

## تأثیر دریافت مکمل های آنتی اکسیدانت بر روی کیفیت مایع منی در مردان با آستنوزواسپرمی

دکتر محمد نوری: دانشیار بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز: نویسنده رابط

E-mail: nourimd@yahoo.com

دکتر لعیا فرزدی: استادیار زنان و مامائی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

دکتر عالیه 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: ۱۱/۲۳، ۸۵/۸، پذیرش: ۵/۸/۸۶

### چکیده

**زمینه و اهداف:** نشان داده شده که در آستنوزواسپرمی سطح بالای پراکسیداسیون لیپیدی موجب آسیب غشاء اسperm ها شده و میزان باروری را کاهش می دهد. اخیراً ضرورت وجود حداقلی پراکسیداسیون لیپیدی (Lipid Per Oxidation, LPO) برای باروری اووسیتها و اسپرمها نیز گزارش شده است. در این مطالعه تاثیر ویتامین های E و C با دوز بالا بر روی سطح پراکسیداسیون لیپیدی در مایع منی و میزان زنده ماندن اسperm ها در شرایط آزمایشگاهی قبل و بعد از درمان در مردان آستنوزواسپرمی مورد ارزیابی قرار گرفته است.

**روش بررسی:** از میان زوجین مراجعه کننده به بخش نازایی ۴۰ مرد بارور با 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 بعاد درمان (روزانه ۴۰۰ میلی گرم ویتامین E و ۱۰۰۰ میلی گرم ویتامین C به مدت دو ماه) دو بار نمونه منی از افراد مورد مطالعه اخذ گردید. سطح پراکسیداسیون لیپیدی (Malone Di-Aldehyde, MDA)، ویتامین C، ویتامین E، تحرک و مورفولوژی اسperm (براساس متد پیشنهادی WHO) و تست تعليظ با روش شناور سازی (Swim up) انجام گرفت.

**یافته ها:** در صد اسپرمها 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 اسperm، 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 ( $P<0.001$ ).

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

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

### مقدمه

آنالوگهای هورمونی نیز پیشرفت موثری صورت نپذیرفته است (۱). اخیراً در بیماران آستنوزواسپرمی افزایش تولید فرمهای اکسیژن

تابحال درمان مشخصی برای ناباروری ایدئوپاتیک مردان ارائه نشده، به همین ترتیب در درمان این بیماران با هورمونها و

میزان ناباروری می باشدند (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 اسپرها افزایش و درصد تحرک آنها کاهش می یابد (۱۸ و ۱۹). لذا در این 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 در مردان مبتلا به آستنوزواسپرمی مراجعه کننده به بخش نازایی بیمارستان الزهرا با استفاده از تاثیر آنها در میزان زنده ماندن اسپرها 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 و رضایت آنها جهت ورود به این مطالعه جلب شده است. همه بیماران پذیرش شده بیش از یکسال سابقه نازائی داشته و دو بار اسپرمogram و تست تغليظ برای آنها انجام شده بود. معیار اصلی ورود به مطالعه آستنوزواسپرمی (تحرک  $a$  کمتر از  $10\%$  و تحرک  $a+b$  کمتر از  $45\%$ )، عدم وجود عفونت در غدد Accessory و عدم مصرف دخانیات بود. عفونت با کشت هوایی، بی هوایی و لکواسپرمی [براساس مشخصه های WHO ( $10 \times 10 \text{ mL}$ )] تشخیص داده می شد. 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  $1000$  میلی گرم ویتامین C و  $400$  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  $15$  روز دو نمونه منی اخذ و مورد بررسی قرار گرفت.

۶۰ 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  $40$  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)، غلطت، تحرک و مورفولوژی بود. نمونه ها بالا فاصله بعد از تهیه به انکوباتور  $37^\circ\text{C}$  مستقل و انکوبه گردیدند، زمان آبکی شدن برای هر نمونه مشخص و بالا فاصله بعد از آبکی شدن ضمن آنالیز سمن تمامی نمونه به لوله فالکون مستقل و به مدت  $10$  دقیقه در دور  $5^\circ\text{C}$  سانتریفوژ گردیدند. آنگاه مایع رویی (پلاسمای سمن) جدا و بالا فاصله در  $40^\circ\text{C}$  فریز شدند. برروی ته مانده یک میلی لیتر محیط کشت

فعال در مایع سمن، صدمه آنها بر غشاء سلولی و هم چنین قطعه قطعه شدن DNA اسپرها نشان داده شده است (۲ و ۳). اینکه صدمه پراکسیداسیون به اسپرها در مایع سمن (در طول آبکی شدن و یا در زمان ذخیره شدن در اپیدیدیم) و یا در بیضه ها اتفاق می افتد تا بحال مشخص نشده است (۴).

