

تأثیر تحریک الکتریکی انزال روی کمیت و کیفیت مایع منی و اسپرم مردان ضایعه نخاعی در مقایسه با مردان سالم

دکتر ناصر سلسبیلی (دانشیار)*، دکتر امیر محسن ضیائی (استادیار)**، دکتر مینو طاهری (استادیار)***، دکتر فیروزه اکبری (دانشیار)*، شهره جلاتی (مربی)****

* گروه زنان و زایمان، دانشگاه علوم پزشکی تهران

** گروه اورولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

*** گروه زنان و زایمان، دانشگاه علوم پزشکی بقیه...

**** گروه آمار حیاتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

مقدمه: تحقیق زیر، جهت بررسی و مقایسه تأثیر تحریک الکتریکی انزال روی کمیت و کیفیت اسپرم و مایع منی در مردانی که دچار ضایعه نخاعی شده‌اند با مردان سالم بارور انجام شده است.

مواد و روش‌ها: ۸۹ مرد ضایعه نخاعی و ۴۹ مرد سالم بارور با چهار روش؛ خود انزالی، مقاربت، تخلیه اسپرم از مجاری ادراری دیدیم و انزال با تحریک الکتریکی مورد نمونه گیری قرار گرفتند. نمونه انزال مطابق با پروتکل سازمان بهداشت جهانی WHO مورد بررسی به صورت یک مطالعه گذشته نگر بر روی پارامترهای اسپرم و مایع منی قرار گرفت. پس از تخمک گیری از همسرانشان و تلقیح اسپرم به تخمک با روش ریز تزریقی، میزان باروری تخمک متافاز دوم و تقسیم سلولی و تشکیل جنین مورد محاسبه قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج حاکی از کاهش کمیت و کیفیت اسپرم و مایع منی در بیماران ضایعه نخاعی نسبت به گروه سالم بارور به طور معنی‌دار بود ($P < 0/001$). تغییرات در مایع منی با افزایش PH و غلظت بود و به طور معنی‌دار ($P < 0/001$) لکوسیتوز در مایع منی افزایش یافته بود. بررسی تحریک الکتریکی انزال به طور مشخص با معادلات رگرسیون نشان داد که کاهش در حرکت اسپرم به میزان ۱۰ درصد، زنده بودن اسپرم به میزان ۱۵ درصد، و حرکت اسپرم پس از شستشو و تعداد شکل طبیعی آن به میزان ۱۰ درصد نسبت به گروه سالم ($P < 0/001$) کم شده است. باروری تخمک در گروه ضایعه نخاعی به ۶۰ درصد رسیده بود، حال آنکه در افراد سالم به میزان ۷۱/۷ درصد بود که اختلاف معنی‌دار نشان می‌داد ولی در مقایسه تشکیل جنین و تقسیم سلولی پس از باروری تخمک اختلاف معنی‌دار نبود ($P < 0/133$).

نتیجه‌گیری و توصیه‌ها: اختلال در عملکرد اسپرم با نوع تحریک الکتریکی انزال در کاهش حرکت - زنده بودن - شکل طبیعی اسپرم و تعداد اسپرم پس از شستشو به طور معنی‌دار همبستگی و ارتباط دارد. این روش نمونه گیری بر روی باروری تخمک در افراد ضایعه نخاعی تأثیر گذارده و علیرغم تلقیح داخل سلولی اسپرم، کاهش در باروری تخمک را نشان می‌دهد و کاربری این روش را در نمونه گیری زیر سؤال می‌برد، لذا پیشنهاد می‌گردد نمونه گیری در این گروه از بیماران از روشهایی که نزدیک به انزال طبیعی است صورت گیرد.

مقدمه

سالانه افراد زیادی بر اثر تصادفات - جنگ و یا بیماریهای مختلف دچار ضایعه نخاع می‌گردند. طور متوسط در آمریکا هر ساله ۱۰ هزار نفر دچار ضایعه نخاع می‌شوند. در انگلیس در حدود ۲ هزار نفر و در استرالیا نزدیک به ۳۵۰ نفر در سال (۱) و در ایران نیز ضایعه نخاع بر اثر جنگ و حوادث غیر مترقبه و تصادفات آماری در حد انگلستان را نشان می‌دهد (۲) بر اساس یافته‌های محققین (۳) این افراد اکثراً بین ۲۰ تا ۴۵ سال سن دارند و اکثر این افراد بعد از ضایعه نخاع خواهان ازدواج و تشکیل خانواده هستند ولی دچار اختلال فیزیولوژیک در اراکسیون و اژاکولاسیون می‌باشند و حدوداً ۵ درصد از آنان می‌توانند نمونه منی و اسپرم بدهند (۳). لذا برای تهیه نمونه از این مردان از روشهایی مثل تحریک الکتریکی انزال، ویراتور، تخلیه اسپرم از مجاری اپی دیدیم بیضه و یا از روشهای تهاجمی مثل بافت برداری و یا از داروهایی مثل نئو استیگمین و فیزواستیگمین زیر جلدی استفاده می‌گردد. از روشهای فوق تحریک الکتریکی انزال کم خطر و راحت تر می‌باشد، این روش اولین بار توسط ۱۹۴۸ Home و همکاران (۴) در روی بیماران ضایعه نخاعی بکار برد. از آن زمان دستگاه تحریک الکتریکی تغییرات زیادی پیدا کرد و در سال ۱۹۷۵، thomas و همکاران (۵) به اولین باروری با این روش دست یافت. در این روش جریان الکتریکی از طریق یک میله الکتریکی که در ناحیه راست روده در پشت پروستات گذاشته می‌شود و با برقرار کردن جریان الکتریکی به میزان حداکثر ۵۰ Volt تا ۲۵ انزال را در فرد ضایعه نخاعی ایجاد می‌نماید. در این روش یک مجموعه عصبی تحت تأثیر قرار می‌گیرد تا این که فقط سبب انقباض یک ارگان و یا یک تحریک ساده عصبی باشد. اگر تحریک الکتریکی به صورت منقطع انجام پذیرد، نمونه به صورت Antegrade و دارای کیفیت بالایی در باروری تخمک می‌باشد (۶).

