

## مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانهای تام در مایع سمینال مردان نابارور با سمن هیپرویسکوز و غیر هیپرویسکوز

عیسی طهماسب پور مرزونی<sup>۱</sup> (PhD)، سیدغلامعلی جورسرای<sup>۲\*</sup> (PhD)، مهدی پورامیر<sup>۳</sup> (PhD)، باصطت حسین زاده کلاگر<sup>۴</sup> (PhD)

۱- باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساری

۲- مرکز تحقیقات بهداشت باروری و ناباروری حضرت فاطمه زهرا(س)، دانشگاه علوم پزشکی بابل

۳- گروه بیوشیمی و بیوفیزیک، دانشگاه علوم پزشکی بابل

۴- گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشگاه مازندران

دریافت: ۹۰/۱۱/۳۰، اصلاح: ۹۱/۲/۱۳، پذیرش: ۹۱/۴/۱۴

### خلاصه

**سابقه و هدف:** فاکتورهای متعددی بر توانایی بارورسازی اسپرم تاثیر می گذارند. سمن هیپرویسکوزیته یکی از دلایل ایدیوپاتیک اختلال در حیات و عملکرد اسپرم می باشد. احتمال می رود یکی از دلایل تاثیر هیپرویسکوز بر روی عملکرد اسپرم، کاهش فعالیت آنتی اکسیدانی مایع سمینال باشد. لذا این مطالعه به منظور مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانهای تام در مایع سمینال مردان هیپرویسکوز با غیر هیپرویسکوز انجام شد.

**مواد و روشها:** این مطالعه مقطعی بر روی ۴۷ نمونه سمن از مردان نابارور هیپرویسکوز ( $n=22$ ) و غیر هیپرویسکوز ( $n=25$ )، مراجعه کننده به مرکز باروری و ناباروری فاطمه الزهرا (ص) بابل انجام شد. پس از تعیین ویسکوزیته سمن با اندازه گیری روش کشش سطحی سمن، پارامترهای اسپرم (شامل حجم، تعداد، حرکت و مورفولوژی طبیعی) با استفاده از روشهای میکروسکوپی مورد مطالعه قرار گرفتند. فعالیت آنتی اکسیدانهای تام در مایع سمینال تمام نمونه ها به روش FRAP اندازه گیری و مقایسه شدند.

**یافته ها:** میانگین پارامترهای اسپرم، شامل تعداد ( $29/32 \pm 25/35$ )، حرکت ( $30/95 \pm 19/11$ ) و مورفولوژی طبیعی ( $4/23 \pm 2/5$ )، در گروه هیپرویسکوز به طور معنی داری، کمتر از گروه غیر هیپرویسکوز (تعداد  $46/80 \pm 26/29$ ، حرکت  $52/8 \pm 15/41$  و مورفولوژی طبیعی  $7/56 \pm 3/16$ ) بود (به ترتیب  $p < 0/001$ ،  $p < 0/001$  و  $p < 0/001$ ). همچنین میانگین غلظت آنتی اکسیدانهای تام در مایع سمینال گروه هیپرویسکوز ( $1230/25 \pm 352 \mu\text{mol/l}$ ) به طور معنی داری کمتر از گروه غیر هیپرویسکوز ( $1710/31 \pm 458/67 \mu\text{mol/l}$ ) بدست آمد ( $p < 0/01$ ).

**نتیجه گیری:** نتیجه حاصل از این تحقیق نشان داد که بین فعالیت آنتی اکسیدانهای تام در مایع سمینال و کیفیت پارامترهای اسپرمی، ارتباط نزدیکی وجود دارد. کاهش فعالیت آنتی اکسیدانهای تام در مایع سمینال مردان هیپرویسکوز احتمالاً یکی از مکانیسم های دخیل در کاهش کیفیت اسپرمی در این افراد می باشد.

