فعالیت آنتی اکسیدان های تام و غلظت مالون دی آلدئید در مایع سمینال مردان واریکوسل

اباصلت حسین زاده کلاگر[1*]، علی بیدمشکی پور[2]، مریم قلی نژاد چاری[1]

1) گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه و گروه نانو و بیوتکنولوژی، دانشگاه مازندران

2) گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه رازی کرمانشاه

تاریخ دریافت: 87/5/5 تاریخ پذیرش:88/3/4

چکیده

مقدمه: واریکوسل شایع ترین علت ناباروری در مردان با شیوع تقریبی 19 تا40 درصد می باشد که با مکانیسم های متعددی منجر به کاهش تولید و توانایی بارورسازی اسپرم ها می گردد. در این تحقیق، سطح آنتی اکسیدان های تام (TAC/total antioxidants capacity) و غلظت مالون دی آلدئید (MDA/malondialdehyde) در مایع سمینال به عنوان یکی از مکانیسم های احتمالی اثر واریکوسل بر روی کیفیت پارامتر های اسپرم و ناباروری در مردان بررسی شد.

مواد و روش ها: در پژوهش حاضر که یک مطالعه مورد- شاهدی است، نمونه های سمن شامل 15 مرد بارور نرمواسپرمیک و 14 مرد واریکوسل نابارور از مراکز IVF شهرستان بابل، فراهم شدند و بر اساس استانداردهای WHO مورد آنالیز قرار گرفتند. سطح آنتی اکسیدان های تام (TAC) و غلظت مالون دی آلدئید (MDA)، در نمونه ها به ترتیب با روش های FRAP و TBA اندازه گیری شدند.

یافته های پژوهش: بر اساس نتایج ما میانگین سطح TAC در مایع سمینال مردان واریکوسل (370/56 ± 1092/43) به طور معنی داری کمتر از مردان بارور (764/78 ± 2335/44) بود (p<0/001). به علاوه سطح MDA در مایع سمینال مردان واریکوسل (0/27 ± 0/92) در مقایسه با مردان بارور (0/22 ± 0/57) به طور معنی داری بیشتر (p=0/001) بود.

بحث و نتیجه گیری: با توجه به نتایج فوق، به نظر می رسد که کاهش سطح آنتی اکسیدان ها و در پی آن افزایش سطح پراکسیداتیوی می تواند به عنوان یکی از اثرات منفی عارضه واریکوسل بر روی کیفیت و عملکرد اسپرم باشد که این نتایج نیازمند تحقیقات بیشتری است.

واژه های کلیدی: واریکوسل، ناباروری مردان، مالون دی آلدئید، فعالیت آنتی اکسیدان تام

***نویسنده مسئول:** گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه و گروه نانو و بیو تکنولوژی، دانشگاه مازندران

E-mail: ahcolagar@umz.ac.ir

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]

