Effect of Carob (Ceratonia siliqua L.) oral supplementation on changes of semen parameters, oxidative stress, inflammatory biomarkers and reproductive hormones in infertile men

Mahdiani E., MSc[1], Khadem Haghighian H., PhD[2], Javadi M., PhD[3], Karami A.A., MD[4], Kavianpour M., PhD Student[5]

1. MSc, Department of Nutrition, School of Health, Qazvin University of Medical Science, Qazvin, Iran.
2.Assistant Professor, Department of Nutrition, School of Health, Qazvin University of Medical Science, Qazvin,Iran (Corresponding Author), Tel:+98-914-8375283, khademnut@yahoo.com
3.Associate Professor, Department of Nutrition, School of Health, Qazvin University of Medical Science, Qazvin, Iran.
4.Assistant Professor, Department of Urology, Velayat Hospital, School of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran
5.PhD student, Department of Tissue Engineering and Applied Cell Sciences, Faculty of Advanced Technologies in Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 19:21 +0330 on Wednesday October 14th 2020

ABSTRACT

Background and Aim: Reduction in sperm motility is one of the main causes of male infertility. The aim of this study was to investigate the effect of Carob supplementation on sperm parameters, inflammatory factors, oxidative stress indices and sex hormones in the men with idiopathic infertility.

Materials and Methods: This study was a randomized double-blind controlled clinical trial which included 60 men with asthenospermia. The patients were assigned to intervention and placebo groups (n =30). The intervention group received 1500 mg Carob / day (three 500 mg capsules), and the placebo group received three placebo capsules / day for 12 weeks. The parameters of sperm, total antioxidant capacity, malondialdehyde concentration, inflammatory markers and plasma sex hormones were measured at the beginning and at the end of the study. Statistical analysis was performed by SPSS software and independent sample t-test was used to compare the mean values of changes between the two groups. P-value of less than 0.05 was considered statistically significant.

Results: Differences in the changes in number, concentration and the percentage of motile sperms, total antioxidant capacity, concentration of MDA and plasma inflammatory markers were significant after the intervention ($p<0.05$). Changes in sex hormones were not significant in the two groups ($P>0.05$).

Conclusion: Increased concentration and motility of the sperm and decreased oxidative stress and inflammatory factors were observed in the intervention group. Use of plants with antioxidant capacity can be one of the ways to cope with oxidative damage to sperm in this group of infertile men.

Keywords: Carob, Asthenozoospermia, Oxidative stress, Inflammatory markers.

Received: Jan 20, 2018 **Accepted:** May 22, 2018

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان / دوره بیست و سوم / مرداد و شهریور ۱۳۹۷/ ۶۶-۵۶

اثرات مکمل خوراکی خرنوب بر تغییرات فراسنج های اسپرم، شاخص استرس اکسیداتیو، فاکتورهای التهابی و هورمونهای جنسی در مردان نابارور

الهام مهدیانی[۱]، حسین خادم حقیقیان[۲]، مریم جوادی[۳]، علی اکبر کرمی [۴]، ماریا کاویانپور[۵]

۱.کارشناسی ارشد، گروه علوم تغذیه، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

۲.استادیار، گروه علوم تغذیه، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران،تلفن ثابت : Email: khademnut@yahoo.com

۳.دانشیار، گروه علوم تغذیه، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

۴.استادیار، گروه جراحی، بیمارستان ولایت، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

۵.دانشجوی دکترا، گروه مهندسی بافت و علوم سلولی کاربردی، دانشکده فن آوری های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

چکیده

زمینه و هدف: کاهش تحرک اسپرم از عوامل اصلی ناباروری مردان می‌باشد. پژوهش حاضر با هدف بررسی اثر مکمل یاری دانه خرنوب بر تغییرات فراسنج های اسپرم، فاکتورهای التهابی، شاخصهای استرس اکسیداتیو و هورمونهای جنسی در مردان نابارور ایدیوپاتیک انجام گرفت.

روش بررسی: این مطالعه یک کارآزمایی بالینی تصادفی دو سوکور بود که ۶۰ مرد مبتلا به استنوسپرمی به یکی از دو گروه مداخله یا گروه دارونما (۳۰ نفر) تقسیم شدند. گروه مداخله به مدت ۱۲ هفته روزانه ۵۰۰ میلی گرم پودر خرنوب (سه کپسول ۵۰۰ میلی گرم) و گروه دارونما روزانه سه کپسول دارونما مصرف کردند. فراسنج های اسپرم، ظرفیت آنتی اکسیدانی تام، غلظت مالون دی آلدئید، فاکتورهای التهابی و هورمون های جنسی پلاسما در ابتدای و انتهای مطالعه تعیین شد. تجزیه و تحلیل آماری با نرم افزار SPSS انجام و آزمون Independent sample t test جهت مقایسه میانگین تغییرات بین دو گروه استفاده گردید. در این پژوهش مقدار P-value کمتر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: پس از انجام مداخله، تغییرات تعداد، غلظت و درصد کل اسپرم‌های متحرک، ظرفیت آنتی اکسیدانی تام و غلظت مالون دی آلدهید و فاکتورهای التهابی پلاسما در گروه مداخله معنی دار بود (P <۰/۰۵). تغییرات هورمونهای جنسی در دو گروه معنی دار نبود(P >۰/۰۵).

نتیجه گیری: افزایش غلظت و تحرک اسپرم و کاهش استرس اکسیداتیو و عوامل التهابی در گروه دریافت کننده خرنوب مشاهده گردید. دریافت گیاهان با ظرفیت آنتی اکسیدانی می‌تواند یکی از راه های مقابله با آسیب های اکسیداتیو اسپرم در این گروه از مردان نابارور باشد.

