بررسی ارتباط سطوح مختلف شاخص میزان شکستگی DNA (DFI) بر نتایج آنالیز اسپرم قبل و بعد از عمل واریکوسلکتومی در بیماران نابارور

دکتر سلمان سلطانی[۱]، دکتر محمود توکلی[۱]، دکتر حمیدرضا قربانی[۱]، دکتر مهدی متقی[۲]، دکتر مریم عمادزاده[۳]، دکتر سهیل کسائیان نائینی[۴]، سحر دباغیان[۵]، دکتر سحر رحمانی[۴*]

۱. استادیار گروه اورولوژی، مرکز تحقیقات عوارض پیوند، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
۲. پزشک عمومی، مرکز تحقیقات عوارض پیوند، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
۳. دانشیار گروه پزشکی اجتماعی، مرکز تحقیقات بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
۴. دستیار تخصصی اورولوژی، مرکز تحقیقات عوارض پیوند، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.
۵. کارشناس آموزش پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۹/۰۳ **تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۱/۱۲/۰۸

خلاصه

مقدمه: مطالعات نشان داده‌اند که آنالیز اسپرم رایج، وضعیت باروری را به‌صورت کامل مشخص نمی‌کند. ۱۵٪ مردان نابارور، بررسی بالینی و آزمایشگاهی طبیعی دارند. شاخص تکه‌تکه شدن DNA (DFI) میزان آسیب به DNA را مشخص می‌کند. ۲۰٪ مردانی که علت ناباروری با علت نامشخص دارند، سطح DFI نسبت به حالت طبیعی، بالاتر می‌باشد. مطالعه حاضر با هدف بررسی کارایی بالینی DFI به‌عنوان یک نشانگر پیش‌بینی کننده نتایج عمل واریکوسل انجام شد.

روش‌کار: این مطالعه مشاهده‌ای طولی در سال ۱۴۰۰-۱۳۹۹ بر روی ۶۰ نفر از بیمارانی که به‌دلیل ناباروری در بیمارستان امام رضا (ع) شهر مشهد تحت عمل واریکوسل قرار گرفته بودند، انجام شد. بیماران بر اساس سطح DFI (کمتر از ۱۵٪، ۳۰-۱۵٪ و بیشتر از ۳۰٪) به‌ترتیب به سه گروه با باروری عالی، متوسط و ضعیف تقسیم شدند، سپس آنالیز منی قبل و بعد از عمل انجام گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۲۴) و آزمون های تی جفتی، ویلکاکسون و آنالیز واریانس انجام شد. میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: میانگین DFI در گروه‌های باروری عالی ۲/۹۲±۱۰/۸۳، متوسط ۶/۰۵±۲۱/۱۰ و ضعیف ۱۰/۷۳±۴۶/۵۶ بود. آنالیز اسپرم بیماران با باروری متوسط و ضعیف در هر سه حیطه تعداد، تحرک و شکل به شکل معنی‌داری بهبود یافت. به‌طور متوسط تعداد ۸/۹۲±۱۶/۹۱ میلیون در سی‌سی، تحرک ۱۹/۷۳±۱۳/۹۳ درصد و شکل اسپرم‌ها ۳/۱۷±۳/۵۷ درصد پس از عمل، بهبود یافت.

نتیجه‌گیری: هرچقدر میزان DFI قبل از عمل بیشتر باشد، عمل واریکوسل باعث بهبود بیشتری در فاکتورهای آنالیز اسپرم می‌گردد. در واقع می‌توان این‌گونه برداشت کرد که DFI می‌تواند اثر پیشگویی کننده بر نتایج عمل واریکوسل داشته باشد. به‌عبارتی، مقادیر بالای DFI می‌تواند به‌صورت بالقوه، یک اندیکاسیون عمل واریکوسل قلمداد شود.

کلمات کلیدی: آنالیز اسپرم، شاخص شکستگی DNA، ناباروری، واریکوسل

* **نویسنده مسئول مکاتبات:** سحر رحمانی؛ دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران. **تلفن:** ۰۵۱-۳۸۵۸۳۸۸۵؛ **پست الکترونیک:** Rahmanis971@mums.ac.ir

