

مقایسه غلظت روی در پلاسمای منی مردان مبتلا به ضایعه نخاعی با افراد نرمواسپرمیک و ارتباط آن با پارامترهای اسپرم

علی شهبازی* - دکتر سید شهاب الدین صدر** - دکتر ناصر سلسبیلی*** - دکتر رضا برادر جلیلی****

* کارشناس ارشد فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی ایران
** متخصص فیزیولوژی، استاد دانشگاه علوم پزشکی تهران
*** متخصص جنین شناسی، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی تهران
**** پزشک عمومی، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

زمینه و هدف: در مردان مبتلا به ضایعه نخاعی، علاوه بر اختلال نعوظ و انزال، با وجود طبیعی بودن غلظت اسپرم، درصد اسپرم های غیر طبیعی، کم تحرک و غیر زنده نسبتاً زیاد است. دلایل مختلفی از جمله احتمال اختلال در عملکرد غدد ضمیمه دستگاه تناسلی، ذکر شده است. از این رو هدف از این مطالعه بررسی میزان روی در پلاسمای منی (به عنوان نشانگر ترشحات پروستات) در این افراد و مقایسه آن با گروه کنترل نرمواسپرمیک و ارتباط آن با پارامترهای اسپرم بود.

روش بررسی: در این مطالعه تحلیلی تعداد ۳۰ مرد مبتلا به ضایعه نخاعی با میانگین سنی $36 \pm 2/3$ سال و ۳۰ مرد نرمواسپرمیک با میانگین سنی $34 \pm 3/2$ سال، مورد مطالعه قرار گرفتند. پس از سه روز خودداری از فعالیت جنسی، نمونه مایع منی (قسمت انتروگراد مایع انزالی به روش الکترواجاکولیشن در افراد با ضایعه نخاعی) و نمونه خون ناشتای همزمان گرفته شد. پارامترهای اسپرم، pH مایع منی، اسمولالیتیه پلاسمای منی و میزان روی سرم خون و پلاسمای منی (با دستگاه طیف سنجی جذب اتمی) اندازه گیری شد.

یافته‌ها: میانگین روی پلاسمای منی در افراد مبتلا به ضایعه نخاعی و گروه کنترل به ترتیب $42/9 \pm 120/74$ و $49/9 \pm 156/88$ میلی گرم در لیتر ($P \text{ value} < 0/05$)، روی سرم خون $1/23 \pm 1/62$ و $2/01 \pm 0/18$ میلی گرم در لیتر ($P \text{ value} > 0/05$)، میانگین pH مایع منی $7/23 \pm 0/23$ و $7/58 \pm 0/26$ ($P \text{ value} < 0/05$) و اسمولالیتیه پلاسمای منی $322/4 \pm 31/2$ و $322/5 \pm 21/1$ ($P \text{ value} < 0/05$) بود. غلظت روی پلاسمای منی با تعداد اسپرم‌ها ($r = -0/277$)، درصد اسپرم‌های زنده ($r = 0/404$)، اسپرم‌های با مورفولوژی طبیعی ($r = 0/332$)، اسپرم‌های متحرک ($r = 0/422$)، اسپرم‌های متحرک پیشرونده درجه A و B ($r = 0/386$)، pH مایع منی ($r = 0/390$) و اسمولالیتیه پلاسمای منی ($r = 474/0$) ارتباط معنی دار داشت ($P \text{ value} < 0/05$).

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه، یعنی کاهش روی و اسمولالیتیه و افزایش pH پلاسمای منی این افراد که برای اولین بار گزارش می‌شود، می‌تواند نشاندهنده اختلال در عملکرد ترشحات غده پروستات باشد و کاهش میزان روی می‌تواند در کیفیت پایین مایع منی در این افراد نقش داشته باشد.