**واژه های کلیدی:** سمن هیپرویسکوز، آنتی اکسیدان مایع سمینال، ناباروری.

### مقدمه

می باشد، همچنین انواعی از آنتی اکسیدانهای آنزیمی (نظیر آنزیم های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و ردوکتاز) و غیر آنزیمی (شامل ویتامین های C، E، A، فلز روی و مس) در مایع سمینال وجود دارند که نقش مهمی در جمع آوری و خنثی سازی این گونه رادیکالهای آزاد دارند (۴-۸). به این مجموعه آنتی اکسیدانهای آنزیمی و غیر آنزیمی، ظرفیت آنتی اکسیدانی تام (Total Antioxidant Capacity, TAC) در مایع سمینال گویند که بیان کننده فعالیت آنتی اکسیدانهای آن می باشد (۴). از آنجایی که آنتی اکسیدانها، نقش اصلی در دفاع از سلولها علیه رادیکالهای آزاد دارند، لذا این احتمال وجود دارد که کاهش فعالیت آنتی اکسیدانهای تام مایع سمینال با کاهش کیفیت سلولهای اسپرم مرتبط باشد. هیپرویسکوز شرایطی است که سمن مردان، تغلیظ شده و حالت چسبندگی پیدا می کند. به طوری که این حالت مانع از حرکت

رادیکالهای آزاد اکسیژن (Reactive Oxygen Species, ROS) (شامل  $\text{H}_2\text{O}_2$ ،  $\text{O}_2^-$  و  $\text{OH}^-$ ) ترکیبات واکنش پذیری هستند که به علت داشتن یک یا چند الکترون جفت نشده، قادرند با انواعی از ماکرومولکولهای زیستی، به ویژه لیپیدها، قندها و اسیدهای نوکلئیک (DNA)، واکنش داده و با اکسید نمودن آنها منجر به ایجاد وضعیت استرس اکسیداتیو در سلولها گردند (۱و۲). منشاء اصلی تولید رادیکالهای آزاد در مایع سمینال مردان، سلولهای سفید، سلولهای اپی تلیالی و اسپرمهای غیر طبیعی یا نابالغ می باشند (۳). بنابراین هر عاملی که منجر به افزایش در تعداد سلولهای سفید یا اسپرم های نابالغ سمن (semen) گردد، به طور غیرمستقیم سبب افزایش سطح رادیکالهای آزاد و توانایی باروری می شود. اما اثر پاتولوژیک رادیکالهای آزاد بستگی به حضور یا عدم حضور آنتی اکسیدانها دارد. در واقع به همان نسبتی که مایع سمینال مردان دارای انواعی از رادیکالهای آزاد

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مشترک بین دانشگاه مازندران و دانشگاه علوم پزشکی بابل به شماره ۱۸۰۲۱۲۳۴۷۲ و دانشگاه علوم پزشکی بابل می باشد.

\* مسئول مقاله: بابل، مرکز تحقیقات بهداشت باروری و ناباروری حضرت فاطمه زهرا(س)، تلفن: ۰۱۱۱-۲۲۷۴۸۸۱-۲.

email: alijorsara@yahoo.com

روان تبدیل گردند. پس از انجام آزمایش های روتین (شامل حجم، pH و میزان ویسکوزیته سمن)، حدود ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه های مایع سمن برای بررسی میکروسکوپی حرکت و تعداد اسپرم، بر اساس استانداردهای سازمان بهداشت جهانی (WHO) (۱۶) و مورفولوژی اسپرم، بر اساس قانون کروگر (Kruger) (۱۷)، مورد بررسی قرار گرفتند. نحوه تشخیص اسپرم های طبیعی و غیرطبیعی با استفاده از روش رنگ آمیزی ائوزین و تشخیص میکروسکوپی انجام گردید. با شمارش تصادفی ۱۰۰ اسپرم در زمینه های مختلف میکروسکوپی، درصد اسپرمهای طبیعی و غیرطبیعی ثبت گردید. ویسکوزیته سمن با قرار دادن انتهای یک همزن شیشه ای به داخل نمونه و اندازه گیری طول کشش آن محاسبه گردید (۱۳). نمونه هایی با طول کشش کمتر از ۲ سانتی متر از لحاظ ویسکوزیته طبیعی هستند، در حالی که نمونه هایی با طول کشش بیشتر از ۲ سانتی متر به عنوان هیپروویسکوز در نظر گرفته شدند. باقیمانده نمونه های انزالی سریعاً در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد ذخیره شدند تا برای اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانهای تام مورد بررسی قرار گیرند.

