

## 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 سلسیلی\*\*\* - دکتر رضا برادر جلیلی\*\*\*\*

\* کارشناس ارشد فیزیولوژی، دانشگاه علوم پژوهشی ایران

\*\* متخصص فیزیولوژی، استاد دانشگاه علوم پژوهشی تهران

\*\*\* متخصص جنین شناسی، دانشیار دانشگاه علوم پژوهشی تهران

\*\*\*\* پژوهش عمومی، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پژوهشی تهران

### چکیده

زمینه و هدف: در مردان مبتلا به ضایعه نخاعی، علاوه بر اختلال نعروط 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 ترشحی 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  $36 \pm 23$  سال و ۳۰ مرد نرمواسپرمیک با میانگین سنی  $34 \pm 3$  سال، مورد مطالعه قرار گرفتند. پس از سه روز خودداری از فعالیت جنسی، نمونه مایع منی (قسمت انتروگراد مایع انزالی به روش الکترواچاکولیشن در افراد با ضایعه نخاعی) و نمونه خون ناشایتی همزمان گرفته شد. پارامترهای اسپرم، pH مایع منی، اسموالیته پلاسمای منی و میزان روی سرم خون و پلاسمای منی (با دستگاه طیف سنجی جذب اتمی) اندازه گیری شد.

یافته ها: میانگین روی پلاسمای منی در افراد مبتلا به ضایعه نخاعی و گروه کنترل به ترتیب  $156/88 \pm 49/9$  و  $120/74 \pm 42/9$  میلی گرم در لیتر ( $P < 0.05$ )، روی سرم خون  $1/23 \pm 1/22$  و  $2/01 \pm 0/08$  میلی کرم در لیتر ( $P < 0.05$ )، میانگین pH مایع منی  $7/58 \pm 0/26$  و  $87/7 \pm 0/23$  و  $322/4 \pm 31/2$  ( $P < 0.05$ ) و اسموالیته پلاسمای منی  $382/5 \pm 21/1$  ( $P < 0.05$ ) بود. غلظت روی پلاسمای منی با تعداد اسپرمها ( $t = 0/277$ ،  $t = 0/404$ ،  $t = 0/386$ )، اسپرم های زنده ( $t = 0/277$ ،  $t = 0/332$ )، اسپرم های متحرک پیشرونده درجه B و A ( $t = 0/390$ ) و اسموالیته پلاسمای منی ( $t = 0/474$ ) ارتباط معنی دار داشت ( $P < 0.05$ ).

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه، یعنی کاهش روی و اسموالیته و افزایش pH پلاسمای منی این افراد که برای اولین بار گزارش می شود، می تواند نشاندهنده اختلال در عملکرد ترشحی غده پروستات باشد و کاهش میزان روی می تواند در کیفیت پایین مایع منی در این افراد نقش داشته باشد.

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

اصلاح نهایی: ۱۳۸۴/۷/۱۱

وصول مقاله: ۱۳۸۴/۱۲/۱

نویسنده مسئول: تهران- بزرگراه شهید همت- دانشگاه علوم پژوهشی ایران- دانشکده پژوهشی واحد علوم پایه گروه فیزیولوژی a\_shahbazi\_735@yahoo.com

