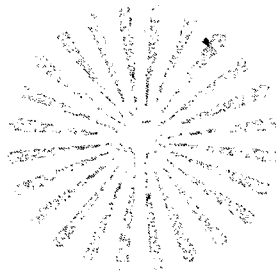




94118

۸۷، ۱۱، ۲۰  
۸۷، ۱۱، ۲۰



دانشگاه پیام نور - مرکز تهران  
دانشکده علوم پایه - گروه زیست شناسی

عنوان پایان نامه

پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی اسپرم و نقش آنتی اکسیدانها در مایع  
سمینال مردان بارور و نابارور

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد رشته زیست شناسی - بیوشیمی

مؤلف:

عیسی طهماسب پور مرزونی

اساتید راهنما:

دکتر اباصلت حسین زاده کلاگر - دکتر مهدی پور امیر

تیر ماه ۱۳۸۷

۹۹۱۱۵



تاریخ .....

شماره .....

پیوست .....

**(( تصویب نامه ))**

پایان نامه تحت عنوان :

**" پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی اسپرم و نقش  
آنتی اکسیدانها در مردان بارور و نابارور "**

تاریخ دفاع : ۸۷/۴/۲ ساعت : ۱۵-۱۶:۳۰ نمره : ۱۹/۶ درجه : عالی

اعضای هیات داوران :

امضاء	مرتبه علمی	هیات داوران	نام و نام خانوادگی
	استاد	استاد راهنما	۱- جناب آقای دکتر اباضلت حسین زاده کلاگر
	استاد	استاد راهنمای همکار	۲- جناب آقای دکتر مهدی پورامیر
	استاد	استاد مشاور	۳- جناب آقای دکتر رضا حاجی حسینی
	استاد	استاد داور داخلی	۴- جناب آقای دکتر ناظم
	استاد	استاد داور خارجی	۵- جناب آقای دکتر لامع راد
	نماینده گروه		۶- سرکار خانم شامحمدی

۸۷ / ۴ / ۲

تقدیم به پدر و مادر عزیز و مهربانم که همیشه دعای خیر آنها تضمین  
موفقیت من در تمام مراحل زندگی و تحصیلاتم بوده.

و

برادرها و خواهرهای عزیزم که همواره با لبخندهای خود روحیه  
مضاعف به کارهام می دادند

## با تشکر فراوان از اساتید ارجمند:

- **آقای دکتر اباصلت حسین زاده کلاگر** که نه تنها به عنوان یک استاد، بلکه به عنوان یک دوست در تمام مراحل پایان نامه همواره از راهنمایی ایشان کمال استفاده را برده ام.
- **آقای دکتر پور امیر** که همواره در مواقع مشکلات بنده را از راهنمایی خویش بی دریغ نموده اند.
- **آقای دکتر جورسرای** که جهت هماهنگی جمع آوری و آنالیز نمونه ها در مراکز IVF الزهرای بابل زحمات زیادی کشیدند.
- **آقای دکتر چایچی** که جهت هماهنگی بخشی از کار اینجانب در آزمایشگاه شیمی زحمات زیادی تقبل کردند.
- **آقای دکتر حاجی حسینی** که مسئولیت مشاوره پایان نامه اینجانب را قبول زحمت کردند.

## دوستان گرامی:

- **آقای پوریا بی پروا** دانشجوی دکتری شیمی که کمک بسیار زیادی در هماهنگی برخی از دستگاه ها داشتند، با آرزوی موفقیت برای ایشان.
- دوستان گرامی در مرکز ناباروری الزهرای بابل، **خانم ها حیدری، هاشمی و فسیان** که در تمام مراحل جمع آوری و آنالیز نمونه ها کمک زیادی کردند.
- **خانم مریم بادپر**، کارشناس محترم زیست شناسی و **آقای کیوان جلیوند** دانشجوی رشته زیست شناسی که زحمت زیادی در فراهم کردن وسایل و مواد آزمایشگاهی برای انجام بخشی از کارهای اینجانب در آزمایشگاه زیست شناسی داشتند.
- **خانم ها: مهسا مهرپرور، فرزانه ربیعی و شکوه عسگری** از دانشجویان محترم رشته زیست شناسی که با علاقه مندی زیاد کمک زیادی در پیشرفت پایان نامه اینجانب داشتند.

## مدیران، مسئولین و کارشناسان محترم:

- مدیر گروه دانشکده زیست شناسی**، دانشکده علوم پایه مازندران، که امکان استفاده از تجهیزات آزمایشگاهی را برای اینجانب فراهم نمودند.
- مدیران گروه های شیمی**، دانشکده شیمی مازندران، که امکان استفاده از تجهیزات آزمایشگاهی را در اختیار اینجانب قرار دادند.
- مدیر گروه بیوشیمی - بیوفیزیک**، دانشگاه علوم پزشکی بابل، که امکان استفاده از تجهیزات آزمایشگاهی را در اختیار اینجانب قرار دادند.
- مسئولین مرکز باروری و ناباروری فاطمه الزهرای بابل** که کمک زیادی در جمع آوری و آنالیز نمونه داشتند.
- و همه **دوستان و عزیزانی** که به نحوی در پیشبرد پایان نامه اینجانب به نحوی نقش داشتند نهایت تشکر را خواهم داشت.

