جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

امروزه تقریباً برای تمام موارد اختلالات شدید اسپرم می‌توان ازروش ICSI [1] استفاده کرد. در حال حاضر PESA [2] همراه ICSI برای درمان آزواسپرمی انسدادی موفقیت قابل توجهی بدست آورده است (۱). روش دیگر، بدست آوردن اسپرم ازبیضه است که با نام TESE [3] جایگاه خود را در درمان آزواسپرمی انسدادی باز کرده است (۲). آنچه که اساس انتخاب اسپرم مورد استفاده برای ICSI را تعیین می کند شکل طبیعی و حرکت فعال اسپرم است (۳). از طرفی احتمال منفی بودن نتیجه PESA زیاد است. نتیجهٔ ۵۵-۳ درصد از اعمال PESA غیر موفق هستند (۴،۵). در نتیجه نیاز به انجام TESE الزامی می شود. مورفولوژی اسپرم در نمونه های PESA و TESE نیز با معیار Tygerberg سنجیده می شود (۶). با توجه به اهمیت تشخیص شکل طبیعی اسپرم، برای انجام ICSI ابتدا لازم است مطالعاتی توصیفی از نظر وضعیت اسپرموگرام با کمک معیارTygerberg از نمونه های مختلف PESA وTESE انجام شود و تا دید بازتری نسبت به نمونه‌های PESA و TESA بدست آید .

مواد و روشها

در این مطالعه ۴۵ بیمار مبتلا به آزواسپرمی مورد بررسی قرار گرفتند که اختلال اسپرموگرام آنها با حداقل دو نوبت آزمایش به فاصله ۲ ماه به اثبات رسیده بود. در تمام این بیماران شکل انسدادی آزواسپرمی با بررسی هورمونی (FSH وLH نرمال) و ژنتیکی (کاریوتیپ نرمال) به اثبات رسیده بود . PESA و یا TESE به روش معمول انجام شد (۷). نمونه های اسپرم بعد از آماده سازی با روش Kruger بررسی شد (۶).

معیار طبیعی برای طول سر ٤ تا ٦ میکرون و عرض آن ۳تا ٥ میکرون و اندازه اکروزوم بین $\frac{1}{3}$ تا $\frac{2}{3}$ طول سر در نظر گرفته شد. طول گردن بین ٦ تا ٨ میکرون و بدون وجود سیتوپلاسم اضافی و پراکندگی میتوکندریها بطور یکنواخت است. اندازه طول دم ٤٥ میکرون بدون شکستگی یا خمیدگی غیر طبیعی در انتهای دم است (٨،٦). روش آماده سازی و بررسی اشکال اسپرم با کمک رنگ آمیزی پاپانیکولا و میکروسکوپ معکوس [4] است.نمونه PESA ابتدا با روش شستشو [5] معمولی آماده و به روش پاپانیکولا رنگ آمیزی شده است . در TESA بافت جدا شده از بیضه بیماران بوسیله سوزن وپیپت پاستور Dissect گردیده، سپس عصاره آن در محیط کشت قرار داده شده و برای جدا سازی اسپرم از سه لایه Percoll (٥٠٪، ٧٠٪، ٩٠٪) استفاده می شود. سپس با استفاده از سانتریفوژ با دور ٥٠٠g به مدت ٢٠ دقیقه جدا می گردد. پس از رنگ آمیزی برای بررسی از میکروسکوپ معکوس استفاده می شود. با استفاده از کولیس بر روی مانیتور اندازه گیریهای مورد نظر انجام گرفته و ثبت می شود. صد عدد اسپرم در هر نمونه بررسی و اشکال طبیعی و غیر طبیعی درصد بندی می‌گردد.