نقش ویتامین E به عنوان ماده غذایی اصلی برای تولید مثل در سال ۱۹۲۲ گزارش شده است (۵). در سال ۱۹۴۰ نشان داده شد که این ترکیب یک آنتی اکسیدانت فعل بوده و اسیدهای چرب غیراشبع (PUFA) را در مقابل پراکسیداسیون محافظت می کند (۶). این خصوصیات برای تولید مثل در مردان بسیار موثر است چرا که غشاء سلولهای ژرمینال (Germ cells) و اسپرها به اکسیداسیون بسیار حساس می باشد (۷). از طرف دیگر بالا بودن اسید اسکوربیک مایع سمن تا ده برابر سرم (۸) و توانایی آنتی اکسیدانتی این ویتامین تاکیدی بر نقش آن در تولید مثل بویژه در جنس مذکور 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).

و همکاران اولین بار در یک مطالعه کارآزمائی بالینی از ویتامین E خوارکی برای درمان مردان نابارور استفاده و نشان دادند که قدرت اتصالی اسپرها به zona بعد از دریافت ویتامین بهبود می یابد (۱۱). در مطالعه دیگری که برروی  $19$  مرد نابارور صورت گرفته نشان داده شده که در یافت  $200$  میلی گرم ویتامین E و  $200$  میلی گرم ویتامین C در روز به مدت دو ماه برروی تعداد اسپرها تاثیر مثبت ولی بر سایر پارامترهای باروری تاثیر معنی داری ندارد (۱۲). و همکاران نقش درمانی ویتامین C و E را با دوز های بالا برروی  $21$  مرد نابارور بررسی و نشان داده اند که مصرف  $51$  روز این ویتامین ها در بیماران هیچگونه تاثیر معنی 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، بدليل وجود نتایج متناقض پیشنهاد کرده اند که به مطالعات کلینیکی و آزمایشگاهی متعددی نیاز هست تا نقش این ویتامین ها در درمان ناباروری مورد ارزیابی قرار گیرد (۱۴). Datta و همکاران نیز ضرورت وجود حداقلی ROS در کسب توانایی اسپرها برای باروری اووسیتها را نشان داده اند (۱۵). گزارش نتایج حاصله از مطالعه Eleonora و همکارانش در زمینه تاثیر استرس اکسیداتیو مایع فولیکولی برروی نتایج درمان ناباروری مجدد نقش آنتی اکسیدانتها را در درمان این بیماران مطرح نمود. آنها نشان دادند که سطح ظرفیت آنتی اکسیدانت تام (TAC) مایع فولیکولی با میزان باروری آزمایشگاهی رابطه داشته و هم چنین وجود مقدار کمی از پراکسیداسیون لبیدی برای باروری ضروری است (۱۶). طبق گزارش skenazi و همکاران مردان نرموزواسپرم در آمریکا بدليل دریافت ناکافی ویتامین C و E توسط رژیم غذایی نیازمند دریافت مکمل این ویتامین ها برای اصلاح کیفیت سمن و

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

(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 تغییر معنی 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 ویتامین C حدود ۴۵٪) پراکسیداسیون لیپیدی (از  $1/9 \pm ۰/۳۵$  به  $۰/۲۴ \pm ۱/۱$  نانومول در میلی لیتر) را به طور معنی دار کاهش داده است (جدول ۲) به طوری که سطح MDA با کاهش نزدیک به ۴۲٪ به محدوده افراد نرموز اسپرمی رسیده است. درمان آنتی اکسیدانتی تاثیر مثبتی بر روزی پارامترهای باروری اسپرم بعد از *Swim up* داشته (جدول ۲) بطوریکه میزان تحرک اسپرم بعد از درمان افزایش معنی داری را نسبت به قبل از درمان (میانگین تحرک اسپرم درجه a  $4/۰$  به  $۵/۰$  درصد و درجه a+b از  $۶/۰$  به  $۸/۰$ ٪) نشان می دهد ( $P < ۰/۰۵$ ). میزان تاثیر کمپلمن ویتامینی بر روزی 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٪ تحرک بعد از ۲۴ ساعت). این فاکتور که 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.

$f_{10}$  Hams حاوی ۱۰٪ آلبومین انسانی اضافه و کاملاً بهم زده شد، سپس سوپانسیون حاصله بمدت ۵ دقیقه در دور  $\times ۵$  میلی لیتر محیط کشت اضافه کرده و با انحنای ۶۰ درجه در انکوباتور  $CO_2$  حاوی ۵٪ بمدت ۴۵ دقیقه گذاشته شدند، سپس از قسمت فوقانی مایع ده میکرو لیتر برداشته و غلظت، تحرک و مورفولوژی اسپرها مورد مطالعه قرار گرفت.

