اینکه سبب کاهش کیفیت پارامترهای اسپرمی می‌گردد، DNA اسپرم‌ها را نیز تحت تاثیر قرار داده و بنابراین این افراد با نقص در روند اسپرماتوژنز 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 می‌شود (۱). شیوع واریکوسل در جمعیت عمومی مردان حدود ۱۵ تا ۲۰درصد بوده درحالی 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 می‌رسد. 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 می‌بیند ولی مکانیسم‌های 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 با 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 رده‌های سلول‌های 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 برروی پتانسیل باروری این بیماران داشته باشد. بعلاوه سطح بالای آسیب DNA ممکن است با کیفیت پایین پارامترهای اسپرمی رابطه داشته باشد (۱۰و۱۱).

روش‌های متعددی برای تشخیص میزان آسیب DNA اسپرم وجود دارد که از جمله آن‌ها می‌توان 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 می‌باشند (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 روش‌ها

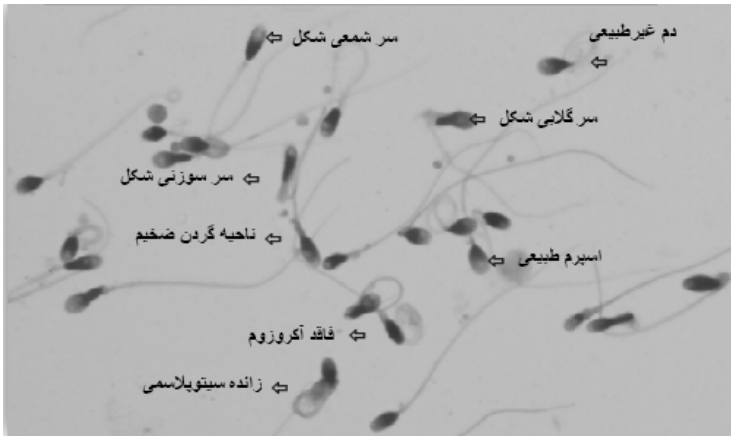
این مطالعه بر روی ۵۵ بیمار مبتلا به واریکوسل با درجهII(حالتی که اتساع ورید ها در بیماران قابل لمس باشد) یا درجه III(حالت شدید بیماری که اتساع وریدها قابل رویت است) مراجعه کننده به مرکز باروری و ناباروری اصفهان و ۲۵ فرد بارور به عنوان گروه کنترل انجام شد. پس از تشخیص نوع واریکوسل توسط جراح مربوطه،پرسشنامه‌ای 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 مطالعه۴/۸۳± ۳۰/۱۱ و میانگین سن افراد بارور۵/۵ ±۳۶/۰۹ و میانگین سن همسران آن‌ها به ترتیب ۴/۶۰± ۲۵/۵۴ و ۵/۵۶± ۳۰/۴۰ بود. میانگین طول مدت ناباروری بیماران واریکوسل نیز ۲/۵۰± ۳/۲۱ سال بود. بررسی پارامترهای اسپرمی و سلامت DNAاسپرم بر روی نمونهمایع منی بیماران انجام شد.

جمع آوری مایع منی: نمونه مایع منی بیماران بعد از ۴-۳ 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 شکستگیDNA با استفاده از رنگ آمیزیTUNELمورد 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

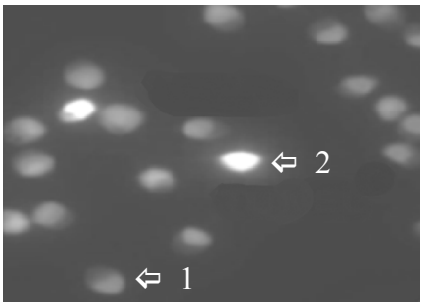
مشاهده‌ی مستقیم در زیر میکروسکوپ بر اساس معیار WHO شامل ۳ نوع حرکت پیشرونده، حرکت غیرپیشرونده و اسپرم‌های غیرمتحرک بود که بصورت مجموع درصد پیشرونده و غیر پیشرونده در این مطالعه گزارش شد.

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 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 (شکل۱).

