Archive of SID

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دوره ۳۰ شماره ۱ بهار ۱۳۸۷ صفحات ۱۳۲- ۱۲۷

تاثیردریافت مکمل های آنتی اکسیدانت برروی کیفیت مایع منی در مردان با آستنوزواسپرمی

دکترمحمد نوری: دانشیار بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز: نویسنده رابط
E-mail: nourimd@yahoo.com
دکترلعیا فرزدی: استادیار زنان و مامائی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دکترعالیه قاسم زاده: استادیار زنان و مامائی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
وحیده شهنازی: فوق لیسانس انگل شناسی، بخش نازایی بیمارستان الزهرا، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

دریافت: ۸۵/۱۱/۲۳، پذیرش: ۸۶/۸/۵

چکیده

زمینه و اهداف: نشان داده شده که در آستنوزواسپرمی سطح بالای پراکسیداسیون لیپیدی موجب آسیب غشاء اسپرم ها شده و میزان باروری را کاهش می دهد. اخیراً ضرورت وجود حداقلی پراکسیداسیون لیپیدی(Lipid Per Oxidation, LPO) برای باروری اووسیتها و اسپرمها نیزگزارش شده است. در این مطالعه تاثیرویتامین های E و C با دوز بالا برروی سطح پراکسیداسیون لیپیدی در مایع منی و میزان زنده ماندن اسپرم ها در شرایط آزمایشگاهی قبل و بعد از دوماه درمان در مردان آستنوزواسپرمی مورد ارزیابی قرارگرفته است.

روش بررسی: از میان زوجین مراجعه کننده به بخش نازائی ۴۰ مرد باروربا خصوصیات نرموزواسپرمی و ۶۰ مرد نابارور آستنوزواسپرم ایدئوپاتیک به روش ساده انتخاب گردیدند. قبل از شروع درمان از بیماران و افراد نرمال دو بار مایع منی و بعداز درمان (روزانه ۴۰۰ میلی گرم ویتامین E و ۱۰۰۰ میلی گرم ویتامین C به مدت دو ماه) دو بارنمونه منی از افراد مورد مطالعه اخذ گردید. سطح پراکسیداسیون لیپیدی (Malone Di-Aldehyde, MDA)، ویتامین C، ویتامین E، تحرک و مورفولوژی اسپرم (براساس متد پیشنهادی WHO)وتست تغلیظ با روش شناور سازی(Swim up) انجام گرفت.

یافته ها: در صد اسپرمها ی متحرک (درجه b) در مردان آستنوزواسپرم بعد از دو ماه درمان افزایش معنی داری را نسبت به قبل از درمان نشان داد. همچنین درمان با ویتامین های آنتی اکسیدانت بدون تاثیر بر غلظت و مورفولوژی اسپرم، تحرک درجه a و b و مدت زنده ماندن آنها را در محیط کشت افزایش می دهد. سطح پراکسیداسیون لیپیدی مایع منی بعد از درمان در افراد آستنوزواسپرم تا محدوده افراد نرموزواسپرم کاهش معنی داری را نشان داد ($P<۰/۰۰۱$).

نتیجه گیری: دریافت ویتامین های E و C با دوز بالا با کاهش سطح پراکسیداسیون لیپیدی موجب افزایش تحرک اسپرمها بعد از تست تغلیظ شده و با افزایش مدت زمان زنده ماندن سلولها می تواند میزان باروری را در شرایط داخل بدن و ازمایشگاه تحت تاثیرقراردهد.

کلید واژه ها: پراکسیداسیون لیپیدی، ویتامین E، ویتامین C، کیفیت منی، آستنوزواسپرمی

مقدمه

تابحال درمان مشخصی برای ناباروری ایدئوپاتیک مردان ارائه نشده، به همین ترتیب در درمان این بیماران با هورمونها و آنالوگهای هورمونی نیز پیشرفت موثری صورت نپذیرفته است (۱). اخیراً در بیماران آستنوزواسپرمی افزایش تولید فرمهای اکسیژن

www.SID.ir

Archive of SID

فعال[1] در مایع سمن، صدمه آنها بر غشاء سلولی و هم چنین قطعه قطعه شدن DNA اسپرمها نشان داده شده است(۲و۳). اینکه صدمه پراکسیداسیون به اسپرمها در مایع سمن (در طول آبکی شدن و یا در زمان ذخیره شدن در اپیدیدیم) و یا در بیضه ها اتفاق می افتد تابحال مشخص نشده است (٤).