کلید واژه ها: خرنوب، آستنواسپرمی، استرس اکسیداتیو، فاکتورهای التهابی

وصول مقاله: ۹۶/۱۰/۳۰اصلاحیه نهایی:۹۷/۱/۶ پذیرش:۹۷/۳/۱

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 19:21 +0330 on Wednesday October 14th 2020

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 19:21 +0330 on Wednesday October 14th 2020

مقدمه

تولید مثل، که از اولویت‌های اصلی سازمان بهداشت جهانی است، اساس بقای انسان است. عوامل زیادی وجود دارند که می‌توانند پتانسیل تولید مثلی را کاهش و یا کاملاً از میان ببرند و سبب ناباروری شوند. ناباروری به عدم رخداد بارداری در یک زوج، پس از یک سال نزدیکی بدون استفاده از روشهای پیشگیری از بارداری اطلاق میشود (۱). حدود ۱۵-۱۰ درصد زوجها به این مشکلات مبتلا هستند که در ۴۰ درصد موارد، ناباروری مردان، علت اصلی و در ۲۰ درصد موارد هر دو عامل زنانه و مردانه مطرح است (۲). حدود یک چهارم زوجهای ایرانی، ناباروری اولیه را در طول زندگی مشترکشان تجربه می کنند (۳). یکی از دلایل ناباروری در مردان آستنوزواسپرمی با منشا نامشخص است. این وضعیت با کاهش حرکت اسپرم یا نبود حرکت اسپرم در مایع منی مشخص میشود (۴).

در سالهای اخیر تولید بیش از حد گونه های واکنش پذیر اکسیژن (ROS)[1] به وسیله لوکوسیت ها و نیز اسپرم های غیرطبیعی در مایع منی و به دنبال آن ایجاد استرس اکسیداتیو یکی از دلایل ناباروری در مردان مطرح گردیده است (۵). رادیکال های آزاد از مسیرهای مختلف متابولیکی در هر سلول هوازی ساخته می شوند اما منشا اصلی آنها در مایع سمینال مردان سلول های سفید و اسپرم های غیرطبیعی و نابالغ می باشند (۶). از آنجایی که آنتی اکسیدان ها نقش محوری در دفاع سلولها علیه رادیکالهای آزاد دارند، بنابراین احتمال می رود که کاهش فعالیت آنتی اکسیدان های سیستم فیزیولوژیکی بدن با کاهش کیفیت سلولهای اسپرم مرتبط باشد (۷). یافته های متعددی نشان می دهد که گونه های فعال اکسیژن می توانند پارامترهای متعدد اسپرم از جمله مرفولوژی و حرکت اسپرم ها را به شدت تحت تاثیر قرار دهند (۹و۸و۶).

امروزه با توجه به اثرات جانبی داروهای شیمیایی، مطالعه بر روی گیاهان با هدف رسیدن به ساختارهای جدید در اولویت قرار گرفته است. یکی از گیاهانی که حاوی آنتی اکسیدان می باشد، دانه خرنوب (Ceratonia siliqua L.) است (۱۰).

خرنوب دارای سطوح بالایی از کربوهیدرات (۷۵/۹۲٪)، پروتئین(۶/۳۴٪) و سطح پایینی از چربی (۱/۹۹٪) و شامل ۷/۳۰٪. فیبر خام می باشد. همچنین منبع غنی از آهن، کلسیم، سدیم، پتاسیم، فسفر و گوگرد و نیز ویتامینهای E، D، C، نیاسین، اسید فولیک و پیریدوکسین است. پودر خرنوب شامل ۱۱ ترکیب فنولی است، که پیروکالول، کاتکول و اسیدکلروژنیک را به مقدر زیاد و مقادیر کمی از سایر ترکیبات فنولی مثل کومارین، سینامیک، فرولیک و اسید گالیک را دارد. همچنین دارای ۱۷ اسیدهای چرب می باشد، عمدتا از چهار اسیدچرب شامل: اولئیک، لینولئیک، پالمتیک و اسید استئاریک است (۱۱).

در مطالعه مختاری و همکاران در سال ۲۰۱۲، اثرات احتمالی دانه خرنوب بر سطوح LH[2]، FSH[3]، تستوسترون وهورمون دی هیدروتستوسترون، بافت بیضه و همچنین بهبود باروری در موشهای صحرایی نر بررسی گردید. نتایج این مطالعه نشان داد که مصرف عصاره دانه خرنوب باعث افزایش قابل توجهی در غلظت تستوسترون و هورمون دی هیدروتستوسترون شده و سطح LH در گروه‌های تجربی کاهش یافته و غلظت FSH تغییرات قابل توجهی نشان نداد (۱۲). با توجه به عدم مطالعه انسانی در این زمینه، هدف مطالعه حاضر بررسی تاثیر مکمل دانه خرنوب بر تغییرات فراسنج های اسپرم، فاکتورهای التهابی، شاخصهای استرس اکسیداتیو و میزان هورمونهای جنسی در مردان نابارور ایدیوپاتیک بود.

[1] - Reactive Oxygen Species

[2] - Luteinizing hormone

[3] - Follicle-stimulating hormone

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 19:21 +0330 on Wednesday October 14th 2020