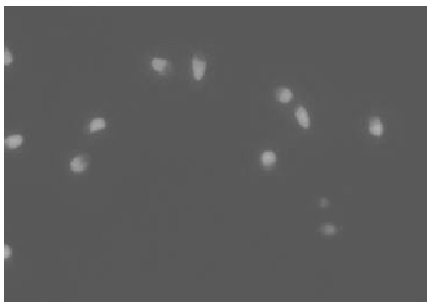


شکل۱: مورفولوژی اسپرم با استفاده از رنگ آمیزی پاپانیکولائو

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 آپوپتیکی‌پردازد و از جمله تکنیک‌های بسیار حساس و اختصاصی در شناسایی اسپرم‌های غیر طبیعی از اسپرم‌های سالم می باشد. 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 آنزیم TerminalDeoxynucleotidyle transferase (TdT) به انتهای 3DNA´-OH (قطعات شکسته DNA) اتصال می یابد.fluorescein-12-dUTP، DNAرا نشان دار نموده امکان مشاهده مستقیم آن را فراهم می‌نماید. میزان fluorescein-12-dUTP به‌وسیله میکروسکوپ فلئورسنس اندازه‌گیری شد. رنگ فلئورسنت مشاهده شده در هر اسپرم، نشانگر شکستگی در رشته یا رشته‌های DNA است. براساس حضور یا عدم حضور رنگ سبز فلئورسنت در ناحیه سر اسپرم، اسپرم‌ها به عنوان TUNEL مثبت (اسپرم‌های دارای شکستگی DNA) یا منفی (اسپرم های دارای DNA سالم) در نظر گرفته می‌شوند(۱۲و ۱۵).



(A)



(B)

شکل۲: 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 شماره۲ نشان‌دهنده اسپرم‌های دارای شکستگی DNA می باشد.

روش بررسی آماری:اطلاعات بدست آمده در محیط نرم افزار SPSS 11.5وارد شد و با استفاده از آنالیزهای آماری Descriptive analysis،CorrelationCoefficientو independent Paired t-testمورد ارزیابی قرار گرفتو در صورتی که P-Value ≤۰/۰۵ بود، از لحاظ آماری معنی دار محسوب شد.

نتایج

نتایج حاصل از ارزیابی پارامترهای اسپرمی در افراد واریکوسل و مقایسهآن‌ها 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 دارمی باشد. میانگین تعداد اسپرم در افراد بارور ۱۶/۹۲±۱۰۶/۸۴ و در افراد واریکوسل ۷/۴۹±۴۴/۸۵، میانگین درصد تحرک اسپرم در افراد بارور ۲/۱±۵۷/۸ و در افراد واریکوسل ۱/۷۱ ±۴۹/۸۷ و میانگین درصد مورفولوژی غیرطبیعی در افراد بارور ۰/۶±۹۴/۷۲ و در افراد واریکوسل ۰/۲۲±۹۷/۲۷ می باشد.

در شکل ۳ مقایسه درصد شکستگی DNA اسپرم در افراد بارور و واریکوسل نشان داد که شکستگی DNA اسپرم در افراد واریکوسل (۱/۴۳±۱۴/۳۴) نسبت به افراد بارور (۱/۳۶±۹/۲) بطور معنی‌دار (p<۰/۰۵) افزایش نشان داد.

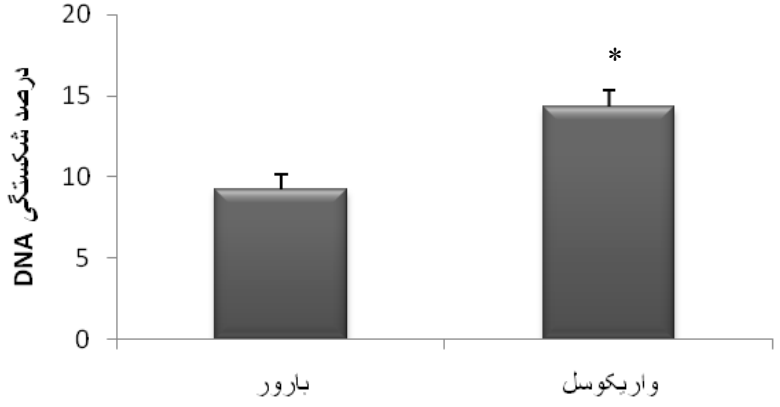
رابطه‌ی بین پارامترهای اسپرم و درصد شکستگی DNA اسپرم در جدول ۲ مشخص شده است. از لحاظ آماری بین درصد اسپرم‌های دارای شکستگی DNA با تعداد اسپرم و درصد اسپرم‌های با مورفولوژی غیرطبیعی در افراد نابارور واریکوسل رابطه‌ی معنی‌دارمعکوسی وجود داشت. در حالی که این روابط در افراد بارور معنی‌دار نبود.

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.

