

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 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 ن هوظ و انزال، با وجود طبیعی بودن غلظت اسپرم، درصد اسپرم های غیر طبیعی، کم تحرک و غیر زندن نسبتاً زیاد است. دلایل مختلفی از جمله احتمال اختلال در عملکرد غدد ضمیمه دستگاه تناسلی، ذکر شده است. از این رو و 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 ± 23 سال و ۳۰ مرد نرمواسپرمیک با میانگین سنی 34 ± 22 سال، مورد مطالعه قرار گرفتند. پس از سه روز خودداری از فعالیت جنسی، نمونه مایع منی (قسمت انتروگراد مایع منی، اکتوراجاکولیشن در افراد با ضایعه نخاعی) و نمونه خون ناشاستای همراهان گرفته شد. پارامترهای اسپرم، pH مایع منی، اسمولالیته پلاسمای منی و میزان روی سرم خون و پلاسمای منی (با دستگاه طیف سنجی جذب انتی) اندازه گیری شد.

یافته ها: میانگین روی پلاسمای منی در افراد مبتلا به ضایعه نخاعی و گروه کنترل به ترتیب $157/88 \pm 49/9$ و $120/74 \pm 42/9$ میلی گرم در لیتر ($P < 0.05$), روی سرم خون $1/23 \pm 1/22$ و $2/01 \pm 2/08$ میلی گرم در لیتر ($P < 0.05$). میانگین pH مایع منی $7/58 \pm 0/26$ و $87/7 \pm 0/22$ ($P < 0.05$) و اسمولالیته پلاسمای منی $382/5 \pm 21/1$ و $322/4 \pm 31/2$ ($P < 0.05$) بود. غلظت روی پلاسمای منی با تعداد اسپرم ها ($t = -0.277$ ، $P > 0.05$)، درصد اسپرم های زنده ($t = 0.404$ ، $P > 0.05$)، اسپرم های با مورفو لوژی طبیعی ($t = 0.732$ ، $P > 0.05$)، اسپرم های متحرک ($t = 0.422$ ، $P > 0.05$)، اسپرم های پیشرونده درجه B ($t = 0.381$ ، $P > 0.05$) و اسمولالیته پلاسمای منی ($t = 0.390$ ، $P > 0.05$) (ارتباط معنی دار داشت ($P < 0.05$)).

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه، یعنی کاهش روی و اسمولالیته وافزایش pH پلاسمای منی این افراد که برای اوئین 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.

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

اصلاح نهایی: ۱۲/۱/۱۳۸۴/۷

وصول مقاله: ۱۲/۱/۱۳۸۴/۷

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

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

مقدمه

حدود ۸۰٪ از ۱۰۰۰ بیمار مبتلا به ضایعه نخاعی (۱) 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 می دهند و تعداد زیادی از این افراد هم اکنون در سنین باروری هستند. علاوه برآن، 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 اثوزین) مطابق دستورالعمل WHO اندازه‌گیری شد. سپس با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ با دور ۱۴۰۰ g به مدت ۵ دقیقه، پلاسمای 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 یک ساعت اول پس از ازاله اندازه گیری شد. جهت اندازه گیری اسموالیته، میزان ۱۰ میکرولیتر از پلاسمای منی در داخل کاپ اسومومتر ریخته شد و با استفاده از دستگاه اسومومتر، میزان اسموالیته اندازه گیری شد. سرم خون وریدی پس از لخته شدن، با استفاده از سانتریفیوژ با سرعت ۲۰۰۰ g به مدت ۵ دقیقه جدا شده، در دمای ۲۰– درجه نگهداری شد. از دستگاه اسپکتروفوتومتر 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 برسی 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 value < 0.05 معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

