یازدهمین کنگره ملی سراسری
فناوریهای نوین در حوزه توسعه پایدار ایران
11th National Congress of
the New Technologies in Sustainable Development of Iran
senaconf.ir

بررسی میزان عناصر آهن، مس، منیزیوم، روی و کلسیم در پلاسمای مایع منی مردان نابارور و ارتباط آنها با میزان رادیکال های آزاد اکسیژن

1-احسان قربانی
دپارتمان آندرولوژی پژوهشگاه رویان
ghorbaniehsan32@gmail.com

چکیده

مقدمه: ناباروری در مردان به دلیل تغییر و یا اختلال در فاکتورهای متعددی مانند اختلالات هورمونی و یا آسیب های آناتومیکی می تواند ایجاد شود . عناصر کمیاب یکی از این فاکتورها بوده که نقش آنها در بسیاری از عملکردهای زیستی بدن انسان مشخص شده است. هدف مطالعه حاضر بررسی و مقایسه مقادیر عناصر کمیاب و رادیکال های آزاد اکسیژن در گروه های مختلف نابارور و تفاوت آن با افراد سالم است.

روش کار: در این مطالعه ۱۰۰ مراجعه به آزمایشگاه مرکز رویان بر اساس فاکتورهای سازمان بهداشت جهانی در چهار گروه نرمال، آزواسپرمی، الیگواسپرمی و تراتو اسپرمی به گروهای ۲۵ نفره تقسیم شده و پس از آماده سازی نمونه مقادیر عناصر کمیاب با استفاده از کیت و مقادیر رادیکال آزاد اکسیژن با روش کمی لومینانس مورد سنجش قرار گرفت.

یافته ها: نتیایج بدست آمده از سنجش مقادیر عناصر کمیاب بین گروه های مختلف و رادیکال آزاد اکسیژن اختلاف معنی داری را بین گروها نشان نداد.

نتیجه گیری: یافته های ما اختلاف معنی داری را بین گروه ها در سطوح رادیکال آزاد اکسیژن و عناصر کمیاب نشان نداد که این موضوع می تواند به دلیل تاثیر پذیری عناصر کمیاب از فاکتورهای مختلفی مانند تغذیه و محیط باشد و داده های به دست آمده ممکن است از این عوامل تاثیر بذیرفته باشند.

کلید واژه:آهن ،مس ،منیزیوم ،پلاسمای مایع منی ، مردان ،رادیکال ها

مقدمه

ناباروری یکی از دغدغه ها در علم پزشکی است که علاوه بر ناتوانی جسمی در بچه دار شدن مشکلات روانی و اجتماعی متعددی را به همراه دارد. امروزه حدود ۱۵ تا ۲۰ درصد زوج ها دچار مشکل ناباروری هستند و در حدود نیمی از این مشکل به دلیل اختلال در فاکتورهای مردانه مانند نقص آناتومیکی ، بیماری و .. در دستگاه تناسلی مردانه است[1][2] .

یک از فاکتور های شایع در ناباروی مردان تغییر در پارامترهای اسپرم مانند حرکت، شکل و تعداد می باشد که عوامل گوناگونی مانند اختلالات ژنتیکی، هورمونی و بیماری های عفونی میتوانند باعث تغییر این پارامترها بشوند[3].

اخیر عناصر کمیاب به عنوان یکی از عوامل تاثیر گذار بر بلوغ و عملکرد صحیح اسپرم که می توانند پارامترهای اسپرم را تغییر دهند مورد توجه دانشمندان قرار گرفته اند اما هنوز درک واضح و کاملی از نقش و ارتباط این عناصر با یکدیگر و سایر عوامل وجود ندارد برای مثال به نظر می رسد عنصر روی برای رشد طبیعی بیضه ها ، تولید اسپرم (اسپرماتوژنز) و فیزیولوژی اسپرم ضروری می باشد[4] .آهن نیز پس از روی دومین عنصر فلزی مهم بعد بوده که در سنتز DNA و انتقال الکترون نقش دارد و ممکن است با القا لیپیدپراکسیدیشن بر حرکت اسپرم اثر بگذارد[5].

