

## بررسی اثرات تجویز توأم مکمل ویتامین E و دکوزاهگزانوئیک اسید بر شاخص‌های

### استرس اکسیداتیو پلاسمای سمینال در مردان آستنواسپرم

غزاله اسلامیان<sup>۱</sup>، دکتر ناصر امیرجنتی<sup>۲\*</sup>، دکتر بهرام رشیدخانی<sup>۳</sup>، دکتر محمدرضا صادقی<sup>۴</sup>، دکتر آریتا حکمت دوست<sup>۵</sup>

۱. کارشناس ارشد علوم تغذیه، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، کمیته پژوهشی دانشجویان، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

۲. استادیار و متخصص ارولوژی، گروه آندروولوژی و جنین شناسی، پژوهشکده بیوتکنولوژی تولید مثل، پژوهشگاه فناوری‌های نوین علوم زیستی جهاد دانشگاهی- ابن سینا، تهران

۳. دانشیار اپیدمیولوژی، گروه تغذیه جامعه، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

۴. دانشیار بیوشیمی بالینی، گروه آندروولوژی و جنین شناسی، پژوهشکده بیوتکنولوژی تولید مثل، پژوهشگاه فناوری‌های نوین علوم زیستی جهاد دانشگاهی- ابن سینا، تهران

۵. استادیار علوم تغذیه، گروه تغذیه بالینی و رژیم درمانی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

#### چکیده

**سابقه و هدف:** یکی از عوامل مؤثر در نقص عملکرد و کاهش تحرک اسپرم، افزایش گونه‌های فعال اکسیژن و افزایش سطح اکسیداتیوی پلاسمای سمینال می‌باشد. پژوهش حاضر با هدف تعیین اثرات تجویز توأم مکمل اسید چرب دکوزاهگزانوئیک اسید و ویتامین E بر استرس اکسیداتیو پلاسمای سمینال در مردان آستنواسپرم انجام گرفت.

**مواد و روش‌ها:** در این کارآزمایی بالینی تصادفی سه سوکور کنترل‌دار، از میان ۲۷۵ مرد مراجعه کننده به کلینیک مردان مرکز درمان ناباروری ابن سینا، ۵۰ مرد آستنواسپرم با تحرک کلی اسپرم کمتر از ۵۰٪ و حرکت رو به جلوی اسپرم کمتر از ۲۵٪، به روش تقسیم تصادفی بلوکی طبقه‌بندی و به دو گروه تقسیم شدند. افراد گروه آزمون به مدت ۱۲ هفته، روزانه ۴۶۵ میلی گرم دکوزاهگزانوئیک اسید و ۶۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E و افراد گروه کنترل، روزانه دو کپسول دارونما دریافت کردند. غلظت ۸- ایزوپروستان، ظرفیت آنتی اکسیدانی تام و غلظت مالون‌دی‌آلدهاید پلاسمای سمینال، پارامترهای اسپرم، دریافت‌های رژیم غذایی، شاخص‌های تن‌سنجی و میزان فعالیت بدنی در ابتدا و انتهای پژوهش، تعیین شدند. آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار SPSS انجام گرفت.

**یافته‌ها:** از بین ۵۰ مردی که در این پژوهش داوطلبانه شرکت کردند، ۲۲ نفر در گروه مداخله و ۲۰ نفر در گروه کنترل، پژوهش را به پایان رساندند. ظرفیت آنتی اکسیدانی تام پلاسمای سمینال در گروه مداخله، در مقایسه با گروه دارونما، افزایش معنی‌داری یافت ( $P < 0.001$ ). غلظت ۸- ایزوپروستان ( $P = 0.033$ ) و غلظت مالون‌دی‌آلدهاید پلاسمای سمینال ( $P = 0.002$ ) در گروه مداخله در مقایسه با گروه کنترل، کاهش معنی‌داری یافت.

**نتیجه‌گیری:** این پژوهش نشان داد دریافت توأم مکمل اسیدچرب دکوزاهگزانوئیک اسید و ویتامین E در مردان آستنواسپرم، منجر به کاهش استرس اکسیداتیو پلاسمای سمینال می‌شود. از آن جا که افزایش گونه‌های فعال اکسیژن در اختلالات اسپرم مشاهده شده است، مصرف خوراکی آنتی‌اکسیدان‌ها مانند ویتامین E، به صورت بالقوه می‌تواند یکی از راه‌های مقابله با آسیب‌های اکسیداتیو اسپرم در این گروه از مردان نابارور باشد.

**واژگان کلیدی:** استرس اکسیداتیو، اسید دکوزاهگزانوئیک، ویتامین E، آستنواسپرمی، مردان نابارور

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Eslamian G, Amirjannati N, Rashidkhani B, Sadeghi M-R, Hekmatdoost A. Effects of combined supplementation with vitamin E and docosahexaenoic acid on oxidative stress markers in seminal plasma in asthenozoospermic men. *Pejouhandeh* 2013;18(5):222-231.

#### مقدمه

باروری در اکثر فرهنگ‌ها از ارزش بالایی برخوردار است و

آرزوی داشتن فرزند، یکی از اساسی‌ترین محرک‌های انسانی به شمار می‌آید (۱). آمارهای جهانی نشان می‌دهند که در حدود ۱۰ تا ۱۵ درصد از زوج‌ها، در طول سال‌های زندگی مشترک خود، ناباروری را تجربه می‌کنند. در ایران نیز ۲۱ تا ۲۲ درصد زوج‌ها، نابارور هستند (۲ و ۳) که این میزان از میانگین جهانی بالاتر است. حدود یک سوم از موارد ناباروری،

\*نویسندگان مسؤول مکاتبات: دکتر ناصر امیرجنتی، تهران، صندوق پستی: ۱۹۶۱۵-۱۱۷۷، تلفن: ۲۲۴۳۲۰۲۰، (۰۲۱)، نمابر: ۲۲۴۳۲۰۲۱ (۰۲۱)؛ پست الکترونیک: [janati@avicenna.ac.ir](mailto:janati@avicenna.ac.ir)؛ دکتر آریتا حکمت دوست، تهران، صندوق پستی: ۴۷۴۱-۱۹۳۹۵، تلفن: ۲۲۳۵۷۴۸۴ (۰۲۱)، پست الکترونیک: [a\\_hekmat2000@yahoo.com](mailto:a_hekmat2000@yahoo.com)

پیشنهاد داده‌اند که اختلالات اسپرم احتمالاً با سطح بالای ROS در اسپرم و کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدان‌های تام پلاسمای سمینال در ارتباط است (۱۵). اکسیداسیون PUFA موجود در غشای اسپرم نیز با کاهش سیالیت غشا و در نتیجه کاهش حرکت آن همراه است (۶).

از آن جا که افزایش ROS در اختلالات اسپرم، مشاهده شده است، مصرف خوراکی آنتی‌اکسیدان‌ها به صورت بالقوه می‌تواند یکی از راه‌های مقابله با آسیب‌های اکسیداتیو اسپرم در این گروه از مردان نابارور باشد (۱۶ و ۱۷). ویتامین E، مهمترین ماده‌ی ضد اکسایشی زنجیره شکن محلول در چربی در بدن می‌باشد که در قالب مجموعه‌ای از مولکول‌ها در بخش آبریز غشاهای زیستی فعالیت آنتی‌اکسیدانی داشته و قادر است رادیکال‌های پراکسیل اسیدهای چرب را به هیدروپراکسیدهای کم خطرتری تبدیل کند و لذا واکنش‌های زنجیره‌ای پراکسیداسیون را کاهش دهد (۱۸). علاوه بر این، ویتامین E، باعث محافظت PUFA در فسفولیپیدهای غشاهای بیولوژیک و لیپوپروتئین‌های پلازما می‌شود (۱۹). نیاز به ویتامین E، به مقدار مصرفی PUFA بستگی دارد. در امریکا، دریافت غذایی حدود ۰/۴ میلی‌گرم معادل آلفا توکوفرول به ازای هر میلی‌گرم PUFA می‌باشد (۱۹). پژوهش‌های پیشین نشان داده‌اند که میزان PUFA به ویژه دکوزاهگزانوئیک اسید (DHA (Docosahexaenoic Acid در غشای اسپرم مردان آستنواسپرم، کاهش یافته است (۲۰) و (۲۱). پژوهش‌ها نشان داده‌اند میزان DHA در دم اسپرم بیش از سر آن می‌باشد و می‌تواند از طریق اثر بر سیالیت و انعطاف غشای اسپرم بر حرکت دم اسپرم، تأثیرگذار باشد (۲۲).

بنابراین با توجه به اینکه بروز ناباروری در مردان، در جهان و از جمله در ایران در حال افزایش بوده و در مورد تأثیر توأم مکمل دکوزاهگزانوئیک اسید و ویتامین E بر استرس اکسیداتیو پلاسمای سمینال، در مردان مبتلا به آستنواسپرمی ایدیوپاتیک، تاکنون کارآزمایی بالینی در ایران انجام نشده است، پژوهش حاضر انجام شد.

## مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر به روش کارآزمایی بالینی تصادفی سه سوکور انجام گرفت و در مرکز ثبت کارآزمایی ایران با شماره‌ی IRCT201010054010N3 ثبت گردید. در این پژوهش، ابتدا از مردانی که به منظور درمان ناباروری به مرکز فوق تخصصی درمان ناباروری و سقط مکرر ابن سینا در سال ۱۳۹۰ مراجعه کرده بودند، دو نمونه‌ی سیمن به فاصله‌ی چهار

نتیجه وجود اختلال در مردان و یک سوم نیز به علت وجود عواملی دیگر در زنان می‌باشد. در یک سوم موارد نیز زن و شوهر به طور مشترک در این مشکل نقش دارند. بنابراین عوامل مربوط به اختلال در مردان مسؤول حداقل ۵۰ درصد از ناباروری‌ها در نزد زوج‌های نابارور می‌باشد (۱).

اختلالات اسپرم یکی از مهم‌ترین علل ناباروری در مردان می‌باشد (۱). اختلالات اسپرم می‌تواند به صورت‌های مختلف نظیر آزنواسپرمی (مایع منی فاقد اسپرم)، آلیگواسپرمی (غلظت کم اسپرم)، آستینواسپرمی (تحرک کم اسپرم)، تراتواسپرمی (کاهش اسپرم‌های طبیعی) و یا ترکیبی از حالت‌های فوق باشد (۴). آستینواسپرمی در ۱۹ درصد از مردان نابارور گزارش شده و در اکثر موارد همراه با سایر اختلالات اسپرم می‌باشد (۵). یکی از عوامل مؤثر در نقص عملکرد و کاهش تحرک اسپرم، افزایش گونه‌های فعال اکسیژن ROS (Reactive Oxygen Species) می‌باشد که منجر به افزایش سطح اکسیداتیو می‌گردد (۶).

در شرایط فیزیولوژیک، تولید کنترل شده و متعادل ROS توسط اسپرماتوزوآ و دیگر سلول‌ها، برای متابولیسم هوازی ضروری می‌باشد، به طوری که آنها در غلظت‌های پایین به عنوان واسطه‌گرهای (Mediator) مهمی در مکانیسم‌های پیام‌رسانی داخل سلولی عمل کرده و برای ظرفیت پذیری (Capacitation)، واکنش آکروزومی، لقاح اسپرم با تخمک و همچنین برای بقای اسپرم ضروری می‌باشند (۷ و ۸). اما در شرایط پاتولوژیک، تولید بیش از حد ROS توسط اسپرم‌های نابالغ (۹) و لوکوسیت‌ها (۱۰) در مایع سمینال، اثرات زیان‌باری بر عملکرد سلول دارد (۱۱). پژوهش‌های بسیاری نشان داده‌اند که ROS احتمالاً با پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع دارای چند پیوند دوگانه PUFA (Poly Unsaturated Fatty Acids) در ناحیه‌ی سر و قطعه‌ی میانی اسپرم، اکسیداسیون پروتئین و DNA اسپرم و به موجب آن تغییر مورفولوژی اسپرم، کاهش تحرک اسپرم و عدم ادغام موفقیت آمیز اووسیت- اسپرماتوزوآ، نقش اساسی در نقص عملکرد اسپرم ایفا می‌کند (۱۲ و ۱۳). در مقابل اثرات پاتولوژیک رادیکال‌های آزاد، اسپرماتوزوآ و پلاسمای سمینال، دارای مجموعه‌ای از آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی از قبیل سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوکاتایون پراکسیداز/ ردوکتاز و آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی از قبیل ویتامین‌های C و E، پیروات، گلوکاتایون، کارنیتین، تورین و هیپوتورین، تحت عنوان کلی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام TAC (Total Antioxidant Capacity) می‌باشند (۱۴). پژوهشگران

هفته به روش خود تحریکی گرفته شد. نمونه‌ها پس از سه روز دوری از آمیزش جنسی، جمع‌آوری شدند. افراد با داشتن جواب آزمایش اسپرماتوگرام به پزشک متخصص اورولوژی مراجعه کردند. پس از معاینه‌ی کامل و بررسی‌های پاراکلینیکی توسط پزشک متخصص اورولوژی، در صورتی که تحرک کلی اسپرم کمتر از ۵۰ درصد و حرکت سریع و پیشرونده در مسیر مستقیم اسپرم کمتر از ۲۵ درصد باشد، تشخیص آستنواسپرمی ایدیوپاتیک داده می‌شد (۴). در صورتی که افراد دارای معیارهای ورود به پژوهش بودند، اهداف و روش انجام پژوهش برای آنها توضیح داده می‌شد و سپس از کلیه بیماران داوطلب برای انجام پژوهش، رضایت‌نامه‌ی کتبی گرفته می‌شد. در این پژوهش، تعداد نمونه برای هریک از گروه‌ها، ۲۰ بیمار برآورد گردید که با توجه به ریزش احتمالی نمونه‌ها، در هریک از گروه‌ها ۲۵ بیمار در نظر گرفته شد. معیارهای ورود به پژوهش عبارت از تمایل به همکاری، مردان ۲۰-۴۵ ساله، گذشتن حداقل یک سال از زمان تصمیم برای فرزنددار شدن و عدم استفاده از وسایل پیشگیری کننده از بارداری، ابتلا به آستنواسپرمی با منشأ نامشخص (ایدیوپاتیک) بر اساس معیارهای WHO و طبیعی بودن مقادیر گنادوتروپین‌ها، تستوسترون و پرولاکتین سرم، بودند. معیارهای خروج از پژوهش عبارت بودند از: ابتلا به عفونت دستگاه تناسلی و یا درمان‌های دارویی در این رابطه در سه ماه گذشته، ابتلا به ناهنجاری‌های آناتومیک در دستگاه تناسلی نظیر واریکوسل، سابقه‌ی اعمال جراحی روی بیضه و وازودفران، کاندید بودن بیمار برای ICSI به علت اختلال شدید اسپرماتوگرام، تماس با سموم دفع آفات، فلزات سنگین، حلال‌ها و گرمای بسیار زیاد، مصرف مکمل‌های ال-کارنیتین، آرژنین، روی، سلنیوم، ویتامین B12، C و E، گلوکوتائون، کوآنزیم Q10 و اسید چرب امگا-۳ در سه ماه گذشته و در زمان پژوهش، و همچنین عدم تمایل به همکاری در مدت ۱۲ هفته مداخله. بیماران مذکور برحسب سن و غلظت اسپرم طبقه‌بندی شدند و هر فرد بر مبنای طبقه‌بندی صورت گرفته با استفاده از روش تقسیم تصادفی بلوکی طبقه‌بندی شده (Stratified Blocked Randomization)، به گروه دریافت کننده‌ی مکمل اسید چرب DHA و ویتامین E یا گروه دریافت کننده‌ی دارونما، اختصاص داده شدند. از آنجا که فرآیند اسپرماتوژنز، ۷۵ روز به طول می‌انجامد (۱)، طول دوره‌ی مداخله در این پژوهش، ۱۲ هفته تعیین شد و بیماران بر حسب گروهی که در آن قرار گرفتند، به مدت ۱۲ هفته مکمل‌های مربوطه را دریافت نمودند. بیماران در گروه دریافت

کننده‌ی اسید چرب DHA و ویتامین E، روزانه ۴۶۵ میلی‌گرم اسید چرب DHA (به صورت یک کپسول ۱۰۰۰ میلی‌گرمی MorDHA) و ۶۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E (به صورت یک کپسول dL-Alpha-Tocopheryl Acetate) دریافت کردند. این در حالی است که به بیماران گروه دریافت کننده‌ی دارونما، دو کپسول دارونما داده شد که یک کپسول از نظر ظاهری، مشابه کپسول اسید چرب DHA و کپسول دیگر مشابه کپسول ویتامین E بود. کپسول‌های اسید چرب DHA از شرکت Minaminutrition (United Kingdom) و کپسول‌های ویتامین E و دارونما از طریق شرکت زهراوی (ایران) تهیه شدند و از تری-گلیسیریدهای با زنجیره‌ی متوسط (MCT (Medium Chain Triglycerides) در کپسول‌های دارونما استفاده شد. قبل از شروع پژوهش، مجموعه‌ی قوطی‌های حاوی کپسول‌ها، توسط فردی غیر از پژوهشگران به صورت A1، A2، B1 و B2 کدگذاری شدند تا عدم اطلاع بیمار، پزشک و پژوهشگران از نوع کپسول‌های دریافتی، رعایت شود. قوطی‌های حاوی کپسول در شروع پژوهش و پایان هفته‌ی ششم، به تعداد کافی به بیماران داده شدند و از آنها خواسته شد هر روز دو عدد کپسول به همراه ناهار مصرف نمایند. در پایان هفته‌ی ششم، کلیه‌ی بیماران مجدداً وزن شدند. در پایان هفته‌ی دوازدهم نیز مجدداً وزن بیماران اندازه‌گیری و نمایه‌ی توده‌ی بدن BMI (Body Mass Index) آنها محاسبه گردید. همچنین از بیماران، نمونه‌ی سیمن گرفته شد. از بیماران خواسته شد رژیم غذایی و فعالیت بدنی خود را در طول مدت پژوهش تغییر ندهند. پیگیری بیماران، به منظور کنترل آنها از نظر مصرف کپسول‌ها و جلوگیری از ریزش نمونه‌ها تقریباً هر ۱۵ روز یکبار به صورت تلفنی انجام شد. در پایان پژوهش نیز با شمارش کپسول‌های باقیمانده میزان رعایت بیماران از نظر مصرف کپسول‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت و بیمارانی که بیش از ۱۰ درصد کپسول‌های خود را مصرف نکرده بودند (چه در گروه مداخله و چه در گروه دارونما) از پژوهش کنار گذاشته شدند. به منظور بررسی رژیم غذایی بیماران در شروع پژوهش، پایان هفته‌های ششم و دوازدهم، یادآمد خوراک ۲۴ ساعته در مورد یک روز تعطیل و دو روز غیر تعطیل برای هر فرد (در مجموع ۹ یادآمد خوراک)، از طریق مصاحبه‌ی حضوری و تلفنی تکمیل گردید. تجزیه و تحلیل یادآمدهای خوراک ۲۴ ساعته، با استفاده از نرم افزار تغذیه‌ای Nutritionist IV (N4) صورت گرفت.

داده‌ها به صورت میانگین ( $\pm$  انحراف معیار) و فراوانی (درصد) به ترتیب برای متغیرهای کمی و کیفی نشان داده شده است. نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov ارزیابی شد. جهت مقایسه‌ی متغیرهای کیفی مخدوش‌کننده بین دو گروه، از آزمون Chi Square استفاده شد. جهت مقایسه‌ی میانگین متغیرهای کمی مخدوش‌کننده‌ی رژیم‌ی در هر گروه، از آزمون آنالیز واریانس برای داده‌های تکراری استفاده شد، چرا که در طول پژوهش، این متغیرها سه بار اندازه‌گیری شدند و برای مقایسه‌ی میانگین آنها بین دو گروه، از آزمون Student's t-test استفاده گردید. در مورد متغیرهای کمی که در طول پژوهش تنها دو بار اندازه‌گیری شدند در صورت توزیع نرمال آنها در جامعه، جهت مقایسه‌ی میانگین آنها در هر گروه، از آزمون Paired t test و برای مقایسه‌ی میانگین آنها بین دو گروه، از آزمون Student's t-test استفاده گردید و در صورتی که توزیع آنها نرمال نبود، جهت مقایسه‌ی آنها در هر گروه، از آزمون Wilcoxon و برای مقایسه‌ی آنها بین دو گروه، از آزمون Mann-Whitney استفاده شد. همچنین، به منظور از بین بردن اثرات فاکتورهای مخدوش‌کننده، از آزمون Repeated Measurement استفاده گردید. در این پژوهش مقدار P-value کمتر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ و بدون اطلاع از گروه درمانی انجام شد.

دوز دریافتی مکمل DHA همراه با ویتامین E در این پژوهش فاقد اثرات جانبی است. ویتامین E یکی از ویتامین‌هایی است که کمترین خاصیت سمی را دارد. انسان و حیوانات قادر به تحمل مقادیر بالای آن، حداقل ۱۰۰ برابر نیاز تغذیه‌ای هستند. سطوح بالای دریافت قابل تحمل UL (Tolerable Upper Intake Level) ویتامین E در بزرگسالان ۱۰۰۰ میلی‌گرم در روز است (۱۹). بر اساس پژوهش‌های انجام شده، مکمل ویتامین E تا مقادیر ۱۶۰۰ میلی‌گرم در روز (۲۸) و حتی تا مقادیر ۳۲۰۰ میلی‌گرم در روز (۲۹) فاقد عوارض جانبی است. پژوهش‌ها نشان دادند، مکمل DHA در مقادیر ۸۴۰ میلی‌گرم در روز فاقد عوارض جانبی می‌باشد (۳۰ و ۳۱). در این پژوهش به منظور رعایت اصول اخلاقی، از بیماران داوطلب وارد شده به پژوهش، برگه‌ی رضایت‌نامه‌ی آگاهانه اخذ شد. همچنین کلیه‌ی مراحل که به صورت معمول در مرکز فوق تخصصی درمان ناباروری و سقط مکرر این سینا برای افراد آستنواسپریم اجرا می‌گردد، برای افراد دو گروه انجام شد و پس از اتمام مراحل اجرایی پژوهش، به

میزان فعالیت بدنی افراد نیز در ابتدا و در پایان هفته‌ی دوازدهم، با تکمیل پرسشنامه‌ی روا و پایا از طریق مصاحبه با افراد به دست آمد (۲۳). این پرسشنامه، بر اساس شدت فعالیت بدنی بر مبنای معادل متابولیکی (MET: Metabolic Equivalents) به ۹ ردیف تقسیم شده و ردیف‌های آن از بالا به پایین، از بی‌حرکی ( $MET=0/9$ ) تا فعالیت‌های شدید ( $MET>6$ ) تنظیم شده است.

وزن افراد با استفاده از ترازوی Seca، با حداقل لباس و با دقت ۱۰۰ گرم و قد با استفاده از متر نواری، در حالت ایستاده و مستقیم به وسیله‌ی خط‌کشی که روی سر فرد قرار داده شد، بدون کفش و در حالی که کتف‌ها در وضعیت عادی قرار داشتند، با دقت ۰/۵ سانتی‌متر اندازه‌گیری شدند و BMI، با تقسیم نمودن وزن (کیلوگرم) بر مجذور قد (متر مربع) محاسبه گردید.

ایزوپروپستان آزاد پلاسمای سمینال با استفاده از ستون کروماتوگرافی ساخت شرکت امریکایی (Cayman, Catalog No: 10010366) استخراج شد و با استفاده از کیت تولیدی همین شرکت (Cayman, Catalog No: 516351) و با سنجش ایمنی آنزیمی (EIA (Enzyme Immunoassay)) تعیین غلظت گردید (۲۴). حداکثر جذب در طول موج ۴۰۵ نانومتر در دستگاه ELISA Reader (STAT FAX 2100, USA) قرائت گردید. ضریب تغییرات درون آزمونی و برون آزمونی به ترتیب ۵ و ۶ درصد بود. ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی پلاسمای سمینال، با روش رنگ‌سنجی (Colorimetric Assay) با استفاده از کیت شرکت (Cayman, Catalog No: 709001) انجام شد (۲۵). مقدار جذب در طول موج ۴۰۵ نانومتر با دستگاه ELISA Reader (STAT FAX 2100, USA) تعیین شد. ضریب تغییرات درون آزمونی و برون آزمونی به ترتیب ۶/۷ درصد و ۹/۲ درصد تعیین شد. بیومارکری که در بررسی پراکسیداسیون لیپیدی در اسپرم‌ها بیش از همه مورد استفاده قرار می‌گیرد، غلظت مالون‌دی‌آلدهاید MDA (Malondialdehyde) است. در این پژوهش، غلظت MDA پلاسمای سمینال با استفاده از روش رنگ‌سنجی تیوباربیتوریک اسید TBA (Thiobarbituric acid) (۲۶) با استفاده از کیت شرکت (Cayman, Catalog No: 10009055) انجام شد (۲۷). حداکثر جذب در طول موج ۵۳۰ نانومتر است که با دستگاه ELISA Reader (STAT FAX 2100, USA) قرائت گردید. ضریب تغییرات درون آزمونی و برون آزمونی به ترتیب ۵/۴ و ۵/۸ درصد تعیین شد.

منظور رعایت اصول اخلاقی به هریک از بیماران گروه دارونما، یک بسته مکمل اسید چرب DHA و ویتامین E، داده شد. اطلاعات کلیه‌ی بیماران کاملاً محرمانه و بدون نام بوده و بیماران از این حق برخوردار بودند که در صورت عدم تمایل به ادامه‌ی همکاری، در هر مقطع از پژوهش خارج شوند. همچنین این پژوهش، پس از تأیید کمیته‌ی اخلاق انستیتو تحقیقات تغذیه و صنایع غذایی کشور دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی و کمیته‌ی اخلاق پژوهشگاه فناوری‌های نوین علوم پزشکی جهاد دانشگاهی ابن سینا، اجرا شد.

## یافته‌ها

از بین ۲۷۵ مرد مراجعه کننده به کلینیک مردان مرکز فوق تخصصی درمان ناباروری و سقط مکرر ابن سینا، ۵۰ مرد آستنواسپرم وارد پژوهش شدند که ۴۲ نفر (۲۲ نفر در گروه آزمون، ۲۰ نفر در گروه کنترل) پژوهش را به پایان رساندند و ۶ نفر از پژوهش، خارج شدند. دلایل خروج افراد در مقاله‌ی

قبلی گزارش شده است (۳۲). با توجه به طراحی پژوهش، اختلاف معنی‌داری در میانگین  $\pm$  انحراف معیار سن مردان گروه مداخله  $31/45 \pm 5/01$  و گروه کنترل  $32/35 \pm 4/91$  مشاهده نشد ( $P \geq 0/05$ ). نمایه‌ی توده‌ی بدن، میزان فعالیت بدنی، هورمون‌های جنسی و کشیدن سیگار در افراد گروه آزمون و کنترل، در ابتدای پژوهش، تفاوت معنی‌داری نداشت ( $P \geq 0/05$ ). بین مدت زمان ابتلا به ناباروری ( $P = 0/030$ ) و زندگی در محل‌های آلوده و پرتراپیک بین دو گروه پژوهش، تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده شد ( $P = 0/021$ ). در میانگین نمایه‌ی توده‌ی بدن ( $P = 0/511$ )، میزان فعالیت بدنی ( $P = 0/793$ ) و هورمون‌های جنسی مردان در هر دو گروه، در طی پژوهش، تغییر معنی‌داری مشاهده نشد ( $P \geq 0/05$ ). ویژگی‌های عمومی مردان آستنواسپرم شرکت کننده در این مطالعه، به تفکیک دو گروه دریافت‌کننده‌ی دکوزاهگزائونیک اسید و ویتامین E و گروه دریافت‌کننده‌ی دارونما در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱. ویژگی‌های عمومی مردان آستنواسپرم شرکت کننده به تفکیک دو گروه دریافت‌کننده‌ی دکوزاهگزائونیک اسید و ویتامین E و گروه دریافت‌کننده‌ی دارونما\*

| متغیرها                                          | اسید چرب DHA و ویتامین E (۲۲ نفر) | دارونما (۲۰ نفر)   | P-value |
|--------------------------------------------------|-----------------------------------|--------------------|---------|
| سن (سال)                                         | $31/45 \pm 5/01$                  | $32/35 \pm 4/91$   | $0/562$ |
| نمایه‌ی توده‌ی بدن (کیلوگرم بر متر مربع)         | $26/90 \pm 2/79$                  | $27/38 \pm 3/21$   | $0/607$ |
| مدت زمان ناباروری (سال)                          | $3/86 \pm 1/28$                   | $5/35 \pm 2/23$    | $0/030$ |
| تستوسترون (nmol/l)                               | $13/92 \pm 2/85$                  | $12/80 \pm 3/75$   | $0/276$ |
| پرولاکتین (pmol/l)                               | $349/32 \pm 31/82$                | $362/90 \pm 26/86$ | $0/145$ |
| FSH (IU/l)                                       | $5/31 \pm 2/08$                   | $5/78 \pm 1/42$    | $0/481$ |
| LH (IU/l)                                        | $5/93 \pm 2/05$                   | $5/23 \pm 1/41$    | $0/205$ |
| میزان فعالیت بدنی (تعداد / درصد)                 |                                   |                    | $0/963$ |
| • نشسته                                          | ۲ (۹/۱)                           | ۱ (۵/۰)            |         |
| • کم                                             | ۹ (۴۰/۹)                          | ۷ (۳۵/۰)           |         |
| • فعال                                           | ۸ (۳۶/۴)                          | ۹ (۴۵/۰)           |         |
| • خیلی فعال                                      | ۳ (۱۳/۶)                          | ۳ (۱۵/۰)           |         |
| زندگی در محل‌های آلوده و پرتراپیک (تعداد / درصد) |                                   |                    | $0/021$ |
| • بله                                            | ۱۲ (۵۴/۵)                         | ۴ (۲۰/۰)           |         |
| • خیر                                            | ۱۰ (۴۵/۵)                         | ۱۶ (۸۰/۰)          |         |
| سیگار کشیدن (تعداد / درصد)                       |                                   |                    | $0/461$ |
| • بله (قبلاً و در حال حاضر)                      | ۹ (۴۰/۹)                          | ۶ (۳۰/۰)           |         |
| • خیر (هرگز)                                     | ۱۳ (۵۹/۱)                         | ۱۴ (۷۰/۰)          |         |

\* مقادیر مربوط به فعالیت بدنی، زندگی در محل‌های آلوده و پرتراپیک و سیگار کشیدن به صورت درصد و سایر مقادیر بصورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار گزارش شده‌اند.

میانگین  $\pm$  انحراف معیار دریافت‌های رژیم غذایی مردان آستنواسپرم دو گروه مورد بررسی در ابتدای پژوهش، هفته‌ی ششم و هفته‌ی دوازدهم، در جدول ۲ نشان داده شده است.

مقایسه‌ی رژیم غذایی در ابتدای پژوهش نشان داد که دریافت روی ( $P = 0/049$ )، در گروه آزمون به طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد بود و در مورد انرژی، ویتامین E، DHA دریافتی

در ۱۱۰ بیمار آستنواسپریم بر تغییرات MDA پلاسمای سمینال بررسی کردند و دریافتند که پس از ۶ ماه، میزان MDA به طور معنی‌داری کاهش یافته است. این در حالی است که کاهش MDA در پژوهش Suleiman و همکاران، ۴۴/۵ درصد و در پژوهش حاضر ۲۳ درصد بود که این مسأله می‌تواند به این دلیل باشد که در پژوهش Suleiman و همکاران، ویتامین E به تنهایی و برای مدت زمان بیشتری نسبت به پژوهش حاضر، دریافت شده بود، در صورتی که در پژوهش حاضر، تجویز توأم آن با DHA منجر به آن شده است که کاهش MDA پلاسمای سمینال، کمتر از پژوهش Suleiman و همکاران باشد، به این دلیل که ویتامین E از اکسیداسیون DHA دریافتی نیز محافظت کرده است (۳۳).

پژوهش Comhaire و همکاران در سال ۲۰۰۰، اثرات آنتی‌اکسیدان خوراکی شامل استیل‌سیستئین (۶۰۰ میلی‌گرم در روز) یا کپسولی حاوی ۳۰ میلی‌گرم بتاکاروتن و ۱۸۰ میلی‌گرم آلفاتوکوفرول و اسیدهای چرب ضروری شامل ۱ گرم DHA، ۰/۲۵ گرم گاما لینولنیک اسید و ۰/۱ گرم آراشیدونیک اسید را در یک پژوهش شبه تجربی بر بیولوژی اسپرم ۲۷ مرد مبتلا به کم باروری بررسی کرد که کاهش معنی‌داری در میزان ROS سمینال مشاهده شد که با یافته‌های پژوهش حاضر، همسو می‌باشد. همچنین، در پژوهش Comhaire و همکاران، DNA اکسیده شده‌ی اسپرم (8-OH-dG) کاهش و فعالیت آکروزوم، افزایش معنی‌داری یافت (۳۴). در پژوهش Keskes-Ammar و همکاران در سال ۲۰۰۳، اثرات تجویز توأم روزانه ۴۰۰ میلی‌گرم ویتامین E و ۲۲۵ میلی‌گرم سلیوم بر میزان پراکسیداسیون سیمن در یک کارآزمایی بالینی تصادفی در ۷۲ مرد نابارور برای مدت ۳ ماه مورد بررسی قرار گرفت و مشخص گردید که غلظت MDA پلاسمای سمینال در گروه دریافت‌کننده‌ی ویتامین E و سلیوم در مقایسه با گروه کنترل، کاهش معنی‌داری یافته است که با پژوهش حاضر، همسو می‌باشد (۳۵).

پژوهش Verma و همکاران در سال ۱۹۹۹، اثرات مقادیر ۰/۱ و ۲ میلی‌مول / لیتر آلفا-توکوفرول استات را به صورت *in vitro* بر غلظت MDA در ۸ مرد با تعداد اسپرم‌های متحرک بالای ۶۰ درصد و غلظت اسپرم بیش از ۲۰ میلیون / میلی‌لیتر بررسی کردند. کاهش معنی‌دار غلظت MDA پلاسمای سمینال نیز پس از ۴ و ۶ ساعت از زمان افزودن ویتامین E تنها در پلیت دارای ۲ میلی‌مول / لیتر در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد (۳۶).

و سایر مواد مغذی دریافتی از رژیم غذایی، در ابتدای پژوهش، هفته ششم و دوازدهم، اختلاف آماری معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نشد. همچنین، در گروه آزمون در مدت پژوهش، دریافت‌های پروتئین، اسید فولیک، روی و بتاکاروتن افزایش معنی‌دار و در گروه شاهد، دریافت‌های اسید فولیک و ویتامین C، افزایش معنی‌داری داشتند و برای سایر متغیرهای رژیم غذایی دریافتی، در طول مدت پژوهش در هر گروه، تغییر آماری معنی‌داری مشاهده نشد. این در حالی است که با تصحیح بن‌فرونی، سطح معنی‌داری برای مقایسه‌ی متغیرهای رژیم غذایی در این پژوهش، از ۰/۰۵ به ۰/۰۳ کاهش می‌یابد که در این صورت افزایش اسید فولیک دریافتی در هر دو گروه معنی‌دار می‌گردد ( $P < 0/001$ ).

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام پلاسمای سمینال در گروه مداخله، در مقایسه با گروه دارونما، افزایش معنی‌داری یافت ( $P < 0/001$ ). غلظت ۸-ایزوپروپان ( $P = 0/033$ ) و غلظت MDA پلاسمای سمینال ( $P = 0/002$ ) در گروه مداخله در مقایسه با گروه کنترل، کاهش معنی‌داری یافت (جدول ۳).

## بحث

پژوهش حاضر با هدف بررسی اثرات تجویز توأم مکمل اسید چرب دکوزاهگزانوئیک اسید و ویتامین E بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو پلاسمای سمینال آستنواسپریم صورت گرفت. در این پژوهش، دریافت توأم مکمل اسید چرب DHA و ویتامین E، منجر به افزایش معنی‌دار TAC و کاهش معنی‌دار غلظت ۸-ایزوپروپان و MDA پلاسمای سمینال شد.

بر اساس بررسی‌های انجام شده، این پژوهش، نخستین کارآزمایی بالینی سه سوکور تصادفی شاهددار کنترل شده با دارونمایی بود که اثرات تجویز توأم مکمل اسید چرب DHA و ویتامین E بر اسپرماتوگرام و میزان استرس اکسیداتیو پلاسمای سمینال را در مردان آستنواسپریم مورد بررسی قرار داده است، بنابراین مطالعه‌ای که بتوان یافته‌های این مطالعه را با یافته‌های آن مقایسه کرد، وجود ندارد. با این وجود در این بخش، یافته‌های پژوهش‌های پیشین که اثر ویتامین E را به تنهایی یا همراه با سایر آنتی‌اکسیدان‌ها بر پارامترهای اسپرم بررسی کرده‌اند، با یافته‌های پژوهش حاضر مقایسه می‌کنیم.

این یافته‌ها، همسو با یافته‌های پژوهش Suleiman و همکاران در سال ۱۹۹۶ بود که اثرات ۳۰۰ میلی‌گرم مکمل ویتامین E را در یک کارآزمایی بالینی دو سوکور کنترل دار

جدول ۲. میانگین و انحراف معیار دریافت انرژی و برخی ترکیبات رژیم غذایی در مردان دو گروه دریافت کننده اسید چرب دکوزاهگزانوئیک اسید و ویتامین E و گروه دریافت کننده دارونما در ابتدا، هفته‌ی ششم و دوازدهم پژوهش\*

| زمان پژوهش |              |              |              | انرژی و ترکیبات رژیم غذایی |                              |
|------------|--------------|--------------|--------------|----------------------------|------------------------------|
| P-value    | هفته دوازدهم | هفته ششم     | شروع پژوهش   |                            |                              |
| ۰/۲۹۳      | ۲۱۹۰/۳±۷۳۶/۵ | ۲۱۲۸/۲±۵۳۴/۶ | ۱۹۹۵/۴±۴۲۰/۳ | مکمل                       | انرژی (کیلوکالری در روز)     |
| ۰/۴۴۴      | ۱۹۷۱/۷±۷۳۰/۶ | ۲۲۵۶/۶±۴۵۷/۳ | ۲۱۲۶/۷±۴۵۳/۳ | دارونما                    |                              |
|            | ۰/۲۱۷        | ۰/۴۱۰        | ۰/۳۳۶        | P-value                    |                              |
| ۰/۸۲۳      | ۲۷۸/۴±۹۸/۶   | ۲۷۶/۴±۶۸/۸   | ۲۷۳/۰±۶۰/۷   | مکمل                       | کل کربوهیدرات (گرم در روز)   |
| ۰/۰۷۸      | ۲۴۰/۴±۷۲/۴   | ۳۰۷/۹±۶۴/۱   | ۲۷۳/۶±۵۵/۴   | دارونما                    |                              |
|            | ۰/۱۶۶        | ۰/۱۳۳        | ۰/۹۷۵        | P-value                    |                              |
| ۰/۰۴۶      | ۹۸/۲±۳۵/۰    | ۹۰/۶±۲۵/۲    | ۸۰/۷±۱۸/۴    | مکمل                       | کل پروتئین (گرم در روز)      |
| ۰/۶۲۵      | ۱۰۱/۵±۷۳/۰   | ۸۹/۶±۱۸/۹    | ۹۲/۲±۲۵/۶    | دارونما                    |                              |
|            | ۰/۳۰۲        | ۰/۸۸۳        | ۰/۱۰۰        | P-value                    |                              |
| ۰/۱۱۴      | ۸۰/۲±۳۱/۶    | ۷۶/۵±۲۵/۹    | ۶۷/۵±۱۷/۱    | مکمل                       | کل چربی (گرم در روز)         |
| ۰/۴۹۴      | ۶۹/۰±۳۸/۲    | ۷۷/۴±۱۸/۹    | ۷۶/۶±۲۴/۲    | دارونما                    |                              |
|            | ۰/۱۴۴        | ۰/۹۰۶        | ۰/۱۶۷        | P-value                    |                              |
| ۰/۷۰۹      | ۱۸/۹±۷/۴     | ۱۹/۴±۹/۸     | ۱۸/۱±۷/۳     | مکمل                       | SAFA (گرم در روز)            |
| ۰/۲۰۳      | ۲۰/۵±۱۴/۴    | ۱۵/۶±۵/۳     | ۱۵/۷±۵/۳     | دارونما                    |                              |
|            | ۰/۶۶۱        | ۰/۲۲۷        | ۰/۲۴۴        | P-value                    |                              |
| ۰/۵۹۴      | ۲۲/۰±۱۲/۰    | ۲۴/۹±۷/۵     | ۲۴/۰±۸/۸     | مکمل                       | MUFA (گرم در روز)            |
| ۰/۲۹۵      | ۲۳/۴±۸/۵     | ۲۴/۳±۶/۳     | ۲۰/۷±۴/۹     | دارونما                    |                              |
|            | ۰/۳۶۴        | ۰/۷۹۱        | ۰/۱۳۹        | P-value                    |                              |
| ۰/۸۱۱      | ۱۹/۰±۹/۸     | ۱۷/۱±۵/۷     | ۱۸/۳±۸/۴     | مکمل                       | PUFA (گرم در روز)            |
| ۰/۹۵۴      | ۱۷/۳±۱۳/۴    | ۱۶/۷±۵/۰     | ۱۷/۵±۱۳/۵    | دارونما                    |                              |
|            | ۰/۲۶۸        | ۰/۷۹۴        | ۰/۲۹۰        | P-value                    |                              |
| ۰/۵۲۴      | ۰/۱±۰/۲      | ۰/۱±۰/۲      | ۰/۲±۰/۲      | مکمل                       | EPA (گرم در روز)             |
| ۰/۲۴۷      | ۰/۲±۰/۳      | ۰/۱±۰/۲      | ۰/۱±۰/۲      | دارونما                    |                              |
|            | ۰/۳۴۹        | ۰/۹۵۳        | ۰/۳۰۲        | P-value                    |                              |
| ۰/۹۹۹      | ۰/۳±۰/۵      | ۰/۲±۰/۲      | ۰/۳±۰/۲      | مکمل                       | DHA (گرم در روز)             |
| ۰/۴۵۳      | ۰/۱±۰/۴      | ۰/۱±۰/۲      | ۰/۲±۰/۴      | دارونما                    |                              |
|            | ۰/۲۲۶        | ۰/۴۳۵        | ۰/۳۳۴        | P-value                    |                              |
| ۰/۲۴۷      | ۹/۸±۴/۰      | ۱۰/۴±۴/۹     | ۷/۹±۵/۴      | مکمل                       | ویتامین E (میلی گرم در روز)  |
| ۰/۴۷۱      | ۱۱/۴±۴/۱     | ۱۱/۴±۵/۰     | ۹/۸±۷/۴      | دارونما                    |                              |
|            | ۰/۲۱۱        | ۰/۳۷۸        | ۰/۳۴۶        | P-value                    |                              |
| ۰/۸۸۵      | ۸۹/۰±۴۵/۸    | ۹۰/۱±۵۴/۰    | ۹۰/۸±۴۳/۰    | مکمل                       | ویتامین C (میلی گرم در روز)  |
| ۰/۰۰۴      | ۱۱۷/۸±۵۳/۴   | ۶۸/۰±۳/۳     | ۷۶/۰±۳۵/۳    | دارونما                    |                              |
|            | ۰/۰۶۸        | ۰/۱۲۳        | ۰/۲۳۲        | P-value                    |                              |
| <۰/۰۰۱     | ۳۸۰/۵±۱۴۴/۷  | ۴۰۴/۳±۱۲۲/۱  | ۲۲۲/۷±۷۹/۵   | مکمل                       | اسید فولیک (میکروگرم در روز) |
| <۰/۰۰۱     | ۳۹۱/۵±۱۳۰/۷  | ۳۱۹/۴±۱۶۰/۵  | ۲۰۶/۱±۶۹/۰   | دارونما                    |                              |
|            | ۰/۷۹۷        | ۰/۰۵۹        | ۰/۴۷۳        | P-value                    |                              |
| ۰/۰۳۰      | ۹/۵±۵/۰      | ۱۱/۸±۳/۳     | ۶/۷±۲/۷      | مکمل                       | روی (میلی گرم در روز)        |
| ۰/۱۹۱      | ۱۱/۱±۴/۸     | ۱۰/۵±۴/۲     | ۹/۳±۴/۸      | دارونما                    |                              |
|            | ۰/۲۱۷        | ۰/۲۸۴        | ۰/۰۴۹        | P-value                    |                              |
| ۰/۰۴۳      | ۱۱۱۰/۴±۳۸۱/۷ | ۱۰۳۸/۸±۴۶۹/۰ | ۸۸۷/۷±۴۵۹/۱  | مکمل                       | بتاکاروتن (میکروگرم در روز)  |
| ۰/۰۷۳      | ۱۰۷۹/۱±۵۰۶/۲ | ۱۰۲۴/۸±۴۰۹/۵ | ۷۹۲/۰±۴۳۵/۴  | دارونما                    |                              |
|            | ۰/۸۲۱        | ۰/۹۱۸        | ۰/۴۵۷        | P-value                    |                              |

\* مقادیر بصورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده‌اند. آزمون‌های آماری مورد استفاده: Student's t-test و Mann-Whitney

معنی‌دار میزان استرس اکسیداتیو پلاسمای سمینال می‌باشد (۳۷ و ۳۸). اسپرم‌ها در مقایسه با سایر سلول‌های بدن، از نظر میزان حساسیت به رادیکال‌های آزاد، متفاوت می‌باشند.

یافته‌های پژوهش‌های حیوانی نیز که اثر دریافت آنتی‌اکسیدان‌ها به ویژه ویتامین E به تنهایی و یا توأم با اسیدهای چرب امگا-۳ را بررسی کرده‌اند، حاکی از کاهش

جدول ۳- میانگین و انحراف معیار متغیرهای استرس اکسیداتیو پلاسمای سمینال در مردان دو گروه دریافت‌کننده‌ی دکوزاهگزائونیک اسید و ویتامین E و گروه دریافت‌کننده‌ی دارونما قبل و پس از پژوهش.

| متغیرها                      | اسید چرب DHA و ویتامین E (۲۲ نفر) |              | دارونما (۲۰ نفر) |              | مقدار P برای اثر بخشی مکمل |
|------------------------------|-----------------------------------|--------------|------------------|--------------|----------------------------|
|                              | ابتدای پژوهش                      | انتهای پژوهش | ابتدای پژوهش     | انتهای پژوهش |                            |
| ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (mM) | ۱/۰۸±۰/۴۲                         | ۱/۷۱±۰/۳۹    | ۱/۰۹±۰/۴۲        | ۱/۰۸±۰/۴۰    | <۰/۰۰۱                     |
| مالون‌دی‌آلدهاید (μM)        | ۰/۸۴±۰/۲۹                         | ۰/۶۵±۰/۲۳    | ۰/۹۲±۰/۳۴        | ۰/۹۴±۰/۳۲    | ۰/۰۰۲                      |
| ۸-ایزوپروستان آزاد (ng/mL)   | ۱۶/۸۱±۳/۲۷                        | ۱۳/۵۹±۴/۱۵   | ۱۵/۰۷±۳/۴۲       | ۱۶/۲۵±۳/۶۲   | ۰/۰۳۳                      |

گروه در پژوهش بالا بود، به نظر می‌رسد سوگرایی انتخاب (Selection Bias)، عامل مؤثری در تغییر یافته‌های پژوهش نباشد. از آنجا که اختلاف معنی‌داری از نظر میزان ریزش بین دو گروه و همچنین متغیرهای ارزیابی شده‌ی افراد تکمیل‌کننده‌ی مداخله با افرادی که از پژوهش خارج شدند، وجود نداشت، احتمال Loss to follow up bias نیز در پژوهش حاضر پایین است.

با توجه به اینکه در اغلب موارد، آستنواسپرمی با سایر اختلالات اسپرم به ویژه الیگوسپرمی و تراتواسپرمی همراه می‌باشد، بنابراین پیدا کردن افرادی که فقط دچار اختلال آستنواسپرمی می‌باشند زمان‌بر بود. از طرفی، در صورتی که همسر افراد در طول مدت پژوهش باردار می‌شد، افراد تمایلی به دریافت کپسول‌ها نداشته و در نتیجه از پژوهش خارج می‌شدند. در این پژوهش با توجه به محدود بودن حجم سیمین افراد، سایر متغیرهای استرس اکسیداتیو نظیر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تعیین نشد که از جمله محدودیت‌های این پژوهش به شمار می‌آید.

به منظور تعیین ساز و کار دقیق اثر توأم مکمل اسید چرب DHA و ویتامین E بر استرس اکسیداتیو پلاسمای سمینال و تعیین کمینه‌ی مقدار مؤثر ویتامین E، به منظور کاهش سطح استرس اکسیداتیو پلاسمای سمینال و محافظت از DHA دریافتی، انجام پژوهش‌های بیشتر با تعداد گروه‌های درمانی بیشتر و دوزهای مختلف دریافتی، پیشنهاد می‌شود. با توجه به اینکه دریافت مکمل اسید چرب DHA و ویتامین E، عوارض جانبی در پی ندارد، تجویز آنها به مردان آستنواسپرم، به عنوان یک روش کمک باروری، در موفقیت درمان می‌تواند تأثیرگذار باشد.

### نتیجه‌گیری

این پژوهش نشان داد، دریافت توأم مکمل اسید چرب دکوزاهگزائونیک اسید و ویتامین E در مردان آستنواسپرم،

غشای پلاسمایی آنها سرشار از اسیدهای چرب غیر اشباع است و از طرفی سیستم دفاعی آنها قدرت ناچیزی دارد. آنتی‌اکسیدان‌های جمع‌کننده‌ی رادیکال‌های آزاد مانند ویتامین E، ROS‌های تولید شده از اکسید سلولی را از بین برده و در راستای حفاظت از اسپرماتوزوآ در برابر ROS عمل می‌کنند (۳۹ و ۴۰). از آنجایی که حجم عمده‌ای از آنتی‌اکسیدان‌های سیتوپلاسمی اسپرم، طی اسپرماتوژنز تخلیه می‌شوند، نسبت به اثرات پاتولوژیک رادیکال‌های آزاد بسیار حساس می‌باشند. لذا آنتی‌اکسیدان‌های مایع سمینال، جبرانی برای از دست رفتن این آنزیم‌های سیتوپلاسمی می‌باشند (۶ و ۴۱). بنابراین، هر عاملی که منجر به کاهش سطح آنتی‌اکسیدان‌های پلاسمای سمینال گردد، منجر به اختلال در تعادل آنتی‌اکسیدان‌ها و رادیکال‌های آزاد شده و بر عملکرد اسپرم اثر مخرب می‌گذارد. با این وجود، در شرایط پاتولوژیک، تولید بالای ROS، ظرفیت آنتی‌اکسیدان‌ها را پایمال کرده و منجر به افزایش استرس اکسیداتیو می‌گردد.

پژوهش‌های بسیاری نشان داده‌اند که ROS احتمالاً با پراکسیداسیون PUFA در ناحیه‌ی سر و قطعه‌ی میانی اسپرم، اکسیداسیون پروتئین و DNA اسپرم و به موجب آن تغییر مورفولوژی اسپرم، کاهش تحرک اسپرم و عدم ادغام موفقیت آمیز اووسیت- اسپرماتوزوآ، نقش اساسی در نقص عملکرد اسپرم‌ها بر عهده دارد (۱۶ و ۴۲).

در پژوهش حاضر، متغیرهای مخدوش‌گر به ویژه متغیرهای مخدوش‌گر رژیمی که در پژوهش‌های پیشین ذکر شده بودند، در نظر گرفته شدند. همین مسأله، احتمال وجود اثر مخدوش‌گرهای باقی‌مانده (Residual Confounding Factors) را کاهش داد. همچنین به دلیل استفاده از روش تقسیم تصادفی بلوکی طبقه‌بندی شده جهت تقسیم تصادفی افراد به دو گروه، اثر مخدوش‌گرهای باقی‌مانده بین دو گروه یکسان بود. اگر چه، احتمال سوگرایی انتخابی را نمی‌توان به کلی رد کرد، ولی از آنجایی که میزان مشارکت افراد هر دو

منجر به کاهش استرس اکسیداتیو پلاسمای سمینال می‌گردد. از آن جا که افزایش گونه‌های فعال اکسیژن در اختلالات اسپرم مشاهده شده است، مصرف خوراکی آنتی‌اکسیدان‌ها مانند ویتامین E، به صورت بالقوه می‌تواند یکی از راه‌های مقابله با آسیب‌های اکسیداتیو اسپرم در این گروه از مردان نابارور باشد.

## تشکر و قدردانی

این پژوهش، بخشی از طرح پژوهشی مشترک کد ۴۰۱،

مصوب انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور و پژوهشگاه فناوری‌های نوین علوم پزشکی جهاد دانشگاهی ابن سینا می‌باشد. نویسندگان این مقاله، مراتب قدردانی و سپاس خود را از حامیان مالی، کارشناسان مجرب واحد پژوهش مرکز فوق تخصصی درمان ناباروری و سقط مکرر ابن سینا و شرکت‌کنندگان این پژوهش اعلام می‌نمایند. این مقاله، از داده‌های پایان نامه‌ی دوره‌ی کارشناسی ارشد علوم تغذیه مصوب دانشکده‌ی علوم تغذیه و صنایع غذایی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی استنتاج شده است.

## REFERENCES

- Rowe PJ. World Health Organization. WHO manual for the standardized investigation, diagnosis, and management of the infertile male. Cambridge UK: Cambridge University Press; 2000. p. 91.
- Mohammad K, Ardalan A. An overview of the epidemiology of primary infertility in Iran. *J Reprod Infertil* 2009; 10(3):213-6.
- Vahidi S, Ardalan A, Mohammad K. Prevalence of primary infertility in the Islamic Republic of Iran in 2004-2005. *Asia-Pacific J Public Health* 2009;21(3):287-93.
- Dohle GR, Weidner W, Jungwirth A, Colpi G, Papp G, Pomerol J, et al. Guidelines on male infertility: European Association of Urology update; 2007. Available from: [http://www.uroweb.org/fileadmin/user.../ Guidelines/13%20Male%20Infertility.pdf](http://www.uroweb.org/fileadmin/user.../Guidelines/13%20Male%20Infertility.pdf).
- Curi SM, Ariagno JJ, Chenlo PH, Mendeluk GR, Pugliese MN, Sardi Segovia LM, et al. Asthenozoospermia: analysis of a large population. *Arch Androl* 2003;49(5):343-9.
- Agarwal A, Prabakaran SA. Mechanism, measurement, and prevention of oxidative stress in male reproductive physiology. *Indian J Exp Biol* 2005;43(11):963-74.
- Agarwal A, Nallella KP, Allamaneni SS, Said TM. Role of antioxidants in treatment of male infertility: an overview of the literature. *Reprod Biomed Online* 2004;8(6):616-27.
- Griveau JF, Le Lannou D. Reactive oxygen species and human spermatozoa: physiology and pathology. *Int J Androl* 1997;20(2):61-9.
- Gil-Guzman E, Ollero M, Lopez MC, Sharma RK, Alvarez JG, Thomas AJ, et al. Differential production of reactive oxygen species by subsets of human spermatozoa at different stages of maturation. *Hum Reprod* 2001;16(9):1922-30.
- Saleh RA, Agarwal A, Kandirali E, Sharma RK, Thomas AJ, Nada EA, et al. Leukocytospermia is associated with increased reactive oxygen species production by human spermatozoa. *Fertil Steril* 2002;78(6):1215-24.
- Conte G, Milardi D, De Marinis L, Mancini A. Reactive oxygen species in male infertility. Review of literature and personal observations. *Panminerva Medica* 1999;41(1):45-53.
- Ramya T, Misro MM, Sinha D, Nandan D. Sperm function and seminal oxidative stress as tools to identify sperm pathologies in infertile men. *Fertil Steril* 2010;93(1):297-300.
- Makker K, Agarwal A, Sharma R. Oxidative stress and male infertility. *Indian J Med Res* 2009;129(4):357-67.
- Tremellen K. Oxidative stress and male infertility-a clinical perspective. *Hum Reprod Update* 2008;14(3):243-58.
- El-Taieb MA, Herwig R, Nada EA, Greilberger J, Marberger M. Oxidative stress and epididymal sperm transport, motility and morphological defects. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2009;144 (Suppl 1):S199-203.
- Lombardo F, Sansone A, Romanelli F, Paoli D, Gandini L, Lenzi A. The role of antioxidant therapy in the treatment of male infertility: an overview. *Asian J Androl* 2011;13(5):690-7.
- Ben Abdallah F, Dammak I, Attia H, Hentati B, Ammar-Keskes L. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in infertile men: correlation with semen parameter. *J Clin Lab Anal* 2009;23(2):99-104.
- Traber MG, Atkinson J. Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radical Biol Med* 2007;43(1):4-15.
- Mahan LK, Escott-Stump S, Raymond JL, Krause MV. Krause's Food and the Nutrition Care Process. 13<sup>th</sup> ed. St. Louis, Mo.: Elsevier/Saunders; 2012. p. 1227.
- Conquer JA, Martin JB, Tummon I, Watson L, Tekpetey F. Fatty acid analysis of blood serum, seminal plasma, and spermatozoa of normozoospermic vs. asthenozoospermic males. *Lipids* 1999;34(8):793-9.

21. Tavilani H, Doosti M, Abdi K, Vaisiraygani A, Joshaghani HR. Decreased polyunsaturated and increased saturated fatty acid concentration in spermatozoa from asthenozoospermic males as compared with normozoospermic males. *Andrologia* 2006;38(5):173–8.
22. Connor WE, Lin DS, Wolf DP, Alexander M. Uneven distribution of desmosterol and docosahexaenoic acid in the heads and tails of monkey sperm. *J Lipid Res* 1998;39(7):1404–11.
23. Aadahl M, Jorgensen T. Validation of a new self-report instrument for measuring physical activity. *Med Sci Sports Exercise* 2003;35(7):1196–202.
24. Khosrowbeygi A, Zarghami N. Levels of oxidative stress biomarkers in seminal plasma and their relationship with seminal parameters. *BMC Clin Pathol* 2007;7:6.
25. Mahfouz R, Sharma R, Sharma D, Sabanegh E, Agarwal A. Diagnostic value of the total antioxidant capacity (TAC) in human seminal plasma. *Fertil Steril* 2009;91(3):805–11.
26. Gomez E, Irvine DS, Aitken RJ. Evaluation of a spectrophotometric assay for the measurement of malondialdehyde and 4-hydroxyalkenals in human spermatozoa: relationships with semen quality and sperm function. *Int J Androl* 1998;21(2):81–94.
27. Jenkins TG, Aston KI, Carrell DT. Supplementation of cryomedium with ascorbic acid-2-glucoside (AA2G) improves human sperm post-thaw motility. *Fertil Steril* 2011;95(6):2001–4.
29. Bendich A, Machlin LJ. Safety of oral intake of vitamin E. *Am J Clin Nutr* 1988;48(3):612–9.
29. Meyers DG, Maloley PA, Weeks D. Safety of antioxidant vitamins. *Arch Internal Med* 1996;156(9):925–35.
30. Siddiqui RA, Harvey KA, Xu Z, Bammerlin EM, Walker C, Altenburg JD. Docosahexaenoic acid: a natural powerful adjuvant that improves efficacy for anticancer treatment with no adverse effects. *Biofactors* 2011;37(6):399–412.
31. Kooshki A, Taleban FA, Tabibi H, Hedayati M. Effects of omega-3 fatty acids on serum lipids, lipoprotein (a), and hematologic factors in hemodialysis patients. *Renal Failure* 2011;33(9):892–8.
32. Eslamian G, Sadeghi MR, Rashidkhani B, Pahlavan S, Amirjannati N, Hekmatdoost A. The effects of combined docosahexaenoic acid and vitamin E supplements on spermatogram in asthenozoospermic males: A randomized, triple-blind, placebo-controlled clinical trial. *Razi J Med Sci* 2012;19(96):34–44. (Full Text in Persian)
33. Suleiman SA, Ali ME, Zaki ZM, el-Malik EM, Nasr MA. Lipid peroxidation and human sperm motility: protective role of vitamin E. *J Androl* 1996;17(5):530–7.
34. Comhaire FH, Christophe AB, Zalata AA, Dhooge WS, Mahmoud AM, Depuydt CE. The effects of combined conventional treatment, oral antioxidants and essential fatty acids on sperm biology in subfertile men. *Prostaglandins Leukotrienes Essent Fatty Acids* 2000;63(3):159–65.
35. Keskes-Ammar L, Feki-Chakroun N, Rebai T, Sahnoun Z, Ghazzi H, Hammami S, et al. Sperm oxidative stress and the effect of an oral vitamin E and selenium supplement on semen quality in infertile men. *Arch Androl* 2003;49(2):83–94.
36. Verma A, Kanwar KC. Effect of vitamin E on human sperm motility and lipid peroxidation in vitro. *Asian J Androl* 1999;1(3):151–4.
37. Zaniboni L, Rizzi R, Cerolini S. Combined effect of DHA and alpha-tocopherol enrichment on sperm quality and fertility in the turkey. *Theriogenology* 2006;65(9):1813–27.
38. Castellini C, Lattaioli P, Dal Bosco A, Minelli A, Mugnai C. Oxidative status and semen characteristics of rabbit buck as affected by dietary vitamin E, C and n-3 fatty acids. *Reprod Nutr Dev* 2003;43(1):91–103.
39. Sikka SC. Oxidative stress and role of antioxidants in normal and abnormal sperm function. *Frontiers Biosci* 1996;1:e78–86.
40. Buettner GR. The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, alpha-tocopherol, and ascorbate. *Arch Biochem Biophys* 1993;300(2):535–43.
41. Agarwal A, Makker K, Sharma R. Clinical relevance of oxidative stress in male factor infertility: an update. *Am J Reprod Immunol* 2008;59(1):2–11.
42. Aitken RJ, Clarkson JS. Cellular basis of defective sperm function and its association with the genesis of reactive oxygen species by human spermatozoa. *J Reprod Fertil* 1987;81(2):459–69.