

اثر گزیلوکائین بر روی حرکت اسپرم طبیعی انسان

یوسف رضا یوسف نیایشنا^۱، سیدغلامعلی جورسرای^{۲*}، مهتاب زینال زاده^۳، علی اصغر بیکی^۴

۱-استادیار گروه ارولوژی دانشگاه علوم پزشکی بابل ۲- استادیار گروه علوم تشریح دانشگاه علوم پزشکی بابل ۳- استادیار گروه زنان و زایمان دانشگاه علوم پزشکی بابل ۴- متخصص علوم آزمایشگاهی

سابقه و هدف: ناباروری به عنوان یک مشکل اساسی، آسیبهای اجتماعی خاصی را در نهاد خانواده ایجاد می نماید. یکی از روشهای معمول برای حل آن در زوجهای ناباروری که بدون اسپرم هستند، خارج نمودن اسپرم به روش بیوپسی از اپیدیدیم و یا بیضه می باشد. اما به علت دردناک بودن آن، استفاده از بی حس کننده ها اجتناب ناپذیر است. از آنجائیکه اینگونه داروها ممکن است باعث کاهش پارامترهای اسپرم شوند، این مطالعه با هدف تعیین غلظت داروی مورد استفاده برای بیحسی موضعی، انجام شده است.

مواد و روشها: در یک مطالعه تجربی آزمایشگاهی، مایع منی ۳۰ نفر از افراد طبیعی مورد بررسی قرار گرفت. نمونه ها پس از swim up در محیط کشت Ham's f10 به مقدار ۰/۵ میلی لیتر در ۶ لوله جداگانه قرار گرفتند و به اندازه ۱۰٪ حجم نمونه، به هر یک از آنها، گزیلوکائین با غلظتهای ۲۰٪، ۴۰٪، ۶۰٪، ۸۰٪ و ۱۰۰٪ اضافه گردید و نمونه شماره یک به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. سپس در زمانهای صفر، ۲ و ۲۴ ساعت پس از اضافه شدن گزیلوکائین، تعداد، حرکت و Grading اسپرم ها ثبت گردید و داده ها مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

یافته ها: میانگین حرکت در گروه شاهد، برابر ۶۳/۱۰±۵/۳۱ بود و در گروه آزمایشی از ۴۵/۵۰±۱۱/۵۴ در غلظت ۲۰٪ گزیلوکائین به ۴/۹±۵/۷۲ در غلظت ۱۰۰٪، کاهش پیدا کرد (p=۰/۰۰۰). مدت زمان تماس با گزیلوکائین باعث کاهش بیشتری در حرکت Grading اسپرم گردید (p=۰/۰۰۱).

نتیجه گیری: با افزایش غلظت محلول گزیلوکائین و افزایش مدت زمان تماس، حرکت اسپرم و Grading آن کاهش می یابد. لذا تأثیر گزیلوکائین بر روی پارامترهای اسپرم وابسته به دوز دارو و مدت زمان تماس است.

واژه های کلیدی: گزیلوکائین، اسپرم، حرکت.

مجله دانشگاه علوم پزشکی بابل، دوره هشتم، شماره ۳، خرداد - تیر ۱۳۸۵، صفحه ۲۵-۱۹

مقدمه

این روشها را بکار برد. در تعدادی از زوجهای نابارور با علت

امروزه ناباروری بعنوان یکی از مشکلات عمده خانواده ها در جوامع مختلف مطرح است. از آنجایی که این مسئله با تداوم نسل ارتباط مستقیم دارد، لذا از دیرباز یکی از آرزوهای بشری، پرورش فرزندان همخون بوده است، به همین منظور روشهای درمانی مختلفی برای رفع این مشکل تدبیر شد که بسته به علت ناباروری و عامل آن که شامل زن یا مرد یا هر دو می گردد، می توان هر یک از

آزواسپرمی، در صورت طبیعی بودن فرایند اسپرم سازی و دارا بودن کیفیت مناسب، می توان از طریق بیوپسی باز (TESE . PESA) (Percutaneous Epididymal Sperm Aspiration) (Testicular Sperm Extraction) و یا اسپیره کردن (FNA)، (Fine Needle Aspiration) اسپرمها را از بیضه ها یا اپیدیدیم