گرفتن نمونه بسته به اینکه به صورت Antegrade و یا Retrograde باشد فرق می‌کند به طوری که در افرادی که

Retrograde می‌باشد اسپرم به طرف مثانه بر می‌گردد و با کاتتر باید از مثانه تخلیه گردد که بر روی مایع سمان اثر منفی دارد. نتایج نمونه گیری نشان می‌دهد این روش با موفقیت زیادی در افراد ضایعه نخاعی روبرو بوده است و آمار بین ۸۰ درصد (۷) تا ۱۰۰ درصد (۸) از نمونه گیری گزارش گردیده است. روش ویراتور نیز مؤثر بوده و تا ۶۰ درصد افراد ضایعه نخاعی توانسته‌اند نمونه بدهند (۹).

در بررسی پارامترهای اسپرم به طور کلی در افراد ضایعه نخاعی از نظر تعداد - حرکت - زنده بودن و شکل طبیعی و همچنین پروتئین‌های مایع سمان نسبت به افراد سالم بارور در حد بسیار پائینی قرار دارند (۳) ولی با استفاده از روش تزریق اسپرم به داخل تخمک (ICSI) فاکتورهای مکانیکی و فیزیولوژیک بسیاری حذف و تحولی در باروری تخمک در بیمارانی که کیفیت و کمیت بسیار پائین اسپرم را دارند ایجاد گردید، و ترکیب تحریک الکتریکی انزال با ICSI روش بسیار مناسب و می‌توان اذعان کرد که تنها راه حل نهایی درمان ناباروری در بیماران ضایعه نخاعی می‌باشد (۳).

باروری تخمک با این روش در افراد ضایعه نخاعی تحول زیادی نموده است هر چند که بعضی از محققین گزارش نموده‌اند که میزان باروری نتایج ضعیف تری نسبت به روشهایی که اسپرم به طور طبیعی جمع آوری می‌گردد (۱۰،۱۱) دارد.

Edward. C. Schatte (۱۱) معتقد است، اساساً روش تحریک الکتریکی انزال تغییرات وسیع و غیر قابل برگشتی روی اسپرم از لحاظ زنده بودن، شکل شناسی و حرکت ایجاد می‌کند و روی مایع سمان نیز تغییرات کیفی ایجاد می‌کند و ترشحات غدد زمینه را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد و به همین علت درصد باروری نسبت به افراد سالم در حد پائین تری قرار می‌گیرد. به هر حال در مورد تغییراتی که روش تحریک الکتریکی انزال در روی نمونه منی و اسپرم ایجاد می‌کند تحقیق مجمل و کامل وجود ندارد (۱۱) و در مورد میزان باروری تخمک و نتایج حاملگی با روش تحریک الکتریکی انزال با ICSI نیز مقاله مشخصی دیده نشد. لذا با توجه به گزارشات فوق آبا روش تحریک الکتریکی انزال روش موفق و مناسبی است؟ و آیا این روش خود می‌تواند تأثیر منفی بر

