Review Article

مروری بر نقش استرس اکسیداتیو در ناباروری مردان

حامد فنائی[۱*]، یاسر عزیزی[۲]، سمیرا خیاط[۳]

۱- گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران.
۲- گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
۳- گروه مامایی، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۱۰/۱۱ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۰۱/۱۵

چکیده

مطالعات اخیر نشان داده‌اند که گونه‌های واکنشی اکسیژن در شرایط فیزیولوژیک نقش بسیار مهمی در فرآیندهای پیام‌رسانی داخل سلولی دارند. از طرف دیگر، طی دهه اخیر مشخص شده گونه‌های واکنشی اکسیژن در ایجاد بخش عمده‌ای از انواع ناباروری‌های مردان نقش دارند و علت آن تولید بیش از حد گونه‌های واکنشی اکسیژن یا کاهش توانایی سیستم آنتی‌اکسیدانی دستگاه تناسلی و اسپرم می‌باشد. گونه‌های واکنشی اکسیژن، در شرایط پاتولوژیک، از طریق اختلال در فرآیند اسپرماتوژنز، عملکردها و ساختار اسپرم (تحرک، قابلیت بقاء، واکنش آکروزومی، اتصال اسپرم به تخمک، آسیب DNA و غشا) و حتی کاهش شانس لقاح و لانه‌گزینی منجر به ناباروری می‌شود. دانستن نحوه اثرگذاری گونه‌های واکنشی اکسیژن بر فرآیندهای فیزیولوژیک سیستم تولید مثل نقش مهمی در درمان ناباروری دارد، بنابراین در این مقاله مروری در مورد یافته‌های آزمایشگاهی و بالینی اثرات گونه‌های واکنشی اکسیژن بر توانایی باروری بحث خواهیم نمود.

کلمات کلیدی: گونه‌های واکنشی اکسیژن، آنتی‌اکسیدان، اسپرم، ناباروری مردان.

مقدمه

چندین دهه است که گونه‌های واکنشی اکسیژن (Reactive Ox-gen Species [ROS]) به عنوان عامل مخرب و آسیب‌رسان به سلول‌ها و بافت‌ها شناخته شده است. مطالعات بسیاری نشان داده‌اند که ROS با بیماری‌هایی مثل سرطان، بیماری‌های قلبی-عروقی، نفروپاتی دیابتی و حتی با فرآیندهایی نظیر پیری و ناباروری نیز ارتباط دارد (۱-۵). اما از آغاز دهه ۱۹۹۰ بود که محققان دریافتند سلول‌ها برای کنترل فعالیت‌های فیزیولوژیک خود مقادیر کم و کنترل شده ROS را تولید می‌کنند و حتی نشان داده شده است که ROSها به عنوان پیک ثانویه نقش مثبتی در تنظیم فعالیت سلول‌ها دارند و در واقع غلظت‌های فیزیولوژیک آن‌ها برای عملکرد طبیعی سلول لازم و ضروری است. مطالعات نشان داده‌اند که در بیشتر سلول‌ها، مقادیر فیزیولوژیک ROS توسط آنزیم‌های خانواده NADPH اکسیداز (NOX) تولید می‌شود (۶، ۷). این آنزیم‌ها در غشاء پلاسمایی سلول‌ها حضور دارند و با اتصال کلسیم به آن‌ها، تولید ROS را افزایش می‌دهند (۸، ۹).

نقش ROS در فیزیولوژی اسپرم: اسپرماتوزوآ نخستین سلولی بود که تولید ROS در آن اثبات شد. Macleod در سال ۱۹۴۳ گزارش کرد که انکوباسیون اسپرماتوزوآ در فشارهای بالایی از اکسیژن سبب کاهش سرعت و تحرک اسپرم می‌شود و افزودن کاتالاز به محیط از ایجاد این اثر جلوگیری می‌نماید. وی پیشنهاد کرد که علت کاهش تحرک اسپرم‌ها، افزایش تولید H_2O_2 توسط اسپرماتوزوآ تحت فشار بالای اکسیژن است (۱۰-۱۲). Aitken و همکاران در سال ۱۹۸۹ برای اولین بار این فرضیه را مطرح کردند که مقادیر اندک ROS در تنظیم فعالیت‌های فیزیولوژیک اسپرم نقش دارد. در این مطالعه از کلسیم آیونوفور، A23187 برای افزایش تولید ROS در اسپرماتوزوآ استفاده شد (۱۳). افزایش تولید ROS باعث القاء پراکسیداسیون لیپیدی در اسپرماتوزوآها شد، که دو اثر مهم داشت: ۱- کاهش توانایی ترکیب اسپرم با تخمک (Sperm-oocyte fusion) ۲- افزایش توانایی اسپرماتوزوآ برای اتصال به ناحیه شفاف (zona pellucida [ZP]). سپس زمانی که α-توکوفرول به عنوان آنتی‌اکسیدان به محیط اضافه شد، از ایجاد هر دوی این اثرات جلوگیری نمود، بنابراین این گروه پیشنهاد نمودند که ROS تولید شده در اسپرماتوزوآ در فرایند فیزیولوژیک اتصال اسپرماتوزوآ به ZP نقش دارد (۱۳).

مطالعات دیگری نیز برای تعیین نقش فیزیولوژیک ROS در اسپرماتوزوآ انجام شد. از جمله نشان داده شد که اضافه نمودن H_2O_2 به محیط اسپرماتوزوآ می‌تواند ترکیب اسپرماتوزوآ با تخمک هامستر را به حدود ۷۰٪ برساند. در حالی که در حضور کاتالاز به سطح پایه، حدود ۱۰٪ کاهش می‌یابد (۱۴). در واقع دیده شده است که اضافه نمودن H_2O_2 به اسپرماتوزوآی انسان باعث القاء فسفوریلاسیون تیروزین از طریق پروتئین کیناز A (Protein kinase A [PKA]) می‌شود و از این طریق باعث القاء ظرفیت‌پذیری در اسپرماتوزوآ می‌شود. اضافه نمودن مهارکننده PKA به محیط اسپرماتوزوآ باعث کاهش فسفریلاسیون تیروزین، القاء شده توسط ROS می‌شود (۱۵).

در آزمایش‌های دیگری نشان داده شد که تماس اسپرماتوزوآ با

* **نویسنده مسئول: حامد فنائی**، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان، زاهدان، ایران. تلفن: ۰۲۱-۶۶۴۱۹۴۸۴
Email: fanaei@razi.tums.ac.ir

ROS خارج سلولی باعث افزایش cAMP در داخل سلول می‌شود و این اثر توسط سوپر اکسید دسموتاز (SOD) مهار می‌گردد (۱۶، ۱۷). این شواهد نشان می‌دهند تولید ROS در حد فیزیولوژیک نقش مهمی در فرایندهای انتقال پیام در اسپرماتوزوآ دارد.

آنتی‌اکسیدان‌ها در مایع منی: مطالعات بسیاری نشان داده‌اند که بین شرایط استرس اکسیداتیو در مایع منی و نقص عملکرد اسپرماتوزوآ رابطه وجود دارد. مایع منی طبیعی حاوی آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی نظیر سوپر اکسید دسموتاز و کاتالاز و آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی نظیر آسکوربات، α-توکوفرول و پیروات است که نقش حفاظت از اسپرماتوزوآ در برابر استرس اکسیداتیو را بر عهده دارند (۱۸-۲۰). در شرایط طبیعی، ROS تولید شده در مایع منی، به طور پیوسته توسط آنتی‌اکسیدان‌های مایع منی غیرفعال می‌شود، بنابراین یکی از دلایل ایجاد شرایط استرس اکسیداتیو در مایع منی ناشی از عدم تعادل بین تولید ROS و غیرفعال شدن آن توسط آنتی‌اکسیدان‌ها است (۱۹-۲۱).

در مطالعه‌ای که توسط Lewis و همکاران در سال ۱۹۹۷ انجام شد، حضور آنتی‌اکسیدان‌های مختلف در مایع منی افراد بارور و نابارور بررسی و اندازه‌گیری شد و نشان داده شد که آسکوربات، α-توکوفرول و urate آنتی‌اکسیدان‌های اصلی حاضر در مایع منی هستند و میزان آنتی‌اکسیدان‌ها به ویژه آسکوربات در مایع منی افراد نابارور کمتر از مایع منی افراد بارور است (۲۲). در مطالعه دیگری که توسط Omu و همکاران در سال ۱۹۹۹ انجام شد، غلظت آنتی‌اکسیدان‌های α-توکوفرول و رتینول در مایع منی و سرم افراد بارور و نابارور اندازه‌گیری و مقایسه شد. این مطالعه نشان داد که میانگین غلظت α-توکوفرول در مایع منی و سرم افراد نابارور به میزان معنی‌داری کمتر از افراد بارور است (۲۳).

در مطالعه‌ای دیگر، غدد تناسلی ترشحی کمکی در هامستر حذف شد و اثر آن بر اسپرماتوزوآ بررسی شد و نتایج بررسی نشان داد که حذف این غدد تناسلی، باعث افزایش آسیب DNA در اسپرماتوزوآ هامستر می‌شود. بنابراین پیشنهاد شد که غدد تناسلی کمکی منبع اصلی آنتی‌اکسیدان‌ها در مایع منی می‌باشند (۲۴). پس پایین بودن سطح آنتی‌اکسیدان‌ها در مایع منی افراد نابارور باعث تجمع ROS و ایجاد شرایط استرس اکسیداتیو در اسپرماتوزوآ می‌شود (۲۲).

اسپرماتوزوآ به دلیل حضور آنزیم NADPH اکسیداز و زنجیره‌های اسید چرب غیر اشباع در غشای پلاسمایی و از دست دادن مقدار زیادی سیتوپلاسم به صورت قطرات سیتوپلاسمی در طول فرایند تکامل (که باعث کاهش مقدار آنتی‌اکسیدان‌های داخل سلولی می‌شود)، نسبت به شرایط استرس اکسیداتیو آسیب‌پذیر است، و بدین ترتیب اسپرماتوزوآ برای غلبه بر شرایط استرس اکسیداتیو به سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی خارج سلولی وابسته است (۲۰، ۲۱، ۲۴، ۲۵). یکی دیگر از دلایل ایجاد شرایط استرس اکسیداتیو برای اسپرماتوزوآ، علاوه بر پایین بودن سطح آنتی‌اکسیدان‌ها در مایع منی، تولید بیش از حد ROS توسط اسپرماتوزوآ با مورفولوژی غیرطبیعی است (۲۱، ۲۶).

ROS و آسیب DNA در اسپرماتوزوآی افراد نابارور: در مطالعه‌ای که توسط Aziz و همکاران در سال ۲۰۰۴ انجام شد، برای اولین بار رابطه بین مورفولوژی اسپرماتوزوآ با تولید ROS بررسی شد. نتایج این مطالعه نشان داد که بین تولید ROS توسط اسپرماتوزوآ و درصد مورفولوژی طبیعی رابطه منفی وجود دارد و تولید ROS به طور معنی‌داری با افزایش درصد مورفولوژی غیرطبیعی افزایش می‌یابد. این مطالعه نشان داد نمونه‌های تراتوزواسپرمی که درصد بالایی از قطرات سیتوپلاسمی دارند، ROS بیشتری تولید می‌کنند (۲۷). افزایش تولید ROS توسط نمونه‌های تراتوزواسپرمی ناشی از فعالیت آنزیم سیتوپلاسمی گلوکز ۶-فسفات دهیدروژناز (G-6-PD) است که باعث افزایش تولید NADPH و در نهایت افزایش تولید ROS می‌شود (۲۴، ۲۶). در مطالعه دیگری که توسط Said و همکاران در سال ۲۰۰۵ بر روی DNA نمونه‌های تراتوزواسپرمی انجام شد، مشاهده گردید که میزان آسیب DNA در نمونه‌های تراتوزواسپرمی بیشتر از نمونه‌های اسپرم طبیعی است و نشان داده شد که این آسیب DNA ناشی از تولید بیش از حد ROS توسط این اسپرم‌ها است و می‌تواند علت ناباروری در افراد تراتوزواسپرمی باشد (۲۸). با توجه به این شواهد، محققان دریافتند یکی از دلایل اصلی ناباروری در افراد، تولید بیش از حد ROS و یا کاهش توانایی آنتی‌اکسیدانی در مایع منی است که باعث ایجاد شرایط استرس اکسیداتیو و در نهایت کاهش تحرک، افزایش مرگ و میر و آسیب DNA در اسپرماتوزوآ می‌شود (۲۹).

اثرات آنتی‌اکسیدان‌ها بر عملکرد اسپرماتوزوآ: محققان درصدد برآمدند که با استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها بتوانند از کاهش تحرک، افزایش مرگ و میر و آسیب DNA توسط شرایط استرس اکسیداتیو در افراد نابارور جلوگیری کنند. در مطالعه‌ای که توسط Verma و همکاران در سال ۱۹۹۹ انجام شد، اثر حفاظتی غلظت‌های ۱ و ۲ mmol/L α- توکوفرول بر تحرک، زنده ماندن و میزان پراکسیداسیون لیپیدی در اسپرم‌های طبیعی در طول زمان ۰/۵ تا ۶ ساعت بررسی شد. این مطالعه نشان داد که α-توکوفرول به صورت وابسته به دوز و زمان می‌تواند کاهش تحرک، کاهش بقاء و افزایش مالون‌دی‌آلدهید (malondialdehyde [MDA]) (محصول نهایی پراکسیداسیون لیپید) را در اسپرم‌های طبیعی برطرف کند (۳۰).

در مطالعه دیگری که توسط Yenilmez و همکاران در سال ۲۰۰۵ انجام شد، اثر حفاظتی α-توکوفرول در برابر استرس اکسیداتیو در مایع منی (بدون شستشو و جداسازی اسپرم‌ها) نمونه‌های نرمال انسان بررسی شد. این مطالعه شامل سه گروه بود؛ گروه اول تنها حاوی مایع منی و اسپرم، گروه دوم مایع منی و محیط Ham>s F10 و گروه سوم حاوی مایع منی، محیط Ham>s F10 و غلظت Mμ40 α-توکوفرول بود. در این مطالعه اثر α-توکوفرول و محیط Ham>s F10 بر تحرک و میزان مرگ و میر اسپرم‌ها در پایان ۱، ۲ و ۲۴ ساعت بررسی شد و آنالیز DNA (بررسی آپوپتوز) در پایان ۲۴ ساعت انجام شد. نتایج نشان داد تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها از نظر تحرک و مرگ و میر وجود ندارد، اما میزان MDA و آپوپتوز در گروهی که حاوی α-توکوفرول بود، کاهش یافت (۳۱). در مطالعه‌ای دیگر اثر آنتی‌اکسیدان‌های آسکوربات در غلظت‌های ۳۰۰ و ۶۰۰ μM و α-توکوفرول در دو غلظت ۴۰ و ۶۰ μM به تنهایی و ترکیبی بر آسیب DNA اسپرماتوزوآ و تولید ROS القاء شده توسط H_2O_2 بررسی شد. در این مطالعه α-توکوفرول و آسکوربات زمانی که به تنهایی به کار رفتند، بر میزان پایه آسیب DNA و تولید ROS اثر نداشتند، اما به

صورت وابسته به دوز، آسیب DNA و تولید ROS القاء شده توسط H_2O_2 را کاهش دادند. زمانی که α-توکوفرول و آسکوربات به صورت ترکیبی به محیط اسپرماتوزوآ اضافه شدند، تولید ROS توسط H_2O_2 را به میزان معنی‌داری کاهش دادند اما باعث افزایش آسیب DNA در گروه کنترل شدند و در گروهی که H_2O_2 دریافت کرده بودند، اثر H_2O_2 در القاء آسیب DNA را افزایش دادند (۳۲).

گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن: مولکول اکسیژن یک گیرنده‌ی مناسب برای الکترون است و زنجیره‌های انتقال الکترون در میتوکندری، که متشکل از سیستم پیچیده‌ای از پروتئین‌ها و آنزیم‌های (سیتوکروم‌ها) موجود در غشاء داخلی میتوکندری است، در نهایت سبب انتقال ۴ الکترون به یک مولکول اکسیژن می‌شوند. نتیجه‌ی این فعالیت میتوکندری، دوگانه و متضاد است. از یک طرف، میتوکندری منبع مهم انرژی را برای سلول فراهم می‌کند و احیاء اکسیژن سبب تولید ۳۶ مولکول ATP می‌گردد و از طرف دیگر حدود ۰/۴ تا ۴ درصد از اکسیژن به طور کامل احیاء نشده و تنها با یک الکترون احیاء می‌گردد و در نتیجه آنیون سوپراکسید ($O_2^{-}\bullet$) تولید می‌شود. آنیون سوپراکسید یک رادیکال آزاد است. در شیمی یک رادیکال آزاد به یک اتم یا مولکول گفته می‌شود که در ساختمان خود یک الکترون جفت نشده داشته باشد. این مسئله باعث می‌شود که رادیکال‌های آزاد از اتم یا مولکول اولیه‌ایی که از آن ایجاد شده‌اند، فعال‌تر باشند. گرچه آنیون سوپراکسید نیمه عمر کوتاهی دارد، اما یک عامل اکسیدکننده‌ی بسیار قوی است و می‌تواند تمام مولکول‌ها را در سلول اکسید کند. آنیون سوپراکسید می‌تواند به صورت آنزیمی یا خود به خود به H_2O_2 تبدیل شود. این تبدیل در واکنش-۱ نشان داده شده است.

واکنش -۱: $O_2^{-}+e^{-}+2H^{+}\rightarrow H_2O_2$

و در نهایت سبب تولید رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل می‌شود (واکنش-۲). OH• هر ماده آلی را در سلول، اکسید می‌کند.

واکنش-2: $OH\bullet + H2O \rightarrow H+ + e- + H2O2$

این رادیکال‌های آزاد، گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن (ROS) نامیده می‌شوند. از جمله دیگر ROSها می‌توان از اکسید نیتریک (NO●)، آنیون هیپوکلرات ($HClO_3^{-}\bullet$) و آنیون پروکسی‌نیتریت ($ONOO^{-}$) و لیپید پراکسیدازها نام برد (۳۳).

گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن غیر از زنجیره انتقال اکسیژن در میتوکندری، توسط سیستم‌ها و واکنش‌های دیگری نیز تولید می‌شود، مثل سیستم‌های انتقال الکترون میکروزومال، گزانتین اکسیداز و پراکسیدازها. NADPH اکسیداز نوتروفیل‌ها یکی از شناخته شده‌ترین اکسیدازها است که نقش مهمی در دفاع در برابر پاتوژن‌ها دارد. اکنون مشخص شده که اکثر سلول‌ها حاوی NADPH اکسیداز (خانواده NOX) در غشای پلاسمایی خود می‌باشند و سطوح پایین و کنترل شده ROS را در زمان انجام فرآیندهای فیزیولوژیک تولید می‌کنند. پس مقادیر اندک ROS به طور فیزیولوژیک تولید می‌شود و جالب اینکه ROSها در غلظت‌های اندک به عنوان پیام‌آور ثانویه عمل می‌کنند و سبب تنظیم آپوپتوز، فعال کردن فاکتورهای نسخه برداری و تنظیم بیان ژن‌های مربوط به آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌شوند (۳۴). اما به هر حال در حالت فیزیولوژیک باید مقادیر ROS در سطوح پایین باقی بماند و به طور طبیعی آنتی‌اکسیدان‌هایی وجود دارند که رادیکال‌های آزاد را از بین می‌برند (۳۳). سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی شامل موارد زیر است:

آنزیم‌هایی نظیر سوپراکسید دسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز که واکنش‌های زیر را تسریع می‌کنند:

$$2O_2^{-} + 2H^{+} \xrightarrow{\text{Superoxide dismutase}} H_2O_2 + O_2$$

$$2H_2O \xrightarrow{\text{Catalase}} 2H_2O_2 + O_2$$

$$H_2O_2 + 2\ NADH \xrightarrow{\text{Peroxida}} 2H_2O + 2\ NAD$$

- پروتئین‌های انتقال‌دهنده‌ی آهن و مس نظیر ترانس‌فرین، فریتین و سرولوپلاسمین

- مولکول‌های آنتی‌اکسیدان کوچک مثل گلوتاتیون، اسید اوریک، بیلی‌روبین، گلوکز و ویتامین‌های C، A و E، یوبی‌کوئینون، کاروتنوئیدها و فلاونوئیدها.

- عناصری مانند مس، روی و سلنیم که در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نقش دارند. مثلاً آنزیم سوپراکسید دسموتاز برای عملکرد درست خود به مس و روی نیاز دارد (۳۵).

علی‌رغم وجود این سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی، در بعضی از شرایط تولید ROS افزایش می‌یابد. از جمله این شرایط می‌توان به مواجهه طولانی مدت با نور خورشید، مواجهه با انواع تشعشعات، تماس با مواد سرطان‌زا مثل آزبست، سیگار کشیدن، مصرف طولانی مدت بعضی از داروها از جمله قرص‌های جلوگیری از بارداری، ورزش شدید، مصرف الکل، آلودگی هوا و عوامل عفونی اشاره کرد. در تمام این شرایط تعادل بین‌اکسیدان‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها از بین رفته و مقدار اکسیدان‌ها بیشتر از آنتی‌اکسیدان‌ها می‌شود و این حالتی است که «استرس اکسیداتیو» نامیده می‌شود. در این وضعیت است که اثرات مضر اکسیدان‌ها ظاهر می‌گردد. از جمله این اثرات مضر می‌توان به ایجاد مرگ سلولی در سلول‌های سالم، افزایش تولید سیتوکین‌های التهابی، فعال‌سازی ژن‌ها، شکستن DNA، غیر فعال‌کردن پروتئین‌ها و آنزیم‌ها، اکسیدکردن قندها و چربی‌ها به خصوص اسیدهای چرب غیراشباع و لیپوپروتیئین‌های غشاء سلولی اشاره کرد.

استرس اکسیداتیو در اسپرم: اسپرماتوزوآ نیز مثل همه سلول‌هایی که در شرایط هوازی زندگی می‌کنند، با تضادی در مورد اکسیژن مواجه است. یعنی از یک طرف برای بقاء خود به اکسیژن نیازمند است و از طرف دیگر متابولیت‌های اکسیژن نظیر ROSها می‌توانند برای بقاء سلول مضر باشند. بنابراین ROS تولید شده در سلول باید به طور پیوسته غیرفعال شود به طوری که غلظت آن همیشه در حد بسیار اندکی که برای عملکرد طبیعی سلول لازم است، باقی بماند و عدم تعادل بین تولید و حذف ROS در اسپرم منجربه ایجاد شرایط استرس اکسیداتیو می‌شود (۳۶). در واقع به علت این که میزان سیتوپلاسم اسپرم بالغ اندک است و غلظت آنزیم‌های از بین برنده‌ی ROS نیز در اسپرم کم می‌باشد، اسپرم بیش از هر سلول دیگری مستعد به ایجاد استرس اکسیداتیو است و در ضمن به این علت که غشاء اسپرم حاوی مقادیر زیادی اسیدهای چرب غیراشباع می‌باشد، آسیب‌پذیری آن در برابر استرس اکسیداتیو زیاد است. از این گذشته به علت شکل خاص اسپرم، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان داخل

سلولی نمی‌توانند غشاء پلاسمایی احاطه کننده‌ی آکروزوم و دم را حفاظت نمایند. اسپرم بخشی از دفاع آنتی‌اکسیدانی خود را مدیون مایع منی است (۲۱، ۳۶).

مکانیسم حفاظت آنتی‌اکسیدانی در مایع منی: مایع منی حاوی مواد آنتی‌اکسیدانی است که اسپرماتوزوآ را در برابر استرس اکسیداتیو حفاظت می‌کند. این آنتی‌اکسیدان‌ها کمبود آنزیم‌های سیتوپلاسمی در اسپرم را جبران می‌کنند. مایع منی حاوی تعدادی آنتی‌اکسیدان آنزیمی مثل سوپراکسید دسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز و تعدادی آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی چون تورین، پیرووات، یورات، آسکوربات و آلفا-توکوفرول می‌باشد. مطالعات نشان داده‌اند که مایع منی مردان بارور ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کلی (Total Antioxidant Capacity [TAC]) بالایی نسبت به مایع منی مردان نابارور دارد (۳۷). احتمالاً مقادیر زیاد ROS در منی مردان نابارور ناشی از افزایش تولید ROS و نه به خاطر کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مایع منی است (۳۶).

پیری و بسیاری از بیماری‌ها چون سرطان، اختلالات بافت پیوندی، عفونت، التهاب، سندرم نقص ایمنی اکتسابی و ناباروری مردانه سبب افزایش تولید ROS می‌شوند. زمانی که تولید ROS از سطوح بحرانی تجاوز کند، می‌تواند بر تمامی استراتژی‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی اسپرماتوزوآ و مایع منی غلبه کند و سبب استرس اکسیداتیو شود. تمامی اجزاء سلولی شامل لیپیدها، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و قندها ممکن است تحت تاثیر رادیکال‌های آزاد قرار گیرند. گسترش آسیب القاء شده توسط استرس اکسیداتیو، نه تنها به ماهیت و میزان ROS، بلکه به طول مدت تماس با ROS و فاکتورهای خارج سلولی مثل حرارت، فشار اکسیژن و ترکیب محیط احاطه کننده شامل یون‌ها، پروتئین‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها بستگی دارد (۳۶).

پراکسیداسیون چربی‌های غشاء پلاسمایی اسپرم: تخریب اکسیداتیو اسیدهای چرب غیراشباع را پراکسیداسیون چربی می‌گویند. پراکسیداسیون چربی در دو مرحله اساسی اتفاق می‌افتد: مرحله‌ی آغازین و مرحله‌ی انتشار.

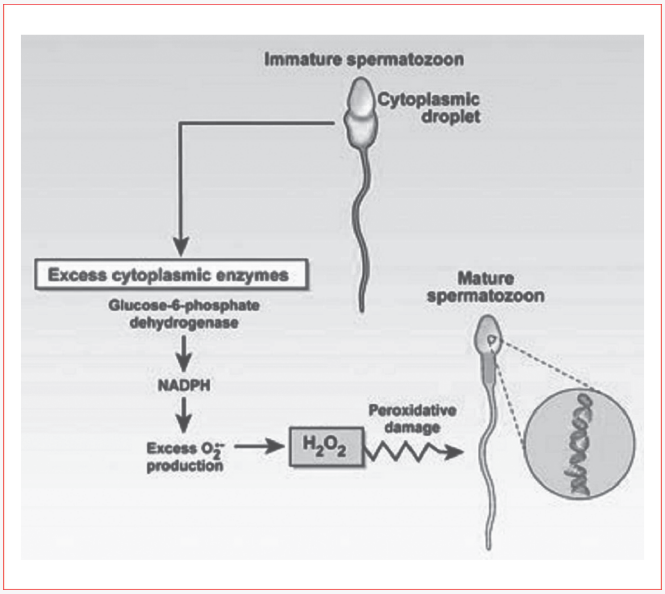
رادیکال هیدروکسیل (OH●) راه انداز قدرتمند پراکسیداسیون چربی است. عمده اسیدهای چرب غیر اشباع غشاء، باندهای دوگانه غیرکونژوگه دارند که توسط گروه‌های متیلن جدا شده‌اند. حضور باند دوگانه نزدیک گروه متیلن، پیوندهای C-H متیلن را ضعیف‌تر ساخته و بنابراین احتمال جدا شدن هیدروژن بیشتر می‌شود. وقتی هیدروژن جدا شد، رادیکال آزاد ایجاد می‌شود و محل ایجاد باندهای دوگانه طوری تغییر می‌کند که رادیکال ایجاد شده پایدار می‌شود. این رادیکال حاوی دو باند دوگانه است که توسط یک باند ساده از هم جدا شده‌اند. پس لیپیدهایی که حاوی تعداد زیادی باند دوگانه هستند و در نزدیک این باندها گروه‌های متیلن وجود دارد، بسیار مستعد پراکسیداسیون می‌باشند. رادیکال‌های کونژوگه به سرعت با O_2 برای تشکیل رادیکال پروکسیل چربی (ROO.) واکنش می‌دهند و آن‌ها نیز اتم‌های هیدروژن را از دیگر مولکول‌های لیپید برای تشکیل لیپید هیدروپراکسیدها (ROOH) جدا می‌نمایند (۳۶). هیدروپراکسیدهای چربی تحت شرایط فیزیولوژیک پایدارند تا اینکه به طور گذرا با فلزاتی چون نمک‌های آهن یا مس تماس یابند. این فلزات یا کمپلکس‌هایشان سبب می‌شوند تا هیدروپراکسیدهای چربی، رادیکال پراکسیل یا آلوکسیل تولید کنند که آن‌ها نیز زنجیره واکنش درون غشاء را ادامه می‌دهند و آسیب به سراسر سلول انتشار می‌یابد. انتشار پراکسیداسیون چربی به توانایی آنتی‌اکسیدان‌های اسپرماتوزوآ بستگی دارد (۳۶).

اختلال در تحرک اسپرم: افزایش تشکیل ROS با کاهش تحرک اسپرم همراه است (۳۸). این احتمال وجود دارد که افزایش تولید ROS در نهایت سبب کاهش فسفوریلاسیون پروتئین‌های آکسونمی و عدم تحرک اسپرم شود. این حالت منجر به کاهش سیالیت غشاء که به نوبه خود برای ترکیب اسپرم- اووسیت لازم است، نیز می‌شود. فرضیه دیگر این است که H_2O_2 از عرض غشاء به داخل سلول انتشار می‌یابد و فعالیت بعضی آنزیم‌ها مثل گلوکز-۶- فسفات-دهیدروژناز را مهار می‌کند (۳۶). این آنزیم میزان انتقال گلوکز از طریق مسیر شنت هگزوزمونوفسفات را کنترل می‌کند که آن نیز به نوبه خود غلظت داخل سلولی نیکوتین آمید آدنین دی‌نوکلئوتید فسفات (NADPH) را کنترل می‌نماید. NADPH به عنوان منبع الکترون جهت تولید ROS توسط سیستم آنزیمی NADPH اکسیداز استفاده می‌شود. مهار G6PD منجر به کاهش NADPH و تجمع گلوتاتیون اکسیده می‌شود که می‌تواند دفاع آنتی‌اکسیدانی اسپرماتوزوآ را کاهش و پراکسیداسیون فسفولیپیدهای غشاء را افزایش دهد (۲۶، ۳۶).

آسیب به DNA القاء شده توسط استرس اکسیداتیو: فشرده بودن DNA و حضور آنتی‌اکسیدان‌ها در مایع منی، DNA اسپرم را از آسیب اکسیداتیو محافظت می‌نماید. اما به هر حال آسیب به DNA اسپرمی که در معرض مقادیر زیاد ROS قرار داشته، مشاهده شده است (۳۹). به علاوه استرس اکسیداتیو سبب افزایش شکستگی در رشته‌های DNA می‌شود. شواهد محکمی وجود دارد که قطعه قطعه شدن DNA که به طور شایع در اسپرماتوزوآی افراد نابارور مشاهده می‌شود به خاطر غلظت بالای ROS ایجاد می‌شود (۲۱).

منابع تولید بیش از حد ROS در منی: اسپرم‌هایی که اشکال غیرطبیعی دارند و لکوسیت‌های موجود در منی، منابع اصلی تولید ROS در مایع انزالی انسان می‌باشند. در هر انزال، بعضی از سلول‌های اسپرم متحمل آسیب اکسیداتیو می‌شوند و عملکردشان را از دست می‌دهند (۳۶). اسپرماتوزوآ با دو روش می‌تواند ROS تولید نماید: ۱- سیستم NADPH اکسیداز در سطح غشاء پلاسمایی اسپرم ۲- سیستم اکسیداسیون- احیاء وابسته به NADPH در میتوکندری. در واقع میتوکندری منبع اصلی ROS در اسپرماتوزوآ مردان نابارور است (۲۱، ۲۶، ۳۶).

اثر مورفولوژی اسپرم بر تولید: ROS تراتوزواسپرمی ناشی از نقص در فرایند اسپرماتوژنز می‌باشد و مشخصه‌ی آن تعداد فراوان اسپرماتوزوآهایی است که دارای باقیمانده سیتوپلاسمی هستند. باقیمانده سیتوپلاسمی، از طریق مکانیسم‌هایی که توسط آنزیم سیتوپلاسمی گلوکز-۶-فسفات دهیدروژناز وساطت می‌شود، اسپرماتوزوآ را برای تولید ROS درون‌زاد تحریک می‌کند. بنابراین، در بیماران تراتوزواسپرمی احتمال تولید غلظت‌های زیاد ROS بیشتر است و به همین ترتیب احتمال آپوپتوز و آسیب DNA اسپرم بالاتر می‌باشد (شکل ۱) (۴۰).



شکل ۱: مکانیسم ارتباط بین استرس اکسیداتیو و آسیب DNA اسپرم

درکل، تولید ROS در اسپرماتوزوآی نابالغ فردی که معیارهای منی وی غیرطبیعی است، بالا می‌باشد. اسپرماتوزوآها با اشکال غیر طبیعی سر، قطعه میانی و دم یک ویژگی مشابه دارند و تولید ROS یک رابطه مثبت با شاخص اشکال غیرطبیعی (Deformity Index) دارد. شاخص اشکال غیرطبیعی با تقسیم تعداد کل اسپرم‌های غیرطبیعی بر تعداد کل اسپرم ارزیابی شده، محاسبه می‌شود (۲۱، ۲۶، ۴۰).

استراتژی‌های کاهش استرس اکسیداتیو: آنتی‌اکسیدان‌ها همان‌طور که گفتیم، ROS نقش‌های فیزیولوژیک و پاتولوژیک در عملکرد اسپرم بازی می‌کند. اسپرماتوزوا به علت مقدار کم آنزیم‌های سیتوپلاسمی، قدرت بازسازی آسیب اکسیداتیو را ندارند. مطالعات نشان داده‌اند که اسپرماتوزوا توسط آنتی‌اکسیدان‌های مختلف و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان موجود در مایع منی و یا خود اسپرماتوزوا، در برابر آسیب اکسیداتیو محافظت می‌شوند. آنتی‌اکسیدان‌ها نقش گسترده‌ای در آندرولوژی بازی می‌کنند. این ترکیبات باعث محافظت اسپرماتوزوا در برابر ROS تولید شده توسط اسپرماتوزوای غیرطبیعی، خنثی‌کردن ROS تولید شده توسط لکوسیت‌ها، ممانعت از قطعه قطعه شدن DNA، بهبود کیفیت مایع منی در افراد سیگاری، کاهش آسیب سرما به اسپرماتوزوا، ممانعت از بلوغ اسپرم نابالغ و افزایش حرکت اسپرماتوزوا می‌شوند. آنتی‌اکسیدان‌ها موادی هستند که واکنش زنجیره‌ای اکسیداتیو را می‌شکنند و بدین وسیله استرس اکسیداتیو را کاهش می‌دهند. سه سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی مختلف، نقش‌های مهم و وابسته به هم در کاهش استرس اکسیداتیو در مردها بازی می‌کنند. آنتی‌اکسیدان‌های رژیم غذایی، آنتی‌اکسیدان‌های درون‌زاد (اندوژن) و پروتئین‌های اتصالی به فلزات (۴۱).

آنتی‌اکسیدان‌های اندوژن شامل آنتی‌اکسیدان‌های موجود در پلاسمای منی و اسپرماتوزوا هستند. پلاسمای منی حاوی سه آنتی‌اکسیدان آنزیمی اصلی سوپر اکسید دسموتاز (SOD)، کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز/ گلوتاتیون ردوکتاز (GPX/GRD) هستند. این آنتی‌اکسیدان‌ها تعداد زیاد ROS را خنثی کرده و مانع از آسیب به ساختار سلولی می‌شوند و باعث کاهش احیای هیدروژن پراکسید به آب و الکل می‌شوند. SOD منجر به تبدیل آنیون سوپراکسید ($O_2^{-\bullet}$) به O_2 و H_2O_2 می‌شود در حالی‌که کاتالاز H_2O_2 را به O_2 و H_2O تبدیل می‌کند (۴۱-۴۳).

اسپرماتوزواها عمدتاً حاوی آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی هستند که SOD غالب می‌باشد. SOD اسپرماتوزوا را از سمیت O_2 و پراکسیداسیون لیپید محافظت می‌کند. SOD و کاتالاز همچنین $O_2^{-\bullet}$ تولید شده توسط NADPH اکسیدازها را در نوتروفیل‌ها برداشته و اسپرماتوزوا را در برابر آسیب اکسیداتیو محافظت می‌کند. علاوه بر آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی، آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی مثل آسکوربات، ویتامین A، ویتامین E، پیرووات، یوبی‌کوئیتول، گلوتاتیون، آلبومین، اورات، تورین و هیپوتورین نیز وجود دارند (۴۱-۴۴).

آنتی‌اکسیدان‌های رژیم غذایی به فرم ویتامین C، ویتامین E، بتاکاروتن، کاروتنوئیدها و فلاونوئیدها هستند. پروتئین‌های متصل به فلز شامل آلبومین، سرولوپلاسمین، متالوتیونین، ترانسفرین، فریتین و میوگلوبین هستند که با غیرفعال کردن انتقال یون‌های فلزی عمل می‌کنند. شلاته‌کننده‌های فلزی از قبیل ترانسفرین، لاکتوفرین و سرولوپلاسمین که در پلاسمای منی هستند نیز پراکسیداسیون لیپیدهای غشای پلاسمایی اسپرم را کنترل کرده و در حفظ جامعیت ساختاری آن مشارکت می‌کنند (۴۴-۴۶).

ویتامین E یک آنتی‌اکسیدان شکننده زنجیره اکسیداسیون می‌باشد که آنتی‌اکسیدان اصلی در غشاء اسپرم بوده و به نظر می‌رسد اثر وابسته به دوز دارد. ویتامین E هر سه نوع رادیکال‌های آزاد، سوپر اکسید، پراکسید هیدروژن و هیدروکسیل را به طور مستقیم بر می‌دارد. Sule-man و همکاران نشان دادند که تزریق ۱۰۰ mg ویتامین E سه بار در روز به مدت ۶ ماه در گروه بیماران آستنوزواسپرمی که همسرشان سالم بود، باعث کاهش معنی‌داری در پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش قدرت حرکت اسپرم شد. همچنین میزان باروری به طور معنی‌داری (۲۱ درصد در گروه درمان در مقایسه با گروه دارونما [Placebo]) افزایش یافت (۴۴، ۴۷).

ویتامین C نیز یک ترکیب آنتی‌اکسیدانی است که حدود ۶۵ درصد ظرفیت کل آنتی‌اکسیدان‌های داخل سلولی و خارج سلولی در مایع منی را تشکیل می‌دهد. ویتامین C رادیکال‌های هیدروکسیل، سوپر اکسید و هیدروژن پراکسید را خنثی می‌کند و مانع از رسوب و لخته شدن اسپرم می‌شود. همچنین مانع از پراکسیداسیون لیپیدها، بازچرخش ویتامین E و محافظت از آسیب به DNA توسط رادیکال H_2O_2 می‌شود. در مطالعه‌ای که توسط Kodama و همکارانش صورت گرفت، مشاهده کردند که تجویز ۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین C به صورت خوراکی همراه با ویتامین E و گلوتاتیون به مدت ۲ ماه به‌طور معنی‌داری سطوح ۸-هیدروکسی-۲-داکسی گوانوزین (یک مارکر آسیب استرس اکسیداتیو به DNA) را در اسپرماتوزوا کاهش داده و باعث افزایش تعداد اسپرم‌ها می‌شود (۴۴، ۴۸).

کوآنزیم Q10 آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی است که وابسته به لیپوپروتئین‌های با وزن کم (LDL) بوده و مانع از آسیب پراکسیداتیو می‌شود. کوآنزیم Q10 در قطعه میانی اسپرم بوده و باعث بازچرخش

ویتامین E و ممانعت از فعالیت پراکسیدانی آن می‌شود. دیده شده که تجویز خوراکی ۶۰ mg/kg از کوآنزیم ROS میزان باروری را در تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم (ICSI) در مردان نابارور نورمواسپرمی بهبود می‌بخشد (۴۴).

گلوتاتیون مولکولی است که در مقادیر میلی‌مولار در تعدادی از سلول‌ها یافت شده که می‌تواند با ROS به صورت مستقیم واکنش نشان دهد. گلوتاتیون (GSH) کوفاکتور گلوتاتیون پراکسیداز (GSHPX) بوده و باعث احیای H_2O_2 سمی و سایر پراکسیدها می‌شود و بدین ترتیب سلول‌های پستانداران را در برابر استرس اکسیداتیو محافظت می‌کند. گلوتاتیون ۵ mM اثر محافظتی در برابر انجماد به واسطه بهبود فعالیت حرکتی بعد از خارج شدن از انجماد (مایع شدن) بر جامعیت غشایی داشته و فعالیت آنزیمی را در مایع منی گوسفند کاتالیز می‌کند (۴۱، ۴۹).

افزودن اینوزیتول می‌تواند فعالیت حرکتی اسپرم را پس از خروج از انجماد بهبود بخشد. اینوزیتول دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و محافظتی در برابر انجماد بوده و موجب فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالای گلوتاتیون، حفظ جامعیت ساختاری آکروزوم و مورفولوژی اسپرم می‌شود (۵۰).

سیستئین یک اسید آمینه با وزن مولکولی پایین حاوی تیول بوده که پیش‌ساز گلوتاتیون داخل سلولی می‌باشد. سیستئین به راحتی از غشای سلول وارد شده و باعث افزایش بیوسنتز گلوتاتیون داخل سلولی هم در برون‌تنی و هم درون‌تنی و محافظت لیپیدها و پروتئین‌های غشایی به علت خواص خنثی‌کنندگی غیرمستقیم رادیکال‌های آزاد می‌شود. گفته شده که سنتز گلوتاتیون در شرایط برون‌تنی ممکن است به علت کمبود سیستئین در محیط کشت دچار نقص شود که این امر به علت ناپایداری بالای گلوتاتیون و اکسیده شدن خود بخودی آن به سیستئین می‌باشد. سیستئین اثر محافظتی در برابر انجماد در یکپارچگی عملکرد آکسوزوم و میتوکندری داشته و فعالیت حرکتی اسپرم را بعد از خروج از انجماد بهبود می‌بخشد. اثبات شده که تیول‌هایی از قبیل گلوتاتیون و سیستئین مانع از دست رفتن فعالیت حرکتی اسپرم در مایع منی گاو بعد از خروج از انجماد شده و باعث بهبود قابلیت بقاء، حفظ ساختار کروماتین و یکپارچگی غشای اسپرم گراز، در طی ذخیره مایع منی می‌شود (۴۲، ۵۱).

تره‌هالوز و تورین (یک اسید آمینه سولفونیک) به عنوان خنثی‌کننده غیرآنزیمی عمل می‌کنند که نقش مهمی در محافظت اسپرماتوزوا در برابر ROS دارند. تره‌هالوز یک دی‌ساکارید است که نقش محافظتی‌اش را بواسطه اثر اسمزی و میان کنش‌های خاص با فسفولیپیدهای غشایی اعمال می‌کند و باعث تغییر محیط هیپرتونیک شده و بدین وسیله موجب دهیدراسیون اسمزی سلول قبل از منجمد کردن و کاهش مقدار آسیب سلولی بواسطه کریستاله شدن آن می‌شود. تورین خواص آنتی‌اکسیدانی بواسطه افزایش سطح کاتالاز در ارتباط نزدیک با تغلیظ SOD در اسپرماتوزوای خرگوش، گوسفند و گاو نشان می‌دهد (۴۲، ۴۳، ۵۱، ۵۲).

هیالورونان یک جزء ضروری ماتریکس خارج سلولی بوده که گلیکوزآمینوگلیکان غیرسولفاته می‌باشد و فعالیت‌های فیزیولوژیک مهمی از قبیل فعالیت حرکتی، ظرفیت‌یابی اسپرماتوزوا و زیست‌پذیری آن بعد از خروج از حالت انجماد و حفظ یکپارچگی ساختاری غشاء در برون‌تنی دارد. هیالورونان فعالیت حرکتی اسپرم، زیست‌پذیری و یکپارچگی غشایی را بعد از خروج از انجماد بهبود بخشیده و باعث کاهش پلیاسپرمی می‌شود (۴۳).

کاروتنوئیدها مثل بتا کاروتن و لیکوپن نیز اجزای مهمی از سیستم آنتی‌اکسیدانی هستند. بتا کاروتن‌ها باعث حفظ غشای پلاسمایی در برابر پراکسیداسیون لیپیدی می‌شوند (۴۳، ۵۱).

در کل، آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیبات یا موادی هستند که باعث رسوب، خنثی کردن و سرکوب تشکیل ROS و یا ممانعت از اعمال آن‌ها می‌شوند. منگنز (Mn^{2+}) فعالیت حرکتی اسپرم، قابلیت بقاء، ظرفیت‌یابی و واکنش آکروزومی را با کاهش استرس اکسیداتیو کاهش می‌دهد. افزایش خارج سلولی Mn^{2+} سطوح cAMP را بواسطه تحریک Ca^{2+} یا Mn^{2+}ATPase افزایش داده و بدین وسیله باعث فعال شدن کانال کلسیمی شده و بدین ترتیب باعث رسوب بیشتر کلسیم داخل سلولی می‌شود. بنابراین Mn^{2+} واکنش آکروزومی را پیش می‌برد (۴۶، ۵۳).

نقش آنتی‌اکسیدان‌ها در حرکت اسپرماتوزوا: آنتی‌اکسیدان‌ها (عمدتاً ویتامین E و C، گلوتاتیون، N-استیل سیستئین، SOD، کاتالاز، آلبومین، تورین و هیپوتورین)، نه تنها مانع از کاهش حرکت اسپرم می‌شوند، بلکه حرکت اسپرم را نیز افزایش می‌دهند (عمدتاً N-استیل سیستئین و کوآنزیم Q10). در یک مطالعه نشان داده شد که تجویز خوراکی ویتامین E(۳۰۰ mg/day) باعث کاهش MDA در اسپرماتوزوا و بهبود قدرت حرکتی اسپرم شد. در مطالعه‌ای دیگر دیده شد که انکوباسیون نمونه‌های اسپرماتوزوای آستنوزواسپرمی افراد نابارور به مدت ۲۴ ساعت در محیط Hams F10 با ۵۰ µg کوآنزیم Q10 فعالیت حرکتی اسپرم را بهبود بخشید. Lenzi و همکارانش گزارش کردند که تجویز خوراکی ۳-۲ g/day کارنیتین‌ها به مدت بیش از ۲ ماه غلظت و فعالیت حرکتی اسپرم‌ها را بهبود بخشید (۵۳).

نقش آنتی‌اکسیدان‌ها در جلوگیری از آسیب به DNA: مطالعات نشان داده‌اند که آنتی‌اکسیدان‌ها قطعه‌قطعه شدن DNA در اثر استرس اکسیداتیو را کاهش می‌دهند. استفاده روزانه از مکمل ۱ g ویتامین E و C به صورت خوراکی به مدت ۲ ماه باعث کاهش تعداد اسپرماتوزوای دچار آسیب در DNA، از ۲۲/۱ درصد به ۹/۱ درصد شد. به علاوه دیده شد که میزان وقوع حاملگی و لانه گزینی بعد از درمان با آنتی‌اکسیدان‌ها در مقایسه با گروه پیش درمان ICSI بیشتر بود (۴۴، ۵۴، ۵۵).

کنترل ناباروری مرتبط با استرس اکسیداتیو: وقتی فردی مبتلا به ناباروری به علت افزایش استرس اکسیداتیو باشد، درمان بایستی با هدف شناسایی و کاهش علت اصلی ناباروری باشد. بر این اساس بایستی کنترل و استراتژی درمانی بر پایه کاهش استرس اکسیداتیو باشد (۵۶).

تغییر شیوه زندگی: دیده شده که شیوه‌های زندگی و رژیم غذایی نامناسب از قبیل سیگار کشیدن، مصرف بیش از حد الکل، چاقی و استرس روانی باعث افزایش استرس اکسیداتیو می‌شوند. با وجودی‌که کارآیی و مطلوبیت حذف این روش‌های نامناسب زندگی برای کاهش استرس اکسیداتیو مورد بررسی و ارزیابی دقیق و کامل قرار نگرفته است، ولی به نظر می‌رسد که تغییرات مثبت در شیوه زندگی از قبیل رژیم غذایی غنی از میوه‌جات/ سبزیجات، حفظ وزن طبیعی و کاهش مصرف سیگار و الکل می‌توانند تا حدودی بر سلامت اسپرم اثرات مفید داشته باشند (۵۶-۵۸).

عوامل محیطی: قرار گرفتن در معرض گرما، آلودگی و سموم (فلزات سنگین) همگی در ارتباط با استرس اکسیداتیو هستند (۵۹). مردان بایستی از فعالیت‌هایی که ممکن است باعث گرم شدن اسکروتوم می‌شوند از قبیل حمام طولانی مدت و سونا خودداری کنند. همچنین تهویه مناسب و استفاده از لوازم محافظتی شخصی در محیط کار قرار گیری مردان در معرض بخارهای فلزی و شیمیایی مرتبط با استرس اکسیداتیو را کاهش خواهند داد (۴۴، ۵۶، ۶۰).

درمان عفونت و التهاب: عفونت مایع منی و غدد فرعی مردانه توسط کلامیدیا و ureaplasma در ارتباط با افزایش استرس اکسیداتیو می‌باشند. از آنجا که هر دوی این‌ها توسط آنتی‌بیوتیک‌ها قابل درمان هستند، به نظر می‌رسد غربالگری مردانی که استرس اکسیداتیو دارند، برای مقابله با این پاتوژن‌های باکتریایی مفید خواهد بود. دو مطالعه در این زمینه، توانایی درمان با آنتی‌بیوتیک‌ها را برای کاهش استرس اکسیداتیو و بهبود کیفیت اسپرم مورد تایید قرار می‌دهند. در یک مطالعه تصادفی در مردان مبتلا به عفونت کلامیدیا یا ureaplasma به مدت ۳ ماه درمان با آنتی‌بیوتیک و عدم درمان صورت گرفت. مشاهده شده که در گروه تحت درمان با آنتی‌بیوتیک، کاهش معنی‌داری در لکوسیت‌های مایع منی و تولید ROS در طی ۳ ماه، بهبود فعالیت حرکتی اسپرم و قدرت باروری در مقایسه با گروه کنترل وجود داشت (۲۸/۲ در مقابل ۵/۴ درصد). در یک مطالعه کوچک‌تر دیگر مشاهده شد که استفاده از آنتی‌بیوتیک به مدت ۱۰ روز باعث کاهش بارزی در لکوسیت‌های مایع منی و فعالیت حرکتی اسپرم نشد. بنابراین، به نظر می‌رسد که دوره‌های طولانی آنتی‌بیوتیک‌درمانی (۳ماه) برای رفع مشکلات و درمان عفونت‌های غدد فرعی مردانه و کاهش استرس اکسیداتیو مورد نیاز می‌باشد (۵۶، ۶۱).

علاوه بر آنتی‌بیوتیک‌درمانی، داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی (NSAIDs) نیز ممکن است تولید رادیکال‌های آزاد توسط لکوسیت‌های مایع منی را کاهش دهند. در مطالعه‌ای در مردان مبتلا به عفونت کلامیدیا یا ureaplasma که تحت درمان با آنتی‌بیوتیک بودند، تحت درمان با NSAID یا آنتی‌اکسیدان کارنیتین قرار گرفتند و کیفیت اسپرم‌ها به مدت ۴ ماه کنترل شد. دیده شد که مردان تحت درمان با ۲ ماه NSAID و به دنبال آن ۲ ماه کارنیتین، کاهش معنی‌داری در تولید ROS و بهبود فعالیت حرکتی و زیست پذیری اسپرم داشتند. بعلاوه یک دوره یک ماهه درمان با ضد التهاب COX-2 نشان داد که تعداد لکوسیت‌های مایع منی به طور معنی‌داری کاهش یافت، درحالی‌که فعالیت حرکتی اسپرم، مورفولوژی و زیست‌پذیری افزایش نشان داد. بنابراین، به نظر می‌رسد که ترکیب آنتی‌بیوتیک‌ها همراه با یک دوره درمان با داروهای ضدالتهاب یک روش درمانی مناسب در کاهش عفونت‌های مرتبط با استرس اکسیداتیو می‌باشد (۵۶، ۶۱، ۶۲).

مکمل‌های ویتامینی و آنتی‌اکسیدانی: افزایش هوموسیستئین با استرس اکسیداتیو مرتبط می‌باشد. ویتامین‌های گروه B، فولات، ویتامین B6 و B12 کارآیی آنزیم متیل تتراهیدروفولات ردوکتاز (MTHFR آنزیمی که هوموسیستئین را به متیونین تبدیل می‌کند) و سیستاتیونین β-سنتاز را که مسئول برداشت هوموسیستئین از گردش خون هستند، تحت تاثیر قرار می‌دهند. استفاده از ویتامین‌های گروه (B mg ۵ فولات، mg ۱۰۰ ویتامین B6 و µg ۱۰۰ ویتامین B12)، احتمالاً در مردان مبتلا به هوموسیستئینمی و استرس اکسیداتیو مورد توجه قرار گیرد، چرا که این درمان ارزان بوده و عوارض جانبی کمتری دارد. با توجه به اینکه مطالعات زیادی در مورد اثر آنتی‌اکسیدان‌های مختلف بر پارامترهای اسپرم و میزان وقوع حاملگی منتشر شده است، به نظر می‌رسد که آنتی‌اکسیدان‌های خوراکی می‌توانند اثرات شایانی بر عملکرد اسپرم‌ها و میزان حاملگی داشته باشند (۴۱، ۴۴، ۵۶).

مطالعات مختلف نشان داده‌اند که سطوح ROS مایع منی با استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های مکمل خوراکی، بواسطه تقویت ظرفیت پاک‌کنندگی رادیکال‌های آزاد کاهش می‌یابد. آنتی‌اکسیدان خوراکی Astaxanthin، کارنیتین یا ترکیبی از آنتی‌اکسیدان‌ها از قبیل N-استیل سیستئین، β-کاروتن، ویتامین E و اسیدهای چرب ضروری به طور مستقیم سطوح ROS مایع منی را کاهش می‌دهند (۵۶).

نتیجه‌گیری

امروزه ROS در بسیاری از بیماری‌ها به عنوان عامل مخرب و آسیب‌رسان به سلول‌ها و بافت‌ها شناخته شده است. مطالعات بسیاری نشان داده‌اند که ROS با بیماری‌هایی مثل سرطان، بیماری‌های قلبی-عروقی، نفروپاتی دیابتی و حتی با فرآیندهایی نظیر پیری و ناباروری نیز ارتباط دارد. مطالعات دو دهه گذشته نشان داده‌اند که مقادیر کم و کنترل شده ROS در فرآیندهای فیزیولوژیک سلول به عنوان پیک ثانویه شرکت دارد و در واقع مقادیر فیزیولوژیک آن‌ها برای فعالیت‌های طبیعی سلول لازم و ضروری است. مطالعات نشان داده‌اند که در بیشتر سلول‌ها، مقادیر فیزیولوژیک ROS توسط آنزیم‌های خانواده NADPH اکسیداز تولید می‌شود. این آنزیم‌ها در غشاء پلاسمایی سلول‌ها حضور دارند و با اتصال کلسیم به آن‌ها، تولید ROS را افزایش می‌دهند.

ROS در اسپرم نیز نقش‌های فیزیولوژیک مختلفی را از زمان تشکیل اسپرم تا زمان ترکیب شدن اسپرم با تخمک ایفا می‌کند اما اثرات پاتولوژیک حاصل از تولید بیش از حد آن‌ها نیز آشکار شده است. از این جمله می‌توان به افزایش آسیب به DNA و افزایش مرگ و میر اسپرم‌ها اشاره نمود که مسئول القای ناباروری در بخش مهمی از مردان نابارور است.

در مردان نابارور، تحرکت اسپرم‌ها و تعداد کل اسپرم‌های متحرک کمتر از اسپرم مردان بارور است. در این افراد تعداد اسپرم‌های مرده و میزان DNA آسیب دیده نیز بیشتر از اسپرم افراد بارور است. در ضمن توانایی واکنش آکروزومی نیز کمتر است که به شدت توانایی نفوذ اسپرم به تخمک را کاهش می‌دهد. مطالعات نشان داده‌اند که استفاده از ویتامین‌ها به صورت خوراکی می‌تواند در مردان نابارور سبب بهبود تحرکت اسپرم و کاهش تعداد اسپرم‌های بی‌حرکت، افزایش میزان بقاء اسپرم‌ها و کاهش آسیب به DNA شود.

در دهه‌های گذشته، انقلابی در تکنیک‌های آزمایشگاهی برای غلبه بر ناباروری اتفاق افتاده است. این مسئله در سال ۱۹۶۹ با لقاح موفقیت‌آمیز تخمک انسانی با اسپرم در خارج از بدن آغاز شد و نزدیک ۱۰ سال بعد نخستین کودک آزمایشگاهی بعد از انتقال یک جنین لقاح یافته متولد شد. در مراکز باروری و ناباروری که امروزه بر تعداد مراجعان آن‌ها افزوده می‌شود، اسپرم‌ها در محیط کشت فرصت لقاح با تخمک را می‌یابند، اما قبل از آن اسپرم‌ها باید مراحل مختلف شستشو

را پشت سر بگذارند و این در حالی است که روش‌های مختلف شستشوی اسپرم‌ها هر کدام به درجاتی باعث افزایش تولید ROS می‌شوند. در روش جداسازی اسپرم‌ها با استفاده از سانتریفیوژ و سپس اجازه دادن به اسپرم‌های متحرک برای شناور شدن، نیز که یکی از روش‌های مرسوم در مراکز باروری و ناباروری برای شستشوی اسپرم‌ها است، تولید ROS افزایش می‌یابد و این در حالی است که اسپرم در مراحل شستشو از منبع آنتی‌اکسیدان‌های خود محروم شده است.

بنابراین، استفاده از ویتامین‌ها به صورت خوراکی و یا در محیط کشت اسپرم می‌تواند با جلوگیری از کاهش تحرک اسپرم‌ها و جلوگیری از افزایش مرگ و میر آن‌ها و کاهش آسیب به DNA شانس لقاح و باروری اسپرم‌های افراد نابارور را افزایش دهد.

References

1. Halliwell B. Free radicals and antioxidants: updating a personal view. Nutr Rev. 2012;70(5):257-65.
2. Lenaz G. Mitochondria and reactive oxygen species. Which role in physiology and pathology? Adv Exp Med Biol. 2012;942(1):93-136.
3. Cui X. Reactive oxygen species: the achilles' heel of cancer cells? Antioxid Redox Signal. 2012;16(11):1212-4.
4. Yang H, Jin X, Kei Lam CW, Yan SK. Oxidative stress and diabetes mellitus. Clin Chem Lab Med. 2011;49(11):1773-82.
5. Montezano AC, Touyz RM. Molecular mechanisms of hypertension-reactive oxygen species and antioxidants: a basic science update for the clinician. Can J Cardiol. 2012;28(3):288-95.
6. Petry A, Weitnauer M, Gorlach A. Receptor activation of NADPH oxidases. Antioxid Redox Signal. 2010 15;13(4):467-87.
7. Armstrong JS, Bivalacqua TJ, Chamulitrat W, Sikka S, Hellstrom WJ. A comparison of the NADPH oxidase in human sperm and white blood cells. Int J Androl. 2002;25(4):223-9.
8. Brown DI, Griendling KK. Nox proteins in signal transduction. Free Radic Biol Med. 2009;47(9):1239-53.
9. Banfi B, Tirone F, Durussel I, Knisz J, Moskwa P, Molnar GZ, et al. Mechanism of Ca^{2+} activation of the NADPH oxidase 5 (NOX5). J Biol Chem. 2004;279(18):18583-91.
10. Fujii J, Tsunoda S. Redox regulation of fertilisation and the spermatogenic process. Asian J Androl. 2011;13(3):420-3.
11. Agarwal A, Nandipati KC, Sharma RK, Zippe CD, Raina R. Role of oxidative stress in the pathophysiological mechanism of erectile dysfunction. J Androl. 2006;27(3):335-47.
12. Baker MA, Aitken RJ. The importance of redox regulated pathways in sperm cell biology. Mol Cell Endocrinol. 2004;216(1-2):47-54.
13. Aitken RJ, Clarkson JS, Fishel S. Generation of reactive oxygen species, lipid peroxidation, and human sperm function. Biol Reprod. 1989;41(1):183-97.
14. Aitken RJ, Paterson M, Fisher H, Buckingham DW, van Duin M. Redox regulation of tyrosine phosphorylation in human spermatozoa and its role in the control of human sperm function. J Cell Sci. 1995;108 (5):2017-25.
15. Aitken RJ. Molecular mechanisms regulating human sperm function. Mol Hum Reprod. 1997;3(3):169-73.
16. Zhang H, Zheng RL. Promotion of human sperm capacitation by superoxide anion. Free Radic Res. 1996;24(4):261-8.
17. Aitken RJ. Possible redox regulation of sperm motility activation. J Androl. 2000;21(4):491-6.
18. Showell MG, Brown J, Yazdani A, Stankiewicz MT, Hart RJ. Antioxidants for male subfertility. Cochrane Database Syst Rev. 2011 (1):CD007411.
19. 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.
20. Gallardo JM. Evaluation of antioxidant system in normal semen. Rev Invest Clin. 2007;59(1):42-7.
21. Fanaei H, Keshtgar S, Bahmanpour S, Ghannadi A, Kazeroni M. Beneficial effects of alpha-tocopherol against intracellular calcium overload in human sperm. Reprod Sci. 2011;18(10):978-82.
22. Lewis SE, Sterling ES, Young IS, Thompson W. Comparison of individual antioxidants of sperm and seminal plasma in fertile and infertile men. Fertil Steril. 1997;67(1):142-7.
23. Omu AE, Fatinikun T, Mannazhath N, Abraham S. Significance of simultaneous determination of serum and seminal plasma alpha-tocopherol and retinol in infertile men by high-performance liquid chromatography. Andrologia. 1999;31(6):347-54.
24. O WS, Chen H, Chow PH. Male genital tract antioxidant enzymes-their ability to preserve sperm DNA integrity. Mol Cell Endocrinol. 2006 16;250(1-2):80-3.
25. Ford WC. Regulation of sperm function by reactive oxygen species. Hum Reprod Update. 2004;10(5):387-99.
26. Keshtgar S, Fanaei H, Bahmanpour S, Azad F, Ghannadi A, Kazeroni M. In vitro effects of alpha-tocopherol on teratozoospermic semen samples. Andrologia. 2012;44 Suppl 1:721-7.
27. Aziz N, Saleh RA, Sharma RK, Lewis-Jones I, Esfandiari N, Thomas AJ, Jr., et al. Novel association between sperm reactive oxygen species production, sperm morphological defects, and the sperm deformity index. Fertil Steril. 2004;81(2):349-54.
28. Said TM, Agarwal A, Sharma RK, Thomas AJ, Jr., Sikka SC. Impact of sperm morphology on DNA damage caused by oxidative stress induced by beta-nicotinamide adenine dinucleotide phosphate. Fertil Steril. 2005;83(1):95-103.
29. Tvrda E, Knazicka Z, Bardos L, Massanyi P, Lukac N. Impact of oxidative stress on male fertility - a review. Acta Vet Hung. 2011;59(4):465-84.

30. 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.
31. Yenilmez E, Yildirmis S, Yulug E, Aydin S, Tekelioglu Y, Erdem E, et al. Ham's F-10 medium and Ham's F-10 medium plus vitamin E have protective effect against oxidative stress in human semen. Urology. 2006;67(2):384-7.
32. Donnelly ET, McClure N, Lewis SE. The effect of ascorbate and alpha-tocopherol supplementation in vitro on DNA integrity and hydrogen peroxide-induced DNA damage in human spermatozoa. Mutagenesis. 1999 Sep;14(5):505-12.
33. de Lamirande E, O'Flaherty C. Sperm activation: role of reactive oxygen species and kinases. Biochim Biophys Acta. 2008;1784(1):106-15.
34. Bae YS, Oh H, Rhee SG, Yoo YD. Regulation of reactive oxygen species generation in cell signaling. Mol Cells. 2011;32(6):491-509.
35. Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt KV. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. Ann Bot. 2003;91(2):179-94.
36. Saleh RA, Agarwal A. Oxidative stress and male infertility: from research bench to clinical practice. J Androl. 2002;23(6):737-52.
37. Lewis SE, Boyle PM, McKinney KA, Young IS, Thompson W. Total antioxidant capacity of seminal plasma is different in fertile and infertile men. Fertil Steril. 1995;4(4):868-70.
38. Thiyagarajan B, Valivittan K. Ameliorating effect of vitamin E on in vitro development of preimplantation buffalo embryos. J Assist Reprod Genet. 2009;26(4):217-25.
39. Kemal Duru N, Morshedi M, Oehninger S. Effects of hydrogen peroxide on DNA and plasma membrane integrity of human spermatozoa. Fertil Steril. 2000;74(6):1200-7.
40. Agarwal A, Said TM. Oxidative stress, DNA damage and apoptosis in male infertility: a clinical approach. BJU Int. 2005;95(4):503-7.
41. Bansal AK, Bilaspuri GS. Impacts of oxidative stress and antioxidants on semen functions. Vet Med Int. 2010;2011(1):1-7.
42. Agarwal A, Gupta S, Sharma RK. Role of oxidative stress in female reproduction. Reprod Biol Endocrinol. 2005;3(1):1-21.
43. Bucak MN, Atessahin A, Varisli O, Yuce A, Tekin N, Akcay A. The influence of trehalose, taurine, cysteamine and hyaluronan on ram semen Microscopic and oxidative stress parameters after freeze-thawing process. Theriogenology. 2007;67(5):1060-7.
44. Makker K, Agarwal A, Sharma R. Oxidative stress & male infertility. Indian J Med Res. 2009;129(4):357-67.
45. Greco E, Iacobelli M, Rienzi L, Ubaldi F, Ferrero S, Tesarik J. Reduction of the incidence of sperm DNA fragmentation by oral antioxidant treatment. J Androl. 2005 May-;26(3):349-53.
46. Wroblewski N, Schill WB, Henkel R. Metal chelators change the human sperm motility pattern. Fertil Steril. 2003;79 (3):1584-9.
47. 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.
48. Kodama H, Yamaguchi R, Fukuda J, Kasai H, Tanaka T. Increased oxidative deoxyribonucleic acid damage in the spermatozoa of infertile male patients. Fertil Steril. 1997;68(3):519-24.
49. Bucak MN, Tuncer PB, Sariozkan S, Ulutas PA, Coyan K, Baspinar N, et al. Effects of hypotaurine, cysteamine and aminoacids solution on post-thaw microscopic and oxidative stress parameters of Angora goat semen. Res Vet Sci. 2009;87(3):468-72.
50. Bucak MN, Tuncer PB, Sariozkan S, Baspinar N, Taspinar M, Coyan K, et al. Effects of antioxidants on post-thawed bovine sperm and oxidative stress parameters: antioxidants protect DNA integrity against cryodamage. Cryobiology. 2010;61(3):248-53.
51. Uysal O, Bucak MN. Effects of oxidized glutathione, bovine serum albumin, cysteine and lycopene on the quality of frozen-thawed ram semen. Acta Vet Brno. 2007;76(3):383-90.
52. Reddy NSS, Mohanarao GJ, Atreja SK. Effects of adding taurine and trehalose to a tris-based egg yolk extender on buffalo (Bubalus bubalis) sperm quality following cryopreservation. Anim Reprod Sci. 2010;119(3-4):183-90.
53. Lenzi A, Sgro P, Salacone P, Paoli D, Gilio B, Lombardo F, et al. A placebo-controlled double-blind randomized trial of the use of combined l-carnitine and l-acetyl-carnitine treatment in men with asthenozoospermia. Fertil Steril. 2004;81(6):1578-84.
54. Greco E, Romano S, Iacobelli M, Ferrero S, Baroni E, Minasi MG, et al. ICSI in cases of sperm DNA damage: beneficial effect of oral antioxidant treatment. Hum Reprod. 2005;20(9):2590-4.
55. Kopena R, Martin J, Lopez P, Herczeg G. Vitamin E supplementation increases the attractiveness of males' scent for female European green lizards. PLoS One. 2011;6(4):e19410.
56. Tremellen K. Oxidative stress and male infertility--a clinical perspective. Hum Reprod Update. 2008 May-;14(3):243-58.
57. Tawadrous GA, Aziz AA, Mostafa T. Effect of smoking status on seminal parameters and apoptotic markers in infertile men. J Urol. 2011;186(5):1986-90.
58. Muthusami KR, Chinnaswamy P. Effect of chronic alcoholism on male fertility hormones and semen quality. Fertil Steril. 2005;84(4):919-24.
59. Wong EW, Cheng CY. Impacts of environmental toxicants on male reproductive dysfunction. Trends Pharmacol Sci. 2011;32(5):290-9.
60. Mathur PP, D'Cruz SC. The effect of environmental contaminants on testicular function. Asian J Androl. 2011;13(4):585-91.
61. Krause W, Bohring C, Gueth A, Horster S, Krisp A, Skrzypek J. Cellular and biochemical markers in semen

indicating male accessory gland inflammation. Andrologia. 2003;35(5):279-82.
62. Gambera L, Serafini F, Morgante G, Focarelli R, De Leo V, Piomboni P. Sperm quality and pregnancy rate after COX-2 inhibitor therapy of infertile males with abacterial leukocytospermia. Hum Reprod. 2007;22(4):1047-51.

Review Article

Role of Oxidative Stress in Male Infertility

Fanaei H[*1], Azizi Y[2], Khayat S[3]

1- Department of Physiology, Medical School, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran.
2- Department of Physiology, Medical School, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
3- Nursing and Midwifery Faculty, Tehran University of Medical Sciences, Tehran. Iran.

Received: 31 Dec 2012 Accepted: 04 Apr 2013

Abstract

Recent studies have shown that reactive oxygen species (ROS) have a very important role in the intracellular signaling process in physiological conditions. On the other hand, during the recent decade it has been indicated that ROS play a role in various types of male infertility and it is due to the overproduction of ROS or decrease in the antioxidant defense system in the reproductive system and sperm. In pathological conditions, ROS via interferences in the spermatogenesis process, sperm function, and sperm structure (motility, viability, acrosome reaction, sperm-oocyte fusion, and damage to DNA and cell membrane) as well as reduction in fertilization and implantation can lead to infertility. Knowledge of how ROS affect the physiological process of the reproductive system is crucial in the treatment of infertility. Thus, in this review article we will discuss experimental and clinical findings related to the effects of ROS on male fertility.

Keywords: **Reactive oxygen species; Antioxidant; Sperm; Male infertility**

*** Corresponding author: Fanaei Hamed,** Department of Physiology, Zahedan University of Medical Sciences, Zahedan, Iran.
Telefax: +98 21 66419484
E-mail: fanaei@razi.tums.ac.ir