مطالعه قرار گرفتند. نمونه‌ها پس از Swim up در محیط کشت Ham's F10 به مقدار ۰/۵ میلی لیتر در ۶ لوله جداگانه قرار گرفتند و به اندازه ۱۰٪ حجم نمونه، به هر یک از لوله‌ها، محلولهای تهیه شده گزیلوکائین با غلظتهای ۲۰٪، ۴۰٪، ۶۰٪، ۸۰٪ و ۱۰۰٪ اضافه گردید و نمونه شماره یک به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد. سپس در زمانهای صفر، ۲ و ۲۴ ساعت بعد از اضافه شدن گزیلوکائین، تعداد، حرکت و Grading اسپرم‌ها براساس معیار سازمان بهداشت جهانی ثبت گردید. در پایان با استفاده از نرم افزار آماری SPSS و تست‌های آماری Student t-test، General Linear Model و Repeated measures آنالیز آماری انجام پذیرفته و نمونه‌ها با حالت طبیعی و همچنین با یکدیگر مورد مقایسه قرار گرفتند.

یافته‌ها

در این بررسی میانگین کلی حرکت اسپرم در مردان مورد مطالعه، ابتدا معادل $63/10 \pm 5/31$ بود که بلافاصله پس از اضافه شدن غلظتهای مختلف محلول گزیلوکائین کاهش قابل توجهی در میزان حرکت اسپرم بوجود آمد به نحوی که میزان حرکت آن از $45/50 \pm 11/54$ در گروه ۲۰٪ گزیلوکائین تا حد $4/90 \pm 5/72$ در گروه ۱۰۰٪ کاهش پیدا کرد (جدول ۱). که از نظر آماری این اختلاف معنی دار است ($p=0/000$). حرکت اسپرم‌ها در گروه شاهد بعد از گذشت مدت زمان لازم کاهش یافته است (جدول ۱) که این اختلاف بین ساعت صفر و ساعت دو و نیز بین ساعت دو و ساعت بیست و چهار معنی دار است ($p=0/01$). همچنین با افزایش مدت زمان تماس با محلول گزیلوکائین، میزان حرکت اسپرم کاهش زیادی پیدا کرد و با افزایش غلظت محلول گزیلوکائین نیز حرکت اسپرم بتدریج کم گردید. عبارت دیگر با بالا رفتن غلظت محلول گزیلوکائین (جدول ۱) حرکت اسپرم‌ها نیز کاهش بیشتری نسبت به حالت طبیعی یافته است که در هر سه دوره زمانی، این اختلاف از نظر آماری معنی دار است ($p=0/001$). میانگین درصد اسپرم‌های Grade I با افزایش مدت زمان تماس با محلول گزیلوکائین، در غلظتهای پائین افزایش می‌یابد که این افزایش تنها در ساعت دو دیده می‌شود. در ساعت بیست و چهار و در غلظتهای بالاتر از ۲۰٪

خارج نموده تا بعد از شستشو به داخل تخمک تزریق گردند اما، با توجه به دردناک بودن هریک از این روشها، استفاده از مواد بیحس کننده نظیر لیدوکائین و یا گزیلوکائین در انجام این فرایند امری رایج است. ولی با توجه به این که اینگونه مواد بیحس کننده، خاصیت اکسیداتیو دارند، احتمال آسیب به سلولهای اسپرم که در حالت طبیعی هیچ گونه مکانیسم دفاعی خاصی در برابر مواد اکسیداتیو ندارند، وجود دارد (۱). مطالعات زیادی بر روی انسان و حیوانات آزمایشگاهی نشان داده است که مواردی از جمله کمبود اکسیژن (۲)، عصاره الکلی ریکیوس کومینیس (۳)، کمبود روی (۴)، استفاده از داروی کولشی سین یا تزریق آن بداخل اپی دیدیم (۵-۹)، داروهای نظیر فوکسیم (۱۰)، دیتلیزیم و متیلن بلو (۱۱)، ایفوسفامید (۱۲ و ۱۳)، کمبود سلنیوم در رژیم غذایی (۱۴)، سیپرمتین (۱۵)، قهوه (۱۶ و ۱۷)، نیکوتین، کوتینین و ماری جوانا (۱۸)، الکل (۱۹) و کافئین (۲۰ و ۲۱) و عصاره برگ مارمولس (۲۲) سبب کاهش میزان حرکت اسپرم می‌گردند. همچنین بعضی از مطالعات نشانگر آنست که لیدوکائین به همراه ۲ و ۴ دی کلرو بنزامین سبب کاهش وابسته به دوز و زمان، در حرکت اسپرمها می‌شود (۲۳). با توجه به اینکه میزان حرکت اسپرم، یکی از عوامل اصلی موثر در موفقیت باروری است لذا بررسی تاثیر غلظتهای مختلف مواد بیحس کننده می‌تواند در اتخاذ روشهای مناسبتر آزمایشگاهی و کاربرد بالینی آن، ما را یاری دهد.