همچنین فرم یونیزه مس برای انواع مختلفی از سلول ها که شامل سلول های اسپرم انسان نیز می شود دارای سمیت می باشد. تاثیر سمی مس تولید رادیکال های آزاد اکسیژن[1](ROS) و اکسیداسیون پروتئین و لیپیدها را به همراه دارد درحالی که این موضوع تاثیر منفی بر حرکت و بقای اسپرم دارد. مس به همراه روی مانع اثرات تخریبی رادیکال های آزاد اکسیژن بر روی اسپرم نیز می شود[6]

منیزیوم چهارمین کاتیون مهم بدن انسان بوده که برای حفظ ساختار ریبوزوم ها ، اسیدهای نوکلئیک و برخی پروتئین ها مهم می باشد. دو نقش برجسته برای منیزیوم در سیستم بیولوژیکی قائل می باشند: ۱. توانایی رقابت با کلسیم برای اتصال به جایگاه در پروتئین ها و غشاها ۲. می تواند با لیگاندهای آنیون های داخل سلولی به ویژه با آدنوزین تری فسفات فرم شلاته تشکیل دهد[7].

عنصر کلسیم در پرستات ، کیسه های منی و اپیدیدیم فراوان بوده و تعدادی از مطالعات بیانگر ارتباط بین کلسیم و ناباروری در مردان است. کلسیم به عنوان ماشه واکنش های آکروزومی در اسپرم پستانداران است و شواهد قابل توجهی بیانگر نقش های متفاوت کلسیم در تحرک اسپرم که وابسته به مرحله بلوغ اسپرم می باشد است[8].

از سوی دیگر ROS یکی از عوامل موثر عملکرد اسپرم طبیعی می باشد که به طور طبیعی در واکنش های زیستی توسط اسپرم تولید می شود و رفتارهایی مانند سیگار کشیدن، مصرف الکل، آلودگی های محیطی ، برخی پرتوها و... می تواند باعث افزایش مقادیر رادیکال های ازاد اکسیژن شود که منجرب به بهم خوردن تعادل بین تولید ROS و توانایی آنتی اکسیدانی شده، در نتیجه گونه های فعال زیاد می شوند[9] . از پیامد های گونه های فعال اثرات تخریبی بر اندام های سلولی ، DNA اسپرم و لیپیدپر اکسیداسیون چربی ها است. در برخی پژوهش ها بین مقادیر مس و ROS ارتباط معنی دار مشاهده شده اما ارتباط سایر عناصر با مقایر ROSیا دارای پژوهش های کم بوده و یا مورد بررسی قرار نگرفته است[10].

---

[1] REACTIVE OXYGEN SPECIES

بررسی ارتباط عناصر کمیاب و کیفیت اسپرم می تواند پاسخگو بسیاری سوالات در حوزه تشخیص و درمان باشد. برای مثال مکمل های عناصر کمیاب در تحقیقات متعددی در جهت بهبود افراد نابارور مورد بررسی قرار گرفته اما نتایج متفاوتی گزارش شده به گونه ای که برخی گزارش ها عدم موثر بودن مکمل ها و برخی نتیجه مخالف را گزارش کرده بودند.

با توجه به تناقض ها، مجهول بودن نقش و ارتباط برخی عناصر ، آن و اهمیت یافتن این ارتباط ها ما برآنیم تا با بررسی مقادیر برخی عناصر کمیاب در گروهای مختلف مردان ناباور و مقادیر ROS به درکی واضح از ارتباط این عناصر با یکدیگر و گروه های نابارور مختلف همچنین سطوح رادیکال های آزاد برسیم.

مواد و روش ها

نمونه ها ، مایع منی مردان مراجعه به پژوهشگاه رویان بود که پس از بررسی توسط بخش اسپرموگرام آزمایشگاه تشخیص طبی ، تمامی جواب ها از نظر تعداد و حرکت اسپرم بررسی شد و مواردی که دارای ویژگی های زیر بودند انتخاب شدند.

۱. افرادی که تعداد اسپرم کمتر از ۱۵ میلیون داشتند.
۲. افرادی که حرکت کمتر از ۳۲ درصد داشتند.
۳. افرادی که شکل طبیعی کمتر از ۴ درصد داشتند.
۴. افرادی که تمامی پارامتر های آنها یعنی حرکت ، شکل و تعداد در محدود نرمال بود.

۳-۴ -نحو جمع آوری نمونه

نمونه ها از طریق خودارضایی در لوله های پلاستیکی دهانه گشاد استریل بعد از سه روز پرهیز از ارتباط جنسی و با رعایت شرایط بهداشتی جمع آوری شدند. نمونه هر فرد ابتدا به مدت ۱۰-۲۰ در انکوباتور جهت مایع شدن قرار گرفت.