**روش FRAP:** فعالیت آنتی اکسیدانهای تام مایع سمینال با استفاده از روش (Ferric Reducing of Antioxidants Power) FRAP که اولین بار توسط Benize، در سال ۱۹۹۶ ابداع گردید، اندازه گیری شد (۱۸). نمونه های انزال در دور ۱۴۰۰۰ rpm در دمای ۴ درجه به مدت ۷ دقیقه سانتریفوژ شدند. سپس محلول رویی (مایع سمینال) از رسوب برداشته شده و نمونه ها ۱۰ بار با آب مقطر رقیق شدند (۱۰۰ میکرولیتر نمونه سمینال با ۹۰۰ میکرولیتر آب مقطر) تا سریعاً برای اندازه گیری آنتی اکسیدانها مورد بررسی قرار گیرند. برای اندازه گیری TAC یا ظرفیت آنتی اکسیدانی تام، محلول های استاندارد و محلول FRAP [شامل بافر استات ۳۰۰mM با pH=۳/۶، ۱۰mM TPTZ (۲،۴۶ تری ۲-پیریدیل-S-تری آزین) و ۲۰mM کلرید آهن II به ترتیب با نسبت ۱:۱:۱۰] آماده گردید. محلول استاندارد استفاده شده شامل محلول  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  با غلظت های ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرومولار بود. به هر لوله آزمایش (بسته به تعداد نمونه ها) حدود ۱/۵ میلی لیتر از محلول FRAP اضافه و سپس به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در حمام آب گرم نگه داشته شد. سپس حدود ۵۰ میکرولیتر از نمونه های رقیق شده به لوله آزمایش اضافه شد (رنگ محلول فوراً آبی شد) و مجدداً در حمام آب گرم به مدت ۱۰ دقیقه گرم گردید و بعد از این مدت، لوله ها از حمام خارج شدند و با صفر کردن دستگاه توسط محلول FRAP، جذب نمونه ها در طول موج ۵۹۳ نانومتر خوانده شد و سپس غلظت نمونه ها از روی استانداردها محاسبه گردید.

**آنالیزهای آماری:** نمودار استانداردها توسط نرم افزار Excel رسم و سپس غلظت نمونه ها بر اساس آن بدست آمدند. مقایسه غلظت تمام پارامترها بین مردان نابارور هیپروویسکوز و غیر هیپروویسکوز توسط آزمون T-Test مورد آنالیز قرار گرفت و  $p < ۰/۰۵$  معنی دار در نظر گرفته شد.

### یافته ها

میانگین تعداد اسپرم در سمن مردان هیپروویسکوز ( $۲۹/۳۲ \pm ۲۵/۳۵$ ) به طور معنی داری کمتر از مردان غیرهیپروویسکوز ( $۴۶/۸۰ \pm ۲۶/۳۹$ ) بود ( $p=۰/۰۲$ ). همچنین میانگین درصد اسپرم های متحرک در گروه هیپروویسکوز ( $۳۰/۹۵ \pm ۱۹/۱۱$ ) درصد) به طور معنی داری کمتر از گروه غیر هیپروویسکوز

سریع یا طبیعی اسپرم ها می گردد (۹-۱۲). تحقیقات اخیر نشان دادند که کیفیت پارامترهای اسپرمی در مردان هیپروویسکوز در مقایسه با افراد بدون هیپروویسکوز کمتر می باشد، اما مکانیسم واقعی آن هنوز به خوبی شناخته نشده است (۱۳). برخی از تحقیقات نشان دادند که غلظت رادیکالهای آزاد از جمله رادیکالهای آزاد اکسیژن در مایع سمینال مردان هیپروویسکوز در مقایسه با مردان بدون هیپروویسکوز بیشتر می باشد (۱۳). با توجه به تحقیقات صورت گرفته، احتمال می رود که افزایش رادیکالهای آزاد در مایع سمینال مردان هیپروویسکوز به خاطر تجمع سلولهای سفید و اسپرم های نابالغ یا غیرطبیعی باشد. افزایش غلظت اسپرم های نابالغ و غیر طبیعی نه تنها خود منشأ رادیکالهای آزاد محسوب می شوند بلکه از طریق سیگنالهایی سبب فراخواندن سلولهای سفید به آن ناحیه می شوند تا مورد هضم واقع شوند. این امر سبب افزایش سلولهای سفید و لذا افزایش رادیکالهای آزاد نیز می گردد (۱۴و۱۵).

