پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره هجدهم شماره ۶۳ فروردین و اردیبهشت سال ۱۳۸۷ (۲۷-۲۰)

بررسی اثر آنتی اکسیدان ها بر کیفیت اسپرم منجمد- ذوب شده با روش انجماد سریع

مریم نظم بجنوردی (M.Sc.) * **منصوره موحدین**(Ph.D.)**+

سعید امانپور(Ph.D.)*** **هاتف قاسمی حمیدابادی** (M.Sc.)****

چکیده

سابقه و هدف: حفاظت اسپرم در مقابل واکنش‌های اکسیداتیو طی انجماد توسط آنتی اکسیدان‌ها انجام می‌شود. هدف تحقیق حاضر بررسی تاثیر آنتی‌اکسیدان‌های ویتامین E و C بر پارامترهای اسپرم انسانی پس از انجماد سریع می‌باشد.

مواد و روش‌ها : از تعداد ۸۰ مرد مراجعه‌کننده به مرکز ناباروری ولی عصراستفاده شد این افراد ابتدا به دو گروه تقسیم شدند. گروه اول افرادی‌که الیگواسپرمیا (Oligospermia) وگروه دوم مردانی که از نظر معیارهای WHO طبیعی بودند. در نهایت هرگروه به۲ زیرگروه ۲۰ نفره دیگرکه شامل ۱- گروهی که آنتی‌اکسیدان آلفاتوکوفرول (ویتامین E) با غلظت‌های ۲،۱ و ۵ میلی‌مولار دریافت کردند ۲-گروهی‌که فقط آنتی اکسیدان اسید اسکوربیک (ویتامین**C**) با غلظت‌های ۲،۱ و۴ میلی‌مولار دریافت کردند. ویتامین E با غلظت‌های فوق در اتانول ۲ درصد حل شده و سپس به محیط کشت (Medium) اضافه شد و ویتامین C نیز با غلظت‌های ذکرشده به محیط کشت اضافه شد. مایع سمن (Semen) از نظر پارامترهای اسپرم (غلظت، مورفولوژی، تحرک و میزان زنده ماندن) ارزیابی شد. نمونه‌ها توسط نیتروژن مایع منجمد و سپس ذوب شدند بعد از سانتریفوژ به نمونه‌ها ویتامین E و ویتامین C اضافه شد و به مدت ۴۵ دقیقه درانکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گرفته و سپس مجدداً از نظر پارامترهای اسپرم آنالیز شدند. داده‌ها با استفاده از آزمون ANNOVA آنالیز شدند.

یافته‌ها : در افراد طبیعی افزودن ویتامین E با غلظت‌های ۱و۲ میلی مولار باعث افزایش درصد تحرک، حرکت پیش‌رونده و میزان درصد زنده ماندن اسپرم شد که در مورد درصد حرکت پیش‌رونده و میزان درصد زنده ماندن، این افزایش معنی‌دار بود. در افراد الیگواسپرمیا همین افزایش مشاهده شده اما در مجموع تفاوت معنی‌دار نبود. اسید اسکوربیک بر هیچ یک از پارامترهای اسپرم تاثیر معنی‌داری نداشت.

استنتاج : با توجه به افزایش معنی‌دار میزان زنده ماندن و تحرک خطی اسپرم پس از افزودن ویتامین E و اهمیت این مسأله در افزایش لقاح؛ لذا می‌توان اثرات منفی انجماد را با افزودن ویتامین E کاهش داد.