واژگان کلیدی: روی، پلاسمای منی، اسپرم، ضایعه نخاعی

اصلاح نهایی: ۱۳۸۴/۱۲/۱

وصول مقاله: ۱۳۸۴/۷/۱۱

نویسنده مسئول: تهران - بزرگراه شهید همت - دانشگاه علوم پزشکی ایران - دانشکده پزشکی واحد علوم پایه گروه فیزیولوژی a_shahbazi_735@yahoo.com

مقدمه

دلیل آمار بالای سوانح و تصادفات، سالیانه به این آمار افزوده می‌شود. ناباروری یکی از مشکلات عمده مبتلایان به ضایعه نخاعی است (۱). از دلایل عمده ناباروری در این افراد که تاکنون ذکر شده است می‌توان، به ناتوانی در نعوظ و انزال و کیفیت پایین مایع منی و اسپرم اشاره کرد. دلیل کیفیت پایین مایع منی در این افراد تاکنون دقیقاً شناخته نشده است.

حدود ۸۰٪ از ۱۰۰۰۰ بیمار مبتلا به ضایعه نخاعی (۱) (SCI) در سال، افراد جوان ۱۵ تا ۲۹ ساله (در سن باروری) هستند (۱). در کشور ما، با توجه به سابقه جنگ تحمیلی، مردان مبتلا به ضایعات نخاعی، درصد نسبتاً زیادی از مجروحین جنگی را تشکیل می‌دهند و تعداد زیادی از این افراد هم اکنون در سنین باروری هستند. علاوه بر آن، به

شد. از افراد گروه کنترل نیز با روش استمناء نمونه منی گرفته شد. نمونه‌ها در ظروف پلاستیکی مخصوص استریل جمع آوری شد. پس از سیال شدن نمونه‌های منی، بلافاصله پارامترهای اسپرم شامل تعداد، حرکت کل، حرکت پیشرونده، مورفولوژی و درصد اسپرم‌های زنده (رنگ آمیزی اتوزین) مطابق دستورالعمل WHO اندازه‌گیری شد. سپس با استفاده از دستگاه سانتریفوژ با دور ۱۴۰۰ g به مدت ده دقیقه، پلاسما منی جدا گردید و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد در یخچال نگهداری شد. با استفاده از کاغذ pH متر، میزان pH مایع منی، در فاصله زمانی یکساعت اول پس از انزال اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری اسمولالیته، میزان ۱۰ میکرولیتر از پلاسما منی در داخل کاپ اسمومتر ریخته شد و با استفاده از دستگاه اسمومتر، میزان اسمولالیته اندازه‌گیری شد. سرم خون وریدی پس از لخته شدن، با استفاده از سانتریفوژ با سرعت ۲۰۰۰ g به مدت ده دقیقه جدا شده، در دمای ۲۰- درجه نگهداری شد. از دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی جهت اندازه‌گیری روی پلاسما منی و سرم خون استفاده شد.

جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از برنامه آماری ver. 11.5 SPSS استفاده شد. برای مقایسه میانگین میان دو گروه از تست Independent T- test و برای بررسی میزان همبستگی داده‌ها از تست Pearson استفاده شد. برای مقایسه میانگین در زیر گروه‌های مختلف افراد مبتلا به ضایعه نخاعی (بر حسب سطح ضایعه) از تست غیرپارامتریک Kruskal-Wallis استفاده شد. مقادیر $P < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

