وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة القادسية
كلية التربية / علوم الحياة

دراسة بعض معايير البلازما المنوية للمرضى الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم

اطروحة قدمها الى عمادة كلية التربية ــ جامعة القادسية
وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الدكتوراه
فلسفة في علوم الحياة / علم الحيوان

الطالب / وليد عبد علي حسن الخفاف
ماجستير علوم حياة / جامعة الكوفة ٢٠١٤

اشراف
أ. د / جبار عباس احمد الساعدي

شعبان/ 1439هـ

نيسان/ 2018 م

بسم الله الرحمن الرحيم

﴿ لِلَّهِ مُلْكُ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ يَخْلُقُ مَا يَشَاءُ يَهَبُ لِمَنْ يَشَاءُ إِنَاثًا وَيَهَبُ لِمَنْ يَشَاءُ الذُّكُورَ (٤٩) أَوْ يُزَوِّجُهُمْ ذُكْرَانًا وَإِنَاثًا وَيَجْعَلُ مَنْ يَشَاءُ عَقِيمًا إِنَّهُ عَلِيمٌ قَدِيرٌ (٥٠)﴾

صدق الله العلي العظيم

الشورى (٤٩–٥٠)

اقرار المشرف

اشهد أن أعداد هذه الاطروحة الموسومة (**دراسة بعض معايير البلازما المنوية للمرضى الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم**) قد جرى تحت أشرافي في كلية التربية / جامعة القادسية ، وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الدكتوراه فلسفة في علوم الحياة / علم الحيوان .

التوقيع :
الاســم : د . جبار عباس احمد الساعدي
المرتبة العلمية : استاذ
العنوان : كلية الطب البيطري / جامعة القادسية
التاريخ : / / ٢٠١٨

إقرار رئيس لجنة الدراسات العليا

بناءاً على التوصيات المقدمة من قبل المشرف ، ارشح هذه الاطروحة للمناقشة

التوقيع :
الاســم : د . احمد جاسم حسن النائلي
المرتبة العلمية : استاذ مساعد
العنوان : جامعة القادسية / كلية التربية / قسم علوم الحياة
التاريخ : / / ٢٠١٨

اقرار المقوم اللغوي

اشهد أن هذه الاطروحة الموسومة بـ (**دراسة بعض معايير البلازما المنوية للمرضى الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم**) قد تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ما ورد فيها من اخطاء لغوية وتعبيرية وبذلك اصبحت الاطروحة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الامر بسلامة الاسلوب وصحة التعبير .

التوقيع :
الاســم :
المرتبة العلمية :
العنوان :
التاريخ : / / ٢٠١٨

الاهداء

الى من اذهب الله عنهم الرجس وطهرهم تطهيرا ..... محمد واله الطيبين الطاهرين

الى..... سيدي ومولاي صاحب العصر والزمان (عجل الله فرجه الشريف)

الى ..... ارواح شهداء بلدي ولاسيما شهداء الجيش والحشد الشعبي المقدس

الى ..... من كلله الله بالهيبة والوقار ، الى من علمني العطاء بدون انتظار ، الى من علمني النجاح والصبر وحب العلم ، الى من احمل اسمه بكل افتخار ، الى من تبقى كلماته نجوم اهتدي بها اليوم وفي الغد والى الابد .... والدي الحبيب العزيز

الى ..... ملاكي في الحياة ، الى معنى الحب والى معنى الحنان والتفاني ، الى بسمة الحياة وسر وجودي ، الى من كان دعائها سر نجاحي وحنانها بلسم جراحي ، الى اغلى الحبايب .... أمي الحبيبة العزيزة

الى ..... من سارت معي نحو الحلم ... خطوة بخطوة بذرناه معاً وحصدناها معاً وسنبقى معاً بأذن الله ... زوجتي العزيزة

الى ..... من كانوا يضيئون لي الطريق ويساندوني ويتنازلون عن حقوقهم لإرضائي والعيش في هناءٍ ، الى من شجعوني وسهلوا لي طريق العلم .... أخي واخواتي الاعزاء

الى ..... الوجوه المفعمة بالبراءة ، الى من هم اقرب اليَّ من روحي ، الى القلوب الطاهرة الرقيقة ، الى رياحين حياتي ... أبنائي : احمد ، فاطمة ، أماني

وليد

بسم الله الرحمن الرحيم

شكروعرفان

أشكر من يعجز الخلق عن شكره وتطمئن القلوب بذكره سبحانه وتعالى على ما هدانا اليه مسدد خطانا نحوه ، والحمد لله والصلاة والسلام على رسوله الكريم محمد بن عبد الله وال بيته الطيبين الطاهرين وصحبه المنتجبين .

يطيب لي ويسرني وانا على مشارف انهاء دراستي هذه ان اقدم خالص شكري وعرفاني واعتزازي الى مشرفي الاستاذ الدكتور جبار عباس احمد الساعدي لاقتراحه موضوع البحث ومتابعة خطواته والاشراف العلمي الملتزم في مراحله أجمع ، كما اقدم الشكر الجزيل والثناء الى اخي وزميلي الاستاذ الدكتور صاحب يحيى المرشدي لما ابدى لي من توجيهات ونصائح سديدة ومهمة ومساعدته لي في تقديم الارشادات العلمية المستمرة في اطروحتي هذه .

كما اقدم الشكر الجزيل والاحترام الى عمادة كلية التربية ورئاسة قسم علوم الحياة متمثلة بالأستاذ المساعد الدكتور احمد جاسم النائلي لما ابداه لي من مساعدة لانجاز أطروحتي هذه ، وكذلك شكري الجزيل وامتناني الى اساتذتي في قسم علوم الحياة في كلية التربية لما قدموه لي من مساعدة علمية ومعنوية ومن دواعي سروري ومن الوفاء ان اقدم شكري الى منتسبي مركز العقم والخصوبة في مدينة الصدر الطبية / محافظة النجف الاشرف ، وكذلك شكري وتقديري الى العاملين جميعهم في مكتبة الكلية والمكتبة المركزية للجامعة لما ابدوه لي من مساعدات مستمرة طوال مدة البحث والدراسة .

((والله ولي التوفيق))

وليد

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية الى تقييم العلاقة بين تركيز الفركتوز وبعض المؤكسدات ومضاداتها ومعايير النطف والمني مع معدلات الاخصاب للمرضى الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI) Intrauterine Insemination .

أُجريت هذه الدراسة في مركز الخصوبة في مدينة الصدر الطبية في محافظة النجف الاشرف للمدة من 2016/4/1 لغاية 2017/3/1 اذ شملت الدراسة عينات المني الى مجموعتين تمثلت بسوي النطف عددها (40) عينة وغير سوي النطف (40) عينة استناداً الى تقرير منظمة الصحة العالمية (WHO,2010) وتم فحص معالم النطف والمني المتمثلة بتركيز النطف وحركة النطف التقدمية ، والشكل السوي للنطف وحجم المني والمعالم الكيموحيوية المتمثلة بالسوبر أوكسايد ديسميوتيز والكاتليز والكلوتاثيون والانواع الاوكسجينية الفعالة وسكر الفركتوز (Fructose) وحامض الستريك Citric acid وبعد اكمال عمليات التنشيط للعينات وحقن النطف داخل الرحم للنساء تم تسجيل معدلات الحمل تراوحت اعمار الرجال (21-40) سنة اما اعامر النساء كانت اقل من (35) سنة لكي لا يؤثر على النتائج اذ بعض المصادر اشارت الى ان عمر المرأة اكبر من (35) يؤثر سلباً على نتائج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم ا (Brinsden and Dickey, 2010).

ظهرت نتائج الدراسة ان نسبة الحمل الاجمالية كانت 13.75% للمرضى الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI) كما لوحظ وجود زيادة غير معنوية ($P>0.05$) في معدلات الحمل البالغة 15% لمرضى سويي النطف مقارنة بمرضى غير سويي النطف البالغة لديهم 12.5% ، بينت النتائج وجود زيادة معنوية ($P<0.05$) في معالم النطف والمني ومضادات الاكسدة المتمثلة بـ السوبر أوكسايد ديسميوتيز والكاتليز وانخفاض معنوي ($P<0.05$) في الانواع الاوكسجينية الفعالة للمرضى سويي النطف مقارنة بالمرضى غير سويي النطف .

بينت نتائج الدراسة عدم وجود فروق معنوية ($P>0.05$) في تركيز سكر الفركتوز بين مجموعتي الدراسة (سويي النطف وغير سويي النطف) كما اشارت نتائج الدراسة الى وجود علاقة سالبة غير معنوية ($P>0.05$) بين تركيز سكر الفركتوز مع النسبة المئوية للنطف السوية وعلاقة سالبة معنوية ($P<0.05$) بين سكر الفركتوز ومضادات الاكسدة المتمثلة بالسوبر أوكسايد ديسميوتيز والكاتليز فضلاً عن وجود علاقة سالبة معنوية ($P<0.05$) بين تركيز الانواع الاوكسجينية الفعالة مع معالم النطف والمني ومضادات الاكسدة المتمثلة بالسوبر أوكسايد ديسميوتيز والكاتليز ، في حين كانت العلاقة موجبة ومعنوية ($P<0.05$) بين تركيز الكلوتاثيون والنسبة المئوية للنطف السوية كما لوحظ وجود علاقة موجبة معنوية ($P<0.05$) بين تركيز كل من الكاتليز والسوبر أوكسايد ديسميوتيز مع معالم النطف والمني المتمثلة بتركيز النطف والنسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية والنسبة المئوية للنطف السوية كما لوحظ وجود علاقة موجبة معنوية ($P<0.05$) بين السوبر أوكسايد ديسميوتيز وحجم المني اما العلاقة

بين الكاتليز وحجم المني كانت علاقة موجبة غير معنوية ($P>0.05$) ، ومن جانب اخر وجدت الدراسة علاقة موجبة معنوية ($P<0.05$) بين تركيزي الكلوتاثيون والكاتليز .

أما تأثير العمر للرجال في معالم النطف والمني والمعالم الكيموحيوية فقد بينت دراستنا وجود انخفاض معنوي ($P<0.05$) في تركيز حامض الستريك بعد عمر 40 سنة مقارنة بالفئة العمرية $\leq$ 30 والفئة العمرية (31-40) سنة ، اما معالم النطف والمني والمعالم الكيموحيوية الاخرى لم يلاحظ لعمر الرجال تأثير معنوي ($P<0.05$) فيها ، كما لوحظت وجود زيادة غير معنوية ($P>0.05$) في نسب الاخصاب والحمل لمجموعة المرضى بعمر $\leq$ 30 سنة مقارنة بمجاميع الاعمار من (31-40) سنة وأكبر من (40) سنة .

استنتجت هذه الدراسة ان معالم النطف والمني والمعالم الكيموحيوية تزداد لدى مرضى سويي النطف مقارنة بمرضى غير سويي النطف بينما الانواع الاوكسجينية الفعالة فأنها تزداد معنوياً ($P>0.05$) عند مرضى غير سويي النطف مقارنة بمرضى سويي النطف ، كما ترتبط بعض المعالم الكيموحيوية المدروسة المتمثلة (السوبر أوكسايد ديسميوتيز ، الكلوتاثيون ، والكاتليز) بعلاقة موجبة بمعالم النطف والمني .

يرتبط سكر الفركتوز بعلاقة سالبة مع معالم النطف والمني والمعالم الكيموحيوية وبعلاقة موجبة مع الأنواع الاوكسجينية الفعالة (ROS) .

ولاتتأثر معالم النطف والمني والمعالم الكيموحيوية بعمر الرجال ضمن الفترة العمرية من $\leq$ 30 سنة الى اكبر من 40 سنة وربما يكون التأثير موجوداً في الفئة العمرية أكبر من 50 سنة .

ينخفض تركيز حامض الستريك بعد عمر الـ 40 سنة للرجال مقارنة بالفئتين العمريتين $\leq$ 30 سنة للرجال مقارنة بالفئتين العمريتين من (31-40) سنة وأكبر من (40) سنة .

تزداد نسب الحمل بعد عمر $\leq$ 30 سنة للرجال مقارنة بالفئتين العمريتين من (31-40) سنة وأكبر من (40) سنة .

قائمة المحتويات

ت	الموضوع	الصفحة
	الخلاصة باللغة العربية	I
	قائمة المحتويات	III
	قائمة الجداول	V
	قائمة الأشكال	VI
	قائمة المختصرات	VI
	الفصل الاول / المقدمة	
1.1	المقدمة	1-3
	الفصل الثاني / استعراض المراجع	
1.2	تاريخ تقنية التلقيح داخل الرحم	4
2.2	عدم خصوبة الذكور	5
3.2	عوامل العقم الذكري	7
1. 3.2	فقدان المني	7
2. 3.2	قلة النطف	7
3. 3.2	وهن النطف	9
4.3.2	تشوه النطف	10
4.2	تقانات تحضير النطفة وتحفيزها	10
1.4.2	انواع تقانات تحضير النطف البشرية	11
1.1.4.2	تقانة السباحة الى الاعلى	11
2.1.4.2	تقانة الطرد المركزي المتدرج الكثافة	13
5.2	الجذور الحرة	14
1.5.2	انواع الجذور الحرة	14
2.5.2	تأثير الدور الفسيولوجي الحيوي للأنواع الاوكسجينية الفعالة على النطفة	15
1.2.5.2	النضج	15
2.2.5.2	تمكين النطفة	15
3.2.5.2	تفاعل الجسيم الطرفي	16
4.2.5.2	اندماج النطفة بالبيضة	17
3.5.2	الدور المرضي للأنواع الاوكسجينية الفعالة وعلاقته مع النطفة	17
4.5.2	الأنواع الأوكسجينية الفعالة وتقانات التكاثر المعان	18
6.2	مضادات الأكسدة	19
1.6.2	مضادات الأكسدة غير الإنزيمية	20
1.1.6.2	فيتامين C	20
2.1.6.2	الكلوتاثيون	20
2.6.2	مضادات الاكسدة الانزيمية	21
1.2.6.2	انزيم السوبر اوكسيد ديسميوتيز	21
2.2.6.2	الكاتليز	22
3.2.6.2	انزيم الكلوتاثيون - بيروكسيديز	23
3.6.2	مضادات الأكسدة و تقانات التكاثر المعان	23

7.2	الاجهاد التأكسدي والعقم الذكري	25
1.7.2	الإجهاد التأكسدي وتقانات التكاثر المعان	26
8.2	حامض الستريك المنوي	27
1.8.2	دور حامض الستريك المنوي في الاخصاب	27
9.2	الفركتوز المنوي	28
1.9.2	تأثيرات سكر الفركتوز المنوي على النطف وخمح الجهاز التناسلي الذكري و بعض حالات العقم الذكري	28
الفصل الثالث / المواد وطرائق العمل		
1.3	عينات الدراسة	30
2.3	الاجهزة المستعملة	32
3.3	المواد الكيميائية والاوساط المستعملة	32
4.3	البيانات المختبرية للمرضى	33
5.3	جمع السائل المنوي	33
6.3	فحص السائل المنوي	34
1.6.3	الفحص العيناني	34
1.1.6.3	حجم المني	34
2.1.6.3	اللزوجة	34
3.1.6.3	الاس الهيدروجينيPH	34
2.6.3	الفحص المجهري	34
1.2.6.3	تركيز النطف	35
2.2.6.3	النسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية	35
3.2.6.3	النسبة المئوية للنطف السوية	35
4.2.6.3	تحضير النطف لعملية التلقيح الاصطناعي	35
7.3	الفحوصات الكيموحيوية	36
8.3	تقييم الحمل	37
9.3	التحليل الإحصائي	38
الفصل الرابع / النتائج		
4. النتائج :		39
4-1 : نسبة الحمل		39
4-2 : معالم النطف والمني		40
4-3 : المعالم الكيموحيوية في السائل المنوي		40
4-4 : العلاقة بين تركيز الفركتوز ومعالم النطف والمني		41
4-5 : العلاقة بين تركيز الفركتوز والمعالم الكيموحيوية للسائل المنوي		42
4-6 : العلاقة بين تركيز حامض الستريك ومعالم النطف والمني		42
4-7 : العلاقة بين تركيز حامض الستريك والمعالم الكيموحيوية للسائل المنوي والمني		43
4-8 : العلاقة بين تركيز الانواع الاوكسجينية الفعالة ومعالم النطف والمني		43
4-9 : العلاقة بين تركيز الانواع الاوكسجينية الفعالة والمعالم الكيموحيوية في السائل المنوي		44
4-10 : العلاقة بين تركيز الكلوتاثيون ومعالم النطف والمني		45

11-4 : العلاقة بين تركيز الكاتليز ومعالم النطف والمني	45
12-4 : العلاقة بين تركيز السوبر أوكساید ديسميوتيز ومعالم النطف والمني	46
13-4 : العلاقة بين تركيز الكلوتاثيون والمعالم الكيموحيوية في السائل المنوي	46
14-4 : العلاقة بين تركيز السوبر اوكساید ديسميوتيز والكاتليز في السائل المنوي	47
15-4 : العلاقة بين العمر ومعالم النطف والمني	47
16-4 : العلاقة بين العمر والمعالم الكيموحيوية في السائل المنوي	48
17-4 : تركيز الفركتوز في البلازما المنوية للفئات العمرية المختلفة	49
18-4 : تركيز حامض الستريك في السائل المنوي حسب الفئات العمرية المختلفة	50
19-4 : معدل الحمل الناتج موزعة حسب الفئات العمرية	51
الفصل الخامس / المناقشة	52
1-5: نسبة الحمل	52
2-5: معالم النطف والمني	52
3-5 : المعالم الكيموحيوية في السائل المنوي	53
4-5: العلاقة بين تركيز الفركتوز ومعالم النطف والمني	54
5-5: العلاقة بين تركيز الفركتوز والمعالم الكيموحيوية للسائل المنوي	55
6-5:العلاقة بين تركيز حامض الستريك ومعالم النطف والمني	55
7-5:العلاقة بين تركيز حامض الستريك والمعالم الكيموحيوية للسائل المنوي.	56
5 – 8 : العلاقة بين تركيز الأنواع الأوكسجينية الفعالة ومعالم النطف و المني	56
5 – 9 : العلاقة بين الأنواع الأوكسجينية الفعالة و المعالم الكيموحيوية في السائل المنوي	57
10-5:العلاقة بين تركيز الكلوتاثيون ومعالم النطف والمني	57
5 – 11 : العلاقة بين تركيز الكاتليز ومعالم النطف والمني .	58
5 – 12 : العلاقة بين تركيز السوبر أوكساید ديسميوتيز و معالم النطف و المني	58
5 – 13 : العلاقة بين تركيز الكلوتاثيون و المعالم الكيموحيوية في السائل المنوي	59
5 – 14 : العلاقة بين تراكيز السوبر أوكساید ديسميوتيز و الكاتليز في السائل المنوي	59
5 – 15 : العلاقة بين العمر و معالم النطف و المني	60
5 – 16 : العلاقة بين العمر و المعالم الكيموحيوية في السائل المنوي	61
5– 17 : العلاقة بين تركيز سكر الفركتوز و الفئات العمرية المختلفة في البلازما المنوية	62
5 – 18: العلاقة بين تركيز حامض الستريك و الفئات العمرية المختلفة في البلازما المنوية	62
5 - 19 : نسب الحمل الناتجة و الموزعة حسب الفئات العمرية	63
الفصل السادس / الاستنتاجات والتوصيات	64

المصادر	
المصادر العربية والاجنبية	65
الخلاصة باللغة الانكليزية	

قائمة الجداول

ت	العنوان	الصفحة
1-3	الأجهزة المستعملة لانجاز الية البحث مع اسم الشركة المجهزة	32
2-3	المواد الكيميائية والاوساط المستعملة لانجاز الية البحث مع اسم الشركة المجهزة	32
1-4	معالم النطف والمني للمرضى سويي وغير سويي النطف الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI)	40
2-4	المعالم الكيموحيوية للمرضى سويي النطف وغير سويي النطف الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI)	41
3-4	العلاقة بين تركيز سكر الفركتوز ومعالم النطف والمني للمرضى الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI)	41
4-4	العلاقة بين تركيز سكر الفركتوز والمعالم الكيموحيوية للمرضى الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI)	42
5-4	العلاقة بين تركيز حامض الستريك ومعالم النطف والمني للمرضى الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI)	43
6-4	العلاقة بين تركيز حامض الستريك والمعالم الكيموحيوية للمرضى الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI)	43
7-4	العلاقة بين تركيز الانواع الاوكسجينية الفعالة ومعالم النطف والمني للمرضى الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI)	44
8-4	العلاقة بين تركيز الانواع الاوكسجينية الفعالة والمعالم الكيموحيوية للمرضى الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI)	44
9-4	العلاقة بين تركيز الكلوتاثيون ومعالم النطف والمني للمرضى الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI)	45
10-4	العلاقة بين تركيز الكاتليز ومعالم النطف والمني للمرضى الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI)	45
11-4	العلاقة بين تركيز سوبر أوكسايد ديسميوتيز ومعالم النطف والمني للمرضى الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI)	46
12-4	العلاقة بين تركيز الكلوتاثيون والمعالم الكيموحيوية للمرضى الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI)	46
13-4	تأثير العمر في معالم النطف والمني للمرضى الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI)	48
14-4	تأثير العمر في المعالم الكيموحيوية للمرضى الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI)	49

قائمة الأشكال

ت	العنوان	الصفحة
1-3	مخطط تصميم الدراسة	31
2-3	استمارة البيانات المختبرية للمرضى المستعملة في الدراسة	33
1-4	النسب المئوية لحالات الحمل بعمليات التلقيح الاصطناعي داخل الرحم(IUI) للمرضى المشمولين بالدراسة	39
2-4	نسب حالات الحمل بعمليات التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI) لمرضى سوي النطف وغير سوي النطف	39
3-4	العلاقة بين السوبر اوكسيد ديسميوتيز والكاتليز للمرضى الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI)	47
4-4	تركيز سكر الفركتوز في البلازما المنوية للمرضى في فئات عمرية مختلفة -	50
5-4	تركيز حامض الستريك في البلازما المنوية للمرضى في فئات عمرية مختلفة	50
6-4	تأثير عمر الرجال في معدلات الحمل للمرضى الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI)	51

قائمة المختصرات

ART	Assisted Reproduction Techniques
AR	Acrosome Reaction
ADP	Adenine Diphosphate
ATP	Adenine Triphosphate
AMP	Adenosin Monophosphate
ANOVA	Analysis Of Variance
ASA	Antisperm Antibody
BMI	Body Mass Index
CAT	Catalase
CC	Clomiphene Citrate
DNA	Deoxyribonucleic Acid
DHT	Dihydrotestosterone
FSH	Follicle Stimulating Hormone
GPX	Glutathione Peroxidase
GR	Glutathione Redutase
GSH	Gluthathione
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormone
GH	Growth Hormone
HCG	Human Chorionic Gonadotropin
H_2O_2	Hydrogen Peroxide
IVF	In Vitro Fertilization
ICSI	Intracytoplasmic Sperm Injection
IUI	Intrauterine Insemination
LPO	Lipid Peroxidation
LH	Luteinizing Hormone
MDA	Malondialdehyde
NOA	Non – Obstructive Azoospermia
NADPH	Nicotinamid Adenine Dinucleotide Phosphate
OA	Obstructive Azoospermia
OAT	Oligoasthenoteratospermia
OS	Oxidative Stress
PUFA	Polyunsaturated Fatly Acid
PR	Prolactin
PSA	Prostatic Specific Antigen
RNS	Reactive Nitrogen Species
ROS	Reactive Oxygen Species
SPPS	Statistical Package For Social Science
SOD	Superoxide Dismutase
TBA	Thiobarbituric Acid
TCA	Trichloroacetic Acid
UXI	Unexplained Infertility
WHO	World Health Organization

المقدمة

تعرف حالة عدم الخصوبة بأنها حالة مرضية تشكل حوالي 15% من مجموع الأزواج الذين يرغبون بالحصول على الأطفال والتي قد تؤدي إلى ظهور مشاكل نفسية كبيرة .

تتضمن تقانات التكاثر المعان (ART) أنواعا من التقانات مثل تقانة الإخصاب خارج الجسم In vitro fertlilzation (IVF) إضافة إلى تقانة حقن النطف داخل السايتوبلازم(ICSI) Intracytoplasmic Sperm Injection لعلاج حالات العقم ، وتعد تقانة التلقيح داخل الرحم (IUI) من أول تقانات التكاثر المعان (ART) المستعملة إذ إنها تتضمن حقن المني المنشط في داخل رحم المرأة بعد إجراء عملية تحفيز مبايضها ، ومن مميزات هذه الطريقة انها تتمتع بتكلفة مادية بسيطة إضافة إلى ذلك لا تصاحبها أية مضاعفات خطرة على حياة المريض وسهولة تطبيقها ، إذ إنها تعد تقانة مميزة وغير معقدة (Souter *et al.*, 2011 ; Ombelet , 2013) .

تعد حالات العقم غير المفسر Unexplained infertility (UXI) وانخفاض خصوبة الرجل والاضطراب النفسي أو الوظيفي عند الرجل والمرأة والخلل المناعي ومشاكل الاباضة من الأسباب المرضية المهمة التي من اجلها استعملت تقانة التلقيح داخل الرحم (IUI) (Duran *et al*., 2002;Bagis *et al*., 2010) ، فقد بينت الدراسات أن هنالك عدة عوامل تتعلق بنجاح التلقيح داخل الرحم (IUI) منها عوامل تخص المرأة والتي تشمل عدد الجريبات إذ إن هنالك علاقة ايجابية بين حالة الحمل وعدد الجريبات Follicle Number إضافة إلى عمر طبقة بطانة الرحم وكذلك مدة العقم عند المرأة ، أما العوامل التي تخص الرجل تتعلق بشكل رئيسي في وظيفة المني (Iberico *et al*., 2004 ; Macizo *et al*., 2012) .

تؤدي الزيادة في مستويات الأنواع الاوكسجينية الفعالة (ROS) والانخفاض في تراكيز مضادات الاكسدة في السائل المنوي الى اضطراب في وظيفة (Kamarzaman *et al*., 2014) .

تعمل بعض مضادات الأكسدة في البلازما المنوية الحفاظ على استقرار توازن الأنواع الاوكسجينية الفعالة (ROS) في البلازما المنوية المتمثلة بالسوبر اوكساید ديسميوتيز (SOD) والكاتليز (CAT) الكلوثاثيون (GSH) وبالتالي الحفاظ على استمرار حيوية النطف وفعاليتها الاخصابية (Agarwal and Saleh , 2002) ، وتشير الدراسات إلى أن تناول مضادات الأكسدة من قبل المرضى الذين يعانون من مستويات عالية التركيز من الحامض النووي Deoxyribonuclic acid (DNA) المتضرر والموجود في النطف أو المرضى الذين يعانون من ظاهرة الأكسدة الفوقية Lipid Peroxidation (LPO) يؤدي ذلك إلى تحسن نتائج الحمل وذلك عن طريق تقليلها وكبحها للتأثيرات الضارة للأنواع الاوكسجينية الفعالة (ROS) (Gil – Villa *et al* ., 2009) .

ترتبط مضادات الأكسدة الموجودة في السائل المنوي بعلاقات موجبة مع معالم النطف والمني اذ لاحظت احدى الدراسات وجود علاقة موجبة معنوية ($P< 0.05$) بين الكلوثاثيون (GSH) ومعالم

النطف والمني في مرضى العقم ومرضى سوي النطف عدا النسبة المئوية للنطف السوية عند مرضى وهن النطف (Al-Derawi,2010) ، كما اشار Khosrowbeygi وجماعته (2004) الى وجود علاقة موجبة معنوية ($P< 0.05$) بين الكاتليز (CAT) وتركيز النطف والنسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية والشكل السوي للنطف في مرضى وهن النطف Asthenozoospermsia ومرضى وهن وتشوه النطف Asthenoteratozoospermia ومتلازمة قلة النطف ووهنها وتشوهها Oligoasthenoteratozoospermia (OAT) وكذلك مجموعة سوي النطف Normozoospermia وبيّن Al-Azzawie وجماعته (2014) الى وجود علاقة موجبة معنوية ($P< 0.05$) بين السوبر اوكسايد ديسميوتيز (SOD) وعدد النطف وحركة النطف ، كما أكد Murawski وجماعته (2007) الى وجود علاقة موجبة معنوية ($P< 0.05$) بين السوبر اوكسايد ديسميوتيز (SOD) ومعالم النطف والمني المتمثلة بتركيز النطف والنسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية .

بينت دراسة إن حامض الستريك المنوي Citric acid يؤدي دورا مهما في وظيفة غدة البروستات كما انه يعّد العامل المهم في المحافظة على الرقم الهيدروجيني (pH) للبلازما المنوية (Said *et al*., 2009) ، كما انه يمتلك خواص مضادات الأكسدة إذ انه يشترك في تحسن والمحافظة على حركة النطف (Lombardo *et al*., 2012) .

اظهرا (Buckett and Lewis-Jones , 2002) أن سكر الفركتوز المنوي يرتبط بعلاقة موجبة بحركة النطف وذلك نتيجة استهلاكه من قبل النطف اذ انه يعد المصدر الرئيس لحركة النطف في السائل المنوي .

أن النطف المتحركة في حالات الإخصاب خارج الجسم (IVF) تستهلك الفركتوز المنوي بشكل متواصل وتوجد علاقة سالبة بين سكر الفركتوز المنوي والخلل الحاصل في رأس النطفة ، إذ تبين أن مستوى الفركتوز المنوي يكون قليلاً جدا في هذه الحالة وذلك بسبب استهلاكه من قبل النطفة لغرض إصلاحه للاضطراب الذي يحصل في رأس النطفة مما يسبب اكتساب رأس النطفة قدرة على اختراق اغشية البيضة (Amidu *et al*., 2012) .

الهدف من الدراسة :

هدفت الدراسة الحالية الى تقييم العلاقة بين بعض المعالم الكيموحيوية المتمثلة بالسوبر اوكسايد ديسميوتيز (SOD) والكاتليز (CAT) الكلوثاثيون (GSH) وتركيز سكر الفركتوز المنوي وحامض الستريك المنوي ومعالم النطف والمني المتمثلة بتركيز النطف ، النسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية ، النسبة المئوية للنطف السوية ، حجم المني ومدى تأثيرها في نسب الحمل للمرضى الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم .

الفصل الثاني

1.2: التلقيح داخل الرحم Intrauterine Insemination (IUI)

أن عملية التلقيح داخل الرحم (IUI) تعني حقن المني (المحضر والمنشط) في داخل رحم المرأة بعد اجراء عملية تحفيز المبايض Ovaries stimulation وتعد أول التقانات المستعملة من بين تقانات التكاثر المعان التي تشمل تقانة الاخصاب خارج الجسم وتقانة الحقن المجهري في علاج مرض العقم كما تمتاز تقانة التلقيح داخل الرحم بمميزات عديدة منها انها ذات تكلفة بسيطة ولاتصاحبها أية مضاعفات خطرة على حياة المريض وسهولة تطبيقها اضافة الى انها تقانة ذات الية غير معقدة (Souter *et al., 2011;* Ombelet ., 2013) .

يتم تحفيز المبايض عند المرأة باستعمال بعض العقاقير الطبية التي تشمل Clomiphene Citrate (CC) بتركيز 100mg يومياً من اليوم الثاني من الدورة الشهرية ولمدة خمسة ايام ، وكذلك عقار Menogon بتركيز 75 IU يومياً من اليوم الثالث من الدورة الشهرية الى اليوم السابع (Alieh and Shabnam , 2008) ، ومن ثم إعطائها هرمون يطلق عليه بهرمون محرض القند المشيمي البشري Human Chorionic Gonadotropin (HCG) بتركيز 5000IU وذلك لغرض حدوث الاباضة عندما تكون هناك جريبة واحدة وبتركيز 10000IU عندما توجد أكثر من جريبة واحدة في مبيض المرأة والذي يعطى في بداية التبويض (Al-Dujaily and Arif , 2011) .