نقش ویتامین E به عنوان ماده غذائی اصلی برای تولید مثل در سال ۱۹۲۲ گزارش شده است (۵). در سال ۱۹٤۰ نشان داده شد که این ترکیب یک آنتی اکسیدانت فعال بوده و اسیدهای چرب غیراشباع (PUFA[2]) را در مقابل پراکسیداسیون محافظت می کند (٦). این خصوصیات برای تولید مثل در مردان بسیارموثراست چرا که غشاء سلولهای ژرمینال (Germ cells) و اسپرمها به اکسیداسیون بسیارحساس می باشد (۷). از طرف دیگر بالا بودن اسید اسکوربیک مایع سمن تا ده برابر سرم (۸) و توانائی آنتی اکسیدانتی این ویتامین تاکیدی برنقش آن در تولید مثل بویژه در جنس مذکر می باشد (۹). مطالعات نشان داده که میزان ویتامین C مایع سمن رابطه مثبت با مورفولوژی نرمال اسپرم داشته که موید نقش حفاظتی این ویتامین در اپیدیدیم می باشد (۱۰).

Kessopoaloue و همکاران اولین بار در یک مطالعه کارآزمائی بالینی از ویتامین E خوراکی برای درمان مردان نابارور استفاده و نشان دادند که قدرت اتصالی اسپرمها به zona بعد از دریافت ویتامین بهبود می یابد (۱۱). در مطالعه دیگری که برروی ۱۹ مرد نابارور صورت گرفته نشان داده شده که در یافت ۲۰۰میلی گرم ویتامین E و ۲۰۰ میلی گرم ویتامین C در روز به مدت دو ماه برروی تعداد اسپرمها تاثیرمثبت ولی برسایر پارامترهای باروری تاثیرمعنی داری ندارد (۱۲). Rolf و همکاران نقش درمانی ویتامین C و E را با دوز های با لا برروی ۲۱ مرد نابارور بررسی و نشان داده اند که مصرف ۵۱ روز این ویتامین ها در بیماران هیچگونه تاثیرمعنی داری برروی پارامترهای باروری اسپرم نداشته است (۱۳). Paola و همکاران با جمع بندی نتایج مطالعات انجام شده در ارتباط با نقش درمانی ویتامین های C و E در درمان ناباروری مردان ، بدلیل وجود نتایج متناقض پیشنهاد کرده اند که به مطالعات کلنیکی و آزمایشگاهی متعددی نیاز هست تا نقش این ویتامین ها در درمان ناباروری مورد ارزیابی قرارگیرد (١٤). Datta و همکاران نیز ضرورت وجود حداقلی ROS در کسب توانائی اسپرمها برای باروری اووسیتها را نشان داده اند (۱۵). گزارش نتایج حاصله از مطالعه Eleonora و همکارانش در زمینه تاثیراسترس اکسیداتیومایع فولیکولی برروی نتایج درمان ناباروری مجددا" نقش آنتی اکسیدانتها را دردرمان این بیماران مطرح نمود. آنها نشان دادند که سطح ظرفیت آنتی اکسیدانت تام (TAC[3]) مایع فولیکولی با میزان باروری آزمایشگاهی رابطه داشته و هم چنین وجود مقدارکمی از پراکسیداسیون لیپیدی برای باروری ضروری است (١٦). طبق گزارش skenazi و همکاران مردان نرموزواسپرم در آمریکا بدلیل دریافت ناکافی ویتامین C و E توسط رژیم غذایی نیازمند دریافت مکمل این ویتامین ها برای اصلاح کیفیت سمن و میزان ناباروری می باشند (۱۷). در مطالعات دیگری نشان داده شده که با کاهش سطح اسید آسکوربیک و همچنین سایر ترکیبات آنتی اکسیدانت مایع منی میزان صدمه به DNA در اسپرمها افزایش و درصد تحرک آنها کاهش می یابد (۱۹و۱۸). لذا دراین مطالعه نقش مکمل درمانی ویتامین های آنتی اکسیدانت با دوز بالا (باتوجه به ناکافی بودن سطح ویتامین های آنتی اکسیدانت در رژیم غذایی منطقه) بر روی فاکتورهای باروری درمردان مبتلا به آستنوزواسپرمی مراجعه کننده به بخش نازایی بیمارستان الزهرا با استفاده از تاثیر آنها در میزان زنده ماندن اسپرمها در محیط کشت مورد ارزیابی قرار گرفته است.