مقدمه

واریکوسل[1] می‌تواند باعث ناباروری شود، اگرچه پاتوفیزیولوژی آن هنوز به‌طور کامل شناخته شده نیست (۱). تمام مردانی که از واریکوسل رنج می‌برند نابارور نیستند، اما ۴۵-۱۹٪ از مردان با ناباروری اولیه و ۸۱-۴۵٪ مردان با ناباروری ثانویه از واریکوسل بالینی رنج می‌برند (۱، ۲). این افزایش بروز ناباروری، نشانگر پاتوفیزیولوژی پویای بیماری و پیشرونده بودن آن است. واریکوسل باعث کاهش پارامترهای اسپرم می‌گردد و مطالعات مختلفی به این نتیجه رسیدند که به‌دنبال جراحی واریکوسل، تعداد، حرکت و شکل اسپرم بهبود می‌یابد (۳). حدود ۱۵٪ مردانی که از واریکوسل رنج می‌برند و مشکل ناباروری دارند، از آنالیز اسپرم طبیعی برخودارند (۱). بر اساس آخرین راهنماهای بالینی (۴)، عمل واریکوسل در بیمارانی که واریکوسل قابل لمس، مشکل ناباروری و یا کسانی که پارامترهای اسپرم غیرطبیعی دارند، انجام می‌شود؛ در حالی‌که راهنماهای بالینی قبلی، عمل واریکوسل را در صورت آنالیز اسپرم نرمال توصیه نمی‌کردند (۵). این تغییر رویه در کنار نتایج سایر مطالعات مشخص می‌کند که آنالیز اسپرم رایج نمی‌تواند به تنهایی نشانگر مناسبی از وضعیت باروری مردان باشد (۶). ۲۰٪ مردانی که علت مشخصی برای ناباروری‌شان در آزمایشات بررسی‌های ناباروری پیدا نمی‌شود، شاخص تکه‌تکه شدن DNA (DFI[2]) بالاتر از حد نرمال (بیشتر از ۳۰) دارند (۶).

بررسی DFI، یک انتخاب آزمایشگاهی برای بررسی کیفیت اسپرم می‌باشد که یکپارچگی DNA را می‌سنجد. طی مراحل انتهایی تولید اسپرم، هسته سلول اسپرماتوزوآ[3] تحت تغییرات مولکولی قرار می‌گیرد (۷، ۸)؛ به این‌صورت که DNA آن فشرده می‌شود تا به این شکل در برابر سموم محیطی مقاومت بیشتری داشته باشد. تکه‌تکه شدن DNA ممکن است در زمان شکل‌گیری اسپرم یا در زمان ذخیره شدن آن اتفاق بیفتد (۷). اختلالات تکامل اسپرم و یا آپوپتوز ناگهانی ممکن است در زمان تشکیل شدن اسپرم ایجاد شود و استرس اکسیداتیو[4] اسپرم را در زمان ذخیره شدن تحت تأثیر خود قرار می‌دهد. مقالات متعددی در انسان و حیوان نشان داده‌اند که ارتباط معکوسی میان پارامترهای اسپرم و DFI وجود دارد (۹، ۱۰). همانطور که گفته شد، بیماران با مقادیر بالای DFI می‌توانند آنالیز اسپرم نرمال داشته باشند. در مطالعه پایلوت فتحی و همکاران (۲۰۲۱) که بر روی مردان نابارور با آنالیز اسپرم نرمال و DFI بالای ۲۵٪ انجام شد، شکستگی DNA به شکل چشم‌گیری در گروه جراحی واریکوسلکتومی نسبت به گروه بدون مداخله بهبود یافت و پس از ۱۲ ماه پیگیری، گروه جراحی نسبت به گروه بدون مداخله، ۲ برابر بیشتر موفق به فرزندآوری شدند (۱۱). مطالعه آگراوال و همکاران (۲۰۲۰) نشان داد که مقادیر بالای DFI، شانس بارداری مادران، بارداری آزمایشگاهی[5] و تولد نوزاد زنده را کاهش می‌دهد (۷). سیگار کشیدن، سن بالای پدر و سابقه قبلی شیمی‌درمانی، مواردی هستند که به‌عنوان فاکتور خطر داشتن DFI بالا ذکر شده‌اند (۱۲). انتخاب‌های ما برای مدیریت اولیه DFI بالا شامل: نزدیکی روزانه، تغییر سبک زندگی (کاهش وزن، ترک سیگار، ...)، استفاده از آنتی‌اکسیدان و جراحی واریکوسل می‌باشد (۱۲). مطالعه حاضر با هدف بررسی اهمیت بالینی DFI در پیش‌بینی نتیجه عمل واریکوسل انجام شد؛ به این‌ترتیب که این پیش‌بینی می‌تواند بیماران را قبل از جراحی طبقه‌بندی کرده و از انجام اعمال غیرضروری جلوگیری نماید و همچنین اطلاعات بهتری برای ارائه مشاوره به بیماران و متعادل ساختن انتظارات آنان از عمل جراحی فراهم آورد.