## چکیده

آنتی اکسیدانها با جمع آوری رادیکالهای آزاد، نقش مهمی در حفاظت سلولها بر علیه اثرات اکسیداتیوی دارند. یکی از اثرات پاتولوژیک رادیکالهای آزاد، پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی می باشد که احتمالاً با کاهش سیالیت و عملکرد غشاء همراه است. از آنجایی که سلولهای اسپرم برخلاف دیگر سلولهای بدن دارای درصد اسیدهای چرب غیراشباع زیادی در ساختار غشایی خود هستند، حساسیت زیادی نسبت به اثرات پاتولوژیک رادیکالهای آزاد دارند. بنابراین انتظار می رود که کاهش سطح آنتی اکسیدانهای مایع سمینال، که به عنوان یکی از مهمترین سد دفاعی سلولهای اسپرم در برابر رادیکالهای آزاد هستند، ارتباط نزدیکی با کیفیت اسپرم ها داشته باشد و کاهش سطح آنها به عنوان یکی از دلایل ایدیوپاتیک ناباروری مردان محسوب گردد. به همین منظور در این تحقیق، ما وضعیت آنتی اکسیدانی مایع سمینال از جمله سطح ویتامین C و در پی آن وضعیت پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی اسپرم را به عنوان یکی از دلایل کاهش کیفیت اسپرم و توانایی باروری در مردان نابارور ایدیوپاتیک و سیگاری مورد بررسی قرار دادیم.

در این تحقیق ۱۰۱ نمونه از سمن مردان بارور و نابارور سیگاری-غیرسیگاری از مرکز IVF<sup>1</sup> بابل در طول سالهای ۸۶-۱۳۸۵ جمع آوری گردید. پارامترهای اسپرمی (شامل تعداد، حرکت و مورفولوژی اسپرم) به روش های معمول میکروسکوپی و بر اساس قانون WHO<sup>2</sup> آنالیز شدند. برای بررسی وضعیت آنتی اکسیدانی، سطح آنتی اکسیدان تام و غلظت ویتامین C در تمام نمونه ها به ترتیب با روش های FRAP<sup>3</sup> و HPLC<sup>4</sup> اندازه گیری گردیدند. برای تخمین شدت لیپید پراکسیداتیوی مایع سمینال، غلظت مالون دی الدیئید به روش تیوباربیتریک اسید اندازه گیری شد.

نتایج حاصل از مقایسه کیفیت اسپرم بین مردان بارور و نابارور سیگاری-غیرسیگاری نشان داد که اولاً بین کیفیت اسپرم در مردان بارور و نابارور اختلاف معنی داری وجود دارد و در واقع اکثر مردان نابارور با کاهش شدید تعداد، حرکت و مورفولوژی اسپرم مواجه بودند. از طرفی مقایسه کیفیت اسپرم بین مردان سیگاری و غیرسیگاری نشان داد که مردان سیگاری در مقایسه با مردان غیرسیگاری تا حدودی از کیفیت اسپرمی پائین تری برخوردار هستند از طرفی اثر سیگار تا حدودی اما نه معنی دار وابسته به دوز بود. بررسی وضعیت آنتی اکسیدانی مایع سمینال در نمونه ها نشان داد که مردان بارور در مقایسه با مردان نابارور به طور معنی داری دارای سطح TAC<sup>5</sup> و غلظت ویتامین C بالاتری می باشند، از طرفی مقایسه سطح آنتی اکسیدانی مایع سمینال بین مردان سیگاری و غیرسیگاری نشان داد که مردان غیرسیگاری دارای سطح TAC و ویتامین C بالاتری در مقایسه با مردان سیگاری می باشند اما این تفاوت معنی دار نبود. بررسی وضعیت لیپیدپراکسیداتیوی در این چهار گروه نیز نشان داد که مردان نابارور در مقایسه با مردان

<sup>1</sup> *In Vitro* Fertilization

<sup>2</sup> World Health Organization

<sup>3</sup> Ferric Reducing of Antioxidant Power

<sup>4</sup> High Performance Liquid Chromatography

<sup>5</sup> Total Antioxidant Capacity

نابارور به طور معنی داری دارای MDA<sup>1</sup> بالاتری در مایع سمینال خود می باشند از طرفی مقایسه سطح پراکسیداتیوی بین مردان سیگاری و غیرسیگاری هیچ اختلاف معنی داری را نشان نداد، هر چند مردان سیگاری تا حدودی دارای سطح MDA بالاتری در مایع سمینال خود بودند.

نتایج فوق به همراه نتایج حاصل از دیگر محققین نشان می دهد که، پراکسیداسیون لیپیدی حاصل از کمبود آنتی اکسیدانهای مایع سمینال احتمالاً به عنوان یکی از فاکتورهای ایدیوپاتیک تشدید کننده کاهش کیفیت اسپرم در مردان نابارور و سیگاری میباشد، که این کاهش سطح آنتی اکسیدانی، تا حدود زیادی به خاطر افزایش سطح رادیکالهای آزاد است که منجر به کاهش غلظت موثر آنتی اکسیدانهای مایع سمینال، از جمله ویتامین C می گردد.