روش بررسی

این تحقیق به صورت کارآزمایی بالینی تصادفی، دوسوکور، کنترل با دارونما طراحی شده بود که بر روی مردان نابارور با علت ناشناخته انجام گردید. مردان آستنواسپرمی که برای درمان ناباروری به کلینیک فوق تخصصی بیمارستان ولایت شهر قزوین در سال ۱۳۹۵ مراجعه کننده به عنوان جامعه پژوهشی درنظر گرفته شد. تمایل به همکاری، گذشتن حداقل یک سال از زمان تصمیم برای فرزنددار شدن و عدم استفاده از وسایل پیشگیری کننده از بارداری، مردان ۴۵-۲۰ ساله و ابتلا به آستنو تراتوسپرمی با منشأ نامشخّص (ایدیوپاتیک) بر اساس معیارهای سازمان بهداشت جهانی (۱۳)، معیارهای ورود به مطالعه بودند. مردان نابارور با علت مشخص (مثل اختلالات هورمونی)، نابارور بودن زوجه، در صورت مصرف مواد مخدر و الکل، داشتن بیماری زمینه ای مثل دیابت، بیماری کلیوی (کراتینین بیش از دو برابر)، بیماری کبدی مزمن و مصرف مکمل های آنتی اکسیدانی در سه ماه گذشته وارد مطالعه نشدند. دو نمونه منی به فاصله یک ماه از مردان مراجعه کننده برای درمان ناباروری، گرفته شد. نمونه ها در حالت اجتناب سه روزه از آمیزش جنسی جمع آوری شد. برای تبدیل نمونه ها از شکل توده ای به حالت روان، سی دقیقه تا ۶۰ دقیقه اینکوبه صورت گرفت. برای ارزیابی پارامترهای اسپرم بر اساس استانداردهای سازمان بهداشت جهانی (۱۳)، ۲۰۰ میکرولیتر از نمونه مایع روان بررسی شد (۱۴). از آنالیز کامپیوتری مایع منی برای ارزیابی میزان تحرک اسپرم استفاده شد. همچنین آزمایش های میکروسکوپی جهت ارزیابی و تعیین فراسنج هایی چون غلظت اسپرم در هر میلی لیتر مایع منی، زنده بودن و بررسی مورفولوژی اسپرم ها انجام گردید. در صورتی که افراد دارای معیارهای ورود به مطالعه بودند، اهداف و روش انجام پژوهش برای آنها توضیح داده شد و سپس از کلیه افراد داوطلب برای انجام پژوهش، رضایت نامه کتبی گرفته شد. فرم جمع آوری اطلاعات در مورد ویژگی های عمومی بیماران تکمیل گردید. اندازه گیری وزن و نمایه توده بدنی برای بیماران انجام گرفت. همچنین در ابتدای مطالعه، ۱۰ سی سی خون به منظور اندازه گیری ظرفیت تام آنتی اکسیدانی، مالون دی آلدهید (MDA[1])، پروتئین واکنش گر C (CRP[2])، فاکتور نکروز کننده تومور (TNFα[3]) و هورمونهای جنسی از بیماران گرفته شد.

خرنوب تهیه شده پس از تایید توسط کارشناس گیاه پزشکی دانشگاه تبریز، در دانشکده داروسازی تبریز، به حالت پودر درآمده و داخل کپسول ریخته شد. کدگذاری بسته‌های حاوی کپسول ها، توسط فردی غیر از پژوهشگران به صورت الف و ب انجام گرفت و افراد داوطلب به صورت تصادفی در گروه مداخله و دارونما قرار گرفتند. بیماران به این صورت که به تعداد افراد شرکت کننده کارت هایی با برچسب الف و ب (به صورت مخلوط) وجود داشت، با بیرون آوردن کارت ها بیماران به دو گروه خرنوب و دارونما تقسیم شدند. در این مطالعه پژوهشگر و بیمار نسبت به گروه های مطالعه کور بودند.

گروه مداخله، روزانه ۱/۵ گرم پودر دانه خرنوب (به صورت سه کپسول ۵۰۰ میلی گرمی) و گروه دارونما کپسول پلاسبو که از لحاظ ظاهری، مشابه کپسول خرنوب بوده و حاوی لاکتوز بود، دریافت کردند. طول مدت این مطالعه ۱۲ هفته بود. انتخاب دوز تجویزی در مطالعه حاضر نیز بر اساس مطالعه پایلوتی بود که توسط محققان طرح صورت گرفته بود. این مطالعه پایلوت بر روی ده مرد نابارور آیدیوپاتیک به صورت بررسی مکمل یاری خرنوب بر روی فراسنج های اسپرم انجام شده بود. در انتهای مطالعه مجددا وزن بیماران اندازه گیری و نمایه توده بدنی آن ها محاسبه شد و همچنین از بیماران نمونه‌ی منی و سرم، گرفته شد. این پژوهش، در مرکز ثبت کارآزمایی های بالینی ایران با شماره IRCT2016072519669N2 ثبت شد.

[1]- Malondialdehyde
[2] - C-reactive protein
[3] - Tumor necrosis factor alpha

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 19:21 +0330 on Wednesday October 14th 2020

ظرفیت تام آنتی اکسیدانی، با روش رنگ سنجی (Cayman, Catalog No: 709001) و غلظت مالون دی آلدئید با استفاده از روش رنگ سنجی اسید تیوباربیتوریک (TBA: Thiobarbituric Acid) اندازه گیری شد. ابزار کار در این بررسی کیت ELISA تومور نکروزیس فاکتور آلفای انسانی، تولید شرکت Biosource آمریکا می باشد. در این مطالعه، به منظور اندازه گیری سطح سرمی CRP از روش ایمونوتوربیدیمتریک و کیت تشخیص کمی CRP (شرکت پارس آزمون، کرج، ایران) استفاده گردید. هورمون LH و FSH به روش االیزا و با کیت E12654r-CSB ساخت شرکت CUSABIO ژاپن اندازه گیری شد. سطوح تستوسترون و پرولاکتین سرم به ترتیب با استفاده از کیت های اندازه گیری هورمون الایزا (تهیه شده از شرکت DRG Instruments GmbH آلمان با حساسیت سنجش هورمونی ۰/۰۸۳ (نانوگرم در میلی لیتر)) و RIA (رادیوایمونو اسی) (تهیه شده از شرکت Padyab Teb Diagnostic ایران با حساسیت سنجش هورمونی ۰/۰۹) اندازه گیری شد.

در این مطالعه، کلیه داده ها به صورت میانگین (±) انحراف معیار) و فراوانی (درصد) به ترتیب برای متغیرهای کمی و کیفی نشان داده شد. در ابتدا، نرمال بودن توزیع داده ها با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov ارزیابی شد. جهت مقایسه میانگین تغییرات متغیرهای کمی بین دو گروه از آزمون Independent sample t test استفاده شد. در این پژوهش مقدار P-value کمتر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد. تجزیه و تحلیل آماری داده ها با استفاده از نرم افزار (SPSS: Statistical Package for the Social Sciences) نسخه‌ی ۱۶ انجام شد.