در بیماران ضایعه نخاعی و سالم بارور که مورد تحریک الکتریکی انزال قرار گرفتند از دستگاه Seager Model 14 ساخت Palzell USA Medical System استفاده نمودیم و در افراد سالم بارور تحت بیهوشی عمومی تحریک الکتریکی انزال انجام شد، که این افراد به علت مسائل روحی قادر به خود انزالی نبودند و با مقاربت نیز نمی توانستند نمونه بدهند. میزان ولتاژ دستگاه بین ۵۰ تا ۲۵ ولت بود و در افراد ضایعه نخاعی بدون بیهوشی و با یک بار تحریک به میزان ۲۵ ولت تحریک الکتریکی انزال انجام گردید. روش تخمک گیری از همسران هر دو گروه با توجه به سالم بودن آنها از لحاظ کلینیکی و آزمایشگاهی با استفاده از پروتکل طولانی جهت القاء تخمک گذاری قرار گرفتند و برای پائین آوردن هورمونهای هیپوتالاموس - هیپوفیز از روش GNRH agonist استفاده شد و با روش آنالیز هورمونی که در ابتدای سیکل محاسبه می شد، میزان LH,FSH, استروژن و پروژسترون محاسبه می گردید و در طول سیکل هورمونی نیز کنترل هورمون انجام می گرفت. تحریک تخمدان توسط هورمونهای FSH و LH به میزان هر آمپول hMG(Sereno) ۷۵ واحد بین المللی بصورت تزریق عضلانی تزریق گردید. بر اساس میزان استرادیول و اندازة فولیکولها در سونوگرافی به ازاء هر فولیکول در ابعاد ۲۲ تا ۱۸ میلی متر در بین روزهای ۱۱ تا ۹ که دیده می شد، در انتهای مراحل القاء تخمک گذاری از ده هزار واحد بین المللی HCG جهت اوولاسیون بصورت تزریقی عضلانی استفاده گردید. پس از ۳۶ ساعت از آخرین تزریق HCG، اسپیراسیون فولیکولها بوسیله پروب واژینال، تخمک گرفته و به آزمایشگاه جنین شناسی تحویل می گردید. تخمکهای بدست آمده پس از جداسازی سلولهای گرانولوز با هیالورونیداز (۱۰۰ IU/ml) تا ۷۵) از نظر تعداد و وضعیت بلوغ تخمکی شمارش و دسته بندی می گردید. تخمکهایی که در مرحله متافاز دوم تقسیم میوز بودند جهت تلقیح داخل سلولی در قطرات محیط کشت HEPES,Ham,sF10 + و ۱۰ درصد آلبومین در زیر روغن پارافین قرار می گرفتند. برای تعادل محیط کشت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد و رطوبت ۹۸ درصد و گاز CO₂ به میزان ۵ درصد به مدت حداقل ۲ ساعت قرار می گرفتند.

کمیت و کیفیت مایع منی و اسپرم بگذارند. پاسخ به این سؤالات اهداف اصلی این پژوهش می باشد.

مواد و روشها

در این پژوهش که به صورت گذشته نگر تحلیلی انجام گرفت ۸۹ بیمار ضایعه نخاعی به همراه همسرانشان و ۴۹ زوج سالم بارور به عنوان گروه کنترل انتخاب گردیدند. زنان هر دو گروه در بررسیهای بالینی و آزمایشگاهی فاقد هرگونه مشکل باروری بودند. بیماران ضایعه نخاعی از مراجعین مرکز ناباروری کوثر و زمان ضایعه نخاع آنان بین ۱۱ تا ۱۸ سال و از نوع مزمن محسوب می گردید.

زوجین سالم از مرکز درمان ناباروری کوثر و بخش ناباروری بیمارستان میرزا کوچک خان در طی ۴ سال مراجعه از سال ۱۳۷۷ تا پایان سال ۱۳۸۱ در این پژوهش گردآوری شده اند و مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه اسپرم در مردان ضایعه نخاعی و سالم بارور به یکی از چهار روش خلاصه شده طبق جدول ۱ تهیه گردید. نمونه بیماران ضایعه نخاع از نظر سطح قطع نخاع و داشتن اعصاب سمپاتیک به ۳ گروه:

- ۱- قطع نخاع مهرهای گردنی (مهره چهارم تا هفتم گردن)
- ۲- قطع نخاع مهرهای سینه ای (مهره اول تا دهم سینه ای)
- ۳- قطع نخاع مهرهای کمری (مهره های ۱۱ سینه ای تا مهره سوم کمری) تقسیم شدند. متوسط سن مردان ضایعه نخاعی (SD=۳۷ و X=۳۴) سال و نمونه اسپرم مردان ضایعه نخاع و سالم پس از رعایت زمان لازم برای مایع شدن بر اساس استاندارد سازمان بهداشت جهانی (۱۲) در آزمایشگاه جنین شناسی ابتدا حجم و خصوصیات فیزیکی مایع منی - از نظر غلظت - رنگ و PH و سپس شمارش اسپرم با استفاده از لام Hamilton-Hourwell به طور مستقیم جهت شمارش قرار می گرفتند.

حرکت - زنده بودن و شکل شناسی اسپرم بر اساس (۱۲) WHO و روش (۱۳) kruger محاسبه و ثبت می شد. تعداد گلبول سفید و سابقه عفونت ادراری نیز ثبت می شد.

افزایش نشان می‌داد. (جدول ۲). تمامی بیماران قطع نخاعی دچار عفونت در مجاری تناسلی - ادراری بودند. که بیشتر به علت کاتتریزاسیون مکرر بود.

جهت تعیین رابطه خطی بین هر یک از متغیرهای (حرکت - زنده بودن - شکل طبیعی اسپرم و تعداد اسپرم) با متغیرهای نوع نمونه گیری و سطح ضایعه نخاع به تفکیک معادله خطی رگرسیون چند متغیره جهت هر یک از آنها تعیین گردید. آزمون ضریب همبستگی به صورت معنی‌دار نشان داد که نمونه گیری بصورت تحریک الکتریکی انزال به اندازه ۰/۳ از تغییرات حرکت اسپرم را توجیح می‌کند ($R^2 = 0/304$) که با افزودن متغیر ضایعه نخاع سینه‌ای این تأثیر به میزان $R^2 = 0/352$ و با افزودن ضایعه نخاع کمری تأثیر بر درصد حرکت اسپرم به $R^2 = 0/419$ میرسد و معادله خطی آن بصورت زیر می‌باشد:

$$+35/863 = \text{درصد حرکت اسپرم} + (-20/286) \times (\text{قطع نخاع کمری}) + (\text{قطع نخاع سینه‌ای}) - 16/416 + (\text{تحریک الکتریکی انزال}) - 9/2621$$