روش‌کار

این مطالعه مشاهده‌ای طولی از بهمن ۱۳۹۹ تا بهمن ۱۴۰۰ با هدف بررسی اهمیت بالینی DFI بر نتایج عمل واریکوسل بر روی ۶۰ مورد از بیماران ۵۰-۱۸ ساله که به‌دلیل ناباروری در بیمارستان امام رضا (ع) مشهد تحت

[1] Varicocele
[2] DNA Fragmentation Index
[3] Spermatozoa
[4] Oxidative Stress
[5] In-Vitro fertilization

عمل واریکوسل قرار گرفته بودند، انجام شد. معیارهای ورود به مطالعه شامل: سابقه یک‌سال ناباروری به همراه واریکوسل گرید ۲ یا ۳ و حداقل دو آنالیز مایع سمن مختل بود. تشخیص بالینی واریکوسل توسط اورولوژیست گذاشته می‌شد. معیارهای خروج از مطالعه شامل: سابقه بیضه نزول نکرده، سابقه مصرف سیگار، الکل و مواد مخدر، افراد با اختلالات هورمونی سیستمیک (مثلاً کم‌کاری تیروئید)، سابقه هایپوگنادیسم، عمل قبلی واریکوسل، مصرف قبلی داروهای کمک باروری و عدم رضایت به شرکت در مطالعه بود. تعداد ۶۰ بیمار بر اساس سطح DFI (کمتر از ۱۵٪، ۳۰-۱۵٪ و بیشتر از ۳۰٪) به‌ترتیب به سه گروه با باروری عالی، متوسط و ضعیف تقسیم شدند (باید توجه داشت که تشخیص ناباروری بالینی است و یافته‌های آزمایشگاهی این بیماران ممکن است طبیعی یا غیرطبیعی باشد، لذا تقسیم افراد به سه گروه با باروری متفاوت صرفاً بر اساس کیفیت اسپرم بر اساس DFI جهت مقایسه افراد است). آنالیز اسپرم و DFI تمام بیماران قبل از جراحی و ۱۲ ماه پس از جراحی بررسی شد. بر اساس معیارهای سازمان جهانی بهداشت، تعداد، شکل و حرکت اسپرم مورد مطالعه قرار گرفت (۱۳). پس از توضیح کامل روش کار بر اساس سطح سواد افراد، از تمامی شرکت‌کنندگان رضایت آگاهانه کتبی اخذ گردید و مطالعه پس از تأیید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی مشهد با کد IR.MUMS.MEDICAL.REC.1399.362 انجام شد.

تمامی آزمایشات بررسی DFI در آزمایشگاه پارسیان و توسط یک تکنسین آزمایشگاه انجام شد. نمونه‌های اسپرم پس از ۴-۳ روز اجتناب از نزدیکی گرفته شدند. تعداد و حرکت اسپرم‌ها ۳۰ دقیقه پس از نگهداری در دمای ۳۷ درجه در انکوباتور مخصوص توسط نرم‌افزار[1] بررسی شد. پس از آن که حدود ۳۰-۲۰ میکرولیتر از نمونه رقیق شده بر روی لام قرار گرفتند، سپس به‌دنبال تهیه اسمیر و خشک شدن در دمای اتاق، در سه محلول متانول (برای تثبیت روی لام)، ائوزین (برای رنگ‌آمیزی سیتوپلاسم‌ها) و شبه تیازین[2] (برای رنگ‌آمیزی DNA) به‌ترتیب به‌مدت ۳۰ ثانیه قرار گرفت. پس از خشک شدن موارد یاد شده در دمای اتاق، در هر لام حدود ۵۰۰ اسپرم با استفاده از میکروسکوپ نوری (عدسی ابژکتیو X۱۰۰۰) و نرم‌افزار از لحاظ مورفولوژی بررسی شدند. جهت ارزیابی DFI نمونه‌ها پیش از عمل جراحی وارکوسلکتومی، کیت DFI اسپرم (هامون طب پیشرو) مورد استفاده قرار گرفت. اساس کار این کیت به این‌صورت است که اسپرم نرمال نسبت به اسپرم با DNA غیرنرمال حاوی هیستون بیشتری بوده و پروتامین کمتری دارد و این باعث می‌شود که DNA اسپرم نرمال در مجاورت محلول‌های احیاء کننده راحت باز شده و به‌صورت هاله‌ای اطراف سر اسپرم قرار گیرد و بالعکس DNA اسپرم غیرنرمال در مجاورت مواد احیاء کننده باز شده و حالت فشرده خود را از دست نداده و اطراف سر اسپرم ایجاد هاله نمی‌کنند. پس از شمردن تعداد اسپرم‌های نرمال (اسپرم‌هایی با هاله مساوی و بزرگ‌تر از سر اسپرم) و تعداد اسپرم‌های غیرطبیعی (با هاله‌هایی کوچک‌تر از سر اسپرم یا بدون هاله)، DFI از درصد تقسیم تعداد اسپرم‌های غیرطبیعی به تعداد کل اسپرم‌های بررسی شده محاسبه شد.

