

مقایسه غلظت روی در پلاسمای منی مردان مبتلا به ضایعه نخاعی با افراد نرمواسپرمیک و ارتباط آن با پارامترهای اسپرم

علی شهبازی* - دکتر سید شهاب الدین صدر** - دکتر ناصر سلسبیلی*** - دکتر رضا برادر جلیلی****

* کارشناس ارشد فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی ایران

** متخصص فیزیولوژی، استاد دانشگاه علوم پزشکی تهران

*** متخصص جنین شناسی، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی تهران

**** پزشک عمومی، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

زمینه و هدف: در مردان مبتلا به ضایعه نخاعی، علاوه بر اختلال نعوظ و انزال، با وجود طبیعی بودن غلظت اسپرم، درصد اسپرم های غیر طبیعی، کم تحرک و غیر زنده نسبتاً زیاد است. دلایل مختلفی از جمله احتمال اختلال در عملکرد غدد ضمیمه دستگاه تناسلی، ذکر شده است. از این رو هدف از این مطالعه بررسی میزان روی در پلاسمای منی (به عنوان نشانگر ترشحات پروستات) در این افراد و مقایسه آن با گروه کنترل نرمواسپرمیک و ارتباط آن با پارامترهای اسپرم بود.

روش بررسی: در این مطالعه تحلیلی تعداد ۳۰ مرد مبتلا به ضایعه نخاعی با میانگین سنی $36 \pm 2/3$ سال و ۳۰ مرد نرمواسپرمیک با میانگین سنی $34 \pm 3/2$ سال، مورد مطالعه قرار گرفتند. پس از سه روز خودداری از فعالیت جنسی، نمونه مایع منی (قسمت انتروگرا مایع انزالی به روش الکترواجاکولیشن در افراد با ضایعه نخاعی) و نمونه خون ناشتای همزمان گرفته شد. پارامترهای اسپرم، pH مایع منی، اسمولالیتیه پلاسمای منی و میزان روی سرم خون و پلاسمای منی (با دستگاه طیف سنجی جذب اتمی) اندازه گیری شد.

یافته ها: میانگین روی پلاسمای منی در افراد مبتلا به ضایعه نخاعی و گروه کنترل به ترتیب $42/9 \pm 120/74$ و $49/9 \pm 156/88$ میلی گرم در لیتر ($P \text{ value} < 0/05$)، روی سرم خون $1/23 \pm 1/62$ و $0/18 \pm 2/01$ میلی گرم در لیتر ($P \text{ value} > 0/05$)، میانگین pH مایع منی $7/23 \pm 0/23$ و $7/26 \pm 0/58$ ($P \text{ value} < 0/05$) و اسمولالیتیه پلاسمای منی $311/2 \pm 322/4$ و $211/1 \pm 382/5$ ($P \text{ value} < 0/05$) بود. غلظت روی پلاسمای منی با تعداد اسپرم ها ($r = -0/277$)، درصد اسپرم های زنده ($r = 0/404$)، اسپرم های با مورفولوژی طبیعی ($r = 0/332$)، اسپرم های متحرک ($r = 0/422$)، اسپرم های متحرک پیشرونده درجه A و B ($r = 0/386$)، pH مایع منی ($r = 0/390$) و اسمولالیتیه پلاسمای منی ($r = 0/474$) ارتباط معنی دار داشت ($P \text{ value} < 0/05$).

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

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

اصلاح نهایی: ۱۳۸۴/۱۲/۱

وصول مقاله: ۱۳۸۴/۷/۱۱

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

مقدمه

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

حدود ۸۰٪ از ۱۰۰۰۰ بیمار مبتلا به ضایعه نخاعی (SCI) در سال، افراد جوان ۱۵ تا ۲۹ ساله (در سن باروری) هستند (۱). در کشور ما، با توجه به سابقه جنگ تحمیلی، مردان مبتلا به ضایعات نخاعی، درصد نسبتاً زیادی از مجروحین جنگی را تشکیل می دهند و تعداد زیادی از این افراد هم اکنون در سنین باروری هستند. علاوه بر آن، به