جدول ۱- نمایش درصد روشهای نمونه گیری در افراد سالم بارور و

ضایعه نخاع

نوع نمونه گیری	گروه سالم بارور	گروه ضایعه نخاع	جمع (درصد به کل)
تحریک الکتریکی انزال	۱۰/۲ درصد n=۵	۷۸/۷ درصد n=۷۰	۵۴/۳ درصد n=۷۵
خود انزال	۲۸/۶ درصد n=۱۴	۳/۴ درصد n=۳	۱۲/۳ درصد n=۱۷
مقاربت	۶۱/۲ درصد n=۳۰	۶/۷ درصد n=۶	۲۶/۱ درصد n=۳۶
تخلیه اسپرم از سطح پوست بیضه	۰-۰	۱۱/۲ درصد n=۱۰	۷/۲ درصد n=۱۰
جمع	۳۵/۵ درصد n=۴۹	۴۶/۵ درصد n=۸۹	۱۰۰ درصد n=۱۳۸

این رابطه خطی نشان می‌دهد استفاده از روش تحریک الکتریکی انزال سبب می‌گردد تا درصد حرکت اسپرم از ۳۵/۸۶۳ درصد به ۲۴/۶۰۱ درصد کاهش پیدا کند و وجود

تزریق داخل سلولی بر اساس روش (۱۴) Palermo با سوزن‌های تزریق و نگهدار که بصورت تجاری جهت تزریق آماده شده‌اند در زیر میکروسکوپ Nikon T300 انجام گرفت. پس از تزریق به محیط کشت بدون HEPES منتقل و در انکوباتور CO2 دار در ۳۷ درجه سانتیگراد حرارت قرار داده و کشت می‌گردیدند پس از ۱۶ تا ۱۸ ساعت بررسی پیش هسته‌ها و باروری تخمک بررسی می‌شد و پس از ۴۸ تا ۴۴ ساعت از زمان تزریق مورد بررسی از نظر تقسیم سلولی و فراگماتاسیون سلولی قرار می‌گرفتند.

روش‌های آماری

در پژوهش حاضر به منظور بررسی تفاوت میانگین در گروه‌های ضایعه نخاعی و سالم بارور از آزمون U-mann Whitney و آزمون T-Test استفاده گردید و جهت تعیین احتمال باروری تخمکها از آزمون Chi Square. X^2 و بدست آوردن رابطه آماری متغیرهای مستقل و وابسته از ضریب همبستگی پیرسون و آنالیز رگرسیون چند متغیره استفاده گردید در تحلیل‌های مربوطه از برنامه نرم افزاری SPSS/pc.v9 بهره گرفته شد.

یافته‌ها

نوع نمونه گیری و درصد بندی آن در افراد ضایعه نخاعی و سالم در جدول شماره ۱ خلاصه شده است (جدول ۱).

بررسی پارامترهای اسپرم و مایع منی و مقایسه آن در بین افراد ضایعه نخاعی و سالم بارور از طریق آزمون‌های یومن ویتنی و t مستقل حاکی از اختلاف معنی‌دار در حرکت - زنده بودن - شکل طبیعی اسپرم و تعداد اسپرم متحرک در قبل و پس از شستشو را نشان می‌داد ($P < 0/001$) (جدول ۲).

جدا شدگی و بزرگی سر اسپرم نیز در افراد ضایعه نخاع که عمدتاً با روش تحریک الکتریکی انزال (۷۸/۷ درصد) نمونه داده شد، دیده شد. و میزان لکوستیوز نیز بطور معنی‌دار ($P < 0/005$) در مایع منی افراد ضایعه نخاع

((قطع نخاع کم‌ری)) (۲۱۷۷۲/۱۷۲-) + ((قطع نخاع سینه‌ای)) (۱۹۲۵۱/۸۲۸-) + ۲۴۳۷۴/۴۹۰ = تعداد اسپرم پس از شستشو $\times 10^3$

متغیرهای سن - عفونت - تعداد گلبول سفید برای متغیر بی تأثیر بود ولی وجود سطح قطع نخاع سینه‌ای و کم‌ری اختلاف فاحشی در تعداد اسپرم بعد از شستشو ایجاد می‌نمود ($P < 0.001$).

تعداد دفعات تحریک الکتریکی انزال در مقایسه دفعات مختلف نمونه گیری تغییری در مقادیر کمی و کیفی نمونه منی و اسپرم بوجود نیامورد و اختلاف معنی‌دار نداشت. جهت بهتر مشخص شدن تأثیر تحریک الکتریکی انزال در روی کیفیت و کمیت مایع منی نمونه سمان و اسپرم مردان سالم که با روش نمونه گیری تحریک الکتریکی انزال نمونه گیری شده بودند و افراد سالمی که با روش‌های غیر الکتریکی نمونه گیری شدند مقایسه و نتایج زیر بدست آمده در PH و حجم و Sperm Count افزایش یافت ولی تفاوت معنی‌داری دیده نشد.