• نتایج بدست آمده از مقایسه پارامترهای دو گروه (جدول ۱):
 نتایج نشان می‌دهد که میانگین غلظت روی پلاسما منی در افراد مبتلا به ضایعه نخاعی $42/9 \pm 120/74$ میلی گرم در لیتر و در افراد گروه کنترل $49/9 \pm 156/88$ میلی گرم در لیتر بود ($P < 0.05$). میانگین غلظت روی سرم خون در افراد مبتلا به ضایعه نخاعی $1/23 \pm 1/62$ میلی گرم در لیتر و در افراد گروه کنترل $2/01 \pm 2/01$ میلی گرم در لیتر بود که تفاوت معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). میانگین pH و اسمولالیته مایع منی در افراد مبتلا به ضایعه نخاعی به ترتیب $7/87 \pm 0/23$ و $322/4 \pm 31/2$ و در گروه کنترل به ترتیب $7/58 \pm 0/26$ و $382/5 \pm 21/1$ بود ($P < 0.01$). همانطور که نشان داده شده است تعداد اسپرم‌ها در افراد با ضایعه نخاعی بیشتر از افراد نرمواسپرمیک بوده است ($P < 0.05$). ولی حرکت کل اسپرم‌ها، حرکت پیشرونده اسپرم‌ها، اسپرم‌های بامورفولوژی طبیعی و درصد اسپرم‌های زنده در افراد با ضایعه نخاعی بسیار کمتر از افراد نرمواسپرمیک بود ($P < 0.01$).

نتایج بدست آمده از مقایسه پارامترها در زیر گروه‌های افراد

اسپرم این افراد دارای حرکت کم و اشکال غیر طبیعی بیشتری نسبت به مردان نرمال می‌باشد، همچنین درصد اسپرم‌های غیر زنده در این افراد بیشتر است (۲). مطالعات مختلفی جهت شناسایی علت کیفیت پایین اسپرم در این افراد، صورت گرفته و نشان داده شده است که ترکیب بیوشیمیایی پلاسما منی آنها در اختلال حرکت اسپرم نقش دارد (۳). از آنجا که عملکرد طبیعی غدد ضمیمه تناسلی مثل پروستات و وزیکول سمینال نقش تعیین کننده‌ای در ترکیب بیوشیمیایی پلاسما منی و در نتیجه کیفیت اسپرم دارند، جهت بررسی اختلال احتمالی در عملکرد پروستات به دنبال آسیب نخاعی و ارتباط آن با پارامترهای اسپرم این افراد، میزان "روی" در پلاسما منی (به عنوان نشانه فعالیت ترشحی غده پروستات و نیز تأثیر حیاتی آن روی اسپرم) این افراد، با افراد نرمواسپرمیک مورد مقایسه قرار گرفت.

روش بررسی

در این مطالعه، تعداد ۳۰ نفر مرد نابارور مبتلا به ضایعه نخاعی به عنوان گروه مورد مطالعه و تعداد ۳۰ نفر مرد نرمواسپرمیک مطابق معیار WHO (۴) به عنوان گروه کنترل مورد بررسی قرار گرفتند. افراد گروه اول به صورت تصادفی از میان بیماران مراجعه کننده به مرکز پژوهشی درمانی کوثر تهران، که در فاصله زمانی دی ماه ۱۳۸۱ تا آبان ماه ۱۳۸۲، جهت درمان ناباروری مراجعه کرده بودند، انتخاب گردیدند. این افراد مطابق پرونده بالینی حداقل یک سال از آسیب نخاعی رنج می‌بردند و سابقه بیماریهای مؤثر در ناباروری مثل واریکوسل، کریپتوآرکیدیسزم، چرخش بیضه و بیماری‌های اندوکراین و کروموزومی مؤثر بر اسپرم، اعمال جراحی هرنیورافی و وازکتومی، مصرف داروهای مؤثر بر اسپرماتوژنز و عملکرد اسپرم از سه ماه قبل از آزمایش و تماس با مواد شیمیایی جنگی مثل نیتروژن موستارد نداشتند. افراد گروه کنترل، از میان افرادی که در فاصله زمانی فوق جهت درمان نازائی (فاکتور زنانه)، به مرکز پژوهشی و درمانی کوثر تهران مراجعه کرده بودند و دارای حداقل معیارهای قابل قبول اسپرم جهت باروری، مطابق معیار WHO بودند (نرمواسپرمیک) انتخاب گردیدند. افراد مبتلا به ضایعه نخاعی بر حسب سطح ضایعه، به چهار زیرگروه تقسیم شدند. تعداد سه نفر در سطح گردنی، نه نفر در سطح توراسیک فوقانی، هفت نفر در سطح توراسیک تحتانی و یازده نفر در سطح کمری دچار ضایعه بودند.