آنالیز نمونه سمن

نمونه ها بر اساس استاندارد سازمان بهداشت جهای جمع آوری و آماده سازی شدند.

آماده سازی نمونه ها برای بررسی عناصر

ابتدا کیت های سنجش عناصر از شرکت بارکس فارس ایران خریداری شده و طبق دستور العمل شرکت بر روی دستگاه اتوآنالایز تنظیم شد.

سپس نمونه ها را در سانتریفیوژ ۶۰۰۰ هزار دور به مدت ۲۰ دقیقه قرار داد تا پلیت از سوپرناتانت به خوبی جدا شود . سپس سوپرناتانت را نگه داشته وپلیت را دور میریزیم.

سنجش مس

مس : روش کالریمتریک(3.5-Di-Br-PAESA) ، مس در PH برابر با ۴/۷ ازسرولوپلاسمین جدا شده، سپس با معرف رنگی ۳,۵ Di-Br-PAESA-واکنش داده و یک ماده رنگی پایدار تولید می شود. شدت رنگ به طور مستقیم با مقدار مس موجود در نمونه متناسب است.

نمونه مایه پلاسمایی اسپرم را به سرم فیزیولوژیک به نسبت ۱ به ۱۰۰ رقیق کرده و مقدار ۵۰ ماکرولیتر را با ۱۰۰۰ ماکرولیتر واکنش گر در دستگاه اتوآنالایزر تنظیم میکنیم. در این روش مقدار مس تا ۵۰۰ ماکرولیتر به صورت خطی می باشد.

سنجش آهن

با روش Ferrozine ، آهن در شرایط اسیدی از ترانسفرین جدا می شود. اسید آسکوربیک آهن آزاد شده (فریک) را به شکل فروس تبدیل میکند. یون های آهن فروس با معرف Ferrozine واکنش داده و کمپلکس رنگی تولید می شود که این میزان جذب کمپلکس در ۵۴۶ نانومتر اندازه گیری می شود . شدت رنگ تولید شده مستقیما با غلظت آهن موجود در سرم یا پلاسما متناسب است

برای سنجش آهن نمونه مایع پلاسمایی را به نسبت ۱ به ۱۰۰۰ با سرم فیزیولوژیک رقیق کرده و ۱۰۰۰ ماکرولیتر از نمونه را با ۱۰۰۰ ماکرولیتر از واکنشگر ۱و۲۰۰ ماکرولیتر واکنشگر ۲ در دستگاه اتوآنالایزر تنظیم میکنیم.

این روش مقدار آهن تا ۳۵۰ ماکروگرم در دسی لیتر خطی می باشد.

سنجش منیزیم

روش XYLIDYL BLUE ، یون های منیزیوم با معرف xylidyl blue در PH قلیایی متوسط واکنش داده و کمپلکس رنگی قرمز- صورتی تشکیل می شود. شدت رنگ تشکیل شده مستقیما با غلظت منیزیوم موجود در نمونه متناسب است.کلسیم از طریق واکنش با EGTA مانع این واکنش می شود.

نمونه مایه پلاسمایی منی را به نسبت ۱ به ۱۰ با سرم فیزیولوژیک رقیق کرده و مقدار ۱۰ ماکرولیتر را با ۱۰۰۰ ماکرولیتر در دستگاه اتوانالایزر تنظیم میکنیم.

برای محاسبه اختلاف جذب نمونه را در اختلاف جذب استاندارد تقسیم و در غلظت استاندارد ضرب میکنیم. در این روش مقدار منیزیم تا ۵ میلی گرم در دسی لیتر خطی می باشد.

سنجش روی

روی موجود در نمونه توسط ترکیب ۵-(N-prppyl-N-(bromo-2-pyridylazo)-5-/2 -Br-PAPS-(sulfopropylamino)-phenol)موجود در معرف شلاته می شود، میزان کمپلکس تشکیل شده با میزان روی موجود در نمونه متناسب می باشد.

نمونه را با سرم فیزیولوژیک به نسبت ۱ به ۱۰۰ رقیق کرده و مقدار ۵۰ ماکرولیتر را با ۱۰۰۰ ماکرولیتر واکنشگر در دستگاه اتوآنالایزر تنظیم می کنیم. سپس با تقسیم کردن اختلاف جذب نمونه در اختلاف جذب استاندارد و ضرب کردن در غلظت

استاندارد نتیجه را محاسبه میکنیم. در پایان با ضرب در عدد ۰/۱۵۳ غلظت را به ماکرومول در لیتر تبدیل می کنیم. حساست این روش تا ۵ ماکروگرم در دسی لیتر می باشد.