- نتایج بدست آمده از مقایسه پارامترهای دو گروه (جدول ۱): نتایج شان می‌دهد که میانگین غلظت روی پلاسمای منی در افراد مبتلا به ضایعه نخاعی $120/74 \pm 42/9$ میلی گرم در لیتر و در افراد گروه کنترل $156/88 \pm 49/9$ میلی گرم در لیتر بود (P value < 0.05). میانگین غلظت روی سرم خون در افراد مبتلا به ضایعه نخاعی $1162 \pm 1/22$ میلی گرم در لیتر و در افراد گروه کنترل $101 \pm 0/1$ میلی گرم در لیتر بود که تفاوت معنی دار نبود (P value < 0.05). میانگین pH و اسموالیته 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 و در افراد با ضایعه نخاعی بیشتر از افراد نرمواسپرمیک بود (P value < 0.001). همانطور که نشان داده است تعداد اسپرم‌ها در افراد با ضایعه نخاعی بیشتر از افراد نرمواسپرمیک بوده است (P value < 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 value < 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 غیرزنده 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 عدد ضمیمه تناслی مثل پروستات و وزیکول سمتیال نقش تعیین کننده ای 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 برسی 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 نایاروی مراجعه کرده بودند، انتخاب گردیدند. این افراد مطابق پرونده بالینی حداقل یک سال از آسیب نخاعی رنج می‌برند و سابقه بیماریهای مؤثر در نایاروی مثل واپیکسل، کرپتووارکیدیسم، چرخش بیضه و بیماری‌های اندوکرین و کروموزومی مؤثر بر اسپرم، اعمال جراحی هرنیورافی و واکتومی، مصرف داروهای مؤثر بر اسپرماتوژن و عملکرد اسپرم از سه ماه قبل از آزمایش و تماس با مواد شیمیایی جنگی میتوانند ناشستند. 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 معايیرهای قابل قبول اسپرم جهت باروری، مطابق معیار 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 گردانی، 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 کرددند. 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 الکتروجاکولاتور نمونه منی گرفته شد.

جهت یکسان سازی، فقط از قسمت انتروگراد مایع انزالی استفاده

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

دامنه	میانگین	افراد مبتلا به ضایعه نخاعی ($n = 30$)		متغیر(واحد)
		دامنه	میانگین	
		انحراف معیار \pm		
- / ۷۱ - ۲ / ۸۱	$۲۱ / ۰۱ \pm ۰ / ۱۸$	- / ۲۷ - ۵ / ۲۱	$۱ / ۶۲ \pm ۱ / ۲۳$	* (mg/l) غلظت روی سرم
۳۹ / ۶ - ۲۵ / ۲	$۱۵۶ / ۸۸ \pm ۴۹ / ۹$	۳۳ / ۱ - ۱۹۴ / ۴	$۱۲۰ / ۷۴ \pm ۴۲ / ۹$	* (mg/l) غلظت روی پلاسمای مایع
۲۰ - ۲۰۰	$۷۲ / ۴۱ \pm ۳۸ / ۹۹$	۱ - ۳۰۰	$۱۱۴ / ۰۵ \pm ۹۳ / ۴$	* (nx10 ⁶ /ml) تعداد اسپرم
۲۰ - ۹۵	$۷۵ / ۴۸ \pm ۱۴ / ۳۱$	۲ - ۵۰	$۱۷ / ۶۷ \pm ۱۴ / ۲۷$	* اسپرم زنده (درصد)
۱۰ - ۷۵	$۴۸ / ۵۱ \pm ۹۶ / ۱۹$	۲ - ۳۲	$۱۵ / ۶۹ \pm ۹ / ۳۴$	* اسپرم با مرفوولوژی طبیعی (درصد)
۴۰ - ۸۵	$۶۱ / ۷۹ \pm ۱۱ / ۱۱$	۱ - ۴۵	$۱۲ / ۰۳ \pm ۱۱ / ۲۳$	* اسپرم متحرک (درصد)
۴۰ - ۸۵	$۶۱ / ۷۹ \pm ۱۱ / ۱۱$	۱ - ۴۵	$۴ / ۴۷ \pm ۶ / ۸۲$	* اسپرم متحرک پیشرونده (درصد)
۷ - ۸ / ۲	$۷ / ۵۸ \pm ۰ / ۲۶$	۷ / ۵ - ۸ / ۳	$۷ / ۸۷ \pm ۰ / ۲۳$	* pH مایع منی
۲۵۰ - ۴۲۵	$۲۸۲ / ۵ \pm ۲۱ / ۱$	۲۷۸ - ۳۹۶	$۲۲۲ / ۴ \pm ۳۱ / ۲$	* اسموولالیته پلاسمای مایع 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 مایع و سرم با سایر پارامترهای مایع منی:

یافته های این مطالعه نشان می دهد که غلظت روی پلاسمای مایع با تعداد اسپرمها ($r = -0 / ۲۷۷$, P value = $0 / ۰۳۹$)، درصد اسپرم های زنده ($r = 0 / ۴۰۴$, P value = $0 / ۰۰۲$)، درصد اسپرم های با مرفوولوژی طبیعی ($r = 0 / ۳۳۲$, P value = $0 / ۰۱۵$), درصد اسپرم های متحرک ($r = 0 / ۴۲۲$, P value = $0 / ۰۰۱$), درصد اسپرم های متحرک پیشرونده درجه B و A ($r = ۳۸۶۰$, P value = $0 / ۰۰۳$)، pH مایع منی ($r = 0 / ۳۹$, P value = $0 / ۰۰۵$) و اسموولالیته پلاسمای مایع ($r = 0 / ۴۷۴$, P value = $0 / ۰۰۲$) ارتباط معنی دار داشت ولی میان غلظت روی پلاسمای مایع و سرم خون ارتباط معنی داری وجود نداشت ($r = 0 / ۱۱۳$, P value > $0 / ۰۵$).

* نتایج این مطالعه نشان داده است که بین غلظت روی سرم و سایر پارامترهای مایع منی به جز درصد اسپرم های متحرک پیشرونده ($r = 0 / ۳۰۹$, P value < $0 / ۰۱$) ارتباط معنی داری وجود نداشت.

نباروری یکی از مشکلات عمدۀ مبتلایان به ضایعه نخاعی است. از دلایلی که تاکنون ذکر شده، می توان به ناتوانی در نعروط و ارزال، 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 پروسات، هیپرترومی بیضه ها، عفونت های راجعه دستگاه اداری، بافت غیر طبیعی بیضه، تغیرات احتمالی در محصور هیپوتالاموس - هیپوفیز - بیضه، وجود آنتی بادی های ضد اسپرم، استفاده طولانی مدت از داروها و همچنین نحوه مراقبت از مثانه در این افراد، برای این مسئله ذکر شده است (۲). در پانوفیزیولوژی کیفیت پایین اسپرم در این افراد ، مطالعات اخیر بیشتر بر نقش منفی پلاسمای مایع آنها روی میکرو اسپرم تأکید می ورزند. 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 تا حدی باز یافته است (۳) که نشاندهنده وجود یا فقدان عامل یا عواملی در پلاسمای منی این افراد است که بر حرکت اسپرم تأثیر

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 افراد و تأثیر آن بر اسپرم، می‌تواند در شناسایی اتیولوژی و درمان ناباروری افراد مبتلا به ضایعات نخاعی و سایر پاتولوژی‌های مشابه، کمک شایانی کند.

چندین مطالعه، کاهش قدرت باروری اسپرم حتی در روش ICSI^{۱۳} را در افراد مبتلا به ضایعات نخاعی گزارش کرده‌اند (۱۲). 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 و میزان Decondensation (Condensation) آن پس از لقاح (۱۶، ۱۷) و با در نظر گرفتن اینکه در مطالعه Engh و همکاران میزان Condensation و Decondensation کروماتین اسپرم افراد 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 ضایعه نخاعی کمتر از افراد طبیعی است. این یافته و نیز افزایش pH و کاهش اسموالیتیه 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 دیگر Brackett و همکاران نشان داد که میزان PSA سرمی این افراد افزایش یافته است (۶).

یافته‌های این مطالعه، یعنی کاهش غلظت روی، کاهش اسموالیتیه 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 Brackett و همکاران (۶) است. از سوی دیگر نتایج ما نظر برداشته شده‌تر ترشحات (اسیدی و حاوی غلظت بالای آلبومین) پروستات نسبت به وزیکول سمینال باشد. به هر حال در مطالعات حیوانی نشان داده شده است که عصب دهی طبیعی پروستات برای فعالیت ترشحی آن ضروری است (۷).

نتایج مطالعه ما مثل سایر مطالعات، نشان‌دهنده افزایش قابل ملاحظه مقدار اسپرم‌ها نسبت به افراد طبیعی است اما در صد 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 ۲۰۰۰ امتالوآنژیم، 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 سیستم های 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 نشان داده شده است (۹)، لذا شرایط برای ایجاد استرس اکسیداتیو و آسیب‌های جدی به اسپرم‌ها فراهم است. برای مقابله با این اثرات مخبر یک سیستم آنتی اکسیدانی قوی مورد نیاز است. روی با چندین مکانیسم به صورت مستقیم و غیر مستقیم از ایجاد و گسترش

References

- Safarinejad MR. Level of injury and hormone profiles in spinal cord injury. Arch Phys Med Rehabil. 2001; 58:671-7.
- 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.

- 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-indused 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, 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-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.