نتایج نشان می‌دهد که نمونه گیری با روش تحریک الکتریکی انزال به شدت بر کیفیت و کمیت اسپرم افراد سالم تأثیر گذار است و بطور معنی‌دار ($P < 0.001$) در کاهش حرکت اسپرم، زنده بودن و شکل طبیعی آن را ایجاد می‌کند و پس از شستشو نیز بر تعداد و حرکت آن به طور معنی‌دار ($P < 0.005$) تأثیر دارد رجوع به جدول ۳.

تعداد دفعات القاء تخمک گذاری بین ۵ تا ۱ مرتبه بود که تعداد دفعات در بین دو گروه معنی‌دار نبود.

مقایسه میانگین دفعات القاء تخمک گذاری، تعداد تخمک متافاز دوم و تعداد تخمک بارور شده و تشکیل جنین با آزمون T-Test مقایسه گردید که میانگین تخمک‌های بدست آمده در زنان گروه سالم بارور کمتر بود و اختلاف معنی‌داری در تعداد تخمک متافاز دوم در بین زنان گروه سالم و زنان گروه ضایعه نخاعی دیده شده بود ($P < 0.001$) میزان باروری تخمک در افراد ضایعه نخاعی ۶۰٪ و در افراد سالم بارور ۷۱٪ درصد بود.

هر یک از ضایعات نخاع سینه‌ای باعث کاهش حرکت به میزان ۱۶/۴۱۲ درصد و یا اگر قطع نخاع در حد کم‌ری باشد به میزان ۲۰/۲۸ درصد از حرکت اسپرم کاهش پیدا کند.

آزمون ضریب همبستگی به صورت معنی‌دار نشان داد که میزان تأثیر نمونه گیری بصورت تحریک الکتریکی انزال به اندازه ۰/۳۲۵ از تغییرات زنده بودن اسپرم را توجیح می‌کند ($R^2 = 0.325$) که با افزودن متغیر قطع نخاع سینه‌ای به $R^2 = 0.387$ و با افزودن متغیر قطع نخاع کم‌ری میزان تأثیر به $R^2 = 0.462$ می‌رسد و معادله خطی آن بصورت زیر می‌باشد.

((قطع نخاع کم‌ری)) (۳۵ / ۶۱۸-) + ((قطع نخاع سینه‌ای)) (۳۰ / ۰۹۱-) + ((الکتروژاکولاسیون)) (۱۴ / ۷۹۲-) + ۶۲ / ۴۴۸ = درصد زنده بودن اسپرم

در این رابطه نشان میدهد استفاده از روش الکتروژاکولاسیون ۱۴/۷۹۲ درصد و متغیرهای سطح قطع نخاع سینه‌ای به میزان ۳۰/۰۹۱ درصد و سطح قطع نخاع کم‌ری ۳۵/۶۱۸ درصد زنده بودن اسپرم را کاهش می‌دهد.

تأثیر تحریک الکتریکی انزال بر شکل طبیعی نیز معنی‌دار بود و معادله خطی آن به صورت زیر تشکیل شد.

((قطع نخاع سینه‌ای)) (۸ / ۶۰۲-) + ((روش تحریک الکتریکی انزال)) (۹ / ۵۵۶-) + ۳۲ / ۹۳ = درصد شکل طبیعی اسپرم

در این رابطه مشخص گردید که فقط وجود روش تحریک الکتریکی انزال و سطح قطع نخاع سینه‌ای در کاهش درصد شکل طبیعی اسپرم مؤثر است و قطع نخاع کم‌ری برای تغییر تأثیری نداشت دیده می‌شود استفاده از روش تحریک الکتریکی انزال به میزان ۹/۵۵۶ درصد کاهش شکل طبیعی را باعث شده بود.

سطح قطع نخاع کم‌ری و سینه‌ای در تعداد اسپرم پس از شستشو نیز بطور معنی‌دار مؤثر بود و آزمون ضریب همبستگی به میزان $R^2 = 0.244$ و معادله خطی آن به شکل زیر تشکیل شد.

جدول ۲- میانگین وانحراف استاندارد پارامترهای مایع منی واسپرم به همراه سطح معنی داری جهت مقایسه در بین افراد ضایعه نخاعی وسالم بارور (مقادیر بصورت انحراف معیار + میانگین)