حجم نمونه با توجه به داده‌های مطالعه کادیگلو و همکاران (۲۰۱۴) (۳) که در آن همبستگی معکوس و معناداری بین و میزان تحرک اسپرم مشاهده شد، با در نظر گرفتن r= -۰/۴۲، آلفا ۰/۰۵ و بتا ۰/۲، برابر با ۴۲ نفر محاسبه گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۲۴) انجام شد. متغیرهای پیوسته به‌صورت میانگین و انحراف معیار گزارش شدند. برای بررسی متغیرها قبل و پس از عمل در صورت نرمال بودن توزیع داده‌ها، از آزمون تی جفتی و در صورت غیرنرمال بودن توزیع داده‌ها، از آزمون ویلکاکسون استفاده شد. همچنین برای مقایسه سه گروه از آزمون آنالیز واریانس استفاده شد. میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

[1] Computer-Aided Sperm Analysis software

[2] Thiazine-like

یافته‌ها

در این مطالعه ۶۰ بیمار که با واریکوسل درجه ۲ و ۳ تحت عمل قرار گرفتند، بررسی شدند. این بیماران بر اساس DFI به سه گروه ۲۰ نفره باروری عالی، باروری متوسط و باروری ضعیف تقسیم شدند. میانگین سن بیماران ۱۴/۰۴±۳۳/۴۶ سال بود. قبل از عمل، میانگین DFI در گروه‌های باروری عالی (E) ۲/۹۲±۱۰/۸۳، متوسط (M) ۶/۰۵±۲۱/۱۰ و ضعیف (P) ۱۰/۷۳±۴۶/۵۶ بود که بر اساس نتایج آنالیز واریانس یک‌طرفه، تفاوت آماری معنی‌داری در DFI بین همه گروهای باروری وجود داشت ($p<۰/۰۰۱$). بر اساس نتایج تست توکی در مقایسه‌های چندگانه، میانگین DFI بین گروه با باروری ضعیف و متوسط تفاوت معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۰۱$). به همین صورت این تفاوت بین گروه‌های ضعیف و عالی ($p<۰/۰۰۱$) و متوسط و عالی ($p<۰/۰۰۱$) نیز مشاهده شد.

جدول ۱ نشان‌دهنده وضعیت پارامترهای اسپرم قبل و پس از عمل جراحی واریکوسل میان سه گروه است. بیماران با باروری ضعیف، بهبود معنی‌داری در تعداد ($p<۰/۰۰۱$)، تحرک ($p<۰/۰۰۱$) و شکل ($p=۰/۰۰۵$) اسپرم‌ها داشتند. اگرچه بیماران با باروری متوسط تنها در تعداد ($p=۰/۰۰۲$) و تحرک ($p=۰/۰۰۲$) بهبود معناداری داشتند. اختلاف نهایی شمارش اسپرم قبل و پس از عمل در تمام شرکت‌کنندگان برابر با ۸/۹۲±۱۶/۹۱ میلیون اسپرم بر میلی‌متر مکعب بود، اما بیماران با باروری عالی بهبود معنی‌داری در تعداد ($p=۰/۴۰۴$) و شکل ($p=۰/۳۷۶$) اسپرم‌ها نداشتند و تنها بهبود در تحرک ($p=۰/۰۰۴$) مشاهده شد.

جدول ۱- تعداد، تحرک و شکل اسپرم قبل و بعد از عمل

اسپرم	باروری	وضعیت	کمینه	بیشینه	میانگین ± انحراف معیار	سطح معنی‌داری
تعداد اسپرم (میلیون بر میلی‌لیتر	عالی	قبل از جراحی	۹	۹۲	۴۲/۵۲±۲۱/۷۹	*۰/۴۰۴
		بعد از جراحی	۱۰	۸۵	۴۱/۱۰±۱۹/۴۱	
	متوسط	قبل از جراحی	۹	۶۹	۳۳/۴۰±۱۶/۶۶	*۰/۰۰۲
		بعد از جراحی	۱۰	۷۵	۴۳/۹۳±۱۷/۷۹	
	ضعیف	قبل از جراحی	۹	۵۱	۲۷/۴۰±۱۰/۶۱	*<۰/۰۰۱
		بعد از جراحی	۱۰	۷۲	۴۵/۱۰±۱۷/۷۵	
تحرک اسپرم (درصد)	عالی	قبل از جراحی	۷	۴۷	۲۸/۷۶±۱۱/۹۵	**۰/۰۰۴
		بعد از جراحی	۹	۷۰	۳۴/۰۶±۱۴/۲۲	
	متوسط	قبل از جراحی	۹	۴۶	۲۶/۹۰±۱۰/۵۸	**۰/۰۰۲
		بعد از جراحی	۱۴	۸۵	۴۰/۰۰±۲۰/۴۵	
	ضعیف	قبل از جراحی	۱۰	۴۴	۲۴/۴۶±۱۰/۵۶	**<۰/۰۰۱
		بعد از جراحی	۱۲	۸۰	۴۷/۸۶±۱۸/۴۱	
شکل اسپرم (درصد)	عالی	قبل از جراحی	۳	۸۰	۲۴/۰۶±۲۰/۴۶	**۰/۳۷۶
		بعد از جراحی	۴۸	۴۰	۱۷/۹۰±۰۹/۷۰	
	متوسط	قبل از جراحی	۳	۸۰	۲۵/۲۶±۲۰/۱۸	**۰/۱۹۸
		بعد از جراحی	۴	۸۰	۲۹/۵۰±۲۰/۹۴	
	ضعیف	قبل از جراحی	۳	۶۷	۱۹/۹۶±۱۳/۸۴	**۰/۰۰۵
		بعد از جراحی	۳	۷۰	۳۱/۴۳±۱۹/۱۶	