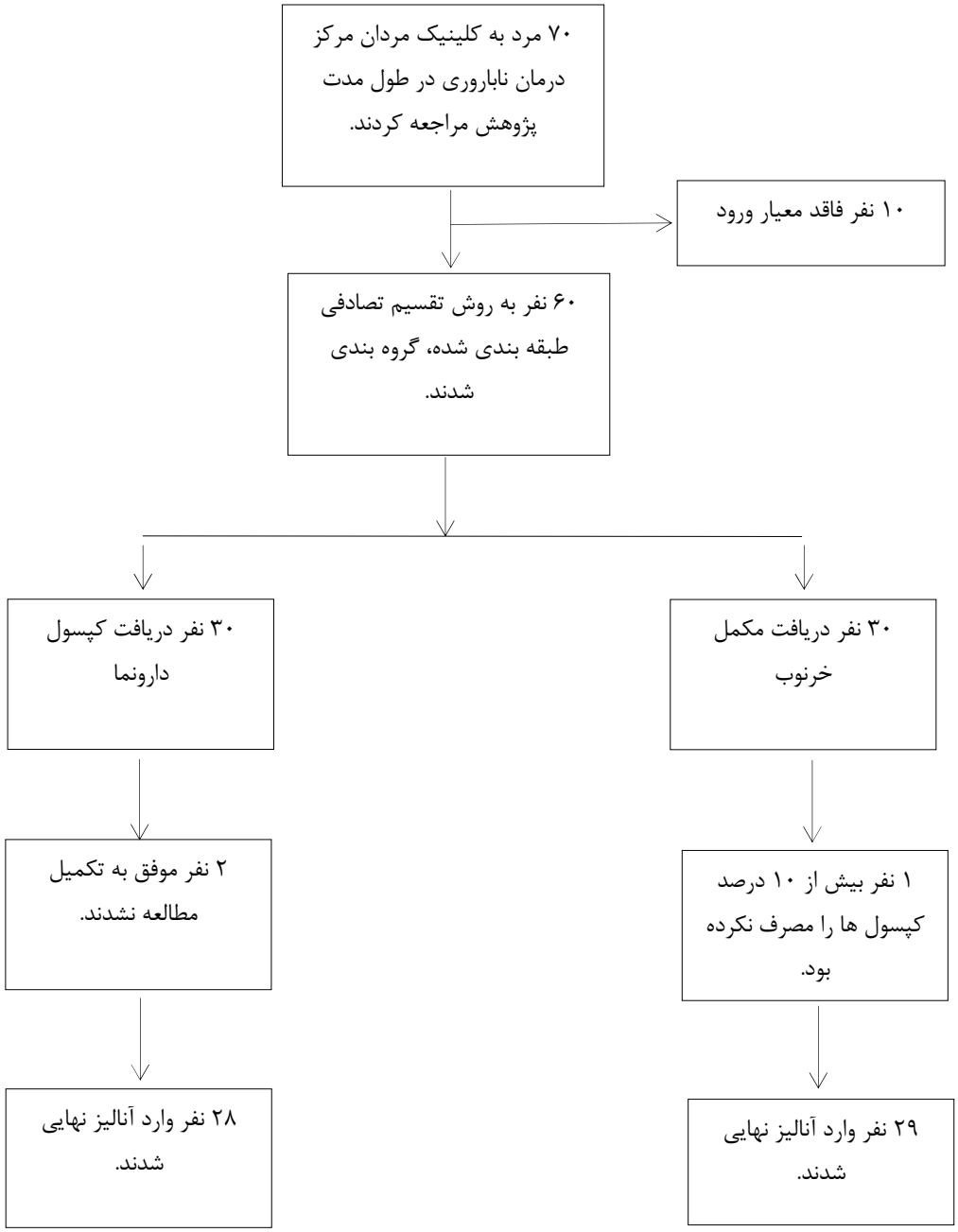
(Colorimetric Assay) با استفاده از کیت شرکت

یافته ها

از بین ۷۰ مرد مراجعه کننده به کلینیک فوق تخصصی، در مجموع ۶۰ مرد آستنواسپرم وارد پژوهش شده و به دو گروه مکمل و دارونما (n =۳۰) تقسیم شدند. از این تعداد ۵۷ نفر که شامل ۲۹ نفر در گروه مکمل و ۲۸ نفر در گروه دارونما بودند، دوره مطالعه را تکمیل کردند و ۳ نفر از مطالعه خارج شدند (شکل ۱). ویژگی‌های عمومی افراد شرکت کننده در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. از نظر توزیع سن، میزان تحصیلات، کشیدن سیگار و مدت زمان ابتلا به ناباروری بین گروه مداخله و گروه پلاسبو در ابتدای پژوهش تفاوت معنی داری وجود نداشت (۰/۰۵ <P). همچنین در ابتدا و انتهای مطالعه، اختلاف آماری معنی داری در هیچ یک از خصوصیات تن سنجی بیماران، بین دو گروه مشاهده نشد. (جدول ۲) (۰/۰۵<P).

با توجه به نتایج مطالعه، پس از انجام مداخله، تغییرات در تعداد اسپرم ها، غلظت اسپرم ها، درصد کل اسپرم‌های متحرک شامل حرکت پیشرونده‌ی اسپرم (اسپرم های متحرک درجه‌ی a+b)، درصد اسپرم های متحرک با درجه‌ی a و درصد اسپرم های متحرک با درجه‌ی b در گروه دریافت کننده‌ی خرنوب در مقایسه با گروه دارونما، معنی دار بود (جدول ۳) (۰/۰۵> P). تغییرات در گروه دریافت کننده‌ی خرنوب، پس از انجام مداخله به صورت افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی تام پلاسما و کاهش در غلظت مالون دی آلدئید و فاکتورهای التهابی CRP و TNF آلفا معنی دار بود (جدول ۴) (۰/۰۵> P). همچنین نتایج مطالعه نشان داد که تغییرات در هورمونهای جنسی در انتهای مطالعه معنی دار نبود. (جدول ۵) (۰/۰۵< P).