شاخص	غلظت رتبه‌ای (۱-۳)	PH رتبه‌ای	تعداد اسپرم متحرک		حجم میلی‌لیتر	حرکت درصد	زنده بودن درصد	تست حرکت اسپرم درصد	گروه
			قبل از شستشو در میلی‌لیتر	پس از شستشو در میلی‌لیتر					
ضایعه نخاع n=۸۹	۱/۵۰	۷/۴۱	۶۶/۱۲×۱۰ ^۶	۴/۶۸×۱۰ ^۶	۳/۳۶	۱۱/۷۲	۱۹/۴۲	۵۷/۲	M
	±۰/۶۹	±۰/۷۱	±۱۱/۰۸×۱۰ ^۶	±۱/۰۸×۱۰ ^۶	±۱/۷۲	±۱/۳/۵۶	±۲/۲۲/۸۲	±۴۳/۱۷	
سالم n=۴۹	۱/۲۲	۷/۳۳	۹۵/۹۲×۱۰ ^۶	۲۴/۳۴×۱۰ ^۶	۳/۴۴	۳۴/۹۱	۶۰/۹۳	۸۹/۸۷	M
	±۰/۷۴	±۰/۲۷	±۱۹/۳۵×۱۰ ^۶	±۱/۳۵×۱۰ ^۶	±۱/۵۹	±۱/۵/۶۴	±۲/۲۲/۸۶	±۲۲/۵۴	
	۰/۱۲۳	۰/۳۶	۰/۰۷	۰/۰۰۰	۰/۷۶۶	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	
	T	T	T	T	T	M	M	M	
شاخص	شکل طبیعی سر اسپرم درصد در میلی‌لیتر	سر بزرگ اسپرم درصد در میلی‌لیتر	سر دوکی درصد در میلی‌لیتر	سر جدا درصد در میلی‌لیتر	گردن سیتوپلاسمی درصد در میلی‌لیتر	گردن شکسته درصد در میلی‌لیتر	دم خوکی درصد در میلی‌لیتر	دم کوتاه درصد در میلی‌لیتر	گروه
ضایعه نخاع n=۸۹	۶/۱۷/۶۶	۳۸/۹۳	۱۱/۷۴	۱/۸۷	۹/۳۹	۴/۲۵	۶/۷۵	۴/۰۲	M
	±۱/۱۴/۹	±۲/۲۶/۷۸	±۱/۱۴/۷۸	±۱/۲۵/۸۷	±۱/۷/۸۰	±۱/۴/۷	±۱/۷/۹۳	±۱/۵/۸۸	
سالم n=۴۹	۳۲/۲۲	۲۰/۳۶	۱۰/۹۵	۷/۸۷	۱۱/۶۵	۴/۴۴	۷/۶۹	۴/۹۵	M
	±۱/۱۶/۵۹	±۱/۱۶/۶۲	±۱/۱۱/۶۷	±۱/۹/۸۴	±۱/۷/۵۶	±۱/۳/۴۸	±۱/۵/۳۰	±۱/۵/۳۰	
	۰/۰۰۰	۰/۰۴	۰/۴	۰/۰۲۲	۰/۲۹۸	۰/۹۵	۰/۸۹۸	۰/۶۵۷	
	M	M	M	M	M	M	M	M	

جدول ۳- مقایسه متغیرهای مایع منی و اسپرم در دو روش نمونه‌گیری تحریک الکتریکی انزال با سایر روشهای تهیه نمونه در مردان سالم (آزمون من‌ویتنی)

Short tail	Norm fram	Count 2	Smotest	Viability	Motility	شاخص‌ها	n		
دم کوتاه اسپرم	شکل طبیعی اسپرم	تعداد پس از شستشو اسپرم	حرکت پس از شستشو اسپرم	زنده بودن اسپرم	حرکت اسپرم				
۱۰	۱۰	۳۰۰۰	۹۰	۲۰	۱۰	میانه	۵	نمونه‌گیری با الکترود انزال اسپرم	
۳۵/۹	۵/۸	۸/۹	۱۰/۳	۶/۳۰	۹/۸	متوسط رتبه			
۴	۳۰	۲۲۰۰۰	۹۸	۶۸	۳۵	میانه	۴۴	سایر روشهای نمونه‌گیری	
۲۳/۷۶	۲۷/۱۸	۲۶/۸۳	۲۶/۷۷	۲۷/۱۳	۲۶/۷۳	متوسط میانه			
							P value		
۰/۰۷	۰/۰۰۰	۰/۰۰۵	۰/۰۱۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۹				

جدول ۴- مقایسه میانگین تعداد دفعات القاء تخمک گذاری، تخمک متافاز دوم، تخمک‌های بارور شده و جنین تشکیل شده در گروه ضایعه نخاع و سالم بارور توسط آزمون t.

تعداد	شاخص	القاء تخمک گذاری	تخمک متافاز دوم	تخمک بارور شده	جنین تشکیل شده	گروه
n=۸۹	میانگین (انحراف معیار)	۲/۱۵+۱/۷۶	۷/۴۶+۴/۱۸	۴/۴۹+۲/۸۲	۴/۳۷+۲/۸	ضایعه نخاع
n=۴۹	میانگین (انحراف معیار)	۱/۹۱+۲/۸۳	۵/۳۸+۲/۰۴	۳/۸۳+۱/۵۳	۳/۶۵+۱/۳۳	سالم بارور

اساسی به روش نمونه‌گیری با تحریک الکتریکی در افراد با ضایعه نخاعی و ناتوان جنسی که از سال ۱۹۴۸ توسط دکتر هورن و همکاران (۴) در مورد انسان انجام داده بودند مورد توجه بیشتری قرار گرفت.

با ابداع روش تزریق داخل سلولی توسط پالرمو و همکاران (۱۴) در بیمارانی که انزال طبیعی ندارند و یا نمی‌توانند انزال داشته باشند مثل افراد ضایعه نخاعی و ترکیب این دو روش در کسانی که حتی از نظر روحی اشکال در نمونه‌گیری و یا اشکال در ساختار مورفولوژیک اسپرم دارند

همچنین با آزمون Chi square میزان باروری تخمک در افراد ضایعه نخاعی در مقایسه با همین میزان در افراد سالم به طور معنی‌دار کاهش نشان می‌داد ($P < 0/001$) ولی در میزان تشکیل جنین و تقسیمات سلولی اختلافی دیده نشد.