با استناد به نتایج فوق پیشنهاد می گردد که مصرف مکمل های آنتی اکسیدانی از جمله ویتامین C می تواند احتمالاً کمک زیادی به توانایی باروری مردان نابارور ایدیوپاتیک و مردان سیگاری داشته باشد. از طرفی بررسی وضعیت آنتی اکسیدانی مایع سمینال مردان قبل از انجام اعمالی همچون ICSI<sup>2</sup> و یا IVF بسیار حائز اهمیت است. چرا که یکی از اثرات پاتولوژیک رادیکالهای آزاد در اثر کاهش سطح آنتی اکسیدانها، ایجاد جهش در DNA سلولهای اسپرم می باشد که ممکن است منجر به یک لقاح ناموفق گردد، بنابراین با توجه به اینکه در اکثر موارد اعمال ICSI ناموفق می باشد، لذا وضعیت لیپید پراکسیداتیوی حاصل از افزایش سطح رادیکالهای آزاد و کاهش سطح آنتی اکسیدانها احتمالاً می توانند به عنوان یکی از فاکتورهای موثر مورد بررسی قرار گیرند.

**کلمات کلیدی:** مردان نابارور ایدیوپاتیک، مردان سیگاری، مایع سمینال، آنتی اکسیدانهای تام (TAC)، مالون دی آلدئید (MDA)، آسکوربیک

اسید، پارامترهای اسپرمی

---

<sup>1</sup> Malondialdehyde

<sup>2</sup> Intra Cytoplasmic Sperm Microinjection

## فهرست مطالب

صفحه	عنوان
III	چکیده فارسی
V	فهرست مطالب
VII	فهرست جداول
VIII	فهرست اشکال
IX	مخف ها
<b>فصل اول- کلیات</b>	
۲	۱-۱ کلیات
۲	۲-۱ تعریف مسئله و بیان سوال های تحقیق
۳	۳-۱ اهداف
<b>فصل دوم- مقدمه و بررسی منابع</b>	
۶	۱-۲ ناباروری مردان و شایعترین علل های آن
۷	۲-۲ نگاهی مختصر به شایعترین علل های ناباروری در مردان
۷	۱-۲-۲ اختلالات بیضه ای
۸	۲-۲-۲ علل ایمنولوژیکی
۸	۳-۲-۲ برخی از بیماری ها
۱۰	۴-۲-۲ ناهنجاری های هورمونی
۱۱	۵-۲-۲ مصرف برخی از داروها
۱۲	۶-۲-۲ علل محیطی و نحوه زندگی افراد
۱۳	۷-۲-۲ اختلالات ژنتیکی و مولکولی
۱۴	۸-۲-۲ علل های ناشناخته یا ایدیوپاتیک
۱۵	۳-۲ استرس اکسیداتیو و اثر آن بر روی سلولها
۱۸	۴-۲ منشا ROS ها در مایع سمینال مردان
۱۸	۱-۴-۲ تولید ROS ها توسط سلولهای اسپرماتوزوآ
۱۹	۲-۴-۲ تولید ROS ها توسط لکوسیت ها
۲۰	۵-۲ اثرات پاتولوژیک ROS ها بر روی سلولها
۲۰	۱-۵-۲ اثر ROS ها بر روی پراکسیداسیون لیپیدها
۲۳	۲-۵-۲ اثر ROS ها بر روی اکسیداسیون پروتئین ها
۲۳	۳-۵-۲ اثر ROS ها بر روی DNA سلولها
۲۴	۴-۵-۲ اثر ROS ها بر روی آپوپتوزیس سلولها
۲۵	۶-۲ آنتی اکسیدانها و نقش آنها در برابر استرس اکسیداتیو
۲۶	۱-۶-۲ سیستم های آنتی اکسیدانتی آنزیمی
۲۷	۲-۶-۲ سیستم های آنتی اکسیدانتی غیر آنزیمی
<b>فصل سوم- مواد و روش ها</b>	
۳۰	۱-۳ وسایل و دستگاه



۳۰	۲-۳ معرف ها و مواد شیمیایی
۳۱	۱-۲-۳ مواد شیمیایی مورد نیاز برای ساخت محیط Hams F <sub>10</sub> جهت شستشوی اسپرم ها
۳۱	۲-۲-۳ محلولها و معرف های لازم برای FRAP
۳۱	۱-۲-۲-۳ معرف ۱۰ mM TPTZ
۳۱	۲-۲-۲-۳ بافر استات ۳۰mM با pH ۳/۶
۳۱	۳-۲-۲-۳ کلرید فریک (FeCl <sub>3</sub> 20mM)
۳۲	۴-۲-۲-۳ ساخت محلول کار FRAP
۳۲	۵-۲-۲-۳ محلولهای استاندارد FRAP
۳۳	۳-۲-۳ ساخت معرف TBA جهت اندازه گیری مالون دی آلدئید
۳۳	۴-۲-۳ ساخت حلال یا فاز متحرک HPLC
۳۳	۳-۳ جمع آوری نمونه های سمن
۳۵	۴-۳ جمعیت نمونه ها
۳۵	۵-۳ آنالیز پارامترهای اسپرمی
۳۶	۱-۵-۳ اندازه گیری پارامترهای اسپرمی قبل از swim-up
۳۶	۲-۵-۳ اندازه گیری پارامترهای اسپرمی بعد از swim-up
۳۶	۳-۵-۳ شستشوی سلولهای اسپرم به روش swim-up
۳۷	۶-۳ اندازه گیری TAC به روش FRAP
۳۹	۷-۳ اندازه گیری MDA به روش TBA
۴۰	۸-۳ اندازه گیری ویتامین C به روش HPLC
۴۰	۹-۳ روش آماری تجزیه و تحلیل اطلاعات