به نظر می رسد که شرایط هیپروویسکوز احتمالاً سبب کاهش سطح آنتی اکسیدانهای تام در مایع سمینال می گردد. این امر می تواند منجر به تجمع رادیکالهای آزاد در مایع سمینال و تشدید اثرات پاتولوژیکی آنها بر روی اسپرم ها گردد. تنها مطالعه ای که مرتبط با این موضوع صورت گرفته تحقیق Siciliano و همکارانش می باشد که برای اولین بار نشان دادند سطح فعالیت آنزیم آنتی اکسیدانی (Superoxide Dismutase, SOD)، در مایع سمینال گروه هیپروویسکوز به طور چشمگیری در مقایسه با گروه غیرهیپروویسکوز کمتر می باشد (۱۳). از آنجایی که اثر شرایط هیپروویسکوز بر روی کیفیت اسپرم و خطر ناباروری حاصل از آن تا حدود زیادی اثبات شده است، اما مکانیسمی که در آن شرایط هیپروویسکوز بر روی عملکرد و توانایی بارورسازی اسپرم تاثیر منفی می گذارد به خوبی شناخته نشده است. بنابراین با شناخت مکانیسم های احتمالی آن می توان تا حدود زیادی راه حلی برای درمان شرایط هیپروویسکوز و جلوگیری از اثرات آن را بر روی عملکرد اسپرم پیدا نمود. احتمال می رود که یکی از مکانیسمهای اثر منفی آن بر روی کاهش کیفیت اسپرم در مردان نابارور، تا حدودی به خاطر کاهش سطح آنتی اکسیدانهای مایع سمینال باشد. لذا به دلیل اهمیت این موضوع و نقش آنتی اکسیدانهای تام در حیات و عملکرد اسپرم، این مطالعه به منظور بررسی و مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانها تام در مایع سمینال مردان هیپروویسکوز با غیرهیپروویسکوز انجام پذیرفت.

### مواد و روشها

**جمعیت نمونه ها:** در این مطالعه مقطعی، تعداد ۴۷ نمونه سمن از مردان نابارور هیپروویسکوز ( $n=۲۲$ ) و نابارور غیر هیپروویسکوز ( $n=۲۵$ )، استان مازندران و استان همجوار با میانگین سنی  $۳۴/۴۵ \pm ۲۹$  سال (۲۲ تا ۳۶ سال)، در طول سال ۸۸-۱۳۸۷ از مرکز باروری و ناباروری فاطمه الزهرا (س) بابل جمع آوری شدند. قبل از جمع آوری، پرسشنامه ای به بیماران داده شد. بیمارانی که دارای سابقه هر گونه استعمال دخانیات، مصرف داروی خاص و بیماری های موثر به ویژه واریکوسل بودند، وارد مطالعه نشدند. نمونه ها بعد از ۲ تا ۳ روز دوری از آمیزش در همان مراکز باروری و ناباروری در ظرف های استریل جمع آوری و سپس از لحاظ کیفیت پارامترهای اسپرم مورد آنالیز قرار گرفتند.

**آنالیز پارامترهای اسپرم:** نمونه های جمع آوری شده حدود نیم الی یک ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه شدند تا از شکل آگلوتینه به صورت مایع

می دهند (۲). به همین خاطر سیستم آنتی اکسیدانی مایع سیمنال به عنوان مهمترین سد دفاعی اسپرم ها محسوب می شود و با جمع آوری رادیکالهای آزاد، از حیات و عملکرد اسپرم محافظت می کنند (۱۹ و ۲۰). بنابراین هر عاملی که سبب کاهش سطح آنتی اکسیدانهای مایع سیمنال گردد منجر به اختلال در تعادل آنتی اکسیدانها و رادیکالهای آزاد شده و بر روی عملکرد اسپرم اثرات مخرب اعمال می کند. هیپروسیکوز از جمله فاکتورهایی می باشد که بر روی عملکرد طبیعی اسپرم ها به ویژه حرکت آنها تاثیر منفی گذاشته و مانع از بارورسازی تخمک ها می شود. مطالعات متعددی حاکی از آن است که شرایط هیپروسیکوز، باعث تاثیر منفی بر روی کیفیت پارامترهای اسپرمی می شود، ولی مکانیسم واقعی آن هنوز به خوبی شناخته شده نیست (۹-۱۲).