### مقدمه

دلیل آمار بالای سوانح و تصادفات، سالیانه به این آمار افزوده می شود. ناباروری یکی از مشکلات عمدۀ مبتلایان به ضایعه نخاعی است (۱). از دلایل عده ناباروری در این افراد که تاکنون ذکر شده است می توان، به ناتوانی در نعروط 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 (SCI) در سال، افراد جوان ۱۵ تا ۲۹ ساله (در سن باروری) هستند (۱). در کشور ما، با توجه به سابقه جنگ تحملی، مردان مبتلا به ضایعات نخاعی، درصد نسبتاً زیادی از مجروهین جنگی را تشکیل می دهند 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 استریبل جمع آوری شد. پس از سیال شدن نمونه‌های منی، بالا فاصله پارامترهای اسپرم شامل تعداد، حرکت کل، حرکت پیشرونده، مورفولوژی و درصد اسپرم‌های زنده (رنگ آمیزی ائوزین) مطابق دستورالعمل WHO اندازه‌گیری شد. سپس با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ با دور  $1400 \text{ g}$  به مدت ۵ دقیقه، پلاسمای منی جدا گردید و در دمای  $20^\circ\text{C}$  درجه سانتیگراد در یخچال نگهداری شد. با استفاده از کاغذ pH متر، میزان pH مایع منی، در فاصله زمانی یک ساعت اول پس از انتزال اندازه گیری شد. جهت اندازه گیری اسموالیتی، میزان  $10 \text{ ml}$  میکرولیتر از پلاسمای منی در داخل کاپ اسmomتر ریخته شد و با استفاده از دستگاه اسmomتر، میزان اسموالیتی اندازه گیری شد. سرم خون وریدی پس از لخته شدن، با استفاده از سانتریفیوژ با سرعت  $2000 \text{ g}$  به مدت ۵ دقیقه جدا شده، در دمای  $20^\circ\text{C}$  درجه نگهداری شد. از دستگاه اسپکترووفوتومتر جذب اتمی جهت اندازه گیری روی پلاسمای 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 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 value  $< 0.05$  معنی دار در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

- نتایج بدست آمده از مقایسه پارامترهای دو گروه (جدول ۱): نتایج نشان می‌دهد که میانگین غلظت روی پلاسمای منی در افراد مبتلا به ضایعه نخاعی  $42.9 \pm 7.4$  میلی گرم در لیتر و در افراد گروه کنترل  $156.88 \pm 49.9$  میلی گرم در لیتر بود ( $P < 0.05$ ). میانگین غلظت روی سرم خون در افراد مبتلا به ضایعه نخاعی  $120.74 \pm 20.1$  میلی گرم در لیتر و در افراد گروه کنترل  $162.2 \pm 20.1$  میلی گرم در لیتر بود که تفاوت معنی دار نبود ( $P > 0.05$ ). میانگین pH و اسموالیتی مایع منی در افراد مبتلا به ضایعه نخاعی به ترتیب  $7.87 \pm 0.23$  و  $222.4 \pm 31.2$  بود و در گروه کنترل به ترتیب  $7.58 \pm 0.26$  و  $382.5 \pm 21.1$  بود ( $P < 0.001$ ). 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 ( $P < 0.001$ ).

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 پلاسمای 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 پلاسمای 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 پلاسمای 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، کریپتوارکیدیسم، چرخش بیضه و بیماری‌های اندوکتونی و کروموزومی مؤثر بر اسپرم، اعمال جراحی هرنیورافی و واژکتومی، مصرف داروهای مؤثر بر اسپرماتوژن 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 WHO بودند (نرمواسپرمیک) انتخاب گردیدند. افراد مبتلا به ضایعه نخاعی بر حسب سطح ضایعه، به چهار زیر گروه تقسیم شدند. تعداد سه نفر در سطح گردنی، نه نفر در سطح توراسیک فوکانی، 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 کننده، 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 «روى» سرم خون و پلاسمای مایع منی افراد مبتلا به ضایعه نخاعی و افراد نورمواسپر میک**

دامتنه	میانگین ± انحراف معیار	افراد مبتلا به ضایعه نخاعی (n = ۳۰)		متغیر(واحد)
		دامتنه	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	۳۲/۱ - 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 (nx10 <sup>6</sup> /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 با مرغولوژی 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	اسموالیته پلاسمای منی *

P value <0.05 \*

## بحث

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

نایاروری یکی از مشکلات عمدۀ مبتلایان به ضایعه نخاعی است. از دلایلی که تاکنون ذکر شده، می‌توان به ناتوانی در نعروط 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 پروسستات، هیپرتومی 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 مسئله 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 بر عکس 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 تاثیر

\* 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 value = 0/039), درصد اسپرم‌های زنده (r = 0/002, P value = 0/404), درصد اسپرم‌های با مرغولوژی طبیعی (r = 0/015, P value = 0/332), درصد اسپرم‌های متحرک پیشرونده درجه B و A (r = 0/422, P value = 0/001), درصد اسپرم‌های متحرک پیشرونده درجه B و A (r = 0/386, P value = 0/003) مایع منی (r = 0/005, P value = 0/39) و اسموالیته پلاسمای منی (r = 0/474, P 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 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 value < 0/01) ارتباط معنی داری وجود نداشت.