* آزمون تی جفتی، ** آزمون ویلکاکسون

جدول ۲ نشان‌دهنده این اختلاف میان گروه‌هاست. به شکل مشابه مجموع اختلاف تحرک و شکل اسپرم‌ها قبل و پس از جراحی به‌ترتیب برابر با ۱۹/۷۳±۱۳/۹۳ درصد و ۳/۵۷±۳/۱۷ درصد بود. همانطور که در توضیحات جدول ۲ نشان داده شده است، بر اساس نتایج آنالیز واریانس یک‌طرفه، تفاوت آماری معنی‌داری در میانگین

تغییرات تعداد اسپرم بین تمام گروهای باروری وجود داشت (p<۰/۰۰۱). بر اساس نتایج تست توکی در مقایسه‌های چندگانه، میانگین تغییرات تعداد اسپرم بین گروه با باروری ضعیف و متوسط تفاوت معنی‌داری نداشت (p=۰/۱۶۳). همچنین این تفاوت بین گروه‌های ضعیف و عالی (p<۰/۰۰۱) و متوسط و عالی (p=۰/۰۰۸) نیز به‌طور معناداری وجود داشت.

همچنین بر اساس نتایج آنالیز واریانس یک‌طرفه، تفاوت آماری معنی‌داری در میانگین تغییرات تحرک اسپرم حداقل بین دو گروه از گروهای باروری وجود داشت (p=۰/۰۰۱). بر اساس نتایج تست توکی در مقایسه‌های چندگانه، میانگین تغییرات تحرک اسپرم بین گروه با باروری ضعیف و متوسط (p=۰/۰۸۴) و عالی و متوسط (p=۰/۲۳۷) تفاوت معنی‌داری نداشت، اما این تفاوت بین گروه‌های ضعیف و عالی (p=۰/۰۰۱) معنی‌دار بود. بر اساس نتایج آنالیز واریانس یک‌طرفه، تفاوت آماری معنی‌داری در میانگین تغییرات شکل اسپرم بین حداقل دو گروه از گروهای باروری وجود داشت (p=۰/۰۲۵). بر اساس نتایج تست توکی در مقایسه‌های چندگانه، میانگین تغییرات شکل اسپرم بین گروه با باروری ضعیف و عالی تفاوت معنی‌داری داشت (p=۰/۰۱۹). اگرچه این تفاوت بین گروه‌های متوسط و ضعیف (p=۰/۴۹۸) و متوسط و عالی (p=۰/۲۴۱) به‌طور معنادار مشاهده نشد.

جدول ۲- مقایسه تغییرات تعداد، تحرک و شکل اسپرم بین هر سه گروه، قبل و پس از عمل

تغییرات اسپرم	باروری	کمینه	بیشینه	میانگین ± انحراف معیار	سطح معنی‌داری*
تعداد (میلیون بر میلی‌متر مکعب)	عالی (E)	-۳۱	۱۳	-۱/۴۶ ± ۹/۴۸	<۰/۰۰۱
	متوسط (M)	-۲۰	۵۴	۱۰/۵۳ ± ۱۶/۷۴	
	ضعیف (P)	-۲۱	۵۵	۱۷/۷۰ ± ۱۷/۷۰	
تحرک (درصد)	عالی (E)	-۱۱	۳۳	۵/۳۰ ± ۹/۳۶	<۰/۰۰۱
	متوسط (M)	-۳۰	۵۵	۱۳/۱۰ ± ۲۱/۴۴	
	ضعیف (P)	-۳۰	۶۵	۲۳/۴۰ ± ۲۱/۸۴	
شکل (درصد)	عالی (E)	-۵۸	۳۱	-۶/۱۶ ± ۲۳/۸۸	<۰/۰۲۵
	متوسط (M)	-۵۸	۵۴	۴/۲۳ ± ۲۷/۸۷	
	ضعیف (P)	-۵۰	۵۴	۱۱/۴۶ ± ۲۲/۲۹	

* از آزمون آنالیز واریانس برای مقایسه سه میانگین در هر سه متغیر این جدول استفاده شد.