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 19:21 +0330 on Wednesday October 14th 2020



شکل۱- فلوچارت پژوهش و نحوه‌ی تخصیص نمونه ها به گروه دریافت کننده‌ی خرنوب و گروه دریافت کننده‌ی دارونما

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 19:21 +0330 on Wednesday October 14th 2020

جدول۱ ویژگی های عمومی مردان آستنواسپرم شرکت کننده به تفکیک دو گروه دریافت کننده‌ی خرنوب و گروه دریافت کننده‌ی دارونما پیش از مداخله

متغیرها		خرنوب (n =۲۹)	دارونما (n =۲۸)	P-value
سن (سال) (میانگین ± انحراف معیار)		۳۱/۰۸± ۴/۱۱	۳۰± ۳/۹۶	*۰/۴۹۷
مدت زمان ناباروری (سال) (میانگین ± انحراف معیار)		۳/۸۴±۱/۰۲	۳/۷۱± ۰/۹۹	*۰/۴
میزان تحصیلات [تعداد/ (درصد)]	زیردیپلم	۱۱ (۳۷/۹۳)	۸ (۲۸/۵۷)	۰/۷۳۱
	دیپلم	۱۲ (۴۱/۳۷)	۱۳ (۴۶/۴۲)	**
	دانشگاه	۶ (۷۹/۳۱)	۷ (۲۵)	
سیگارکشیدن [تعداد/ (درصد)]	بله	۱۰ (۳۴/۴۸)	۹ (۳۲/۱۴)	**۰/۹
	خیر	۱۹ (۶۵/۵۱)	۱۹ (۶۷/۸۵)	

*بر اساس آزمون آماری Independent samples t test

**براساس آزمون آماری Chi-squared test

جدول ۲ میانگین و انحراف معیار شاخص های تن سنجی در دو گروه دریافت کننده‌ی خرنوب و گروه دریافت کننده‌ی دارونما در ابتدا و انتهای پژوهش و مقایسه بین گروه ها

متغیر		خرنوب (n =۲۹) (میانگین ± انحراف معیار)	دارونما (n =۲۸) (میانگین ± انحراف معیار)	* P-value
وزن (کیلوگرم)	ابتدای مطالعه	۸۶/۳۴±۹/۳۴	۸۴/۸۶±۹/۰۱	۰/۴۹۶
	انتهای مطالعه	۸۶/۷۴±۱۰/۴۶	۸۵/۷۶±۱۰/۰۹	۰/۸۵۴
نمایه توده بدنی (کیلوگرم/متر مربع)	ابتدای مطالعه	۲۷/۴۷±۲/۸۳	۲۶/۵۲±۲/۷۳	۰/۲۷۶
	انتهای مطالعه	۲۷/۶۰±۳/۱۷	۲۶/۶۵±۳/۰۶	۰/۲۳۵

*بر اساس آزمون آماری Independent samples t test

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 19:21 +0330 on Wednesday October 14th 2020

جدول ۳. میانگین و انحراف معیار تغییرات فراسنج های اسپرم در ابتدا و انتهای مطالعه در دو گروه دریافت کننده‌ی خرنوب و گروه دریافت کننده‌ی دارونما پس از پژوهش

متغیر	خرنوب (n =۲۹) (میانگین ± انحراف معیار)	دارونما (n =۲۸) (میانگین ± انحراف معیار)	P-value *
حجم انزال(mL)	۰/۲±۰/۰۱-	۰/۲۱±۰/۰۱-	۰/۶۰۷
تعدادکل اسپرم ($\times 10^6$)	۱۲/۵۱±۴/۸۸	۰/۸۶±۰/۴۲	<۰/۰۰۱
غلظت اسپرم ($\times 10^6$/mL)	۳/۷۱±۲/۹	۱/۷±۰/۲۳	۰/۰۱
اسپرم های متحرک با درجه a (٪)	۳/۳۲±۲/۳۸	۰/۱۸±۰/۰۷	<۰/۰۰۱
اسپرم های متحرک با درجه b (٪)	۲/۲۳±۱/۳۵	۰/۲۴±۰/۰۹-	۰/۰۱۲
اسپرم های متحرک با درجه c (٪)	۱/۰۳±۰/۴	۰/۶۷±۰/۱۴	۰/۲۱۴
اسپرم های متحرک با درجه d (٪)	۵/۴۳±۱/۰۲-	۰/۲۹±۰/۲۶	۰/۰۲۷
اسپرم های متحرک با درجه a+b (٪)	۵/۵۵±۱/۷۸	۰/۹۴±۰/۱۱-	۰/۰۱
اسپرم های متحرک با درجه a+b+c (٪)	۵/۴±۱/۰۲	۰/۷۳±۰/۷۵	۰/۰۱۹
اسپرم های با مورفولوژی طبیعی (٪)	۰/۱۹±۰/۰۱	۰/۱۵±۰/۰۵-	۰/۱۱
اسپرم های زنده (٪)	۰/۱۲±۰/۰۲	۰/۶۹±۰/۰۶-	۰/۰۹۸

* مقایسه میانگین تغییرات فراسنج های اسپرم بین دو گروه دریافت کننده مکمل خرنوب و دارونما (آزمون آماری Independent samples t-test).