سنجش کلسیم

روش ARSENAZO ، یون های کلسیم با معرف آرسنوزا واکنش داده ویک کمپلکس آبی رنگ تشکیل می دهند. مقدار کمپلکس با غلظت کلسیم در نمونه ارتباط مستقیم دارد.

برای اندازه گیری کلسیم باید نمونه را ۱ به ۱۰۰۰ با سرم فیزیولوژیک رقیق کرده و سپس در دستگاه اتوآنالایز به نسبت ۱۵ ماکرولیتر نمونه به ۱۰۰۰ ماکرولیتر واکنشگر تنظیم کنیم. سپس با تقسیم کردن اختلاف جذب نمونه در اختلاف جذب استاندارد و ضرب کردن در غلظت استاندارد نتیجه را محاسبه میکنیم. این روش تا ۰/۲ میلی گرم در دسی لیتر حساسیت داشته.

سنجش ROS

نمونه ها بلافاصله بعد از آنالیز سمن، برای اندازه گیری ROS برداشت شوند، چرا که فاکتور زمان بسیار روی میزان ROS های آزاد شده اسپرم و مایه سمینال تاثیر گذار می باشد و باعث افزایش آنها می گردد. همچنین باید شرایط نمونه ی قبل و بعد (فاصله زمانی نمونه از دریافت نمونه تا آنالیز ، مدت و دور سانترفیوژ برای شستشوی مایع سمینال و مقدار مایع سمینال از نظر تعداد اسپرم) یکسان باشد. مراحل اندازه گیری ROS بصورت ذیل می باشد:

۱. نمونه های سمن بخوبی مخلوط کرده و یک حجم کم که حداقل ۱۰ میلیون اسپرم داشته باشد را برای اندازه گیری ROSبرداشت می کنیم.
۲. سپس اسپرم ها را با محلول KRM شستشو می دهیم و بعد از شستشو ، با محلول KRM محلولی که دقیقا ۱۰ میلیون اسپرم داشته باشد را تهیه میکنیم. در اینجا چون نمونه اولی که برای آنالیز اسپرم برداشتیم حاوی ۱۰ میلیون اسپرم بود پس کافیست بعد از شستشوی اسپرم ها یک سی سی محلول KRM بریزیم.
۳. 200میکرولیتر از سوسپانسیون اسپرم های تهیه شده در KRM را در یک پلیت لومینومتر می ریزیم.
۴. 2میکرو لاندا از لومینول ۲۵ میلی مول در لیتر اضافه میکنیم.
۵. 4میکرو لاندا HRP را به آنها اضافه می نماییم.
۶. سپس پلیت را در دستگاه لومینومتر قرار داده و طبق برنامه ای که در دستگاه تنظیم کردیم در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد ، پلیت را به مدت ۵ ثانیه شیک و سپس سیگنال های بدست آمده را به مدت ۲ دقیقه خوانش میکنیم تا سیگنال های حاصله ثابت شوند و پلیت از دستگاه بیرون بیاید.
۷. در اینجا ما برای اینکه ROS تولید شده توسط لکوسیت ها را حذف کنیم از FLMP برای حذف ROS تولید شده توسط لکوسیت ها استفاده می کنیم . برای این کار ۱ میکرو لیتر از FLMP را به نمونه بالا اضافه میکنیم تا به ازای هر

لکوسیتی که در نمونه موجود است، ROSآزاد گردد. به مدت ۵ دقیقه سیگنال های آزاد شده در مجاورت FLMP را خوانش میکنیم تا سیگنال ها ثابت گردد و پلیت طبق برنامه داده شده از دستگاه بیرون آید.

۸. در مرحله بعد PMA را برای اندازه گیری ROS های آزاد شده از اسپرماتوزا و لکوسیت ها اضافه می کنیم. مقدار ۲ میکرو لیتر از PMA رقیق شده در DMSO را به پلیت اضافه کرده و به مدت ۵ دقیقه سیگنال های آزاد شده ROS را با دستگاه می خوانیم.