بحث

پس از بدست آمدن اولین باروری با روش تحریک الکتریکی انزال توسط دکتر (۵) Thomas و همکاران توجه

تعداد - حرکت و شکل شناسی و اشکالات عبور اسپرم از غشاء تخمک و بارور سازی آنرا کاملاً حذف نموده است و با شستشوی اسپرم تأثیرات مواد محیطی مایع منی نیز از پیش رو برداشته شده است. ولی مجدداً کاهش باروری تخمکها را در این پژوهش ملاحظه می‌کنیم پس علت باید تأثیر بر ساختار داخلی اسپرم باشد. بطوریکه ملاحظه می‌گردد (جدول ۴) علیرغم یکسان بودن روش تحریک تخمدان ، تعداد تخمک متافاز دوم در زنان گروه سالم ($5/3 \pm 2/04$) کمتر بود و این تعداد در زنان گروه قطع نخاعی ($7/4 \pm 4/18$) بود که اختلاف معنی‌داری داشت ($P < 0/001$) و اختلاف با توجه به اینکه هر دو گروه از زنان سالم و فاقد هر گونه بیماری و یا اشکال و سابقه ناباروری بودند، انتخاب شده بودند و اختلاف در تعداد تخمک از نظر کلینیکی مهم نبوده و فاقد ارزش تداخلی بوده است، لذا به نظر می‌رسد روش تحریک الکتریکی انزال سبب تغییرات ساختاری در کروماتین اسپرم گردیده است و علت با تأثیر رادیکالهای آزاد روی ساختار داخلی کروماتین اسپرم باشد و با نظرات Rajesh Kumar (۱۷) موافقت دارد. این تحریکات الکتریکی سبب تغییرات در مایع منی و تغییرات در پارامترهای اسپرم جدای تغییرات قطع عصب و عوارض جانبی آن بود که با خود اختلالات بیشتر در عملکرد اسپرم را آورده بود (۱۸).

توصیه ادامه تحقیقات در زمینه اجزاء بیوشیمیایی مایع منی جهت بررسی تأثیر تحریک الکتریکی روی مایع منی لازم است، به خصوص در روی یونهای روی و نیکل و فروکتوز که می‌توانند آگهی دهنده از تأثیر تحریکات الکتریکی روی ساختار کروماتین‌های اسپرم باشند و می‌توانند آن تغییرات را مورد تحقیق قرار دهند (۱۸).

از دیگر دستاوردهای این پژوهش به دست آمدن رابطه بین سطح قطع نخاع با میزان حرکت - زنده بودن و شکل طبیعی و سالم اسپرم بود و هرچه سطح قطع نخاع در نواحی گردنی و پشتی بود بهتر از پارامترهای اسپرم در سطح قطع نخاع کمتری بود و در معادلات رگرسیون چند متغیره به آن اشاره گردید و با نظرات (۶) N.L.Brackett و (۸،۹) Sonkesen موافقت داشت. ولی نظر به این که از روش تزریق داخل سلولی برای باروری تخمک متافاز دوم با

تحولی عظیم و بی شک یکی از وسایل مؤثر در درمان ناباروری آنان گردید (۱۵). از عوامل مهم در ناباروری تخمک تغییرات مورفولوژیک اسپرم - حرکت اسپرم و زنده بودن آن از سایر عوامل در باروری تخمک مهمتر است (۳،۱۰) که در افراد با ضایعه نخاع این عوامل بیشتر می‌شود. و وجود عفونت نیز افزون بر موارد فوق تأثیر دارد (۳،۶،۱۰،۱۵).

در این پژوهش روش تحریک الکتریکی انزال جهت تزریق داخل سلولی به عنوان یکی از چهار روش نمونه گیری برای بیماران با ضایعه نخاعی استفاده شد ، که در مقایسه با سایر روشها ، با استفاده از معادلات خطی رگرسیون چند متغیره ثابت گردید، تحریک الکتریکی انزال می‌تواند به طور پیش آگهی دهنده تا ۹/۲۶ درصد حرکت اسپرم، تا ۱۵ درصد در زنده بودن اسپرم و به میزان ۹/۵ درصد در روی کاهش شکل طبیعی اسپرم تغییر ایجاد نماید، که به نظر می‌رسد در این پژوهش برای اولین بار به این نکته توجه شده است. حتی تحریک الکتریکی انزال در افراد سالمی که به علت مشکلات روحی نتوانستند نمونه بدهند ، نشان داد که تأثیرات معنی‌دار روی حرکت - زنده بودن و شکل طبیعی اسپرم می‌گذارد (جدول ۳).