جدول ۴ میانگین و انحراف معیار تغییرات متغیرهای استرس اکسیداتیو و فاکتورهای التهابی پلاسما در ابتدا و انتهای مطالعه در دو گروه دریافت کننده‌ی خرنوب و گروه دریافت کننده‌ی دارونما پس از پژوهش

متغیر	خرنوب (n =۲۹) (میانگین ± انحراف معیار)	دارونما (n =۲۸) (میانگین ± انحراف معیار)	P-value *
ظرفیت آنتی اکسیدانی تام پلاسما (mM)	۰/۷۴±۰/۰۲	۰/۰۰۱±۰/۰۱-	۰/۰۰۱
مالون دی آلدئید پلاسما (μM)	۰/۲۳±۰/۰۱-	۰/۰۰۲±۰/۰۳	۰/۰۴۱
$\frac{IL1}{CRI}$ (μM)	۱/۶۷±۰/۵۷-	۰/۰۳±۰/۱-	۰/۰۳۹
$\frac{TNF\alpha}{NF}$ (μM)	۲/۳۷±۰/۵۶-	۰/۱۳±۰/۱۲-	۰/۰۴۴

*: مقایسه میانگین تغییرات متغیرهای استرس اکسیداتیو و فاکتورهای التهابی پلاسما بین دو گروه دریافت کننده خرنوب و دارونما (آزمون آماری Independent samples t-test)

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 19:21 +0330 on Wednesday October 14th 2020

جدول ۵ میانگین و انحراف معیار تغییرات هورمونهای جنسی در ابتدا و انتهای مطالعه در دو گروه دریافت کننده‌ی خرنوب و گروه دریافت کننده‌ی دارونما پس از پژوهش

متغیر	خرنوب (n =۲۹) (میانگین ± انحراف معیار)	دارونما (n =۲۸) (میانگین ± انحراف معیار)	P-value *
تستسترون (نانوگرم بر میلی لیتر)	۲/۰۱±۰/۳۶	۰/۸±۰/۰۱	۰/۸۰۱
FSH (نانوگرم بر میلی لیتر)	-۰/۷۵±۰/۳	۰/۰۶±۰/۰۲	۰/۱۹۲
LH (نانوگرم بر میلی لیتر)	-۰/۷±۰/۱۴	-۰/۰۲±۰/۰۱	۰/۳۱۲
پرولاکتین (نانوگرم بر میلی لیتر)	-۶/۷۳±۰/۱۶	۱/۱۵±۲/۲۴	۰/۱۱۳

*مقایسه میانگین تغییرات هورمونهای جنسی در دو گروه دریافت کننده‌ی خرنوب و دارونما (آزمون آماری Independent samples t-test).

بحث

طبق نتایج مطالعات انجام گرفته، در طول دهه های گذشته کیفیت اسپرم کاهش یافته است (۱۵). ریزمغذی های مختلفی در متابولیسم اسپرم نقش دارند (۱۷و۱۶). محتوای بالای اسیدهای چرب غیر اشباع در غشای پلاسمایی اسپرم را دلیل حساس بودن بالای اسپرم نسبت به ROS می دانند (۱۸). اسپرم ها توسط پراکسیداسیون لیپید غیر فعال می شوند که همراه با تغییر در عملکرد غشا، تغییر در متابولیسم و مورفولوژی و تحرک و باروری است. هم اسپرم و هم مایع سمینال حاوی آنتی اکسیدانهایی هستند که قادر به مقابله با اثرات مضر ROS هستند مطالعات نشان داده اند که مردان نابارور به احتمال زیاد نسبت به مردان بارور دارای ظرفیت آنتی اکسیدانی پایین هستند (۱۹).

در مطالعه ما تغییرات میانگین تعداد اسپرم ها، غلظت اسپرم ها، درصد کل اسپرم‌های متحرک شامل حرکت پیشرونده‌ی اسپرم (اسپرم های متحرک درجه‌ی a+b)، درصد اسپرم های متحرک با درجه‌ی a و درصد اسپرم های متحرک با درجه‌ی b در گروه دریافت کننده‌ی خرنوب در مقایسه با گروه دارونما، معنی دار بود، که همسو با مطالعات انجام گرفته توسط Hadwan و همکاران در سال ۲۰۱۴ (۱۹) و Elsheikh MG و همکاران در سال ۲۰۱۵ (۲۰) و Abad C در سال ۲۰۱۳ (۲۱) بود که نشان داد آنتی اکسیدان ها باعث بهبود کیفیت اسپرم شده بود.

افزایش در قدرت تحرکت اسپرم ها در نتیجه مصرف هم زمان ویتامین E و سلنیوم در مردان نابارور در مطالعه دیگری گزارش شده است(۲۲). اما در مطالعه Greco E در سال ۲۰۰۵ درمان با دو آنتی اکسیدان ویتامین C و ویتامین E تفاوت معنی‌داری در قبل و بعد از درمان دیده نشد، اما اطلاعات این مطالعه نشان میدهد که تجویز آنتی اکسیدان میتواند از آسیبهای وارد بر DNA اسپرم در طی مدت زمان کوتاه موثر باشد (۲۳). در مطالعه Omu A و همکاران در سال ۲۰۰۸ با تجویز هم زمان روی و ویتامین های E و C در مردان استنواسپرماتیک باعث کاهش استرس اکسیداتیو، آپوپتوز اسپرم‌ها و شاخص قطعه قطعه شدن DNA گردید (۲۴). در مطالعه ما در گروه دریافت کننده‌ی خرنوب، پس از انجام مداخله تغییرات میانگین ظرفیت آنتی اکسیدانی تام و غلظت مالون دی آلدئید پلاسما در مقایسه با گروه دارونما، معنی دار بود.