به نظر می رسد که شرایط هیپروسیکوزیته با مهار حرکت اسپرم، سبب تجمع آنها در مایع سمن می شود. از آنجایی که سلولهای سفید و اسپرم های نابالغ و غیر طبیعی به عنوان مهمترین منشاء رادیکالهای آزاد در سمن مردان محسوب می شوند، بنابراین تجمع سلولهای سفید تا حدود زیادی این واقعیت را توجیه می کند، که افزایش رادیکالهای آزاد سبب کاهش غلظت موثر آنتی اکسیدانها شده و شرایط را برای اثرات پاتولوژیک آنها فراهم می نماید (۲۱). بنابراین با توجه به تحقیقات صورت گرفته و تحقیق حاضر، این احتمال وجود دارد که یکی از مکانیسم های احتمالی اثر شرایط هیپروسیکوز بر روی کیفیت و عملکرد اسپرم، از طریق کاهش سطح آنتی اکسیدان های مایع سیمنال واسطه گردد. با کاهش سطح آنتی اکسیدانهای مایع سیمنال، تاثیر پاتولوژیک رادیکالهای آزاد فراهم شده و رادیکالهای آزاد با آسیب به پروتئین ها (از جمله پروتئین های غشایی اسپرم)، قندها (از جمله قند ریبوز در DNA) و لیپید های غشایی سبب اختلال در حرکت، مورفولوژی و توانایی بارورسازی اسپرم ها شوند (۲۳-۲۴). لذا کاهش سطح آنتی اکسیدانهای مایع سیمنال شاید جوابگوی یکی از دلایل کاهش کیفیت اسپرم و توانایی باروری در مردان با سمن هیپروسیکوز باشد.

نتایج این تحقیق نشان داد که کیفیت پارامترهای اسپرم در مردان نابارور هیپروسیکوز در مقایسه با مردان نابارور، بدون شرایط هیپروسیکوز به طور معنی داری کمتر بود که می توان دلیل آن را به کاهش فعالیت آنتی اکسیدانهای تام در پی افزایش شدت استرس اکسیداتیو در سمن افراد هیپروسیکوز نسبت داد. با توجه به اینکه یکی از مکانیسم های احتمالی که در آن شرایط، هیپروسیکوز بر روی توانایی باروری مردان تاثیر می گذارد از طریق کاهش سطح آنتی اکسیدانهای مایع سیمنال و در پی آن افزایش اثرات پاتولوژیک رادیکالهای آزاد می باشد، بررسی غلظت یا فعالیت آنتی اکسیدانهای تام در مایع سیمنال مردان، مخصوصا مردان هیپروسیکوز از اهمیت خاصی برخوردار بوده و به عنوان یکی از فاکتورهای اساسی باید به دقت مورد بررسی قرار گیرد. پیشنهاد می گردد که مردان با سمن هیپروسیکوز برای افزایش توانایی بارورسازی اسپرم در دوران آمیزش از آنتی اکسیدانهای زیادی استفاده نمایند.

### تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاههای مازندران و علوم پزشکی بابل و همچنین از کلیه کارشناسان مرکز ناباروری حضرت فاطمه زهرا (س) بابل که کمک زیادی به ما در جمع آوری و آنالیز پارامترهای اسپرمی نمودند تشکر و قدردانی می شود.