هنالك عدة أسباب لاستعمال تقانة التلقيح داخل الرحم (IUI) ومن هذه الاسباب هو العقم غير المفسر للزوجين Unexplained infertility (UXI) وانخفاض خصوبة الرجل (الخفيف او المتوسط) ، والخلل الفسلجي والنفسي عند الرجل والمرأة والحالات المناعية واضطراب الاباضة بالإضافة الى المشاكل المتعلقة بالمخاط العنقي cervical factor لدى النساء (Duran *et al.,2002;Bagis et al.*, 2010) .

ذكرا Brinsden وDickey (2010) أن نسبة نجاح تقانة التلقيح داخل الرحم (IUI) تكون حوالي 14.5% للنساء التي أعمارهن أقل من 35 سنة كما تقل هذه النسبة الى حوالي 9.9% لدى النساء اللواتي يتراوح أعمارهن من 35-39سنة أما النساء اللائي تتراوح أعمارهن بين 40-42 فتصل نسبة نجاح هذه التقانة تقريباً 5.4% وتكون هذه النسبة 1.2% للنساء التي تكون اعمارهن بين 43-44 سنة وعند النساء اللواتي تتجاوز أعمارهن 44 سنة فعند استعمال تقانة التلقيح داخل الرحم (IUI) لا تتحقق عملية ولادة أطفال أحياء وهذا يعود الى ان عملية غرس البيضة المخصبة في الرحم تكون غير مستقرة وذلك لان في هذا العمر تتصف بطانة الرحم بانها غير كفؤة وغير مهيئة لاستقبال البيضة المخصبة وهذا يعود ربما الى الخلل في انتاج الهرمونات الانثوية مثل هرمون الاستروجين وهرمون البروجستيرون اللذان يعملان على تهيئة الرحم لاستقبال البيضة بعد الاخصاب (Guyton and Hall , 2006) ، كما أن نجاح عملية التلقيح داخل الرحم تتأثر بعدة عوامل منها يتعلق بالأنثى التي تشمل عدد الجريبات إذ إن

هنالك علاقة موجبة بين الحمل وعدد الجريبات قبل الاباضة اضافة الى ذلك يعد عمر طبقة بطانة الرحم ومعامل كتلة الجسم (BMI) Body Mass Index كلها عوامل تؤثر على نجاح تقانة التلقيح الاصطناعي داخل الرحم ، وهنالك عوامل أخرى تتعلق بالرجل والتي تؤثر على نجاح تقانة التلقيح داخل الرحم وتشمل وظيفة المني وعمر الشخص الواهب للنطف Sperms cells ومعامل كتلة الجسم (BMI) (Iberico *et al., 2004;Macizo et al.,* 2012) ، لان معامل كتلة الجسم يعتبر مؤشراً لكمية الدهون عند الشخص ويعد وسيلة لتقييم المخاطر الصحية باستخدام وزن الشخص المطلوب اذ ان كمية الدهون تعمل على التقليل من نوعية المني وكذلك على التقليل من الخصوبة عند الرجال وهذا يسبب تأثير سلبي على تقانة التلقيح الاصطناعي عند الازواج (Swan *et al.*, 2000) .

اثبت Badawy وجماعته (2009) بدراسة أجروها أن هنالك عوامل تؤثر على نسبة نجاح تقانة التلقيح داخل الرحم (IUI) منها نوع التقانة المستعملة في تنشيط النطف إضافة الى عدد المحاولات لإجراء تقانة التلقيح داخل الرحم (IUI) ويعد الوقت اللازم لأجراء هذه التقانة ضروري ومهمّ ويؤثر على نتائج الحمل وأن أفضل وقت لأجراء تقانة التلقيح داخل الرحم (IUI) يكون بين 12-36 ساعة بعد عملية تحفيز المبايض (Cantineau *et al.*, 2009) .

2.2 : عدم خصوبة الذكر Male Infertility

لاحظ Cooper وجماعته (2010) أن حالة عدم خصوبة الذكر ناتجة عن الخلل والاضطراب الذي يحدث في معالم المني وفي نوعيته وبالتالي يكون الزوج غير قادر على احداث الحمل في زوجته بعد مرور عام من الزواج المستمر من دون استعمال موانع .

صنف Akhter وجماعته (2011) حالة العقم الى نوعين :

العقم الاولي Primary infertility : ويقصد به عدم تمكّن الزوجين ، إطلاقاً من احداث الحمل في أية فترة من حياتهما ويشكل هذا النوع من العقم نسبة 61.9%.

العقم الثانوي Secondary infertility : ويقصد به قدرة الزوجين على احداث الحمل مرة واحدة على الاقل في فترة سابقة من حياتهما ومن ثم تفقد هذه القدرة على أحداث الحمل مرة اخرى ويشكل هذا النوع من العقم نسبة تقدر 38.1%.

أكدت منظمة الصحة العالمية (WHO,2010) وجود عدة اسباب تؤدي الى حالة العقم عند الذكر وتشكل تقريباً نسبة 50% من حالة عدم الخصوبة عند الذكر كما لاحظ Olayemi وجماعته (2010) أن قسماً من حالات العقم يتعلق بالزوج وتشكل نسبة تتراوح 40-55% ومن المحتمل أن يسهم الزوجان معاً في حالة العقم غير المفسر فتشكل نسبة 10% وهنالك العديد من الاسباب تؤدي الى حالة عدم الخصوبة عند الذكور وتشمل الاسباب المناعية Immunity مثل الاجسام المضادة للنطف واخرى ترتبط بوجود خمج في القنوات التناسلية البولية اضافة الى وجود الاضطرابات التي تصيب الغدد الصم Endocrine

glands التي تشمل الغدة النخامية والغدة تحت المهادية Hypothalamus (Ferlin *et al.*, 2007) ، كما أن عدم ظهور النطف في البلازما المنوية Seminal plasma نهائياً يعد ايضاً سبباً لحدوث حالة العقم عند الذكور كما أن قلة النطف وحركتها وشكلها غير الطبيعي تعد من أسباب العقم عند الذكور (Francavilla *et al.*, 2009) .

توجد اسباب اخرى تؤثر على وظيفة النطفة مما يؤدي الى ظهور عدم الخصوبة عند الذكور إذ ان البعض من هذه الاسباب هي اسباب بيئية ، والبعض الاخر أسباب فسلجية اضافة الى الاسباب الوراثية .

ان التعرض الى الاشعاع يؤدي الى تحفيز تكون وحدوث الاجهاد التأكسدي Oxidative Stress (OS) الذي يسبب في حدوث موت النطف غير المبرمج (Takagi *et al.*, 2001) .

ان الاسباب الفسلجية التي تتضمن الخلل الحاصل في الغدد الصم وتحت المهاد والغدة النخامية Pituitary gland تؤدي الى حدوث خلل في تكوين النطف ونضجها الحيوي لها ، وذلك لأن تكوين النطف يحتاج الى تنظيم هرموني يبدأ من الغدة تحت المهاد إذ تعمل على تحفيز أفراز الهرمونات المحررة لمغذيات القند Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH) اذ يحفز هرمون (GnRH) الغدد النخامية لأفراز الهرمون المحفز للجريُب Follicle Stimulating Hormone (FSH) وكذلك الهرمون اللوتيني Luteinizing Hormone (LH) اذ يقومان بدور مهم في عملية اتمام تكوين النطف (Gupta *et al.*, 2002) .

بصدد الاسباب الوراثية فان الخلل في تنظيم المادة الوراثية الموجودة في داخل النطفة يؤثر على وظيفة النطفة اذ يجعل الحامض النووي (DNA) اكثر حساسية للمسخ Denaturation مما يؤثر على القابلية الاخصابية للنطف (Spano *et al.*, 2000) .

أصبح من الواضح أن علاج حالة العقم علاجاً نهائياً هو أمر ليس بالسهل أذ لايوجد علاج فعال ويوصى به للزوجين اللذين يعانون من عدم الخصوبة (Lorusso *et al.*, 2008; Bamgbopa , 2010) .

تعد تقانات التكاثر المعان (ART) الطريقة الرئيسة والحديثة في احداث الحمل والانجاب فضلا عن انها تمثل التقانة الفعالة في علاج حالات قلة الخصوبة Subfrtility ، كما وتستعمل تقانات التكاثر المعان (ART) في حالات قلة الخصوبة الناتجة من الاضطرابات والخلل في القنوات التناسلية عند الذكور اضافة الى حالات اضطراب بطانة الرحم عند النساء (Gupta *et al.*, 2014)

تعتمد تقانات التكاثر المعان المتمثلة بتقانات الاخصاب خارج الجسم والحقن المجهري على ألية مهمة وأساسية تتضمن عزل كل من النطفة والبيضة على التوالي خارج الرحم باليات وتقانات طبية معينة لكي تؤدي تقانة التلقيح الاصطناعي ومن ثم تحقيق عملية الاخصاب والحمل (Esteves and Schneider , 2011) .

3.2 : عوامل العقم الذكري Male Factor Infertility

توصلت منظمة الصحة العالمية WHO (2010) الى ان العقم عند الذكور يمكن أن يكشف ويفحص بدقة عن طريق اجراء تحليل المني الروتيني الذي يعد طريقة علمية وعملية لقياس ووصف معالم المني التي تشمل تركيز النطف ، حركة النطف ، اضافة الى المظهر الخارجي للنطف وعدد خلايا الدم البيض White Blood Cell (W.B.C) .

استناداً الى معالم النطف المدروسة هذه في تحليل السائل المنوي فقسمت مظاهر العقم عند الذكور الى عدة انواع (Peterson,1997) وهي كما يلي :

1.3.2 : فقدان المني Aspermia

بحسب ما جاءت به منظمة الصحة العالمية WHO (2010) ان فقدان المني هو حالة انعدام الدفق (القذف) Unejaculate عند الرجل ، وهنالك عدة اسباب تؤدي دوراً مهماً في حالة انعدام الدفق ، منها الخلل الوظيفي في عنق المثانة Bladder neck dysfunction الذي يسبب انخفاضاً في حجم المني او غيابه وهذه الحالة تحدث في الرجال المصابين بداء السكري او الذين تعرضوا الى عمليات جراحية في المنطقة البولية التناسلية والتي تشمل جراحة عنق المثانة اضافة الى عملية الاستئصال الجزئي لغدة البروستات Prostate gland عبر الاحليل .

ان القذف الرجعي (جريان المني في المثانة) Retrograde ejaculation يعد من الاسباب المهمة لفقدان المني عند الرجال والتي من اسبابه التعرض الى العلاج عن طريق الاشعاع وتضخم البروستات وانسداد القنوات المنوية (Jarow *et al*., 2002) .

2.3.2 : قلة النطف Oligozoospermia

يطلق على النقص في العدد الطبيعي لخلايا النطف عند الذكور بـ (قلة النطف) وعندما يصل تركيز النطف في المني الى اقل من (15) مليون خلية نطفية لكل مليلتر يطلق على الشخص مصاباً بقلة النطف (WHO , 2010) ، وتم تقسيم حالة قلة النطف الى اربعة مجاميع رئيسة وذلك بالاعتماد على اعداد النطف في المليلتر الواحد في السائل المنوي (Rowe *et al.*, 2000) وهي كما يأتي :

أ) قلة النطف الحاد جداً Extreme sever oligozoospermia : اذ يقل عدد النطف في هذه الحالة عن 1 مليون نطفة /مل .

ب) قلة النطف الحاد Sever oligozoospermia: يتراوح عدد النطف في هذه الحالة من (1-5) مليون نطفة /مل.

جـ) قلة النطف المعتدل Moderate oligozoospermia : وفيها يتراوح عدد النطف ما بين (5-10) مليون نطفة / مل.

تعود حالة قلة النطف الى عدة اسباب يتعلق قسم منها بالهرمونات اذ ان بعض الهرمونات التي تشمل هرمونات الغدة النخامية وهرمون البرولاكتين (PR) Prolatctin وهرمون النمو

Growth Hormone (GH) اضافة الى هرمون التستوستيرون Testosterone وهرمون الانهبين Inhibin تؤثر بشكل مباشر على عملية نشأة النطفة وان اي اضطراب في تركيز هذه الهرمونات في جسم الانسان يؤدي الى اضطراب في نشأة النطفة اضافة الى قلة في عدد النطف وتردي نوعيتها وبالتالي حدوث حالة انعدام الخصوبة عند الذكور (Guyton and Hall ,1997).

يعد تقدير مستوى الهرمون المحفز للجريبة (FSH) احد انواع الاختبارات التشخيصية النافعة لدى المصابين بحالة اللانطفية وقلة النطف الحاد اذ تكون مستويات هذا الهرمون في البعض منه مرتفعة لديهم وان هذا الهرمون يمتلك دوراً فعالاً ومؤثراً في تحفيز خلايا سرتولي Sertoli cells على افراز هرمونات الاستروجينات Estrogens المرتبطة مع هرمونات الاندروجين Androgens Binding Protein في السائل المنوي (Ganong ,2005) ، كما ان الهرمون اللوتيني (LH) له القابلية من تحفيز خلايا ليدك وذلك لإفراز هرمون التستوستيرون الذي له الاثر الفعال في عملية نشأة النطف وتطور الصفات الجنسية الثانوية الذكرية بعد ان يتحول الى صيغته الكيميائية الفعالة التي تسمى بـ التستوسيرون ثنائي الهيدروجين Dihydrotestosterone في النسيج الهدف (Eblen *et al.*, 2001) .

من الاسباب الاخرى التي تسهم في حالة قلة النطف تقدم العمر عند الرجل اذ ان لتقدم العمر دور مهم في قلة العدد الكلي للنطف والنسبة المئوية للنطف المتحركة اضافة الى حجم القذف والتضاؤل في عدد النطف يبدأ من عمر (25) سنة ولكنه تضاؤل غير معنوي (Kidd *et al.*, 2001) ، كما أن التهاب الخصى الناتج عن النكاف البلوغي Mumps orchitis في مرحلة البلوغ يسبب حالة قلة النطف الشديد وذلك بسبب فايروس النكاف الذي يؤدي الى تلف النسيج البرنكيمي Parenchyma tissue للخصية مما يؤدي الى ضمور الخصية بنسبة 13 % في مرحلة قلة النطف الشديد (Forti and Krausz,1998) .

3.3.2 : وهن النطف Asthenozoospermia

عرف Dohle وجماعته (2007) وهن النطف بأنه قلة حركة النطف او الحركة التقدمية للنطف او كلاهما ، اذ ان حركة النطف تعد من اهم معالم السائل المنوي التي لها علاقة بتحديد خصوبة الرجل ، وحسبما ذكرته منظمة الصحة العالمية (WHO,2010) يعد المريض مصاباً بوهن النطف عندما تقل النسبة المئوية للنطف المتحركة عن 32% في ظرف ساعة واحدة من القذف ، تنشأ حالة وهن النطف من عدة اسباب منها مثلاً وجود الاجسام المضادة للنطف Antisperm (ASA) Antibodies في البلازما المنوية اذ تقل حركة النطف بزيادة تركيز مستوى الاضداد النطفية (ASA) (Rangari and shrivastar , 2007) ، كما ان الاجسام المضادة للنطف توجد في السائل المنوي للأشخاص العقيمين بنسبة تقريباً 10% وتعمل هذه الاجسام المضادة على تقليل حدوث عملية الاخصاب بين النطفة والبيضة وذلك لانها تؤثر سلباً على حركة النطف مما يؤدي الى اختزال حركتها اضافة الى تأثيرها السلبي على اختراق النطف للمخاط العنقي في الرحم (Lambardo *et al.*, 2004) .

الامراض البربخية Epididymal diseases تؤدي دوراً في زيادة النسبة المئوية للنطف غير المتحركة وغير الفعالة ويعود السبب الى ان النطف تكتسب قابليتها على الحركة والفعالية الاخصابية عندما تمر على طول البربخ وخاصة في منطقة ذيل البربخ اذ تؤدي افرازات البربخ الى تطور حركة النطفة (Roberts *et al.*, 2006) ، كما يمتلك البربخ اهمية توفير بيئة مناسبة للنطف اضافة الى دوره المهم في نقل النطفة وحمايتها وخزنها ولكن الابحاث العلمية أثبتت ان زيادة مدة خزن النطف في البربخ يؤثر على حركة النطف وبالتالي تقل حركتها وكذلك تظهر عدة اشكال غير طبيعية للنطف وذلك بسبب ظهور بعض العوامل غير الملائمة التي تتعرض لها النطف المخزونة في البربخ مثل ارتفاع درجة الحرارة في كيس الصفن (Rrumbullaku *et al.*, 1998) ويعد الخلل الذي يحدث في تركيب المايتوكندريا Mitochondria سبباً مهماً في حدوث حالة وهن النطف اذ ان المايتكوندريا تُعد الموقع الرئيس لتصنيع الادينوسين ثلاثي الفوسفات Adenosin Tri-Phosphate (ATP) ويعد هذا المركب مصدراً الطاقة لحركة النطف وذلك عن طريق تحوله الى الادينوسين ثنائي الفوسفات Adenosin Di- (ADP) Phosphate فتنتقل الطاقة الى ذيل النطفة (Kolettis, 2003) تصنف حالة وهن النطف الى صنفين رئيسين هما :

أ) وهن النطف المتوسط Moderat asthenozoospermia : وتحدث هذه الحالة عندما تكون نسبة النطف المتحركة مابين 20- 40 %.

ب) وهن النطف الحاد Sever asthenzoospermia : وتحدث هذه الحالة عندما تكون نسبة النطف المتحركة اقل من 20% (Pardo *et al.*, 1988) .

4.3.2 : تشوه النطف Teratozoospermia

وصف كل من Franken وKruger (2004) النطفة السوية بصفات مظهرية مميزة وهي احتوائها على رأس بيضوي الشكل ويحتوي الرأس على تركيب يطلق عليه بـ قلنسوة الجسم الطرفي Termianl acrosomal التي تغطي كتلة الرأس ، كذلك تحتوي النطفة على القطعة الوسطية Middle piece وتكون اسطوانية الشكل ذات حدود منتظمة اما الذيل فيمتاز كذلك بشكله الاسطواني غير الملتف .

تحدث حالة تشوه النطف عندما يصل انتاج النطف غير السوية في البلازما المنوية الى اكثر من 60% وهذا يشير الى قلة معدل تكّون النطف السوية التي تقيَّم بوساطة المجهر الضوئي (Budhan *et al.*, 2006) .

تصنف حالة تشوه النطف الى نوعين (Guyton and hall ,1997) :

التشوه الاولي Primary teratozoospermia : يرتبط هذا النوع من التشوه بعملية نشأة النطفة عندما يحدث خلل في نشأة النطفة ، ومن انواع هذا التشوه في النطفة هو وجود رأس كبير Macrocephalic أو رأس صغير Microcephalic أو رأس مستدق Tapered head او تكون النطفة مستديرة الرأس Round head (Acosta *et al.*, 1988) ، كما يشمل هذا النوع من التشوه

حالات الشواذ التي تحدث في القطعة الوسطية او يتضمن تشوه مظهري مثل وجود قطيرات dorplets هيولية في منتصف القطعة الوسطية اضافة الى وجود قطعة وسطية غير مستقيمة او تكون غير منتظمة الحدود اما الذيل الشاذ من المحتمل ان يكون قصير short tail او ملتف coiled tail او عديمة الذيل (WHO,2010) .

التشوه الثانوي Secondary teratzoospermia : يتميز هذا التشوه بظهوره بعد عملية نشأة النطف وبالتحديد بعد نضج النطف في منطقة البربخ اذ تحدث في هذه المنطقة عدة تغيرات تركيبية للخلية النطفية منها تحطم الجسيم الطرفي او تحطم المايتوكوندريا او تحلل في تركيب الذيل (تشوه تركيبي) مؤدية هذه التغيرات بالنتيجة الى حدوث حالة تشوه النطف (Guyton and hall ,2006) .

4.2 : تقانات تحضير النطفة وتحفيزها

Sperm Preparation and Activation Techniques

توجد اهداف عديدة ومهمة ترتبط بعملية تحضير النطفة ، منها عزل النطف ذات الحركة التقدمية والسوية من السائل المنوي وذلك لغرض استعمالها في تقانات التكاثر المعان والتخلص من بعض المخلفات التي تشمل البكتريا ، النطف غير الناضجة وخلايا الدم البيض اذ ان هذه المخلفات تنتج الاجهاد التأكسدي (OS) وهذا الاجهاد له تأثيرات سلبية على عملية الاخصاب ويجب ان تمتاز طرائق تحضير النطف بسرعتها وسهولتها ، اضافة الى انها تكون ذات كلفة مناسبة ولا تسبب تغيرات فسلجية في النطف المعزولة (Henkel and Schill , 2003) كما اشارت منظمة الصحة العالمية (WHO,1992) بإخضاع عينات المني المستعملة في تقانات التكاثر المعان (ART) الى فحص مجهري وعياني وذلك لمعرفة معالم المني والتي تتضمن (الحجم و الحركة و العدد) وغيرها من المعالم الاخرى وكذلك من الافضل ان يتم غسل النطفة في وسط مغذي يسمى بـ Earles , Hans – 10 (الهادي ، 1997) وان تنشيط النطف له الاهمية الكبيرة في تحديد ومعرفة النطف الفعالة وظيفيا وتميزها عن النطف غير الفعالة وظيفياً (الخاملة) في العينة المقذوفة وان تقانة التلقيح داخل الرحم تعتمد على وجود نطف ذات حيوية كبيرة وذات حركة فعالة بعد ان مرت بعمليات تنشيط سابقة لكي تحقق معدلات عالية وكثيرة في علاج مرضى العقم (Uranchimeg *et al.*, 2011) .

لوحظ ان لاختلاف التقانات في تحضير النطف وتنشيطها الاثر في اختيار النطفة المتحركة والشكل السوي لها لكي تتمكن من اخصاب خلية البيضة (Allamaneni *et al.*, 2005) كما اشار Bjorndahl وجماعته (2010) الى انفصال النطف الحية من مكونات الدفق بصورة مبكرة قدر الامكان خلال استعمال تقانة تحضير النطف وفي حالة عدم انفصال النطف من البلازما المنوية خلال (30) دقيقة بعد عملية القذف فان الاخصاب خارج الجسم يقل نشاطه تدريجيا ، كما ان فصل النطف من البلازما المنوية يجب ان

يتم خلال ساعة واحدة بعد القذف وذلك للحد من الضرر الناجم عن خلايا الدم البيض التي تؤدي قسم منها الى التهام النطف والتقليل من حيويتها والخلايا الاخرى الموجودة في السائل المنوي (WHO,2010) .

اكد Agarwal وجماعته (2006a) وجود العديد من طرائق تحفيز وتنشيط النطف وتحضيرها البشرية والتي تشمل طريقة السباحة الى الاعلى Swim up technique وطريقة الطرد المركزي المتدرج الكثافة Density Gradient centrifugation technique وطريقة عمود الصوف الزجاجي Glass wool column technique .

1.4.2 : انواع تقانات تحضير النطف البشرية

The types of Techniques of Preparation of the Human Sperms Cells

1.1.4.2: تقانة السباحة الى الاعلى Swim up technique

تتميز هذه التقانة بانتشارها واستعمالها من بين تقانات تحضير النطف البشرية اذ انها تمتاز ببساطتها وتعتمد هذه التقانة على اختيار النطف المتحركة التي بإمكانها الوصول الى المستنبت الزرعي وكذلك تعتمد على النطف السوية الشكل وهنالك عدة تغيرات ترافق تقانة السباحة الى الاعلى منها حركة النطفة الى الوسط المنشط تاركة الحبيبة النطفية ، اضافة الى انحلال تقدم النطف وسهولتها الموجودة في الحبيبة النطفية اضافة الى ان قسم من الدفق يصبح مركزا (Henkel and Schill , 2003) .

المميزات الاخرى لهذه التقانة امكانية استعمالها كعلاج للنطف المتحركة في حالة خمجها ، اضافة الى خلوها من الفضلات والخلايا الضارة الاخرى ، وتوجد عدة سلبيات تصاحب تقانة السباحة الى الاعلى ومن هذه السلبيات انتاجها مستويات عالية من الاجهاد التأكسدي (OS) والنطف في الحبيبة النطفية وعليه يحدث تجمع النطف مع خلايا الدم البيض والفضلات الاخرى مما يؤدي الى عدم تأثر النطف ايجابياً وتفاعلها مع الوسط المنشط (Bossert and De-Jonged , 2007) ومن السلبيات الاخرى لهذه التقانة تكون وظهور الانواع الاوكسجينية الفعالة .

تقسم تقانة السباحة الى الاعلى الى نوعين :

النوع الاول : تقانة السباحة الى الاعلى مباشرة

Direct swim up technique

بعد اجراء الاماعة الكاملة لعينة السائل المنوي فبالإمكان استعمال هذه التقانة ويتم اضافة (1 مل) من السائل المنوي و (1.3 مل) من المستنبت في انبوبة اختبار ذات قاعدة دائرية وتوضع في الحاضنة Incubator بزاوية 45 ولمدة 30–60 دقيقة وذلك لإتاحة الفرصة للنطف بالسباحة نحو الاعلى ومن ثم الوصول الى سطح المستنبت (السلطاني , 1997) .

النوع الثاني : تقانة السباحة الى الاعلى غير المباشرة

Indirect swim up technique

توصل كل من Irvine وجماعته (2000) الى انه بالإمكان استعمال هذه التقانة على الحبيبة النطفية لعينة السائل المنوي بعد الاماعة الكاملة لهذه العينة اذ يتم وضع كل العينة في جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة / دقيقة ولمدة 15 دقيقة ومن ثم تتم ازالة Supernatant وابقاء الحبيبة النطفية ثم يضاف اليها كمية من المستنبت ويوضع في الحاضنة لمدة من الوقت وهذا يؤدي الى عزل النطف الجيدة والمتحركة عن النطف الميتة وخلايا الدم البيض وذلك بحركة النطف الاكثر حيوية وذات الحركة التقدمية والسوية الى الاعلى اذ يوجد الوسط الزرعي النشط لهذه النطف ، ومن عيوب هذه التقانة انها تنتج الانواع الاوكسجينية الفعالة بعد اجراء عملية الطرد المركزي لذلك يفضل استعمال الطريقة المباشرة بدلا من الطريقة غير المباشرة في عمليات التلقيح الاصطناعي .

2.1.4.2 : تقانة الطرد المركزي المتدرج الكثافة

Density gradient centrifugation technique

يتم استعمال هذه التقانة في اعداد النطف للمرضى المصابين بقلة النطف (OAT) ووهنها وتشوهها وتعتمد الية عملها على اختيار عدد كبير من النطف المتحركة اضافة الى انها تعمل على عزل النطف الجيدة عن خلايا الدم البيض وخلايا النطف المحطمة والمكونات غير المرغوبة الاخرى من السائل المنوي عن طريق تدرج الكثافات المفصولة الطبقات وان خلايا النطف والمكونات الاخرى توجد بكثافات مختلفة (Zini *et al.*, 2000) كما اكد Bjorndahl (2010) ان هذه التقانة تهدف الى فصل النطف اعتمادا على كثافتها اذ ان كل خلية نطفية في نهاية عملية الطرد المركزي تقع عند مستوى معين بحسب تدرج كثافتها اضافة الى ان الخلايا سوية الشكل الناضجة تبلغ تقريبا 10 g/ml بينما النطفة غير السوية الشكل وغير الناضجة تتراوح كثافتها ما بين 1.06 g/ml -1.09 g/ml .

لاحظ Bourne وجماعته (2004) تكون طبقتين مختلفتين في تدرج كثافتهما بعد انتهاء عملية الطرد المركزي لعينة المني عند الدورة 1600 ولمدة 20 دقيقة ويشغل الطور الاول الطبقة العلوية من الانبوبة ويكون تركيزه 45 % اما الطور الثاني فانه يشغل الطبقة السفلية من انبوبة الطرد المركزي ويبلغ تركيزه 95 % اما طبقة البلازما المنوية فإنها تتكون فوق الطبقة العلوية وتتكون الطبقة العلوية (الطور الاول) من خلايا الدم البيض المفصولة والفضلات اضافة الى النطف غير السوية الشكل وذات الحركة الضعيفة التي من الممكن رؤيتها اسفل خلايا الدم البيض اعتمادا على كثافتها ، اما النطف جيدة الحركة وسوية الشكل والحية فتظهر عند قعر انبوب جهاز الطرد المركزي كما اكد Bossert و De-Jonge (2007)

الى وجود زيادة معنوية ($P<0.05$) في العدد الكلي للنطف السوية والمتحركة عند استعمال المني في تقانة الطرد المركزي المتدرج الكثافة وهذا يستعمل في الازواج المختلفين في درجة نوعية المني .

هنالك عدة مميزات ايجابية لتقانة الطرد المركزي المتدرج الكثافة منها انها تعمل على زيادة تحسّن نوعية السائل المنوي وتعمل ايضا على زيادة المعدل الكلي للنطف السوية ذات الحركة التقدمية وذلك لغرض استعمالها في عمليات التلقيح الاصطناعي(Duvan *et al.*, 2009) وتمتاز هذه التقانة ببساطتها (Boomsma *et al.*, 2007) ومن مميزاتها الاخرى لا يتعدى وقت انجازها 30 دقيقة بينما تقانة السباحة الى الاعلى تحتاج تقريبا الى ساعة واحدة لإنجاز عملية حضن العينة ، كذلك تعد هذه الطريقة نوعا ما سهلة وغير معقدة تحت ظروف مختبرية معقمة وصحية (Beydola *et al.*, 2010) وان النطف لمرضى قلة النطف من المحتمل ان تفصل بهذه الطريقة بسهولة وفعالية (Henkel and Schill, 2003) .

ان هذه التقانة تعمل على طرد خلايا الدم البيض الرئيسية ونبذها في عينات المني (Beydola *et al.*, 2010) ولكن بالوقت نفسه هنالك تأثيرات سلبية لهذه التقانة وعيوب منها انتاجها مستويات عالية من الانواع الاوكسجينية الفعالة وهذه بدورها تؤثر في سلامة المادة الوراثية للخلية النطفية (Zini *et al.*, 2000) ، اذ ان هنالك العديد من الدراسات اظهرت وبينت ان ضرر المادة الوراثية يؤثر في نسب حدوث الحمل الطبيعية لدى النساء(Spano *et al.*, 2000; Loft *et al.*, 2003) وكذلك يؤثر على انخفاض نسبة الحمل بالتلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI) (Everson and wixon,2008) ، ومن الممكن ان تؤدي ايضا الى زيادة تلوث النطف وتفاعلها مع المواد البايولوجية المضرة الاخرى (Allegra *et al.*, 2007) .

5.2 : الجذور الحرة Free Radicals

تم اكتشاف الجذور الحرة من قبل العالم Lavoisier في سنة 1785 م وهي عبارة عن أي ذرة سواء كانت اوكسجين أم نتروجين وتحتوي في تركيبها على الكترون واحد غير مزدوج في غلافها الخارجي (Ruder *et al.*, 2009) ووصف كل من Burton و Jauniaux (2011) الجذور الحرة بانها ذرات غير مستقرة التفاعل وتحصل على استقرارها عندما تكتسب الالكترونات من الجزيئات الحياتية المجاورة لها التي تشمل البروتينات ، الدهون ، الكاربوهيدرات ، الاحماض النووية اذ تتفاعل مع هذه الجزيئات مما يؤدي الى تحطم الخلية وامراضيتها .

1.5.2 : انواع الجذور الحرة Type of Free Radicals

تصنّف الجذور الحرة الى صنفين :

الصنف الاول : يطلق عليه بـ الانواع الاوكسجينية الفعالة ويتميز هذا الصنف بانه يتكون من جذر الاوكسجين ويشمل عدة انواع منها مثلا بيروكسيد الهيدروجين(H_2O_2) Hydrogen Peroxide وجذر

السوبر أوكسايد السالب (O^{-}_{2}) Superoxide anion radical وجذرالهيدروكسيل (OH^{-}) Hydroxyl radical ويعد جذر الاوكسجين هو اكثر الجذور الحرة انتشارا واهمية في النظام الحيوي Biological system (Murray *et al.*, 2003) .