اسپرم این افراد دارای حرکت کم و اشکال غیر طبیعی بیشتری نسبت به مردان نرمال می باشد، همچنین درصد اسپرم های غیر زنده در این افراد بیشتر است (۲). مطالعات مختلفی جهت شناسایی علت کیفیت پایین اسپرم در این افراد، صورت گرفته و نشان داده شده است که ترکیب بیوشیمیایی پلاسمای منی آنها در اختلال حرکت اسپرم نقش دارد (۳). از آنجا که عملکرد طبیعی غدد ضمیمه تناسلی مثل پروستات و وزیکول سمینال نقش تعیین کننده ای در ترکیب بیوشیمیایی پلاسمای منی و در نتیجه کیفیت اسپرم دارند، جهت بررسی اختلال احتمالی در عملکرد پروستات به دنبال آسیب نخاعی و ارتباط آن با پارامترهای اسپرم این افراد، میزان "روی" در پلاسمای منی (به عنوان نشانه فعالیت ترشحی غده پروستات و نیز تأثیر حیاتی آن روی اسپرم) این افراد، با افراد نرمواسپرمیک مورد مقایسه قرار گرفت.

روش بررسی

در این مطالعه، تعداد ۳۰ نفر مرد نابارور مبتلا به ضایعه نخاعی به عنوان گروه مورد مطالعه و تعداد ۳۰ نفر مرد نرمواسپرمیک مطابق معیار WHO (۴) به عنوان گروه کنترل مورد بررسی قرار گرفتند. افراد گروه اول به صورت تصادفی از میان بیماران مراجعه کننده به مرکز پژوهشی درمانی کوثر تهران، که در فاصله زمانی دی ماه ۱۳۸۱ تا آبان ماه ۱۳۸۲، جهت درمان ناباروری مراجعه کرده بودند، انتخاب گردیدند. این افراد مطابق پرونده بالینی حداقل یک سال از آسیب نخاعی رنج می بردند و سابقه بیماریهای مؤثر در ناباروری مثل واریکوسل، کریپتوآرکیدیسسم، چرخش بیضه و بیماری های اندوکراین و کروموزومی مؤثر بر اسپرم، اعمال جراحی هرنیورافی و وازکتومی، مصرف داروهای مؤثر بر اسپرماتوژنز و عملکرد اسپرم از سه ماه قبل از آزمایش و تماس با مواد شیمیایی جنگی مثل نیتروژن مستارد نداشتند. افراد گروه کنترل، از میان افرادی که در فاصله زمانی فوق جهت درمان نازایی (فاکتور زنانه)، به مرکز پژوهشی و درمانی کوثر تهران مراجعه کرده بودند و دارای حداقل معیارهای قابل قبول اسپرم جهت باروری، مطابق معیار WHO بودند (نرمواسپرمیک) انتخاب گردیدند. افراد مبتلا به ضایعه نخاعی بر حسب سطح ضایعه، به چهار زیرگروه تقسیم شدند. تعداد سه نفر در سطح گردنی، نه نفر در سطح توراسیک فوقانی، هفت نفر در سطح توراسیک تحتانی و یازده نفر در سطح کمری دچار ضایعه بودند.

این افراد پس از دادن آگاهی های لازم و اخذ رضایت کتبی، پس از سه روز خودداری از فعالیت جنسی، ناشتا به مرکز مراجعه کردند. یک نمونه خون در ساعت ۷ تا ۹ صبح از تمامی بیماران گرفته شد، سپس از افراد مبتلا به ضایعه نخاعی با استفاده از دستگاه الکتروآکولاتور نمونه منی گرفته شد.

جهت یکسان سازی، فقط از قسمت انتروگراذ مایع انزال استفاده

شد. از افراد گروه کنترل نیز با روش استمناء نمونه منی گرفته شد. نمونه ها در ظروف پلاستیکی مخصوص استریل جمع آوری شد. پس از سیال شدن نمونه های منی، بلافاصله پارامترهای اسپرم شامل تعداد، حرکت کل، حرکت پیشرونده، مورفولوژی و درصد اسپرم های زنده (رنگ آمیزی اتوزین) مطابق دستورالعمل WHO اندازه گیری شد. سپس با استفاده از دستگاه سانتریفوژ با دور ۱۴۰۰ g به مدت ده دقیقه، پلاسمای منی جدا گردید و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد در یخچال نگهداری شد. با استفاده از کاغذ pH متر، میزان pH مایع منی، در فاصله زمانی یکساعت اول پس از انزال اندازه گیری شد. جهت اندازه گیری اسمولالیت، میزان ۱۰ میکرولیتر از پلاسمای منی در داخل کاپ اسمومتر ریخته شد و با استفاده از دستگاه اسمومتر، میزان اسمولالیت اندازه گیری شد. سرم خون وریدی پس از لخته شدن، با استفاده از سانتریفوژ با سرعت ۲۰۰۰ g به مدت ده دقیقه جدا شده، در دمای ۲۰- درجه نگهداری شد. از دستگاه اسپکتروفتومتر جذب اتمی جهت اندازه گیری روی پلاسمای منی و سرم خون استفاده شد.

جهت تجزیه و تحلیل داده ها از برنامه آماری ver. 11.5 SPSS استفاده شد. برای مقایسه میانگین میان دو گروه از تست Independent T- test و برای بررسی میزان همبستگی داده ها از تست Pearson استفاده شد. برای مقایسه میانگین در زیر گروه های مختلف افراد مبتلا به ضایعه نخاعی (بر حسب سطح ضایعه) از تست غیرپارامتریک Kruskal-Wallis استفاده شد. مقادیر $P \text{ value} < 0/05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

• نتایج بدست آمده از مقایسه پارامترهای دو گروه (جدول ۱):
نتایج نشان می دهد که میانگین غلظت روی پلاسمای منی در افراد مبتلا به ضایعه نخاعی $42/9 \pm 120/74$ میلی گرم در لیتر و در افراد گروه کنترل $49/9 \pm 156/88$ میلی گرم در لیتر بود ($P \text{ value} < 0/05$). میانگین غلظت روی سرم خون در افراد مبتلا به ضایعه نخاعی $1/23 \pm 1/62$ میلی گرم در لیتر و در افراد گروه کنترل $2/01 \pm 2/08$ میلی گرم در لیتر بود که تفاوت معنی دار نبود ($P \text{ value} > 0/05$). میانگین pH و اسمولالیت مایع منی در افراد مبتلا به ضایعه نخاعی به ترتیب $7/87 \pm 0/23$ و $322/4 \pm 31/2$ و در گروه کنترل به ترتیب $7/58 \pm 0/26$ و $382/5 \pm 21/1$ بود ($P \text{ value} < 0/01$). همانطور که نشان داده شده است تعداد اسپرم ها در افراد با ضایعه نخاعی بیشتر از افراد نرمواسپرمیک بوده است ($P \text{ value} < 0/05$)، ولی حرکت کل اسپرم ها، حرکت پیشرونده اسپرم ها، اسپرم های بامورفولوژی طبیعی و درصد اسپرم های زنده در افراد با ضایعه نخاعی بسیار کمتر از افراد نرمواسپرمیک بود ($P \text{ value} < 0/01$).

نتایج بدست آمده از مقایسه پارامترها در زیر گروه های افراد

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

متغیر (واحد)		افراد مبتلا به ضایعه نخاعی (n = ۳۰)		افراد نورمواسپریمیک (n = ۳۰)	
میانگین	دامنه	میانگین	دامنه	میانگین	دامنه
$\pm$ انحراف معیار		$\pm$ انحراف معیار		$\pm$ انحراف معیار	
غلظت روی سرم (mg/l) *	۱/۲۳ $\pm$ ۱/۶۲	۰/۳۷ - ۵/۲۱	۰/۸۰ $\pm$ ۲/۰۱	۰/۷۱ - ۳/۸۱	
غلظت روی پلاسمای منی (mg/l) *	۱۲۰/۷۴ $\pm$ ۴۲/۹	۳۳/۱ - ۱۹۴/۴	۱۵۶/۸۸ $\pm$ ۴۹/۹	۳۹/۶ - ۲۵۰/۲	
تعداد اسپرم (n $\times$ ۱۰۶/ml) *	۱۱۴/۰۵ $\pm$ ۹۳/۴	۱ - ۳۰۰	۷۲/۴۱ $\pm$ ۳۸/۹۹	۲۰ - ۲۰۰	
اسپرم زنده (درصد) *	۱۷/۶۷ $\pm$ ۱۴/۲۷	۲ - ۵۰	۷۵/۴۸ $\pm$ ۱۴/۳۱	۲۰ - ۹۵	
اسپرم بامرفولوژی طبیعی (درصد) *	۱۵/۶۹ $\pm$ ۹/۳۴	۲ - ۳۲	۴۸/۵۱ $\pm$ ۹۶/۱۹	۱۰ - ۷۵	
اسپرم متحرک (درصد) *	۱۳/۰۳ $\pm$ ۱۱/۳۳	۱ - ۴۵	۶۱/۷۹ $\pm$ ۱۱/۱۱	۴۰ - ۸۵	
اسپرم متحرک پیشرونده (درصد) *	۴/۴۷ $\pm$ ۶/۸۲	۱ - ۴۵	۶۱/۷۹ $\pm$ ۱۱/۱۱	۴۰ - ۸۵	
pH مایع منی *	۷/۸۷ $\pm$ ۰/۲۳	۷/۵ - ۸/۳	۷/۵۸ $\pm$ ۰/۲۶	۷ - ۸/۳	
اسمولالیته پلاسمای منی *	۳۲۲/۴ $\pm$ ۳۱/۲	۲۷۸ - ۳۹۶	۳۸۲/۵ $\pm$ ۲۱/۱	۲۵۰ - ۴۲۵	

* P value < 0.05

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

• نتایج بررسی ارتباط میان غلظت روی پلاسمای منی و سرم با سایر پارامترهای مایع منی:

یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که غلظت روی پلاسمای منی با تعداد اسپرمها ($r = -0.277$, $P \text{ value} = 0.039$), درصد اسپرمهای زنده ($r = 0.404$, $P \text{ value} = 0.002$), درصد اسپرمهای بامورفولوژی طبیعی ($r = 0.332$, $P \text{ value} = 0.015$), درصد اسپرمهای متحرک ($r = 0.422$, $P \text{ value} = 0.001$) پیشرونده درجه B و A ($r = 0.386$, $P \text{ value} = 0.003$), pH مایع منی ($r = 0.39$, $P \text{ value} = 0.005$) و اسمولالیته پلاسمای منی ($r = 0.474$, $P \text{ value} = 0.002$) ارتباط معنی دار داشت ولی میان غلظت روی پلاسمای منی و سرم خون ارتباط معنی داری وجود نداشت ($r = 0.113$, $P \text{ value} > 0.05$).

* نتایج این مطالعه نشان داده است که بین غلظت روی سرم و سایر پارامترهای مایع منی به جز درصد اسپرمهای متحرک پیشرونده ($r = 0.309$, $P \text{ value} < 0.01$) ارتباط معنی داری وجود نداشت.

بحث

ناباروری یکی از مشکلات عمده مبتلایان به ضایعه نخاعی است. از دلایلی که تاکنون ذکر شده، می‌توان به ناتوانی در نعوظ و انزال، کیفیت پایین مایع منی و اسپرم اشاره کرد. دلیل کیفیت پایین مایع منی در این افراد تاکنون به طور دقیق شناخته نشده است. دلایل متعددی مانند استاز مایع پروستات، هیپرترمی بیضه‌ها، عفونت‌های راجعه دستگاه ادراری، بافت غیر طبیعی بیضه، تغییرات احتمالی در محور هیپوتالاموس - هیپوفیز - بیضه، وجود آنتی بادی‌های ضد اسپرم، استفاده طولانی مدت از داروها و همچنین نحوه مراقبت از مثانه در این افراد، برای این مسأله ذکر شده است (۲).

در پاتوفیزیولوژی کیفیت پایین اسپرم در این افراد، مطالعات اخیر بیشتر بر نقش منفی پلاسمای منی آنها روی کیفیت اسپرم تأکید می‌ورزند. در مطالعه Brackett و همکاران مشاهده گردید که پلاسمای منی افراد SCI باعث کاهش حرکت اسپرم افراد سالم شده و برعکس اسپرم افراد SCI، در پلاسمای منی افراد سالم، حرکت خود را تاحدی باز یافته است (۳) که نشان‌دهنده وجود یا فقدان عامل یا عواملی در پلاسمای منی این افراد است که بر حرکت اسپرم تأثیر

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

چندین مطالعه، کاهش قدرت باروری اسپرم حتی در روش ICSI^۲ را در افراد مبتلا به ضایعات نخاعی گزارش کرده‌اند (۱۳). در روش ICSI، یکی از فاکتورهای اصلی اسپرم که تعیین‌کننده موفقیت باروری تخمک است، ساختار کروماتین اسپرم می‌باشد (۱۴، ۱۵). با توجه به نقش روی پلاسمای منی در میزان تراکم کروماتین اسپرم (Condensation) و میزان Decondensation آن پس از لقاح (۱۶، ۱۷) و با در نظر گرفتن اینکه در مطالعه Engh و همکاران میزان Decondensation و Condensation کروماتین اسپرم افراد مبتلا به ضایعات نخاعی، غیر طبیعی گزارش شده بود (۱۸)، نتایج این مطالعه می‌تواند علت آن را توجیه کند که البته نیاز به مطالعه بیشتری دارد.

نتیجه‌گیری

میزان روی پلاسمای منی افراد مبتلا به ضایعه نخاعی کمتر از افراد طبیعی است. این یافته و نیز افزایش pH و کاهش اسمولالیتیه پلاسمای منی ممکن است نشان‌دهنده اختلال در عملکرد ترشحات غده پروستات باشد. اهمیت این یافته‌ها از آن جهت است که، در این افراد که میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن پلاسمای منی بالاست، این کاهش میزان روی (آنتی اکسیدان) شرایط را برای آسیب اکسیداتیو به اسپرم‌ها بیشتر فراهم می‌کند و می‌تواند یکی از دلایل مهم کیفیت پایین اسپرم در این افراد باشد. همچنین مطالعه تأثیر کاهش غلظت روی پلاسمای منی، در کاهش میزان موفقیت باروری آزمایشگاهی در روش ICSI (با توجه به نقش حیاتی روی در ساختار کروماتین اسپرم) در این افراد، حائز اهمیت فراوان خواهد بود.

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

یافته‌های این مطالعه، یعنی کاهش غلظت روی، کاهش اسمولالیتیه و افزایش pH پلاسمای منی این افراد که برای اولین بار گزارش می‌شود، می‌تواند نشان‌دهنده کاهش فعالیت ترشحات غده پروستات به دنبال ضایعه نخاعی باشد که تأیید کننده مطالعه Brackett و همکاران (۶) است. از سوی دیگر نتایج ما نظر Hirsch را در مورد کاهش میزان فعالیت ترشحات و زیکول سمنال به چالش می‌کشد (۵)، زیرا این نتایج می‌تواند نشان‌دهنده عدم تغییر ترشحات (قلیایی و حجم زیاد ترشح آبکی) و زیکول سمنال و یا احتمالاً کاهش شدیدتر ترشحات (اسیدی و حاوی غلظت بالای آلبومین) پروستات نسبت به زیکول سمنال باشد. به هر حال در مطالعات حیوانی نشان داده شده است که عصب دهی طبیعی پروستات برای فعالیت ترشحات آن ضروری است (۷).

نتایج مطالعه ما مثل سایر مطالعات، نشان‌دهنده افزایش قابل ملاحظه مقدار اسپرم‌ها نسبت به افراد طبیعی است اما درصد اسپرم‌های غیر زنده، غیر طبیعی و بی حرکت به میزان زیادی افزایش یافته است. اما جالب اینکه کاهش غلظت روی پلاسمای منی با کاهش کیفیت اسپرم‌ها ارتباط معنی دار داشته است. روی علاوه بر تأثیر عمومی در متابولیسم، سنتز پروتئین، کربوهیدرات و DNA، بواسطه حضور در بیش از ۲۰۰ متالوآنزیم، نقش بسیار مهمی در جلوگیری از آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد به اسپرم دارد.

غشاء اسپرم به دلیل وجود مقادیر بسیار فراوان اسیدهای چرب اشباع نشده و نیز کمبود سیستم‌های آنتی اکسیدانی داخل سلولی نسبت به سایر سلول‌ها، بسیار وابسته به آنتی اکسیدان‌های پلاسمای منی است (۸). از طرفی در مطالعه lamirande و همکاران وجود مقادیر فراوان رادیکال‌های آزاد اکسیژن در پلاسمای منی افراد SCI نشان داده شده است (۹)؛ لذا شرایط برای ایجاد استرس اکسیداتیو و آسیب‌های جدی به اسپرم‌ها فراهم است. برای مقابله با این اثرات مخرب یک سیستم آنتی اکسیدانی قوی مورد نیاز است. روی با چندین مکانیسم به صورت مستقیم و غیر مستقیم از ایجاد و گسترش

References

- 1-Safarinejad MR. Level of injury and hormone profiles in spinal cord injury. Arch Phys Med Rehabil. 2001; 58:671-7.
- 2-Bracett NL, Santa-Cruz C, Lynne CM. Sperm from spinal cord injured men lose motility faster than sperm from normal men: The effect is exacerbated at body compared to room temperature. J Urol 1997; 157(6):2150-53.

2- Intracytoplasmic Sperm Injection

- 3-Bracett NL, David RC, Padron F, Lynne CM. Seminal plasma of spinal cord injured men inhibits sperm motility of normal men. *J Urol*. 1996;155(5):1632-35.
- 4-World health organization. Laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 4th ed. New York: Cambridge university press; 1999.
- 5-Hirsch IH, Jeyndran RS, Sedor J, Rosecrans RR. Biochemical analysis of electro ejaculates in spinal cord injured men: comparison to normal ejaculates. *J Urol*. 1991;145:73-76.
- 6-Lynne CM, Aballa TC, Wang TJ, Rittenhouse HG, Ferrell SM, Bracett NL. Serum and semen prostatic specific antigen concentrations are different in young spinal cord injured men compared to normal. *J Urol*. 1999; 162(1):89.
- 7-McVary KT, McKenna KE, Lee C. Prostatic innervation. *Prostate Supp*. 1998; 8:2-13.
- 8-Griveau JF, Renard P, Le Lannou D. Superoxide anion production by human spermatozoa as a part of the ionophore-induced acrosome reaction process. *Int J Androl*. 1995; 18(2):67-74.
- 9-De Lamirande E, Leduc BE, Iwasaki A, Hassouna M, Gagnon C. Increased reactive oxygen species formation in semen of patients with spinal cord injury. *Fertil Steril*. 1995; 63: 637-642.
- 10-Powell SR. The antioxidant properties of zinc. *J Nutr*. 2000; 33:143-150.
- 11-Gavella M, Lipovac V, Vucic M, Sverko V. In vitro inhibition of superoxide anion production and superoxide dismutase activity by zinc in human spermatozoa. *Int J Androl*. 1999;22:260-274.
- 12-Vernet P, Fulton N, Wallace C, Aitken RJ. Analysis of reactive oxygen species generating systems in rat epididymal spermatozoa. *Bio Rep*. 2001; 65:1102-13.
- 13-Nakurama Y, Matsumia K, Kitamura M, Nishimura K, Tsujimura A, Tukeyama A, et al. Analysis of limited fertility in intracytoplasmic sperm injection of sperm obtained by electroejaculation. *Rep Med Biol*. 2004;3:9-12.
- 14-Razavi S, Nasr-Esfahani MH, Mardani M, Mafi A, Moghdam A. Effect of human sperm chromatin anomalies on fertilization outcome post-ICSI. *Andrologia*. 2003; 35: 238-243.
- 15-Hammadeh ME, Al-Hasani S, Gauss C, Rosenbaum P, Georg T, Diedrich K, Schmidt W. Predictive value of chromatin decondensation in vitro on fertilization rate after ICSI. *Int J And*. 2001; 24: 311-316.
- 16-Kvist U, Kjellberg S, Bjorndahl L, Hammar M, Roomans GM. Sperm nuclear zinc and chromatin stability in fertile and men in barren unions. *Scan J urol Neph*. 1988;22:1-6.
- 17-Kvist U. Importance of spermatozoa zinc as temporary inhibitor of sperm nuclear chromatin decondensation ability in men. *Acta Phys Scand*. 1980; 109: 79-89.
- 18-Engl E, Clousen OP, Purvis K, Stien R. Sperm quality assessed by flow cytometry and accessory sex gland function in spinal cord injured men after repeated vibration-induced ejaculation. *Paraplegia*. 1993; 31: 3-12.