محققان درصدد برآمدند که با استفاده از آنتی اکسیدانها بتوانند از کاهش تحرک، افزایش مرگ و میر و آسیب DNA توسط شرایط استرس اکسیداتیو در افراد و نابارور جلوگیری کنند. در مطالعه ای که توسط Verma و

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 19:21 +0330 on Wednesday October 14th 2020

همکاران در سال ۱۹۹۹ انجام شد اثر حفاظتی غلظتهای 1 و2 α mmol/L–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 – αتوکوفرول به صورت وابسته به دوز و زمان می تواند کاهش تحرک، کاهش بقا و افزایش مالون دی آلدهید (محصول نهایی پراکسیداسیون لیپید) را در اسپرمهای طبیعی برطرف کند (۲۵).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مکمل خرنوب باعث کاهش فاکتورهای التهابی CRP و TNF آلفا بعد از دوازده هفته گردید. التهاب باعث کاهش قدرت دفاع آنتی اکسیدانی بدن میگردد (۲۶). در مطالعات مختلف گزارش شده که دریافت آنتی اکسیدان به صورت مکمل باعث کاهش فاکتورهای التهابی میگردد (۲۹-۲۷). مطالعه ای که توسط Block و همکارانش انجام شد، نشان داد که مصرف مکمل ویتامین C سبب باعث‌کاهش معنی دار سطح CRP می‌شود (۳۰). در مطالعاتی که روی موش‌های مبتلا به استرس اکسیداتیو القا شده صورت گرفته، تجویز آنتی اکسیدان ها مثل رزوراترول، ویتامین E، سلنیوم و بتاکاروتن باعث کاهش MDA و TNF-α شده اند (۳۲ و۳۱). خرنوب به دلیل داشتن پلی فنول ها به عنوان آنتی اکسیدانهای قوی، میتواند به عنوان یک مکمل درمانی محتمل در پیشگیری و درمان التهاب مزمن باشد.

بر اساس نتایج مطالعه حاضر تغییرات در هورمون تستسترون بعد از مصرف مکمل خرنوب مثبت بود ولی این تغییرات معنی دار نبود. همچنن تغییر در سایر هورمونهای جنسی در این مطالعه معنی دار نبود. در تنها مطالعه ای که بر روی موشها انجام شده و به برسی تاثیر دریافت خرنوب بر هورمونهای جنسی پرداخته اند، مصرف عصاره دانه خرنوب در موشهای نر باعث افزایش قابل توجهی در غلظت تستوسترون، هورمون دی هیدروتستوسترون و کاهش سطح LH شده است (۱۲). به نظر میرسد که افزایش سطوح تستوسترون توسط خرنوب به علت اثر مستقیم آن بر سلولهای لایدیگ و در بیوسنتز تستوسترون باشد (۳۳). این اثرات احتمالا از طریق تحریک سنتز PGE2 انجام میشوند. علاوه بر این، دانه خرنوب حاوی اسیدهای gammalinolenic و آلفا لینولنیک اسید که می تواند به dihomogamma لینولنیک اسید تبدیل و به PGE2تبدیل گردد (۳۴) که در نهایت باعث افزایش تولید آدنوزین منوفسفات حلقوی (CAMP) و باعث تحریک تولید تستوسترون گردند (۱۲).

نتیجه گیری

افزایش غلظت و تحرک اسپرم و کاهش استرس اکسیداتیو و عوامل التهابی در گروه دریافت کننده خرنوب مشاهده گردید. دریافت گیاهان با ظرفیت آنتی اکسیدانی می‌تواند یکی از راه های مقابله با آسیب های اکسیداتیو اسپرم در این گروه از مردان نابارور باشد. بدیهی است که برای مشخص کردن ارتباط بالینی داده‌ها، مطالعات بیشتری با حجم نمونه و طول مدت زمان مکمل یاری بیشتری نیاز است. علاوه بر این، محدودیت‌های ناشی از کم بودن بودجه، قادر به اندازه گیری رادیکال های آزاد و آنتی اکسیدان های آندوژن شبیه گلوتاتیون و سلنیم در افراد شرکت کننده نبودیم. انجام مطالعه‌ای با تعداد نمونه های بیشتر و دوزهای متفاوت و تعیین اثربخشی ماکزیمم دوزها پیشنهاد میگردد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق حاصل بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد رشته تغذیه مر بوط به خانم الهام مهدیانی می باشد که در تاریخ ۹۵/۰۴/۲۱ در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی قزوین با کد IR.QUMS.REC.1395.42 به تصویب رسید. از معاونت محترم تحقیقات و فن آوری دانشگاه علوم پزشکی قزوین به عنوان حمایت کننده مالی تقدیر و تشکر به عمل می اید.

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 19:21 +0330 on Wednesday October 14th 2020