این افراد پس از دادن آگاهی‌های لازم و اخذ رضایت کتبی، پس از سه روز خودداری از فعالیت جنسی، ناشتا به مرکز مراجعه کردند. یک نمونه خون در ساعت ۷ تا ۹ صبح از تمامی بیماران گرفته شد، سپس از افراد مبتلا به ضایعه نخاعی با استفاده از دستگاه الکترواجاکولاتور نمونه منی گرفته شد.

جهت یکسان سازی، فقط از قسمت انتروگراد مایع انزالی استفاده

جدول ۱: میانگین غلظت «روی» سرم خون و پلاسمای منی و پارامترهای مایع منی افراد مبتلا به ضایعه نخاعی و افراد نورمواسپریمیک

افراد نرمواسپریمیک (n = ۳۰)		افراد مبتلا به ضایعه نخاعی (n = ۳۰)		متغیر(واحد)
دامنه	میانگین ± انحراف معیار	دامنه	میانگین ± انحراف معیار	
۰/۷۱ - ۳/۸۱	۲/۰۱ ± ۰/۸۰	۰/۳۷ - ۵/۲۱	۱/۶۲ ± ۱/۲۳	غلظت روی سرم (mg/l) *
۳۹/۶ - ۲۵۰/۲	۱۵۶/۸۸ ± ۴۹/۹	۳۳/۱ - ۱۹۴/۴	۱۲۰/۷۴ ± ۴۲/۹	غلظت روی پلاسمای منی (mg/l) *
۲۰ - ۲۰۰	۷۲/۴۱ ± ۳۸/۹۹	۱ - ۳۰۰	۱۱۴/۰۵ ± ۹۳/۴	تعداد اسپرم (n×۱۰ ^۶ /ml) *
۲۰ - ۹۵	۷۵/۴۸ ± ۱۴/۳۱	۲ - ۵۰	۱۷/۶۷ ± ۱۴/۲۷	اسپرم زنده (درصد) *
۱۰ - ۷۵	۴۸/۵۱ ± ۹۶/۱۹	۲ - ۳۲	۱۵/۶۹ ± ۹/۳۴	اسپرم بامرفولوژی طبیعی (درصد) *
۴۰ - ۸۵	۶۱/۷۹ ± ۱۱/۱۱	۱ - ۴۵	۱۳/۰۳ ± ۱۱/۳۳	اسپرم متحرک (درصد) *
۴۰ - ۸۵	۶۱/۷۹ ± ۱۱/۱۱	۱ - ۴۵	۴/۴۷ ± ۶/۸۲	اسپرم متحرک پیشرونده (درصد) *
۷ - ۸/۳	۷/۵۸ ± ۰/۲۶	۷/۵ - ۸/۳	۷/۸۷ ± ۰/۲۳	pH مایع منی *
۲۵۰ - ۴۲۵	۳۸۲/۵ ± ۲۱/۱	۲۷۸ - ۳۹۶	۳۲۲/۴ ± ۳۱/۲	اسمولالیته پلاسمای منی *

* P value < 0.05

بحث

مبتلا به ضایعه نخاعی (برحسب سطح ضایعه)، اختلاف معنی داری را نشان نداد.