#### فصل چهارم - نتیجه

۴۲	۱-۴ جمعیت و انتخاب نمونه ها
۴۳	۲-۴ نتیجه حاصل از آنالیز پارامترهای اسپرمی
۴۳	۱-۲-۴ نتیجه حاصل از آنالیز کیفیت اسپرم در مردان بارور و نابارور سیگاری - غیر سیگاری قبل از swim-up
۴۵	۲-۲-۴ نتیجه حاصل از آنالیز کیفیت اسپرم در مردان بارور و نابارور سیگاری - غیر سیگاری بعد از swim-up
۴۶	۳-۲-۴ نتیجه حاصل از آنالیز کیفیت اسپرم بین گروههای سیگاری بر اساس دوز مصرف سیگار
۴۷	۳-۴ نتیجه حاصل از غلظت TAC در مردان بارور و نابارور سیگاری - غیر سیگاری
۴۹	۴-۴ نتیجه حاصل از غلظت MDA در مردان بارور و نابارور سیگاری - غیر سیگاری
۵۱	۵-۴ نتیجه حاصل از غلظت ویتامین C به روش HPLC
۵۸	۶-۴ نتیجه حاصل از مقایسه ارتباط بین سطح TAC و کیفیت اسپرم
۶۰	۷-۴ نتیجه حاصل از مقایسه ارتباط بین سطح MDA و کیفیت اسپرم
۶۱	۸-۴ نتیجه حاصل از مقایسه ارتباط بین سطح ویتامین C و کیفیت اسپرم
۶۲	۹-۴ نتیجه حاصل از مقایسه ارتباط بین سطح TAC و MDA
۶۳	۱۰-۴ ارتباط بین ویتامین C و غلظت MDA

#### فصل پنجم - بحث

۶۵	۵- بحث
۷۰	۶- نتیجه گیری کلی
۷۱	۷- پیشنهادات
۷۲	۸- منابع و مآخذ
۷۸	۹- ضمائم

## فهرست جداول

صفحه	عنوان
۷	جدول ۱-۲) خلاصه ای از شایعترین علل های ناباروری در مردان
۱۲	جدول ۲-۲) برخی از داروهای تجویزی که بر روی اسپرم ها اثر منفی اعمال می کنند.
۱۷	جدول ۳-۲) انواع بیماری های شایعی که توسط استرس اکسیداتیو منشاء می شوند
۱۷	جدول ۴-۲) انواع رادیکالهای آزاد اکسیژن و نیتروژنی که منجر به القاء استرس اکسیداتیو می شوند
۳۱	جدول ۱-۳) مواد شیمیایی مورد نیاز برای ساخت محیط Hams F <sub>10</sub>
۳۵	جدول ۲-۳) کیفیت پارامترهای نرمال اسپرمی بر اساس قانون WHO
۴۲	جدول ۱-۴) تعداد نمونه های جمع آوری شده در سطح استانها
۴۲	جدول ۲-۴) تعداد نمونه های جمع آوری شده در شهرستانهای استان مازندران
۴۴	جدول ۳-۴) کیفیت پارامترهای اسپرمی در مردان بارور و نابارور سیگاری- غیرسیگاری قبل از swim-up
۴۵	جدول ۴-۴) کیفیت پارامترهای اسپرمی در مردان بارور و نابارور سیگاری- غیرسیگاری بعد از swim-up
۳۷	جدول ۵-۴) مقایسه کیفیت پارامترهای اسپرمی در مردان بارور و نابارور سیگاری بر اساس دوز مصرفی سیگار
۴۸	جدول ۶-۴) میانگین غلظت TAC در مایع سمینال مردان بارور و نابارور سیگاری- غیرسیگاری
۴۹	جدول ۷-۴) نتیجه حاصل از مقایسه غلظت TAC بین هر چهار گروه بر اساس <i>p-value</i>
۵۰	جدول ۸-۴) مقایسه غلظت MDA در مایع سمینال مردان بارور و نابارور سیگاری- غیرسیگاری
۵۱	جدول ۹-۴) نتیجه حاصل از مقایسه غلظت MDA بین هر چهار گروه بر اساس <i>p-value</i>
۵۷	جدول ۱۰-۴) میانگین غلظت آسکوربیک اسید بین مایع سمینال مردان بارور و نابارور سیگاری- غیرسیگاری
۵۸	جدول ۱۱-۴) نتیجه حاصل از مقایسه غلظت آسکوربیک اسید بین هر چهار گروه بر اساس <i>p-value</i>