عناصر	تعداد	میانگین	انحراف استاندارد	P VALUE

نتیجه بدست امده در مرحله ۲ را از مرحله ۳ کم میکنیم تا مقدار واقعی ROS آزاد شده به وسیله اسپرماتوزا بدست آید.
نتیجه بصورت فوتون های آزاد شده در دقیقه می باشد(۱۲).
نتایج بدست آمده با استفاده از نرم افزار spss15 و با استفاده از روش های آمار ناپارامتریو رگرسیون خطی استفاده شده و در عناصر کمیاب و رادیکال آزاد میانگین ها و انحراف میارها مورد مقایسه قرار گرفت . مقدارp کمتر از ۰,۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج

این مطالعه بر روی ۱۰۰ نفر از افراد مراجعه به آزمایشگاه روتین مرکز ناباروری رویان انجام شد و افراد برحسب فاکتورهای سازمان بهداشت جهانی به گروه های۲۵ نفره شامل الیگو اسپرمی، تراتو اسپرمی، آستنواسپرمی و نرمال تقسیم شدند. بعد از سنجش با برررسی های آماری و مقایسه مقادیر بدست آمده (جدول شماره ۱) هیچ ارتباطی تفاوت معنی داری بین گروهای متفاوت نابارور با یکدیگر و با گروه نرمال مشاهده نشد($P>0.05$) . همچنین این عدم تفاوت معنی دار در مقادیر رادیکال آزاد نیز مشاهده شد(جدول شماره ۲)

جدول شماره۱)مقایسه مقادیر عناصر در بین گروهای نابارور وگروه نرمال

کلسیم (mg/dl)	الیگو اسپرمی	25	12.14	2,97	۰,۳۷۹
	تراتواسپرمی	25	12.41	2,68	
	استنواسپرمی	25	11.30	3,48	
	نرمال	25	12.70	2,96	
مس (µg/dl)	الیگو اسپرمی	25	20.06	7,68	0.587
	تراتواسپرمی	25	21.53	7,34	
	آستنواسپرمی	25	23.00	11,5	
	نرمال	25	48.54	8,13	
آهن (µg/dl)	الیگواسپرمی	25	3.89	10,6	0.492
	تراتواسپرمی	25	3.57	7,73	
	آستنواسپرمی	25	2.98	8,16	
	نرمال	25	3.96	6,12	
منیزیم (mg/l)	آلیگواسپرمی	25	5.80	0.69	
	تراتواسپرمی	25	3.89	0.55	0.345
	آستنواسپرمی	25	5.79	0.72	
	نرمال	25	7.92	0.74	

0.211	27,8	83/57	25	الیگو اسپرمی	روی(mg/l)
	26,4	67/12	25	تراتواسپرمی	
	27,9	75/67	25	آستنواسپرمی	
	39,6	129/23	25	نرمال	

جدول شماره ۲)مقایشه مقادیر رادیکال های آزاد اکسیژن در بین گروهای نابارور و گروه نرمال

		N	Mean		
P value	sd				
0.563	5,24	25	14.59	الیگو اسپرمی	مقادیر رادیکال سرم
	4,64	25	13.06	تراتواسپرمی	
	3.46	25	16.54	آستنواسپرمی	
	10,2	25	10.64	نرمال	

بحث و نیجه گیری

اختلال در عملکرد اسپرم می تواند تحت تاثیر عوامل محیطی، تغذیه و یا ژنتیک باشد.در سال ۲۰۱۰ سامان بهداشت جهانی با اعلام کاهش کیفیت اسپرم در سراسر جهان پارامتر های اسپرم را تغییر داد. برای مثال تعداد اسپرم را از بیست میلیون به پانزده میلیون کاهش که پارامتری برای طبیعی بود تعداد اسپرم است[11]. به نظر میرسد یکی از دلایل این کاهش در تعداد اسپرم به دلیل تبادلات انسان با محیط زیست و یا توسعه تکنولوژی و صنعتی شدن در سراسر جهان باشد. آلاینده های زیستی به شدت در محیط زیست انسان افزایش یافته است. از بین این آلاینده ها عناصر کمیاب به شیوه های گوناگون مانند آب ، خاک ، مواد خوراکی و تغذیه ای، هوا می توانند مکانیسم زیستی موجودات زنده را دست خوش تغییر قرار دهند.

بر همین اساسKasperczyk و همکارانش تحقیقی بر تاثیرات محیطی مس و روی بر کیفیت اسپرم مردان نابارور انجام دادند نتایج این تحقیقات نشان می داد که بین پارامتر های اسپرم شامل مورفولوژی، حرکت و تعداد بین دو گروه کنترل و مورد آزمایش تفاوت معنا داری موجود ندارد .همچنین به نظر می رسید که روی به دلیل تاثیر بر غلظت استرس اکسیداتیو و پاسخ ایمنی موجب تسهیل حرکت اسپرم می شود. از سوی دیگر تاثیر گذاری مخالف مس و روی نسبت به یکدیگر تایید می شد[12].بر همین اساس در نتایج بدست آمده از تحقیقات ما نیز ارتباط اختلاف معنی داری بین گروهای مختلف نابارور با گروه نرمال وجود نداشت.