مقدمه

واریکوسل توده های متشکل از وریدهای متسع و پیچ در پیچ(pampiniform) در بالا و اطراف بیضه است،(1-4). این اختلال آناتومیکی یکی از شایع ترین علل ناباروری در مردان می باشد،(5). که تقریبا در 15 تا 20 درصد جمعیت کل مردان، به ویژه جوانان،(1). و 19 تا 41 درصد مردان نابارور دیده شده است،(۳،۶، 7). اگر چه پیشگویی اثر واریکوسل بر روی توانایی بارورسازی مردان تا حدودی مشکل می باشد، تحقیقات اخیر نشان داده است که احتمالا واریکوسل با مکانیسم های متعددی بر کاهش کیفیت اسپرم اثر می گذارد که در نهایت فرآیند اسپرماتوژنز دچار اختلال می گردد،(7). یکی از این مکانیسم های پیشنهادی، افزایش سطح متابولیت های واکنش پذیر اکسیژن (oxygen species/ROS reactive) و در نتیجه افزایش سطح اکسیداتیوی (oxidative stress) است که توجه زیادی را به خود جلب نمود،(8). ROS ها به خانواده رادیکال های آزاد تعلق دارند که به خاطر داشتن حداقل یک الکترون جفت نشده در ساختار خود، بسیار واکنش پذیر بوده به طوری که قادرند با انواع ماکرومولکول های زیستی واکنش داده و نهایتا منجر به اکسیداسیون آن ها گردند،(9). متداول ترین متابولیت های واکنش پذیر اکسیژن که اثر شدیدی بر بیولوژی تولید مثل می گذارند شامل آنیون سوپراکسید(- O_2)، پراکسید هیدروژن(H_2O_2)، رادیکال هیپوکلرید(-HClO) و رادیکال بسیار واکنش پذیر هیدروکسیل(-OH) می باشند،(9،10). تولید کنترل شده و متعادل ROS توسط اسپرماتوزوآ و دیگر سلول ها برای متابولیسم هوازی ضروری است به طوری که آن ها در غلظت های پایین نقش های فیزیولوژیکی زیادی برای سلول ها دارند و به عنوان واسطه گرهای(mediator) مهمی در مکانیسم های پیام رسانی داخل سلولی عمل می کنند. اما تولید بیش از حد ROS اثرات زیان باری بر عملکرد سلول دارد،(۱۰،۴،11). تحقیقات بسیاری نشان دادند که ROS احتمالا با پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع دارای چند پیوند دوگانه(poly unsaturated fatty acid) در ناحیه سر و قطعه میانی اسپرم و به موجب آن تغییر مورفولوژی اسپرم، کاهش تحرک اسپرم و عدم ادغام موفقیت آمیز اووسیت - اسپرماتوزوآ در نقص عملکرد اسپرم نقش اساسی داشته باشد،(13،12). شدت آسیب پراکسیداتیو را می توان با تخمین محصولات آلدهیدی پایدار انتهایی پراکسیداسیون لیپید(lipid peroxidative) از قبیل مالون دی آلدئید سنجید،(10). این آلدهیدها می توانند از طریق واکنش پذیری با گروه تیول در پروتئین ها به طور کوالانسی به آن ها متصل گر دند و عملکرد پروتئین را تغییر دهند. آن ها همچنین می توانند از طریق رادیکال های آلکوکسیل و پراکسیل باعث اکسیداسیون بازهای DNA (به ویژه گروه های آمینوگوانوزین) و اضافه شدن حلقه ها گردند که مجموعه این عوامل، سلول اسپرم را جهت بارورسازی تخمک ناتوان می سازد(14،12). در مقابل اثرات پاتولوژیک رادیکال های آزاد، اسپر ماتوزوآ و پلاسمای سمینال دارای مجموعه ای از آنتی اکسیدان های آنزیمی و غیرآنزیمی با وزن مولکولی پایین، تحت عنوان کلی ظرفیت آنتی اکسیدان های تام (TAC) می باشند. این آنتی اکسیدان ها به عنوان جمع کننده های رادیکال های آزاد جهت حفاظت اسپرماتوزوآ در برابر ROS عمل می کنند و از آنجایی که حجم عمده ای از آنتی اکسیدان های سیتوپلاسمی اسپرم طی اسپرماتوژنز تخلیه می شود، نسبت به اثرات پاتولوژیک رادیکالهای آزاد فوق العاده حساس می باشند. لذا آنتی اکسیدان های مایع سمینال، جبرانی برای از دست رفتن این آنزیم های سیتو پلاسمی اند،(15،9). بنابراین هر عاملی که سبب کاهش سطح آنتی اکسیدان های پلاسمای سمینال گردد، منجر به اختلال در تعادل آنتی اکسیدان ها و رادیکال های آزاد شده و بر روی

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]

عملکرد اسپرم اثر مخـرب اعمـال می کنـد. بـا ایـن وجود تحـت شـرایط پـاتولوژیکی، تولیـد بـالای ROS ظرفیت آنتی اکسیدان ها را پایمـال مـی کنـد و باعـث افزایش استرس اکسیداتیو می شـود،(13،14). محققـان پیشنهاد دادند واریکوسل احتمالا با سطح بـالای ROS در اسپرم و کاهش ظرفیـت آنتـی اکسـیدان هـای تـام پلاسمای سمینال در ارتباط است،(2، 8). اما اینکـه چـه ارتباطی بین واریکوسل و ناباروری وجود دارد به روشنی مشخص نشده است. در مطالعـه Hendin و همکـاران، سطح ROS و ظرفیـت آنتـی اکسـیدان هـا در مـردان نابـارور دارای واریکوسـل اخـتلاف معنـی داری را در مقایسه با مردان بـارور واریکوسـلی نشـان داد. بـا ایـن وجود، آن ها اختلاف معنـی داری را بـین مـردان دارای واریکوسـل جزئـی و مـردان نابـارور واریکوسـلی نیافتنـد،(16). مطالعـه Smith و همکـاران اخـتلاف معنی داری را بین سطح ROS در اسپرماتوزوآی مردان واریکوسل با پارامترهای اسـپرمی نرمـال و غیـر نرمـال مطابق با قانون WHO، نشـان داد،(17). بـا توجـه بـه نتایج ضد و نقیض در مورد ارتباط استرس اکسیداتیو بـا واریکوسل و ناباروری، در این تحقیق دو بیومارکر مهـم در بررسی وضعیت اکسیداتیوی بین دو گـروه از مـردان نابارور واریکوسلی و مردان سالم بارور مورد مطالعه قـرار گرفت. از آنجا کـه یکـی از اثـرات بیمـاری واریکوسـل آسیب، فرآیند اسپرماتوژنز و طی آن تولید اسـپرم هـای غیرطبیعی می باشد، انتظار می رود کـه افـزایش تعـداد اسپرم های غیرطبیعی در سـمن مـردان واریکوسـل بـا افزایش سطح رادیکال هـای آزاد سـبب تشـدید اثـرات اکسیداتیوی گردد. به همین منظـور در تحقیـق کنـونی سطح TAC و MDA به عنـوان یـک ابـزار کلینیکـی مناسب برای تخمین پراکسیداسیون لیپید غشای اسپرم، جهت تعیین شدت اکسـیداتیوی مـایع سـمینال مـردان واریکوسل مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