الصنف الثاني : يسمى بـ الانواع النتروجينية الفعالة Reactive Nitrogen Species (RNS) ويتميز هذا الصنف بانه يتكون من جذر النتروجين ويشمل عدة انواع منها بيروكسيد النتريت السالب Peroxynitrite anion ($ONOO^{-}$) وجذر اوكسيد النتريك Nitric Oxide Radical (NO) ويتميز هذا الجذر (NO) بفاعليته العالية ويسبب تحطم لكل من النسيج والخلية وتلفهما (Dong *et al.*, 2001) كما يعد ثاني اوكسيد النتروجين (NO^{-}_{2}) Nitrogen dioxide من الانواع النتروجينية الفعالة .

2.5.2 : تأثير الدور الفسيولوجي الحيوي للأنواع الاوكسجينية الفعالة على النطفة

The effect role of the biophsiology of the reactive oxygen species on the sperm cells

توجد عملية توازن طبيعية بين تكون الانواع الاوكسجينية الفعالة والتخلص منها في السائل المنوي ورغم ذلك من الممكن ان يتغير مسار التوازن باتجاه تكوين الانواع الاوكسجينية الفعالة بمستويات عالية التركيز وهذا يؤثر بالتالي على مستويات تراكيز مضادات الاكسدة في السائل المنوي مما يجعل وظيفة النطفة في حالة اضطراب وخلل (Kamarzaman *et al.*, 2014) وتوجد علاقة موجبة بين وظيفة النطفة والانواع الاوكسجينية الفعالة في السائل المنوي وهذه العلاقة تعتمد على النوع والتركيز الطبيعية للجذر الحر في السائل المنوي (Agarwal *et al.*, 2003).

للأنواع الاوكسجينية الفعالة عموما دور حيوي في المحافظة على العمليات الحيوية في النطف ومنها:

1.2.5.2 : النضج Maturation

تسهم الانواع الاوكسجينية الفعالة القليلة التركيز والموجودة في ذيل البربخ بتكوين الحامض النووي (DNA) للنطفة في مرحلة النضج بحيث يتميز باستقراريته ويكون كثيف الكروماتين من خلال استقرارية الحامض النووي (DNA) للنطفة ضرورية ومهمة في الحفاظ على الحالة الوراثية السليمة والمثالية للخلية النطفية اضافة الى ذلك تقوم الانواع الاوكسجينية الفعالة خلال عملية نضج النطفة بتحفيز المايتوكوندريا لتوليد الطاقة للخلية النطفية وانتاجها كما ان لبيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) تأثير حيوي وفعال على تكوين كبسولة مايتوكوندريا النطفة (Gorgas *et al.*, 2006) .

2.2.5.2: تمكين النطفة Sperm Cell Motility

النطف الموجودة في السائل المنوي المقذوف في القناة الانثوية لها القابلية في تخصيب خلية البيضة بعد ان تمر بعدة تحويرات في غشائها البلازمي وايضها الخلوي وهذه التحويرات يطلق عليها بظاهرة التمكين

التي تعد ضرورية لإنجاح عملية الاخصاب (Agarwal *et al.*, 2003) ومن الانواع الاوكسجينية الفعالة التي تسهم في تحفيز عملية تمكين النطفة هو بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) اضافة الى ذلك فان قسماً من الانواع الاوكسجينية الفعالة تشترك في تحفيز زيادة نشاط النطف في حالة حدوث الاخصاب خارج جسم الكائن الحي (IVF) مثل جذر السوبر أوكسايد السالب (O^-_2) وجذر اوكسيد النتريك (NO^-) (De-Jone and Barratt , 2006).

يتميز بيروكسد الهيدروجين (H_2O_2) بشكل خاص بتاثيره الفسلجي والحيوي الايجابي على النطفة اذ انه يساعدها على تحفيز عملية التمكين Capacitation والنشاط المفرط hyperactivation (Bansal and Bilaspuri , 2011) .

تعمل المستويات قليلة التركيز من جذر اوكسيد النتريك (NO^-) على اطلاق وتحرير مركبات لها دور مهم في الحفاظ على حركة وعيوشية النطف (Miragli *et al.*, 2011) وان بعض الانواع الاوكسجينية الفعالة لها دور معنوي مهم ومتميز في حماية النطف ذات الحركة التقدمية Progressive motility التي تظهر في المخاط العنفي بعد مرور (15) الى (60) دقيقة (Hammadeh *et al.*, 2009) .

تعد عملية النشاط المفرط للخلية النطفية من العمليات الفسلجية الحيوية والمهمة لنجاح عملية الاخصاب اذ ان النطف تتميز بحركتها السوطية غير المتناظرة اضافة الى الحركة المعنوية والمهمة لراس النطفة وعدم ظهور الحركة الخطية والمستقيمة للنطفة (Suarez , 2008) .

3.2.5.2: تفاعل الجسيم الطرفي Acrosome Reaction

يعرف تفاعل الجسيم الطرفي على انه العملية الحيوية الضرورية للخلية النطفية بعد وصولها الى منطقة النطاق الشفاف Zona Pellucida للبيضة في القناة التناسلية الانثوية (Agarwal *et al.*, 2003) .

تتضمن عملية تفاعل الجسيم الطرفي افراز كميات كبيرة من إنزيمات Proteolytic hyaluronidase ، إنزيم Neuraminidase ، Acrosin ، hyaluronidase المخزونة في الجسيم الطرفي Acrosome في الخلية النطفية اذ تعمل هذه الإنزيمات على اذابة البروتينات السكرية glycoproteins للمنطقة الشفافة التي تحيط بخلية البيضة وذلك لكي تسهل اختراق النطفة ومن ثم تحقيق عملية اخصاب خلية البيضة (Guyton and Hall , 2006).

ومن الانواع الاوكسجينية الفعالة التي تساعد النطفة على تسهيل المرور بعمليتي التمكين والتفاعل الاكروسومي هي السوبر أوكسايد السالب (O^{-2}_2) واوكسيد النتريك (NO^-) (Aitken and Baker, 2005) .

4.2.5.2: اندماج النطفة بالبيضة Sperm – oocyte fusion

لاحظ Inoue وجماعته (2007) انه بعد اختراق النطفة للمنطقة الشفافة لخلية البيضة يصبح بإمكان النطفة الاندماج مع خلية البيضة وتؤدي ميوعة الغشاء البلازمي للنطفة دورا مهما في حصول هذا الاندماج وان الانواع الاوكسجينية الفعالة تعمل على زيادة معدلات هذا الاندماج وذلك من خلال دراسة اجراها Keber وجماعته (2013) كما ان المستويات قليلة التركيز من بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) تسهم في السيطرة على هذا الاندماج (Hammadeh *et al.*, 2009) .

3.5.2: الدور المرضي للأنواع الاوكسجينية الفعالة وعلاقته مع النطفة

Role of the diseases of the sperm cells

تنشأ الانواع الاوكسجينية الفعالة في المني عن طريق خلايا النطف وخلايا الدم البيض وتسبب حالة العقم عند الذكور عندما يكون تركيزها في السائل المنوي البشري غير طبيعي أي يفوق تركيزها الاعتيادي (Said *et al.*, 2005) .

تركيز الانواع الاوكسجينية الفعالة عندما يفوق تركيز مضادات الاكسدة في السائل المنوي فعندئذ تنتج تأثيرات مرضية للنطفة وذلك لان مضادات الاكسدة لا تتمكن من حماية الغشاء البلازمي الذي يحيط بذيل النطفة والجسيم الطرفي (Gharagozloo and Aitken , 2011) .

تؤدي الانواع الاوكسجينية الفعالة تحطم الجزيئات الاساسية في النطفة التي تتضمن الدهون والبروتينات والاحماض النووية (Bansal and Bilaspuri , 2011) فان لها كثير من التأثيرات المرضية على النطف ومنها بيروكسيد الدهون الذي يقصد به تعرض الاحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة الموجودة في الغشاء البلازمي للنطفة الى فرط في عمليات الاكسدة الضارة وزيادتها اذ تهاجم الانواع الاوكسجينية الفعالة هذه الاحماض الدهنية مما يؤدي بالتالي الى سلسلة من تفاعلات كيميائية مستمرة يطلق عليها بيروكسيد الدهون وهذا يسبب تقليل من ميوعة الاحماض الدهنية غير المشبعة ومن ثم يؤثر على وحدة الغشاء البلازمي للنطفة اضافة الى ذلك ينتج من عملية بيروكسيد الدهون اضطراب وخلل في الشكل الظاهري والحركة والتركيز العالي للخلية النطفية (Hsieh *et al.*, 2006 ;Janicki , 2008) .

يؤثر بيروكسيد الدهون على نفاذية الغشاء الخلوي النطفي اذ تصبح نفوذية غشاء النطفة مطلقة تقريبا للمواد جميعها أي يسمح بمرور كل المواد من دون استثناء (Al– Hady,2006 ; Bhagavathy and Sumathi,2012) كما يعد مركب المالونداي الديهايد Malondialdehyde (MDA) الناتج الاخير من عملية بيروكسيد الدهون في غشاء النطفة والذي من الممكن فحصه عن طريق حامض Thiobarbituric acid (TBA) (Muslih *et al.*, 2002) ويسبب مركب المالونداي الديهايد فشلا في وظيفة النطفة وكذلك يعمل على قلة تضاعف النطفة وحدوث الطفرة الوراثية (Jomova and Valko , 2011) .

تشير البحوث العلمية المتعلقة بموضوع العقم عند الرجال ان التأثير على الحركة يعود إلى الآلية الدقيقة للأنواع الأوكسجينية الفعالة التي تعمل على تقليل حركة النطفة ليست واضحة لحد الآن (Said *et al* ., 2012) و نتيجة لذلك و ضعت آليتان لتفسر و توضح من خلالها العلاقة بين الأنواع الأوكسجينية الفعالة و قلة حركة النطف :

الآلية الأولى : تحدث هذه الآلية من خلال انتشار بيرو كسيد الهيدروجين عبر غشاء النطفة إلى الخلية نفسها مما يؤدي إلى كبح في الفعاليات الحيوية و خللها لبعض إنزيمات النطف مثل إنزيم Glucose – 6 – phosphate dehydrogenase (G6PD) ولهذا الإنزيم فائدة ضرورية و ملحة في النطفة إذ انه يعمل على تنظيم تدفق الكلوكوز في النطفة إضافة إلى أنه يقوم بتقليل تركيز مركب (NADPH) Nicotinamide Adenine Dinucleotide phosphate الذي يعمل كعامل مساعد في تفاعلات التمثيل الغذائي مثل الدهون وتكوين الحامض النووي (DNA) ويستخدم كذلك في المسارات الابتنائية ويعد مصدراً مهماً لإنتاج الأنواع الأوكسجينية الفعالة في السائل المنوي (Agarwal *et al* ., 2014c) .

الآلية الثانية : تتميز هذه الآلية بتفسير العلاقة بين الأنواع الأوكسجينية الفعالة غير الطبيعية و قلة حركة النطف معتمدة على حدوث سلسلة متعاقبة من التفاعلات الكيميائية الحيوية في النطفة إذ إنها تسبب التقليل من فسفرة البروتينات للخيط المحوري لذيل النطفة و من ثم توقف حركة النطفة . (O'flaherty *et al.*,2005)

4.5.2: الأنواع الأوكسجينية الفعالة و تقانات التكاثر المعان

The reactive oxygen species and the assisted reproduction techniques

توصلت الدراسات إلى أن لجذر السوبر أوكسايد السالب (O^{-}_{2}) دور مهم و حاسم في حركة النطفة المفرطة و ذلك عند استعماله في الوسط الزراعي في مجال تقانة التكاثر المعان التي تسمى بالإخصاب الخارجي (IVF) (Agarwal *et al*., 2014a) كما أن لبيروأوكسايد الهيدروجين دور مميز في تحفيز تأثيرات ايجابية و مفيدة لفعاليات النطف وظهورها (De – Lamirande and O'flaherty , 2008) ، إذ يعد الوسط ألزرعي عاملاً مهماً في وجود الأنواع الأوكسجينية الفعالة في تقانة التكاثر المعان وذلك لأن ظهور الأنواع الأوكسجينية الفعالة في الوسط الزرعي المستعمل في تقانة التكاثر المعان يكون عن طريق تحضير المني و بالتالي يسبب تنشيطها من خلال وجود النطف غير الناضجة فيه لأن هذه النطف غير الناضجة تعد أحد مصادر نشوء الأنواع الأوكسجينية الفعالة ، كما من المحتمل أن تنشأ هذه الأنواع الأوكسجينية الفعالة خلال عملية الطرد المركزي عند غياب مضادات الأكسدة في البلازما المنوية أو من المحتمل أن تنشأ الأنواع الأوكسجينية الفعالة عن طريق وجود خلايا الدم البيض في البلازما المنوية أو من خلال الوسط ألزرعي المستعمل في تقانة التكاثر المعان .

أشار Saleh وجماعته (2003) و Agarwal وجماعته (2006b) احتواء الوسط ألزرعي التجاري المستعمل في تقانة التكاثر المعان مثل وسط Ham's F–10 على بعض الأيونات المعدنية مثل , Cu_2 Feو التي تعمل على نشوء الأنواع الأوكسجينية الفعالة في النطف و بالتالي تعمل على تحطيم الحامض النووي (DNA) النطفة .

6.2 : مضادات الأكسدة Antioxidants

تعرف مضادات الأكسدة أنها جزيئات حيوية Biologic molecules ذات قابلية دفاعية تحمي الجزيئات البايولوجية المختلفة في الخلية التي تشمل الدهون والبروتينات والأحماض النووية والكاربوهيدرات ضد حالة تكون الإجهاد ألتأكسدي (OS) الناتج من الجذور الحرة (Agarwal *et al.*, 2012) .

تتميز مضادات الأكسدة بحماية الجسم من الجذور الحرة المتكونة فيه وذلك عن طريق عدد من الآليات وتشمل ما يلي :

1- تمنع تكّون الجذور الحرة داخل جسم الكائن الحي ، مثل السوبر اوكساید ديسيميوتيز .

2– تعمل على تقييد الجذور الحرة عن طريق كاسحات تظهر في تفاعلات الأيض مما يؤدي إلى تحويلها إلى جزيئات أقل فعالية و نشاط ، مثل الكاتليز .

3– تقوم بتسهيل عملية تعديل الضرر و ترميمه و التلف الخلوي الذي تسببه الجذور الحرة ، مثل فيتامين E .

4– تجهز ظروف مناسبة لكي تساعد على إنجاز فعاليات حيوية مهمة لمضادات الأكسدة الأخرى مثل السيلينيوم (Battino *et al.*, 2002 and pendyala *et al.*, 2008) .

الوظائف المهمة التي تقوم بها مضادات الأكسدة في البلازما المنوية هو الحفاظ على الحالة الثابتة و المستقرة للأنواع الأوكسجينية الفعالة في البلازما المنوية و بالتالي الحفاظ على استمرارية حيوية النطف و فعاليتها الأخصابية (Agarwal and saleh , 2002) .

تصنف مضادات الأكسدة الى نوعين مضادات اكسدة غير إنزيمية ومضادات اكسدة إنزيمية (Shkolnik *et al* ., 2011 ; Naazeri *et al* ., 2014) .

1.6.2 : مضادات الأكسدة غير الإنزيمية Non-enzymatic antioxidants

يشمل ها النوع من مضادات الأكسدة المغذيات الصغيرة Micro – nutrients الأساسية التي تتضمن فيتامين C (حامض الأسكوربيك) وفيتامين E وعنصر السلينيوم Selenium وعنصر الزنك Zinc والمغذيات النباتية Phyto – nutrients التي تشمل الصوديوم والسيليكون والكوبلت والفسفور والكاربون والكلوتاثيون Glutathion و يتميز هذا النوع من مضادات الأكسدة بعدم تكونه داخل جسم

الكائن الحي و عليه يجب توافره ضمن النظام الغذائي المتنوع (Pham – Huy *et al.*, 2008) ، وتعمل مضادات الأكسدة الخارجية المنشأ على حماية الأنسجة الحية من ضرر الأنواع الأوكسجينية الفعالة ، كما تدخل قسم من مضادات الأكسدة الخارجية المنشأ كعامل مساعد مع بعض مضادات الأكسدة الإنزيمية الأخرى ، إذ يعد عنصر السيلينيوم عاملاً مساعداً لإنزيم الكلوتاثيون–بيروكسيديز كما يدخل كل من عنصري الزنك و النحاس كعاملين مساعدين لإنزيم السوبر أوكسايد ديسميوتيز أما عنصر الحديد فهو عامل مساعد لإنزيم الكاتليز (Singh *et al.*, 2004) .

1.1.6.2 : فيتامين C Vitamin ascorbic acid

يشكل فيتامين C عاملاً مهماً بالنسبة الى النطف اذ انه يؤدي الى حماية النطف من الانواع الاوكسجينية الفعالة التي تنتج في المني ويعمل كذلك على التقليل من ضرر الحامض النووي (DNA) للنطفة (Tremellen ,2008) .

2.1.6.2 : الكلوتاثيون Gluthathione

اكدت الدراسات ان للكلوتاثيون دور دفاعي ومهم في حماية النطفة و الحفاظ على نوعية السائل المنوي (Kefer *et al.*,2009) ، إذ يمتلك الكلوتاثيون دوراً علاجياً فعالاً لحالات العقم وهذا يعود إلى فعاليته الوقائية في المحافظة على مكونات الدهون في أغشية النطف إذ تبين أن مرضى العقم الذين تظهر لديهم تراكيز عالية من الأنواع الأوكسجينية الفعالة عند زرقهم جرعة 600 mg يومياً من الكلوتاثيون من طريق العضلة فإن ذلك يؤدي إلى تحسنٍ معنوي في النسبة المئوية للنطف لمتحركة إضافة إلى الشكل السوي للنطف ودرجة نشاطها بعد شهرين من العلاج (Patel *et al.*,2009) .

يعمل مركب الكلوتاثيون على حماية النطف الموجودة في البربخ من الضرر ألتأكسدي الذي ينتج بسبب وجود النطف لمدة طويلة في ذيل البربخ إذ إن النطف الموجودة في البربخ تقوم بإفراز إنزيمات مضادة للأكسدة مثل إنزيم السوبر اوكسايد ديسميوتيز وإنزيم الكلوتاثيون بيروكسيديز والذي يعمل معهما الكلوتاثيون كعامل مساعد للقضاء على سمية الأنواع الأوكسجينية الفعالة المتكونة في ذيل البربخ وهذا يوفر بالتالي الحماية للنطف (Khosrowbeygi *et al.*, 2012) .

2.6.2 : مضادات الأكسدة الإنزيمية Enzymatic Antioxidants

يطلق على مضادات الأكسدة الإنزيمية مصطلح آخر هو المضادات الطبيعية التي تتضمن ثلاثة أنواع رئيسة هي :

1 –السوبر أوكسايد ديسميوتيز .

2 – الكاتليز .

3– الكلوتاثيون – بيروكسيديز .

تتميز مضادات الأكسدة الإنزيمية بعملها المتناسق و المتناغم لكي تحمي الأنسجة الحيوية من عملية الأكسدة الضارة ، كما تتميز بأن لها القابلية و القدرة على معادلة الفائض من الجذور الحرة و بالتالي تعمل على إيقاف الضرر في مختلف التراكيب الخلوية .

تحتوي مضادات الأكسدة الإنزيمية على العنصر المعدني الأساسي الذي يمكنها من نقل الالكترونات لكي تعمل على توازن الجزيئات الحيوية في الخلايا الحية و حمايتها و الحفاظ عليها (Shkolnik *et al.*, 2011) .

1.2.6.2 : إنزيم السوبر أوكسايد ديسميوتيز

يعد هذا الإنزيم من الإنزيمات المضادة للأكسدة وهو عبارة عن بروتين ثنائي الصيغة الجزيئية و يقوم بتحطيم جذر السوبر أوكسايد الحر من طريق تحويله إلى البيروكسيد الذي بدوره يتفكك و يتحلل من طريق إنزيمات الكاتليز و الكلوتاثيون – بيروكسيديز و يعمل هذا الإنزيم كذلك على تحويل جذر السوبر أوكسايد السالب الشديد الفعالية إلى بيروكسيد الهيدروجين القليل الفعالية , Buffone *et al.* (2012) بحسب المعالة الآتية :

$$2O^{-}_2 + 2H \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$$

يوجد إنزيم السوبر أوكسايد ديسميوتيز بشكلين رئيسين هما :

1– وجوده بشكل إنزيم النحاس – الزنك و يسمى بـ $Cu\text{-}Zn - SOD_1$ في السايتوبلازم .

2– يوجد كذلك بشكل إنزيم المنغنيز و يسمى بـ $Mn - SOD_2$ في المايتوكوندريا . (Rahman , 2007) ، كما يوجد نوع آخر من إنزيم السوبر أوكسايد ديسميوتيز إضافة إلى الإنزيميين السابقين وهو إنزيم EC SOD_3 – الذي يقع خارج النطاق الخلوي للنطفة (Tavilani *et al.*, 2008) .

يعمل إنزيم السوبر أوكسايد ديسميوتيز على حماية النطفة من الاجهاد التاكسدي ويحمي النطفة ضد حالة الاكسدة الفوقية للدهون ويقلل من ضرر الحامض النووي (DNA) (Chen *et al.*, 2003) .

تشير الدراسات إلى أن إضافة إنزيم السوبر أوكسايد الديسميوتيز إلى الوسط المستعمل في تقانة الإخصاب خارج الجسم يؤدي إلى حماية كروماتين النطف من الضرر والتلف (Lamond *et al.*, 2003) .

يشترك إنزيم السوبر أوكسايد ديسميوتيز مع إنزيم الكاتليز في طرد جذر السوبر أوكسايد (O^{--}_2) السالب و يؤدي هذان الإنزيمان دوراً مهماً في حماية النطفة من التهاب القناة البولية التناسلية (Chari *et al.*, 2011) .

يعمل الإنزيم السوبر أوكسايد ديسميوتيز على حماية الخلايا الخصوية ضد ضغط الحرارة التي تؤدي إلى الموت الخلوي المبرمج (Kumagai *et al.*, 2002) .

توجد علاقة موجبة بين فعالية إنزيم السوبر أوكسايد ديسميوتيز في البلازما المنوية و نوعية المني وتركيز النطف والحركة الكلية للنطف كما لوحظ أن إنزيم السوبر أوكسايد الديسميوتيز في مرضى وهن النطف و قلتها يمثل مستوى معنوياً قليلاً مقارنة لفعاليته النشطة و معنويته العالية في الرجال سويي النطف ومن هنا إستنتج العلماء أن قلة مضادات الأكسدة في البلازما المنوية وبالأخص إنزيم السوبر أوكسايد ديسميوتيز الفعال تؤدي إلى الإصابة بـ حالة العقم الذكري . (Murawski *et al*., 2007) .

2.2.6.2 : الكاتليز

يعمل إنزيم الكاتليز على زيادة القابلية الحيوية للنطفة (Agarwal *et al*., 2008) ويتميز إنزيم الكاتليز الموجود في البلازما المنوية أو في النطفة بتقييم مستويات تراكيز الأنواع الأوكسيجينية الفعالة (Safarinejad ,2011) وبذلك يعمل على حماية النطف الموجودة في السائل المنوي وذلك من خلال التخلص من جذر السوبر أوكسايد السالب الذي ينتج من خلال نظام NADPH – Oxidase في خلايا الدم البيض وبالتالي يسبب التقليل من حدوث عملية أكسدة الدهون الضارة في الخلايا النطفية . (Tavilani *et al*., 2008)

3.2.6.2 : إنزيم الكلوتاثيون– بيروكسيديز

يوجد إنزيم الكلوتاثيون– بيروكسيديز بكثرة في الخصية اضافة الى وجوده في تجويف ذيل ورأس البربخ اذ انه يشارك في تكوين 6% من البروتينات التي تفرز في البربخ ، كما انه يرتبط مع اغشية النطفة مما يؤدي الى حمايتها من ظاهرة الاكسدة الفوقية للدهون ويعمل الكلوتاثيون المختزل في إنزيم الكلوتاثيون– بيروكسيديز على حماية سليفات النطف من الانواع الاوكسجينية الفعالة وكذلك يشارك في استمرار عملية نشأة النطفة من خلال كونه مصدراً للاحماض الامينية للنطفة (Fujii *et al*., 2003) .

تشير الدراسات الى ان الكلوتاثيون وإنزيم الكلوتاثيون– بيروكسيديز يعملان على منح الالكترونات التي تزيل جذر البيروكسيل (Roo^-) من بيروكسيد الهيدروجين ومن ثم يقوم إنزيم الكلوتاثيون المختزل المختزل على اعادة تكوين الكلوتاثيون المختزل من الكلوتاثيون المؤكسد (GSSG) بحسب المعادلات التالية :

$$2GSH + H_2O_2 \xrightarrow{\text{Peroxidase –(se)}} GSSG + 2H_2O$$

$$GSSG + NADPH + H^+ \longrightarrow 2GSH + NADP^+$$

أن كسح جذر البيروكسيل يحافظ على حركة النطفة ويساعد كل من الكلوتاثيون المؤكسد والكلوتاثيون المختزل النطفة على مقاومة التأكسد .(Fujii *et al*., 2003 ; Jainu and Shyamala Dev , 2004)

.

3.6.2: مضادات الأكسدة و تقانات التكاثر المعان

Antioxidants and assisted reproductive technologic

تنشأ الأنواع الأوكسجينية الفعالة من عدة مصادر تشمل الخلايا الذكرية الجنسية ، الخلايا الأنثوية الجنسية أو من المحتمل أن تنشأ من الجنين و أحياناً تنشأ من الظروف البيئية المحيطة بـ الخلايا الجنسية التي تشمل الخلايا المتراكمة ، خلايا الدم البيض والأوساط الزرعية .

التقديرات الدقيقة لمستويات الجذور الحرة و الإجهاد التأكسدي ضرورية و مهمة لأنها تساعد الطبيب المختص على تكوين مفهوم واضح عن حالة الإجهاد التأكسدي وتشخيصه إضافة إلى ذلك فأن زيادة مستويات تراكيز الأنواع الأوكسجينية الفعالة من العلامات السلبية التي تؤشر حالة ضعف تكّون الجنين و خاصة الجنين المتكون في تقانات الحقن ألمجهري (Bedaiwy *et al.*, 2004) .

تشير الدراسات الى ان استخدام مضادات الاكسدة في تقانات التكاثر المعان يعمل على تعديل وتحسين التأثيرات الضارة للانواع الأوكسجينية الفعالة في النطف والبيوض وكذلك على تحسين الاجنّة لذا فأن دور مضادات الاكسدة في تقانات التكاثر المعان يعد من العوامل الايجابية والفعالة كما تؤكد الابحاث العلمية الى ان مضادات الاكسدة المنوية تعمل على تحسن نوعية النطف وهذا يسبب بالتالي ظهور معدلات نجاح عالية في تقانات التكاثر المعان (Agarwal *et al*., 2014b) .

تؤدي بعض مضادات الأكسدة مثل β- mercaptoethanol عند أضافتها إلى الوسط ألزرعي (Feugang *et al.*, 2004) وفيتامين E (Kitagawa *et al.*, 2004) وفيتامين C (Oyamada *et al.*, 2004) والسستين (Tatemoto *et al.*, 2001; Dalvit *et al* ., 2005) والتورين Taurine ، إلى تحسين قدرة النمو والتطور للجنين و ذلك من طريق تقليلها و كبحها للتأثيرات الضارة للأنواع الأوكسجينية الفعالة وإن التقليل و الحد من الضرر الذي يصيب كيس الأريمة و اضطرابه يؤدي إلى زيادة معدلات تطور الجنين إضافة إلى ذلك فأنه يقلل من فرص الموت الخلوي المبرمج للجنين ، إذ لاحظت دراسة أن تطور كيس الأريمة ونموه في خارج جسم الكائن الحي يعود إلى التغيرات الممكنة التي حدثت في الأوساط المستعملة في تقانة التكاثر المعان التي تسمى بـ الإخصاب خارج الجسم و ذلك لأن مكونات هذا الوسط أسهمت في التخلص من الأنواع الأوكسجينية الفعالة و منع حدوث ضرر الحامض النووي (DNA) .

اشارت احدى الدراسات الى ان وجود انزيم الكاتليز المنوي بمستويات قليلة يؤدي الى ظهور خطر كبير في افشال واخفاق عمليات الاخصاب لدى الازواج العقيمين الخاضعين للإخصاب خارج الجسم (Al-Rabeeah *et al*., 2011) .

يسبب اضافة انزيم الكاتليز الى الوسط الزرعي لتحضير النطف في التقليل من الانواع الاوكسجينية الفعالة وتجزئة الحامض النووي (DNA) وزيادة معدل تفاعل الجسيم الطرفي في النطف عند الرجال سويي النطف (Chi *et al.*, 2008) .

يلعب إنزيم السوبر أوكساید الديسميوتيز وانزيم الكاتليز دوراً مهماً في انهاء حالة تحطم كروماتين النطفة (Lamond *et al.*, 2003) ، واكدت دراسة الى ان الكلوتاثيون – بيروكسيديز يكون موجوداً بكيمة اقل في الرجال العقيمين الذين تكون لديهم نوعية النطف غير سوية ولكن الدراسة نفسها لاحظت عدم وجود علاقة بين مستويات الكلوتاثيون – بيروكسيديز وامكانية النطف للأخصاب الخارجي او معدلات الحمل في الرجال الخاضعين لعمليات الاخصاب خارج الجسم (Crisol *et al.*, 2012) .

لاحظت دراسة ان للكلوتاثيون والكاتليز إنزيم السوبر أوكساید الديسميوتيز وفيتامين E لهم دور في تحسن وتطور حركة النطف ووظيفتها ونتائج الحمل في تقانات التكاثر المعان اذ انها تمتلك دور اساسي في اخماد الانواع الاوكسجينية الفعالة والتقليل من التأثيرات الضارة على النطف (Agarwal and Majzoub ,20017) .

7.2 : الإجهاد ألتأكسدي و العقم الذكري

The oxidative stress and male infertility

توصلت بعض الدراسات بعد إجراء تحليل المني لمرضى العقم الذكري إلى وجود هبوط أكثر في العدد الكلي للنطف و كذلك في حجم السائل المنوي مقارنة بـ ألـ 50 سنة الماضية كما لوحظ أنه في عام 1940 كان معدل العدد الكلي للنطف هو 113 مليون لكل مل و لكن في عام 1995 توصلت الدراسات إلى أن العدد الكلي للنطف بدأ يتراجع إذ أصبح العدد الكلي للنطف ما يقارب 66 مليون لكل مل وهذا الهبوط في العدد الكلي للنطف يعود إلى الظروف البيئية غير الملائمة والتي تشمل الغذاء غير المتنوع و غير الصحي إضافة إلى أسلوب الحياة غير الكفوء و غير الصحيح وهذه العوامل جميعها تؤثر على قدرة الرجل في إنتاج النطف إضافة إلى أنها تمتلك دوراً فعالاً في ظهور حالة الإجهاد التأكسدي المرضية (Agarwal and prabakaran , 2005) .

الفائض من مستويات التراكيز للأنواع الأوكسجينية الفعالة الموجودة في القناة التناسلية لا يهاجم الغشاء البلازمي المرن للنطفة فقط و إنما يؤثر سلبياً على وحدة الحامض النووي (DNA) وتكامله في أنوية النطف أذ إن قواعد الحامض النووي (DNA) تكون سريعة التأثير بالضرر الناتج عن عملية الأكسدة مما يؤدي إلى حدوث تغييرات وتحويرات فيها إضافة إلى إصابة أشرطة الحامض النووي(DNA) بالكسر و التلف و هذا دليل واضح على أن تحطم الحامض النووي (DNA) يلاحظ في خلايا النطف للرجال العقيمين التي تتميز نطفهم بوجود مستويات عالية من تراكيز الأنواع الأوكسجينية الفعالة (Agarwal and prabakaran , 2005) .