باید دانست که این تغییرات جدای تغییراتی است که در روی مایع منی از لحاظ PH - غلظت و عفونت می‌باشد که مورد توجه سایر محققین قرار گرفته است (۱۰،۱۱،۱۵،۱۸). متغیرهای سن - عفونت و تعداد گلبول سفید مایع منی در تمام افراد ضایعه نخاعی بررسی و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و اختلاف معنی‌داری در پارامترهای اسپرم را نشان نداد. و با نظرات Hans Wolf (۱۶) - Sonksen (۸) و همکارانش که معتقد بودند افزایش گلبول سفید در مایع منی افزایش آنتی اکسیدان‌ها را با خود دارد ، که برای ظرفیت‌گیری و افزایش آنتی بادی - آنتی اسپرم تأثیر مستقیم ویر کاهش شکل طبیعی و حرکت اسپرم و زنده بودن آن اثر منفی دارد ، موافقت ندارد. چه در نظر آنان و تحقیقاتشان روش باروری مستقیم تخمک با روش باروری آزمایشگاهی به صورت گذاشتن اسپرم در مجاورت تخمک مورد نظر بوده است که پارامترهای اسپرم کاملاً دخالت در باروری تخمک می‌نماید. حال آنکه با روش تزریق داخل سلولی اسپرم نقص

می‌برد. و بهتر است با توجه به تمامی جوانب نمونه گیری از روشهایی که مشابه انزال طبیعی است انجام گردد مثل ویبراتور (۹ و ۱۰) و شستشوی اسپرم به فوریت پس از انزال و یا در هنگام جمع آوری انزال انجام گردد، تا تغییرات اسموتیک - PH و سایر اجزاء مایع منی جدا شده تا از تغییرات بیولوژی ثانویه روی اسپرم جلوگیری شود.

انتخاب بهترین پارامترهای اسپرم از لحاظ حرکت - زنده بودن و شکل سالم استفاده گردید لذا بررسی این متغیر از پژوهش حذف گردید.

در این پژوهش مشاهده گردید که روش تحریک الکتریکی انزال عوارض جانبی دیگری مثل زخمهای روده‌ای - برگشت مایع انزالی به داخل مثانه و تأثیر روی رفلکس‌های نخاعی دارد که استفاده از این روش نمونه گیری را زیر سؤال

منابع

1. Zoa Taylor, David Molloy, Vernon hill , keith Harrison: contribution of the assisted reproductive technologies to fertility in males suffering spinal cord injury. Aust and Nzjournal of obstetrics and gynecology, 39:84-87, 1999.
- 2-Habibi Patris , kesmani mahnaz. Sperm functional asset in spind cord injury by electroejaculation. medical bulltin of SCI center IRAN vol4. 7-12, 1993.
3. Nancy. L. brackkett , mark. s.Nash , charles – m. lynne: male fertility following cord injury: facts and fiction physicaltherapy , vol 76-Noll. 1221 -1231, 1996.
4. Horne H.W., paul D.P. and munro D: fertility studies in the human male with traumatic injuries of the spinal cord. New engl.J. med, 239: 959 -970, 1958.
5. Thomas, R.J.S, Mc leish, G. and Mc Donald, I : electroejaculation of the paraplegic male followed by pregnancy Med. J.Aust, 2:798-802, 1975.
6. Nancy. L. Brackett, Daniel. N. eod, teodoro. C, Abalia: semen retrieval in men with spinal cord injury is improved by interrupting current delivery during electroejaculation. Journal of urology. vol-167, 201-203. 2002
7. Linsenmeyer T.A, perkash I. Infertility in men with spinal cord injury. Arch phys med Rehab, 72 : 747-754, 1991.
8. Sonksen, J. and biering- Sorenson , F: fertility in men with spinal cord or cauda epuina lesions. Semin neurol, 12: 106, 1992.
9. Sonksen, J. biering – Sorenson. F. kristensen-jk. Ejaculation induced by penile vibrator stimulation in men with spinal cord injury: paraplegia. 32:651-660. 1994.
10. OHI. D. A ,sonksen. J, mange. A.C: electroejaculation versus vibratory stimulation in spinal cord injured men. J urology. Vol 157: 2147-9, 1997.
11. Edward. C. schatte, Francisco. J. orejuela, larry.I. lipshulty: treatment of infertility due to ejaculation in the male with electroejaculation and intracytoplasmic sperm injection. J-urology: vol 163, 1717-1720, 2000.
12. World health organization. WhO laboratory manual for the examination of human semen and sperm- cervical mucus interaction- 4rd ed. New york : Cambridge university press: 1999.
13. Kruger, t.F, Acosta. AA, simmons. K.F., swen son, R.J., mattaj. F and oehninger. S. predictive value of abnormal sperm morphology in invitro fertilization, fertile– steril, 49:; 112-117, 1988.
14. Palermo G, Joris H. Devroy P, van steirtegham AC: pregnancy after intracytoplasmic injection of single spermatozoon in to anooocyte. Lancet: 340: 17-18, 1992.
15. le Chapelain L, nguyen van– tamp. Dehail p, etal: ejaculatory stimulation, quality of semen and reproductive aspects in spinal cord injured men. Spinal cord: vol 36(2), 132-136: 1998.
16. Hans wolff. Joseph A. politch, Adriana martinez etal: leukocytospermia is associated with poor semen quality. Fertility – steril: vol 53:528-536, 1990.
17. T. Rajesh kumar, K. dores wamy. B.shrilatha, muralidhara : oxidative stress associated DNA damage in testis of mice: induction of abnormal sperm and effects on fertility. Mutation research: 513: 103-111, 2002.
18. IRVIN, H.Hirsch, R.S. Jeyendran, John Sedor. R: Biochemical analysis of electroejaculation in spinal cord injured men: Comparison to normal ejaculates. The journal of urology, Vol. 145, 73-76, January 1991.