در تحقیق دیگری توسط P.bergamo و همکارانش بر روی ۱۱۰ مرد سالم که در نواحی مختلف زندگی میکردند انجام شد، در این تحقیق افراد به دو گروه محل زندگی با تاثیر آلودگی زیاد و تاثیر آلودگی کم تقسیم می شدند. نتایج مقایسه بین این دو گروه نشان می داد که میزان مس، روی، کروم در گروهی که در مناطق آلوده تر زندگی میکنند افزایش و میزان آهن کاهش یافته است، همچنین کاهش حرکت اسپرم و افزایش شاخص شکست DNA در این گروه دیده می شود[13]).

نتایج بدست آمده از پژوهش ما تفاوت معنی داری در سطوح روی ، مس، آهن در بین گروه ها یا افراد که به صورت تصادفی از شهرها و نواحی مختلف بودند را نشان نمی داد ، به نظر این اختلاف در صورتی مشاهده می شود که افراد در نواحی بسیار آلوده با نواحی بسیار پاک از نظر محیط زیستی مورد مقایسه قرار بگیرند. از سوی دیگر به طور کلی افرادی که در شهرهای صنعتی و در نزدیکی با کارخانه ها یا مراکزی که ضایعات یا تولید مواد شیمیایی دارند احتمالا بیشتر در معرض عناصر کمیاب بوده و احتمال جذب بیشتر در این افراد وجود دارد که می تواند منجر به تاثیر در تغییر فاکتور ها باروری و پارامترهای اسپرم شود ولی این میزان تاثیر و جذب باید بسیار زیاد باشد تا قابل ملاحظه باشد.

همانطور که گفته شد یکی دیگر از نحو های تاثیر گذاری عناصر کمیاب از طریق تغذیه است ، در اینجا تغذیه به طور کلی به مکمل های غذایی ، رژیم غذایی اشاره دارد.

یکی از تحقیقات که توسط Hadwan در سال ۲۰۱۲ بر روی ۳۷ مرد نابارور و بارور نسبت به تاثیر مصرف خوراکی مکمل روی اجرا شد. نتایج نشان دهنده تفاوت معنی داری بین دو گروه در پارامترهای اسپرم و میزان ذخیره روی نبود. در همین راستا نتایج ما نیز اختلاف معنی دار روی در گروه ها را نشان نمی داد . به نظر مقادیر روی درصورت اختلاف بسیار زیاد مثلا کاهش خیلی شدید به دلیل تغذیه نامناسب یا بیماری و در مراحل جنینی و قبل از بلوغ می توانند در رشد ناکافی دستگاه تناسلی و اختلالات هورمونی تاثیر گذار باشد[14].

گروه دیگری از پژوهش ها به بررسی و مقایسه چندین عنصر در مردان بارور یا نابارور پرداختند که بین آنها اختلاف نظر های زیادی وجود دارد در بین عناصر کمیاب عنصر روی به دلیل داشتن مقادیر زیاد در مایع سمن بیشتر مورد تحقیق قرار گرفته و اختلاف نظرات زیادی درباره تاثیر گذاری و معناداری آن در پژوهش ها وجود دارد. از این گروه پژوهش ها می توان موارد زیر را که مشابه با کار تحقیق ما بودند مورد بررسی و مقایسه قرار دارد.

Asaf Abedدر سال ۲۰۱۰ به مقایسه سطوح مس، آهن، منیزیم و روی در دو گروه بارور و نابارور پرداخت. نتایج این پژوهش نشان می داد که میزان روی و منیزیم در گروه نابارور نسبت به بارور کمتر بوده (اختلافی در حدود ۷۰ میلی گرم در لیتر) در حالی که بین سایر عناصر بین دو گروه هیچ اختلاف معنی داری مشاهده نشد و به نظر می رسید بین مقادیر مس و منیزیم ارتباط معنادار وجود داشته باشد[15].

یکی از کاستی ها در پژوهش Asaf Abed عدم مشخص بودن گروه نابارور می باشد که در کار پژوهشی ما به طور دقیق این تقسیم بندی صورت گرفت . اما نتایج ما نیز بیانگر عدم اختلاف معنا دار مقادیر مس ، آهن، منیزیم و روی در گروه ها بود. همچنین هیچ ارتباط معنا داری بین میزان روی و منیزیم در هیچ گروه مشاهده نشد .