(۵۲/۸±۱۵/۴۱ درصد) بدست آمد ( $P<0/001$ ). میانگین درصد اسپرم هایی با مورفولوژی طبیعی در مردان با سمن هیپروسیکوز ( $4/23 \pm 2/5$  درصد) به طور معنی داری ( $P<0/001$ ) کمتر از مردان با سمن غیر هیپروسیکوز ( $7/56 \pm 3/16$  درصد) بوده است (جدول ۱). نتیجه حاصل از مقایسه اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانهای تام در دو گروه، نشان داد که میانگین فعالیت آنتی اکسیدانهای تام در مایع سیمنال مردان نابارور غیر هیپروسیکوز ( $1710/31 \pm 458/67$  میکرومولار در لیتر) به طور معنی داری بیشتر از مردان با سمن هیپروسیکوز ( $1230/25 \pm 352/00$  میکرومولار در لیتر) بود ( $P<0/001$ ).

### جدول ۱. مقایسه کیفیت پارامترهای اسپرمی بین دو گروه

#### هیپروسیکوز و غیر هیپروسیکوز

| پارامترهای اسپرم                             | نابارور<br>هیپروسیکوز | نابارور<br>غیر هیپروسیکوز | pvalue |
|----------------------------------------------|-----------------------|---------------------------|--------|
| تعداد نمونه                                  | ۲۲                    | ۲۵                        | -      |
| سن (سال)                                     | $29 \pm 3/61$         | $29 \pm 3/37$             | ۱      |
| حجم انزال (میلی لیتر)                        | $3/25 \pm 1/37$       | $4/0 \pm 1/41$            | ۰/۰۷   |
| تعداد اسپرم ( $\times 10^6$ در هر میلی لیتر) | $29/32 \pm 25/35$     | $46/80 \pm 26/29$         | ۰/۰۲   |
| تعداد کل اسپرم ( $\times 10^6$ )             | $99/23 \pm 99/29$     | $189/9 \pm 115/62$        | ۰/۰۰۶  |
| درصد اسپرم های متحرک (%)                     | $30/95 \pm 19/11$     | $52/8 \pm 15/41$          | ۰/۰۰۱  |
| درصد اسپرم هایی با مورفولوژی طبیعی (%)       | $4/23 \pm 2/5$        | $7/56 \pm 3/16$           | ۰/۰۰۱  |

### بحث و نتیجه گیری

در این تحقیق، فعالیت آنتی اکسیدانها در افراد هیپروسیکوز به طور چشمگیری در مقایسه با بیماران غیرهیپروسیکوز کاهش نشان داد. این موضوع احتمالا کاهش کیفیت اسپرم در مردان هیپروسیکوز را می تواند توجیه نماید. چون بین کاهش سطح آنتی اکسیدانها و کیفیت اسپرم یک ارتباط مثبت معنی دار وجود دارد (۱۳). مطالعات محدودی این شرایط را مورد مطالعه قرار دادند. برای اولین بار، Siciliano و همکارانش سطح برخی از آنتی اکسیدانهای آنزیمی به ویژه سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز و سطح آنتی اکسیدانهای غیرآنزیمی به خصوص فلز روی را در مایع سیمنال حدود ۱۲۰ بیمار با شرایط هیپروسیکوز و غیرهیپروسیکوز، اندازه گیری و مقایسه کردند. نتایج حاصل از تحقیق آنها نشان داد که نه تنها کیفیت پارامترهای اسپرمی در مردان هیپروسیکوز در مقایسه با افراد غیرهیپروسیکوز کمتر بود، بلکه سطح آنتی اکسیدانها، به ویژه آنزیم SOD، در مایع سیمنال گروه هیپروسیکوز به طور چشمگیری در مقایسه با گروه غیرهیپروسیکوز کمتر بود (۱۳). نتایج مطالعه ما نیز تا حدود زیادی قابل مقایسه با مطالعه آنها می باشد.