مواد و روشها

در یک مطالعه تجربی آزمایشگاهی ۳۰ نمونه از مایع منی مردان طبیعی مراجعه کننده به مرکز باروری و ناباروری، به شکل تصادفی منظم (به صورت یک در میان از افراد مراجعه کننده) مورد بررسی قرار گرفتند. کلیه زوجهایی که بدلیل فاکتور مردانه، نابارور بودند یا مردان سیگاری (با استعمال بیش از ۵ نخ سیگار در روز) و همچنین نمونه‌های مایع منی که علی‌رغم داشتن تعداد اسپرم‌های درحد طبیعی ولی از نظر اندازه و حرکت اسپرم دچار مشکل بودند و یا اینکه اعتیاد داشتند، از مطالعه خارج شدند و نمونه‌هاییکه تعداد اسپرم آنها بیش از ۲۰ میلیون در میلی لیتر، حجم مایع منی بین ۳-۵ میلی لیتر و درصد حرکت اسپرم بیش از ۵۰٪ بودند، مورد

اسپرم های Grade II با افزایش زمان تماس، در تمامی غلظتهای محلول گزیلوکائین، کاهش پیدا کرد. همچنین با افزوده شدن غلظت محلول گزیلوکائین، این کاهش بشکل مشخص تری دیده می شود (جدول ۳). که این اختلاف از نظر آماری معنی دار است ($p=0/000$).

محلول گزیلوکائین، حرکت اسپرمها به صفر می رسد. همچنین در ساعت دو نسبت به ساعت صفر یعنی از زمان شروع مطالعه، کاهش مشخصی در تعداد اسپرم های Grade I دیده می شود. که البته این اختلاف از نظر آماری معنی دار نیست (جدول ۲). میانگین درصد

جدول ۱. میانگین درصد حرکت اسپرم در غلظتهای مختلف گزیلوکائین در ساعت های صفر، ۲ و ۲۴

میانگین درصد حرکت غلظت محلول گزیلوکائین	میانگین درصد حرکت اسپرم	میانگین درصد حرکت اسپرم در ساعت (۰)	میانگین درصد حرکت اسپرم در ساعت (۲)	میانگین درصد حرکت اسپرم در ساعت (۲۴)
صفر (شاهد)	۶۳/۱۰	۴۹/۸۳	۲۸/۴۷	
٪ ۲۰	۴۵/۵۰	۲۷/۴۸	۲/۰۳	
٪ ۴۰	۳۱/۵۳	۱۵/۱۰	۰	
٪ ۶۰	۱۹/۹۷	۶/۵۰	۰	
٪ ۸۰	۱۲/۶۰	۳/۱۳	۰	
٪ ۱۰۰	۴/۹۰	۰/۳۳	۰	

جدول ۲. میانگین میزان درصد حرکت اسپرمها با Grade I در غلظتهای مختلف گزیلوکائین در ساعت های صفر، ۲ و ۲۴

غلظت محلول گزیلوکائین	میانگین اسپرمهای Grade I در ساعت (۰)	میانگین اسپرمهای Grade I در ساعت ۲	میانگین اسپرمهای Grade I در ساعت ۲۴
صفر (شاهد)	۵۷/۳۰	۶۳/۱۰	۷۳/۵۷
٪ ۲۰	۶۱/۱۳	۸۴/۱۷	۳۶/۳۷
٪ ۴۰	۷۹/۴۳	۸۴/۷۰	۰
٪ ۶۰	۸۱/۲۰	۶۸/۷۰	۰
٪ ۸۰	۸۲/۰۷	۵۲/۹۳	۰
٪ ۱۰۰	۶۵/۷۳	۱۳/۲۷	۰