آسیب‌های اکسیداتیو جلوگیری می‌کند (۱۰-۱۲). بنابراین به نظر می‌رسد کاهش روی پلاسمای منی در این افراد شرایط را برای استرس اکسیداتیو به اسپرم‌ها بیشتر فراهم می‌کند؛ لذا مطالعه ارتباط بین کاهش غلظت روی علاوه بر وضعیت اکسیداتیوم موجود در پلاسمای منی این افرادو تأثیر آن بر اسپرم، می‌تواند در شناسایی اتیولوژی و درمان نایاروری افراد مبتلا به ضایعات نخاعی و سایر پاتولوژی‌های مشابه، کمک شایانی کند.

چندین مطالعه، کاهش قدرت باروری اسپرم حتی در روش ICSI را در افراد مبتلا به ضایعات نخاعی گزارش کرده‌اند (۱۳). در روش ICSI، یکی از فاکتورهای اصلی اسپرم که تعیین کننده موفقیت باروری تخمک است، ساختار کروماتین اسپرم می‌باشد (۱۴، ۱۵). با توجه به نقش روی پلاسمای منی در میزان تراکم کروماتین اسپرم (Condensation) و میزان Decondensation آن پس از لقاح (۱۶، ۱۷) و با در نظر گرفتن اینکه در مطالعه Engh و همکاران میزان Condensation و Decondensation مبتلا به ضایعات نخاعی، غیر طبیعی گزارش شده بود (۱۸)، نتایج این مطالعه می‌تواند علت آن را توجیه کند که البته نیاز به مطالعه بیشتری دارد.

### نتیجه‌گیری

میزان روی پلاسمای منی افراد مبتلا به ضایعات نخاعی کمتر از افراد طبیعی است. این یافته و نیز افزایش pH و کاهش اسموالیتی پلاسمای منی ممکن است نشان‌دهنده اختلال در عملکرد ترشحی غده پروستات باشد. اهمیت این یافته‌ها از آن جهت است که، در این افراد که میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن پلاسمای منی بالاست، این کاهش میزان روی (آنتری اکسیدان) 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 پلاسمای 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.

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

یافته‌های این مطالعه، یعنی کاهش غلظت روی، کاهش اسموالیتی و افزایش pH پلاسمای منی این افراد که برای اولین بار گزارش می‌شود، می‌تواند نشان‌دهنده کاهش فعالیت ترشحی غده پروستات به دنبال ضایعه نخاعی باشد که تأیید کننده مطالعه Hirsch و همکاران (۶) است. از سوی دیگر نتایج ما نظر Brackett را در مورد کاهش میزان فعالیت ترشحی وزیکول سمینال به چالش می‌کشد (۵)، زیرا این نتایج می‌تواند نشان‌دهنده عدم تغییر ترشحات (قلیایی و حجم زیاد ترشح آبکی) وزیکول سمینال و یا احتمال‌کاهش شدیدتر ترشحات (اسیدی و حاوی غلظت بالای آلبومین) پروسه نسبت به وزیکول سمینال باشد. به هر حال در مطالعات حیوانی نشان داده شده است که عصب دهی طبیعی پروسه‌های فعالیت ترشحی 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 پلاسمای 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 متابالوآنزیم، 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 آنتی اکسیدانی داخل سلولی نسبت به سایر سلول‌ها، بسیار وابسته به آنتی اکسیدان‌های پلاسمای منی است (۸). از طرفی در مطالعه lamirande و همکاران وجود مقادیر فراوان رادیکالهای آزاد اکسیژن در پلاسمای 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 آنتی اکسیدانی 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-Braceett 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.

- 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 .Laburatory 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 Stril. 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 systemes 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, Moghadam 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-Engh 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.