## فهرست اشکال

صفحه	عنوان
۱۶	شکل ۱-۲) تشکیل رادیکالهای آزاد در طول زنجیره الکترونی
۱۹	شکل ۲-۲) مکانیسم ساخت ROS توسط اسپرمتوزوآهای نابالغ
۲۱	شکل ۳-۲) مراحل اکسیداسیون لیپیدها
۲۲	شکل ۴-۲) مسیر اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع و محصولات ثانوی آنها
۲۵	شکل ۵-۲) سیستم آنتی اکسیدانی و سیستم ردوکس در محافظت سلولها بر علیه استرس اکسیداتیو
۲۷	شکل ۶-۲) شماتیکی از فعالیت آنتی اکسیدانهای آنزیمی جهت خنثی کردن رادیکالهای آزاد.
۳۲	شکل ۱-۳) مراحل تهیه معرف های استانداردهای ۱۰۰۰، ۵۰۰، ۲۵۰ و ۱۲۵ میکرومولار $FeSO_4 \cdot 7H_2O$
۳۶	شکل ۲-۳) نحوه شستشوی اسپرم ها در محیط Hams F <sub>10</sub>
۳۸	شکل ۳-۳) مکانیسم روش FRAP بر اساس احیای یون فریک می باشد
۴۲	شکل ۱-۴) پراکندگی نمونه های سمن جمع شده در سطح مازندران
۴۴	شکل ۲-۴) مقایسه تعداد، حرکت و مورفولوژی اسپرم بین مردان بارور و نابارور سیگاری-غیرسیگاری
۴۶	شکل ۳-۴) مقایسه کیفیت اسپرم بین چهار گروه بعد از swim-up
۴۷	شکل ۴-۴) مقایسه کیفیت اسپرم بین چهار گروه از افراد سیگاری
۴۸	شکل ۵-۴) مقایسه غلظت TAC در چهار گروه از مردان
۵۰	شکل ۶-۴) سطح MDA بین مردان بارور و نابارور سیگاری-غیرسیگاری
۵۲	شکل ۷-۴) شماتیکی از یک نمودار کروماتوگرام غلظت آسکوربیک اسید استاندارد ۰/۰۱ میلی مولار
۵۳	شکل ۸-۴) شماتیکی از نمودار کروماتوگرام غلظت آسکوربیک اسید از مایع سمینال یک مرد بارور غیرسیگاری
۵۴	شکل ۹-۴) شماتیکی از نمودار کروماتوگرام غلظت آسکوربیک اسید از مایع سمینال یک مرد بارور سیگاری
۵۵	شکل ۱۰-۴) شماتیکی از نمودار کروماتوگرام غلظت آسکوربیک اسید از مایع سمینال یک مرد نابارور غیرسیگاری
۵۶	شکل ۱۱-۴) شماتیکی از نمودار کروماتوگرام غلظت آسکوربیک اسید از مایع سمینال یک مرد نابارور سیگاری
۵۷	شکل ۱۲-۴) مقایسه غلظت آسکوربیک اسید بین مردان بارور و نابارور سیگاری-غیرسیگاری
۵۹	شکل ۱۳-۴) مقایسه ارتباط بین سطح TAC با تعداد، درصد حرکت و مورفولوژی طبیعی اسپرم
۶۰	شکل ۱۴-۴) مقایسه ارتباط بین سطح MDA با تعداد، درصد حرکت و مورفولوژی طبیعی اسپرم
۶۱	شکل ۱۵-۴) مقایسه ارتباط بین سطح ویتامین C با تعداد، درصد حرکت و مورفولوژی طبیعی اسپرم
۶۳	شکل ۱۶-۴) ارتباط بین غلظت TAC و MDA
۶۳	شکل ۱۷-۴) ارتباط بین ویتامین C و سطح MDA
۶۹	شکل ۱-۵) مکانیسم های احتمالی اثر سیگار بر روی کیفیت اسپرم در مردان سیگاری

CAT	Catalase
F.ns	Fertile non smoker men
F.s	Fertile smoker men
FRAP	Ferric Reducing of Antioxidant Power
FSH	Follicular Stimulating Hormone
GnRH	Gonadotropin-Releasing- Hormone
GPX	Glutathione peroxidase
GR	Glutathione Reductase
GSH	Glutathione
HPG	Hypothalamic- Pituitary- Gonadal
HPLC	High Performance liquid Chromatography
ICSI	Intra Cytoplasmic Sperm Injection
IF.ns	Infertile nonsmoker men
IF.s	Infertile smoker men
LH	Luteinizing Hormone
LPO	Lipid Peroxidation
MDA	Malondialdehyde
ORAC	Oxygen Radical Absorbance Capacity
OX	Oxidative Stress
PUFA	Poly Unsaturated Fatty Acid
ROS	Reactive Oxygen Species
SOD	Super Oxide Dismutase
TAC	Total Antioxidant Capacity
TBA	2-Thiobarbituric Acid
TEAC	Trolox Equivalent Antioxidant Capacity
TPTZ	2,4,6-tripyridyl-s-triazine
Vit-C	Vitamin-C
WHO	World Health Organization
ZP	Zona Pellucida