مواد و روش ها

این مطالعه از نوع کار آزمایی بالینی است که بصورت تک مرکزی و تک سوکور انجام شده است. قبل از ورود بیماران به مطالعه با تک تک آنها مصاحبه گردیده ورضایت آنها جهت ورود به این مطالعه جلب شده است. همه بیماران پذیرش شده بیش از یکسال سابقه نازائی داشته و دو بار اسپرموگرام و تست تغلیظ برای آنها انجام شده بود. معیار اصلی ورود به مطالعه آستنوزواسپرمی (تحرک a کمتر از ۱۰٪ وتحرک a+b کمتراز ٤۵٪) ، عدم وجود عفونت در غدد Accessory و عدم مصرف دخانیات بود. عفونت با کشت هوازی، بی هوازی و لکواسپرمی [براساس مشخصه های WHO (>۱×10^6 mL)] تشخیص داده میشد. بررسیهای هورمونی ، فیزیکی و سمنی در همه آنها صورت گرفته و تاریخچه درمانی بیماران و همسرانشان نیز ثبت گردیده است.

بعد از سه روز پرهیز از نزدیکی، نمونه منی دو بار و به فاصله دو هفته در آزمایشگاه اخذ و بیماران ۱۰۰۰ میلی گرم ویتامین C و ٤۰۰ میلی گرم ویتامین E بصورت روزانه بمدت دو ماه دریافت نمودند. از همه بیماران در انتهای دو ماه مجدداً بعد از سه روز پرهیز از نزدیکی و به فاصله ۱۵ روز دو نمونه منی اخذ و مورد بررسی قرارگرفت.

٦۰ مرد آستنوزواسپرم ایدئوپاتیک که به بخش نازائی بیمارستان الزهرا مراجعه کرده بودند برای مطالعه انتخاب شدند. اطلاعات مربوط به پارامترهای باروری و میزان هورمونهای جنسی افراد در جدول شماره یک در مقایسه با ٤۰ فرد نرموزواسپرم پذیرش شده در همین مرکز خلاصه شده است.

نمونه های منی بروش Masturbation تهیه گردید. آنالیز نمونه ها براساس راهنمای WHO انجام گرفت که شامل پارامترهای فیزیکی (حجم، PH و رنگ)، غلظت، تحرک و مورفولوژی بود

نمونه ها بلافاصله بعد از تهیه به انکوباتور $37^{o}C$ منتقل و انکوبه گردیدند، زمان آبکی شدن برای هر نمونه مشخص و بلافاصله بعد از آبکی شدن ضمن آنالیز سمن تمامی نمونه به لوله فالکون منتقل و به مدت ۱۰ دقیقه در دور g ۲۰۰۰ سانتریفوژ گردیدند. آنگاه مایع رویی (پلاسمای سمن) جدا و بلافاصله در $-40^{o}C$ فریز شدند. برروی ته مانده یک میلی لیتر محیط کشت

1. Reactive Oxygen Species, ROS
2. Poly unsaturated fatty acid, PUFA
3. Total Antioxidant Capacity, TAC

www.SID.ir

Archive of SID

f_{10} Hams حاوی ۱۰٪ آلبومین انسانی اضافه و کاملا" بهم زده شد، سپس سوسپانسیون حاصله بمدت ۵ دقیقه در دور g× ۳۰۰۰ سانتریفوژ و مایع رویی برداشته شد. برروی ته مانده مجدداً ۰/۵ میلی لیتر محیط کشت اضافه کرده و با انحنای ۶۰ درجه در انکوباتور Co2 حاوی ۵٪ بمدت ۴۵ دقیقه گذاشته شدند، سپس از قسمت فوقانی مایع ده میکرولیتربرداشته و غلظت، تحرک و مورفولوژی اسپرمها مورد مطالعه قرارگرفت.

بعد از آبکی شدن نمونه ها (تا ۴۵ دقیقه) درجه تحرک اسپرمها طبق روش پیشنهادی سازمان بهداشت جهانی [a (پیشرونده سریع)، b (پیشرونده آهسته)، C (غیرپیشرونده) و d (غیر متحرک)] در ۱۰ میدان میکروسکوپی بررسی گردید. همچنین مورفولوژی سلول ها نیز در ۱۰ میدان میکروسکوپی بررسی و براساس تقسیم بندی WHO سلول ها به چهار گروه تقسیم شدند: ۱. سلول های سالم ، ۲. سلول های با نقص در سر ، ۳. سلول های با نقص در گردن و ۴. سلول های با نقص در دم