بعد از آبکی شدن نمونه ها (تا ۴۵ دقیقه) درجه تحرک اسپرها 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 بندي 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 اسپرها در *In Vitro* با نشان دادن در صد تحرک سلولها قبل و بعد از اضافه کردن به محیط کشت بررسی می گردد. جهت اینکارابلا فاصله بعد از *up* *Swim* تعداد پانصد هزار سلول به روی ۲۰ میکرولیتر محیط کشت اضافه و در انکوباتور  $CO_2$  انکوبه گردید. در صد تحرک (نوع a+b) بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت مورد مطالعه قرار گرفت. جهت هر نمونه چهار تست بصورت همزمان انجام و میانگین نتایج برای هر نمونه محاسبه و مدنظر قرار گرفت. برای اندازه گیری LPO در مایع منی از روش Yagi استفاده شد (۲۰). در این روش جذب نوری MDA بعد از راکسیون با تیوباریتیوریک اسید توسط اسپکتروفلورومتر در طول موجه های ۵۱۵ و ۵۵۳ nmol محسوب می گردد.

جهت بررسی غلظت ویتامین ها بعد از ذوب مایع منی در دمای آزمایشگاه سطح ویتامین E براساس HPLC بوسیله *Lee* (۲۱) و سطح ویتامین C به روش ۴-۲ دی نیتروفنیل هیازین

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار فاکتورهای باروری اسپرم و سطح سرمی هورمونهای جنسی در مردان نرموز اسپرمی و آستنوز اسپرمی

| مشخصات         | سن                   | حجم مایع منی    | PH                                  |
|----------------|----------------------|-----------------|-------------------------------------|
| نموزو اسپرمی   | $۴ \pm ۳/۷$          | $۴ \pm ۳/۷$     | غلظت اسپرم ( $\times ۱^7 / ml$ )    |
| آستنوزو اسپرمی | $۴/۸ \pm ۱/۱$        | $۴/۸ \pm ۱/۳$   | تحرک اسپرم (درجه a+b <sup>+</sup> ) |
|                | $۷/۳ \pm ۲$          | $۷/۴ \pm ۱$     | تحرک اسپرم (درجه a)                 |
|                | $۱۵/۲ \pm ۳۰/۵^{**}$ | $۲۰/۵ \pm ۸/۲$  | مورفولوژی اسپرم (nmol/L)            |
|                | $۱۱/۲ \pm ۳۱/۴^{**}$ | $۱۰/۶ \pm ۶/۸$  | تستوسترون سرم (nmol/L)              |
|                | $۴/۱ \pm ۵/۲^{**}$   | $۶/۸ \pm ۲۵/۴$  | هرم LH (nmol/L)                     |
|                | $۸/۶ \pm ۱۹/۸^{**}$  | $۲۰/۷ \pm ۶۵/۵$ | استرادیول (Pmol/L)                  |
|                | $۴/۸ \pm ۱۷/۱$       | $۲/۴ \pm ۱۶/۸$  |                                     |
|                | $۱/۸ \pm ۴/۲$        | $۱/۸ \pm ۴/۰$   |                                     |
|                | $۱۹/۰ \pm ۶۹/۸$      | $۱۶/۷ \pm ۶۰/۰$ |                                     |

\*براساس درجه بندي WHO

\*\* از نظر آماری اختلاف معنی دار می باشد ( $P < ۰/۰۱$ ).

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. C = 1000mg/day و Vit. E = 400 mg/day ) به مدت دو ماه

| پارامتر                                 | قبل از درمان    | بعداز درمان       | فاکتورهای باروری در آنالیز منی |
|---|-----------------|-------------------|--------------------------------|
| غلظت اسپرم ( $\times 10^6 \text{ ml}$ ) | $30.5 \pm 15.2$ | $35 \pm 17.8$     | تحرک اسپرم ( درجه a+b )        |
| تحرک اسپرم ( درجه a )                   | $31.4 \pm 11.2$ | $39.2 \pm 12.8^*$ | تحرک اسپرم ( درجه a )          |
| مورفولوژی اسپرم (٪ طبیعی)               | $5.2 \pm 4.1$   | $7.4 \pm 3.8$     | مورفولوژی اسپرم ( درجه a )     |
| مورفولوژی اسپرم (٪ طبیعی)               | $1.9 \pm 0.7$   | $2.4 \pm 0.9$     | غلفت اسپرم ( درجه a+b )        |
| فاکتورهای باروری بعداز <b>Swim Up</b>   |                 |                   |                                |
| درصد تحرک اسپرم ( درجه a )              | $50 \pm 20$     | $55 \pm 19$       | غلفت اسپرم ( درجه a )          |
| درصد تحرک اسپرم ( درجه a+b )            | $60 \pm 19$     | $88 \pm 24^*$     | درصد تحرک اسپرم ( درجه a+b )   |
| مورفولوژی اسپرم (٪ طبیعی)               | $40 \pm 16$     | $55 \pm 21^*$     | مورفولوژی اسپرم ( درجه a )     |
| (nmol/ml) MDA                           | $70 \pm 23$     | $75 \pm 18$       | درصد تحرک اسپرم ( درجه a )     |
| ( $\mu\text{mol/l}$ ) Vit. E            | $1.9 \pm 0.35$  | $1.1 \pm 0.24^*$  | مورفولوژی اسپرم ( درجه a )     |
| ( $\mu\text{mol/l}$ ) Vit. C            | $0.30 \pm 0.15$ | $0.48 \pm 0.21^*$ | غلفت اسپرم ( درجه a+b )        |
|   | $250 \pm 120$   | $310 \pm 118^*$   | درصد تحرک اسپرم ( درجه a+b )   |