فصل اول

کلیات

## ۱-۱ کلیات

ناباروری یکی از دغدغه های بسیار مهم پزشکی و اجتماعی محسوب می شود، چرا که عدم بچه دار شدن نه تنها منجر به اثرات شدید روحی، روانی، بلکه حتی سبب مشکلات جسمانی نیز در یک زوج می گردد. در قرون گذشته، نازایی در جامعه مصری بر خلاف دیگر تمدن ها یک مجازات الهی نبود، بلکه به عنوان یک بیماری محسوب می شد که می بایست به دقت شناسایی و درمان می شد. اگرچه تا آن زمان در مورد آناتومی و فیزیولوژی دستگاه تولید مثل اطلاعات چندانی در دست نبود، تا این که لوان هوک (Von Leeuwenhoek) میکروسکوپ را اختراع و برای اولین بار توانست اسپرماتوزوئیدها را در سال ۱۶۷۷ مشاهده کند. ولی با وجود پیشرفت های زیاد در علوم پزشکی، تا قرن اخیر زنان به عنوان مقصر اصلی ناباروری محسوب می شدند و تنها در طول چند سال اخیر، دانشمندان فهمیدند که اختلال در عملکرد اسپرم، می تواند اثرات شدیدی بر روی ناباروری داشته باشد و به عنوان علل اصلی ناباروری مردان مورد مطالعه و تحقیق قرار گرفت [۱].

امروزه حدود ۱۵٪ از زوجین جهان جهت بچه دار شدن از مشکل ناباروری رنج می برند که در این میان سهم هر یک از مرد و زن یکسان می باشد. در واقع اختلال عملکرد اسپرم شایعترین علل ناباروری در مردان محسوب می شود، که درمان آن تا به حال با مشکل روبرو بوده است. بخشی از این مشکل به خاطر آگاهی های ناقص ما از فاکتورهایی است که قادرند به نوعی بر روی عملکرد طبیعی اسپرم ها اثر گذاشته و نهایتاً منجر به ناباروری در مردان شوند. تا به حال فاکتورهای زیادی شناخته شدند که اثرات شدیدی بر توانایی باروری مردان دارند. در این میان، آسیب های آناتومیکی، هورمونی، ایمونولوژیکی، ژنتیکی، محیطی و تغذیه ای از جمله عوامل موثر شناخته شده در ناباروری مردان بوده که برخی از آنها تا حدودی قابل درمان می باشند [۲]. در کنار این عوامل، فاکتورهای دیگری نیز وجود دارند که اثرات آنها بر روی عملکرد طبیعی اسپرم و توانایی باروری مردان هنوز به خوبی شناخته نشده، این دسته از فاکتورها را فاکتورهای ایدیوپاتیک یا ناشناخته می نامند که حدود ۲۵ تا ۳۰ درصد از علل ناباروری مردان را تشکیل می دهند [۲].

## ۱-۲ تعریف مسئله و بیان سوال های تحقیق

اثر اکسیداتیوی حاصل از کمبود آنتی اکسیدانها بر روی سلولهای اسپرم امروزه به عنوان یکی از فاکتورهای ایدیوپاتیک، توجه محققین زیادی را به خود جلب کرده است. استرس اکسیداتیو یک وضعیتی از بی تعادلی میان سطح

آنتی اکسیدانها و رادیکالهای آزاد می باشد که با افزایش آسیب سلولی همراه است [۳]. سلولهای اسپرم انسان به خاطر دارا بودن اسیدهای چرب غیراشباع زیاد در ساختار غشایی خود و همچنین کمبود سیستم آنتی اکسیدان سیتوپلاسمی در طول اسپرماتوژنز، شدیداً نسبت به اثرات اکسیداتیوی حاصل از رادیکالهای آزاد حساس هستند [۴]. با این وجود، مایع سمینال مردان دارای انواعی از آنتی اکسیدانهای آنزیمی و غیرآنزیمی از جمله ویتامین C می باشد که نقش مهمی علیه اثرات پاتولوژیک رادیکالهای آزاد داشته و تا حدودی این کمبود آنتی اکسیداتیوی سیتوپلاسمی را برطرف می کند. از جمله مهمترین اثرات حاصل از رادیکالهای آزاد، پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی، اکسیداسیون پروتئین ها و DNA می باشد که می تواند احتمالاً اثرات شدیدی بر روی عملکرد غشاء و نهایتاً کیفیت اسپرم داشته باشد. با توجه به اینکه امروزه اثر اکسیداتیوی حاصل از کمبود آنتی اکسیدانها بر روی سلولهای اسپرم به عنوان یکی از دلایل ناشناخته یا ایدیوپاتیک ناباروری باقی مانده، هدف از تحقیق کنونی بررسی سطح آنتی اکسیدانها و میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی اسپرم و ارتباط آن با کیفیت اسپرم در مردان بارور و نابارور که دلایل ناباروری آنها ناشناخته است، می باشد. از آنجایی که در تحقیق حاضر نمونه های افراد سیگاری نیز مورد استفاده قرار گرفته است، بنابراین مطالعه شدت اکسیداتیوی در مایع سمینال مردان سیگاری، از دیگر اهداف این تحقیق می باشد.