میزان تحرک اسپرمها در In Vitro با نشان دادن در صد تحرک سلولها قبل و بعد از اضافه کردن به محیط کشت بررسی می گردد. جهت اینکاربلافاصله بعد از Swim up تعداد پانصد هزار سلول به روی ۲۰ میکرولیترمحیط کشت اضافه و در انکوباتور Co2 انکوبه گردید. در صد تحرک (نوع a+b) بعد از ۲۴ ، ۴۸ و ۷۲ ساعت مورد مطالعه قرارگرفت. جهت هر نمونه چهارتست بصورت همزمان انجام و میانگین نتایج برای هر نمونه محاسبه و مد نظر قرارگرفت. برای اندازه گیری LPO در مایع منی از روش Yagi استفاده شد (۲۰). در این روش جذب نوری MDA بعد از راکسیون با تیوباربتیوریک اسید توسط اسپکتروفلورومتر در طول موجهای ۵۱۵ و ۵۵۳ سنجش و غلظت آن در مایع منی برحسب nmol MDA/ml محاسبه می گردد.

جهت بررسی غلظت ویتامین ها بعد از ذوب مایع منی در دمای آزمایشگاه سطح ویتامین E بوسیله HPLC براساس روش Lee (۲۱) و سطح ویتامین C به روش ۲-۴ دی نیتروفنیل هیدازین (۲۲) اندازه گیری گردید. تمامی داده ها وارد برنامه SPSS شده و از روش های آماری توصیفی برای تعیین میانگین و انحراف معیار و برای مقایسه دومیانگین از آزمون T test– استفاده گردید.

یافته ها

فاکتورهای باروری مایع منی قبل و بعد از دو ماه دریافت ویتامین های آنتی اکسیدانت در جدول ۲ نشان داده شده است. مطالعات آماری نشان داد که دریافت ویتامین تغییرمعنی داری در فاکتورهای باروری اسپرم ایجاد نکرده بجز تحرک اسپرم که در بیش از ۴۰٪ بیماران افزایش داشت. برخلاف فاکتورهای باروری مایع منی ، دریافت ویتامین های آنتی اکسیدانت ضمن افزایش سطح مایع منی آنها (ویتامین E برابر ۶۰٪ و ویتامینC حدود۴۵٪) پراکسیداسیون لیپیدی (از ۳۵٪ ± ۱/۹ به ۰/۲۴ ± ۱/۱ نانومول در میلی لیتر) را به طور معنی دارکاهش داده است (جدول ۲) به طوری که سطح MDA با کاهش نزدیک به ۴۲٪ به محدوده افراد نرموزواسپرمی رسیده است. درمان آنتی اکسیدانتی تاثیرمثبتی برروی پارامترهای باروری اسپرم بعد از Swim up داشته (جدول۲) بطوریکه میزان تحرک اسپرم بعد از درمان افزایش معنی داری را نسبت به قبل از درمان (میانگین تحرک اسپرم درجه a از ۴۰ به ۵۰ درصد و درجه a+b از ۶۰٪ به ۸۰٪) نشان می دهد (P>۰/۰۵). میزان تاثیرکمپلمان ویتامینی برروی مدت زمان زنده ماندن اسپرم ها در شرایط آزمایشگاهی در جدول ۳ خلاصه شده است. نتایج حاصل نشان می دهد که قبل از درمان اسپرم های بیماران مورد مطالعه بسرعت تحرک خود را در محیط کشت از دست می دهند (۱۰٪ متحرک بعد از ۲۴ ساعت). این فاکتورکه رابطه نزدیکی با میزان باروری آزمایشگاهی دارد بعد از درمان افزایش معنی داری یافته و نزدیک به ۱۵٪ اسپرم ها بعد از ۴۸ ساعت بصورت زنده و فعال باقی می مانند.

جدول۱: میانگین و انحراف معیار فاکتورهای باروری اسپرم و سطح سرمی هورمونهای جنسی در مردان نرموزو اسپرمی و آستنوزواسپرمی