زيادة تركيز الأنواع الأوكسجينية الفعالة تؤدي إلى حالة الإجهاد ألتأكسدي وبالتالي تسبب في أحداث الضرر للحامض النووي (DNA) المايتوكوندري .

التأثيرات السلبية الأخرى لحالة الإجهاد ألتأكسدي عملها على تحفيز حدوث عملية الأكسدة الفوقية للدهون في أغشية النطف إضافة إلى قدرته في تغير و تحوير أغلب الجزيئات الخلوية والتي تتضمن البروتينات

والدهون والأحماض النووية وهذا يشكل زيادة في نفوذية غشاء النطفة و بالتالي يسبب فقدان وحدة الغشاء الخلوي وفقدان نشاط الإنزيمات وعدم تحفيزها و اختفاء مركب الطاقة ادينوسين ثلاثي الفوسفات (ATP) (Bansal and Bilaspuri, 2011) .

يؤثر الإجهاد ألتأكسدي سلبياً على وظائف النطفة التي تتضمن عملية التمكين و تفاعل الجسيم الطرفي إضافة إلى الشكل الظاهري للنطفة وخمح القناة البولية التناسلية إضافة إلى خروج خلايا البلعمة والخلايا البيض والخلايا العدلة و عدم السيطرة عليها في المني مما يؤدي إلى زيادة تركيزها (Novotny *et al.*, 2013).

1.7.2 : الإجهاد التأكسدي و تقانات التكاثر المعان

The oxidative stress and the assisted reproduction techniques

أشار الباحثون إلى تقييم حالتي الإجهاد التأكسدي و ضرر الحامض النووي (DNA) للنطف يقود إلى العلاج باستعمال تقانات التكاثر المعان والتي من ضمنها تقانة التلقيح داخل الرحم و كذلك تقانة الإخصاب الخارجي (Antinori *et al.*, 2008) .

الأنواع الأوكسجينية الفعالة التي تظهر في تقانة التكاثر المعان من المحتمل أن تنشأ من مصادر مختلفة تشمل الخلايا المتجمعة الكبيرة الحجم والبيضة إضافة إلى احتمال نشؤها من الأجنة (Agarwal *et al.*, 2012).

تؤدي الأيونات المعدنية والأوكسجين دوراً مهماً في زيادة تراكيز الأنواع الأوكسجينية الفعالة في الوسط ألزرعي المستعمل في تقانة التكاثر المعان (Levente , 2012) .

أن من الضروري قياس الأنواع الأوكسجينية الفعالة في الوسط ألزرعي المستعمل في تقانات التكاثر المعان أو الموجودة في السائل الجريبي أو في المني لأنها تقدم صورة واضحة للمريض عن عجز تقانة التكاثر المعان وقصورها التي تتضمن الإخصاب الخارجي و الحقن ألمجهري و ذلك في حالة كون تراكيز الأنواع الأوكسجينية الفعالة عالية كثيراً مما يؤدي إلى التهيئة و الاستعداد لمحاولات مستقبلية أفضل (Yunus *et al.*, 2013) .

الأنواع الأوكسجينية الفعالة الموجودة في الوسط ألزرعي المستعمل في تقانة التكاثر المعان لها تأثيرات سلبية و ضارة على انقسام خلايا الجنين (Bedaiwy *et al.*, 2009) ، كما ان التركيز العالي للأنواع الأوكسجينية الفعالة في الوسط الزرعي المستعمل في تقانة التكاثر المعان يسبب تأثيرات سلبية إذ يؤدي الى اضطراب في تقدم مرحلة كيس الاريمية و تطورها و ضعف عملية الإخصاب و معدلات انقسام البيضة و من ثم تجزئة خلايا الجنين بعد إجراء تقانة التلقيح ألمجهري (Bedaiwy *et al.*, 2004) .

8.2 : حامض الستريك المنوي Seminal Citric Acid

يعرف حامض الستريك بانه حامض ثلاثي الكاربوكسيل عضوي وصيغته الكيميائية هي $C_6H_8O_7$ كما يوجد بصورة طبيعية في الفاكهة الحمضية ومن الناحية الكيموحيوية يعد حامض الستريك مركب وسطي

مهم في دورة كريبس Kerbs Cycle اذ انه يوجد في ايض الكائنات الهوائية جميعها (Apleblat and Alexander ,2014) ، وتم عزل هذا الحامض لاول مرة عام 1738م عن طريق عالم الكيمياء Carlwihelm الذي قام ببلورته واستخراجه من عصير الليمون .

. (Frank and Verhoff , 2005)

1.8.2 : دور حامض الستريك المنوي في الاخصاب

The Role of Citric Acid in Fertilization

يعد حامض الستريك من افرازات غدة البروستات المهمة في المني التي تشمل عنصر الزنك والكالسيوم والفوسفات وافرازات بروستاتية اخرى مهمة لوظيفة النطفة (Marconi *et al.*, 2009) .

يفرز حامض الستريك من طريق الخلايا الطلائية في غدة البروستات (Alshahrani *et al.*, 2013) ، كما انه يشغل نسبة عالية من افرازات غدة البروستات (Kavanagh *et al.*, 1982) ويؤدي دوراً مهماً في وظيفة البروستات ويعد العامل المهم في المحافظة على الرقم الهيدروجيني (pH) للبلازما المنوية (Saide *et al.*, 2009) .

يمتلك حامض الستريك خواص مضادات الاكسدة اذ انه يسهم في تحسن حالات العقم الذكري وذلك من خلال تأثيره على تحسن حركة النطف (Lombardo *et al.*, 2012) .

يمتلك هذا الحامض التأثير المهم والفعال في التقليل من وجود الانواع الاوكسجينية الفعالة في المني البشري ويعمل على تحسّن عيوشية النطف ومعدلات الحمل (Vicari *et al.*, 2002) .

تشير التقارير العلمية الى ان حامض الستريك المنوي المفرز من غدة البروستات يساعد على تقييم الحالة الوظيفية لغدة البروستات ويسهم حامض الستريك في تنوع مكونات المني المقذوف ، كما ان انعدام حامض الستريك في المني المقذوف او قلته يشير الى الفشل الوظيفي لغدة البروستات وان قلة تركيز حامض الستريك ربما يؤدي الى حالات التهاب غدة البروستات ، كذلك يقل مستوى تركيز حامض الستريك عند زيادة قلوية المني مما يشير الى وجود التهاب وتشوه في غدة البروستات (Sreenivasa *et al.*, 2011) ولحامض الستريك الدور المهم والفعال في تحقيق عملية الاخصاب للنطف السوية مع البيوض (Diemer *et al.*, 2007) اذ ان حامض الستريك يؤثر ايجابياً على تركيز عنصر الزنك ووظيفة النطف في السائل المنوي (Cheah and Yang , 2011) .

اشار Zorn وجماعته (2003) الى ان هنالك علاقة عالية بين المستوى العالي لتركيز إنزيم Elastase المفرز من كريات الدم البيض المتعددة الفصوص النووية Polymorphonuclear وحامض الستريك في السائل المنوي للرجال العقيمين وكذلك توجد علاقة معنوية ($p<0.05$) بين تركيز إنزيم Elastesa وكمية حامض الستريك القليلة لدى المرضى المصابين ببكتريا Chlamydia (Yoshida *et al.*, 1994) ، تظهر عند اغلب مرضى التهاب البروستات تراكيز قليلة من حامض الستريك وهذا مؤشر الى ضعف وظيفة غدة البروستات(Zdrodowska - Stefanow *et al.*, 2008).

يعد حامض الستريك المفرز من غدة البروستات من المؤشرات الكيموحيوية المهمة والكلاسيكية لوظيفة غدة البروستات (WHO,1999) اذ ان حامض الستريك يستعمل لتحديد وظيفة غدة البروستات عند الاشخاص المرضى وقياسها (Motrich *et al.*, 2016) .

9.2 : الفركتوز المنوي Seminal Fructose

يعد الفركتوز المنوي أحد إفرازات الحويصلة المنوية و لذلك يعّد مؤشراً مهماً و حيوياً لوظيفة الحويصلة المنوية كما أنه يشكل المصدر الرئيس لطاقة الخلايا في السائل المنوي و كذلك يعمل كمادة مضادة للأكسدة و يمنع حدوث تلازن النطف (Hamada *et al.*,2011) ، كما أن تركيز مستويات الفركتوز الطبيعية في عينات السائل المنوي تتراوح ما بين (450–120 mg/d) (Kandell *et al.*, 2007) .

1.9.2 : تأثيرات سكر الفركتوز المنوي على النطف وخمح الجهاز التناسلي الذكري و بعض حالات العقم الذكري

The effect of seminal fructose on the sperms , infection of the male reproductive system and some cases of the male infertility

أشار كل من Buckett و Lewis – Jones (2002) إلى أن سكر الفركتوز المنوي هو المصدر الرئيس للكاربوهيدرات في البلازما المنوية مما يسبب تأثيراً مهم على حركة النطف في السائل المنوي أذ أن حركة النطف تزداد مع استهلاك سكر الفركتوز المنوي .

بينت دراسة قام بها Said وجماعته (2009) وجود علاقة سالبة بين حركة النطف وتركيز سكر الفركتوز في السائل المنوي ، كما أكد Al–Janabi و جماعته (2012) أن هنالك علاقة سالبة وبشكل معنوي ($p<0.05$) ملحوظ بين مستوى الفركتوز المنوي وتركيز النطف من جهة وبشكل معنوي ($p<0.05$) بين مستوى الفركتوز المنوي و خصائص الحركة (النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف) من جهة أخرى و كذلك توجد علاقة وثيقة بين وظيفة النطفة ومستوى الفركتوز المنوي (khatoon *et al.*, 2014) وإن النطف المتحركة في حالات الإخصاب خارج الجسم تستهلك الفركتوز المنوي بشكل متواصل .

توجد علاقة سالبة بين سكر الفركتوز المنوي والخلل الحاصل في رأس النطفة إذ تبين أن مستوى الفركتوز المنوي يكون قليلاً جداً في هذه الحالة وذلك بسبب استهلاكه من قبل النطفة لغرض إصلاحه للاضطراب الذي يحصل في رأس النطفة مما يسبب اكتساب رأس النطفة قدرة على اختراق اغشية البيضة (Amidu *et al.*, 2012) .

إن من أهم العوامل التي تؤدي إلى قلة مستوى تركيز الفركتوز في السائل المنوي هو حدوث التهاب الحويصلة المنوية Seminal vesiculitis إضافة إلى نقص هرمونات الأندروجين Androgen hormone وذلك لان نقص هرمونات الاندروجين المتمثلة بالتستوسيترون يؤدي الى قلة تحفيو

الحويصلات المنوية لافراز سكر الفركتوز وبالتالي قلته في البلازما المنوية وحدوث انسداد جزئي في القنوات القاذفة (Campbell – Walsh *et al.*, 2007) ويسبب الفقدان الخلقي للحويصلة المنوية والوعاء الأسهر غياب سكر الفركتوز المنوي (Kandell *et al.*, 2007) كما أن العجز الذي يحدث في المرحلة التطورية للقنوات الناقلة المني يؤدي كذلك إلى غياب الفركتوز المنوي (Kise *et al.*, 2000 ; Kumar *et al.*, 2005) .

لوحظ وجود انخفاض في تركيز الفركتوز المنوي في عينات السائل المنوي للأشخاص سويي النطف و هذا يعود إلى استعماله و استهلاكه من قبل النطف في عمليات الأيض وتحرير الطاقة الضرورية لحركة النطف (Yassa *et al.*, 2001 ; Corrales *et al.*, 2000) كما أن حالة تعدد النطف Polyzoospermia المنوي للذكور من المحتمل أن تسبب حدوث حالة وهن النطف الحادة Sever Asthenozoospermia (Khatoon *et al.*, 2014) و هذا يرجع إلى أن حالة تعدد النطف تؤدي إلى حدوث تنافس النطف على استهلاك سكر الفركتوز المنوي و يؤدي ذلك إلى أن قسماً من النطف تترك من دون سكر الفركتوز المنوي الذي يعّد مصدراً للطاقة الرئيسي للنطف مما يسبب عنه حالة وهن النطف (Hajimaghsoudi *et al.*, 2008) ، وأما حالة اللانطفية الأنسدادية Obstruction (OA) Azoospermia فان حجم القذفة و تركيز الفركتوز المنوي يقل في المني (Kolettis , 2003) .

الفصل الثالث

3 . المواد وطرائق العمل Materials and Methods

1.3 : عينات الدراسة The study samples

اجريت هذه الدراسة في مختبرات مركز الخصوبة Fertility center في مدينة الصدر الطبية / محافظة النجف الاشرف واستمرت مدة الدراسة من 2016/4/1 لغاية 2017/3/1 .

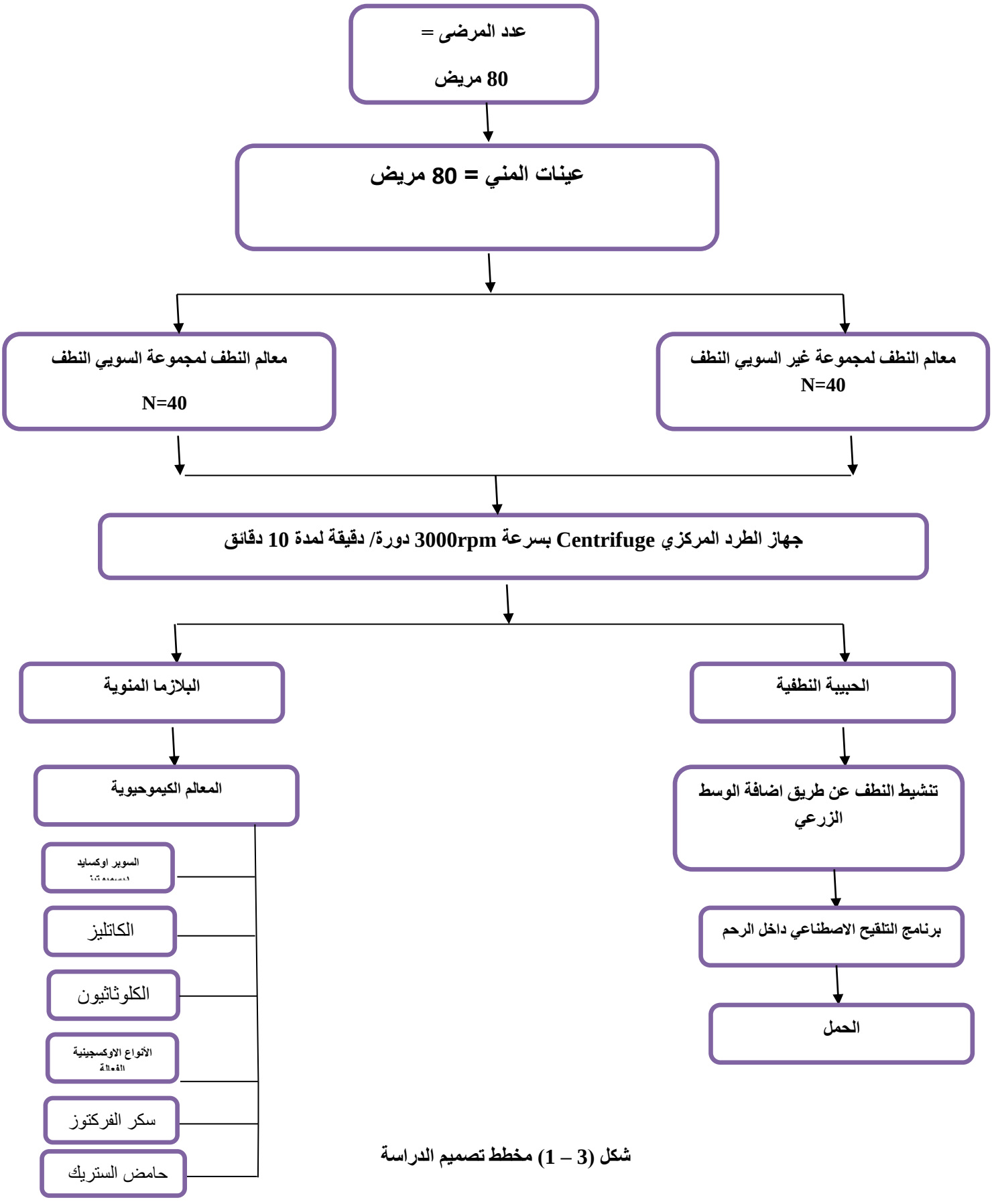
تضمنت الدراسة فحص عينات المني للأشخاص الوافدين لغرض المعالجة في المركز والذي شمل فحصاً اولياً تم من خلاله تحديد عينات النطف السوية عن غير السوية .

تضمن الفحص الاولي اخذ العينات في وعاء بلاستيكي سعته 40 مليلتر ووضعت في الحاضنة Incubator لمدة 30 دقيقة وبدرجة حرارة 37 مْ ، اخذت من كل عينة قطرة ووضعت على شريحة زجاجية وفحصت تحت المجهر لتحديد معايير النطف (WHO,2010).

أخذت 40 عينة مني لذكور سويي النطف و 40 عينة مني لذكور غير سويي النطف اذ كانوا (4) منهم يعانون من قلة ووهن النطفOligo –Asthenozoospermia و(27) يعانون من وهن النطف Asthenozoospermia و(5) منهم يعانون من وهن النطف وتشوهها Astheno-Teratozoospermia و(1) يعاني من قلة النطف Oligozoospermia و(3) منهم يعانون من قلة ووهن وتشوه النطف Oligo-Astheno-Teratozoospermia .

تراوحت اعمار الرجال في هذه الدراسة من (21-45) سنة اما اعمار النساء كانت اقل من (35) لكي لا تؤثر على النتائج .

استنادا إلى منظمة الصحة العالمية WHO (2010) قسمت كل عينة الى قسمين استخدم القسم الاول لقياس معالم النطف ثم دورت العينة بجهاز الطرد المركزي Centrifuge بسرعة 3000rpm دورة/ دقيقة لمدة 10 دقائق لغرض عزل البلازما المنوية وقياس المعايير الكيموحيوية فيها ، اما الجزء الثاني استخدم لغرض تنشيط النطف بطريقة السباحة الى الاعلى من الحبيبة النطفية (pellet) قبل حقنها بالرحم ، تم اضافة الوسط الزرعي المنشط (Ferticult flushing media) الى العينات وتم تدويرها في جهاز الطرد المركزي بسرعة 2000rpm دورة/ دقيقة لمدة 10 دقائق تم بعدها التخلص من الجزء الطافي ، وبعد ذلك اضيف الوسط الزرعي الى الحبيبة النطفية وحضنت بدرجة 37 مئوية في الحاضنة لمدة 30 دقيقة وباستخدام ماصة معقمة تم سحب الجزء الطافي الحاوي على النطف النشطة لاستخدمها للحقن داخل الرحم اذ تم فحص قطرة من هذا السائل لضمان تواجد النطف النشطة قبل حقنها .



شكل (3 – 1) مخطط تصميم الدراسة

2.3 : الأجهزة المستعملة : Instruments

الجدول (3 –1): الأجهزة المستعملة لإنجاز الية البحث مع اسم الشركة المجهزة .

ت	اسم الجهاز	الشركة المجهزة
1	جهاز الطرد المركزي: Centrifuge	Universal 16A, Germany
2	انبوبة ايبندروف :Epindrof tube	Germany
3	حاضنة : Incubator	Memmert , Germany
4	مجهر ضوئي : Light Microscope	Olympus , Germany
5	ماصة اوتوماتيكية :Micro-pipette	China
6	حمام مائي : Water bath	Glison , France
7	ميزان حساس :Sensitive balance	Mettler – (USA)

3.3 : المواد الكيميائية والأوساط المستعملة :

الجدول (3 – 2) المواد الكيميائية والأوساط المستعملة لإنجاز آلية البحث مع اسم الشركة المجهزة

ت	اسم المادة الكيميائية	الشركة المجهزة
1	Ferticult flushing medium	Fertipro (Belgium)
2	كت لفحص السوبر اوكساید دیسمیوتیز (SOD) Superoxide dismutase kit	Elabscince , China
3	كت لفحص الكاتليز (CAT) catlase kit	Elabscince , China
4	كت لفحص الكلوتاثيون (GSH) Glutathion kit	Elabscince , China
5	كت لفحص الأنواع الاوكسجينية الفعالة (ROS) Reactive Oxygen Species kit	Elabscince , China
6	كت لفحص سكر الفركنوز Fructose suger kit	Fertipro (Belgium)
7	كت لفحص حامض الستريك Citric acid kit	Fertipro (Belgium)

4.3 : البيانات المختبرية للمرضى :

تم تسجيل البيانات المختبرية لكل مريض بحسب الاستمارة المخصصة لهذا الغرض الشكل (3– 2)

اسم المريض :	Patient Name :
العمر : ( ) سنة	Age:
تاريخ الزواج :	
مدة الانقطاع : ( ) يوم	Abstinece :
نوع العقم : أولي :	ثانوي :
عدد عمليات التلقيح الاصطناعي :	
القيلة الدوالية :	
التدخين :	
الحمل : Negative	Positive :

ت	معالم النطف والمني	القيم الطبيعية حسب (WHO,2010)	النتائج	ت	المعالم الكيموحيوية	النتائج
1	تركيز النطف مليون / مل Concentration (million/ml)	15مليون /مل≤		1	سوبر اوكسيد ديسميوتيز (SOD) (pg/ml)	
2	النسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية %	≥ %32		2	الكاتليز (CAT) (ng/ml)	
3	النسبة المئوية للنطف السوية %	%4		3	الكلوتاثيون (GSH) (mg/ml)	
4	حجم المني (مل)	1.5 مل		4	الانواع الاوكسجينية الفعالة (ROS) (ng/ml)	
5	تركيز الخلايا الدائرية (مليون/مل)	5 مليون <		5	سكر الفركتوز (Fructose) (mg/ml)	
6	عيوشية النطف (%)	%58		6	حامض الستريك (Citric acid) (mg/ml)	

الشكل (3 – 2) استمارة البيانات المختبرية للمرضى المستعملة في الدراسة .

5.3 : جمع السائل المنوي Seminal fluid collection

تم جمع عينات السائل المنوي في وعاء Container نظيف وجاف ومعقم سعته تبلغ (40) مليلتر وكتب اسم الزوج على الوعاء كما تم جمع المني بطريقة الاستمناء Masturbation بعد مدة انقطاع عن الاتصال الجنسي بلغت من (3 – 5) أيام Abstinence period وبعد ذلك وضعت العينات في الحاضنة لمدة 15-30 دقيقة وبدرجة حرارة 37 مْ لغرض مدة الاماعة الطبيعية للعينات Normal Liquefaction (WHO, 2010) .

6.3 : فحص السائل المنوي Seminal fluid analysis

فحصت كل عينة بعد اكتمال الاماعة عيانيا ومجهريا وسجلت المعلومات ونتائج الفحوصات للسائل المنوي استنادا إلى تقرير منظمة الصحة العالمية WHO (2010) على وفق ما يأتي :

1.6.3 : الفحص العياني Macroscopic examination

1.1.6.3 : حجم المني Semen volume

حجم السائل المنوي تم قياسه من طريق استعمال أنابيب اختبار مدرجة ، إذ يتراوح الحجم الطبيعي لدفق الرجل ما بين (2 – 6) مل ، وعندما يقل حجم العينة عن 2 مل ، في هذه الحالة العينة تسمى ناقصة الحجم Hypovolumic وعندما يزداد حجمها عن 6 مل فيطلق على العينة في هذه الحالة بمفرطة الحجم Hypervolumic .

2.1.6.3 : اللزوجة Viscosity

من طريق ملاحظة الخيط المخاطي ، تم تقدير لزوجة المني المتميع وذلك من طريق دفق العينة من الماصة pipette ويعد قوام المني سويا عند تدفقه قطرة فقطرة من الماصة بينما يكون القوام شاذا عندما تكون العينة خيطيا أكثر من 2 سم .

3.1.6.3 : الأس الهيدروجيني pH

تم قياس الأس الهيدروجيني للمني باستخدام أشرطة خاصة (pH Strip) معّدة لهذا الغرض ومن ثم مقارنتها مع الشريط القياسي المدرج والمرقم (1 – 14) بعد الاماعة ، ويعد المني ذو طبيعة قاعدية إذ تتراوح قيمة الأس الهيدروجيني الطبيعية للسائل المنوي ما بين (7.2 – 7.8) .

2.6.3 : الفحص المجهري Microscopic examination

تم هذا الفحص من طريق اخذ قطرة 10 مايكروليتر من كل عينة ممزوجة جيدا بعد الاماعة التامة ثم وضعت القطرة على شريحة زجاجية دافئة وغطيت بغطاء زجاجي Cover slide (mm22x22) ثم تم فحص العينة بعد ذلك تحت العدسة الشيئية أولا تحت قوة 10x ومن ثم القوة 40x وبعد ذلك تم قياس وفحص المعالم النطف التالية اعتماداً على WHO (2010) :

1.2.6.3 : تركيز النطف Sperm concentration

تم حسابه في 1 مليليتر وذلك من معدل عدد النطف في عشرة حقول مجهرية Fields عشوائيا من السائل المنوي وضرب معدل العدد بالعامل 10^6 مليون نطفة للمليلتر الواحد .

2.2.6.3 : النسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية

Progressive sperm motility percentage

تم حساب الخلايا النطفية في عشرة حقول مجهرية عشوائيا وبعد ذلك تم حساب النسبة المئوية للنطف المتحركة تقدميا حسب المعادلة التالية :

$$\text{النسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية} = \frac{\text{عدد النطف المتحركة حركة تقدمية}}{\text{عدد النطف الكلي}} \times 100$$

3.2.6.3 : النسبة المئوية للنطف السوية

Normal sperm morphology percentage

تم حساب الخلايا النطفية في عشرة حقول مجهرية عشوائيا وبعد ذلك تم حساب النسبة المئوية للخلايا النطفية السوية بحسب المعادلة الاتية :

$$\text{النسبة المئوية للنطف السوية} = \frac{\text{عدد النطف السوية}}{\text{العددالكلي للنطف}} \times 100$$

4.2.6.3 : تحضير النطف لعملية التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI)

Sperm preparation for (IUI)

بعد إكمال فحص معالم السائل المنوي استعملت طريقة السباحة إلى الأعلى غير المباشرة من الحبيبة النطفية Swim up from the pellet والتي تضمنت الخطوات التالية :

١- مزج السائل المنوي جيدا .

٢- نقل العينة إلى أنبوب اختبار (conical tube) .

٣- اضيف 2-3 مل من الوسط الزرعي المنشط (Ferticult flushing media) الى عينة المني وتم مزجها جيداً .

٤- وضع العينة في جهاز الطرد المركزي centrifuge وبسرعة 2000rpm دورة في الدقيقة لمدة 10 دقائق ومن ثم إزالة الطافي (supernatant) وإبقاء الحبيبة النطفية (pellet).

٥- غطيت الحبيبة النطفية بـ(0.5 -1) مل من الوسط الزرعي المنشط (Ferticult flushing media) وحضنت بدرجة (37) مئوية لمدة 30 دقيقة بعد ذلك نقل الوسط الزرعي بلطف والذي يحوي على النطف النشطة .

٦- استعملت العينات النشطة مباشرة في عملية التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI) حيث تم سحب 0.5-1 مل من المادة المنوية المنشطة بوساطة محقنة طبية قياس 1 مل وارسلت الى الطبيبة المختصة لغرض حقن النطف داخل الرحم من خلال ادخال كاثتر خاص تدعى IUI Catheter داخل الرحم (Coward and wells , 2013) .

7.3 : الفحوصات الكيموحيوية Biochemical examination

بعد فحص عينات السائل المنوي وتسجيل معالم النطف والمني وضعت العينات في جهاز الطرد المركزي وبـسرعة (3000) دورة لمدة (10) دقائق ومن ثم تم الحصول على البلازما المنوية ثم سجلت الفحوصات الكيميائية في البلازما المنوية وبعد ذلك تم تحديد مستويات الفحوصات الكيميائية في البلازما المنوية المتمثلة بالسوبر اوكسايد ديسميوتيز، الكاتليز الكلوتاثيون والأنواع الاوكسجينية الفعالة باستعمال Kit من نوع Elisa المنتج من قبل الشركة Elabscince.

تم فحص تركيز سكر الفركتوز في البلازما المنوية بطريقة :

Photometric test for quantifying fructose in human seminal plasma بموجب خطوات وضعت من قبل WHO (2010) :

أ- محتويات الكت :

١- (50ml) من مادة او محلول Trichloroacetic acid powder (TCA)(1)Reagent-1

٢- (25ml) من محلول حامض الهيدروكلوريك بتركيز 32% Reagent(2) -2

٣- (3ml) من محلول Indole Reagent(3)-3

٤- (25ml) من محلول هيدروكسيد الصوديوم :(NaOH) Reagent(4)-4

٥- (10mg/ml) من سكر الفركتوز : Fructose stander-5

ب- طريقة العمل :

١- تم حساب الحجم الكلي للمني أو لعينة المني بعد ان تمت الاماعة بدرجة حرارة الغرفة .

٢- أخذ (100µl) من المني و (100µl) من سكر الفركتوز stander وأضيف اليه (0.5ml) من مادة (Reagent1).

٣- وضع المزيج في جهاز الطرد المركزي بسرعة 1000g أو أكثر ولمدة (10) دقائق.

٤- أخذ (20µl) من supernatant الراشح .

٥- أضيف (200µl) من (Reagent2) إلى كل عينة و إلى stander .

٦- أضيف (20µl) من (Reagent3) إلى المزيج .

٧- حضن المزيج لمدة (30minute) بدرجة (37) مئوية.

٨- أضيف (200µl) من (Reagent4) إلى المزيج .

٩- أخذ (200µl) من المزيج ووضع في (well) ثم قرات على طول موجي (492nm-470nm) .

تم فحص تركيز حامض الستريك في البلازما المنوية بطريقة تسمى :

Photometric test quantifying citric acid in human seminal plasma بموجب خطوات وضعت من قبل WHO (1992) :

محتويات الكت وتشمل ما يلي :

١- (20ml) من محلول كلوريد الحديد الثلاثي Iron trichloride ($FeCl_3$) :1-Reagent(1)

٢- (10ml) من مادة Iso propanol : 2-Reagent(2)

٣- (2ml) من مادة Citric acid stander : 3-Reagent (3)

أ- طريقة العمل :

١- تم مزج (100µl) من مادة (Reagent2) مع (100µl) من المني .

٢- تم مزج (100µl) من مادة stander solution مع (100ml) من (Reagent3) .

٣- وضع المزيج في جهاز الطرد المركزي مدة (10) دقائق في سرعة (1500g) .

٤- أخذ (25µl) من الراشح ووضع في (well) .

٥- أضيف (200µl) من مادة (Reagent1) إلى (well) ببطء .

٦- قرأت النتائج عند الطول الموجي (405nm) .