جدول ۱: مقایسه‌ی پارامترهای اسپرمی بیماران واریکوسل با افراد بارور. (میانگین±انحراف معیار) (p<۰/۰۵) نسبت به گروه بارور*

	تعداد اسپرم × ۱۰^۶	درصد تحرک اسپرم	درصدمورفولوژی غیرطبیعی اسپرم
واریکوسل	۴۴/۸۵±۷/۴۹*	۴۹/۸۷± ۱/۷۱*	۹۷/۲۷±۰/۲۲*
بارور	۱۰۶/۸۴±۱۶/۹۲	۵۷/۸±۲/۱	۹۴/۷۲±۰/۶

*شکل ۳: مقایسه ی آسیب DNAاسپرم بین بیماران واریکوسل و افراد بارور(میانگین±انحراف معیار) (p<۰/۰۵)**



*جدول۲: ارتباط بین پارامترهای اسپرم و درصد شکستگی DNAاسپرم. (میانگین±انحراف معیار) (p<۰/۰۵)**

		تعداد اسپرم × ۱۰^۶×	درصد تحرک اسپرم	درصد مورفولوژی غیرطبیعی اسپرم
شکستگی DNA	واریکوسل	-۰/۳۰۱(۰/۰۲۶) *	-۰/۲۰۷(۰/۱۳۰)	۰/۳۰۵(۰/۰۲۳) *
	بارور	-۰/۲۲۱(۰/۲۸۸)	-۰/۱۸۳(۰/۳۸۱)	۰/۲۵۶(۰/۲۱۷)

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 احتمالا 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 احتمالا به دلیل افزایش دمای بیضه می‌باشد، منجر به غیر طبیعی شدن پارامترهای اسپرمی می‌گردد.

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 می‌گردند که از جمله آن‌ها می‌توان 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 پلاسمای مایع منی می باشند (۱۸و۱۹). 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 می‌یابد (۲۰). در نتیجه احتمالا 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 می‌کند (۲۲). با توجه به مطالعه ساکاس و همکاران (۲۳) مشخص گردید که درصدی از اسپرم‌های غیر طبیعی از فرآیند آپوپتوزیس در بیضه فرار کرده و در مایع منی مشاهده می شوند که تحت عنوان فرار از آپوپتوزیس نامگذاری می شوند. برخی مطالعات نشان داده‌اند که اختلال روند اسپرماتوژنز در ناباروران واریکوسل، افزایش درصد اسپرم‌های آپوپتیک که باید در بیضه حذف می‌شدند 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 شکستگی‌های تک رشته‌ای 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 می‌توان 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 می‌گردد. در صورتی که در افراد واریکوسل این درصد بیشتر بوده و حتی در حدود ۳۰ درصد افراد واریکوسل با آسیب DNA بیشتر از ۱۵درصد مواجه هستند. بنابراین می توان احتمال داد که یکی از علل ناباروری این افراد نقص ژنوم می‌تواند باشد. در افراد واریکوسل عملکرد اسپرماتوژنز در اثر دمای بالای بیضه، دچار اختلال شده درنتیجه احتمالا 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 احتمالا اسپرماتوژنز به طور صحیح صورت می گیرد و در نتیجه این امر سبب کاهش اسپرم‌های با آسیب DNA خواهد شد (۲۶و۲۷). در راستای این تئوری، آزادی و همکاران (۲۸) گزارش کردند که افراد واریکوسل دارای میزان بالایی اسپرم با آسیب

DNA می باشند که پس از عمل واریکوسلکتومی بهبود یافته و درصد اسپرم های دارای آسیب DNA کاهش می‌یابد.

در این مطالعه در بیماران واریکوسل بین تعداد اسپرم و درصد آسیب DNA رابطه معکوس و معنی داری مشاهده شد. این ارتباط می تواند 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 معنی داری مشاهده شد. در مطالعه ای 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 می باشد. آوندانو و همکاران (۳۰) در مطالعه‌ای گزارش نمودند که اسپرم‌های با مورفولوژی طبیعی نیز ممکن است دارای آسیب DNA باشند که این احتمال در اسپرم های 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 می باشند که این امر سبب کاهش قدرت باروری این افراد می گردد. با توجه به گزارشات قبلی در بیماران واریکوسل پیشنهاد می شود که، از آنتی اکسیدانت ها جهت کاهش اکسیدانت ها و در نهایت کاهش آسیب DNA استفاده نمایند و در صورتی‌که 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 می یابد، بتوان شانس باروری را در این بیماران افزایش داد و اگر 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 هزینه های 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 varicocelesin 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 inPathogenesis 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.

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, Tavalaee 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.Varicoceleassociated 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 varicocel, 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, kasperson 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, Tavalaee 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. Avenda~no C, i Franchi A, Taylor S, Morshedi M, et al. Fragmentation of DNA in morphologically normal human spermatozoa. Fertil Steril. 2009; 91 (4): 1078-1084.

Journal of Cell & Tissue (JCT)
Summer 2012; 3(2): 171-177

Research Article

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

, Abasi H, M.D.[2], *Elahe Navaeian Kalat E, M.Sc.[1], Tavalaee M, M.Sc.[1]
Nasr Esfahani MH, Ph.D. [1, 2, 3]

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: Tavalaee.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