واژه های کلیدی : آلفاتوکوفرول، اسید اسکوربیک، تحرک، مورفولوژی

+ **مولف مسئول: دکتر منصوره موحدین- تهران،بزرگراه جلال آل‌احمد،دانشگاه تربیت‌مدرس،دانشکده پزشکی E-mail:mansoure@modares.ac.ir**

* کارشناس ارشد علوم تشریح، مرکز تحقیقات بهداشت باروری ولیعصر دانشگاه علوم پزشکی تهران

** دکترای تخصصی علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

***دکترای تخصصی جراحی دامپزشکی، مرکز تحقیقات بهداشت باروری ولیعصر دانشگاه علوم پزشکی تهران

**** کارشناس ارشد علوم تشریح، دانشگاه علوم پزشکی تهران

تاریخ دریافت : ۸۶/۱۱/۱ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۸۶/۱۲/۲۶ تاریخ تصویب: ۸۷/۳/۸

www.SID.ir

مقدمه

سلول‌هایی که تنفس هوازی دارند مواد وآنزیم‌های لازم جهت واکنش‌های اکسیداتیو را دارا هستند ولی با این وجود درصد آنزیم‌های آنتی اکسیدان دراسپرم نسبتاً پایین است و در نتیجه این سلول‌ها مستعد واکنش‌های اکسیداتیو می‌باشند(۱ تا ۳).

طی حفاظت انجمادی (Cryopreservation)، مایع سمن(Semen) در معرض شوک سرمایی و فشار اسمزی قرار می‌گیرد و درنتیجه میزان اکسیداسیون غشا به واسطه درصد بیشتر واکنش‌های اکسیداتیو افزایش می‌یابد که این امر نهایتاً زنده ماندن (viability) و عمر اسپرم را کاهش می‌دهد(۴ تا ۶). تحقیقات نشان می‌دهد که میزان لقاح پس از حفاظت انجمادی اسپرم به واسطه عملکرد نامناسب غشاآن به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش می‌یابد(۷تا۹). همچنین حفاظت انجمادی منجر به تغییرات DNA، سیتواسکلت اسپرم، مهار اتصال اسپرم به تخمک و تخریب آکسونم اسپرم شده که منجر به کاهش تحرک آن می‌شود(۱۰تا۱۳). نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که محافظت ازغشای پلاسمایی اسپرم در مقابل واکنش‌های اکسیداتیو طی حفاظت انجمادی توسط آنتی‌اکسیدان‌ها انجام می‌شود، در واقع آنتی اکسیدان‌ها با کاهش تشکیل رادیکال آزاد اکسیژن شرایط سلولی را طوری تغییر می‌دهند که تحرک اسپرم حفظ شود(۱۴تا۱۶). درزمینه تاثیر آنتی‌اکسیدان‌ها بر پارامترهای اسپرم پس از انجماد تا کنون اقدامات متعددی صورت گرفته است. به طور مثال Breininger در سال ۲۰۰۴ نشان دادند که آلفاتوکوفرول پارامترهای کیفی اسپرم گراز نظیر تحرک آن را به‌طور معنی‌داری افزایش می‌دهد و از واکنش‌های اکسیداتیو ناشی از حفاظت انجمادی اسپرم جلوگیری می‌کند(۱۷).

نتایج دیگر نیز نشان داد که آلفا توکوفرول باعث تحرک و افزایش viability اسپرم می‌شود، همچنین اثرات این ماده نسبت به غلظت آن متفاوت است به طوری‌که غلظت بالای آلفاتوکوفرول اثرات اکسیداتیو ولی غلظت‌های پایین آن اثرات آنتی‌اکسیداتیو دارد(۱۸).

Sreegith و همکارانش درصد اکسیداسیون غشا و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان را در اسپرم گاو و بوفالو طی انجماد مورد ارزیابی و مقایسه قرار دادند(۱۹). فعالیت آنزیم malondialdehyde که معیار اکسیداسیون غشا اسپرم است افزایش مشخصی یافته بود اما فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان‌ها طی انجماد در اسپرم کاهش یافت. فعالیت این آنزیم‌ها در اسپرم گاو بیشتر ازاسپرم بوفالو بود. همچنین میزان تحرک و زنده ماندن اسپرم بوفالو کمتر از اسپرم گاو بود بنابراین فعالیت کم آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در اسپرم بوفالو احتمالاً به واسطه اکسیداسیون زیاد غشا بوده که خود ناشی از واکنش اکسیداتیو زیادتری در مقایسه با اسپرم گاو طی انجماد است(۱۹).