جمـع آوری نمونـه هـا: مطالعـــه حاضـر از نـوع مورد-شاهدی با روش نمونه گیری تصادفی، شـامل 29 نمونـه سـمن(semen) از مـردان بـارور نرمواسـپرمیک (n=15) بـه عنـوان گـروه شـاهد و مـردان واریکوسـل (n=14) به عنوان گروه مورد در مراکز IVF شهرسـتان بابـل مـی باشـد. مراجعـه کننـدگان متعلـق بـه اسـتان مازندران و استان های هم جوار آن بودند. نمونه ها بعـد از 2 تا 3 روز دوری از آمیزش در همان مراکـز IVF در ظرف های پلاستیکی استریل جمع آوری شدند.

مطالعه پارامترهای اسپرم: نمونه های سـمن تهیـه شده، حدود نیم ساعت در دمای 37 درجه اینکوبه شدند تا از فرم توده ای به فرم مایع روان تبدیل گردند. حـدود 100 میکرولیتـر از نمونـه مـایع روان بـرای بررسـی پارامترهای اسپرمی(نظیر غلظت سمن، حرکت، تعـداد و مورفولوژی اسـپرم) بـر اسـاس اسـتانداردهای سـازمان بهداشت جهانی(WHO,۱۹۹۸) برداشـته شـد،(18). و آنالیز اسپرموگرام با روش هـای معمـول میکروسـکوپی انجام شد،(جدول1). بقیه نمونه های انزالی سریعا جهت انـدازه گیـری TAC و MDA در دمـای 20- درجـه سانتی گراد فریز شدند.

اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدان های تـام مـایع سمینال به روش FRAP: فعالیت آنتی اکسـیدان هـای تام مـایع سـمینال بـا انـدکی تغییـر بـه روش FRAP (ferric reducing of antioxidants power) کـه اولین بار توسط Benzie در سـال 1996 ابـداع گردیـد، اندازه گیری شد،(19). برای این منظور ابتدا نمونه هـای سمن در g 10000 به مدت 7 دقیقه سـانتریفوژ شـدند. محلول رویی از رسوب جـدا شـد و 5 بـار بـا آب مقطـر رقیق گردید، سپس سـریعا جهـت انـدازه گیـری آنتی اکسیدان ها به کار رفت. برای اندازه گیری TAC، محلول استاندارد سـولفات آهن(بـا غلظـت هـای 125، 250، 500 و 1000 میکرومـولار) و محلـول FRAP [شـامل: ۳۰ mM Sodium acetate buffer pH ۱۰ mM TPTZ (۲،٤،٦-tri -pyridyl-s-،۳،٦ triazine) و ۲۰ mM Ferric chloride به ترتیب بـا نسـبت 10، 1و 1] اسـتفاده شـد. بعـد از آمـاده سـازی محلول هـا، داخـل هـر لولـه آزمـایش 1/5 میلـی لیتـر محلول FRAP اضافه شد و به مدت 5 دقیقه در دمـای 37 درجه در حمام آب گرم انکوبه شدند. سـپس حـدود 50 میکرولیتـر از نمونـه هـای رقیـق شـده سـمن، 50 میکرولیتر آب مقطر(به عنوان کنترل) و 50 میکرولیتر از محلول های استاندارد با رقت های تهیه شـده، بـه هـر لوله آزمایش مربوطه اضافه گردید و مجددا در حمام آب

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]

گرم به مدت 10 دقیقه در دمای 37 درجه حرارت داده شدند و بعد از خارج نمودن لوله ها از حمام آب گرم، جذب نمونه ها در طول موج 593 نانومتر اندازه گیری گردید. غلظت نمونه ها به کمک برنامه Excel بر اساس نمودار استاندارد، محاسبه شد.