با توجه به موارد مطرح شده مهمترین سوالات مورد نظر عبارتند از:

- ۱- آیا تفاوت معنی داری بین کیفیت اسپرم در مردان بارور و نابارور سیگاری-غیرسیگاری وجود دارد؟
- ۲- آیا تفاوت معنی داری بین فعالیت آنتی اکسیدانها تام (TAC) بین نمونه ها وجود دارد؟
- ۳- آیا تفاوت معنی داری بین سطح مالون دی آلدئید (MDA) در مایع سمینال نمونه ها وجود دارد؟
- ۴- آیا بین سطح ویتامین C در مایع سمینال نمونه ها تفاوت وجود دارد؟
- ۵- آیا ارتباطی بین سطح TAC و شدت اکسیداتیوی وجود دارد؟
- ۶- آیا ارتباطی بین سطح ویتامین C و شدت اکسیداتیوی وجود دارد؟

### ۱-۳ اهداف

- ۱- مقایسه کیفیت اسپرم بین مردان بارور و نابارور سیگاری - غیرسیگاری
- ۲- مقایسه فعالیت آنتی اکسیدانهای تام (TAC) در مایع سمینال هر چهار گروه

- ۳- مقایسه سطح مالون دی آلدئید (MDA) در مایع سمینال هر چهار گروه
- ۴- مقایسه غلظت ویتامین C بین مایع سمینال هر چهار گروه
- ۵- بررسی ارتباط بین TAC و شدت لیپید پراکسیداتیوی اسپرم
- ۶- بررسی ارتباط بین غلظت ویتامین C و شدت لیپید پراکسیداتیوی
- ۷- مقایسه ارتباط بین سطح TAC و کیفیت پارامترهای اسپرمی
- ۸- مقایسه ارتباط بین ویتامین C و کیفیت پارامترهای اسپرمی
- ۹- مقایسه ارتباط بین سطح MDA و کیفیت پارامترهای اسپرمی
- ۱۰- مقایسه ارتباط بین TAC و MDA



## فصل دوم

### مقدمه و بررسی منابع

## ۲-۱ ناباروری مردان و شایعترین علل های آن

تولید مثل وسیله ای برای بقای ویژگی های فردی و جمعی هر گونه ای از جانور و یا گیاه است که از فنای گونه ها جلوگیری می کند. چرا که با سپری شدن دوره زندگی و یا هنگام مواجهه با پیری و یا عوامل دیگر، زندگی فرد پایان می یابد. بنابراین تمام موجودات برای جلوگیری از این نابودی، به روش های متعدد تولید مثل، نسل خود را پابرجا می گذارند. انسان نیز به عنوان یکی از انواع موجودات زنده از طریق تولید مثل جنسی بقاء خود را حفظ می کند. وقوع یک تولید مثل موفقیت آمیز در درجه اول به سلامتی و عملکرد طبیعی هر یک از ارگانهای تناسلی در مرد و زن بستگی دارد. ارگانهای های تناسلی در مردان به کمک یکدیگر شرایط ایده آل را برای سنتز و تکامل اسپرم ها فراهم می کنند. سلولهای اسپرم پس از اینکه در مجاری تناسلی مردان ساخته شدند از طریق مجاری هایی به اپیدیدیم انتقال و در آنجا ذخیره شده و بخشی از مراحل بلوغ خود را سپری می کنند. هنگام آمیزش سلولهای اسپرم در اثر نعوذ به مجاری تناسلی زن انتقال یافته و در آنجا به مرحله تکامل نهایی خود رسیده و توانایی بارورسازی تخمک را بدست می آورد. این امر منجر به بوجود آمدن یک نوزاد جدید می گردد که همان بقاء نسل است. در واقع در مسیر سنتز و تکامل اسپرم ها، ارگانهای مختلفی با هم همکاری می کنند و تمام این پدیده ها توسط یکسری سیگنالهایی کنترل می شوند که نهایتا نتیجه آن تولید اسپرم هایی بالغ و طبیعی می باشد. این ارگانها به کمک یکدیگر شرایطی بسیار مناسب برای حیات و بلوغ اسپرم فراهم می کنند، بنابراین هر گونه آسیب به این ارگانهای تناسلی می تواند منجر به اختلال در سنتز و بلوغ یک اسپرم طبیعی گردد و بر روی توانایی باروری مردان اثر منفی بگذارد و نهایتا سبب ناباروری در مردان گردد.

تاکنون عوامل زیادی از قبیل اختلالات آناتومیکی، هورمونی، ایمونولوژیکی، ژنتیکی و محیطی در ناباروری مردان شناخته شدند که قادرند به نوعی بر روی توانایی باروری مردان تاثیر بگذارند که به طور خلاصه شایعترین آنها در جدول

۲-۱ آمده است.