از دیگر تحقیقات جامع بر روی افراد نابارور در زمینه عناصر کمیاب توسط Kasperczyk و همکارانش در سال ۲۰۱۴ می باشد که افراد بارور را به دو گروه با مقادیر بالا و مقادیر پایین عناصر کمیاب شامل مس، منیزیم، آهن، روی و سلنیم ، تقسیم می کردند. نتایج این تحقیق تنها اختلاف بسیار کمی در حرکت اسپرم بین گروه ها را نشان می داد و سایر پارامترها هیچ گونه اختلاف معناداری نداشتند[12]) .

تفاوت کار Kasperczyk با ما در افراد نابارور و برخی عناصر می باشد اما نتایج ما نیز مشابه بود و حتی با اینکه بین پارامترهای اسپرم گروه ها تفاوت وجود داشت اختلاف بین مقادیر عناصر گروه ها معنی دار نبود. بر همین اساس به نظر می رسد که بین پارامترهای اسپرم بر میزان عناصر و معکوس ارتباطی وجود نداشته باشد.

همانطور که گفته شد عنصر روی بیشترین تحقیقات و بررسی ها را به خود اختصاص داده و بیشتر مقالات نظریه ارتباط بین روی و منیزیم را مورد بررسی قرار داده اند. یکی از این پژوهش ها توسط Abdul-Rasheed در افراد نابارور با هدف بررسی همکاری بین منیزیم و روی انجام شده است. نتایج این تحقیق نشان می داد که میزان منیزم در گروه آزوسپرمی نسبت به گروه نرمال کمتر بوده و هیچ اختلافی بین گروه الگوسپرمی ها و نرمال دیده نشد. همچنین هیچ اختلاف معنی داری بین میزان روی در گروه ها وجود نداشت و به نظر می رسید که روی و مس از دو روش متفاوت در فرآیند باروری تاثیر می گذارند و هیچ همکاریو ارتباطی بین آنها وجود ندارد[16]).

نتایج بدست آمده از پژوهش ما نیز هیچ ارتباط و اختلاف معنا داری را بین گروه ها نشان نمی داد . اما تفاوت کار ما در عدم بررسی گروه آزواسپرمی می باشد ، با توجه به اینکه این گروه درصد کمتری از افراد نابارورا شامل می شود و به طور معمولا به دو دسته انسدادی و غیر انسدادی که گروه انسدادی به وسیله جراحی مورد درمان قرار میگیرند ، درنتیجه اهمیت کمتری برای پژوهش دارند.

J. Valsa و همکارانش مطالعه ای با هدف بررسی تاثیر کلسیم و منیزیم بر حرکت اسپرم در سال ۲۰۱۵ انجام دادند. نتایج این مطالعه هیچ ارتباطی بین کلسیم و منیزیم با حرکت اسپرم را نشان نداد[17]).

از نقاط قوت این مطالعه بررسی دقیق یک پارامتر و دو عنصر که در طول ۲۴ ساعت انجا شد و همچنین در نظر گرفتن معیار ورودی افراد جوان و سالم برای ورود به پژوهش می باشد. اما نداشتن هیچ گروه نابارور و جامع اماری کم از ایرادات این مطالعه می باشد.

نتایج بدست آمده توسط J. Valsa با نتایج ما کاملا مشابه و هیچ ارتباط معنی دار بین میزان منیزیم و کلسیم با پارامترهای اسپرم مشاهده نشد. اما بین مقادیر کلسیم و منیزیم در ۳ گروه نابارو ارتباط معنی دار وجود داشت در حالی که این ارتباط در گروه نرمال دیده نمی شد. ممکن است این دو عنصر با یکدیگر در ایجاد اختلال در پارامترهای اسپرم تاثیر گذار باشند ولی به تنهایی تاثیر قابل مشاهده ای نداشته باشند.

نتیجه گیری

به نظر می رسد هیچ اختلاف معنی داری در سطوح عناصر کمیاب بین افراد نرمال با افراد نابارور وجود ندارد.

منابع

[1] F. L. Moore and R. A. Reijo-Pera, "Male sperm motility dictated by mother's mtDNA," *Am. J. Hum. Genet.*, vol. 67, no. 3, pp. 543–548, 2000, doi: 10.1086/303061.