• نتایج بررسی ارتباط میان غلظت روی پلاسمای منی و سرم با سایر پارامترهای مایع منی:

یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که غلظت روی پلاسمای منی با تعداد اسپرم‌ها ($r = -0.277$, $P \text{ value} = 0.039$)، درصد اسپرم‌های زنده ($r = 0.404$, $P \text{ value} = 0.002$)، درصد اسپرم‌های بامورفولوژی طبیعی ($r = 0.332$, $P \text{ value} = 0.015$)، درصد اسپرم‌های متحرک ($r = 0.422$, $P \text{ value} = 0.001$)، پیشرونده درجه B و A ($r = 0.386$, $P \text{ value} = 0.003$)، pH مایع منی ($r = 0.39$, $P \text{ value} = 0.005$) و اسمولالیته پلاسمای منی ($r = 0.474$, $P \text{ value} = 0.002$) ارتباط معنی دار داشت ولی میان غلظت روی پلاسمای منی و سرم خون ارتباط معنی داری وجود نداشت ($r = 0.113$, $P \text{ value} > 0.05$).

* نتایج این مطالعه نشان داده است که بین غلظت روی سرم و سایر پارامترهای مایع منی به جز درصد اسپرم‌های متحرک پیشرونده ($r = 0.309$, $P \text{ value} < 0.01$) ارتباط معنی داری وجود نداشت.

ناباروری یکی از مشکلات عمده مبتلایان به ضایعه نخاعی است. از دلایلی که تاکنون ذکر شده، می‌توان به ناتوانی در نعوظ و انزال، کیفیت پایین مایع منی و اسپرم اشاره کرد. دلیل کیفیت پایین مایع منی در این افراد تاکنون به طور دقیق شناخته نشده است. دلایل متعددی مانند استاز مایع پروستات، هیپرترمی بیضه‌ها، عفونت‌های راجعه دستگاه اداری، بافت غیر طبیعی بیضه، تغییرات احتمالی در محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - بیضه، وجود آنتی بادی‌های ضد اسپرم، استفاده طولانی مدت از داروها و همچنین نحوه مراقبت از مثانه در این افراد، برای این مسأله ذکر شده است (۲).

در پاتوفیزیولوژی کیفیت پایین اسپرم در این افراد، مطالعات اخیر بیشتر بر نقش منفی پلاسمای منی آنها روی کیفیت اسپرم تأکید می‌ورزند. در مطالعه Brackett و همکاران مشاهده گردید که پلاسمای منی افراد SCI باعث کاهش حرکت اسپرم افراد سالم شده و برعکس اسپرم افراد SCI، در پلاسمای منی افراد سالم، حرکت خود را تاحدی باز یافته است (۳) که نشان‌دهنده وجود یا فقدان عامل یا عواملی در پلاسمای منی این افراد است که بر حرکت اسپرم تأثیر

می‌گذارد. همچنین مطالعه Hirsch و همکاران، نشان‌دهنده تغییر ترکیب بیوشیمیایی مایع منی این افراد بود (۵) و نیز مطالعه دیگر Brackett و همکاران نشان داد که میزان PSA سرمی این افراد افزایش یافته است (۶).

یافته‌های این مطالعه، یعنی کاهش غلظت روی، کاهش اسمولالیته و افزایش pH پلاسما منی این افراد که برای اولین بار گزارش می‌شود، می‌تواند نشان‌دهنده کاهش فعالیت ترشحات غده پروستات به دنبال ضایعه نخاعی باشد که تأیید کننده مطالعه Brackett و همکاران (۶) است. از سوی دیگر نتایج ما نظر Hirsch را در مورد کاهش میزان فعالیت ترشحات و زیکول سمنال به چالش می‌کشد (۵)، زیرا این نتایج می‌تواند نشان‌دهنده عدم تغییر ترشحات (قلیایی و حجم زیاد ترشح آبکی) و زیکول سمنال و یا احتمالاً کاهش شدیدتر ترشحات (اسیدی و حاوی غلظت بالای آلبومین) پروستات نسبت به وزیکول سمنال باشد. به هر حال در مطالعات حیوانی نشان داده شده است که عصب دهی طبیعی پروستات برای فعالیت ترشحاتی آن ضروری است (۷).