اندازه گیری غلظت مالون دی آلدئید با روش TBA: غلظت MDA با استفاده از متد تیوباربیتوریک اسید شرح داده شده توسط رائو و همکاران اندازه گیری گردید،(20). بر اساس این روش ابتدا نمونه های سمن در g 2000 به مدت 5 دقیقه سانتریفوژ شدند. سپس 100 میکرولیتر از مایع رویی(پلاسمای سمینال) به همراه 900 میکرولیتر آب مقطر در لوله آزمایشگاه ریخته شد و به هر لوله 500 میکرولیتر معرف TBA (0/67گرم ۲-thiobarbituric acid در 100 میلی لیتر آب مقطر حل شد و سپس به ترتیب 0/5 گرم NaOH و 100 میلی لیتر اسید استیک گلاسیال به آرامی بدان افزوده شد) اضافه گردید و سر لوله ها توسط ورقه های آلومینیومی کاملا پوشانده شدند و به مدت یک ساعت در حمام آب جوش قرار گرفتند و پس از خنک شدن در دمای اتاق، لوله ها مجددا در g 4000 به مدت 10 دقیقه سانتریفوژ شدند. در نهایت جذب محلول رویی در طول موج 534 نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر(UV۱۶۰۰) خوانده شد. غلظت MDA با استفاده از ضریب خاموشی ۱-l.cm-۱ .mol-۱ 105 × 1/56 (بر اساس قانون بیرلامبرت: A=εdc) محاسبه و به صورت nmol/ml گزارش گردید.

آنالیز آماری: کلیه آزمون های آماری با برنامه independent t-test و نرم افزار SPSS ۱۶ انجام شد. میانگین سطح MDA و TAC در دو گروه مورد مطالعه به صورت mean±S.D با سطوح اطمینان (CI) 95 درصد بیان شد و در تمام موارد p<0/05 از لحاظ آماری معنی دار بود. بررسی همبستگی بین سطح TAC و MDA با استفاده از آنالیز Spearman correlation انجام شد.

یافته های پژوهش

نتیجه حاصل از آنالیز کیفیت پارامترهای اسپرمی در بین مردان بارور و واریکوسل در جدول 1 نشان داده شده است. هیچ تفاوت معنی داری بین سن و حجم سمن بین دو گروه مشاهده نشد(به ترتیب، با p=0/ 123 و p=0/357) و غلظت اسپرم در مردان بارور به طور معنی داری(p<0/001) بیشتر از مردان واریکوسل بود. درصد اسپرم های متحرک و درصد اسپرم هایی با مورفولوژی طبیعی نیز در مردان بارور به طور معنی داری(به ترتیب با p<0/05 و p<0/001) بیشتر از مردان واریکوسل بود.(جدول1)

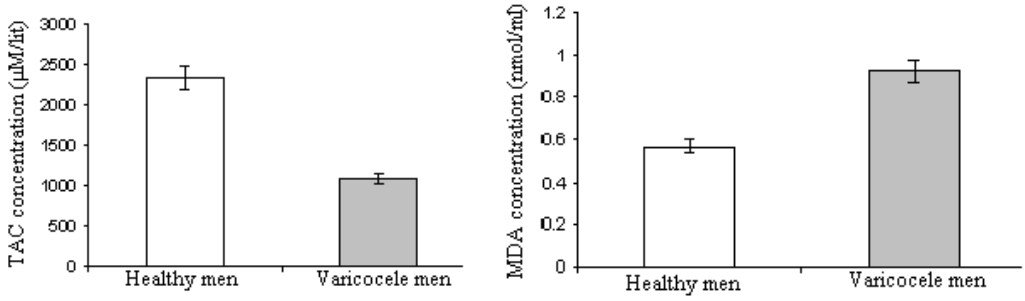
مقایسه سطح TAC و MDA در مایع سمینال مردان بارور نرمواسپرمیک و واریکوسل در جدول1 نشان داده شده است. نتیجه حاصل از تحقیق ما نشان داد که سطح TAC در مایع سمینال مردان بارور سالم به طور معنی داری بیشتر از مردان واریکوسلی است(p<0/001)، از طرفی غلظت MDA در مایع سمینال مردان واریکوسل به طور چشمگیری(p<0/01) بیشتر از مردان بارور بود،(نمودار1). از طرفی سطح TAC پلاسمای سمینال دارای همبستگی معکوسی با غلظت MDA بود اما این همبستگی از نظر آماری معنی دار نبود (r=-0/47; p=0/07) (نمودار2).

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی ایلام دوره هفدهم، شماره دوم، تابستان 88

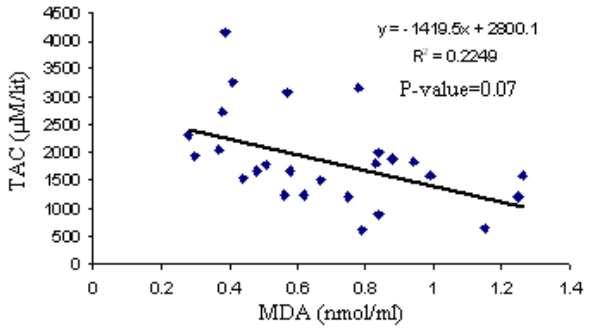
جدول 1. مقایسه کیفیت پارامترهای اسپرمی بین مردان بارور و واریکوسل