جدول ۳. میانگین میزان درصد حرکت اسپرمها با Grade II در غلظتهای مختلف گزیلوکائین در ساعت های صفر، ۲ و ۲۴

غلظت محلول گزیلوکائین	میانگین اسپرمهای Grade II در ساعت (۰)	میانگین اسپرمهای Grade II در ساعت ۲	میانگین اسپرمهای Grade II در ساعت ۲۴
صفر (شاهد)	۵۶/۲۰	۴۹/۳۳	۲۶/۳۳
٪ ۲۰	۳۶/۹۰	۱۵/۸۷	۰
٪ ۴۰	۲۰/۱۳	۵/۳۰	۰
٪ ۶۰	۱۵/۴۷	۱/۸۰	۰

۰	۰/۴۰	۷/۹۳	٪ ۸۰
۰	۰/۰۶	۴/۲۷	٪ ۱۰۰

بحث و نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشانگر آن بوده که با افزایش غلظت گزلیوکائین در ابتدای تماس با اسپرم، حرکت آن کاهش یافته است که با توجه به اثر اکسیدکنندگی محلول گزلیوکائین، می تواند احتمالا دارای اثر بالای این محلول در کاهش حرکت اسپرم باشد به نحوی که توانست درصد اسپرمهای زنده و فعال را در غلظت بالا به کمتر از یک دوازدهم حالت طبیعی کاهش دهد، که این مسئله تا اندازه ای می تواند ناشی از مصرف شدن مواد غذایی نظیر فروکتوز موجود در مایع منی و نیز اثر اکسیداتیو محلول گزلیوکائین باشد. البته باید در نظر داشت موادی نظیر اسید اسکوربیک که آنتی اکسیدان هستند تأثیر زیادی در افزایش حرکت و بقای اسپرم خواهند داشت (۲۴) یا اینکه مصرف مرتب روزانه از داروهای نظیر ویتامین E (۲۵) و یا اسید فرولیک (Ferulic Acid) (۲۶) که به عنوان مواد آنتی اکسیدان شناخته شده اند می توانند در افزایش میزان حرکت اسپرم و افزایش مدت بقای آن و به دنبال آن در افزایش قدرت باروری مردان نقش مؤثری ایفا نمایند.

به نظر می رسد با توجه به اینکه اسپرمها، مکانیسم دفاعی خاصی در برابر مواد اکسیداتیو ندارند، لذا استفاده از مواد اکسید کننده باعث مرگ زودرس آنها می گردد و گزلیوکائین نیز توانسته حرکت اسپرم را حتی در ساعات اولیه پس از تماس تقلیل دهد و این روند رو به کاهش، با گذشت زمان سرعت بیشتری یافته و نهایتا باعث بیحرکتی اسپرم و مرگ آنها گردیده است. در مقابل استفاده از مواد آنتی اکسیدان، می تواند بر میزان حرکت و مدت بقای اسپرم بیافزاید. مؤید این مطلب مطالعه ای است که در آن اثرات کمبود اکسیژن (۱) بر روی پارامترهای اسپرم، مورد بررسی قرار گرفت و به این نتیجه دست یافتند که اسپرم همانند تمامی سلولهای زنده بدن برای بقای خود نیازمند اکسیژن است و محروم ماندن از اکسیژن به هر علتی، از جمله به علت وجود مواد اکسیداتیو در مایع منی یا در محیط، می تواند میزان بقا و نسبت اسپرمهای متحرک را کاهش دهد. در این راستا به مواد بیحس کننده نیز میتوان اشاره داشت که