8.3 : تقييم الحمل Pregnancy evaluation

تم تسجيل الحالات الموجبة في الحمل الناتجة بعد عمليات التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI) وذلك عن طريق فحص تركيز هرمون محرض القند المشيمي البشري (HCG) من نوع بيتا في مصل الدم اذ يصل تركيزه أعلى من 10IU في مصل الدم في اليوم الرابع عشر بعد عملية التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI) ، وتم حساب معدلات الحمل بحسب المعادلة التالية :

(Zegers–Hochschild *et al*., 2009 ; Al-Taee *et al*., 2014)

$$\text{معدلات الحمل} = \frac{\text{عدد النساء الحوامل}}{\text{العدد الكلي للنساء التي خضعن لـ (IUI)}} \times 100$$

9.3 : التحليل الإحصائي **Statistical analysis**

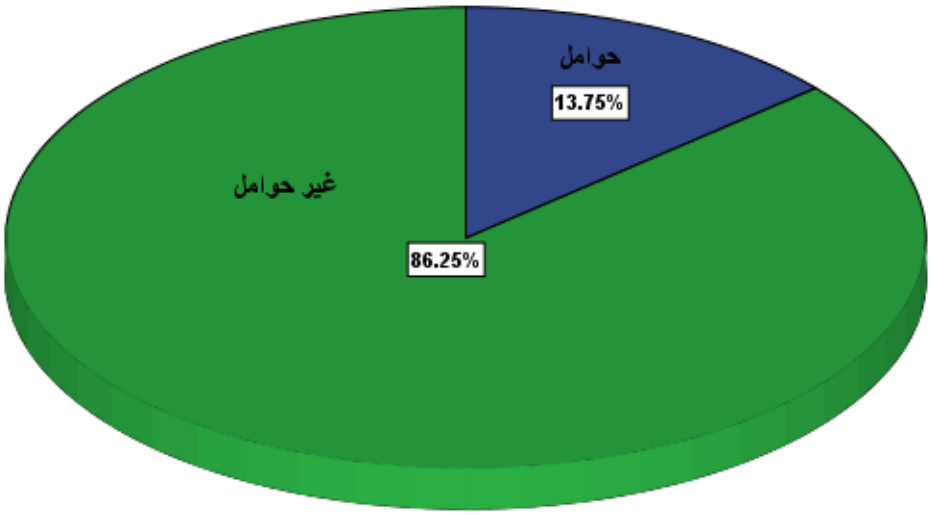
اجري التحليل الإحصائي باستخدام البرنامج الاحصائي الحزمة الاحصائية للعلوم الاجتماعية Statistical Package For Social Sciences (SPSS) النسخة العشرون الطبعة 2011 ، تضمن الإحصاء الوصفي قياس المعدل والانحراف المعياري وكذلك الأعداد والنسب المئوية ، كما شمل التحليل الإحصائي استعمال معامل ارتباط بيرسون (Pearson correlation coefficient) وكذلك استعمال اختبار (Independent sample T-Test) بالإضافة إلى اختبار تحليل التباين Analysis of variance (ANOVA) وعلى مستوى معنويه 0.05 (Daniel , 1999) .

الفصل الرابع

4. النتائج : Results

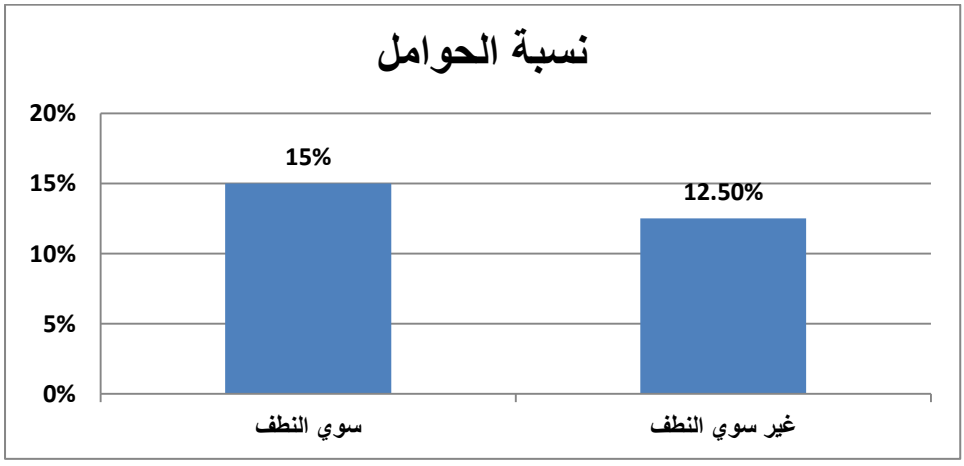
4-1 : نسبة الحمل

أظهرت نتائج الدراسة ان نسب الحمل الاجمالية كانت 13.75% للمرضى الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI) الشكل (4-1) .



الشكل (4-1) : النسب المئوية لحالات الحمل بعمليات التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI) للمرضى المشمولين بالدراسة .

عند اجراء المقارنة بين مجموعتي الدراسة بينت نتائج التحليل الاحصائي وجود زيادة غير معنوية ($P > 0.05$) في معدلات نسب الحمل للمرضى سويي النطف مقارنة بالمرضى غير سويي النطف اذ كانت نتائج معدلات الحمل لمرضى سويي النطف (15%) مقارنة بالمرضى غير سويي النطف (12.5 %) الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم(IUI) الشكل (4 -2)



الشكل (4-2) : معدل حالات الحمل بعمليات التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI) لمرضى سويي النطف وغير سويي النطف .

2-4 : معالم النطف والمني

لوحظ من نتائج الدراسة وجود ارتفاعاً معنوياً ($P < 0.05$) في تركيز النطف (66.5±28.56) والنسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية (64.32±10.97) والنسبة المئوية للنطف السوية (58.07±17.46)وحجم المني (3.012±0.84) للمرضى سويي النطف مقارنة بالمرضى غير سويي النطف (44.45 ± 32.31, 28.7 ± 11.52 , 38.12 ± 16.85 , 2.44 ± 0.86) : على التوالي.

جدول : (4 – 1) معالم النطف والمني للمرضى سويي وغير سويي النطف الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم. (IUI)

معالم النطف و المني	سويي النطف (n=40)	غير سويي النطف (n=40)	P- value
	mean±SD	mean±SD	
تركيز النطف (concentration) (million/ml)	66.5±28.56	44.45±32.31	0.002*
النسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية% (Motility)	64.32±10.97	28.7±11.52	<0.001*
النسبة المئوية للنطف السوية% (morphology)	58.07±17.46	38.12±16.85	<0.001*
حجم المني (volume) (ml)	3.012±0.84	2.44±0.86	0.004*

*وجود فرق معنوي بين المجموعتين(t-test)

3-4: المعالم الكيموحيوية في السائل المنوي

اظهرت المعالم الكيموحيوية المتمثلة بـ السوبر اوكسايد ديسميوتيز والكاتليزارتفاعاً معنوياً ($P < 0.05$) للمرضى سويي النطف مقارنة بالمرضى غير سويي النطف اذ بلغت النتائج لسويي النطف (784.08 ± 351.31)لسوبر اوكسايد ديسميوتيز و (3.94 ± 1.83) للكاتليز بينما كانت قيم السوبر اوكسايد ديسميوتيز هي (569.28 ± 300.66) والكاتليز (2.83 ± 1.84) للمرضى غير سويي النطف . كما لوحظ انخفاضاً معنوياً ($P < 0.05$) في قيمة الانواع الاوكسجينية الفعالة للمرضى سويي النطف (3.66 ±2.22) مقارنة بالمرضى غير السويي النطف (5.21 ± 2.39) في حين اظهرت النتائج عدم وجود فروق معنوية ($P > 0.05$) في المعالم الكيموحيوية المتمثلة بالكلوتاثيون وسكر الفركتوز وحامض الستريك للمرضى سويي النطف مقارنة بالمرضى غير سويي النطف الجدول (4-2) .

الجدول (4-2) : المعالم الكيموحيوية للمرضى سويي النطف وغير سويي النطف الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم. (IUI)

المعالم الكيموحيوية	سويي النطف (n=40)	غير سويي النطف (n=40)	P- value
	mean±SD	mean±SD	
سوبر اوكسايد ديسميوتيز (SOD) (pg/ml)	784.08±351.31	569.28±300.66	*0.004
الكاتليز (Catalase) (ng/ml)	3.94±1.83	2.83±1.84	*0.004
الكلوتاثيون (Glutathion) (µg/ml)	210.75±70.59	184.39±78.90	*0.119
الانواع الاوكسجينية الفعالة (ROS) (ng/ml)	3.66±2.22	5.21±2.39	*0.004
سكر الفركتوز (Fructose)(mg/ml)	2.47±1.15	3.29±2.60	0.179
حامض الستريك (citric acid)(mg/ml)	9.93±5.10	11.45±6.04	0.227

*وجود فرق معنوي بين المجموعتين(t-test)

4-4 : العلاقة بين تركيز الفركتوز ومعالم النطف والمني

اشارت نتائج الدراسة الى وجود علاقة سالبة غير معنوية ($P > 0.05$) بين تركيز الفركتوز ومعالم النطف والمني المتمثلة بتركيز النطف والنسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية والنسبة المئوية للنطف السوية اضافة الى حجم المني للمرضى الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (الجدول 4- 3) .

الجدول : (4-3) العلاقة بين تركيز سكر الفركتوز ومعالم النطف والمني للمرضى الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم. (IUI)

معالم النطف والمني	r	P- value
تركيز النطف(concentration) (million/ml)	-0.153	0.176
النسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية% (motility)	-0.154	0.174
النسبة المئوية للنطف السوية% (morphology)	-0.200	0.075
(volume) (ml) (حجم المني) مل	-0.023	0.839

5-4 : العلاقة بين تركيز الفركتوز والمعالم الكيموحيوية للسائل المنوي

اشارت النتائج الى وجود علاقة سالبة معنوية ($P < 0.05$) بين تركيز الفركتوز والمعالم الكيموحيوية المتمثلة بـ سوبر اوكساید ديسميوتيز ($r = -0.230$, $P < 0.05$) والكاتليز ($r = -0.244$, $P < 0.05$) اما العلاقة بين تركيز الفركتوز والكلوتاثيون فكانت علاقة سالبة غير معنوية من الناحية الاحصائية ($r = -0.033$, $P > 0.05$) كذلك لوحظ وجود علاقة موجبة غير معنوية ($r = 0.093$, $P > 0.05$) بين تركيز الفركتوز والانواع الاوكسجينية الفعالة (الجدول 4- 4) .

الجدول (4-4) : العلاقة بين تركيز الفركتوز والمعالم الكيموحيوية للمرضى الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI) .

المعالم الكيموحيوية	r	P- value
سوبر اوكساید ديسميوتيز (SOD) (pg/ml)	**-0.230**	**0.040***
الكاتليز (CAT) (ng/ml)	**-0.244**	**0.029***
الكلوتاثيون (GSH) (µg/ml)	**-0.033**	**0.771**
الانواع الاوكسجينية الفعالة (ROS) (ng/ml)	**0.093**	**0.410**

*وجود علاقة معنوية بين المتغيرات(pearson correlation coefficient r)

6-4 : العلاقة بين تركيز حامض الستريك ومعالم النطف والمني

يشير الجدول (4-5) الى وجود علاقة سالبة غير معنوية ($P > 0.05$) بين تركيز حامض الستريك ومعالم النطف والمني المتمثلة بتركيز النطف ($r = -0.182$, $P > 0.05$) والنسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية ($r = -0.020$, $P > 0.05$) والنسبة المئوية للنطف السوية ($r = -0.093$, $P > 0.05$) بينما لوحظ وجود علاقة موجبة معنوية بين تركيز حامض الستريك وحجم المني ($r = 0.272$, $P < 0.05$).

الجدول (4-5): العلاقة بين تركيز حامض الستريك ومعالم النطف والمني للمرضى الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI) .

معالم النطف والمني	r	P- value
تركيز النطف(concentration) (million/ml)	**-0.182**	**0.107**
النسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية% (motility)	**-0.020**	**0.861**
النسبة المئوية للنطف السوية% (morphology)	**-0.093**	**0.413**
(volume) (ml)(حجم المني) (مل)	**0.272**	**0.015***

*وجود علاقة معنوية بين المتغيرات(r pearson correlation coefficient)

4-7 : العلاقة بين تركيز حامض الستريك والمعالم الكيموحيوية للسائل المنوي

يشير الجدول (4-6) الى وجود علاقة موجبة غير معنوية ($P > 0.05$) بين تركيز حامض الستريك والمعالم الكيموحيوية المتمثلة بـ السوبر اوكساید ديسميوتيز ($r =0.057, P > 0.05$) والكلوتاثيون ($r=0.101, P > 0.05$) والانواع الاوكسجينية الفعالة ($r=0.023 , P>0.05$) كما اشار الجدول الى وجود علاقة سالبة غير معنوية ($P > 0.05$) بين تركيز حامض الستريك والكاتليز ($r=-0.005 , P > 0.05$) .

الجدول (4- 6) : العلاقة بين تركيز حامض الستريك والمعالم الكيموحيوية للمرضى الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI) .

المعالم الكيموحيوية	r	P- value
سوبر اوكساید ديسميوتيز (SOD) (pg/ml)	**0.057**	**0.614**
الكاتليز (CAT) (ng/ml)	**-0.005**	**0.965**
الكلوتاثيون (GSH) (µg/ml)	**0.101**	**0.370**
الانواع الاوكسجينية الفعالة (ROS) (ng/ml)	**0.023**	**0.839**

4-8 : العلاقة بين تركيز الانواع الاوكسجينية الفعالة ومعالم النطف والمني

اظهرت النتائج وجود علاقة سالبة معنوية ($P< 0.05$) بين الانواع الاوكسجينية الفعالة ومعالم النطف والمني المتمثلة بتركيز النطف ($r=-0.284 , P < 0.05$) والنسبة المئوية للنطفة ذات الحركة التقدمية ($r=-0.319 , P< 0.05$) والنسبة المئوية للنطف السوية ($r= -0.341 , P<0.05$) وحجم المني ($r=-0.434 , P<0.05$) (الجدول 4-7) .

الجدول (4 – 7) : العلاقة بين تركيز الانواع الاوكسجينية الفعالة (ROS) ومعالم النطف والمني للمرضى الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI) .

معالم النطف والمني	r	P- value
تركيز النطف (concentration) (million/ml)	**-0.284**	**0.011***
النسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية% (motility)	**-0.319**	**0.004***
النسبة المئوية للنطف السوية% (morphology)	**-0.341**	**0.002***
حجم المني) مل((volume) (ml)	**-0.434**	**<0.001***

*وجود علاقة معنوية بين المتغيرات(r pearson correlation coefficient)

4-9 : العلاقة بين تركيز الانواع الاوكسجينية الفعالة والمعالم الكيموحيوية في السائل المنوي

يوضح الجدول (4-8) وجود علاقة سالبة معنوية (P< 0.05) بين تركيز الانواع الاوكسجينية الفعالة والمعالم الكيموحيوية المتمثلة بـ سوبر اوكساید ديسميوتيز (r=-0.341 ,P<0.05) والكاتليز (r=-0.238 , P<0.05) كما يشير الجدول الى وجود علاقة سالبة غير معنوية (P> 0.05) بين الانواع الاوكسجينية الفعالة والكلوتاثيون (r=-0.084 ,P>0.05) .

الجدول (4-8) : العلاقة بين تركيز الانواع الاوكسجينية الفعالة والمعالم الكيموحيوية للمرضى الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI) .

المعالم الكيموحيوية	r	P- value
سوبر اوكساید ديسميوتيز (SOD) (pg/ml)	**-0.341**	**0.002***
الكاتليز (CAT) (ng/ml)	**-0.238**	**0.033***
الكلوتاثيون (GSH) (µg/ml)	**-0.084**	**0.457**

*وجود علاقة معنوية بين المتغيرات(r pearson correlation coefficient)

10-4 : العلاقة بين تركيز الكلوتاثيون (GSH) ومعالم النطف والمني

بينت الدراسة وجود علاقة موجبة غير معنوية (P> 0.05) بين تركيز الكلوتاثيون ومعالم النطف والمني المتمثلة بتركيز النطف (r=0.067 , P>0.05) النسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية (r=0.173 , P>0.05) وحجم المني (0.146 , P>0.05) كما لاحظت الدراسة وجود علاقة موجبة معنوية (P<0.05) بين الكلوتاثيون والنسبة المئوية للنطف السوية (r=0.315 , P<0.05) (الجدول 4-9) .

الجدول (4-9) : العلاقة بين تركيز الكلوتاثيون ومعالم النطف والمني للمرضى الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI) .

معالم النطف والمني	r	P- value
تركيز النطف (concentration) (million/ml)	**0.067**	**0.553**
النسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية% (motility)	**0.173**	**0.124**
النسبة المئوية للنطف السوية% (morphology)	**0.315**	**0.004***
حجم المني) مل((volume) (ml)	**0.146**	**0.195**

*وجود علاقة معنوية بين المتغيرات(r pearson correlation coefficient)

11-4 : العلاقة بين تركيز الكاتليز (CAT) ومعالم النطف والمني

لاحظت نتائج الدراسة وجود علاقة موجبة معنوية (P< 0.05) بين تركيز الكاتليز ومعالم النطف والمني المتمثلة بتركيز النطف (r =0.239 , P <0.05) والنسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية (r=0.298 , P<0.05) والنسبة المئوية للنطف السوية (r=0.422 , P<0.05) كما لاحظت الدراسة وجود علاقة موجبة غير معنوية (P> 0.05) بين تركيز الكاتليز وحجم المني (r=0.180 , P>0.05) (الجدول 4 - 10) .

الجدول (4 - 10) : العلاقة بين تركيز الكاتليز (CAT) ومعالم النطف والمني للمرضى الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI) .

معالم النطف والمني	r	P- value
تركيز النطف (concentration) (million/ml)	**0.239**	**0.033***
النسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية% (motility)	**0.298**	**0.007***
النسبة المئوية للنطف السوية% (morphology)	**0.422**	**<0.001***
حجم المني) مل (ml) (volume)(	**0.180**	**0.111**

*وجود علاقة معنوية بين المتغيرات(r pearson correlation coefficient)

12-4 : العلاقة بين تركيز السوبر اوكسايد ديسميوتيز ومعالم النطف والمني

بينت نتائج دراستنا وجود علاقة موجبة معنوية (P< 0.05) بين تركيز السوبر اوكسايد ديسميوتيز ومعالم النطف والمني المتمثلة بتركيز النطف (P<0.05 , r= 0.344) والنسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية (P < 0.05 , r = 0.353) والنسبة المئوية للنطف السوية (P<0.05 , r= 0.420) وحجم المني (P<0.05 , r= 0.409) (الجدول 4 – 11) .

جدول (4 – 11) : العلاقة بين تركيز سوبر اوكسايد ديسميوتيز ومعالم النطف والمني للمرضى الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI) .

معالم النطف والمني	r	P- value
تركيز النطف (concentration) (million/ml)	**0.344**	**0.002***
النسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية% (motility)	**0.353**	**0.001***
النسبة المئوية للنطف السوية% (morphology)	**0.420**	**<0.001***
(حجم المني) (مل) (ml) (volume)	**0.409**	**<0.001***

*وجود علاقة معنوية بين المتغيرات(r pearson correlation coefficient)

13-4 : العلاقة بين تركيز الكلوتاثيون والمعالم الكيموحيوية في السائل المنوي

لوحظ في الجدول (4-12) وجود علاقة موجبة غير معنوية (P > 0.05) بين تركيز الكلوتاثيون والسوبر اوكسايد ديسميوتيز (P> 0.05 , r=0.097) كما يشير الجدول الى وجود علاقة موجبة معنوية (P<0.05) بين تركيز الكلوتاثيون والكاتليز (P<0.05 , r= 0.350).

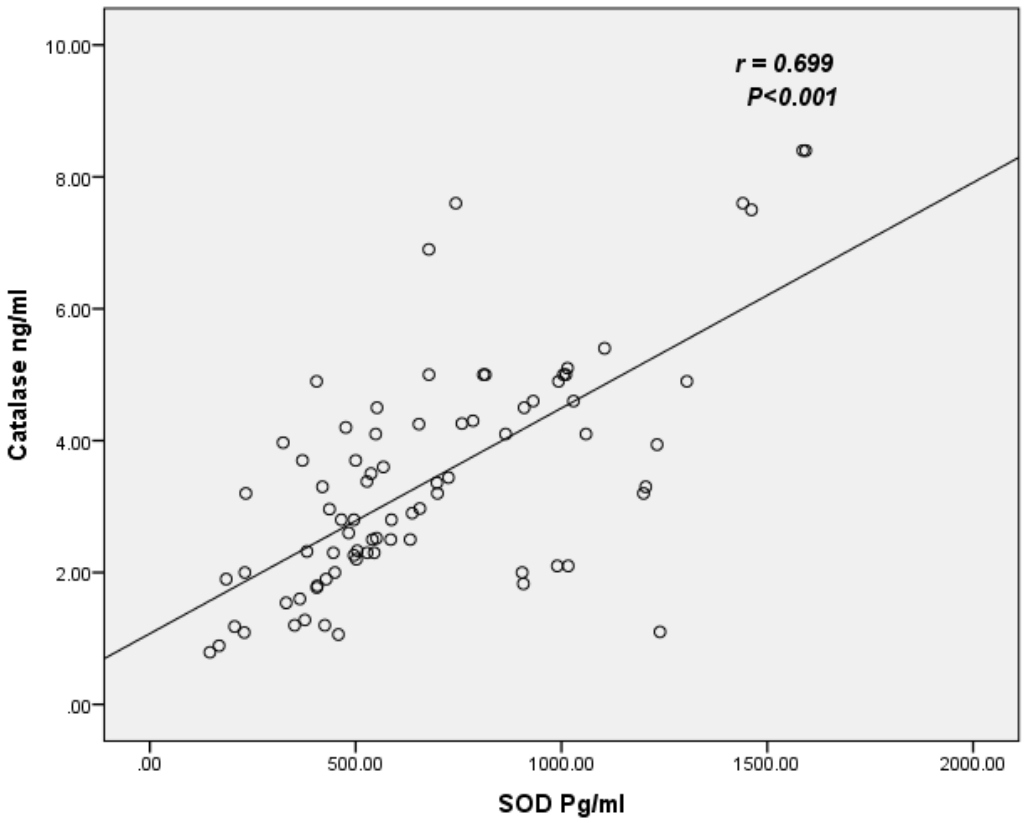
الجدول (4-12) : العلاقة بين تركيز الكلوتاثيون والمعالم الكيموحيوية للمرضى الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI) .

المعالم الكيموحيوية	r	P- value
سوبر اوكسايد ديسميوتيز (SOD) (pg/ml)	**0.097**	**0.392**
الكاتليز (CAT) (ng/ml)	**0.350**	**0.001***

*وجود علاقة معنوية بين المتغيرات(r pearson correlation coefficient)

14-4 : العلاقة بين تركيز السوبر اوكسايد ديسميوتيز والكاتليز في السائل المنوي

اشارت الدراسة الى وجود علاقة موجبة معنوية (P< 0.05) بين تركيز السوبر اوكسايد ديسميوتيز والكاتليز .



الشكل (4-3): العلاقة بين تركيز السوبر اوكسايد ديسميوتيز والكاتليز للمرضى الخاضعين لبرنامج للتلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI) .

15-4 : العلاقة بين العمر ومعالم النطف والمني

في هذه الدراسة لوحظ ان معالم النطف والمني المتمثلة بتركيز النطف والنسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية والنسبة المئوية للنطف السوية وحجم المني تشكل علاقة غير معنوية (P>0.05) مع اعمار الرجال الذين خضعوا لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم اذ كانت قيم تركيز النطف لعمر الرجال الذين بلغت اعمارهم 30≤ سنة هي (55.51±33.5) و (32.32 ± 51.05) للرجال الذين كانت اعمارهم تتراوح من (31 – 40) سنة و (30.23 ±64) للرجال الذين كانت اعمارهم 40< سنة كما كانت قيم النسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية للرجال الذين كانت اعمارهم 30≤ سنة و 40) (31 – سنة و40< سنة هي :

(23.46 ±47.22 , 21.57 ±44.17 , 16.62 ±50) على التوالي اما قيم النسبة المئوية للنطف السوية للرجال الذين كانت اعمارهم 30 ≤ سنة ، و (31 – 40) سنة و 40< سنة هي (18.69 ± 48.51, 21.02 ± 45.8 , 19.33 ± 51.94) كما كانت قيم حجم المني للرجال الذين كانت

اعمارهم 30 ≤ سنة و (31 – 40) سنة و 40< سنة هي(2.37±0.87,2.78±0.86,2.88± 0.92)
الجدول (4-15) .

الجدول (4-13) : تأثير العمر في معالم النطف والمني للمرضى الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI) .

معالم النطف والمني	العمر/سنة			P value
	≤30(n=27)	40-31(n=35)	>40 (n=18)	
	Mean ±SD	Mean ±SD	Mean ±SD	
تركيز النطف (concentration) (million/ml)	55.51±33.5	51.05±32.32	64±30.23	0.389
النسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية % (Motility)	47.22±23.46	44.17±21.57	50±16.62	0.469
النسبة المئوية للنطف السوية % (morphology)	48.51±18.69	45.8±21.02	51.94±19.33	0.565
حجم المني (مل) (volume) (ml)	2.88±0.92	2.78±0.86	2.37±0.87	0.160

4-16 : العلاقة بين العمر والمعالم الكيموحيوية في السائل المنوي

بينت نتائج الدراسة وجود تأثير غير معنوي (P>0.05) بين المعالم الكيموحيوية المتمثلة بـ السوبر اوكساید ديسميوتيز الكاتليز , (CAT) الكلوتاثيون الانواع الاوكسجينية الفعالة مع اعمار الرجال الذين اخضعوا لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI) اذ كانت قيم السوبر اوكساید ديسميوتيز لاعمار الرجال 30 ≤ سنة هي (632.17±310.95) , (745.07± 416.53) لعمر الرجال من (31-40) سنة و (660.64±272.57) لعمر الرجال 40< سنة كما كانت قيم الكاتليز لكل من ≤ 30سنة و (31-40) سنة و 40 < سنة هي (3.31±1.99 3.29±1.52,3.67±1.84) على التوالي.

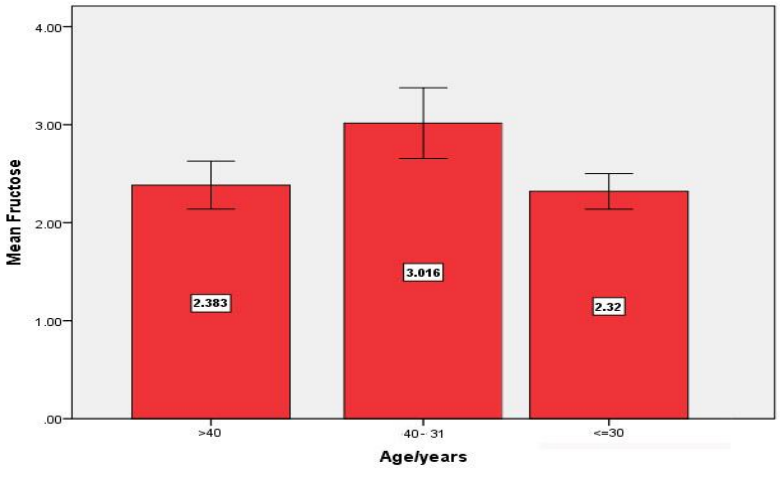
اما قيم الكلوتاثيون فكانت (65.8 ±199.3) لعمر الرجال 30≤ سنة و (196.7±77.07) لعمر الرجال من (31-40) سنة و (89.55 ± 196.6) لعمر الرجال 40< سنة اما بالنسبة لقيم الانواع الاوكسجينية الفعالة فكانت (3.9±2.14) لعمر الرجال 30≤ سنة (4.53±2.56) لعمر الرجال من (31-40سنة و (2.49 ± 5.05) لعمر الرجال 40< سنة (جدول4-16) .

الجدول (4-14) : تأثير العمر في المعالم الكيموحيوية للمرضى الخاضعين في برنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم .

المعالم الكيموحيوية	العمر/سنة			P value
	≤30(n=27)	40-31(n=35)	>40 (n=18)	
	Mean ±SD	Mean ±SD	Mean ±SD	
سوبر اوكساید ديسميوتيز (SOD) (pg/ml)	745.07±416.53	632.17±310.95	660.64±272.57	0.431
الكاتليز (Catalase) (ng/ml)	3.31±1.99	3.29±1.52	3.67±1.84	0.736
الكلوتاثيون (Glutathion) (µg/ml)	199.3±65.8	196.7±77.07	196.6±89.55	0.990
الانواع الاوكسجينية الفعالة (ROS) (ng/ml)	3.9±2.14	4.53±2.56	5.05±2.49	0.285

4-17 : تركيز الفركتوز في البلازما المنوية للفئات العمرية المختلفة

يوضح الشكل (4- 4) الى انه لا توجد فروق معنوية (P > 0.05) في قيم تركيز الفركتوز في البلازما المنوية عند المقارنة بين الفئات العمرية 30 سنة 31-40 , سنة 40< , سنة للرجال الذين اخضعوا لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم. (IUI) .

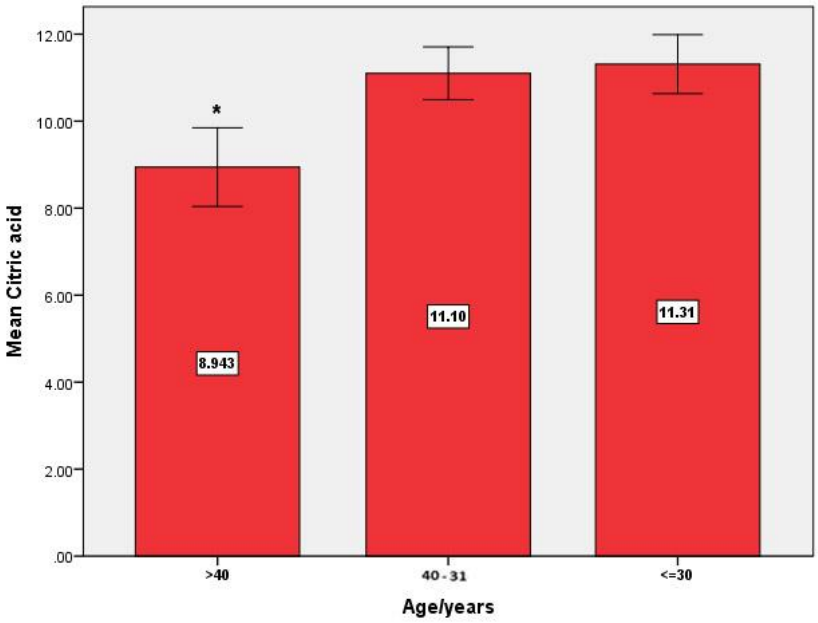


الشكل (4-4) :تركيز سكر الفركتوز في البلازما المنوية للمرضى في فئات عمرية مختلفة.

(ANOVA test)

18-4 : تركيز حامض الستريك في السائل المنوي حسب الفئات العمرية المختلفة

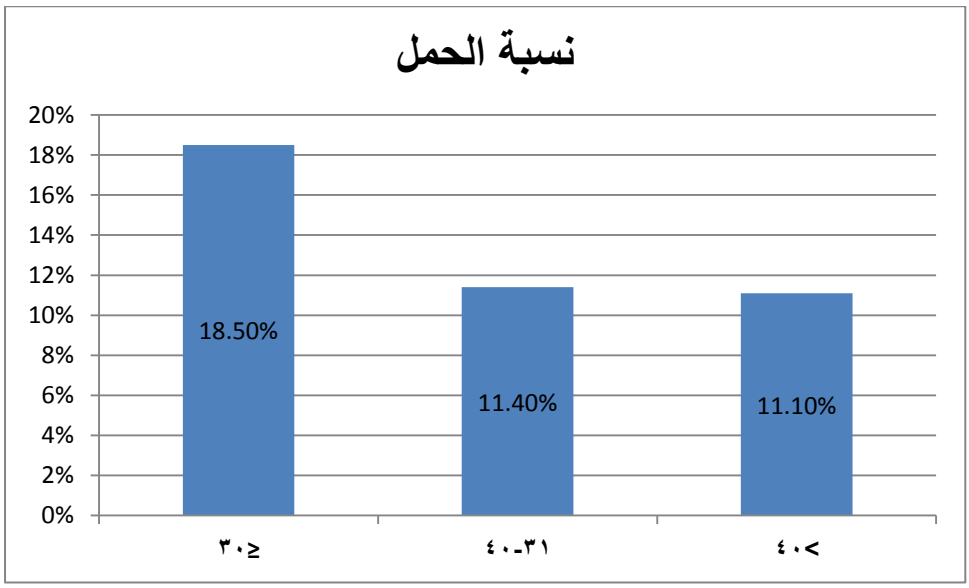
بينت نتائج الدراسة الحالية عدم وجود فروق معنوية (P>0.05) في تركيز حامض الستريك بين الفئتين العمريتين 30≤ سنة (11.31) , (31-40) سنة (11.10) بينما لوحظ وجود انخفاض معنوي (P<0.05) في تركيز حامض الستريك للفئة العمرية 40< سنة (8.943) مقارنة بالفئتين العمريتين 30≤ سنة (11.31) ، (31-40) سنة (11.10) شكل (4-5) .