پارامترهای اسپرم	18 مردان سالم	مردان واریکوسل	p- value
تعداد نمونه	15	14	
سن افراد (سال)	31/6 ± 4/67	28/92 ± 4/34	0/123
حجم سمن (میلی لیتر)	4/26 ± 1/16	3/73 ± 1/83	0/357
غلظت اسپرم (106/ml× 1)	91/33 ± 11/25	50/14 ± 24/85	<0/001
تعداد کل اسپرم (106×)	389/06 ± 130/51	187/02 ± 45/47	<0/001
درصد اسپرم های متحرک	61/33 ± 8/75	47/14 ± 17/61	<0/05
درصد مورفولوژی طبیعی اسپرم(بر اساس قانون کروگر)	15/6 ± 4/42	4/42 ± 3/2	<0/001
غلظت TAC (میکرومول بر لیتر)	233/49 ± 764/78	1081/35 ± 353/7	<0/001
غلظت MDA (نانومول بر میلی لیتر)	0/57 ± 0/22	0/92 ± 0/27	<0/01



نمودار1. مقایسه سطح MDA (چپ) و TAC (راست) بین مردان سالم نرمواسپرمیک و واریکـــــوسل (به ترتیب p<0/01 و p<0/001).

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]



نمودار2. ارتباط بین سطح TAC و MDA: همبستگی در 0/01= p معنی دار است.

بحث و نتیجه‌گیری

علی رغم مطالعات فراوان در زمینه نقش واریکوسل و ناباروری مردان، اثرات منفی آن بر ناباروری تاکنون به روشنی مشخص نشده و مکانیسم دقیق اثر آن بر عملکرد اسپرم همچنان بحث برانگیز و نگران کننده است. مطالعات بسیاری نشان داد که افزایش سطح اکسیداتیوی مایع سمینال از طریق مکانیسم های مختلف از جمله پراکسیداسیون لیپیدهای غشای اسپرم، آسیب در متابولیسم اسپرم و توانایی بارورسازی آن، سهم عمده ای در نقص عملکرد اسپرم دارد،(21). لذا آنتی اکسیدان های پلاسمای سمینال به عنوان مهمترین سد دفاعی اسپرم ها محسوب می شوند که با به دام انداختن رادیکال های آزاد، از اثرات پاتولوژیکی و آسیب های بعدی اسپرم جلوگیری می کنند،(23- 22). تاکنون محققان بسیاری پیشنهاد دادند استرس اکسیداتیو می تواند نقش مهمی را در نقص عملکرد اسپرم در میان بیمارانی که از واریکوسل رنج می برند بازی کند.(2، 16 ، 24-28)

در این مطالعه فعالیت آنتی اکسیدان های تام و همچنین سطح مالون دی آلدئید به عنوان یک نشانگر مناسب جهت تخمین شدت اکسیداتیو در مایع سمینال مردان بارور سالم و بیماران واریکوسل اندازه گیری گردید،(جدول1). بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق میانگین سطح پلاسمای سمینال آنتی اکسیدان های تام در مردان سالم تا حدود قابل ملاحظه ای بیشتر از مردان واریکوسل بود(p<0/001). از طرفی اندازه گیری سطح MDA حاکی از آن بود که شدت اکسیداسیون در مردان واریکوسل به طور معنی داری بیشتر از مردان بارور است(p<0/01). نتاج ما همچنین یک رابطه معکوس را بین ظرفیت آنتی اکسیدان های تام و شدت اکسیداسیون لیپید نشان داد،(نمودار2). مطالعات دیگری نیز ثابت کردند که بیماران واریکوسل به طور معنی داری غلظت مالون دی آلدئید بیشتری را نسبت به مردان نابارور بدون واریکوسل دارند،(29-30). در یک تحقیق سطح بالای ROS و کاهش ظرفیت آنتی اکسیدان ها در 21 بیمار نابارور دارای واریکوسل در مقایسه با 17 بیمار بارور به عنوان کنترل مشاهده شد، با این وجود یک گروه 15 نفره دارای واریکوسل جزئی، سطح یکسانی از ROS را نسبت به مردان نابارور واریکوسلی داشتند و مقدار آنتی اکسیدان تام در مقایسه با افراد بارور بدون واریکوسل به طور معنی داری پایین تر بود،(16). همچنین Smith و همکاران با مقایسه 55 بیمار دارای واریکوسل که به دو گروه نرمال و غیر نرمال مطابق با قانون WHO دسته بندی شده بودند و 25 مرد نرمواسپرمیک ثابت کردند که اسپرماتوزوآی بیماران دارای واریکوسل به طور معنی داری میزان ROS بالاتری را حتی در گروه بیماران دارای پارامتر های استاندارد دارند،(17). که قابل مقایسه با نتایج تحقیقات قبلی بود،(24،31). این که چه مکانیسم یا مکانیسم هایی در ارتباط با واریکوسل و ناباروری وجود دارد همچنان به صورت معمایی باقی مانده است. مطالعات متعددی رابطه معنی داری بین واریکوسل و کیفیت پایین پارامترهای اسپرم نشان دادند. محققین بسیاری بهبود تمام پارامترهای اسپرمی را بعد از جراحی واریکوسل مشاهده کردند(32-34). در کنار این تحقیقات، مطالعات دیگری