نتایج

از ٤٥ بیمار آزواسپرمیک تعداد ٢٤ بیمار که تحت PESA قرار گرفته و نمونه اسپرم از آنها بدست آمد . علت آزواسپرمی در این بیماران عفونت (٧ مورد)، وازکتومی قبلی (٤ مورد) و بقیه نامعلوم (١٣ مورد) بود، از ٢١ بیمار دیگر که PESA در آنها موفق نبود (٤٧٪) عمل TESE انجام شد. علت انسداد در این بیماران نیز عفونت (٥ مورد)، فقدان وازدفران و یا

1- Intracellular Cytoplasmic Sperm Injection
2- Percutaneous Epididymal Sperm Aspiration
3- Testicular Sperm Extraction
4- Inverted Microscopy
5- Swim-up

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

انسداد آن (۸ مورد) و نا معلوم (۸ مورد) بود . در ۱٤ مورد از موارد فوق اسپرم زنده و متحرک جدا شدو در۷ مورد دیگر اسپرماتید بدست آمد(۳۷٪) ۷ مورد دارای اسپرماتید حذف شدند.

میانگین درصد اسپرم طبیعی و اشکال غیر طبیعی در دو گروه PESA و TESE ثبت شد (جدول ۱).

توضیح: اسپرم برخی از بیماران دارای چندین اختلال متعدد بود ولی اختلال در سر ارجح فرض شد و این نوع اسپرمها در گروه اسپرم دارای اختلال سر دسته بندی شدند . در بررسی آماری یافته های مورفولوژیک اسپرم بدست آمده با PESA و TESE از تست Mann-Whitney استفاده شد. نتایج حاصل از انجام ART در بیماران TESE وPESA نیز در جدول شماره (۲) آورده شده است.

میانگین درصد اسپرم نرمال در موارد TESE ، ٪٦/۲ و در اسپرمهای بدست آمده از PESA این میزان ٪۱۸/٦ است. اختلالات سر، اکروزوم ، تنه ودم در هر گروه ثبت شده است . اشکال اسپرم به تفکیک اختلال در جدول شماره ۳ آورده شده است .

جدول ۱- مورفولوژی اسپرم در نمونه TESE و PESA

روش بدست آوردن اسپرم / شکل و اختلال آن	اسپرم بدست آمده با TESE (۱۴ مورد)	اسپرم بدست آمده با PESA (۲۴ مورد)
اسپرم طبیعی	٪۶/۲*	٪۱۸/۶
اختلال درسر اسپرم	٪۵۴/۶	٪۴۲/۹ +
اختلال در آکروزوم	٪۲۰	٪۱۳/۹ +
اختلال در تنه اسپرم (midpiece)	٪۹/۵	٪۲۰/۲
اختلال در دم اسپرم	٪۸/۲	٪۴/۴ +
جمع	٪۱۰۰	٪۱۰۰

* اعداد میانگین در صد ها هستند .
+ اختلاف معنی دار است ۰/۰۵ >p)

جدول ۲- نتایج حاصل بیماران تحت درمان با TESE یا PESA به همراه ICSI

روش		PESA (۲۴ نفر)	TESE (۱۴ نفر)
میانگین سن خانم *		۳۰/۴ ± ۲/۲ سال	۳۱/۱ ± ۱/۹ سال
میانگین مدت نازایی *		۸/۲ ± ۱/۷ سال	۷/۶ ± ۲/۳ سال
نوع نازایی (درصد نوع اولیه) برای مرد *		٪۱۰۰	٪۱۰۰
علت نازایی *	مردانه	٪۷۶	٪۸۰
	توام	٪۲۴	٪۲۰
میانگین تعداد تخمک *		۷/۸ ± ۲/۱	۸/۴±۱/۸
تعدادحامله +		۱۱ نفر	۴ نفر
درصد حاملگی +		٪۴۵/۸	٪۲۸/۶

*اعداد میانگین در صد ها هستند .
+ اختلاف معنی دار است ۰/۰۵ >p)