مشخصات	نرموزواسپرمی	آستنوزواسپرمی
سن	۴ ± ۳۷/۱	۳/۴ ± ۳۴/۲
حجم مایع منی	۴/۲ ± ۱/۳	۳/۸ ± ۱/۱
PH	۷/۴ ± ۱	۷/۳ ± ۲
غلظت اسپرم (ml / ۱۰^{۶} ×)	۲۰/۵ ± ۸۲	۱۵/۲ ± ۳۰/۵**
تحرک اسپرم (درجه a+b*)	۱۰/۶ ± ۶۰/۸	۱۱ /۲ ± ۳۱/۴**
تحرک اسپرم(درجه a)	۶ /۸ ± ۲۵/۴	۴/۱± ۵/۲**
مورفولوژی اسپرم	۲۰/۷ ± ۶۵/۵	۸/۶ ± ۱۹/۸**
تستوسترون سرم (nmol/L)	۳/۴ ± ۱۶/۸	۴/۸± ۱۷/۱
LH سرم (nmol/L)	۱/۸ ± ۴/۰	۱/۸ ± ۴/۲
استرادیول (Pmol/L)	۱۶/۷ ± ۶۰/۰	۱۹/۰ ± ۶۹/۸

* براساس درجه بندی WHO

** از نظر آماری اختلاف معنی دار می باشد(P<۰/۰۰۱).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲: میانگین و انحراف معیار پارامترهای باروری اسپرم و سطح ویتامین C، ویتامین E و MDA در مایع منی مردان با آستنوزواسپرمی قبل و بعد از درمان (Vit. E=400 mg/day و Vit. C = 1000mg/day) به مدت دو ماه

پارامتر	قبل از درمان	بعداز درمان
فاکتورهای باروری در آنالیز منی		
غلظت اسپرم (10^6 ml ×)	۳۰/۵ ± ۱۵/۲	۳۵ ± ۱۶/۸
تحرک اسپرم (درجه a+b)	۳۱/٤ ± ۱۱/۲	۳۹/۲ ± ۱۲/۸*
تحرک اسپرم (درجه a)	۵/۲ ± ٤/۱	٦/٤ ± ۳/۸
مورفولوژی اسپرم (٪ طبیعی)	۱۹ ± ۸/٦	۲٤ ± ۹/۲
فاکتورهای باروری بعداز Swim Up		
غلظت اسپرم (10^6 ml ×)	۵۰ ± ۲۰	۵۵ ± ۱۹
درصد تحرک اسپرم (درجه a+b)	٦۰ ± ۱۹	۸۸ ± ۲٤*
درصد تحرک اسپرم (درجه a)	٤۰ ± ۱٦	۵۵ ± ۲۱*
مورفولوژی اسپرم (٪ طبیعی)	۷۰ ± ۲۳	۷۵ ± ۱۸
MDA (nmol/ml)	۱/۹ ± ۰/۳۵	۱/۱ ± ۰/۲٤*
Vit. E (µm ol/l)	۰/۳۰ ± ۰/۱۵	۰/٤۸ ± ۰/۲۱*
Vit. C (µmol/l)	۲۵۰ ± ۱۲۰	۳۱۰ ± ۱۱۸*

* از نظر آماری اختلاف معنی دار می باشد($P<۰/۰۵$).

جدول ۳: میزان میانگین و انحراف معیار تحرک اسپرمهای مردان آستنوزواسپرمی در محیط کشت Hams F10 قبل و بعد از درمان (Vit. E = 400 mg/day ، Vit. C = 1000mg/day به مدت دو ماه)

	قبل از درمان	بعداز درمان
درصد تحرک اسپرم (در ساعت صفر)	٦۰ ± ۱۹	۸۸ ±۲٤*
درصد تحرک اسپرم (بعد از ۱۲ ساعت)	۲۵ ± ۷	۵۹ ± ۱۷*
درصد تحرک اسپرم (بعد از ۲٤ ساعت)	۱۰ ± ۳	٤۰ ± ۸*
درصد تحرک اسپرم (بعد از ٤۸ ساعت)	۰	۱۵ ±٤*
درصد تحرک اسپرم (بعد از ۷۲ ساعت)	۰	۰

* از نظر آماری اختلاف معنی دار می باشد($P<۰/۰۰$).

بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان میدهد که درمان توام با ویتامین E (٤۰۰ میلی گرم در روز) و ویتامین C (۱۰۰ میلی گرم در روز) به مدت دو ماه به جز تحرک اسپرم (که افزایش معنی داری را نشان می دهد) برروی پارامترهای باروری سمن در مردان آستنوزواسپرمی تاثیری ندارد . این یافته با گزارش Rolf و همکاران (۱۳)، Donnelly و همکاران (۲۳) همسوئی داشته ولی با گزارش Vezina و همکاران (۲٤)، Kodama و همکاران (۱۲) و Eskenazi همکاران (۱۷) تطابق ندارد.

آنتی اکسیدانتها به صورت گسترده در درمان بیماری های مختلف مورد استفاده قرارمی گیرند، ولی تاثیرآنها تا بحال مورد توافق عمومی قرارنگرفته است. نشان داده شده که ویتامین E با دوز کمتر از ۲۰۰ mg/day و ویتامین C با دوز کمتر از mg/day ٤۰۰ کاملاً بی ضرر می باشد (۱). با این حال آیا درمان با آنتی اکسیدانتها می تواند در ناباروری مردان موثر باشد؟ Lenzi و همکارانش نشان داده اند که غشاء اسپرم بعد از مواجهه با فرم فعال اکسیژن شکننده می شود و پیشنهاد نموده اند که درمان با آنتی اکسیدانتها احتمالا" از پراکسیداسیون لیپیدی غشاء اسپرم ها ممانعت می کند.

افزایش تحرک اسپرم و کاهش MDA مایع سمن در بیماران بعد از دریافت ویتامین های E و C در این مطالعه نشان دهنده کاهش سطح پراکسیداسیون لیپیدی و بهبودی تحرک اسپرم (درجه b) در بیماران می باشد. Tavilani و همکاران رابطه MDA اسپرم و پلاسمای مایع منی را با پارامترهای باروری منی بررسی و نشان داده اند که غلظت اسپرم های مردان آستنوزواسپرمی بطور معنی داری بیشتر از مردان نوموزواسپرمی می باشد و پیشنهاد کرده اند که پراکسیداسیون لیپیدی تاثیر منفی بر کیفیت منی داشته و MDA اندیکس مهم پراکسیداسیون لیپیدی است که می تواند به عنوان یک ابزار تشخیصی به کار رود (۲۵). کاهش MDA در

www.SID.ir

Archive of SID

بیماران مورد مطالعه بعد از دریافت ویتامین ها با یافته های Suleimans و همکاران (۲۶)، Vezina و همکاران (۲۴) نیز همسوئی دارد و می تواند عامل مهم بهبود کیفیت سمن بیماران نابارور باشد.

افزایش قابل توجه سطح ویتامین های E و C در مایع سمن بیماران آستنوزواسپرمی و کاهش سطح MDA بعد از دریافت ویتامین به مدت دو ماه نشانگر حضور فعال و تاثیر مثبت آنها برکاهش پراکسیداسیون لیپیدی در دوز های بکاربرده می باشد. Paola و همکاران پیشنهاد کرده اند که درمان با ویتامین های آنتی اکسیدانت یک شمشیر دو لبه بوده و تاثیر آنها وابسته به میزان مصرف و غلظت سمنی آنها می باشد (۱۴). قبلا" نیز Datta و همکاران و Aitken نقش ROS را در بعضی از پروسه های فیزیولوژیک بویژه کسب توانائی اسپرمها برای باروری اووسیتها نشان داده اند (۱۵ و ۲۷) به همین ترتیب با گزارش Eleonora و همکاران مبنی بر ضرورت حضور حداقل ROS برای رشد اووستیها و باروری آنها (۱۶) اهمیت دوز مصرفی ویتامین های آنتی اکسیدانت برای درمان بیماران نابارور مجددا" مطرح گردید. کاهش MDA بیماران مورد مطالعه مابه حد میزان طبیعی و برابر افراد نوموزواسپرمی نشان می دهد که دوز انتخابی برای این مطالعه می تواند در بیماران این منطقه موثر باشد.

فاکتورهای باروری اسپرم بعد از Swim up و همچنین میزان تحرک اسپرم در محیط کشت قبل و بعد از دریافت ویتامین در مطالعات کمتری مورد ارزیابی قرارگرفته است. از آنجائیکه در درمان نازائی به روشهای مختلف نمونه های اسپرم بعد از تست تغلیظ به کار برده می شود، لذا در این مطالعه نتایج تست تغلیظ به روش Swim up قبل و بعد از درمان مقایسه شده است. براساس نتایج حاصله تحرک اسپرم (درجه a و درجه a+b) بعد از Swim up در دو حالت قبل و بعد از درمان افزایش معنی داری داشته در حالی که تعداد و مورفولوژی آنها تغییر معنی داری نداشته است. به همین صورت میزان زنده ماندن اسپرم ها در محیط کشت بدنبال Swim up بعد از دریافت ویتامین های E و C در بیماران قابل توجه می باشد.

مطالعات متعددی رابطه در صد تحرک اسپرم و میزان باروری آزمایشگاهی و همچنین باروری بالینی را نشان داده است (۲۸ و ۲۵). نشان داده شده که با افزایش زمان زنده ماندن اسپرم ها در محیط کشت احتمال باروری آزمایشگاهی به طور معنی داری افزایش می یابد (۲۹) لذا در این مطالعه وجود اسپرم متحرک در محیط کشت بعد از ۴۸ ساعت به میزان ۱۵٪ نشان دهنده تاثیر مثبت مصرف ویتامین های آنتی اکسیدانت بر روی مدت زمان زنده ماندن اسپرم ها می باشد. مطالعات اخیر توسط Ollero و همکاران (۳۰) و Guzman و همکاران (۳۱) نشان داده که میزان ROS تولیدی در سمن رابطه منفی با درصد اسپرم های نرمال دارد. آنها همچنین نشان داده اند که میزان تولید ROS توسط اسپرم های نابالغ و فرم های غیرطبیعی بیشتر از اسپرم های بالغ با تحرک طبیعی می باشد. بدین ترتیب به نظر می رسد که دریافت ویتامین های آنتی اکسیدانت (با دوز مناسب) با کاهش سطح پراکسیداسیون لیپیدی (MDA) موجب افزایش تعداد اسپرم های سالم و فعال شده که منجر به افزایش سلولهای بالغ می گردد. این مکانیسم ضمن افزایش تحرک اسپرم ها مدت زمان زنده ماندن آنها را نیز افزایش می دهد.

نتیجه گیری

بطور خلاصه یافته های ما نشان می دهد که تجویز ویتامین E (۴۰۰ mg/day) و ویتامین C (۱۰۰۰ mg/day) به مدت دو ماه موجب کاهش سطح پراکسیداسیون لیپیدی بیماران آستنوزواسپرمی به حد طبیعی گردیده و از این طریق ضمن افزایش در صد تحرک اسپرم ها، مدت زمان زنده ماندن آنها را در محیط کشت بعد از تست تغلیظ افزایش و میزان باروری در شرایط داخل بدن و آزمایشگاه را تحت تاثیر قرارمیدهد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تبریز بدلیل تامین منابع مالی و از خانم فتاحی دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی بدلیل همکاری در انجام آزمایشات و پیگیری بیماران قدردانی می گردد.

References

1. Nieschlag E, Leifke E. Empirical therapies for idiopathic male infertility. In Nieschlag E and Behre HM. *Andrology*: *male reproductive health and dysfunction*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York. 1997; 313 – 322
2. Yeung CH, De Geyter C, De Geyter M, Nieschlag E. Production of reactive oxygen species by and hydrogen peroxide scavenging activity of spermatozoa in an IVF program. *Assist Reprod Genet* 1996; **13**: 495- 500.
3. Elana WS, Brenda E, Donald PE, Gladys B, Suzanne Y, Andrew JW. Effect of Antioxidant Intake on sperm chromatin stability in healthy nonsmoking men. *Journal of Andrology* 2005; **26** (4): 550 – 6.
4. Aitken RJ. Free radicals, Llipid peroxidation and sperm function. *Reprod fertile* 1995; **7**: 659 – 68.
5. Azzi A, stocker A: Vitamin E: Non – antioxidant roles. *Prog. Lipid Res* 2000; **39**: 231-55.