الشكل(4-5) : تركيز حامض الستريك في البلازما المنوية للمرضى الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI) في فئات عمرية مختلفة. (ANOVA test)

19-4 : معدل الحمل الناتج موزعة حسب الفئات العمرية

لوحظ من نتائج دراستنا وجود زيادة في معدلات الحمل للفئة العمرية سنة (18.50%) مقارنة بالفئتين العمريتين (31-40) سنة (11.4%) وسنة (11.1%) بالرغم من ان تلك الزيادة لم تكن معنوية من الناحية الاحصائية شكل. (4-6) ، تم تحديد عمر النساء في هذه الدراسة اقل من 35 سنة لكي لايؤثر على النتائج .



الشكل (4-6) : تأثير عمر الرجال في معدلات الحمل للمرضى الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم. (IUI). (chi square test)

الفصل الخامس

5-1: نسبة الحمل

تعد عملية التلقيح الاصطناعي داخل الرحم من ابسط الطرائق في تقانات التكاثر المعان و لا تزال تستعمل في علاج مشاكل العقم وان أساس عمل هذه التقانه هو حقن النطف عن طريق (Catheter) من خلال عنق الرحم (Cervix) إلى تجويف الرحم (uterine cavity) خلال مدة الأباضة وان فرصة الحمل في هذه التقانة حوالي 7% في دورة الأباضة الطبيعية و10-13% بعد تحفيز نمو المبايض باستخدام بعض الأدوية مثل عقار هرمون محرض القند المشيمي البشري وعقار سترات كلوميفين (Lanska *et al*.,2015) .

لوحظ من خلال نتائجنا أن نسبة الحمل الإجمالية للأزواج الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم كانت 13.75% وربما يعود السبب الى ان نتائج دراستنا كانت ضمن معدلات الحمل المتوقعة في عمليات التلقيح الاصطناعي داخل الرحم اضافة الى وجود اسباب اخرى تشمل نوع الوسط ألزرعي المستخدم لتنشيط النطف المحضرة في عمليات التلقيح الاصطناعي داخل الرحم عمر الزوج والزوجة والعدد الكلي للنطف المتحركة و المجهزة للحقن في عملية التلقيح داخل الرحم أضافه إلى تحفيز المبايض .

لوحظ في أحدى الدراسات أن معدلات الحمل في عمليات التلقيح الاصطناعي لمرض سويي النطف غير المفسر كانت 8.45% (Isa *et al*., 2014).

بينت الدراسة وجود زيادة غير معنوية في نسب الحمل لمرض سويي النطف مقارنة بمرضى غير سويي النطف الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم ، وربما يعود السبب في ذالك إلى زيادة في معالم النطف المتمثلة بتركيز النطف وحركة النطف التقدمية وشكل النطف السويي في مجموعة سويي النطف مقارنة مع مجموعة غير سويي النطف .

لاحظ Gauci وجماعته (2001) أن نسب الحمل ازدادت ثلاث مرات لمجموعة الأشخاص الذين كانت لديهم حركة النطف أكثر من 50% مقارنة بالمجموعة الأخرى التي الحركة لديهم اقل من 50% .

5-2: معالم النطف والمني

لوحظ في نتائجنا وجود زيادة معنوية في تركيز النطف والنسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية والنسبة المئوية للنطف السوية وحجم المني لمرضى سويي النطف مقارنة بالمرضى غير سويي النطف ويعود السبب في ذلك إلى أن اختيار عينات الدراسة منحت حسب تقرير منظمة الصحة العالمية (WHO,2010) إلى سويي النطف وغير سويي النطف وشملت قلة النطف ووهن النطف وتشوه النطف مما سبب ذلك الاختلاف المعنوي في النتائج ، أما السبب في كون تركيز النطف والنسبة المئوية للنطف السوية وحجم المني للمرضى غير سويي النطف كان ضمن الحدود الطبيعية فانه يعود إلى إن عينات

مجموعة غير سويي النطف كانت تشمل خليط من مجموعة قلة النطف ووهن النطف وتشوه النطف وهذا سبب في أن يكون تركيز النطف والنسبة المئوية للنطف السوية وحجم المني مختلفا .

توصل AL-Salami (2011) إلى وجود زيادة معنوية في تركيز النطف والنسبة المئوية للنطف السوية والنسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية لمجموعة مرضى سويي النطف مقارنة بمجموعة مرضى غير سويي النطف المتمثلة بوهن النطف .

أكد Butt and Akarm (2013) ان معالم المني المتمثلة بحجم المني كانت اقل في مجموعة قلة النطف مقارنة مع مجموعة سويي النطف وهذا يعود إلى وجود الانسداد في الأسهر وكذلك التلف الذي يحدث في النهاية القاصية للقناة المنوية ، بينما لوحظ في الدراسة نفسها زيادة معنوية في شكل النطف غير السويي والنطف غير المتحركة مقارنة مع مجموعة سويي النطف.

3-5 : المعالم الكيموحيوية في السائل المنوي

أظهرت نتائج البحث وجود زيادة معنوية في المعالم الكيموحيوية المتمثلة بالسوبر أوكسايد ديسميوتيز والكاتليز لمجموعة مرضى سويي النطف مقارنة مع مجموعة مرضى غير سويي النطف ، وكذلك بينت النتائج عدم وجود فروق معنوية في المعالم الكيموحيوية المتمثلة بالكلوتاثيون والفركتوز وحامض الستريك لمجموعة مرضى سويي النطف مقارنة بمجموعة مرضى غير سويي النطف .

لوحظ انخفاض معنوي في قيمة الأنواع الأوكسجينية الفعالة لمرضى سويي النطف مقارنة مع مرضى غير سويي النطف ويعود السبب في قلة مضارات الأكسدة في مجموعة غير سويي النطف إلى وجود حالة الإجهاد التاكسدي الموجودة في الأشخاص غير سويي النطف مما يسبب حدوث تغيرات في فعالية الأنزيمات المضادة للأكسدة (EL-Taieb *et al*.,2009) إضافة إلى وجود مستويات عالية من مركب المالونداي الديهايد في البلازما المنوية الذي يؤدي إلى حالة عدم التوازن لمضادات الأكسدة الأنزيمية ، ان أسباب ارتفاع تركيز مستويات الانواع الاوكسجينية الفعالة في مجموعة غير سويي النطف تعود إلى وجود أعداد من الخلايا غير الناضجة وخلايا الدم البيض والشكل غير السوي للنطف وعدد النطف غير السوي وبالتالي يسبب ذلك قلة في تراكيز مستويات مضادات الأكسدة في البلازما المئوية (Kumar *et al*.,2009) .

اشارMurawski وجماعته (2007) الى وجود انخفاض معنوي في تركيز السوبر اوكسايد ديسميوتيز في البلازما المنوية لمرضى قلة النطف ووهنها مقارنة بالمرضى سويي النطف.

بين Zelen وجماعته (2010) وجود زيادة معنوية في تركيز السوبر اوكسايد ديسميوتيز والكاتليز وانخفاض في مستويات المالونداي الديهايد في عينات المني للأشخاص الأصحاء مقارنة بالمرضى العقيمين .

تتفق نتائج دراستنا مع Wong وجماعته (2011) إذ أظهرت نتائج بحثه عدم وجود اختلافات معنوية في تركيز الكلوتاثيون بين مجموعتين الخصبين وتحت الخصبين.

اتفقت نتائجنا مع نتائج بحوث أخرى أجراها Novotny وجماعته (2003) إذ لاحظوا ارتفاع مستويات الأنواع الاوكسجينية الفعالة لمجوعة الأشخاص غير سويي النطف مقارنة مع الأشخاص السويي النطف وهذا يؤدي إلى زيادة في تركيز مركب المالوناداي الديهايد في مرضى غير سويي النطف مقارنة مع مرضى سويي النطف .

بين Kumar وجماعته (2009) ان الانخفاض في مستويات مضادات الأكسدة في القناة التناسلية الذكرية يسبب زيادة مركب المالوناداي الديهايد .

4-5: العلاقة بين تركيز الفركتوز ومعالم النطف والمني

اشارت نتائج البحث وجود علاقة سالبة بين تركيز سكر الفركتوز في البلازما المنوية ومعالم النطف المتمثلة بتركيز النطف والنسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية والنسبة المئوية للنطف السوية وحجم المني والسبب في ذلك يعود إلى إن من المحتمل عينات المني التي تشمل مجموعة سويي النطف تتميز بأنها ذات عدد كبير في النطف وحركة وشكل السوي للنطف وان حجم المني يكون ضمن الحدود الطبيعية إذ أن النطف تستهلك سكر الفركتوز كمصدر للطاقة مما يؤدي إلى انخفاض في تركيز سكر الفركتوز لوجود أعداد كبيرة من النطف ، حيث ذُكرَ أن بعد عملية القذف يستهلك سكر الفركتوز من قبل النطف بعملية تدعى بالتحلل السكري للفركتوز(Fructolysis) إذ أن في العينات ذات الأعداد الكبيرة من النطف تكون عملية التحلل السكري كثيرة مما يؤدي إلى انخفاض في سكر الفركتوز وهذا يقودنا إلى تفسير الرأي العلمي الذي ينص على أن سكر الفركتوز يكون تركيزه عالي في الرجال المصابين بقلة النطف وانعدام النطف مقارنة بالرجال المصابين بتعدد النطفية (polyzoospermia)وسويي النطف (Hussain *et al*.,2011) .

اثبت AL-Sakkal وجماعته (2009) انخفاض في تركيز سكر الفركتوز في مجموعة قلة النطف وانعدام النطف مقارنة مع مرضى سويي النطف وهذا من المحتمل يعود إلى الانسداد الجزئي أو الكلي في القنوات الناقلة للمني أو الغياب الولادي للقنوات الناقلة .

تعد قيم الفركتوز التي اقل من (120mg/d) في مجموعة سويي النطف حالة مرضية سببها هو وجود التهابات في الحويصلات المنوية ونقص في هرمونات الاندروجين إضافة إلى الانسداد الجزئي هي القنوات القاذفة (Campbell-Walsh *et al*., 2007) .

5-5: العلاقة بين تركيز الفركتوز والمعالم الكيموحيوية للسائل المنوي

لاحظت دراستنا إلى وجود علاقة سالبة معنوية بين سكر الفركتوز والمعالم الكيموحيوية المتمثلة بالسوبر أو كساید دسيميوتيز والكاتليز وكانت علاقة سكر الفركتوز مع الكلوتاثيون علاقة سالبة غير معنوية من الناحية الإحصائية ، كذلك أظهرت النتائج علاقة موجبة غير معنوية بين سكر الفركتوز والأنواع الاوكسجينية الفعالة والسبب يعود إلى مستويات سكر الفركتوز تتناقص في مجموعة سويي النطف لأنها تقوم باستهلاكه باعتباره مصدر طاقة لها وبنفس الوقت في مجموعة سويي النطف يكون تركيز مستويات مضادات الأكسدة عالي لان الأنواع الاوكسجينية الفعالة فيها قليلة وبالتالي تحتوي البلازما المنوية لهذه المجموعة كميات قليلة من سكر الفركتوز وكميات عالية من مضادات الأكسدة مما يؤدي إلى ظهور علاقة سالبة بين مستويات سكر الفركتوز ومضادات الأكسدة في مجموعة سويي النطف.

ذكر Amidu وجماعته (2012) أن مستويات الفركتوز تتناقص في السائل المنوي هي الرجال الأصحاء مع زيادة تركيز النطف.

6-5:العلاقة بين تركيز حامض الستريك ومعالم النطف والمني

لوحظ من نتائجنا وجود علاقة سالبة غير معنوية بين حامض الستريك ومعالم النطف والمني المتمثلة بتركيز النطف والنسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية والنسبة المئوية للنطف السوية بينما أظهرت نتائج الدراسة نفسها وجود علاقة موجبة معنوية بين حامض الستريك وحجم المني .

اتفقت نتائجنا مع دراسة اجراها Balpayee وجماعته(2012) إذ لاحظ عدم وجود فروق معنوية بين تركيز حامض الستريك في البلازما المئوية ومعالم النطف والمني ، بينما لوحظت من نتائج بحث اخر وجود علاقة موجبة بين تركيز حامض الستريك وحجم المني وهذا يعود إلى كثرة أعداد النطف ونشاطها مما يسبب في استهلاك حامض الستريك ، أما العلاقة الموجبة المعنوية بين حامض الستريك وحجم المني فان سببها يعود إلى أن بزيادة حجم المني يزداد تركيز حامض الستريك وهذا دليل على سلامة وصحة غدة البروستات (Sreenivasa *et al*.,2011) .

ذكرت أحدى الدراسات أن حجم إفرازات غدة البروستات ينخفض نتيجة التهاب الغدة الجنسية الذكرية وهذا بالتالي يسبب انخفاضا في تركيز حامض الستريك وسكر الفركتوز والزنك Marconi *et al*.,2009) .

7-5:العلاقة بين تركيز حامض الستريك والمعالم الكيموحيوية للسائل المنوي.

اشارت النتائج الى وجود علاقة موجبة غير معنوية بين تركيز حامض الستريك والمعالم الكيموحيوي المتمثلة بالسوبر أوكاسيد ديسميوتيز والكلوتاثيون والأنواع الاوكسجينية الفعالة كما بينت النتائج وجود علاقة سالبة غير معنوية بين تركيز حامض الستريك والكاتليز ويعود السبب في ذلك إلى أن حامض الستريك يمتلك خواص مضادات الأكسدة في البلازما المنوية وبالتالي فهو يعمل على الحفاظ

على حيوية النطف وحركتها وشكلها السوي ولذلك فهو يرتبط بعلاقة موجبة بمضادات الأكسدة لكون النطف تستهلكه كحالة دفاعية ووقائية مع مضادات الأكسدة ضد الأنواع الأوكسجينية الفعالة وبالتالي ضد حالة الإجهاد ألتأكسدي التي تظهر في البلازما المنوية (Lombardo *et al.*,2012) .

العلاقة الموجبة غير المعنوية بين حامض الستريك و الأنواع الأوكسجينية الفعالة ربما تعود الى زيادة الأنواع الأوكسجينية الفعالة في البلازما المنوية وهذا يؤدي بالتالي إلى زيادة تركيز حامض الستريك كعامل مقاوم ضد تكون الأنواع الأوكسجينية الفعالة بصورة غير طبيعية وبالتالي يمنع تكون حالة الإجهاد ألتأكسدي التي تؤدي إلى حدوث ضرر في الحامض النووي (DNA) النطف مما يسبب فشل في وظيفة النطف نحو تحقيق الإخصاب (Motrich *et al* ., 2016) .

5 – 8 : العلاقة بين تركيز الأنواع الأوكسجينية الفعالة ومعالم النطف و المني

اظهرت نتائج دراستنا وجود علاقة سالبة معنوية بين مستويات الأنواع الأوكسجينية الفعالة ومعالم النطف و المني المتمثلة بتركيز النطف و حركة النطف التقدمية و الشكل السوي للنطف وحجم المني ، وهذا يعود إلى المستويات العالية للأنواع الأوكسجينية الفعالة التي تلاحظ في مني مرضى العقم مثل قلة النطف ووهن النطف و تشوه النطف مقارنة بالمرضى سويي النطف والتي تسبب حدوث تأثيرات سمية على نوعية النطف ووظيفتها اضافة الى حدوث اخفاق في آلية عمل غشاء النطفة عند عملية الاخصاب لذلك فأن زيادة مستويات الأنواع الأوكسجينية الفعالة في المني يرافقه انخفاض في معالم النطف و المني (Moein *et al.*,2007) .

تكون كميات الأنواع الأوكسجينية الفعالة في البلازما المنوية في مجموعة سويي النطف قليلة وذلك ربما لعدم احتواء البلازما المنوية لديهم على كميات كثيرة من خلايا الدم البيض والنطف غير الناضجة مما يسبب ظهور علاقة سالبة بين الأنواع الأوكسجينية الفعالة ومعالم النطف والمني (Attaran *et al.*,2000) .

استنتجت دراسة قام بها Agarwal و جماعته (2014c) وجود علاقة سالبة بين مستويات الأنواع الأوكسجينية الفعالة في المني لمرضى العقم و معالم النطف و المني المعروفة بتركيز النطف و حركتها وشكل النطف السوي .

5 – 9 : العلاقة بين الأنواع الأوكسجينية الفعالة و المعالم الكيموحيوية في السائل المنوي

أظهرت نتائج بحثنا وجود علاقة سالبة معنوية بين الأنواع الأوكسجينية الفعالة و مضادات الأكسدة الإنزيمية المتمثلة بالسوبر أوكسيد ديسميوتيز و الكاتليز كما بينت النتائج وجود علاقة سالبة غير معنوية بين الأنواع الأوكسجينية الفعالة و الكلوتاثيون ويعود السبب في تلك النتائج إلى حدوث حالة عدم توازن بين مستويات الأنواع الأوكسجينية الفعالة و مضادات الأكسدة في المني مما يولد حالة الإجهاد ألتأكسدي ، أذ أن الزيادة غير الطبيعية في هذه المستويات للأنواع الأوكسجينية الفعالة في المني يرافقه انخفاض في تركيز مضادات الأكسدة مما يؤدي إلى ظهور تلك العلاقة السالبة .

السبب الاخر في حدوث هذه العلاقة السالبة الى ان الحجم والتوزيع غير الطبيعي في سايتوبلازم النطفة يؤدي الى عدم قدرة مضادات الاكسدة للدفاع ضد تكون الكميات الكبيرة من الانواع الاوكسجينية الفعالة (Aitken *et al* .,2000) .

ذكر Sabeti و جماعته (2016) أن في الظروف الطبيعية يمتلك الجهاز الذكري حالة التوازن بين أنتاج الأنواع الأوكسجينية الفعالة ونشاط مضادات الأكسدة ولكن عند زيادة أنتاج الأنواع الأوكسجينية الفعالة في المني فان ذلك يؤثر في ميكانيكيات الدفاع المتمثلة بمضادات الأكسدة في النطف والمني .

5-10:العلاقة بين تركيز الكلوتاثيون ومعالم النطف والمني

تبين من خلال النتائج وجود علاقة موجبة غير معنوية بين الكلوتاثيون ومعالم النطف والمني المتمثلة بتركيز النطف والنسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية وحجم المني ، أما بالنسبة الى العلاقة بين الكلوتاثيون والنسبة المئوية للنطف السوية فكانت علاقة موجبة معنوية .

لاحظ AL-Derawi (2010) وجود علاقة موجبة معنوية بين الكلوتاثيون ومعالم النطف والمني في مرضى العقم ومرضى سويي النطف عدا النسبة المئوية للنطف السوية عند مرضى وهن النطف ، ويعود السبب في ذلك الى ان الكلوتاثيون يعمل على تحسين الشكل السوي للنطف وحركتها وحمايتها من خلايا الدم البيض في البلازما المنوية (Lenzi *et al*.,1992) .

أكد دراسة الى وجود انخفاض معنوي في تركيز الكلوتاثيون في البلازما المئوية في مرضى وهن النطف وقلة النطف مقارنة مقارنة بمرضى سويي النطف فلذا من الطبيعي أن تكون العلاقة بين الكلوتاثيون والنسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية وتركيز النطف في مرضى وهن النطف وقلتها علاقة موجبة معنوية ويعود السبب في ذلك إلى ان الزيادة في تحول مضادات الأكسدة الدفاعية إلى مركبات تعمل على منع حدوث الأكسدة الضارة عند هؤلاء المرضى وبالتالي يزداد الدفاع ضد هذه الأكسدة الضارة في المرضى العقيمين (Al-Azzawie *et al*.,2014) .

5 – 11 : العلاقة بين تركيز الكاتليز ومعالم النطف والمني .

أكدت نتائج البحث ظهور علاقة موجبة معنوية بين الكاتليز و معالم النطف والمني المتمثلة بتركيز النطف و النسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية و النسبة المئوية للنطف السوية .

أن العلاقة بين تركيز الكاتليز وحجم المني كانت علاقة موجبة غير معنوية ويعود السبب في ذلك إلى أن البلازما المنوية لمرضى سويي النطف تحتوي على مستويات عالية من الكاتليز مقارنة بالمرضى غير السويي النطف مما سبب تلك العلاقة الموجبة بين الكاتليز ومعالم النطف والمني .

بالنسبة إلى كون تركيز الكاتليز يرتبط معنوياً بالشكل السويي للنطف يعود إلى أن انخفاض تركيز الكاتليز والسعة الكلية لمضادات الأكسدة له دور معنوي في معرفة الأسباب المرضية للنطف غير السوية (Khosrowbeygi *et al* ., 2012) .

ان من الاسباب المهمة التي تعود الى قلة الكاتليز في مني الاشخاص العقيمين هو عامل اللزوجة ، اذ انه بزيادته يؤدي الى قلة تركيز الكاتليز مما يسبب انخفاض في معالم النطف والمني ، اما في الرجال السويي النطف فتكون لزوجة المني طبيعية مما يجعل تركيز الكاتليز في السائل المنوي طبيعي وبالتالي يؤدي ذلك الى سلامة معالم النطف والمني (Sicilano *et al* .,2001) .

5 – 12 : العلاقة بين تركيز السوبر أوكسايد ديسميوتيز ومعالم النطف والمني

وجدت نتائج البحث ظهور علاقة موجبة معنوية بين تركيز السوبر أوكسايد ديسميوتيز ومعالم النطف و المني المتمثلة بتركيز النطف و النسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية والنسبة المئوية للنطف السوية وحجم المني ، وربما يعود السبب في ظهور تلك النتيجة إلى أن تراكيز السوبر أوكسايد ديسميوتيز في مجموعة سويي النطف تكون عالية بسبب احتواء البلازما المنوية لديهم على كميات قليلة من الأنواع الأوكسجينية الفعالة وهذا سببه عدم وجود قطيرات سايتوبلازمية في النطف ، إضافة إلى خلوا البلازما المنوية من خلايا الدم البيض والخلايا غير الناضجة لديهم ، مما يؤدي إلى ظهور تراكيز عالية من السوبر أوكسايد ديسميوتيز وهذا يسبب بالتالي إلى ظهور علاقة موجبة معنوية بين السوبر أوكسايد ديسميوتيز و معالم النطف والمني ، والسبب الاخر يشكل السوبر أوكسايد ديسميوتيز نظاماً دفاعياً ضد تكون الأكسدة الفوقية للدهون في الغشاء البلازمي للنطفة ، اضافة الى انه يعمل على حماية كروماتين النطفة من الكسر وحماية عيوشيتها اضافة الى طرده لأيون السوبر اوكسايد السالب ذات السمية العالية للنطف (Nonogaki *et al*.,1992) .

أشارت نتائج بحث إلى ظهور علاقة موجبة معنوية بين السوبر أوكسايد ديسميوتيز ومعالم النطف والمني المتمثلة بالنسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية وعدد النطف (Shiva *et al*. , 2010) .

أن سبب العلاقة الموجبة بين مضادات الأكسدة و معالم النطف و المني في مجموعة غير سويي النطف يعود إلى وجود كميات كبيرة من الأنواع الأوكسجينية الفعالة في المني لديهم مما يؤدي إلى انخفاض في معالم النطف و المني إضافة إلى انخفاض في تراكيز مضادات الأكسدة الدفاعية لديهم .

5 – 13 : العلاقة بين تركيز الكلوتاثيون والمعالم الكيموحيوية في السائل المنوي

5 – 14 : العلاقة بين تراكيز السوبر أوكسايد ديسميوتيز و الكاتليز في السائل المنوي

أشارت النتائج إلى وجود علاقة موجبة غير معنوية بين الكلوتاثيون و السوبر أوكسايد ديسميوتيز وعلاقة موجبة معنوية بين الكلوتاثيون و الكاتليز كما بينت النتائج وجود علاقة موجبة معنوية بين السوبر أوكسايد ديسميوتيز و الكاتليز .

يعود سبب العلاقة الموجبة المعنوية بين الكلوتاثيون والكاتليز وبين السوبر أوكساید ديسميوتيز والكاتليز إلى تميز ميكانيكيات العمل لمضادات الأكسدة بشكل متناسق في وظيفتها الدفاعية عن النطفة ضد تأثيرات الجذور الحرة ، اضافة الى ذلك فأن سبب العلاقة الموجبة بين الكلوتاثيون والسوبر اوكساید ديسميوتيز يعود الى ان النطف الموجودة في البربخ تفرز انزيمات مضادة للأكسدة مثل السوبر اوكساید ديسميوتيز والذي يعمل معه الكلوتاثيون كعامل مساعد للقضاء على الانواع الاوكسجينية الفعالة المتكونة في ذيل البربخ (Khosrobeygi *et al* ., 2012) .

يلاحظ من خلال الدراسات أن العلاقة بين مضادات الأكسدة المتمثلة بالكلوتاثيون والكاتليز والسوبر أوكساید ديسميوتيز ومعالم النطف والمني تكون موجبة والعلاقة بين مضادات الأكسدة والأنواع الأوكسجينية الفعالة تكون سالبة لذلك في الطبيعي أن تكون العلاقة بين مضادات الأكسدة نفسها موجبة .

ذكر AL – Azzawie و جماعته (2014) أن مضادات الأكسدة تتميز بعملها المتناسق و المتناغم لكي تحمي الأنسجة الحيوية من عمليات الأكسدة الضارة ، أذ يعمل أنزيم السوبر أوكساید ديسميوتيز على تحطم جذر السوبر أوكسيد الحر ($2SO_2^-$) وذلك عن طريق تحويله إلى بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) الذي بدوره يتفكك و يتحلل من قبل أنزيمات الكاتليز و الكلوتاثيون بيروكسيديز (Buffonee *et al* . , 2012) .

أثبت Tavilani وجماعته (2008) وجود علاقة عكسية بين الكاتليز و السوبر أوكساید ديسميوتيز و الكلوتاثيون – بيروكسيديز الموجودين في البلازما المنوية مع تركيز المالوندای الديهايد في عينات مرضى وهن النطف ، كذلك بينت الدراسة نفسها وجود علاقة موجبة معنوية بين السوبر أوكساید ديسميوتيز والكاتليز والكلوتاثيون – بيروكسيديز في نماذج عينات المني لمرضى الأشخاص الأصحاء .

5 – 15 : العلاقة بين العمر ومعالم النطف والمني .

لوحظ من خلال نتائج الدراسة أنه لا توجد علاقة معنوية لتأثير عمر الرجال على معالم النطف و المني المتمثلة بتركيز النطف و النسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية الحركة والنسبة المئوية للنطف السوية وحجم المني .

أن نتائج الدراسة متناقضة حول هذه العلاقة (علاقة تأثير العمر على معالم النطف والمني) أذ أن بعض الدراسات تتفق مع نتائج دراستنا (Winkle *et al* . , 2004) وهذا ربما يعود إلى أن معالم النطف و المني المتمثلة بتركيز النطف و النسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية و النسبة المئوية للنطف السوية وحجم المني لدى الرجال تتأثر بعمر أكبر من 50 سنة ودراستنا شملت المرضى بعمر أقل من 50 سنة وهذا يعني ان حجم المني في عمر الاشخاص من 30 سنة او اقل الى 45 سنة يكون طبيعياً تقريباً مما يسبب الى ظهور فعالية طبيعية في الية عمل الهرمونات الذكرية والغدد الجنسية الملحقة المتمثلة بغدة الحويصلة المنوية وغدة البروستات وبالتالي يؤدي ذلك عدم تأثر معالم النطف والمني المتمثلة بـ (تركيز

النطف ، الحركة التقدمية للنطف ، الشكل السوي للنطف) بالفئات العمرية المذكورة اعلاه (Molina *et al*.,2010 ; Ng *et al* .,2004) .

حيث أشارت دراسة قام بها Levitas وجماعته (2007) أن حركة النطف تنخفض بشكل واضح بعد عمر 55 سنة ، وهذا ربما يعود إلى أن حجم المني في هذه الدراسة لم يكن كبيراً و كذلك وجود إصابات مرضية في القناة التناسلية إضافة إلى كثرة ظهور الأجسام المضادة للنطف و التي تعمل على مهاجمة النطف مما يسبب التقليل من حركتها و احتمال ظهور بعض الأمراض مثل الأمراض البربخية التي تؤدي إلى ضعف في حركة النطف .

كان عمر المرأة في دراستنا أقل من 35 سنة لكي لا يؤثر على النتائج وكانت جميع النساء يتمتعن بعدم وجود أمراض ومشاكل صحية تتعلق بالجهاز التناسلي الأنثوي ، أذ أن بعض المصادر أشارت إلى أن عمر المرأة أكبر من 35 سنة يؤثر سلباً على نتائج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (Brinsden and Dickey , 2010) .

لوحظ من نتائج بحث اجراه Hellstrom وجماعته (2006) انخفاض معنوي في حجم المني وحركة النطف و شكلها مع تقدم العمر .

لوحظت في نفس نتائج البحث أن معالم النطف والمني المتمثلة بتركيز النطف والنسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية والنسبة المئوية للنطف السوية تظهر زيادة غير معنوية في عمر الرجال أكبر من 40 سنة مقارنة بالمجاميع العمرية الأخرى وذلك ربما يعود السبب إلى انخفاض في حجم المني لهذه الفئة العمرية أكبر من 40 سنة وقدرة الرجال على أعطاء المني بنفس التركيز و الحركة و الشكل مما يسبب زيادة في هذه المعالم المذكورة أعلاه خلال الفحص المجهري .

5 – 16 : العلاقة بين العمر و المعالم الكيموحيوية في السائل المنوي

بينت نتائج الدراسة إلى وجود علاقة غير معنوية بين المعالم الكيموحيوية المتمثلة بالسوبر أوكسايد ديسميوتيز و الكاتليز و الكلوتاثيون و الأنواع الأوكسجينية الفعالة مع أعمار الرجال الذين خضعوا لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم ، أذ لوحظ من نتائج دراستنا عدم وجود تأثير معنوي لعمر الرجال في مستويات مضادات الأكسدة و الأنواع الأوكسجينية الفعالة ، ربما يكون ذلك بسبب أن العمر بعد 40 سنة يكون مؤثراً وعينات الدراسة كانت في الغالب اقل من 40 سنة وفي هذه العينات العمرية (اقل من 40 سنة) لا توجد لديهم مشاكل واضحة ومعقدة في أعضاء الجهاز التناسلي الذكري المتمثلة بالخصية و القناة المنوية و الأسهر إضافة إلى قلة وجود بعض الأمراض مثل مرض القلة الدوالية و أمراض البربخ و أذا وجدت فتكون بشكل غير ضار تقريباً وهذا بالتالي يسبب وجود نطف حيوية وذات معالم طبيعية وبالتالي لا يؤثر العمر في دراستنا معنوياً على معالم النطف و المني وهذا بالنتيجة يسبب عدم وجود تأثير معنوي للعمر مع المعالم الكيموحيوية في البلازما المنوية لأن هذه المعالم الكيموحيوية ترتبط بعلاقة موجبة مع معالم النطف والمني ، بالإضافة الى ذلك قلة وجود خلايا النطف غير الناضجة

وخلايا الدم البيض في الفئات العمرية من 30 سنة او اقل الى 45 سنة لاتؤدي الى وجود كميات من الانواع الاوكسجينية الفعالة الضارة على معالم النطف والمني وهذا ينتج عنه مضادات اكسدة ذات فعالية حيوية دفاعية مميزة في هذه الفئات العمرية المذكورة اعلاه (Zelen *et al*.,2010).