نتایج مطالعه ما مثل سایر مطالعات، نشان‌دهنده افزایش قابل ملاحظه مقدار اسپرم‌ها نسبت به افراد طبیعی است اما درصد اسپرم‌های غیر زنده، غیر طبیعی و بی حرکت به میزان زیادی افزایش یافته است. اما جالب اینکه کاهش غلظت روی پلاسما منی با کاهش کیفیت اسپرم‌ها ارتباط معنی دار داشته است. روی علاوه بر تأثیر عمومی در متابولیسم، سنتز پروتئین، کربوهیدرات و DNA، بواسطه حضور در بیش از ۲۰۰ متالوآنزیم، نقش بسیار مهمی در جلوگیری از آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد به اسپرم دارد.

نتیجه‌گیری

میزان روی پلاسما منی افراد مبتلا به ضایعه نخاعی کمتر از افراد طبیعی است. این یافته و نیز افزایش pH و کاهش اسمولالیته پلاسما منی ممکن است نشان‌دهنده اختلال در عملکرد ترشحات غده پروستات باشد. اهمیت این یافته‌ها از آن جهت است که، در این افراد که میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن پلاسما منی بالاست، این کاهش میزان روی (آنتی‌اکسیدان) شرایط را برای آسیب اکسیداتیو به اسپرم‌ها بیشتر فراهم می‌کند و می‌تواند یکی از دلایل مهم کیفیت پایین اسپرم در این افراد باشد. همچنین مطالعه تأثیر کاهش غلظت روی پلاسما منی، در کاهش میزان موفقیت باروری آزمایشگاهی در روش ICSI (با توجه به نقش حیاتی روی در ساختار کروماتین اسپرم) در این افراد، حائز اهمیت فراوان خواهد بود.

غشاء اسپرم به دلیل وجود مقادیر بسیار فراوان اسیدهای چرب اشباع نشده و نیز کمبود سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی داخل سلولی نسبت به سایر سلول‌ها، بسیار وابسته به آنتی‌اکسیدان‌های پلاسما منی است (۸). از طرفی در مطالعه lamirande و همکاران وجود مقادیر فراوان رادیکال‌های آزاد اکسیژن در پلاسما منی افراد SCI نشان داده شده است (۹)؛ لذا شرایط برای ایجاد استرس اکسیداتیو و آسیب‌های جدی به اسپرم‌ها فراهم است. برای مقابله با این اثرات مخرب یک سیستم آنتی‌اکسیدانی قوی مورد نیاز است. روی با چندین مکانیسم به صورت مستقیم و غیر مستقیم از ایجاد و گسترش

نتایج مطالعه ما مثل سایر مطالعات، نشان‌دهنده افزایش قابل ملاحظه مقدار اسپرم‌ها نسبت به افراد طبیعی است اما درصد اسپرم‌های غیر زنده، غیر طبیعی و بی حرکت به میزان زیادی افزایش یافته است. اما جالب اینکه کاهش غلظت روی پلاسما منی با کاهش کیفیت اسپرم‌ها ارتباط معنی دار داشته است. روی علاوه بر تأثیر عمومی در متابولیسم، سنتز پروتئین، کربوهیدرات و DNA، بواسطه حضور در بیش از ۲۰۰ متالوآنزیم، نقش بسیار مهمی در جلوگیری از آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد به اسپرم دارد.

غشاء اسپرم به دلیل وجود مقادیر بسیار فراوان اسیدهای چرب اشباع نشده و نیز کمبود سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی داخل سلولی نسبت به سایر سلول‌ها، بسیار وابسته به آنتی‌اکسیدان‌های پلاسما منی است (۸). از طرفی در مطالعه lamirande و همکاران وجود مقادیر فراوان رادیکال‌های آزاد اکسیژن در پلاسما منی افراد SCI نشان داده شده است (۹)؛ لذا شرایط برای ایجاد استرس اکسیداتیو و آسیب‌های جدی به اسپرم‌ها فراهم است. برای مقابله با این اثرات مخرب یک سیستم آنتی‌اکسیدانی قوی مورد نیاز است. روی با چندین مکانیسم به صورت مستقیم و غیر مستقیم از ایجاد و گسترش

References

- 1-Safarinejad MR. Level of injury and hormone profiles in spinal cord injury. Arch Phys Med Rehabil. 2001; 58:671-7.
- 2-Bracett NL, Santa-Cruz C, Lynne CM. Sperm from spinal cord injured men lose motility faster than sperm from normal men: The effect is exacerbated at body compared to room temperature. J Urol 1997; 157(6):2150-53.