Pena و همکارانش تاثیر آنتی اکسیدان‌ها را در انجماد اسپرم خوک مورد ارزیابی قرار دادند. یافته‌های آنها نشان داد که تحرک اسپرم با حضور ویتامین E افزایش قابل ملاحظه‌ای می‌یابد(۲۰).

Cerolini و همکارانش ثابت کردند که افزودن آلفاتوکوفرول و ویتامین E از اثرات واکنش‌های اکسیداتیو اسپرم خوک طی انجماد جلوگیری به عمل می‌آورد(۲۱). نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که اضافه کردن آنتی اکسیدان‌ها طی انجماد اسپرم وابسته به غلظت آن است(۲۲). Dalvet نیز اثرات ویتامین E و اسید اسکوربیک بر روی اسپرم گاو طی انجماد را مورد ارزیابی قرار داد و اعلام کرد که افزودن ویتامین E درصد لقاح را افزایش می‌دهد(۲۳).

علی‌رغم تمامی این‌تلاش‌ها به‌علت محدودیت‌هایی که در زمینه منابع انسانی از جمله تهیه و نگهداری نمونه

Archive of SID

www.SID.ir

و تکرار دوره‌های درمانی IVF مطرح است اطلاعات جامعی در خصوص تاثیر آنتی اکسیدان‌ها بر حفظ پارامترهای اسپرم انسانی پس از انجماد سریع وجود ندارد و نکات مبهم زیادی در این خصوص وجود دارد. لذا هدف تحقیق حاضر بررسی تاثیر آنتی اکسیدان‌های ویتامین E و ویتامین C بر پارامترهای اسپرم انسانی پس از انجماد سریع می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از تعداد ۸۰ مرد مراجعه کننده به مرکز ناباروری ولی عصر استفاده شد، این افراد ابتدا به دو گروه تقسیم شدند. گروه اول افرادی که الیگواسپرمیا (غلظت اسپرم $\leq$۲۰) بوده و پس از ۲ سال زندگی مشترک صاحب فرزند نشده بودند و گروه دوم مردانی که از نظر معیارهای WHO طبیعی بودند(۲۴). در نهایت هر گروه به۲ زیرگروه ۲۰ نفره، شامل :

۱-گروهی که آنتی اکسیدان‌آلفاتوکوفرول (ویتامین E) با غلظت‌های ۲،۱ و ۵ میلی مولار دریافت کردند.

۲-گروهی که فقط آنتی اکسیدان اسید اسکوربیک (ویتامین C) با غلظت‌های ۲،۱ و۴ میلی‌مولار دریافت کردند. ویتامین E با غلظت‌های فوق در اتانول ۲ درصد حل شده و سپس به محیط کشت (Medium) اضافه شد و ویتامین C نیز با غلظت‌های ذکر شده به محیط کشت اضافه شد.

سپس مایع منی مورد ارزیابی اولیه ازنظر پارامترهای اسپرم (غلظت، مورفولوژی، تحرک و میزان زنده ماندن) واقع شدند، قرار گرفتند. تحرک اسپرم به ۳ درجه شامل:

درجه ۱ : حرکت درجا، دورانی و با سرعت کم،

درجه ۲ : خطی باسرعت کم،

درجه ۳ : خطی، پیش‌رونده و سریع تقسیم شدند. همچنین جهت ارزیابی میزان زنده ماندن از رنگ‌آمیزی حیاتی ائوزین B استفاده شد.

به منظورانجماد مایع منی، نمونه‌ها به نسبت ۱:۱ با مدیوم ضدیخ (Global U.S.A) مخلوط شده وبه مدت یک ساعت در دمای ۴ درجه سانتیگراد قرار گرفتند، سپس یک ساعت در دمای۲۰- درجه سانتیگراد و پس از آن به نیتروژن مایع منتقل شدند و به مدت یک روز در آن نگهداری شدند.

نمونه‌های منجمدشده جهت ذوب از تانک نیتروژن مایع خارج شده و پس از ۲۰ ثانیه تعادل در هوای آزمایشگاه در آب ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گرفتند تا کاملا ذوب شوند. سپس به آن محیط کشت Ham,s F10 باآلبومین ۱۰ درصد اضافه شده و به مدت ۵ دقیقه با دور ۳۰۰ g سانتریفوژ شد تا ضدیخ آن خارج شود. پس ازافزودن آنتی‌اکسیدان مورد نظر (و یا بدون آن) نمونه‌ها به مدت ۴۵ دقیقه در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گرفته و سپس مجددا از نظر پارامترهای اسپرم آنالیز شدند. داده‌های تحقیق حاضر با استفاده از برنامه آماری SPSS وآزمون ANNOVA آنالیزشدند وسطح اختلاف معنی‌داری $p<۰/۰۵$ در نظرگرفته شد.

یافته ها

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در گروه اول افرادی که که الیگواسپرمیا (غلظت اسپرم $\leq$۲۰) بودند افزودن آنتی اکسیدان آلفاتوکوفرول (ویتامین E) با غلظت‌های ۱و۲ میلی مولار باعث افزایش پارامترهای اسپرم نظیر تحرک وحرکت پیش‌رونده و همچنین میزان زنده ماندن در مقایسه با گروه کنترل شد که تنها در میزان درصد زنده ماندن این افزایش از نظر آماری معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$) ولی افزودن آنتی اکسیدان آلفاتوکوفرول تأثیر معنی‌داری برمیزان درصد مورفولوژی نداشت (جدول شماره ۱).

همچنین بیشترین افزایش با غلظت ۲ میلی مولار ویتامین E در مقایسه با غلظت‌های ۱ و ۵ میلی مولار ویتامین E مشاهده شد و غلظت ۵ میلی مولار تاثیر

Archive of SID

www.SID.ir

معنی‌داری بر هیچ یک از پارامترهای اسپرم نداشت (جدول شماره ۱).

درافراد الیگواسپرمیا گروهی دیگرکه آنتی‌اکسیدان اسید اسکوربیک (ویتامین C) دریافت کردند هیچ یک از پارامترهای اسپرم نظیر مورفولوژی، تحرک و حرکت پیش‌رونده و همچنین میزان زنده ماندن در مقایسه با گروه کنترل تغییر معنی‌داری را از نظر آماری نشان نداد (جدول شماره ۲).

در (گروه دوم) افرادی که از نظر معیارهای WHO طبیعی بودند افزودن آنتی‌اکسیدان آلفاتوکوفرول (ویتامین E) با غلظت‌های ۱و۲ میلی مولار باعث افزایش تحرک و حرکت پیش‌رونده و همچنین زنده ماندن اسپرم در مقایسه باگروه‌کنترل شد که به استثنا تحرک این افزایش را ازنظرآماری معنی‌دار بود($P<۰/۰۵$) ولی تأثیر معنی‌داری برمورفولوژی نداشت (جدول شماره ۳).

گروهی دیگر از افراد طبیعی‌که آنتی اکسیدان اسید اسکوربیک (ویتامینC) با غلظت‌های ۱و۲ میلی مولار دریافت کردند هیچ یک از پارامترهای اسپرم نظیر مورفولوژی، تحرک و حرکت پیش‌رونده و همچنین زنده ماندن در مقایسه باگروه کنترل تغییر معنی‌داری را از نظر آماری نشان نداد (جدول شماره ۴).

جدول شماره ۱: بررسی تاثیر افزودن ویتامین E بر پارامترهای اسپرم انسانی در افراد الیگواسپرمیا

گروه	درصد تحرک (انحراف معیار ±میانگین)	درصد حرکت پیشرونده (انحراف معیار ±میانگین)	درصد مورفولوژی طبیعی (انحراف معیار ±میانگین)	درصد میزان زنده ماندن (انحراف معیار ±میانگین)
ویتامین E 1 میلی مولار	۳۱/۵ ± ۶/۷۰	۱۳/۷۵ ± ۶/۲۵	۱۵ ± ۴/۵۸	a ۳۷/۲۵ ± ۵/۴۹
ویتامین E 2 میلی مولار	a ۳۲/۵ ± ۶/۵۸	a ۱۴/۷۵ ± ۵/۹۵	۱۶/۲۵ ± ۵/۳۴	a ۴۰ ± ۴/۵۸
ویتامین E 5 میلی مولار	۲۹ ± ۶/۹۹	۱۲ ± ۵/۹۳	۱۴/۲۵ ± ۴/۹۴	۳۶/۵ ± ۵/۱۵
کنترل ویتامین E	۲۹/۲۵ ± ۶/۵۴	۱۱/۷۵ ± ۷/۱۲	۱۶ ± ۷/۱۸	۳۵/۵ ± ۵/۵۹

a: وجودافزایش معنی دار با گروه کنترل ویتامین E

جدول شماره۲: بررسی تاثیر افزودن ویتامین C بر پارامترهای اسپرم انسانی در افراد الیگواسپرمیا

گروه	درصدتحرک (انحراف معیار ±میانگین)	درصدحرکت پیشرونده (انحراف معیار ±میانگین)	درصد مورفولوژی طبیعی (انحراف معیار ±میانگین)	درصدمیزان زنده ماندن (انحراف معیار ±میانگین)
ویتامین C 1 میلی مولار	۲۶/۲۵ ± ۶/۲۵	۸/۵ ± ۵/۱۵	۱۸/۷۵ ± ۵/۰۹	۳۱/۵ ± ۶/۷۰
ویتامین C 2 میلی مولار	۲۴/۷۵ ± ۷/۵۱	۹/۲۵ ± ۶/۱۲	۱۸ ± ۵/۹۳	۲۹/۷۵ ± ۸/۹۵
ویتامین C 4 میلی مولار	۲۲/۷۵ ± ۶/۳۸	۵/۵ ± ۳/۲۰	۱۵/۳۰ ± ۶/۰۴	۳۱ ± ۸/۸۲
کنترل ویتامین C	۲۵/۵۰ ± ۷/۹۳	۷/۲۵ ± ۵/۲۵	۱۸ ± ۶/۵۶	۳۱ ± ۸/۸۲

جدول شماره ۳: بررسی تاثیر افزودن ویتامین E بر پارامترهای اسپرم انسانی در افراد طبیعی

گروه	درصدتحرک (انحراف معیار ±میانگین)	درصدحرکت پیشرونده (انحراف معیار ±میانگین)	درصد مورفولوژی طبیعی (انحراف معیار ±میانگین)	درصدمیزان زنده ماندن (انحراف معیار ±میانگین)
ویتامین E 1میلی مولار	۶۲/۲۵ ± ۱۳/۹۹	a ۳۰/۷۵ ± ۱۵/۹۹	۲۴/۷۵ ± ۷/۶۹	۷۰ ± ۱۳/۱۷
ویتامین E 2میلی مولار	۶۴ ± ۱۳/۳۳	a ۲۵/۷۵ ± ۱۳/۵	۷/۸۲ ± ۲۵/۷۵	a ۷۲/۲۵ ± ۱۱/۰۵
ویتامین E 5 میلی مولار	۵۹/۲۵ ± ۱۴/۳۵	۱۸/۷۵ ± ۱۰/۳۷	۲۳/۲۵ ± ۸/۶۲	۶۹ ± ۱۴/۰۱
کنترل ویتامین E	۶۰ ± ۱۴/۲۳	۱۷/۷۵ ± ۱۱/۸۶	۲۴/۵۰ ± ۹/۱۶	۶۸/۲۵ ± ۱۳/۸۸

a: وجود افزایش معنی دار با گروه کنترلE

Archive of SID

www.SID.ir

جدول شماره ٤: بررسی تاثیر افزودن ویتامین C بر پارامترهای اسپرم انسانی در افراد طبیعی

گروه	درصد تحرک (انحراف معیار ± میانگین)	درصد حرکت پیشرونده (انحراف معیار ± میانگین)	درصد مورفولوژی طبیعی (انحراف معیار ± میانگین)	درصد میزان زنده ماندن (انحراف معیار ± میانگین)
ویتامین C 1 میلی مولار	۵۳/۲۵ ± ۱۹/۲۸	۱۵/۲۵ ± ۹/۲۴	۲۲/۵۰ ± ۷/۱۶	۶۱/۷۵ ± ۱۶/۹۵
ویتامین C 2 میلی مولار	۵۲ ± ۱۷/۸۷	۱۳/۲۵ ± ۷/۸۲	۲۲ ± ۷/۱۶	۵۹/۷۵ ± ۱۵/۹۳
ویتامین C 4 میلی مولار	۵۰/۵۰ ± ۱۶/۱۳	۱۱/۲۵ ± ۷/۲۳	۲۰ ± ۶/۴۸	۵۷/۲۵ ± ۱۴/۹۰
کنترل ویتامین C	۵۲/۵۰ ± ۱۸/۵۳	۱۳/۷۵ ± ۹/۸۵	۲۲/۲۵ ± ۷/۶۹	۶۱/۵۰ ± ۱۶/۲۳

بحث

انجماد اسپرم با ایجاد شوک سرمایی باعث کاهش تحرک اسپرم، یکپارچگی غشا و آکروزوم و عملکرد میتوکندری می‌شود(۲). نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که آنتی‌اکسیدان‌های محلول در چربی مانند ویتامین E و آنتی‌اکسیدان‌های محلول در آب مانند ویتامین C در کاهش رادیکال‌های آزاد نقش موثری دارد(۱۷). از آن‌جایی‌که پارامترهای اسپرم برمیزان لقاح موثراست لذا به‌نظر می‌رسدکه آنتی اکسیدان‌ها با کاهش رادیکال‌های آزاد وکاهش اثرات منفی شوک اکسیداتیو و همچنین بهبود پارامترهای‌اسپرم از اهمیت‌کلینیکی درتکنیک‌های ART برخوردار است(۱۷). تا کنون تعدادی از آنتی اکسیدان‌ها برکاهش اثرات شوک سرمایی انجماد اسپرم در گونه‌های مختلف بررسی شده است ولی با این وجود گزارشات محدودی در زمینه تاثیر آنها بر پارامترهای اسپرم انسان وجود دارد(۱۸). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که افزودن ویتامین E برقدرت تحرک و به ویژه حرکت پیش‌رونده و میزان زنده ماندن اسپرم موثر است در واقع آنتی اکسیدان‌ها مانند آنزیم‌های Superoxide dismutase ، Glutathione peroxidase ، Glucose- 6- phosphate dehydrogenase با تجزیه آنیون‌های سوپراکساید، هیدروژن پراکساید ولیپید پراکساید، از ایجاد آسیب به غشا اسپرم و کاهش پارامترهای آن جلوگیری می‌کنند البته این امر موید گزارشات قبلی است و نشان می‌دهد که ویتامین E تحرک اسپرم کراز را به طور معنی‌داری افزایش می‌دهد و ازصدمات‌ناشی از انجماد اسپرم‌جلوگیری می‌کند(۱۷).

همچنین نتایج دیگر نیز نشان می‌دهد که آلفاتوکوفرول باعث تحرک و افزایش زنده ماندن اسپرم می‌شود علاوه براین اثرات این ماده نسبت به غلظت آن متفاوت است به طوری‌که غلظت بالای آلفاتوکوفرول اثرات اکسیداتیو ولی غلظت‌های پایین آن اثرات آنتی اکسیداتیو دارد(۱۸).

محققین دیگر نیز نشان دادند که آلفاتوکوفرول پارامترهای کیفی اسپرم نظیر تحرک آن را به طور معنی‌داری افزایش می‌دهد و از واکنش‌های اکسیداتیو ناشی از حفاظت انجمادی اسپرم جلوگیری می‌کند (۱۹،۱۷).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که اضافه کردن ویتامین C (اسیداسکوربیک) بر پارامترهای اسپرم تاثیر چندانی ندارد که این یافته با نتایج Jousef و همکارانش در سال ۲۰۰۳ که افزایش قدرت تحرک، بلوغ و زنده ماندن اسپرم را پس از افزودن اسیداسکوربیک خرگوش اعلام کرده بودند(۲۳) متضاد است و یا با گزارش Salem و همکارانش مبنی بر اثرات مثبت افزودن اسید اسکوربیک بر مایع منی (سمن) خرگوش مغایرت دارد(۲۵). در تحقیق حاضر افزودن ویتامین E در مقایسه با ویتامین C افزایش معنی‌داری را بر پارامترهای اسپرم نشان می‌دهد که این مسأله می‌تواند به این علت باشد

Archive of SID

www.SID.ir

که ویتامین E محلول در چربی می‌باشد و می‌تواند از غشا اسپرم عبور کند و در نتیجه تاثیر مستقیم و بیشتری را در حذف رادیکال‌های آزاد در مقایسه با ویتامین C که محلول در آب است و نفوذپذیری کم‌تری نسبت به ویتامین E در عبور از غشا دارد نشان می‌دهد(۲۵،۲۲).

در مجموع حفظ پارامترهای اسپرم پس از مراحل انجماد به طور قطعی برمیزان موفقیت لقاح موثراست از طرفی بقای اسپرم وپارامترهای آن پس از انجماد به فاکتورهای متعددی از جمله عناصر محیط کشت بستگی دارد. در راستای این امر استاندارد کردن محیط کشت آزمایشگاهی و ایجاد شرایط اپتیمم برای حفظ پارامترهای اسپرم مهمترین مساله است؛ لذا ضروری به نظر می‌رسد تا مواد مکمل را در جهت ایجاد شرایط مناسب برای حفظ پارامترهای اسپرم پس از انجماد یافت. در تحقیق حاضر با توجه به افزایش معنی‌دار درصد میزان زنده ماندن و تحرک خطی اسپرم پس از افزودن ویتامین E و اهمیت این مسأله در افزایش لقاح می‌توان اثرات منفی انجماد را بر پارامترهای اسپرم کاهش داد هر چندکه دراین زمینه به تحقیقات بیشتری نیاز است.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله بدینوسیله ازمعاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران از تصویب و حمایت مالی طرح تحقیقاتی فوق مراتب تشکر و قدردانی را اعلام می‌دارد.

Reference

1. Foot RH, Brockett CC, Kaproth MT. Motility and fertility of bull sperm in whole milk extender containing antioxidants. ***Anim Reprod Sci*** 2002; 71: 3-23.
2. Devi GS, Prasad MH, Saraswathi I. Free radicals antioxidants enzymes and lipid peroxidation in different types of leukemias. ***Clin Chim*** 2000; 293: 53-62.
3. Watson PF. The causes of reduced fertility with cryopreseved seman. ***Anim Reprod Sci*** 2000; 60: 81-92.
4. Parks JE, Gaham J.K. Effects of cryopreservation procedures on sperm membranes. ***Theriogenol***ogy 1992; 38: 209-222.
5. Chatterjee S, Gagnon C. Production of reactive oxyen species by spermatozoa undergoing cooling, freezing and thawing. ***Mol Reprod Dev*** 2001; 59: 451-458.
6. Yue HX, Li P, Jiang M, Lin L, Xu KH. Influence of cryopreservation with glycerol and freezing-thawing procdures on the motility of human sperm. ***Zhonghua Nan Ke Xue*** 2005; 11: 204-206.
7. Hallak J, Sharma RK, Wellstead C, Agarwal A. cryopreservation of human spermatozoa: comparision of TEST-yolk buffer and glycerol. ***Int J Fertil Women M*** 2000; 45: 38-42.
8. Lamirande E, Gagnon C. Reactive oxigen species and human spermatozoa: Effects on the motility of intact spermatozoa and sperm axonemes. ***J Androl*** 1992; 13: 368-378.

Archive of SID

www.SID.ir

9. Hsieh YY, Sun YL, Chang CC. Superoxide dismutase activities of spermatozoa and seminal plasma are not correlated with male infertility. ***J Clin Lab Anal*** 2002; 16: 127-131.
10. Aitken RJ, Clarkson JS. Significance of reactive oxigen species and antioxidants in Definning the efficacy of sperm preparation techniques. ***J Androl*** 1988; 9: 367-376.
11. Kim JG, Parthasarathy S. Oxidation and the spermatozoa. ***Semin Reprod Endocrinol*** 1998; 16: 235-239.
12. Psaqualott FF, Sharma PK, Nelson DR. Relationship between oxidative stress, seman characteristiices and clinical diagnosis in men undergoing infertility investigation. ***Fertil Steril*** 2000; 73: 459-464.
13. Aitken R.A free radical theory of maile infertility. ***Reprod Fertil Dev*** 1994; 6: 19-23.
14. Zini A, Garrels K, Phang D. Antioxidant activity in the semen of fertile and infertile men. ***Urol*** 2000; 55: 922-926.
15. Gonagle L, Goldstein M. Feldschuh J, Foote R. The influence of cryoprotective media and processing procedure motility and migration of freeze-thawed human sperm. ***Asian J Androl*** 2002; 4: 137-141.
16. Stanic P, Tandra M, Sonicki A, Sumunic V. Comparision of protective techniques for cryopreservation of human semen. ***J Obstet Gyn Reprod Biol*** 2000; 91: 65-70.
17. Breinger E, Beorlegui N, Flaherty C, Beconi M. Alpha-tocopherol improves biochemical and dynamic parameters in cryopreserved boar semen. ***Theriogenology*** 2005; 63: 2126-2135.
18. Brezezinska E, Slebodzinski A, Pietras B,Wieczork G. Antioxidant effect of vitamin E and glutatione on lipid peroxidation in boar seminal plasma. ***Biol Trace Elem Res*** 1995; 47: 69-74.
19. Sreegith JN, Brar AS, Ahuja CS, Sangha SP, Chaudhary. A comparative study on lipid peroxidation, activities of antioxidant enzymes and viability of cattle and buffalo bull spermatozoa during storage at refrigeration temperature. ***Anim Reprod Sci*** 2005; 287: 1-9.
20. Pena FJ, Johannisson A, Wallgren M, Rodriguez H. Concentration toenhance Antioxidant supplimentation in vitro improves boar sperm motility and mitochondrial membane potential after cryopreservation of different fractions of the ejaculate. ***Anim Reprod Sci*** 2003; 78: 85-98.
21. Cerolini S, Maldjiam A, Pizzi F, Gliozzi T. Changes in sperm quality and lipid composition during cryopreservation of boar seman. ***Reprod*** 2001; 121: 395-407.
22. Upeti GC, Jensen K. Motility of ram spermatozoa during storage in a chemically-defined diluent containing antioxidants. ***Anim Reprod Sci*** 1997; 48: 269-278.

Archive of SID

www.SID.ir

23. Jousef MI, Abdallahe GH, Kamel KI. Effect of ascorbic acid and vitamin E Supplementation on semen quality and biochemical parameters of male rabbits. ***Anim Reprod Sci*** 2003; 76: 99-111.
24. Wiley J. ***Embryos, genes and birth defects.*** Thorogood P. Bookcraft Ltd, USA 1996; 10-17.
25. Sillo-Seidl G. Treatment of oligospermia by freezing and concentrating semen. ***Int J Fertil*** 1972; 17(4): 183-184
26. Salem MH, Kamel KL. Protective role of ascorbic acid concentration toenhance sperm quality ofrabbits treated with sublethal doses of aflatoxin B1. ***Toxicology*** 2001; 162: 209-218.

Archive of SID

www.SID.ir