www.SID.ir

Archive of SID

6. Buttner GR. The pecking order of free radicals and antioxidants, lipid peroxidation, alpha – toco pherol and ascorbate. *Arch Biochem Biphys* 1993; **300**: 535 – 43.
7. Ollero M, Powers RD, Alvarez JG. Variation of docosahexaenoic acid content in subsets of human spermatozoa at different stages of maturation: implications for sperm lipoperoxidative damage. Mol. Reprod 2000; **55**: 326 – 34.
8. Dawson EB, Harris WA, Rankin WE, et al. Effect of ascorbic acid on male fertility. *Ann. KY. Acad Sci*. 1987; **498**: 312 – 323.
9. Lewis SE, Sterling ES, Young IS and Thompson W. Comparison of individual antioxidants of sperm and seminal plasma in fertile and infertile men. *Fertil Steril* 1997; **67**: 142 – 7.
10. Thiele JJ, Friesleben HJ, Fuchs J and Ochsendorf FR. Ascorbic acid and urate in human seminal plasma: determination and interrelationships with chemiluminescence in washed semen. *Hum Reprod* 1995; **10**: 110 – 115.
11. Kessopoulou E, Powers HJ, shorma KK, Pearson MJ, Russell J M,Cooke ID, Barratt CL . A double – blind randomized placebo cross-over controlled trial using the antioxidant vit.E to treat reactive oxygen species associated male infertility. *Fertil Steril* 1995; **64**: 825 – 31.
12. Kodama H, Yamaguchi R, Fukuda J, Kasai H, Tanka TL. Increased oxidative deoxyribonucleic acid damage in the spermatozoa of infertile male patients. *Fertil Steril* 1997; **68**: 519 – 24.
13. Rolf C, cooper TG, Yeung CH, Nieschlag E. Antioxidant treatment of patients with asthenozoospermia or moderate oligoasthenozoospermia with high – dose Vit.C and Vit.E: a randomized placebo – controlled, double – blind study. *Hum Reprod* 1999; **14**: 1028 – 33.
14. Bolle P, Evandri MG, Saso L. The controversial efficacy of Vitamin E for human male infertility. *Contraception* 2002; **65**: 313 – 15.
15. Datta K, Sinha S, Chattopadhyay P. Reactive oxygen species in health and disease. *Natl Med J India* 2000; **13**: 304 –10.
16. Eleonora B, Pasqualotto MD. Ashok Agarwal: Effect of oxidative stress in follicular Fluid on the outcome of assisted reproductive procedures. *Fertility and sterility* 2004; **81**: 973 – 7.
17. Eskenazi B, Kidd SA, Marks AR, Solter E,Block G, Wyrobek AJ. Antioxidant intake is a associated with semen quality in healthy men. *Human Reproduction* 2005; **20**(4): 1006-12.
18. Kao SH, Chao HT, Chen HW, Hwang TI, Liao TL, Wei YH. Increase of oxidative stress in human sperm with lower motility. *Fertil Steril* 2007**; 30** (Epub ahead of print).
19. Song GJ, Norkus EP, Lewis V.Relationship between seminal ascorbic acid and sperm DNA integrity in infertile men. *Int J Androl* 2006; **29(6)**: 569-75.
20. Yagi k. Assay for blood plasma or serum. *Methods Enzymol* 1984; **105**: 328- 31.
21. Lee Bl, chua SC, Ong Hy and Ong CN: HPLC Method for routine determination of vitamins A and B- carotene in plasma. *J of chromato*; 1992; **581**: 41- 47.
22. Natelson S. *Technique of clinical chemistry*.1st ed. Illinois , spring field 1971; 257-9.
23. Donnelly ET, Mc Clure N, Lewis SE. Antioxidant supplementation invitro doesn't improve human sperm motility. *Fertil. Steril* 1999; **72**: 484 – 95.
24. Vezina D, Mauffette F, Roberts KD,Bleau G. Selenium – Vitamin E supplementation in infertile men. Effects on semen parameters and micronutrient levels and distribution. *Biol Trace Elem Res* 1996; **53**: 65 – 83.
25. Tavilani H, Doosti M, Saeidi H. Malondialdehyde levels in sperm and seminal plasma of asthenozoospermic and its relationship with semen parameters. *Clin chim Acta* 2005; **356**(1-2): 1199-203.
26. Suleiman SA, Ali ME, Zaki ZM, el-Malik EM, Nasr MA. Lipid peroxidation and human sperm motility: protective role of Vitamin E. *J Androl* 1996; **17**: 530 – 7.
27. Aitken RJ. The Amorose Lecture, The human spermatozoon-a cell in crisis? *J Reprod Fertile* 1999; **115**: 1-7.
28. Geva E, Bartoov B, Zabludovsky N, Lessing JB, Lerner-GL, Amit A. The effect at antioxidant treatment on human spermatozoa and fertilization rate in vitro fertilizotion program. *Fertil. Steril* 1996; **66**: 430 – 4.
29. Tanghe S, Van Soom A, Sterckx V. Assessment of different sperm quality parameters to predict in vitro fertility of bulls. *Reprod Domest Anim* 2002; **37**(3): 127-32.
30. Ollero M, Gil – Guzman E, Lopez MC, Sharma RK, Agrawal A, Larson KL, et al. Characterization at subset of human spermatozoa at different stays of maturation: implications in the diagnosis and treatment of male infertility: *Human Reprod* 2001; **16**: 912-21.
31. Gil-Guzman E, Ollero M, Lopez MC, Sharma RK, Alvarez JG, Thomas AJ,et al. Differential production of reactive oxygen species by subsets of human spermatozoa at different stages of maturation. *Human Reprod* 2001; **16**: 1922- 80.

www.SID.ir