بحث

مطالعه حاضر به‌صورت مشاهده‌ای طولی و با هدف ارزیابی ارزش بالینی DFI در نتایج عمل واریکوسل انجام شد؛ به‌عبارت دیگر، هدف این مطالعه را می‌توان به این‌صورت عنوان نمود که آیا از DFI می‌توان به‌عنوان یک اندیکاسیون انجام عمل واریکوسل استفاده نمود یا خیر؟. نتایج نشان داد که بیماران با سطح بالاتر DFI قبل از جراحی، بهبود چشمگیرتری در پارامترهای آنالیز اسپرم تجربه می‌کنند. این یافته‌ها همسو با پاتوفیزیولوژی پیشنهادی برای ناباروری ناشی از واریکوسل می‌باشد (۱، ۲). مشهورترین احتمال برای ناباروری ناشی از واریکوسل، ماندگاری خون در وریدهای بیضه‌ای است. در نتیجه این ماندگاری خون، افزایش دما در بیضه‌ها ایجاد می‌شود که می‌تواند در سلول‌های زایای بیضه اختلال عملکردی ایجاد کند (۱، ۲). این اثر زیان‌مند بر تولید اسپرم، در مطالعات قبلی به این‌صورت نشان داده شده است که افرادی که به‌صورت طولانی‌مدت در معرض گرمای محیطی قرار گرفته بودند، پارامترهای اسپرم ضعیف‌تری داشتند (۲). احتمال دیگری که مطرح می‌شود، تولید گونه‌های اکسیژن آزاد است که می‌توانند باعث آسیب به DNA (شکستگی در DNA، حذف شدگی، جهش نقطه‌ای، تغییرات کروموزومی) شوند که در نتیجه آن، سلول‌های لیدیگ اختلال عملکردی پیدا می‌کنند (۲، ۱۰). ماندگاری خون در وریدها علاوه بر ایجاد دمای بالا، می‌تواند باعث کاهش اکسیژن‌رسانی بافتی شود که هر دوی این عوامل با افزایش تولید گونه‌های آزاد اکسیژن همراهی دارند. تست DFI یک نشانگر از آسیب DNA

می‌باشد که می‌تواند پزشک را از کیفیت اسپرم مطلع سازد (۲).

متاآنالیزهای متعددی درباره اثر واریکوسلکتومی بر پارامترهای آنالیز اسپرم و همچنین DFI منتشر شده است که میزان بالایی از ناهمگونی[1] را نشان می‌دهد (۱، ۱۰، ۱۴). متاآنالیز بیرو و همکاران (۲۰۲۰) که ۷ مطالعه را از سال ۲۰۱۰ تا ۲۰۲۰ بر روی ۲۸۹ بیمار انجام دادند، نشان داد که عمل جراحی واریکوسل می‌تواند تعداد اسپرم را به‌میزان ۹/۵۶ ($p<۰/۰۰۱$)، تحرک اسپرم را به میزان ۸/۶۶ ($p<۰/۰۰۱$) و شکل اسپرم را به میزان ۲/۷۳ ($p=۰/۰۱$) به شکل معنی‌داری بهبود ببخشد که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی داشت. همانند نتایج مطالعه حاضر، مطالعه آن‌ها حتی تعداد و تحرک اسپرم اختلاف بیشتری از خط بی‌اثری[2] نشان داد. آنها DFI غیرطبیعی را به‌عنوان یک اندیکاسیون انجام عمل واریکوسل پیشنهاد دادند، اما عدد دقیقی را برای DFI ذکر نکردند (۱).

کیو و همکاران (۲۰۲۱) با انجام یک متاآنالیز بر روی ۳۹۴ بیمار، ۶/۱۴٪ کاهش در DFI به‌دنبال عمل واریکوسلکتومی ذکر کردند. آنها از DFI به‌عنوان یک اندیکاسیون مولکولی برای انجام واریکوسلکتومی یاد کردند (۱۴). نتو و همکاران (۲۰۲۱) با انجام متاآنالیز گسترده‌تری بر روی ۱۹ مطالعه و ۱۰۷۰ بیمار، به این نتیجه رسیدند که DFI حدود ۷/۲۳٪ پس از واریکوسلکتومی کاهش می‌یابد (۱۰). این کاهش در بیمارانی که DFI قبل عمل بالاتری داشتند، مشهودتر بود. همچنین از این مطالعه می‌توان این‌گونه استنتاج کرد که نتایج واریکوسلکتومی در بهبود عملکرد اسپرم بسیار قابل اعتماد است، اما لازم است مطالعات آینده، نتایج را نه بر اساس بهبود عملکرد اسپرم، بلکه بر اساس بارداری مادر و تولد نوزاد زنده گزارش کنند؛ به بیان دیگر نباید فقط بر روی بهبود آزمایشگاهی نشانگرهای باروری تمرکز کرد، بلکه بایستی آن را در بالین تحت بررسی قرار داد.