References

1. Barratt CL, Björndahl L, De Jonge CJ, Lamb DJ, Osorio Martini F, McLachlan R, et al. The diagnosis of male infertility: an analysis of the evidence to support the development of global WHO guidance—challenges and future research opportunities. Hum Reprod Update 2017; 23: 660-80.
2. Jodar M, Soler-Ventura A, Oliva R. Semen proteomics and male infertility. J Proteomics 2017; 162: 125-34.
3. Vahidi S, Ardalan A, Mohammad K. Prevalence of primary infertility in the Islamic Republic of Iran in 2004-2005. Asia Pac J Public Health 2009; 21: 287-93.
4. Castillo J, Estanyol JM, Ballescà JL, Oliva R. Human sperm chromatin epigenetic potential: genomics, proteomics, and male infertility. Asian J Androl 2015; 17: 601.
5. Rowe PJ, Comhaire FH. WHO manual for the standardized investigation and diagnosis of the infertile male: Cambridge University Press, 2000.
6. Agarwal A, Saleh RA. Role of oxidants in male infertility: rationale, significance, and treatment. Urol Clin North Am 2002; 29: 817-27.
7. Soleimanzadeh A, Malekifard F, Kabirian A. Protective effects of hydro-alcoholic garlic extract on spermatogenic disorders in streptozotocin-induced diabetic C57BL/6 mice. SJKU 2017; 22: 8-17. [In Persian]
8. Agarwal A, Prabakaran SA. Mechanism, measurement and prevention of oxidative stress in male reproductive physiology. Indian J Exp Biol 2005; 43: 963.
9. O'Flaherty C, de Lamirande E, Gagnon C. Positive role of reactive oxygen species in mammalian sperm capacitation: triggering and modulation of phosphorylation events. Free Radic Biol Med 2006; 41: 528-40.
10. Custodio L, Fernandes E, Escapa A, López-Avilés S, Fajardo A, Aligue R, et al. Antiproliferative and apoptotic activities of extracts from carob tree (Ceratonia siliqua L.) in MDA-MB-231 human breast cancer cells. Planta Med 2008; 74: PA48.
11. Youssef MKE, El-Manfaloty MM, Ali HM. Assessment of proximate chemical composition, nutritional status, fatty acid composition and phenolic compounds of carob (Ceratonia siliqua L.). Food Public Health 2013; 3: 304-8.
12. Mokhtari M, Sharifi E, Sh A. The effects of hydro alcoholic extract of Ceratonia siliqua L. seeds on pituitary--testis hormones and spermatogenesis in rat. Advances in Environmental Biology 2012; 2012: 2778-84.
13. Garolla A, Maiorino M, Roverato A, Roveri A, Ursini F, Foresta C. Oral carnitine supplementation increases sperm motility in asthenozoospermic men with normal sperm phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase levels. Fertil Steril 2005; 83: 355-61.
14. Künzle R, Mueller MD, Hänggi W, Birkhäuser MH, Drescher H, Bersinger NA. Semen quality of male smokers and nonsmokers in infertile couples. Fertil Steril 2003; 79: 287-91.
15. Sharma RK, Pasqualotto FF, Nelson DR, Thomas Jr AJ, Agarwal A. The reactive oxygen species—total antioxidant capacity score is a new measure of oxidative stress to predict male infertility. Hum Reprod Update 1999; 14: 2801-7.
16. Dattilo M, Cornet D, Amar E, Cohen M, Menezo Y. The importance of the one carbon cycle nutritional support in human male fertility: a preliminary clinical report. Reprod Biol Endocrinol 2014; 12: 71.
17. Haghighian HK, Haidari F, Mohammadi-asl J, Dadfar M. Randomized, triple-blind, placebo-controlled clinical trial examining the effects of alpha-lipoic acid supplement on the spermatogram and seminal oxidative stress in infertile men. Fertil Steril 2015; 104: 318-24.
18. Mohammadi S, Movahedin M, Mowla SJ. The effects of Selenium on changes in sperm antioxidant capacity in old and adult rats. SJKU 2009; 14: 84-91. [In Persian]

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 19:21 +0330 on Wednesday October 14th 2020

19. Alsalman A, Almashhedy LA, Hadwan MH. Zinc supplementation attenuates lipid peroxidation and increases antiperoxidant activity in seminal plasma of Iraqi asthenospermic men. Life Sci J 2013; 10: 989-97.
20. ElSheikh M, Hosny M, Elshenoufy A, Elghamrawi H, Fayad A, Abdelrahman S. Combination of vitamin E and clomiphene citrate in treating patients with idiopathic oligoasthenozoospermia: A prospective, randomized trial. Andrology 2015; 3: 864-7.
21. Abad C, Amengual M, Gosálvez J, Coward K, Hannaoui N, Benet J ,et al. Effects of oral antioxidant treatment upon the dynamics of human sperm DNA fragmentation and subpopulations of sperm with highly degraded DNA. Andrologia 2013;45: 211-6.
22. Keskes-Ammar L, Feki-Chakroun N, Rebai T, Sahnoun Z, Ghozzi 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: 83-94.
23. 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; 26: 349-53.
24. Omu A, Al-Azemi M, Kehinde E, Anim J, Oriowo M, Mathew T. Indications of the mechanisms involved in improved sperm parameters by zinc therapy. Med Princ Pract 2008; 17: 108-16.
25. Verma A, Kanwar K. Effect of vitamin E on human sperm motility and lipid peroxidation in vitro. Asian J Androl 1999; 1: 151-4.
26. Jelic S, Padeletti M, Kawut SM, Higgins C, Canfield SM, Onat D, et al. Inflammation, oxidative stress, and repair capacity of the vascular endothelium in obstructive sleep apnea. Circulation 2008; 117: 2270-8.
27. Teixeira-Lemos E, Nunes S, Teixeira F, Reis F. Regular physical exercise training assists in preventing type 2 diabetes development: focus on its antioxidant and anti-inflammatory properties. Cardiovasc Diabetol 2011; 10: 1.
28. Sánchez-Moreno C, Dashe JF, Scott T, Thaler D, Folstein MF, Martin A. Decreased levels of plasma vitamin C and increased concentrations of inflammatory and oxidative stress markers after stroke. Stroke 2004; 35: 163-8.
29. Alizadeh F, Javadi M, Karami AA, Gholaminejad F, Kavianpour M, Haghighian HK. Curcumin nanomicelle improves semen parameters, oxidative stress, inflammatory biomarkers, and reproductive hormones in infertile men: A randomized clinical trial. Phytother Res 2018; 32: 514-21.
30. Block G, Jensen CD, Dalvi TB, Norkus EP, Hudes M, Crawford PB, et al. Vitamin C treatment reduces elevated C-reactive protein. Free Radic Biol Med 2009; 46: 70-7.
31. Shargorodsky M, Debby O, Matas Z, Zimlichman R. Effect of long-term treatment with antioxidants (vitamin C, vitamin E, coenzyme Q10 and selenium) on arterial compliance, humoral factors and inflammatory markers in patients with multiple cardiovascular risk factors. Nutr Metab Insights 2010; 7: 1.
32. Shishehbor MH, Brennan M-L, Aviles RJ, Fu X, Penn MS, Sprecher DL, et al. Statins promote potent systemic antioxidant effects through specific inflammatory pathways. Circulation 2003; 108: 426-31.33.
Makris DP, Kefalas P. Carob pods (Ceratonia siliqua L.) as a source of polyphenolic antioxidants. Food Technol Biotechnol 2004; 42: 105-8.
34. Mobli M, Qaraaty M, Amin G, Haririan I, Hajimahmoodi M, Rahimi R. Scientific evaluation of medicinal plants used for the treatment of abnormal uterine bleeding by Avicenna. Arch Gynecol Obstet 2015; 292: 21-35.