2- Intracytoplasmic Sperm Injection

- 3-Bracett NL, David RC, Padron F, Lynne CM. Seminal plasma of spinal cord injured men inhibits sperm motility of normal men. *J Urol*. 1996;155(5):1632-35.
- 4-World health organization. Laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 4th ed. New York: Cambridge university press; 1999.
- 5-Hirsch IH, Jeyndran RS, Sedor J, Rosecrans RR. Biochemical analysis of electro ejaculates in spinal cord injured men: comparison to normal ejaculates. *J Urol*. 1991;145:73-76.
- 6-Lynne CM, Aballa TC, Wang TJ, Rittenhouse HG, Ferrell SM, Bracett NL. Serum and semen prostatic specific antigen concentrations are different in young spinal cord injured men compared to normal. *J Urol*. 1999; 162(1):89.
- 7- McVary KT, McKenna KE, Lee C. Prostatic innervation. *Prostate Supp*. 1998; 8:2-13.
- 8-Griveau JF, Renard P, Le Lannou D. Superoxide anion production by human spermatozoa as a part of the ionophore-induced acrosome reaction process. *Int J Androl*. 1995; 18(2):67-74.
- 9-De Lamirande E, Leduc BE, Iwasaki A, Hassouna M, Gagnon C. Increased reactive oxygen species formation in semen of patients with spinal cord injury. *Fertil Steril*. 1995; 63: 637-642.
- 10-Powell SR. The antioxidant properties of zinc. *J Nutr*. 2000; 33:143-150.
- 11-Gavella M, Lipovac V, Vucic M, Sverko V. In vitro inhibition of superoxide anion production and superoxide dismutase activity by zinc in human spermatozoa. *Int J Androl*. 1999;22:260-274.
- 12-Vernet P, Fulton N, Wallace C, Aitken RJ. Analysis of reactive oxygen species generating systems in rat epididymal spermatozoa. *Bio Rep*. 2001; 65:1102-13.
- 13-Nakurama Y, Matsumia K, Kitamura M, Nishimura K, Tsujimura A, Tukeyama A, et al. Analysis of limited fertility in intracytoplasmic sperm injection of sperm obtained by electroejaculation. *Rep Med Biol*. 2004;3:9-12.
- 14-Razavi S, Nasr-Esfahani MH, Mardani M, Mafi A, Moghdam A. Effect of human sperm chromatin anomalies on fertilization outcome post-ICSI. *Andrologia*. 2003; 35: 238-243.
- 15-Hammadeh ME, Al-Hasani S, Gauss C, Rosenbaum P, Georg T, Diedrich K, Schmidt W. Predictive value of chromatin decondensation in vitro on fertilization rate after ICSI. *Int J And*. 2001; 24: 311-316.
- 16-Kvist U, Kjellberg S, Bjorndahl L, Hammar M, Roomans GM. Sperm nuclear zinc and chromatin stability in fertile and men in barren unions. *Scan J urol Neph*. 1988;22:1-6.
- 17-Kvist U. Importance of spermatozoa zinc as temporary inhibitor of sperm nuclear chromatin decondensation ability in men. *Acta Phys Scand*. 1980; 109: 79-89.
- 18-Engl E, Clousen OP, Purvis K, Stien R. Sperm quality assessed by flow cytometry and accessory sex gland function in spinal cord injured men after repeated vibration-induced ejaculation. *Paraplegia*. 1993; 31: 3-12.