باعث کاهش در حرکت اسپرم می گردند. البته این کاهش با گذشت زمان و با افزایش غلظت دارو، بتدریج بیشتر می شود (۲۳). لذا مشاهده می گردد که گزلیوکائین نیز به عنوان یک ماده بیحس کننده باعث کاهش حرکت و Grading اسپرمها گردیده است. در مورد اسپرمهای Grade I نکته جالب توجه این است که پس از گذشت دو ساعت ودر غلظتهای پائین، تعداد اسپرمها افزایش نشان می دهد و در غلظتهای بالا (۶۰٪ و بیشتر) کاهش دیده می شود. اما در ساعت ۲۴ کاهش در تعداد و درصد این گونه اسپرمها در تمامی غلظتها به جز گروه شاهد، دیده می شود که می توان آنها ناشی از اثر وابسته به زمان محلول گزلیوکائین دانست که بعد از سپری شدن ۲۴ ساعت از آغاز تماس، بدلیل اثر اکسیدکنندگی محلول گزلیوکائین، در تمامی غلظتها، تعداد اسپرمهای متحرک Grade I رو به کاهش می گذارد. البته افزایش موقت میزان اسپرمهای Grade I در ساعت دو را می توان با مقایسه جداول ۲ و ۳، ناشی از کاهش همزمان در تعداد اسپرمهای Grade II دانست. یعنی تعدادی از اسپرمهای Grade II وارد Grade I می شوند. که البته در غلظتهای بالا (۶۰٪ و بیشتر) بدلیل قدرت اکسیدکنندگی زیاد گزلیوکائین، علی رغم کاهش اسپرمهای Grade II که به دنبال آن باعث افزوده شدن اسپرمهای Grade I می شود، ولی به دلیل کاهش شدیدی که در اسپرمهای Grade I ایجاد می شود، این روند تأثیری نداشته و از نظر آماری افزایشی دیده نمی شود.

همچنین حرکت اسپرمهای Grade II در تمامی گروهها حتی در گروه شاهد نیز مشاهده می گردد که این روند رو به کاهش، ناشی از گذشت زمان است، منتها داروی بیحسی، آن را شدت می بخشد. البته مواد و داروهایی وجود دارند که در میزان حرکت اسپرم و مدت بقای آن تأثیر قابل توجه ای دارند که از جمله می توان به اثر داروها و موادی مانند سولفات روی که موجب افزایش تعداد اسپرم می شود (۲۷)، کارنیتین که باعث افزایش کیفیت و تحرک اسپرم می گردد (۲۸)، عصاره گیاه Ginseng که سطح تستوسترون سرم، تعداد و حرکت اسپرم را افزایش می دهد (۲۹)،

شده و بعد از گذشت مدت زمان معین، حرکت اسپرم متوقف خواهد شد که نتایج مطالعه ما کاملا با آن همخوانی دارد (۱۸ و ۲۰). لذا موادی نظیر الکل، کافئین، سیگار و نیکوتین با اثر بر سلولهای زاینده، می توانند باعث اختلال در روند اسپرماتوژنز شوند و به دنبال آن بر کیفیت اسپرم اثر بگذرانند. در این مطالعه نیز دیده شده است که گزیلوکائین به صورت *In vitro* بر روی پارامترهای اسپرم تاثیر منفی داشته و افزایش غلظت و مدت زمان تماس اثرات زیان آور بیشتری بر جای گذاشته است و استفاده از غلظت های پایین تر این ماده بیحس کننده در انجام بیوپسی می تواند صدمات کمتری را بدنبال داشته باشد.

تقدیر و تشکر

از پرسنل محترم آزمایشگاه و مرکز ناباروری بیمارستان بابل کلینیک به ویژه از خانمها کسرابی، سپهری و سجادی و آقای محمدی تشکر و قدردانی می گردد.

کوآنزیم Q10 که تعداد و میزان حرکت اسپرم را بالا می برد (۳۰)، آلکیلوگلیسرول که معمولا" در اسپرم پستانداران یافت می شود (۳۱) و گلوکاتینون (۳۲ و ۳۳) که هر کدام باعث افزایش در تعداد و حرکت اسپرم می شوند، اشاره داشت. البته اینگونه مواد به دلیل تغییری که در روند عمل هیالورونیداز ایجاد می نمایند، می توانند مواد اکسیداتیو را مهار کرده و یا این اثر را تخفیف دهند. در مقابل، بعضی از مواد، مانند اسید آمینه های سیستئین و متیونین باعث کاهش در حرکت و تعداد اسپرم می شوند (۳۴).

فوکسیم نیز در دوزهای بالا باعث کاهش قابل ملاحظه ای در تولید اسپرم در Rat می گردد (۱۰) و ارتباط وابسته به دوز و زمان بودن آن همانند گزیلوکائین است چون در تماس این دارو با اسپرم نیز مشاهده گردید که هرچه از مدت زمان تماس، بیشتر بگذرد و یا غلظت گزیلوکائین افزایش یابد، اثر منفی آن بیشتر بروز پیدا کرده و اسپرم زودتر از حالت طبیعی به طرف بیحرکتی و مرگ پیش می رود. نیکوتین و کافئین نیز باعث کاهش تعداد و حرکت اسپرم

References

1. Ball BA, Medina V, Gravance CG, Baumbe J. Effect of antioxidants on preservation of motility, viability and acrosomal integrity of equine spermatozoa during storage at 5 degrees C. *Theriogenology* 2001; 56(4): 577-89.
2. Kaur P, Bansal MP. Effect of experimental oxidative stress on steroidogenesis and DNA damage in mouse testis. *J Biomed Sci* 2004; 11(3): 391-7.
3. Sandhyakumary K, Bobby RG, Indira M. Antifertility effect of ricinus communis (Linn) on rats. *Phytother Res* 2003; 17(5): 508-11.
4. Wei Q, Fan R, Yang X, Chen T. Effect of zinc on reproductive toxicity in rats. *Wei Sheng Yan Jiu* 2003; 32(6): 618-9.
5. Ben Chtrit A, Ben Chtrit E, Nitzan R, Ron M. Colchicine inhibits spermatozoal motility *in vitro*. *Int J Fertil Menopausal Stud* 1993; 38(5): 301-4.
6. Kastrop P, Kimmel I, Bancsi L, Weima S, Giltay J. The effect of colchicines treatment on spermatozoa: a cytogenetic approach. *J Assist Reprod Genet* 1999; 16(9): 504-7.
7. Haimov Kochman R, Ben Chetrit E. The effect of colchicines treatment on sperm production and function: a review, *Hum Reprod* 1998; 13(2): 306-2.

8. Sarica K, Suzer O, Gurler A, Baltaci S, Ozdiler E, Dincel C. Urological evaluation of Behcet and the effect of colchicines on fertility. *Eur Urol* 1995; 27(1): 39-42.
9. Schmid TE, Xu W, Adler ID. Detection of aneuploidy by multicolor FISH in mouse sperm after invivo treatment with acrylamide, colchicines, diazepam or thiabendazole. *Mutagenesis* 1999; 14(2): 173-9.
10. Zhan N, Wang S, Wang X. Effect of phoxim on sperm production and motility of rats. *Wei Shang Yan Jiu* 2000; 29(1): 4-6.
11. Wood BL, Doncel GF, Reddy PR, Sokal DC. Effect of diltiazem and methylen blue on human sperm motility, viability and cervical mucus penetration. *Contraception* 2003; 67(3): 241-45.
12. Ypsilantis P, Papaioannou N, Psalla D, Politou M, Simopoulos C. Effects of single dose administration of ifosfamide on tests and semen characteristics in the rabbit. *Report Toxicol* 2003; 17(2): 237-45.
13. Ypsilantis P, Papaioannou N, Psalla D, Politou M, Pitiakoudis M, Simopoulos C. Effect of subchronic ifosfamide-mesna treatment on testes and semen characteristics in the rabbit. *Reprod Toxicol* 2003; 17(6): 699-708.
14. Xu DX, Shen HM, Zhu QX, Chua L, Wang QN, Chia SE, Ong CN. The associations among semen quality, oxidative DNA damage in human spermatozoa and concentrations of cadmium, lead and selenium in seminal plasma. *Mutat Res* 2003; 534(1-2): 155-63.
15. Elbetieha A, Da'as SI, Khamas W, Darmani H. Evaluation of the toxic potentials of cypermethrin pesticide on some reproductive and fertility parameters in the male rats. *Arch Environ Contam Toxicol* 2001; (4): 522-8.
16. Adelusi B, Al Twaijiri MH, Al Meshari A, Kangave D, Al Nuaim LA, Younnus B. Correlation of smoking and coffee drinking with sperm progressive motility in infertile males. *Afr J Med Sci* 1988; 27(1-2): 47-50.
17. Mita P, Piatti E, Romano A, Magro B. Epidemiology of male infertility. *Arch Ital Urol Androl* 1998; 70(2): 85-91.
18. Wang WY, Thomas CM, Merkus HM, Zielhuis GA, Doesburg WH, Steegers Theunissen RP. Cigarette smoking and the risk of male factor subfertility: minor association between cotinine in seminal plasma and semen morphology. *Fertil Steril* 2001; 75(5):1039-40.
19. Marinelli D, Gaspari L, Pedotti P, Taioli E. Mini review of studies on the effect of smoking and drinking habits on semen parameters. *Int J Environ Health* 2004; 207(3): 158-92.
20. Weathersbee PS, Lodge JR. Caffeine: its direct and indirect influence on reproduction. *J Reprod Med* 1977; 19(2): 55-63.
21. Klonoff Cohen H, Bleha J, Lam Kruglick P. A prospective study of the effects of female and male caffeine consumption on the reproductive endpoints of IVF and gamete intra-fallopian transfer. *Hum Reprod* 2002;17(7): 1746-54.
22. Aritajat S, Kawewat K, Manosroi J, Manosroi A. Dominant lethal test in rats treated with some plant extracts. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2000; 1: 171-3.

23. Bennett SJ, Bolton V, Parsons J. The effects of lignocaine on human sperm motility. *J Assist Reprod Genet* 1992; 9(3): 271-3.
24. Dawson EB, Harris WA, Teter MC, Powell LC. Effect of ascorbic acid supplementation on the sperm quality of smokers. *Fertil Steril* 1992; 58(5): 1034-9.
25. Kessopoulou E, Powers HJ, Sharma KK, Pearson MJ, Russell JM, Cook ID, Barratt CL. A double-blind randomized placebo cross-over controlled trial using the antioxidant vitamin E to treat reactive oxygen species associated male infertility. *Fertil Steril* 1995; 64(4): 825-31.
26. Zheng RL, Zhang H. Effects of ferulic acid on fertile and asthenozoospermic infertile human sperm motility, viability, lipid peroxidation, and cyclic nucleotides. *Free Radic Biol Med* 1997; 22(4):581-6.
27. Takihara H, Cosentino MJ, Cockett AT. Zinc sulfate therapy for infertile male with or without varicocele. *Urology* 1987; 29(6): 638-41.
28. Costa M, Canale D, Filicori M, D'Iddio S, Lenzi A. L-carnitine in idiopathic asthenospermia: a multicenter study. Italian study group on carnitine and male infertility. *Andrologia* 1994; 26(3): 155-9.
29. Salvati G, Genovesi G, Marcellini L, Paolini P, De Nuccio I, Pepe M, Re M. Effects of Panax Ginseng C.A. Meyer saponins on male fertility. *Panminerva Med* 1996; 38(4): 249-54.
30. Lewin A, Lavon H. The effect of coenzyme Q10 on sperm motility and function. *Mol Aspects Med* 1997; 18: 213-9.
31. Cheminade C, Gautier V, Hichami A, Allaupe P, Le Lannou D, Legrand AB. 1-O-alkylglycerols improve boar sperm motility and fertility. *Biol Reprod* 2002; 66(2): 421-8.
32. Nagdas SK, Winfrey VP, Olson GE. Tyrosine phosphorylation generates multiple isoforms of the mitochondrial capsule protein, phospholipids hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx), during hamster sperm. *Biol Reprod* 2005; 72(1): 164-71.
33. Meseguer M, Garrido N, Simon C, Pellicer A, Remohi J. Concentration of glutathione and expression of glutathione peroxidases 1 and 4 in fresh sperm provide a forecast of outcome of cryopreservation of human spermatozoa. *J Androl* 2004; 25(5): 773-80.
34. Sawamoto O, Yamate J, Kuwamura M, Kotani T, Kurisu K. Development of sperm granulomas in the epididymides of L-cysteine-treated in rats. *Toxicol Pathol* 2003; 31(3): 281-9.
35. Dare WN, Noronha CC, Kusemiju OT, Okanlawon OA. The effect of ethanol on spermatogenesis and fertility in male Sprague-Dawley rats pretreated with acetylsalicylic acid. *Niger Postgrad Med J* 2002; 9(4): 194-98.

* آدرس نویسنده مسئول: بابل، دانشگاه علوم پزشکی، گروه آناتومی، تلفن: ۰۱۱۱-۲۲۲۹۵۹۱-۵.

alijorsara@yahoo.com

Archive of SID