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]

نیز وجود دارند که هیچ ارتباط معنی داری را بین پارامترهای اسپرمی و بیماری واریکوسل نیافتند،(35). نتایج تحقیقات صالح و همکاران به یک کاهش معنی دار در غلظت و شکل نرمال اسپرم بین مردان نابارور دارای واریکوسل در مقایسه با مردان بارور و نابارور اشاره می کند. مطالعات آن ها همچنین نشان داد درصد تحرکت اسپرم در بیماران واریکوسلی به طور معنی داری پایین تر از مردان بارور است،(31). بر اساس آنالیز پارامترهای اسپرمی حاصل از نتایج ما درصد اسپرم های متحرک در مردان واریکوسل به طور چشمگیری کمتر از مردان بارور بود،($p<0/05$). همچنین غلظت اسپرم و درصد اسپرم هایی با مورفولوژی طبیعی در مردان واریکوسل به طور معنی داری کمتر از مردان بارور بود،($p<0/001$). (جدول1). مقایسه نتایج این تحقیق با نتایج دیگر تحقیقات نشان می دهد که واریکوسل می تواند به نحوی با کاهش کیفیت اسپرم در ارتباط باشد. به علاوه، شاید یکی از فاکتور های موثر در عارضه واریکوسل و کیفیت پایین پارامترهای اسپرمی پراکسیداسیون لیپیدی غشای اسپرم یا تولید محصولات آلدهیدی سیتوتوکسیک ناشی از آن از جمله مالون دی آلدئید باشد. در تحقیق کنونی فعالیت آنتی اکسیدان های تام مایع سمینال به روش FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) اندازه گیری شد. روش FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) بر مبنای توانایی آنتی اکسیدان های مایع سمینال در احیاء یون فریک به یون فرو است،(19). اما این روش تنها برای اندازه گیری آنتی اکسیدان هایی با وزن مولکولی پایین مناسب است و برای اندازه گیری آنتی اکسیدان های آنزیمی و پروتئین های متصل به آنزیم چندان مناسب نیست. روش Enhanced chemiluminescence و کالریمتریک روش های دقیق تر و با ارزش تری برای اندازه گیری آنتی اکسیدان های تام می باشد،(36). با توجه به اینکه در مطالعه حاضر میزان MDA پلاسمای سمینال با روش اسپکتروفتومتری بررسی گردید، برای دستیابی به نتایج دقیق تر روش هایی نظیر HPLC توصیه می شود. از دیگر محدودیت های مطالعه ما تعداد کم نمونه های واریکوسل بود به طوری که بررسی پارامتر های مختلف استرس اکسیداتیو در چهار گروه از بیماران واریکوسل بارور- نابارور و مردان بارور- نابارور بدون عارضه واریکوسل پیشنهاد می گردد. به طور خلاصه، طبق تحقیقات صورت گرفته و تحقیق حاضر، این احتمال وجود دارد که یکی از مکانیسم های احتمالی اثر واریکوسل بر روی عملکرد اسپرم، از طریق کاهش سطح آنتی اکسیدان های مایع سمینال و افزایش محصولات آلدئیدی پایدار پراکسیداسیون لیپید از قبیل مالون دی آلدئید واسطه گردد که این نتایج نیازمند تحقیقات بیشتر و گسترده تر است.

References

۱-Enciso M, Muriel L, Fernandez JL, Goyanes V, Segrelles E, Marcos M et al. Infertile men with varicocele show a high relative proportion of sperm cells with intense nuclear damage level, evidenced by the Sperm Chromatin Dispersion Test. J. Androl ۲۰۰٦; ۲۷: ۱۰٦-۱۱.

۲-Chen SS, Chang LS, Chen HW, Wei YH. Polymorphisms of glutathione S-transferase M۱ and male infertility in Taiwanese patients with varicocele. Hum. Reprod ۲۰۰۲; ۱۷: ۷۱۸-۲۵.

۳-Nagler HM, Luntz RK, Martinis FG. Varicocele In: infertility in the male. Lipshultz LI and Howards SS, St. Louis (editors): Mosby Year Book; ۱۹۹۷.p.۳۳٦–۵۹.

٤-Rajeev K, Rupin S.Varicocele and male infertility: Current status. J Obstet Gynecol India ۲۰۰۵; ۵۵: ۵۰۵-۱٦.

۵-Naughton CK, Nangia AK, Agarval A. Varicocele and male infertility: Part II. Pathophysiology of varicoceles in male infertility. Hum. Reprod ۲۰۰۱; ۱۷: ٤۷۳-۸۱.

٦-Greenberg SH. Varicocele and male infertility. Fertile Steril ۱۹۷۷; ۲۸: ٦۹۹-۷۰٦.