بينت دراسة أن معدلات الحمل تنخفض في عمر أكبر من 40 سنة للرجال مقارنة بأعمار الرجال الذين كانت أعمارهم في نفس الدراسة أقل من 30 سنة (Ford *et al* ., 2000) . أما AL–Sharani وجماعته (2014) فقد أجروا دراسة قسمت فيها المرضى إلى ثلاثة مجاميع الأولى أقل من 30 سنة والثانية من (31 – 40) سنة و الثالثة أكبر من 40 سنة ، و بينت نتائج دراستهم عدم وجود فروق معنوية في معالم النطف و المني و مضادات الأكسدة و الأنواع الأوكسجينية الفعالة بين المجاميع الثلاثة ، بينما لاحظت الدراسة نفسها وجود زيادة معنوية في ، ضرر الحامض النووي (DNA) (Sperm DNA damge) بعد عمر 40 سنة مقارنة بالمجاميع الأخرى .

ودراسة أخرى أجريت على 148 عينة مني من الرجال و قسمت الدراسة العينات إلى مجموعتين الأولى كانت أقل من 40 سنة و الثانية أكبر من 40 سنة ولوحظ من نتائج البحث وجود زيادة معنوية في مركب ثماني الهيدروكسي – ثنائي ديوكسي گوانين (8-hydroxy – 2 – deoxguanosine (8 – OhdG)) الذي يعد مؤشراً لضرر الحامض النووي (DNA) للنطفة في مجموعة الرجال الذين كانت أعمارهم أكبر من 40 سنة مقارنة بالمجموعة الأخرى بينما لم تلاحظ فروق معنوية في الأنواع الأوكسجينية الفعالة والسعة الكلية لمضادات الأكسدة (Koh *et al* . , 2016) .

يعد ثماني الهيدروكسي – ثنائي ديوكسي گوانوسين مركب مشتق و مؤكسد من أحدى القواعد النتروجينية في تركيب الحامض النووي (DNA) والتي تسمى بالديوكسي گوانوسين .

وأشارت أحدى الدراسات عند مهاجمة جذر الهايدروكسيل الحر (OH^-) لأشرطة الحامض النووي (DNA) المايتوكوندري و الخلوي فأن هذا يؤدي بالتالي إلى إضافة جذور حرة جديدة إلى قواعد الحامض النووي (DNA) وبالتالي يسبب تكون أنواع مختلفة من نواتج الأكسدة الضارة للحامض النووي (DNA) . (Valko *et al* . , 2004) .

5– 17 : العلاقة بين تركيز سكر الفركتوز و الفئات العمرية المختلفة في البلازما المنوية

5 – 18 : العلاقة بين تركيز حامض الستريك و الفئات العمرية المختلفة في البلازما المنوية

أكدت نتائج الدراسة عدم وجود فروق معنوية في تركيز سكر الفركتوز في البلازما المنوية عند المقارنة بين الفئات العمرية للرجال الذين خضعوا لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم ، أذ لوحظ انخفاض غير معنوي في تركيز سكر الفركتوز لدى الرجال أكبر من 40 سنة مقارنة بأعمار الرجال (31 – 40) سنة كما لوحظ من نتائجنا عدم وجود فروق معنوية في تركيز حامض الستريك بين الفئتين العمريتين 30 ≤ سنة و(31 – 40) سنة ، بينما لوحظ وجود انخفاض معنوي في تركيز حامض الستريك

لدى الرجال أكبر من 40 سنة مقارنة بالفئتين العمريتين 30 ≤ سنة و(31 – 40) سنة يمكن تفسير ذلك أن الزيادة في العمر لدى الرجال يؤدي إلى انخفاض في تركيز هرمون التستوستيرون الضروري لتحفيز غدتي الحويصلة المنوية والبروستات مما يسبب انخفاض في إفراز الغدتين لتركيز سكر الفركتوز و حامض الستريك (Yassa *et al*.,2001).

أن من أهم العوامل التي تؤدي إلى قلة مستوى تركيز سكر الفركتوز في السائل المنوي هو حدوث التهاب في غدة الحويصلة المنوية إضافة إلى نقص هرمون الأندروجين وحدوث انسداد جزئي في القنوات القاذفة (Campbll - Walsh *et al* . , 2007) .

أكد Abdalla وجماعته (2010) على وجود علاقة بين تركيز حامض الستريك وهرمونات الخصية و النطف في السائل المنوي للأشخاص العقيمين أذ أن حامض الستريك يرتبط بعلاقة واضحة مع هرموني اللوتيني (LH) و هرمون البرولاكتين (PR) ، كما لوحظ أن مستويات حامض الستريك تقل بصورة ضئيلة في مرضى وهن النطف وبصورة معنوية في مرضى اللانطفية .

تتفق نتائج بحثنا مع بحث سابق ، إذ أجريت أحدى البحوث حول العلاقة بين العمر ونوعية المني وتوصل البحث إلى وجود انخفاض معنوي في معالم النطف والمني وحجم المني بتقدم العمر ، كما لوحظ انخفاض في تركيز سكر الفركتوز بشكل معنوي لدى الرجال أكبر من 45 سنة وانخفاض في تركيز حامض الستريك لدى الرجال عند عمر أكبر من 50 سنة (Molina *et al* . , 2010) .

5 - 19 : نسب الحمل الناتجة و الموزعة حسب الفئات العمرية

لاحظت نتائج دراستنا انخفاض في نسب الحمل عند استعمال تقانة التلقيح الاصطناعي داخل الرحم مع زيادة العمر30سنة < و 40 سنة مقارنة بالعمر 30 ≤ سنة .

بيّن Belloc و جماعته (2008) وجود انخفاض معنوي في معدلات الحمل الاصطناعية Artifical Conception rate من 12.3% في الرجال الذين كانت أعمارهم أقل من 30 سنة إلى 9.3 % في الرجال الذين كانت أعمارهم تساوي أو أكبر من 40 سنة .

هنالك نتائج متشابهة لوحظت في دراسات أخرى (Klonoff - Cohen and H.S,2004 ; Demir, 2011) ، وهذا يعود إلى أن معالم النطف التي تتضمن تركيز النطف و النسبة المئوية للنطف المتحركة حركة تقدمية و النسبة المئوية للنطف السوية و حجم المني تكون طبيعية في الأشخاص الذين كانت أعمارهم من 30 سنة و أقل من 30 سنة و مقارنة بالأشخاص الذين كانت أعمارهم أكبر من 30 سنة أذ أن هذه المعالم لها دور مهم في ظهور نسب طبيعية من مضادات الأكسدة الدفاعية في البلازما المنوية وهذان العاملان (معالم النطف السوية ومضادات الأكسدة الطبيعية) لها دور مؤثر في حدوث الحمل إضافة إلى ذلك تعد الغدد الجنسية الملحقة المتمثلة بغدة الحويصلة المنوية وغدة البروستات عند الأشخاص 30 سنة و أقل من 30 سنة نشطة وبالتالي تكون إفرازاتها من سكر الفركتوز و حامض الستريك طبيعية و تعد هذه الإفرازات مهمة أذ أنها تلعب دوراً

حيوياً في حركة النطف و حمايتها من الأنواع الأوكسجينية الفعالة وبالتالي عدم تضرر الحامض النووي (DNA) للنطفة الذي من الممكن أن يسبب الفشل في حدوث الإخصاب وبالتالي حدوث الحمل (Gauci *et al* .,2001).

الاستنتاجات : Conclusions

1 - نستنتج من نتائج دراستنا ان المعالم الكيموحيوية المتمثلة بـ والسوبر اوكسايد ديسميوتيز والكلوتاثيون والكاتليز والفركتوز وحامض الستريك لها دور ايجابي في حدوث حالات الحمل للمرضى الخاضعين لبرنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم .

2- أن معدلات الحمل التي ظهرت من طريق عملية التلقيح الاصطناعي داخل الرحم كانت ضمن الحدود المذكورة في المصادر البحثية .

3- ترتبط بعض المعالم الكيموحيوية المدروسة المتمثلة (السوبر أوكسايد ديسميوتيز ، الكلوتاثيون ، والكاتليز) بعلاقة موجبة بمعالم النطف والمني .

التوصيات : Recommendations

1- مراجعة استشاريات التلقيح الاصطناعي في مراكز العقم لغرض اجراء عملية الحقن داخل الرحم (IUI) قبل بلوغ الـ 40 سنة لما لها من تاثير في مستويات مضادات الاكسدة والفركتوز وحامض الستريك .

2- اجراء فحوصات مضادات الاكسدة والجذور الحرة للمرضى قبل البدء في برنامج التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI) .

3- اعطاء المرضى مضادات الاكسدة من الكلوتاثيون (GSH) او السوبر اوكسايد ديسميوتيز (SOD) او الكاتليز (CAT) لغرض تحسين معالم النطف قبل البدء في اجراء عملية التلقيح الاصطناعي داخل الرحم (IUI) .

4- تقييم مضادات الاكسدة الاخرى ، ربما يكون لها تاثير في نتائج التلقيح داخل الرحم (IUI) مثل السلينيوم والكارنتين وفيتامين E وفيتامين C .

اولاً : المصادر العربية

- السلطاني ، يحيى (1997) : تنشيط النطف خارج الجسم لمرضى العقم والمصابين بقلة وابيضاض المني باستخدام المستنبتات الزراعية والهرمونات المحرضة للقند . اطروحة دكتوراه ، كلية العلوم ، جامعة بغداد .
- الهادي ؛ فارس ناجي عبود (1997) استخدام التقنية الطبقية المزدوجة الترسيبية في تنشيط مرضى العقم المصابين بقلة ووهن النطف . اطروحة دكتوراه ، كلية العلوم ، جامعة بغداد .
- المرشدي ، صاحب يحيى حسن ، تأثير بيروكسيد الهيدروجين وبعض مضادات الاكسدة في معايير النطف البشرية خارج الجسم الحي ، جامعة بابل، كلية العلوم ، (اطروحة دكتوراه غير منشورة) ، 2006 م .

ثانياً : المصادر الاجنبية

- Abdella ,A .M .; Omer,A . E .and Al- Aabed , B.H.(2010) : Biochemical markers in semen and their correlation with fertility hormones and semen quality among Sudanese infertile patients African journal of biochemistry research vol. (11), pp.: 255-260 .

- Acosta ,A.A.; Oehninger ,S.;Morshedi ,M.; Swanson ,R.J.; Scott , R.and Irianni ,F.(1988):Assisted reproduction in the diagnosis and treatment of the male factor .Obstet Gynecol Surv., 44 : 1 – 18 .

- Agarwal , A. ; Ikemoto , I. and Loughlin , K.R. (1994) : Relationship of sperm parameters with levels of reactive oxygen species in semen specimens . The journal of urology ., 152(1) : 107 – 110 .

- Agarwal , A. and prabakaran , S.A.(2005): Oxidative stress and oxidant in male infertility : A difficult balance , Iranian .Journal of Reproductive medicine ., 3(1): 1 – 8 .
- Agarwal , A.; Aponte – mellado , A.; Premkumar , B.; Shaman , A. and Gupta , S.(2012): The effects of oxidative stress on female reprouduction : A review Repord Biol Endocrinol . 10: 49 .

- Agarwal , A.; Makker , K. and Sharma , R.(2008):Clinical relevance of oxidative stress in male factor infertility : An update Am J Repord Immunol . 59 : 2 – 11 .

- Agarwal , A.; Sharma , R . K .; Nallella ,K.P.; Thomas , A.J.; Alvarez , J . G.and Sikka , S . C . (2006a) : Reactive oxygen species as an independent marker of male factor infertility .Fertil Steril .86 :878 – 885 .

- Agarwal, A. ; Durairajanayagam , D. and Plessis , S.S.(2014b) : Utility of antioxidants during assisted reproductive techniques : An evidence based review . Reproductive .Biology and Endocrinology . 12:112.

- Agarwal, A. ; Sharma, R.K ; Sharma, R., Assidi, M.; Abuzenadah , A. M. ; Alshahrani , S. ; Durairajanayagam , D. and Sabanegh , E . (2014a): Characterizing semen parameters and their association with reactive oxygen species in infertile men .Reprod Biol Endocrinol.,12(33):1–9.

- Agarwal,A.;Gupta,S. and Sikka,S.(2006b):The role of free radicals and antioxidants in reproduction .Curr Opin Obstet Gynecol .18:325–332.

- Agarwal,A.;Virk,G.;Ong,C.and plessis,S.S(2014C):Effect of oxidative stress on male Reproduction .World.J.Mens Health.32(1):1-17.
- Agarwal,A.and Majzoub,A.(2017):Role of antioxidants in assisted reproductive techniques .world .J.Mens Health.35(2).77-93.

- Agarwal,A.and saleh,R.A.(2002):Role of oxidants in male infertility: Rationale , significance , and treatment .Urol Clin North Am 29 : 817 – 827 .

- Aitken , R.J.and Baker ,M.A. (2000): Reactive oxygen species generation by human spermatozoa : A continuing enigma . Int.J. Androl . 25:191-194 .
- Aitken , R.J.and Baker ,M.A. (2005): Reactive oxygen species in spermatozoa : Methods for monitoring and significance for the origins of genetic disease and infertility .Repord Biol Endocrinol .3 : 67 .
- Akhter , S. ,Alam , H .; Khanam , N . N . and Zabin , F . (2011) : Characteristics of infertile couples . Mymensingh Med J Jan ., 20 (1):121- 127 .
- Al – Dujaily , S.S. and Arif , F (2011) : Correlation between intrauterine insemination outcome and krugerstrict criteria using two staining methods to detect the sperm morphology of infertile men . Institute of Embryo Researches and Infertility treatment Al-Nahrain University ., vol(1) No.(1) .
- Al – Hady , F.N.A.(2006):The level of reactive oxygen species (ROS) In Fresh and aged Asthenospermic Leukocytospermic and Normospermic semen .Qadisiyah University Journal of veterinary Science ., 5(2):42 – 48 .
- Al – Janabi , A.S.; Al – Mehdawi, F.A. and Al- Lami ,M.Q.(2012): Relationship of seminal Biochemical parameters and serum Reproductive Hormones with sperm Function Tests in Asthen ospermic patients .J Med; vol. 46 (2): 97 – 107 .
- Al- Azzawie , H.F.;Naeim ,M.and saleman E.D.(2014): Evaluation of enzymatic and non – enzymatic antioxidants status in seminal plasma of Iraqi infertile men . International Journal of advanced research volume 2 , Issue, 6 :158 – 167 .

- Al- Derawi , A.A.M.(2010) : Oxidative stress in the sera and seminal plasma of the infertility subject in Babylon governorate .M.SC.Thesis . College of medicine ,Babylon university .

- Alieh , G .and shabnam , P.(2008) : Research Journal of Biological Sciences ., 3(2) : 156 – 161 .

- Allamaneni , S . S .; Agarwal , A . and Nallella , K . P . (2005): Characterization of oxidative stress status by evaluation of reactive oxygen species levels in whole semen and isolated spermatozoa . Fertil Steril.83:800 – 803 .

- Allegra , A.; Marino , A.; Caffaro ,F.; Scaglione ,P.; Sammartano ,F. and pizza ,G.(2007): GnRH antagonist – induced inhibition of the premature LH suge increase .Pregnancy rates in (IUI).Stimulated cycles .A prospective randomized trial .Hum Repord .22:101 – 108 .

- Al-Rabeeah , k.;Alhathal ,N.; Gabriel , S.M. and Zini ,A. (2011) : Influence of seminal catalase activity on IVF pregnancy .J.Urol , 185:e805 .

- AL-Sakkal , N . M .; AL-Rubae , N . M ., Marrow , Z . A. and Safah , B.Y.(2009):The impact of proteins ,glycoproteins and fructose in blood and seminal plasma on sperm concentration in infertile men .J.Fac.med Baghdad.vol.51.p.p.1-5.

- Al-Salami,A.S.M.(2011):Assessment of some antioxidants in seminal fluid asthenospermic patients .Ph.D.Thesis.College of science ,Babylon University .

- Al-Sharani , S .; Mc Gill , J . and Agarwal , A. (2013) : Prostatitis and male infertility .J . Reprod . Immunol . 2201 : 1-7 .

- Al-Sharani , S. ; Agarwal , A. ; Assidi , M. ; Abuzenadah , A.M, Durairajanayagam , D ; Ayaz , A. ; Sharma , R. and Sabannegh,E.(2014) : Infertile men older than 40 years are at higher risk of sperm DNA damage. Rerpod Biol docrinol .12 : 103 Abstract .

- Al-Taee, H.; AL-Khfaji , Z.and Al-Madfai ,Z.(2014) :Age is the best marker to predict intracytoplamic sperm injection cycles , outcome .British journal of medicine and medical research ., 4 (23) :4076 – 4089 .

- Amidu ,N.; Owiredu , W.K.B.A;Bekoe , M.A.T.and Quaye ,L.(2012):The impact of seminal zinc and fructose concentration on human sperm characteristic .Journal of medical and Biomedical Sciences ., 1(1) : 14 – 20 .

- Antinori , M.; Licata , E.; Dani, G.; Cerusico , F.; Versaci , C.; Angelo , D. and Antinori , S.(2008): Intracytoplasmic morphologically selected sperm injection : A prospective randomized trail , Repord . Biomed . online .16 : 835 – 841 .

- Apleblat and Alexander .(2014): citric acid .Springer .11232 – 9 .

- Attaran , M.; Pasqualotto , E.; Flacone , T .; Goldberg , J.M.; Miller , K.F.; Aguewal , A. and Sharma , R.k. (2000) : The effect of Follicular fluid reactive oxygen species on the outcome of invitro fertilization . Int.J. Fertil . women . Med. 2000 , 45:314-320 .

- Badawy , A.; Elnashar , A. And Eltotongy , M. (2009) : Effect of sperm morphology and number on success of intrauterine insemination . Fertil Steril.91:777–781.

- Bagis ,T.;Haydrdedeglu , B.;kilicdag, E.B.;Cok,T.;Simsek ,E.and parlakgumus ,A.H.(2010):Single versus double intrauterine insemination cycles :A randomized trial .Human Reproduction ., 25(7):1684 – 1690 .

- Bajpayee,P.;Kumar,K.;Sharma.maurya,N.;Kumar,p.;singh,R.and LaL,C.(2012):Prostatitis :prevalence ,health impact and Quality improvement strategies Actapoloniae pharmaceuti Drug-Research.vol.69.p.p:571-579.

- Bamgbopa , K.T.(2010) : Hysteroscopy and assisted reproductive technology .Trop .J.Laparo Endoscopy . 1 :8 – 18 .
- Bansal , A.K. and Bilaspuri , G.S.(2011) : Impact of oxidative stress and antioxidants on semen functions . Veterinary medicine International , Article ID 686137 – 7 pages .

- Battino , M.; Ferreiro , M.S.; Galalrdo , I .; Newman ,H.N. and Bullon , P. (2002):The antioxidant capacity of saliva .J. Clin .Periodontol 29 : 189 – 94 .

- Bedaiwy , M . A .; Mahfouz , R . Z .; Goldberg , J. M .; Sharma , R .; Falcone , T.; Abdel Hafez , M.F. and Agarwal , A.(2009):Relationship of reactive oxygen species levels in day3 culture media to the outcome of invite fertilization intracytoplasmic sperm injection cycles . Fertil Steril , 94 : 2037 – 2042 .

- Bedaiwy , M.A.; Falcone , T.; Mohamed , M.S. and *etal* ., (2004) : Differential growth of human embryos invitro : Role of reactive oxygen species .Fertil . Steril .82 : 593 – 600 .

- Belloc, S. ; Cohen – Bacrie , P. ; Benkhalifa , M. ; Cohen – Bacrie , M. ; Demouzon , J. ; Hazout , A. and *etal* ., (2008) :Effect of maternal and paternal age on pregnancy and miscarriage rate after interauterine insemination . Reprod . Biomed . On line . 17 : 392 – 397 .

- Beydola ,T.; Sharma , R.K.and Agarwal ,A.(2010): Sperm preparation and selection techniques Assisted reproduction .Selection VI.Chapter 29 pp :245 – 251 .

- Bhagavathy , S.and Sumathi , P.(2012):Stabilization of membrance bound ATPase and lipid peroxidation by carotenoids from Chlorococcum humicola in Benzo (a) pyrene induced toxicity .Asian . Pacific Journal of Tropical Biomedicine ., 2(5):380 – 384 .

- Bjorndahl , L.; Mortimer , D.; Barratt , CI.R.; Castilla , J.A.; Menkveld ,R. and Kvist , U.(2010):Sperm preparation a partical guide to basic Laboratory Andrology . Ist.end.U.S.A:(Cambridge University press .(167 – 187) .

- Boomsma , C.M.; Heineman ,M.J.; Cohlen ,B.J.and Farquhar , C. (2007) : Semen preparation techniques for intrauferine in semination . Systematic Reviews .4 : 1 – 16 .

- Bossert , N.L.and De- Jonge , C.J .(2007) : Sperm preparation for IVF and ICSI .In : In vitro fertilization . A practical approach .David .K.Gardner .Informa health care : 147 – 157 .

- Bourne , H.; Edgar , D.H. and Baker , H.W.G.(2004): Sperm preparation techniques .In :Gardner ,D.K.;Weissman , A.; Howles , C.M.and Shoham ,Z.(eds).Textbook of assisted reproductive techniques :Laboratory and clinical perspectives .2nd edn .U.S.A : Informa health care .pp.79 – 91 .

- Brinsden , P.R.and Dickey ,R.P.(2010) :An overview of intrauterine insemination and ovulation induction . Manual of intrauterine insemination and ovulation induction .73562 – 9 .
- Buckett , W.M.and Lewis – Jones Dl .(2002) : Fructose concentrations in seminal plasma from men with nonobstructive azoospermia . Arch . Androl.48:23-27 .

- Buckett ,W.M. and Lewis- Jones , D.I.(2002):Fructose concentration in seminal plasma from men with nonobstructive azoosperm . Arch Androl. 48 : 23 – 27 .

- Budhan ,S.P.Katrin , N.;Katarina , J.; JoGayle ,H.and David ,E.W. (2006): The impact and potential etiology of teratospermia in the domestic cat and it is wild velatives .Theriogenology .66:112 – 132 .

- Buffone,M.G.;Calamera,J.C.;Olmedo,S.B.;Vincentils,S.D.;Calamera,M. M.;story, B . T . ; Doncel , G . F . and Alvarez , J . G (2012) : Superoxide dismutase content in sperm correlates with motility recovery after thawing of cryopreserved human spermatozoa .Fertility and sterility volume:97,Issue,2.p.p:293-298.

- Burton , J. and Jauniaux , E.(2011) :Oxidative stress . Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol ., 25 (3) : 287 – 99 .

- Butt,F.and Akram,N.(2013):Semen analysis parameters : Experiences and insight into male infertility at tertiary care hospital in Punjab.J Pak Med Assoc .,63(5):558–562.

- Campbell – walsh.; Alan , J.; Wein .; Andrew , R.K.C; Novick .; partin , A.W. and peters , C.A.(2007): Urology – 9th ed ./edition – in – chief Chapter19 .pp.1483 .
- Cantineau , A.E.P.;cohlen ,B.J.and Heinem ,M.J.(2009): Ovarian stimulation protocols (anti – oestrogens , gonadotvophins with and without GnRH agonists / antagonists) for intrauterine insemination (IUI) in women with subfertility . cochrane .Database . Syst .Rev.

- Cavallini , G . (2006): Male idopathic oligoasthenoteratozoospermia . Asian .J Androl .,8(2) : 143 – 157 .

- Chari,G.M.and Colagar,H.A.(2011):Seminal plasma lipid peroxidation ,total antioxidant capacity ,and cigarette smoking in astheno terato.spermic men .J.Men's Health 8(1):43-9.

- Cheah , Y. and Yang , wanxi . (2011): Functions of essential nutrition for high quality spermatogenesis .Advances in Bioscience and Biotechnology . 2 : 182 – 197 .

- Chen,H.;Chow,P.H.;Cheng,S.K.;Cheung,A.L.M.;Cheng,L.Y.L.and O,w.s.(2003):Male genitaltract antioxidant enzymes:their source ,function in the female and ability to preserve sperm DNA integrity in the golden Hamster Journal of Andrology .Volume ,24.p.p:704-711.

- Chi , H.; kim , J. ; Ryu ,C. ; Lee , J. ; Park , J. ; Chung , D. ; Choi , S. ; Kim , M. ; Chun , E. and Roh , S. (2008) : Protective effect of antioxidant

supplementation in sperm preparation medium against oxidative stress in human spermatozoa . Hum . Repod . 23 : 1023-1028.

- Cooper,T.G.; Noonan ,E.and von Eck and stein ,S: (2010) : world Health Organization reference values for human semen characteristics .Hum Reprod Update., 16(3) : 231 – 45 .

- Corrales , J.J.;Burgo, R.M.; Miralles, J.M and villar, E.(2000): Abnormalities in sperm acid glycosidases from infertilemea with idiopathio oligoasthenoteratozoospermia . Fertile Steril .73: 470 - 478 .
- Coward and Wells , D.(2013) : Textbook of clinical embryology . Cambridge university press . New York .

- Crisol , L. ; Matorras , R. ; Aspichueta , F. ; Exposito , A. ; Hernaandez , M.L; Ruiz- Larrea , M.B.; Mendoza , R. ; Ruiz – sanz . and J. I. (2012) : Glutathione peroxidase activity in seminal plasma and it is relationship to classical sperm parameters and in vitro fertilization – intracytoplasmic sperm injection outcome . Fertil Steril .97:852-857.

- Dalvit , G.; Llanes , S.P.; Descalzo , A. and *etal.*, (2005):Effect of alpha – tocopherol and ascorbic acid on bovine oocyte in vitra maturation . Repord Domest Anim . 40 : 93 – 97 .

- Daniel, W.W.(1999):Probability and t distribution biostatistics : A foundation for analysis in health science . 7th ed . 83 – 123 . John Willey and sons , INC – U.S.A.

- De – Jonge , C.L. and Barratt , C.L.(2006):Production , maturation , fertilization , regeneration .1st edition , Cambridge University press 2006 .

- De- Lamirande , E. and O'flaherty , C.(2008):Sperm activation : Role of reactive oxygen species and kinases : Biochim Biophys Acta .1784 : 106 – 115 .

- Demir , B. ; Dilbaz , B. ; Cinar , O. ; Karadage , B. ; Tasei , Y. ; Kocak , M.and *etal* ., (2011) : Factor affecting pregnancy outcome of intrauterine insemination cycles in couples with favourate female characteristics . J Obstet Gynaecol . 31 : 420 – 423 .

- Diemer ,T.; Schroeder- printzen , I and Weidner ,W.(2007): Surgical sperm retrieval Urologe .A. 46 : 789 – 98 .

- Dohle ,G.R.;Jungwirth ,A.;Colpi ,G.and Diemer , T.(2007):Cuide Line on male infertility .Eur Associat Urol .11:8-21 .

- Dong , M.; Shi , Y.and Cheng , Q.(2001) : Increased nitric oxide in peritoneal fluid from women with idiopathic infertility and endometriosis .J Reprod med .46 : 887 – 91 .

- Duran , E.H.; Morshedi ,M.;Taylor , S.and Oehninger , S. (2002): Sperm DNA quality predicts intrauterine insemination outcome : A prospective cohort study .Hum Reprod ., 17(12):3122-8.

- Duvan , C.I.; Berker ,O.; Bayrak , O.; Aydos, k.; Turhan ,N.O., and satiroglu , H.(2009):Comparison of semen parameters between pregnant and non-pregnant couple with male factor infertility during intrauterine insemination .Turk J Med Sci.39:531 – 536 .

- Eblen , A.;Bao,S.;Lei,Z.M.;Nakajima ,S.T. and Rao ,C.V.(2001):The presence of functional Luetinizing hormone chorionic gonadotrophin receptors in human sperm .J Clin Endocrinol and Metab .86:2643 – 2648 .

- EL-Taieb,M.A.A.,R.,Herwig,E.A.,Nada,J.,Greilberger and M.Marberger.(2009):Oxidative stress and epididymal sperm transport motility and morphological defects .Eur. j.Obstet .Gynecol. Reprod. Biol, 144:199-203.

- Esteves , S.C. and Schneider , D.T. (2011): Male infertility and assisted reproductive technology : Lesson from the IVF .The open Reproductive Science Journal . 3:138 – 153 .

- Everson, D.P.and wixon ,R.D.(2008) : Data analysis of two invitro fertility studies using sperm chromatin structure assay – derived DNA fragmentation index.Pregnancy outcome . Fertil Steril., 90(21):1229 – 31 .

- Ferlin ,A.; Raicu,F.; Gatta , V.; Zuccarello , D. and palka , G.(2007) : male infertility role of genetic back ground .Reprod . Biomed online .14 : 734 – 45 .

- Feugang , J.M.; de Roover , R.; Moens , A. and *etal* ., (2004):Addition of beta – mercaptoethanol and or Trolox at the morula / blastocyst stage improves the quality of bovine blastocysts and prevents induction of apoptosis and degeneration by prooxidant agents . Theriogenology . 61 : 71 – 90 .

- Ford , W.C. ; North , K. ; Taylor , H. ; Farrow , A. ; Hull , M. G .and Golding . (2000) : Increasing paternal age in associated with delayed conception in large population of fertile couples : Evidence for declining

fecundity in older men . The ALSPAC study team AVON longitudinal study of pregnancy and childhood . Hum.Reprod ., 15 (18) : 1703 – 1708 .

- Forti,G.and Krausz,C.(1998):Evaluation and treatment infertile couple , J. Clinic ndocrin Metab .83:4177 – 4188 .

- Francavilla , F. ; Sciarretta , F.; Sorgentone , S. ; Necozione , S.; Santucci , R .; Barbonetti , A. and Francavilla , S. (2009) : Intrauterine insemination with or without mild ovarian stimulation in couples with male subfertility due to oligoastheno and or teratozoospermia or antisperm antibodies : A prospective cross – over trial . Fertil Steril .Sep ., 92 (3): 1009 - 11 .

- Frank ,H. and verhoff . (2005): "Citric acid " , Ullmann's Encyclopedia of Industrial chemistry ,Weinheim : Wiley – VCH.

- Franken ,D.R.and Kruger ,T.F.(2004): What is a normal spermatozoon ? In: Atlas of human sperm morphology evolution .NewYork .49 – 73 .

- Fujii , J.; Iuchi .; Matsuki , S.and Ishii , T.(2003):Cooperative function of antioxidant and redeox systems against oxidative stress in male reproduction tissues .Asian J Androl , 1:12 .

- Ganong , W.F.(2005) : The gonads :Development and function of the reproductive system .In :Review of medical physiology by : Ganong , W.F.(ed), Lange medical Books /McGraw- Hill, U.S.A.PP.408 – 419 .

- Gauci,M.;Kruger.;T.F.;Coetzee,K.;Smith,K,Van Dermerwe,J.P. and Lombard,C.J.(2001):Stepwise regression analysis to study male and

female factors impacting on pregnancy rate in an intrauterine insemination programme Andrologia .33:135–410.

- Gharagozloo , P. and Aitken , R.J.(2011):The role of sperm oxidative stress in male in fertility and the significance of oral antioxidant therapy .Hum Repord .26:1628 – 1640 .

- Gil – Villa , Am , Cardona – Maya , W.;Agarwal , A. ; Sharma , R. Cadavid , A.(2009) : Role of male factor in early recurrent embryo loss : Do antioxidants have any effect ? Fertil Steril ., 92(2) : 565 – 57.

- Gonzales, G.F. (2001) : "Function of seminal vesicles and their role on male fertility " . Asian . J . And rol. 3(4) : 251-8 .

- Gorgas , K.;Teigler , A.; Komljenovic , D. and Just , W.W.(2006) : The ether lipid – deficient mouse Tracking down plasmlogen functions . Biochimicaet Biophysica ,Acta ., 1763 (12) : 1511 – 1526 .