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

جدول۳- درصد اشکال مورفولوژی طبیعی و غیرطبیعی موجود در نمونه های اسپرم TESE,PESA

شکل اسپرم و اختلال آن	درصد اسپرم بدست آمده با TESE	درصد اسپرم بدست آمده با PESA
طبیعی(Normal)	۶/۲	۱۸/۶
بی شکل (Amorphous)	۴۴	۲۵/۱
کروی (Globular)	۲/۱	۱/۹
بزرگ (Macro)	۳/۵	۸/۱
سرسوزنی (Pin hair)	۱/۶	۳/۲
سردوتائی (Duplicated head)	۰/۳	۰/۷
نابالغ (Immature)	۱/۵	۱/۵
سرواکوئلی (Vacoulated head)	-	۰/۵
سرطویل (Vacoulated head)	۱/۱	۱/۱
سرباریک (Thin head)	۲	۰/۸
سرکوچک (Micro acrosome)	۱۱/۲	۸/۷
فاقد اکروزوم (Free acrosome)	۵/۴	۲/۱
اکروزوم نامنظم (Irregular acrosome)	۳/۴	۳/۱
حاوی سیتوپلاسم (Cytoplasmic rest)	۴/۲	۱۲/۵
سرزاویه دار (Angle)	۳/۱	۳/۸
گردن ضخیم (Thick neck)	۲/۲	۳/۹
اختلالات دم (Tail abnormalities)	۸/۲	۴/۴
مجموع (Total)	۱۰۰	۱۰۰

بحث

در این مطالعه میزان اسپرم نرمال در گروه PESA برابر با ۱۸/۶٪ و گروه TESE برابر با ۶/۲٪ تقریباً با مطالعاتی از این نوع شبیه است (۱۰). مرفولوژی اسپرم حاصل از بافت بیضه دارای درصد طبیعی کمتری نسبت به PESA است و این اختلاف از نظر آماری معنی دار است . اغلب اشکال اسپرم غیر طبیعی در TESE نیز بیشتر از PESA است. برداشت کلی از این اعداد می‌تواند مؤید این موضوع باشد که اسپرم بدست آمده از TESE بدتر از PESA است. اما نتیجه گیری کلی به این شکل صحیح نیست. در ابتدا باید به این موضوع اشاره کنیم که روشهایی که در حال حاضر برای بررسی اسپرموگرام وجود دارد، برای اسپرمهای بدست آمده از طریق انزال است. دو روش ارائه شده توسط سازمان بهداشت جهانی (WHO) و توسط Kruger با نام strict criteria Tygerberg در این مورد کاربرد دارند. لازم به ذکر است که در روش Tygerberg دارای این مزیت است که اشکال غیر طبیعی بطور جداگانه ثبت شده و اشکال حد واسط نیز غیر طبیعی محسوب می شوند. مشاهده می‌گردد که مرفولوژی حاصل از این روش با نتایج بدست آمده از روش IVF بیشتر ارتباط دارد (۶و۸). به همین علت در اینجا نیز از معیار Tygerberg استفاده شده است. اما در هر حال روش اثبات شده ای برای بررسی مرفولوژیک اسپرم PESA و TESE بطور جداگانه وجود ندارد (۱۱).

اسپرم بدست آمده از بافت بیضه نسبت به اسپرم حاصل از انزال دارای بلوغ و تکامل کمتری می باشد. این عدم بلوغ می تواند خود را به اشکال مختلف نشان دهد.