۷-Marmar JL. The pathophysiology of varicoceles in the light of current molecular and genetic information. Hum. Reprod ۲۰۰۱; ۷:٤٦۱–۷۲.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]

۸-Zini A, de Lamirande E, Gagnon C. Reactive oxygen species in semen of infertile patients: levels of superoxide dismutase and catalase-like activities in seminal plasma and spermatozoa. Int, J Androl ۱۹۹۳; ۱۶: ۱۸۳-۸.
۹-Agarwal A, Prabakaran SA. Mechanism, measurement and prevention of oxidative stress in male reproductive physiology. Experimental Biology ۲۰۰۵;۴۳: ۹۶۳-۷۴.
۱۰-Sharma RK, Agarwal A. Role of reactive oxygen species in male infertility. Urology ۱۹۹۶; ۴۸: ۸۳۵-۵۰.
۱۱-Schlesinger MH, Wilets IF, Naglar HM. Treatment outcome after varicocelectomy; a critical analysis. Urol Clin North AM ۱۹۹۴; ۲۱: ۵۱۷-۲۹.
۱۲-Aitken RJ, Clarkson JS, Fishel S, Generation of reactive oxygen species, lipid peroxidation and human sperm function. Biol. Reprod ۱۹۸۹; ۴۰: ۱۸۳– ۹۷.
۱۳-Aitken RJ, Clarkson JS. Cellular basis of defective sperm function and its association with the genesis of reactive oxygen species by human spermatozoa. The Walpole Lecture J. Reprod. Fertil ۱۹۸۷; ۸۳: ۴۵۹–۶۹.
۱۴-Niedernhofer LJ, Daniels JS, Rouzer CA, Greene RE, Marnett LJ. Malondialdehyde, a product of lipid peroxidation, is mutagenic in Human cells. The American Society for Biochemistry and Molecular Biology Inc ۲۰۰۳; ۱-۴۱.
۱۵-Elsayed NM, Bendich A. Dietary antioxidants: potential effects on oxidative products in cigarette smoke. Elsevier Science Inc ۲۰۰۱; ۲۱: ۵۵۱–۶۷.
۱۶-Hendin B, Kolettis P, Sharma RK, Thomas AJ, Agarwal A. Varicocele is associated with elevated spermatozoal reactive oxygen species production and diminished seminal plasma antioxidant capacity. J Urol ۱۹۹۹; ۱۶۱: ۱۸۳۱–۴.
۱۷-Smith R, Kaune H, Parodi D, Madariaga M, Rios R, Morales I et al. Increased sperm DNA damage in patients with varicocele: relationship with seminal oxidative stress. J. Hum. Reprod ۲۰۰۶; ۲۱: ۹۸۶-۹۳.
۱۸-World Health Organization (WHO). Laboratory manual for the examination of human semen and semen-cervical mucus interaction, ۴th ed. Cambridge, UK۷C Ambridge University Press; ۱۹۹۹.p. ۴-۲۳.
۱۹-Benzie IFF. Lipid peroxidation: a review of causes, consequences, measurements and dietary influences. Int. J Food Sc. Nutr ۱۹۹۶; ۴۷: ۲۳۳–۲۶۲.
۲۰-Rao B, Souflir JC, Martin M, David G. Lipid peroxidation in human spermatozoa as related to midpiece abnormalities and motility. Gamete Res ۱۹۸۹; ۲۴: ۱۲۷-۳۴.
۲۱-Armstrong JS, Rajasekaran M, Chamulitrat W, Gatti P, Hellstrom WJ, Sikka SC. Characterization of reactive oxygen species induced effects on human spermatozoa movement and energy metabolism. Free. Rad. Biol. Med ۱۹۹۹; ۲۶: ۸۶۹–۸۰.
۲۲-Sharma RK, Pasqualotto FF, Nelson DR, Thomas AJ, Agarwal A. The reactive oxygen species-total antioxidant capacity score is a new measure of oxidative stress to predict male infertility. Hum. Reprod ۱۹۹۹; ۱۴: ۲۸۰۱–۷.
۲۳-Smith R, Vantman D, Ponce J, Escobar J, Lissi E. Total antioxidant capacity of human seminal plasma. Hum. Reprod ۱۹۹۶; ۱۱: ۱۶۵۵–۶۰.
۲۴-Barbieri ER, Hidalgo ME, Venegas A, Smith R, Lissi EA. Varicocele associated decrease in antioxidant defenses. J Androl ۱۹۹۹; ۲۰: ۷۱۳–۱۷.
۲۵-Chen SS, Chang LS, Wei YH. Oxidative damage proteins anddecrease of antioxidant capacity in patients with varicocele. Free Rad Biol Med ۲۰۰۱; ۳۰: ۱۳۲۸ –۳۴.
۲۶-Romeo C, Ientile R, Impellizzeri P, Turiaco N, Teletta M, Antonuccio P et al. Preliminary report on nitric oxide-mediated oxidative damage in adolescent varicocele. Hum Reprod ۲۰۰۳; ۱۸: ۲۶-۲۹.
۲۷-Mehraban D, Ansari M, Keyhan H, Gilani MS, Naderi G, Esfehani F. Comparison of nitric oxide concentration in seminal fluid between infertile patients with and without varicocele and normal fertile men. Urol ۲۰۰۵; ۱۰۶-۱۰.(persian)
۲۸-Agarwal A. Relationship between oxidative stress, varicocele and infertility. Reproductive BioMedicine Online ۲۰۰۶; ۱۲: ۶۳۰-۳.
۲۹-Mostafa T, Anis TH, EL-Nashar A, Imam H, Othman IA. Varicocelectomy reduces reactive oxygen species levels and increases antioxidant activity of seminal plasma from infertile men with varicocele. Int. J Androl ۲۰۰۱; ۲۴: ۲۶۱-۵.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]