\* از نظر آماری اختلاف معنی دار می باشد ( $P < 0.05$ ).

جدول ۳: میزان میانگین و انحراف معیار تحرک اسپرم های 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

| بعداز درمان   | قبل از درمان | درصد تحرک اسپرم ( در ساعت صفر )                       |
|---------------|--------------|---|
| $88 \pm 24^*$ | $60 \pm 19$  | درصد تحرک اسپرم ( بعد از ۱۲ ساعت )                    |
| $59 \pm 17^*$ | $25 \pm 7$   | درصد تحرک اسپرم ( بعد از ۲۴ ساعت )                    |
| $40 \pm 8^*$  | $10 \pm 3$   | درصد تحرک اسپرم ( بعد از ۴۸ ساعت )                    |
| $15 \pm 4^*$  | .            | درصد تحرک اسپرم ( بعد از ۷۲ ساعت )                    |
| .             | .            | از نظر آماری اختلاف معنی دار می باشد ( $P < 0.001$ ). |

## بحث

همکارانش نشان داده اند که غشاء اسپرم بعد از مواجهه با فرم فعلی اکسیدانتها می شود و پیشنهاد نموده اند که درمان با آنتی اکسیدانتها احتمالاً 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 می بررسی و نشان داده اند که غلفت 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

نتایج حاصل از این مطالعه نشان میدهد که درمان توام با ویتامین E ( ۴۰۰ 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 ) بر روی 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 (۲۴)، Kodama و همکاران (۱۲) و Eskenazi و همکاران (۱۷) تطابق ندارد.

آنتی اکسیدانتها به صورت گستره در درمان بیماری های مختلف مورد استفاده قرار می گیرند، ولی تاثیر آنها تا بحال مورد توافق عمومی قرار نگرفته است. نشان داده شده که ویتامین E با دوز کمتر از ۲۰۰ mg/day و ویتامین C با دوز کمتر از ۴۰۰ mg/day با این حال آیا درمان با آنتی اکسیدانها می تواند در ناباروری مردان موثر باشد؟ Lenzi 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 سمن 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 درصد تحرک اسپرم ها، مدت زمان زنده ماندن آنها را در محیط کشت بعد از تست تغاییر افزایش و میزان باروری در شرایط داخل بدن و آزمایشگاه را تحت تاثیر قرار میدهد.

### تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تبریز بدليل تامین منابع مالی و از خانم فتاحی دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی بدليل 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.

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 بر کاهش 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). قبلاً نیز Datta و همکاران Aitken نقش ROS را در بعضی از پروسه های فیزیولوژیک بویژه کسب توانائی اسپرمها برای باروری اووستیتها نشان داده اند (۱۵ و ۲۷) به همین ترتیب با گزارش Eleonora و همکاران مبنی بر ضرورت حضور حداقل ROS برای رشد اووستیتها و باروری آنها (۱۶) اهمیت دوز مصرفی ویتامین های آنتی اکسیدانت برای درمان بیماران نابارور مجدداً 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 up و همچنین میزان تحرک اسپرم در محیط کشت قبل و بعد از دریافت ویتامین در مطالعات کمتری مورد ارزیابی قرار گرفته است. از آنجائیکه در درمان نازائی به روشهای مختلف نمونه های اسپرم بعد از تست تغییض به کار برده می شود، لذا در این مطالعه نتایج تست تغییض به روشن up قبل و بعد از درمان مقایسه شده است. براساس نتایج حاصله تحرک اسپرم (درجه a و درجه a+b) بعد از 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 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

6. Buttner GR. The pecking order of free radicals and antioxidants, lipid peroxidation, alpha – tocopherol and ascorbate. *Arch Biochem Biophys* 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 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, Bartov B, Zabludovsky N, Lessing JB, Lerner-GL, Amit A. The effect at antioxidant treatment on human spermatozoa and fertilization rate in vitro fertilization 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 stages 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.