از آنجایی که حدود ۸۰٪ از لیپیدهای غشایی سلولهای اسپرم از نوع اسیدهای چرب غیر اشباع با پیوندهای چندگانه می باشند، در مقایسه با سایر سلولهای بدن، حساسیت بیشتری نسبت به اثرات پاتولوژیک ناشی از رادیکالهای آزاد دارند (۲). از طرفی چون سلولهای اسپرم در طول تقسیم میوز، حجم عمده ای از سیتوپلاسم خود را از دست می دهند لذا بخش زیادی از سیستم های دفاعی سیتوپلاسمی خود (به ویژه آنتی اکسیدانهای آنزیمی و غیر آنزیمی) را از دست

## Comparison of Seminal Plasma Total Antioxidant Capacity in Human Semen with Hyperviscosity and Non-Hyperviscosity

E. Tahmasbpour Marzony (PhD)<sup>1</sup>, S.G.A. Jorsaraei (PhD)<sup>2\*</sup>, M. Pouramir (PhD)<sup>3</sup>,  
A. Hosseinzadeh Colagar (PhD)<sup>4</sup>

1. Young Research Club, Islamic Azad University, Sari Branch, Sari, Iran
2. Fatemeh Zahra Infertility and Health Reproductive Research Center, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran
3. Department of Biochemistry and Biophysics, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran
4. Department of Cellular and Molecular Biology, Faculty of Science, Mazandaran University, Babolsar, Iran

J Babol Univ Med Sci; 14(6); Nov 2012; pp: 39-44

Received: Feb 19<sup>th</sup> 2012, Revised: May 2<sup>nd</sup> 2012, Accepted: Jul 4<sup>th</sup> 2012.

### ABSTRACT

**BACKGROUND AND OBJECTIVE:** Several factors have influence on sperm fertilization, between them semen hyperviscosity is one of the idiopathic factors involved in sperm viability and function deficiency. Probably, decrease in human seminal antioxidants is one of the negative effects of hyperviscosity on sperm function. The aim of this study was to compare the total antioxidant activity (TAC) in seminal plasma of infertile patients with hyperviscosity and non- hyperviscosity.

**METHODS:** In this cross sectional study, 47 semen samples were provided from infertile patients with hyperviscosity (n=22) and without hyperviscosity (n=25) at Fatemeh Zahra Infertility and Health Reproductive Research Center. After determine the semen hyperviscosity by measuring the length of the thread on withdrawal of the rod, sperm parameters (volume, sperm counts, motility and normal morphology) were evaluated on microscopic examination. TAC was measured in all samples by FRAP method and compared.

**FINDINGS:** The mean of sperm parameters including: counts ( $29.32 \pm 25.35$ ), motility ( $30.95 \pm 19.11$ ) and normal morphology ( $4.23 \pm 2.5$ ) in patients with hyperviscosity were significantly lower than those in non-hyperviscosity patients (counts  $46.80 \pm 26.29$ , motility ( $52.8 \pm 15.41$ ) and normal morphology ( $7.56 \pm 3.16$ )) ( $p < 0.02$ ,  $p < 0.001$  and  $p < 0.001$ , respectively). The mean of TAC in seminal plasma of non- hyperviscosity patients ( $1710.31 \pm 458.67 \mu\text{mol/l}$ ) was significantly higher than that of hyperviscosity group ( $1230.25 \pm 352 \mu\text{mol/l}$ ) ( $p < 0.01$ ).

**CONCLUSION:** Our results showed that there is a positive significant correlation between TAC and sperm parameters quality. Decrease in TAC concentration in seminal plasma of patients with hyperviscosity is one of the probability mechanisms for sperm parameters abnormality.

**KEY WORDS:** Semen hyperviscosity, Seminal antioxidants, Infertility.

\* Corresponding Author;

Address: Fatemeh Zahra Infertility and Health Reproductive Research Center, Babol University of Medical Sciences, Babol, Iran