در مطالعه عبدالبکی و همکاران (۲۰۱۷)، مردان نابارور با آنالیز اسپرم غیرطبیعی که میانگین DFI آنها ۲۹/۹٪ بود، مورد بررسی قرار گرفتند (۱۵). آنها دریافتند عواملی که باعث پاسخ و عدم پاسخ به جراحی واریکوسلکتومی هستند، شامل: DFI پایین قبل از عمل، طولانی بودن مدت ناباروری و مقادیر بالاتر گونه‌های آزاد اکسیژن می‌باشد. البته بایستی به این نکته توجه کرد که آن دسته از بیماران که به جراحی واریکوسلکتومی پاسخ دادند، علاوه بر تعداد و حرکات بیشتر اسپرم، DFI بالاتری نیز داشتند؛ به عبارت دیگر تعداد و تحرک غیرطبیعی اسپرم با مقادیر بالاتر DFI در این بیماران مرتبط بود.

همانطور که گفته شد، بیماران با مقادیر بالای DFI می‌توانند آنالیز اسپرم نرمال داشته باشند. در مطالعه ایرانی پایلوت فتحی و همکاران (۲۰۲۱) که به بررسی مردان ناباروری که آنالیز اسپرم نرمال و DFI بالای ۲۵٪ داشتند، پرداختند، شکستگی DNA به شکل چشمگیری در گروه جراحی واریکوسل نسبت به گروه بدون مداخله بهبود یافت. پس از ۱۲ ماه پیگیری این بیماران، گروه جراحی نسبت به گروه بدون مداخله ۲ برابر بیشتر موفق به فرزندآوری شدند. از این دو مطالعه اخیر می‌توان نتیجه گرفت که مردان نابارور فارغ از وضعیت آنالیز اسپرم، از واریکوسلکتومی سود می‌برند، اگرچه میزان و شدت این منفعت نیازمند بررسی بیشتر است (۱۱).

یکی از مشکلات بیماری واریکوسل، آتروفی بیضه است. حجم بیضه کمتر از ۲۰ میلی‌لیتر هنگام معاینه فیزیکی با میزان پایین‌تر باروری مرتبط است. کاووسی و همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند که بهبودی آزمایشگاهی آنالیز اسپرم و DFI در بیمارانی که آتروفی بیضه دارند، کمتر است (۱۶). البته آن‌ها به درستی به این مطلب اشاره کرده‌اند که محدودیت مطالعه آنها، بررسی نشانگرهای کیفیت اسپرم تنها پس از ۳ ماه پیگیری بوده است که تنها یک دوره اسپرماتوژنز را شامل می‌شود.

اگرچه حذف عروق متسع شده در شبکه پمپنیفرم[3] توسط جراح به‌عنوان استاندارد طلایی درمان واریکوسل

[1] Heterogeneity
[2] Line-of-no-effect
[3] pampiniform

در نظر گرفته می‌شود، میزان بازگشت یا عود واریکوسل بین ۴۵-۳۰٪ می‌باشد (۱۷). کایان و همکار (۲۰۱۸) ادعا کردند که انجام واریکوسلکتومی مجدد نتایج بهتری از عدم مداخله به‌دست می‌دهد. در مطالعه آنها تعداد کلی اسپرم‌های متحرک و بارداری خودبه‌خودی به شکل معنی‌داری در گروه واریکوسلکتومی مجدد بالاتر بود. متأسفانه آنها در مطالعه خود از DFI به‌عنوان یک نشانگر کیفیت اسپرم استفاده نکردند و اهمیت واریکوسلکتومی مجدد و اثر آن بر DFI نیازمند بررسی بیشتر می‌باشد (۱۷).

مطالعه حاضر برای اولین بار در شرق ایران به بررسی کاربرد بالینی DFI در بیماران مبتلا به واریکوسل پرداخته است. از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به عدم اشاره به مواردی چون تماس شغلی یا محیطی با سموم مؤثر بر گنادها، شاخص توده بدنی، حجم بیضه‌ها، وضعیت هورمونی پایه و یک‌طرفه یا دوطرفه بودن واریکوسل اشاره کرد. بهترین پیامد مطالعه حاضر می‌توانست بارداری همسر بیمار و در ادامه تولد نوزاد زنده و سالم باشد؛ اگرچه به‌دلیل تعداد زیاد بیماران گمشده حین پیگیری، نتایج آزمایشگاهی آنالیز اسپرم به‌عنوان پیامد نهایی در نظر گرفته شد. همچنین پیشنهاد می‌شود هزینه تحمیلی به بیماران جهت انجام آزمایش بررسی DFI و هزینه- اثربخشی آن در مطالعات آینده مدنظر قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