[2] W. D. Mosher, "Fecundity and infertility in the United States," *Am. J. Public Health*, vol. 78, no. 2, pp. 181–182, 1988, doi: 10.2105/AJPH.78.2.181.

[3] O. S. Barroso G, Morshedi M, "Analysis of DNA fragmentation, plasma membrane translocation of phosphatidylserine and oxidative stress in human spermatozoa," *Hum Reprod.*, vol. 15, pp. 13388–1344, 2000.

[4] M. Saaranen, U. Suistomaa, M. Kantola, S. Saarikoski, and T. Vanha-perttula, "Lead, magnesium, selenium and zinc in human seminal fluid: Comparison with semen parameters and fertility," *Hum. Reprod.*, vol. 2, no. 6, 1987, doi: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a136573.

[5] V. Brochu, D. Grenier, K. Nakayama, and D. Mayrand, "Acquisition of iron from human transferrin by Porphyromonas gingivalis: A role for Arg- and Lys-gingipain activities," *Oral Microbiol. Immunol.*, vol. 16, no. 2, 2001, doi: 10.1034/j.1399-302X.2001.016002079.x.

[6] V. Desai and S. G. Kaler, "Role of copper in human neurological disorders," in *American Journal of Clinical Nutrition*, 2008, vol. 88, no. 3, doi: 10.1093/ajcn/88.3.855s.

[7] H. D. A. E. Omu A. A. Al-Bader, "MAGNESIUM IN HUMAN SEMEN: POSSIBLE ROLE IN PREMATURE EJACULATION," *Arch. Androl.*, vol. 46, no. 1, 2001, doi: 10.1080/01485010121440.

[8] H. Shi, Y. Di Halvorsen, P. N. Ellis, W. O. Wilkison, and M. B. Zemel, "Role of intracellular calcium in human adipocyte differentiation," *Physiol. Genomics*, vol. 2000, no. 3, 2000, doi: 10.1152/physiolgenomics.2000.3.2.75.

[9] R. K. Sharma and A. Agarwal, "Role of reactive oxygen species in male infertility," *Urology*, vol. 48, no. 6. 1996, doi: 10.1016/S0090-4295(96)00313-5.

[10] A. Agarwal, R. K. Sharma, K. P. Nallella, A. J. Thomas, J. G. Alvarez, and S. C. Sikka, "Reactive oxygen species as an independent marker of male factor infertility," *Fertil. Steril.*, vol. 86, no. 4, 2006, doi: 10.1016/j.fertnstert.2006.02.111.

[11] R. Walczak-Jedrzejowska, J. K. Wolski, and J. Slowikowska-Hilczer, "The role of oxidative stress and antioxidants in male fertility," *Cent. Eur. J. Urol.*, vol. 66, no. 1, 2013, doi: 10.5173/ceju.2013.01.art19.

[12] A. Kasperczyk, M. Dobrakowski, S. Horak, J. Zalejska-Fiolka, and E. Birkner, "The influence

of macro and trace elements on sperm quality," *J. Trace Elem. Med. Biol.*, vol. 30, 2015, doi: 10.1016/j.jtemb.2014.12.007.

[13] E. Llano *et al.*, "STAG3 is a strong candidate gene for male infertility," *Hum. Mol. Genet.*, vol. 23, no. 13, 2014, doi: 10.1093/hmg/ddu051.

[14] M. H. Hadwan, L. A. Almashhedy, and A. R. S. Alsalman, "Oral zinc supplementation restore high molecular weight seminal zinc binding protein to normal value in Iraqi infertile men," *BMC Urol.*, vol. 12, 2012, doi: 10.1186/1471-2490-12-32.

[15] A. Abed and A. Jarad, "Significance of some trace elements in semen of infertile men," *Ibnosina J. Med. Biomed. Sci.*, vol. 6, no. 3, 2014, doi: 10.4103/1947-489x.210375.

[16] O. F. Abdul-Rasheed, "Association between seminal plasma copper and magnesium levels with oxidative stress in Iraqi infertile men," *Oman Med. J.*, vol. 25, no. 3, 2010, doi: 10.5001/omj.2010.51.

[17] J. Valsa, K. P. Skandhan, P. S. Khan, K. P. S. Avni, S. Amith, and M. Gondalia, "Calcium and magnesium in male reproductive system and in its secretion. I. Level in normal human semen, seminal plasma and spermatozoa," *Urologia*, vol. 82, no. 3, 2015, doi: 10.5301/urologia.5000039.