Tel: +98 111 2274881-2

E-mail: alijorsara@yahoo.com

## References

- 1.Church DF, Pryor WA. Free radical chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications. *Environ Health Perspect* 1985;64:111-26.
- 2.Agarwal A, Prabakaran SA. Mechanism, measurement and prevention of oxidative stress in male reproductive physiology. *Indian J Exp Biol* 2005;43:963-74.
- 3.Agarwal A, Saleh RA. Role of oxidants in male infertility: Rationale, significance, and treatment. *Urol Clin North Am* 2002;29(4):817-27.
- 4.Agarwal A, Prabakaran S, Allamaneni SS. Relationship between oxidative stress, varicocele and infertility. *Reprod Biomed Online* 2006;12(5):630-3.
- 5.Hosseinzadeh Kolagar A, Pouramir M, Tahmasbpour Marzouni I. Seminal plasma total antioxidants capacity of the infertile smoker and nonsmoker men. *Shahid Chamran Univ J Sci* 2008;19(Section B):124-31. [in Persian]
- 6.Colagar AH, Marzony ET, Chaichi MJ. Zinc levels in seminal plasma are associated with sperm quality in fertile and infertile men. *Nutr Res* 2009;29(2):82-8.
- 7.Colagar AH, Marzony ET. Ascorbic acid in human seminal plasma: determination and its relationship to sperm quality. *J Clin Biochem Nutr* 2009;45(2):144-9.
- 8.Hosseinzadeh Colagar A, Pouamir M, Tahmasbpour Marzony E, Jorsaraee SGA. Relationship between seminal malondialdehyde levels and sperm quality in fertile and infertile men. *Braz Arch Biol Technol* 2009;52(6):1387-92.
- 9.Gonzales GF, Kortebani G, Mazzolli AB. Hyperviscosity and hypofunction of the seminal vesicles. *Arch Androl* 1993;30(1):63-8.
- 10.Mendeluk GR, Blanco AM, Bregni C. Viscosity of human seminal fluid: role of lysozyme. *Arch Androl* 1997;38(1):7-11.
- 11.Mendeluk GR, Munuce MJ, Carizza C, Sardi M, Bregni C. Sperm motility and ATP content in seminal hyperviscosity. *Arch Androl* 1997;39(3):223-7.
- 12.Mendeluk GR, Gonzalez Flecha FL, Castello PR, Bregni C. Factors involved in the biochemical etiology of human seminal plasma hyperviscosity. *J Androl* 2000;21(2):262-7.
- 13.Siciliano L, Tarantino P, Longobardi F, Rago V, Destefano C, Carpino A. Impaired seminal antioxidant capacity in human semen with hyperviscosity or oligoasthenozoospermia. *J Androl* 2001;22(5):798-803.
- 14.Aitken RJ, Baker MA. Oxidative stress, sperm survival and fertility control. *Mol Cell Endocrinol* 2006;250(1-2):66-9.
- 15.Agarwal A, Saleh RA. Role of oxidants in male infertility: rationale, significance, and treatment. *Urol Clin North Am* 2002;29(4):616-27.
- 16.Esteves SC, Zini A, Aziz N, Alvarez JG, Sabanegh ES Jr, Agarwal A. Critical appraisal of World Health Organization's new reference values for human semen characteristics and effect on diagnosis and treatment of subfertile men. *Urology* 2012;79(1):16-22.
- 17.Kruger TF, Menkveld R, Stander FS, et al. Sperm morphologic features as a prognostic factor in in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1986;46(6):1118-23.
- 18.Benzie IF. Lipid peroxidation: a review of causes, consequences, measurement and dietary influences. *Int J Food Sci Nutr* 1996;47(3):233-62.
- 19.Saleh RA, Agarwal A. Oxidative stress and male infertility: from research bench to clinical practice. *J Androl* 2002;23(6):737-52.
- 20.Sikka SC. Role of oxidative stress and antioxidants in andrology and assisted reproductive technology. *J Androl* 2004;25(1):5-18.
- 21.Fujii J, Iuchi Y, Matsuki S, Ishii T. Cooperative function of antioxidant and redox systems against oxidative stress in male reproductive tissues. *J Androl* 2003;5(3):231-42.

22. Saleh RA, Agarwal A, Nada EA, et al. Negative effects of increased sperm DNA damage in relation to seminal oxidative stress in men with idiopathic and male factor infertility. *Fertil Steril* 2003;79(Suppl 3):1597-605.
23. Shi YC, Sun HM, Shang XJ, Zhu PY, Huang YF. Total antioxidant capacity of seminal plasma in fertile and infertile men. *Zhonghua Nan Ke Xue* 2005;11(12):915-17.
24. Shi YC, Shang XJ, Wang XL, Huang YF. Correlation of total antioxidant capacity in seminal plasma with sperm motility of infertile men. *Zhonghua Nan Ke Xue* 2006;12(8):703-5.