میزان بهبود پارامترهای اسپرموگرام پس از عمل واریکوسلکتومی را می‌توان بر اساس DFI قبل از عمل پیش‌بینی کرد. به عبارت دیگر، افرادی که میزان DFI بالاتری پیش از عمل دارند، بهبود چشمگیرتری به‌دنبال عمل واریکوسلکتومی خواهند داشت. با توجه به این نکته جراحان می‌توانند با پیش‌بینی نتیجه درمان، مشاوره دقیق‌تری به بیماران ارائه نمایند.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از واحد توسعه تحقیقات بالینی بیمارستان امام رضا (ع) مشهد و همچنین از معاونت آموزشی و پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد که بدون همکاری آنها انجام این مطالعه ممکن نبود، تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1. Birowo P, Rahendra Wijaya J, Atmoko W, Rasyid N. The effects of varicocelectomy on the DNA fragmentation index and other sperm parameters: a meta-analysis. Basic and Clinical Andrology 2020; 30(1):1-9.
2. Kohn JR, Haney NM, Nichols PE, Rodriguez KM, Kohn TP. Varicocele Repair Prior to Assisted Reproductive Technology: Patient Selection and Special Considerations. Research and Reports in Urology 2020; 12:149.
3. Kadioglu TC, Aliyev E, Celtik M. Microscopic varicocelectomy significantly decreases the sperm DNA fragmentation index in patients with infertility. BioMed Research International 2014; 2014.
4. Schlegel PN, Sigman M, Collura B, De Jonge CJ, Eisenberg ML, Lamb DJ, et al. Diagnosis and Treatment of Infertility in Men: AUA/ASRM Guideline Part I. J Urol 2021; 205(1):36-43.
5. Sharlip ID, Jarow J, Belker AM. Male infertility best practice policy committee members and consultants: infertility. Linthicum: American Urology Association 2001.
6. Simon L, Emery BR, Carrell DT. diagnosis and impact of sperm DNA alterations in assisted reproduction. Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology 2017; 44:38-56.
7. Agarwal A, Majzoub A, Baskaran S, Selvam MK, Cho CL, Henkel R, et al. Sperm DNA fragmentation: a new guideline for clinicians. The world journal of men's health 2020; 38(4):412.
8. Taheri H, Hosseini S, Salehi M. The relationship between sperm DNA fragmentation and differential expression of human sperm pro-apoptotic miR-15a/16 and anti-apoptotic BCL-2 gene. Iran J Obstet Gynecol Infertil 2019; 22(10):42-8.
9. Li MW, Lloyd KC. DNA fragmentation index (DFI) as a measure of sperm quality and fertility in mice. Scientific reports 2020; 10(1):1-11.
10. Neto FT, Roque M, Esteves SC. Effect of varicocelectomy on sperm deoxyribonucleic acid fragmentation rates in infertile men with clinical varicocele: a systematic review and meta-analysis. Fertility and Sterility 2021; 116(3):696-712.

11. Fathi A, Mohamed O, Mahmoud O, Alsagheer GA, Reyad AM, Abolyosr A, et al. The impact of varicocelectomy on sperm DNA fragmentation and pregnancy rate in subfertile men with normal semen parameters: A pilot study. Arab Journal of Urology 2021; 19(2):186-90.
12. Wang SL, Bedrick BS, Kohn TP. What is the role of varicocelectomy in infertile men with clinical varicoceles and elevated sperm DNA fragmentation?. Fertility and Sterility 2021; 116(3):657-8.
13. Cooper TG, Noonan E, Von Eckardstein S, Auger J, Baker HW, Behre HM, et al. World Health Organization reference values for human semen characteristics. Human reproduction update 2010; 16(3):231-45.
14. Qiu D, Shi Q, Pan L. Efficacy of varicocelectomy for sperm DNA integrity improvement: A meta-analysis. Andrologia 2021; 53(1):e13885.
15. Abdelbaki SA, Sabry JH, Al-Adl AM, Sabry HH. The impact of coexisting sperm DNA fragmentation and seminal oxidative stress on the outcome of varicocelectomy in infertile patients: a prospective controlled study. Arab Journal of Urology 2017; 15(2):131-9.
16. Kavoussi PK, Abdullah N, Gilkey MS, Hunn C, Machen GL, Chen SH, et al. The impact of ipsilateral testicular atrophy on semen quality and sperm DNA fragmentation response to varicocele repair. Asian Journal of Andrology 2021; 23(2):146.
17. Çayan S, Akbay E. Fate of recurrent or persistent varicocele in the era of assisted reproduction technology: microsurgical subinguinal redo varicocelectomy versus observation. Urology 2018; 117:64-9.