- Gupta, S.; Sekhon , L.; Yesul , K.and Agarwal , A.(2014): The role of Oxidative stress and antioxidants in assisted reproduction .Current women's Health Reviews . 6(3) : 227 – 238 .
- Gupta,R.S.; Sharma , R. ; Sharma , A.. Bhatanger , A.K.; Dobhal , M.P. and Jodhi , Y.C.(2002):Effect of alstor Scholaris bark extracton testicular function of wistarrats . Asian J Androl .4:75- 78 .

- Guyton , A.C and Hall , J.E.(2006):Reproductive and hormonal functions of the male and the pineal gland .In : Textbook of medical physiology .9th ed .W.B.Saunders company , Philadelphia , London , Tokyo .pp.1003 – 1016 .

- Guyton , A.C.and Hall; J.E.(1997): The male sexual act . In : Textbook of medical physiology .Guyton , A.C.(ed) , Sanders , W.B.Company Philadelphia .80:1003 – 1016 .

- Hadwan , M.H. (2008): The activities of catalase in the spermatozoa and seminal plasma of patients with asthenospermia , and their relationship with oxidants and antioxidants . National journal of chemistry . 31 : 514 – 521 .

- Hajimaghsoudi, F.;Anvari,M.and Khalili,M.A.(2008):Semen analysis and In vitro Fertilization cycle outcome in polyzoospermia . J Reprod Infertil ; 9(3): 238 – 45 .

- Halliwell , B.(1994): Free radicals , Antioxidants and human disease : Curiosity , cause , or consequence ? Lancet .344: 721 – 724 .

- Hamada , A.J.; Ali , D.T. and Al – Nasiri , U.S.(2011): Relevance of seminal plasma fructose concentrations to male infertility .Iraqi .J. Embryos and Infertility Researches .vol(1).No(1).
- Hammadeh , M.E. ; Filippos , A.A. and Hamad .M.F. (2009) : Reactive oxygen species and antioxidant in seminal plasma and their impact on male fertility . International .Journal of fertility and sterility . , 3(3) : 87-110 .
- Hanukoglu,I.;Boggula,V.R.;Vaknine,H.;Sharma,S.;Kleyman,T.and Hanukoglu,A.(2017):Expression of epithelial sodium ehannel (E Na C) and (FTR) in the human epidermis and epidermal appendages.His to chemistry and cell .Biology .volume 147,Issue6,p.p:733-748.

- Hellstrom ,W . J . G .; Overtreet , J. W .; Sikka , S . C .; Denne , J .; Ahuja , S .; Hoover,A.m.;sides,G.D.;Cordell,W.L,Harrison,L.M and Whitakers ,J.S.(2007):Journal of andrology ,vol.27.p.p:1-8.

- Henkel , R.R.and Schill ,W.B.(2003):Sperm preparation for ART . Repord Biol Endocrinol .14 :108 – 129 .

- Hsieh , Y.Y. ; Sun , Y.L. ; Chang , C.C.; Lee; Y.S. ; Tsai ; H.D. and Lin , C.S.(2002):Superoxide dismutase activites of spermatozoa and seminal plasma are not correlated with male infertility . J Clin Lab Anal . 16 : 127 – 131 .

- Hsieh , Y.Y; Chang , C.C. and Lin , C.S (2006):Seminal malondialdehyde concentration but not glutathione peroxidase activity is negatively correlated with seminal concentration and motility .Int J Biol Sci .2:23- 9 .

- Hussain , N . K .; Rzoqi , S . S .; Numan , A . W . and Ali .D.T.(2011): Acomparative study of fructose ,zinc and copper levels in seminal plasma in fertile and infertilemen.Institute of embryo research and infertility treatment,AL-Nahrain university ,medical technical institute. Dept.of chemistry , college of science ,Baghdad university. Vol , 9(1).p.p:1-7.

- Iberico , G.;Vique , J.;Ariza ,N.;Lozano, J.M.;Roca ,M.and Liacer, J.(2004):Analysis of factors influencing pregnancy rate in homologous intrauterine insemination .Fertil Steril., 181(5):1308 – 1313 .

- Inoue , N.; Yamaguchi ,R.; Ikawa , M. and Okabe ,M.(2007):Sperm – egg interaction , and gene manipulated animals .Soc Repord Fertil Suppl . 65 : 363 – 71 .

- Iqbal , K.; Khan , A. and khattak , A.K.(2004):Biological significance of Ascorbic acid (vitamin C) in human Health . Pakistan J of Nutrition ., 3(1):5 – 13 .

- Irvine , D.S.; Twigg, J.P .; Gordon , E.L.;Fulton , N., milne ,P.A.and Aitken ,R.J.(2000):DNA integrity in human spermatozoa .Relationship with semen quality . J Androl ., 21(1):33 – 44 .

- Isa , A.M. ; Abu – Rafea , S. and Al-Nasiri , A. and *etal* . , (2014): "Accurate diagonosis as prognostic factor in intrauterine insemination treatment of fertile Saudi patients " Journal of reproduction and infertility vol 15 , No . 4 , pp. 184 – 189 .
- Jainu , M. and Shyamala , Dev, C.S.(2004):Antioxidant effect of methanolic extract of solanum nigrum berries on aspirin induced gastric mucosal injury.Indian.j.of clinical Biochemistry.,19(1):57 –61.

- Janicki , D.(2008): Oxidative stress .pitts burgh mind body center .
- Jarow , J.P.; Sharlip,I.D.and Belker , A.M.(2002):Best practice pdicies for male infertility .J Urol .,77(5):873 – 82 .

- Jomova , K. and Volko , M.(2011): Advances in metal – induced oxidative stress and human disease , Toxicology . 283 : 65 – 87 .

- Kamarzaman , S.; Abdul- Wahab , A.Y.and Abdul Rahman ,S.(2014): Effects of thymoquinone supplementation on Cyclophosphamide toxicity of mouse embryo in vitro .Global veterinaria ., 12(1):80 – 90 .

- Kandell, F.R.; Swerdloff, R.S. and pryor , J.(2007):Male Reproductive Dysfunction pathophysiology and Treatment .pp: 268 .

- Kavanagh ,J.P; Darby, C. and Costello ,C.B(1982): The response of seven prostatic fluid components to prostatic disease .Int.J.Androl. 5:487 – 496 .

- Keber,R.;Rozman,D. and Horvat , S.(2013):Sterols in spermatogenesis and sperm maturation , J Lipid . Res., 54(1):20 – 33 .

- Kefer,J.C.;Agarwal,A.and Sabanegh,E.(2009):Role of antioxidant in the treatment of male infertility .Int.J.Urol,16(5):499-57.
- Khatoon , F.; Abdullah, F.S; Mushaq, M.; Batoo, S. and Balouch , Z. (2014):Correlation of fructose with spermatogenesis . Pinnacle. Biochemistry Research , Vol(1): 188 – 193 .

- Khosrowbeygi , A.;Zarghami , N.and Deldar ,Y.(2012):Correlation between sperm quality parameters and seminal plasma antioxidants status .Iranian journal of reproductive medicine .vol.2.No.2pp:58-64.

- Kidd,S.A.;Eskenazi ,B.and Wyrobek,A.J.(2001):Effects of male age on semen quality and fertility :A review of the literature .Fertil Steril . 75:237 – 248 .

- Kise, H.; Nishioka, J.; Satoh, K.; Okuno, T., Kawamura, J. and Suzuki, K.(2000):Measurement of protein C inhibitor in seminal plasma is useful for detecting agenesis of seminal vesicles or the vas deferens. J Androl ; 21(2): 207 – 212 .

- Kitagawa , Y.; Suzuki , K.; Yoneda , A. and *etal* ., (2004):Effects of oxygen concentration and antioxidants on the in vitro developmental ability , production of reactive oxygen species (ROS), and DNA fragmentation in porcine embryos .Theriogenology .62:1186 – 1197.

- Kk ; K.K.; Donat , R.; Chan , L.; Lalak , A.; Dipiero , I. and Handels , D.J. (2004) : Sperm output of older men .Hum. Reprod . 19 : 1811 .

- Klonoff – Cohen and H.S. (2004) : The effect of advancing paternal age on pregnancy and live brith rates in couples undergoing in vitro fertilization of gamate intrafallopian transfer . A M J Obst Gynaecol.191: 507 – 5014 .

- Koh , S. ; Sanders , K. and Burton , P.(2016): Effect of male age on oxidative stress markers in human semen . Journal of Reproduction . Biotechnology fertility . 5 : 1 – 10 .

- Kolettis , P.N.(2003) : Evaluation of the subfertile men . Am Fam Ph ., 12(4) : 1 – 11 .

- Krebs, N.A.; Peters , R.A. and Coward , K.H.(2001):Vitamin C requirement of Human adults :Experimental study of vitamin C deprivation in man .Lancet . 254 : 853 – 858 .

- Kumagai , A.; Kodma , H.;Kumagai , J.; Fukuda , J.; Kawamura , K.; Tanikawa , H. and *etal* ., (2002):Xanthine oxidase inhibitors suppress testicular germcell apoptosis induced by experimental cryptorchidism . Mol. Hum Repord .8 : 118 – 123 .

- Kumar, R.; Thulkar , S.; Kumar, V.; Jagannathan , N.R. and Gupta, N.P.(2005): Contribution of investigations to the diagnosis of bilateral vas aplasia .ANZ J Surg .,75(9): 807 – 809 .

- Kumar,R,S.;Venkatesh,M.;Kumar,Tanwar,M.and Shasmsi,M.B.(2009):Oxidative stress and sperm mitochondrial DNA mutation idiopathic oligoasthenozoo spermic men .Indian .J.Biochem.Biophys.46:172-177.

- Lambardo ,F.; Gandini ,L.;Lenzi ,A. and Dondero ,F.(2004) : Antisperm immunity in assisted reproduction . J Reprod Immunol . 62:101 – 109 .

- Lamond , S.; Watkinson , M.;Rutherford,T.; Laing , K.; Whiting , A.; Smallwood , A.; *etal* .,(2003):Gene – specific chromatin damage in human spermatozoa can be blocked by antioxidants that target mitochondria .Repord Biomed Online .7: 407 – 418 .

- Lanska , V.; Koubkova , B., Rezacova , J. , Krcmar , M. ; Darebny , P .; Melicharova , L . ; Dohnalova , K . ; Vaverkova , A . and Feyereisl.(2015) : Intrauterine insemination – our result between the years 2008 – 2012 . Advances in reproductive sciences . 3 : 34 – 40 .

- Lenzi , A.; Lombardo . F.; Gandini , L.; Gulasso , F. and Dondero , F. (1992) : Glutathione therapy for male infertility . Arch . androl . 29: 65-68 .

- Levente , L.(2012):The role of the Oxidative stress in femal Reproduction and pregnancy,Oxidative stress and Diseases. http://www.intechopen.com .

- Levitas , E. ; Lunenfeld , E. ; Weisz , N. ; Figer ,M.; Potashnik ,G.(2007) : Relationship between age and semen parameters in men with normal sperm concentration analysis of 6022 semen samples . Andrologia . 39 : 45 – 50 .

- Loft ,S.;Kold – Jensen , T. ; Hjollund , N.H. ; Giwercman , A. ; Guyllemborg , J.; Ernest , E.; Olsen , J.; Scheike , T.; Poulsen , H.E.and Bonde , J.P.(2003):Oxidative DNA damage in human sperm influences time to pregnancy . Hum Reprod , vol. 18 .pp. 1265 – 72 .

- Lombardo ,F.; Fiducia, M.; Lunghi , R.; Marchetti , L.; palumba , A.; Rizzo , F. and *etal* .,(2012) : Effect of a dietary supplement on chronic

pelvic pain syndrome (category IIIA), leucocytospermia and semen parameters . Andrologia ., 44(suppl 1) : 672 – 678 .

- Lorusso , F.; Ceci, O.; Bettocchi , S.; Lamanna , G.; Costantion , A .; Serrati , G. and Depalo , R.(2008) : office hysteroscopy in an in vitro fertilization program . Gynecol Endocrinol .24 : 462 – 469 .

- Macizo , S.;Galvez,p.;Jorquera , G.;Peinado ,R.;Alvarez,C.; Canteras , J . and parrilla , P.(2012):Pregnancy predictors after intrauterine insemination : Analysis of 3012 cycles in 1201 couples . J Reprod Infertil ., 13(3) :158 – 166 .

- Marconi ,M.; Pilatz ,A.; Wagenlehner ,F.; Dimer ,T. and weidner ,W.(2009):Impact of infection on the Secretory Capacity of the male Accessory Glands International . Braz J Urol ; 35 (3): 299 – 309 .

- Miraglia , E-i De-Angelis , F ., Gazzano , E ., Hassan pour , H., Bertagna , A., Aldieri , E., Revelli , A., and Ghigo , D. (2001) : Nitric oxide stimulates human sperm motility via activation of the cyclic GMP / Protein Kinase G signa ling Pathway , Reproduction . 141: 47-54 .

- Moein , M.R; Dehghani , V.O.; Tabibenejad , N. and Vahidi , S.(2007) Iranian . Journal of reproductive Medicine , 5,2 : 51-55 .

- Molina , R. I. ; Martini , A. C , Tissera , A. ; Olmedo, J. ; Senestrai , D. ; Cuneo , M.F. and Ruiz , R.D.(2010): Semen quality and Aging Analysis of 9.168 samples in cordoba . Argentina Arch ESP.Urol ., 63 (3) : 214 – 221 .

- Motrich , R.D. ; Maccioni ,M. ; Ponce , A.A. ; Gatti ,G.A. ; Oberti , J.P.M. and Virginia .(2016):Pathogenic Consequences in semen Quality of an Autoimmune Response against the prostate Gland : From Animal

models to Human Disease .The American Association of Journal Immunologists , Inc . 177 : 957 – 967 .

- Murawski ,M.;Saczko,J.;Marcinkowska,A.;Chwikowska,A.;Grybooe, M.and Banaoe ,T.(2007):Evaluation of superoxide dismutase activity and its impact on semen quality parameters of infertile men . Folia Histochemt Cytobiol .45:123- 126 .

- Murrary ,R.K.Granner ,D.K. and mayes ,P.A.(2003) : " Harper's IIIustrated . Biochemistry " .26th ed .Lange .Medical.Books / MC Graw – Hill : 87 – 91 .

- Muslih,R.k;AL-Nimer,M.S and AL-Zamely ,O.M.(2002) :The level of malondialdehyde after activation with (H_2O_2) and ($cuso_4$)and inhibition by desferoxamine and molsidomine in the serum of patients with acute myocardial infarction National .Journal of Chemistry ;5:139-148.

- Nadja , C. ; Souza – pinto , De . ; Eide , L. ; Barbara , A. ; Tanja – Thybo , H .; Stevnsner , T.; Seebberg , E. ; Klungland , A. and Bohr , V. A.(2001): Repair of 8- Oxodeoxyguanosine Lesions in mitochondrial DNA depend on the Oxoguanine DNA Glycosylase (OGG1) Gene and 8- Oxoguanine Accumulates in the mitochondrial DNA – OGG1 – defective Mice . Cancer Research . 61(14) : 5378-5381 .

- Nonogaki , T.; Nada , Y.; Narimoto , K.; Umaoka , Y. and mori , T. (1992): Effects of superoxide dismutase on mouse invitro fertilization and embryo culture system . J . Assist . Reprod. Genet . 9:274-280 .

- Novotny , J .;Oborna , I .; Brezinova , J . and *etal*., (2003) : The Occurrence of reactive oxygen species in the semen of males from infertile couples . Biomed . 147:173-176 .

- Novotny , J.; Aziz , N.; Rybar , R.; Brezinova , J.; Kopecka , V.; Reruchova , M. and Obornal , I.(2013):Relationship between reactive oxygen species production in human semen and sperm DNA damage assessed by sperm Chromation structure Assay . Biomed pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub., 157(4):383 – 6 .

- OFlaherty ,C.,de-Lamirande,E.and Gagmon ,C.(2005):Reactive oxygen species and protein kinases modulate the level of phospho – MEK-Like proteins During Human sperm capacitation .Biology of Reproduction .73:94-105.

- Olayemi , F.O.(2010) : A review on some causes of male infertility .African Journal of Biotechnology., 9 (20) : 2834 – 2842 .

- Ombelet , W.(2013) : Evidence – based recommendations for (IUI) in daily practice . Middle. East. Fertility Society Journal . 18:74 – 77 .

- Ord , T.;Patrizio ,P.; Marello , E.and *etal* ., (1990): Mini- percoll :A new method of semen preparation for IVF in severe male factor infertility . Hum Reprod .5:987 – 989 .

- Oyamada , T. and Fukui , Y.(2004):Oxygen tension and medium supplements for in vitro maturation of bovine oocyte cultured individually in a chemically defined medium .J Repord Dev .50:107 – 117 .

- Pardo , M.; Barri ,P.N.; Bancells ,N.; Coroleu ,B.; Buxaderas , C.; Pomerol ,J.M and Shabater ,J.(1988) : Spermatozoa selection indiscontinuous percoll gradients for use in artificial insemination. Fertile Steril .49:505 – 509 .

- Patel , S .; Pand , S .; Nanda , R .; Mangavaj , M . and mohapatra , P.C.(2009):Influence of oxidants and antioxidants on semen parameters in infertile males.J.Indian .Med.Assoc.,2(107):78-80.

- Patric , C.; Walsh , P.C.; Alan ,B.; Thomas ,A.; Vaughan ,E.D. and stamy , M.D(1997): Campbell's Urology .7th ed ,W.B. Saunders company New York .pp:807 – 1015 .

- Pendyala , G.; Thomas , B. and kumari , S.(2008):The challenge of antioxidants to free radicals in periodontotitis . Human Reprod ., 12(3): 79 – 83 .

- Peterson , C.M .(1997) : Ejaculation dysfunction .Hum Rep Update ., 6 (4): 351 – 363 : (Abstract) .

- Pham – Huy , L.A.; He, H. and Pham – Huy , C.(2008):Free radicals , antioxidants in disease and health . Int J Biomed Sci., 4(2):89 – 96 .

- Rahman , K.(2007):Studies on free radicals , antioxidant and co-factors , Clinical Interventions in Aging 2007 ., 2(2):219 – 236 .

- Rangari,K.and Shrivastar ,T.G.(2007):A correlation study between steroid hormone levels and anti – sperm antibodies in serum and seminal plasma of men with or without reduced sperm motility . J of Endocrinol Reprod ., 11(1):31 – 35 .

- Roberts , K.P.; Ensrud , K.M.; Wooters ,J.L.;Nolasn , M.A.Johoston , D.S. and Hamitton ,D.W.(2006) : Epididymal secreted crisp -1 and sperm function . Mol Cell Endocrinol .114: 405 – 417 .

- Rowe , P.J.; Comhaire , F.H.; Hargreave ,T.B.and mahmond ,A.M.(2000): WHO Manual for the standardized investigation and diagnosis of the infertile male .UK: Cambridge university press .

- Rrumbullaku, L.;Boci,R.;Dedja,A.and Dautaj , K.(1998):Sperm morphology in infertile men with varicocele .Ist .Balkan .Symposium of andrology ,Al-exanderonpdis , Greece .June .12.14 .

- Ruder , E.H.; Hartman ,T.J. and Goldman ,M.B.(2009) : Impact of oxidative stress on female fertility . Curr Opin Obstet Gynecol .; Jun. , 21(3):219 – 22 .

- Sabeti , P. ; Pourmasumi , S. ; Rahiminia , T. ; Akyash, F. and Talebi , A. R.(2016):Etiologies of sperm oxidative stress .Int . J Reprod Bio Med (yazd) . 14:231–240.

- Safarinejad , M.R.(2011):Effect of pentoxifylline on semer parameters , reproductive hormone and seminal plasma antioxidant capacity in men with idopathic infertility :A randomized double – bind placebo – controlled study , Int Urol Nephrol.43: 315 – 328 .

- Said , L..Galeraud – Denis , I.;Carreau , S. and Saad ,A.(2009) : Relationship between semen quality and seminal plasma components : Alpha – glucosidase fructose and citrate in infertile men compared with a normospermic population of tunisianmen .Andrologia . 41 : 150 – 156 .

- Said , T.M. ; Gokul , S.R. and Agarwal , A.(2012) : Clinical Consequences of Oxidative Stress in male Infertility Studies on men's Health and Fertility : Oxidative stress in Applied Basic Research and Clinical Practice pp : 535 – 549 .

- Said , T.M.; Agarwal , A.; Sharma , R.K.; Thomas , A.J.Jr. and sikka , S.C.(2005):Impact of sperm morphology on DNA damage caused by oxidative stress induced by beta – nicotin amide adenine dinucleotide phosphate Fertil Steril .83 : 95 – 103 .

- Saleh , R.A.; Agarwal ,A. and Sharma , R.K.(2003):Evaluation of nuclear DNA damage spermatozoa from infertile men with varicocele . Fertil Steril .80 :1431 – 1436 .

- Schorah , C.J.(1998): Vitamin C and gastric cancer prevention .In:paoletti. R . *etal* ., eds . vitamin C : The state of the art in disease prevention sixty years after the Nobel prize .milan , Springer .41 – 49 .

- Shiva , M. ; Gautam , A.K. ; Vermd , Y.; Shivgotra , V. ; Doshi. And kumar , S. (2010) :Association between sperm quality , oxidative stress and seminal antioxidant activity . Clin Biochem . , 44(4):319 – 324 .

- Shkolnik , K.; Tadmor , A.; Ben – Dor, S.; Nevo.; Galiani , D. and Dekel , N.(2011): Reactive oxygen species are indispensable in ovulation . proc Natl Acad Sci .U.S.A .108 : 1462 – 1467 .

- Siciliano , L.; Tarantino , P.; Longobardi , F.; De-Stefano , C. and carpino , A. (2001) : Impaired semial antioxidant capacity in human semen with hyper viscosity or oligoastuenozoospermia .J. androl .22: 798-803 .

- Singh, R.P.; Sharad , S. and kapur , S.(2004):Free Radicals and Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases:Relevance of Dietary Antioxidants . JIACM., 5(3): 218 – 25 .
- SM ; B.G. ; K.S. and D.A.D. (2009) : Seminal malondialdehyde concentration and superoxide dismutase , catalase activity in male infertility . The internet journal of health . , 11(2) : 1 – 7 .

- Souter,I.;Baltagi , L.M.;Kuleta , D.;Meeker,J.D.and petrozza , J.C.(2011): Woman , weight , and fertility : The effect of body mass index on the outcome of superovulation intrauterine insemination cycles .Fertil Steril., 95(3):1042-7 .

- Spano , M . ; Bonde , J.P.;Hjollund , H.I.; Kolstad , H.A.; Cordelli , E. and Leter , G. (2000) :Sperm chromatin damage impairs human fetility .Fertil Steril .73:43 – 50 .

- Sreenivasa , G.; Kavitha , p.; Shivaprasad , H.S.; Vineeth , V.S.; Chaithra , / P.T.; Kumar , S.C.; Najafi , M. and Malini ,S.(2011): Spermiogram and biochemical approach in evaluating male infertility in South Karnataka . Journal of Medicine and medical science ., 2(8) : pp : 1028 – 1035 .

- Suarez., S.S.(2008):Control of hyperactivation in sperm .Hum Reprod Update .14 : 647 – 657 .

- Swan,SH;Elkin,EP.and Fenster,L.(2000):The question of declining sperm density revisited : An analysis of 101 studies published 1934-1966.Environ Health perspect .108 : 961-6.

- Takagi , S.; Itoh ,N.; Kimura ,M.; Sasao , T. and Tsukamoto , T.(2001) :Spermatogonial proliferation and apoptosis in hypospermatogenes associated with non-obstructive azoospermia .Fertil Steril .76 :901 – 907 .

- Tatemoto , H.; Ootaki,K.;Shigta, K. and *etal*., (2001):Enhancement of developmental competence after in vitro fertilization of porcine oocytes

by treatment with ascorbic acid 2 – o – alpha – glucoside during in vitro maturation . Biol Repord .65 : 1800 – 1806 .

- Tavilani,H.,Mohamad,T.;Vaisi-raygani,G.A.,Salimi,S.and Hassanzadeh, T.(2008):Activity of antioxidant enzymes in seminal plasma and their relationship with lipid peroxidation of spermatozoa .International . Braz J Urol.,34(4):485–491.

- Tremellen,K.(2008):Oxidative stress and male infertility –aclinical perspective .Hum.Reprod update .14:243-258.

- Uranchimeg , D.; Akira , K.; Yuya , Y. ; Tomoko , T.; Yuri, Y.; Ayako , S.; YU,T.; Toshiya ,M.; Toshiynki , Y.and minoru ,I.(2011): Effect of semen characteristics on pregnancy rate following intrauterine insemination .J Med Invest ., 58(1):127 – 3 .

- Valko , M. ; Izakovic , M. ; Mazur , M. ; Rhodes , C.J.and Telser , J. (2004) : Role of oxygen radical in DNA damage and cancer incidence . Molecular and Cellular Biochemistry . 266:37-56 .

- Vicari , E.; Lavignera ,S. and calogero , A.E.(2002):Antioxidant treatment with carnitines is effective in infertile patients with prostatovesi-culoepidiymitis and elevated seminal leukocyte concentrations after treatment with nonsteroidal anti-inflammatory compounds . Fertil Steril ., 78(6): 1203 – 1208 .

- Winkle , T. ; Rosenbuch , B. ; Gagsteiger , F. ; Paiss , T. and zoller . (2009) . The correlation between male age , semen quality and sperm DNA fragment in 320 attending a fertility center.J Assist Reprod Genet . 26:41-46 .

- Wong , W.Y. ; Flik , G. ; Groenen , P.M. ; Swinkels , D.W. ,Thomas , C.M.; Copius-peereboom, J.H.; Merkus, H.M and Steegers-Theunissen, R.P.(2011):The impact of calcium ,magnesium ,zinc,and copper in blood and seminal plasma on semen parameters in men . Reprod Toxical. 15 : 131–136.

- World Health Organization (WHO) .(2010) :Laboratory manual for Examination and processing of Human semen (5thed).press, Switzerland .

- World Health Organization / Food and agricultural organization of the united Nations . (WHO , FHO) (2007) : Vitamin and mineral requirements in human nutrition . Second edition , A.I.T.B.S. Publishers , India , pp341.

- Yassa , D.A. ; Idriss , W.K. ; Atassi , M.E. and Rao , S.K. (2001) : The diagnostic value of seminal –∝ -glucosidase enzyme index for sperm motility and fertilizing capacity .Saudi Med J .22: 980 – 985 .

- Yeung , C.H. ; Coopper , J.C. .Oberpenning , F. ; Schuize , H. and Nischinag , E.(1993) : Change in movement characterision of human spermatozoa along the length of epididymis . Biology of reproduction . 49 : 274 – 280 .

- Yoshida ,K.; Kobayashi, N. and Negishi ,T.(1994):Chlamydia trachomatis infection in the semen of asymptomatic infertile men : detection of the antigen by in situ hybridization .Urol Int .53 :217 – 221 .

- Yunus, A.; Ozatik , O.; Hassa , H.; Ulusoy ,D.; Ogut , S. and Sahin , F.(2013):Relationship between oxidative stress and clinical pregnancy in

assisted reproductive technology treatment cycles .J Assist Repord Genet ; 30(6): 765 – 772 .

- Zdrodowska- Stefanow , B.; Ostaszewska- Puchalska, L.; Badyda,J. and Galewska , Z. (2008) : Arch.Immunol Ther Exp.56 : 277 – 282 .

- Zegers – Hochschild , F.; Adamson , G.D. ; Demouzon ,J.;Ishihara ,O.; Mansour , R. ; Nygren ,K. ; Sullivan, E.and Vanderpoel , S.(2009): International committee for monitoring assisted reproductive technology (ICMART) and the world Health Organization (WHO) revised glossary of ART terminology . Fertil Steril ., 92 (5) : 1520 – 1524 .
- Zelen , I. ; Mitrovic , M. ; Jurisic-Skevin , A. and Arsenijevic , s . (2010) : Activity of superoxide dismutase and catalase and content of malondialdehyde in seminal plasma of infertile patients . Med Pregl. , LXIII (9-10) : 624–629.

- Zini , A. , Finelli , A.; Phang , D. and Jarvi , K.(2000) : Influence of semen processing technique on human sperm integrity .Urology ., 56(6) : 1081 – 4 .

- Zorn ,B.; Virant – Klun, J. and meden – Vrotovec ,H.(2003):Semen granulocyte elatase : its relevance for the diagnosis and prognosis of silent genital tract inflammation .Hum Reprod. 15:1978 – 1984 .

Ministry of Higher Education and Scientific Research
Al- Qadisiyah University
College of Education / Department of Biology

A study of some parameters seminal Plasma for Patients Undergoing program of Intrauterine Insemination

A thesis

Submitted to the Council of the College of Education / University of Al- Qadisiya in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree Doctorate of Philosophy in Biology

By

Waleed Abd Ali Hassen Al-Khaffaf
M.Sc. Biology – 2014

Supervised by
Prof. Dr. Jabbar Abbas Ahmed Al-Sa'aidi

2018 M 1439H

Abstract

The present study aimed to evaluate the relationship between the concentrations of fructose , oxidants and antioxidants in the seminal plasma and pregnancy rates of patients undergoing intrauterine insemination (IUI) program .

The present study has been carried out of the center of fertility , Al-Sadder teaching hospital , Al-Najaf governorate , during the period extended from 1 April , 2016 to 1 march , 2017 .

Semen samples were collected and divided into two groups (40 each) represented normal and abnormal seminal fluid analysis according to World Health Organization (WHO,1999) . Sperm concentration , progressive motility , normal morphology of sperms , semen volume as well as biochemical analysis (concentrations of superoxide dismutase , catalse , glutathione , reactive oxygen species , fructose and citric acid) were assessed in the semen . Sperm activation has been done before undergoing IUI for recording pregnancy rates .

The total pregnancy rate , recorded in the current study , was 13.75% for the patients undergoing IUI program . An nonsignificant ($P>0.05$) elevation of pregnancy rate was shown in normal sperm group (15%) compared with abnormal sperm group (12%) . The results showed significant ($P<0.05$) increase in sperm parameters (sperm concentrations , progressive sperm motility , normal sperm morphology) , semen volume and seminal plasma antioxidant concentrations and significant ($P<0.05$) decrease of seminal plasma ROS concentration for the patient of normal sperm group compared with that of abnormal sperm group .

The results revealed significant increase ($P<0.05$) of fructose concentration in normal semen analysis group compared with abnormal semen analysis group . Nonsignificant ($P>0.05$) negative relationship has been shown between fructose concentration and normal sperm concentration and significant ($P<0..05$) negative relationship with (SOD) and (CAT) concentration as well as nonsignificant ($P>0.05$) negative relationship between (ROS) concentration and sperms semen parameters or the antioxidants (SOD and CAT) . A significant ($P<0.05$) positive correlation has been shown between (GSH) concentration and normal sperm percentage and between (CAT) or (SOD) concentrations and each of sperm concentration , progressive sperm motility or normal sperm percentage . From another hand , a significant ($P<0.05$) positive correlation has been reported between (GSH) and (CAT) concentrations .

Although some of sperm and semen parameters showed nonsignificant ($P>0.05$) differences between normal and abnormal semen analysis , improvement of fertility represented by pregnancy rate elevation, has been shown in the present study .

In evaluation of the effect of the age of men on the parameters sperms and the biochemical constituents of seminal plasma , the results showed significant ($P>0.05$) decrease in the citric acid at the age of more than (40) years comparing with the age (30-40) years , whereas other parameters of semen and sperms such as biochemical parameters showed no changes .

Significant effect it was noted significant increase ($P<0.05$) in the pregnancy rates for the patients group of the age under (30) years comparing with the groups between (30-40) years and more than 40 years .

It can be concluded that pregnancy rates and parameters of the sperms and biochemical constituents are increase in patients of the normal seminal fluid analysis comparing with patients of the abnormal seminal fluid analysis , also the parameters of the studied biochemical constituents reported positive correlation with the semen parameters .

The parameters of the semen and of the biochemical constituents are not affected by the age of the men between 30 years to more than 40 years and may be the affect was clear at the age of more than 50 years , and the pregnancy rates decrease after 30 years old of men .