۳۰-Koksal IT, Tefekli A, Usta M, Erol H, Abbasoglu S, Kadioglu A. The role of reactive oxygen species in testicular dysfunction associated with varicocele. Brit. J Urol ۲۰۰۰; ۸٦: ٥٤٩-٥٢.
۳۱-Saleh RA, Agarwal A, Sharma RK, Said TM, Sikka SC, Thomas AJ Jr. Evaluation of nuclear DNA damage in spermatozoa from infertile men with varicocele. Fertil Steril ۲۰۰۳; ۸۰: ١٤٣١–٦.
۳۲-Schlesinger MH, Wilets IF, Nagler HM. Treatment outcome after varicocelectomy: a critical analysis. Urol Clin North Am ١٩٩٤; ٢١: ٥١٧–٢٩.
۳۳-Kim ED, Leibman BB, Grinblat DM, Lipshultz LI. Varicocele repair improves semen parameters in azoospermic men with spermatogenic failure. J Urol ١٩٩٩; ١٦٢: ٧٣٧–٤٠.
۳٤-Parikh FR, Kamat SA, Kodwaney GG, Balaiah D. Computer- assisted semen analysis parameters in men with varicocele: is surgery helpful? Fertil Steril ١٩٩٦; ٦٦: ٤٤٠-٥.
۳٥-Nieschlag E, Hertle L, Fischedick A, Abshagen K, Behre HM. Update on treatment of varicocele: counselling as effective as occlusion of the vena spermatica. Hum. Reprod ١٩٩٨; ١٣: ٢١٤٧–٥٠.
۳٦-Said TM, Kattal N, Sharma R, Sikka SC, Thomas AJ, Mascha E et al. Enhanced Chemiluminescence assay vs colorimetric assay for measurement of the total antioxidant capacity of human seminal plasma. J Androl ۲۰۰۳;۲٤: ٦٧٦-٨٠.

Total Antioxidant Capacity and Malondialdehyde Levels in Seminal Plasma Among The Varicocele-Suffering Men

*Hosseinzadeh Colagar A [1] *, Bidmeshkipour A[2], Gholinezhad Chari M[1]*

(Received: 26 Jul,2008 Accepted:25 May, 2009)

Abstract

Introduction: Varicocele is the most common cause of male infertility with approximately 19 to 40% prevalence that leads to low sperm production and fertilization through several mechanisms. In this case-control study, seminal total antioxidant capacity (TAC) and malondialdehyde (MDA) were investigated as one of the possible mechanism(s) by which varicocele may affect the sperm parameters quality and male infertility.

Materials & Methods: Semen samples were provided from healthy (normalospermic; n=15) and varicocele-suffering (infertile; n=14) men at babol IVF centers, then analyzed according to WHO (World Health Organization/1998) standards. Seminal TAC and MDA levels in all the specimen were measured by FRAP and TBA methods, respectively.

Findings: Based on the results, mean concentration (±S.D) of TAC in the seminal plasma of varicocele-suffering men (١٠٩٢,٤٣٣٧٠,٥٦ µmol/l) was significantly lower (p<0,001) than that of the healthy men (٢٣٣٥,٤٤٧٦٤,٧٨ µmol/l). Moreover, MDA levels in seminal plasma of varicocele-suffering cases (٠,٩٢٠,٢٧ nmol/ml) was significantly (p=0,001) higher than that of the healthy ones (٠,٥٧٠,٢٢ nmol/ml).

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]

Discussion & Conclusion: It implies that low level of seminal TAC activity and subsequently high oxidative status could be regarded as one of the negative effects of varicocele on sperm quality and the function which initiates further studies.

Key words: Varicocele, Male infertility, Malondialdehyde, Total antioxidant capacity

1*. Dept of Biology, Faculty of Basic Sciences, Nano&Biotechnology Dept, University of Mazandaran, Mazandaran,Iran*

2*. Dept of Biology, Faculty of Basic Sciences, Razi University, Kermanshah,Iran*

**(corresponding author)*

Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-28]