زیرا در معیار Tygerberg بسیاری از اشکال حد واسط غیر طبیعی محسوب می شوند، به همین دلیل ممکن است تعدادی از این اشکال غیر طبیعی در واقع نارس باشند. بعنوان مثال اشکال نارس با سر بزرگ (Sb_1 Stage) بعنوان غیر طبیعی (globular head) ثبت می شود، در حالیکه براساس تقسیم بندی اسپرماتوژنز یک شکل نارس بوده و غیر طبیعی نمی باشد (۱۲،۱۳). اسپرم موجود در مرحله Sb_2 – Sc اسپرماتوژنز با اسپرم دارای سر بی شکل (Amorphous head) اشتباه می شود واسپرم مرحلهٔ Sd_1 با اسپرم Cytoplasmic rest در تشخیص افتراقی قرار می گیرد (۱۳-۱۲). در مطالعه ما در گروه TESE اختلال به شکل سر بی شکل بیشتر است که ممکن است درصدی از آن در واقع اشکال نارس باشد. انتظار می‌رفت که اشکال دارای cytoplasmic rest نیز در گروه TESE بیشتر باشد، اما چون اغلب، این اختلال با اختلالات سر نیز همراه است و در گروه اختلال سر دسته بندی شده است انحراف مربوطه باعث شده که میزان اختلال تنهٔ اسپرم در گروه TESE کمتر از PESA باشد. میزان حاملگی در گروه TESE کمتر از PESA است و این اختلاف از نظر آماری معنی دار است. علت اختلاف را می توان به دو شکل توجیه کرد. اول اینکه اسپرم TESE اساساً دارای کیفیت بدتری است و این کیفیت بد ممکن است به علت نارس بودن اسپرمها در TESE باشد. جهت تفکیک و اثبات علت اصلی، نیاز به یک گروه کنترل سالم است تا اسپرمهای بدست آمده از TESE این بیماران با بیماران دارای آزواسپرمی انسدادی مقایسه شود .

References

1- Nagy Z, Liu J, Cilver S, et al. Using ejaculated fresh and frozen-thawed epididymal and testicular spermatozoa gives rise to comparable results after intracytoplasmic sperm injection. Fertil steril. 1995, 63:808-15.
2- Schoysman R, Vanderzwalerman P, Nijs M, et al. Pregnancy after fertilization with human spermatozoa. Lancet. 1993, 342: 1237.
3- Svalander P, Jakobsson AH, Forsberg A, et al. The outcome of intracytoplasmic sperm injection in unrelated to strict criteria sperm morphology. Hum Reprod. 1996, 11:1019-22.
4- The Sperm Microaspiration Retrieval Techniques Study Group. Results in the United States with sperm microaspiration retrieval techniques and assisted reproductive technologies. J Urol. 1994, 151:1255-90.
5- Bladou F, Grillo JM, Rossi D, et al. Epididymal sperm aspiration in conjunction with *in vitro* Fertilization and embryo transfer in cases of obstructive azoospermia. Hum Reprod. 1991, 9:1284-7.
6- Kruger TF, Menkveld R, Stander FSH, et al. Sperm morphologic features as a prognostic *in vitro* fertilization. Fertil Steril. 1986, 46:1118-23.
7- Graft I, Khalifa Y, Tsirigotis M, et al. Percutaneous epididymal sperm aspiration and intracytoplasmic sperm injection in the management of infertility due to obstructive azoospermia. Fertil Steril. 1995, 63:1038-42.
8- Kruger TF, Acosta AA, Simmons K, et al. Predictive value of abnormal sperm morphology in *in vitro* fertilization. Fertil Steril. 1988, 49:112-7.
9- Hall JA, Fishel SB, Timson J, et al. Human sperm morphology evaluation pre-and post-Percoll gradient centrifugation. Hum Reprod. 1995, 10: 342-6.
10-Steele EK, Meclure N, Lewis S, et al. A comparison of the morphology of testicular, epididymal and ejaculated sperm from fertile men and men with obstructive azoospermia. Fertil Steril. 2000, 6:1099-1103.
11-Abuzeid MI, Sasy MA, Salem, et al.Testicular sperm extraction and intracytoplasmic sperm injection: a simplified method for treatment of

obstructive azoospermia. Fertil Steril. 1997, 68:328-33 .
12-Clermont Y. The cycle of the seminiferous epithelium in man. Am J Anat. 1963, 112:35-51.
13-De Kretser DM. Ultrastructural features of spermiogenesis. Zell-forsch Mikrosk Anat. 1969, 98:477-505.