جدول ۱-۲) خلاصه ای از شایعترین علل های ناباروری در مردان

۱	<b>اختلالات فیزیکی در بیضه</b> واریکوسل، واسکتومی، ترومای بیضه ای (trauma)، انسداد مجاری (obstruction)، عدم حضور مادرزادی مجاری های دو طرفه و ابران و یا وزیکول سمینال، جثه کوچک بیضه، بیضه نزول نیافته، پیچش بیضه به دور محور خود، فیروز کیستی و افزایش حرارت کیسه بیضه
۲	<b>علل ایمنولوژیکی</b> ساخت آنتی بادی بر علیه اسپرم های خودی
۳	<b>بیماریها و عفونت ها</b> مثل تب، دیابت، افزایش فشار خون، بیماری کرونری، اختلالات عصبی، بیماری کلیوی، سرطان، الکلیسم، استرس، عفونت های باکتریایی و ویروسی، سرماخوردگی (آنفلوآنزا) و پنومونیا، مشکلات فیزیولوژیکی/ جسمی/ رفتاری (شامل قهقراپی شدن انزال و انزال ناقص و ناتوانی در نعوظ) و آسیب طناب نخایی
۴	<b>ناهنجاری های هورمونی</b> اختلال محور هورمونی هیپوتالاموسی-هیپوفیزی-گنادی (HPG)
۵	<b>مصرف برخی از داروها</b> (مثل شیمی درمانی سرطان، سیمتیدین، کلشی سین، دیگوکسین، اریترومايسين، جنتا مایسین، هورمون درمانی، کتوکونازول، متوترکسات، نیتروفورانتوئین، فنتوئین، اسپیرینولاکتون، سولفاسالازین، الکل، تنباکو، ماری جوانا، داروهای آرام بخش مثل هروئین یا مورفین، استروئید های آنابولیک، آلپورینول، تتراسایکلین، دیلانتین، سیکلوسپورین و Amoidarone)
۶	<b>عوامل محیطی و نحوه زندگی افراد</b> مثل انواع سموم (مثل پستیسیدها، اشعه ها، مواد رادیواکتیو، جیوه، بنزن، بور و فلزات سنگین و حرارت زیاد (مثلاً قرار گرفتن در وان داغ، جکوزی، سنا، ورزش های بلند مدت)، استعمال دخانیات
۷	<b>اختلالات ژنتیکی</b> (ناهنجاری میتوکندریایی و ناهنجاری های کروموزمی)
۸	<b>علل های ایدیوپاتیک یا ناشناخته</b>

## ۲-۲ نگاهی مختصر به شایعترین علل های ناباروری در مردان

### ۱-۲-۲ اختلالات بیضه ای

آسیب های فیزیکی بر روی بیضه ها یکی از شایعترین علل های ناباروری در مردان محسوب می شوند و به راحتی قابل تشخیص می باشند. عواملی همچون واریکوسل، واسکتومی، ترومای بیضه ای، انسداد مجاری، عدم حضور مادرزادی مجاری های و ابران و یا وزیکول سمینال، کوچک بودن اندازه بیضه ها و بیضه های نزول نیافته سبب می

شوند که توانایی بیضه‌ها جهت سنتز اسپرم کاهش یابد و یا اینکه انتقال اسپرم‌ها به خاطر عدم حضور مجاری‌های منی بر صورت نگیرد [۵]. این گونه از مشکلات سبب می‌شوند که در سمن مردان هیچ گونه اسپرمی دیده نشود و یا اینکه جهت بارورسازی بسیار اندک باشند. در این میان واریکوسل یکی از شایعترین علل ناباروری قابل درمان می‌باشد که حدود ۳۰ درصد از موارد نازایی مردان را به خود اختصاص داده است [۶]. عواملی نظیر فشارهای جسمی و کارهای سخت و سنگین می‌توانند منجر به واریکوسل در مردان گردند. در این بیماری سیاهرگ‌های بیضه‌ای به یکدیگر متسع شده و مانع از جریان طبیعی خون و مایعات بین بیضه و خون می‌گردد. این حالت منجر به افزایش تجمع مایعات و حرارت در بیضه شده که اثر مهارکنندگی بر روی فرآیند اسپرماتوژنز دارند و باعث ایجاد حالت ایگوسپرمی یا آروسپرمی در مردان می‌شود. البته این مشکل با یک جراحی ساده قابل درمان می‌باشد [۶].

### ۲-۲-۲ علل ایمنولوژیکی

در حالت طبیعی سلولهای اسپرم توسط سد خونی-بیضه‌ای، از سیستم ایمنی بدن محفوظ می‌باشد، اما در برخی شرایط مثلا در طول جراحی و یا ترومای بیضه‌ای ممکن است که این سد دفاعی آسیب ببیند، در نتیجه سیستم ایمنی بدن آنتی‌بادی‌هایی می‌سازد که به جای دفاع بدن بر علیه عوامل بیگانه، بر روی اسپرم‌های خودی تأثیر می‌گذارد. این آنتی‌بادیهای خودی به سطح اسپرم‌ها متصل می‌شوند و عمر آنها را کاهش می‌دهند و با آسیب تحرک و عملکرد اسپرم‌ها، توانایی آنها را جهت نفوذ به تخمک کاهش می‌دهند. بنابراین آنتی‌بادی‌های ساخته شده بر علیه اسپرم قدرت باروری اسپرم روی تخمک را متوقف کرده و مانع باروری موفقیت آمیز می‌شوند. به همین خاطر تشخیص آنتی‌بادی‌های اسپرم یکی از اولین تست‌های ضروری در پیش‌بینی توان باروری اسپرم‌های آسیب‌دیده می‌باشد. در واقع تکنیک‌های ایمنولوژیکی مربوط به آزمایش آنتی‌اسپرم‌ها، تست‌های ساده‌ای هستند که برای تعیین آنتی‌بادی‌های آنتی‌اسپرم در خون یا سمن به کار برده شود [۷].

### ۲-۲-۳ برخی از بیماری‌ها

در واقع برخی از بیماری‌ها در حالت عادی بر روی توانایی جنسی مردان اثر می‌گذارند و می‌توانند منجر به ناباروری موقتی گردند. که برخی از این بیماری‌های شایعی که اثر شدیدی بر روی ساخت و کیفیت اسپرم‌ها اعمال می‌کنند در زیر اشاره شده است: