دراسة تأثير بعض المواد في تنشيط النطف البشرية

رسالة مقدمة الى مجلس كلية العلوم ، جامعة بابل

و هي جزء من متطلبات نيل درجة ماجستير علوم
في علوم الحياة / علم الحيوان

من قبل

بتول ابراهيم حسين الحسيني

شعبان 1423 هـ تشرين أول 2002م

A Study Of The Effect Of Some Substances On Sperm Activation In Vitro Of Asthenospermic Patients .

A thesis

Submitted to The Council Of The College Of Science , University Of Babylon In Partial Fulfillment Of The Requirements For The Degree Of Master Of Science

In
Biology / zoology
By

Batool Ibrahim Hussain Al- Hussayni

2002

بسم الله الرحمن الرحيم

ِللهِ مُلْكُ السَّمَاواتِ وَ اْلاَرضِ ط
َيخْلُقُ مَا يَشَاءُ يَهَبُ لِمَنْ يَشَاءُ
انَاثاً وَ يَهَبُ لِمَنْ يَشَاءُ الذّكُوُرَ (50)
اَو يُزَوّجُهُمْ ذُكْرَاناً وَ اِنَاثاً ج وَ يَجْعلُ
مَنْ يَشَاءُ عَقيماً اِنّه عَليمٌ قَديرٌ (51) .

صدق الله العظيم

سورة الشورى : الآية 50 و 51 .

شكر وتقدير

الحمد لله رب العالمين ، و الصلاة و السلام على الرسول الامين ، و اله الطيبين الطاهرين .

يطيب لي و انا على مشارف انهاء دراستي ان اتقدم بالشكر الجزيل الى استاذيَّ المشرفين الدكتور فارس ناجي عبود الهادي لأقتراحه موضوع البحث و متابعة خطواته ، و الدكتورة بشرى جابر الربيعي .

كما اتقدم بالشكر الىالأستاذ الدكتور خليل ابراهيم الطيف رئيس جامعة بابل و الاستاذ الدكتور فلاح حسن حسين عميد كلية العلوم و الاستاذ المساعد فكرت مجيد حسن رئيس قسم علوم الحياة لما ابدوه من مساعدة على تذليل الكثير من العقبات و الصعوبات .

كما اتقدم بالشكر الى الدكتور حسن دخيل عباس لتقويمه الرسالة لغويا والى السيدة ريم عبد الرضا لجهودها المبذولة في طباعة الرسالة . و لا يفوتني ان أقدم شكري و خالص امتناني لكل من مدَ لي يد العون داعية لهم العلي القدير بالنجاح و الموفقية .

والله ولي التوفيق

بتول

قرار لجنة المناقشة

نشهد نحن أعضاء لجنة التقويم والمناقشة ، بأننا اطلعنا على هذه الرسالة وقد ناقشنا الطالبه في محتوياتها ، و في ما له علاقة بها ، و وجدنا أنها جديرة بالقبول وبتقدير (**امتياز**) لنيل درجة ماجستير في علوم الحياة – علم الحيوان .

رئيس اللجنة

التوقيع :
الاسم : د. ماجد حامد انجيدي
المرتبة العلمية : أستاذ
العنوان : كلية الطب البيطري / جامعة بغداد
التأريخ : / / 2003

عضو اللجنة

التوقيع :
الاسم : د. سعد صالح الدجيلي
المرتبة العلمية :استاذ مساعد
العنوان: معهد صدام للأجنة و العقم / جامعة بغداد
التاريخ : / / 2003

عضو اللجنة

التوقيع :
الاسم : د. كريم حميد رشيد
المرتبة العلمية : استاذ مساعد
العنوان:كلية العلوم/جامعة بابل
التاريخ : / / 2003

عضو اللجنة (المشرف)

التوقيع :

الاسم : د. فارس ناجي عبود الهادي
المرتبة العلمية : أستاذ مساعد
العنوان : كلية العلوم / جامعة بابل
التأريخ : / / 2003

عضو اللجنة (المشرف)

التوقيع :

الأسم : د. بشرى جابر الربيعي
المرتبة العلمية : مدرس (طبيبة)
العنوان : كلية الطب / جامعة بابل
التاريخ : / / 2003

مصادقة عمادة كلية العلوم

أصادق على ما جاء في قرار اللجنة أعلاه
التوقيع :
الاسم : أ.د. فلاح حسن حسين
المرتبة العلمية : أستاذ
العنوان : جامعة بابل / كلية العلوم
التأريخ : / / 2003

D

الفهرس

الرقم	المحتويات	رقم الصفحة
	قائمة الجداول	VI
	قائمة الاشكال	VIII
الفصل الاول	المقدمة	1
1-1	المقدمة العامة	1
2-1	عملية نشأة النطفة و العوامل المؤثرة عليها	2
3-1	العوامل المؤثرة في حركة النطف	9
1-3-1	المعادن	13
2-3-1	السائل الجريبي البشري	14
3-3-1	النيكوتين والكافائين و الكحول	15
4-3-1	الموثينات و عوامل اخرى	16
5-3-1	الادوية	18
6-3-1	التجميد بالنتروجين السائل	19
4-1	التمكين و تفاعل الجسيم الطرفي	20
5-1	التقنيات الساندة للتلقيح	23
1-5-1	التلقيح داخل المهبل و داخل عنق الرحم	25
2-5-1	التلقيح داخل جوف الرحم	25
3-5-1	نقل الامشاج داخل قناة فالوب	26
4-5-1	التلقيح المباشر داخل البريتون	27
5-5-1	الاخصاب في الزجاج و نقل الاجنة	27
6-5-1	حقن النطفة داخل السايتوبلازم	29
6-1	الهدف من الدراسة	31
الفصل الثاني	المواد و طرائق العمل	32
1-2	جمع السائل المنوي البشري	32
2-2	فحص السائل المنوي البشري	32
1-2-2	الفحص العياني	33
1-1-2-2	الحجم	33
2-1-2-2	اللون	33
3-1-2-2	الاماعة	33
4-1-2-2	الاس الهيدروجيني (الباء هاء)	33
2-2-2	الفحص المجهري	34
1-2-2-2	تركيز النطف	34
2-2-2-2	النسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف	34
3-2-2-2	منسب حركة النطف	34
4-2-2-2	النسبة المئوية للنطف غير السوية	35
5-2-2-2	تركيز الكريات البيض و الخلايا البلعمية	35
3-2	المستنبتات المستعملة في تنشيط النطف في الزجاج	35
1-3-2	المستنبت ايرل	36
2-3-2	المحلول الفسيولوجي السكري	37
3-3-2	المواد المستخدمة في تنشيط النطف البشرية في الزجاج	37
1-3-3-2	الكافائين	37

E

2-3-3-2	الموثين $F_2\alpha$	37
3-3-3-2	خلات الميدروكسي بروجسترون	37
4-2	تحضير المصل البشري المثبط	38
5-2	التقنية المستعملة في تنشيط النطف في الزجاج	38
6-2	تصميم التجارب	38
7-2	التحليل الاحصائي	40
الفصل الثالث	النتائج	41
الفصل الرابع	المناقشة	75
	المصادر	85

قائمة الجداول

الرقم	العنوان	رقم الصفحة
1-2	يوضح تحضير 100 مللتر من المستنبت ايرل المستعمل في تنشيط النطف في الزجاج .	36
2-2	يوضح مكونات 100 مللتر من المحلول الفسيولوجي السكري المستعمل في تنشيط النطف في الزجاج .	37
1-3	معالم النطف قبل و بعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف بأستخدام المستنبت ايرل و التراكيز المختلفة من الكافائين و لفترة حضن 30 دقيقة .	46
2-3	معالم النطف قبل و بعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف بأستخدام المستنبت ايرل و التراكيز المختلفة من الكافائين و لفترة حضن 45 دقيقة .	47
3-3	معالم النطف قبل و بعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف بأستخدام المستنبت ايرل و التراكيز المختلفة من الكافائين و لفترة حضن 60 دقيقة .	48
4-3	معالم النطف قبل و بعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف بأستخدام المحلول الفسيولوجي السكري و التراكيز المختلفة من الكافائين و لفترة حضن 30 دقيقة .	52
5-3	معالم النطف قبل و بعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف بأستخدام المحلول الفسيولوجي السكري و التراكيز المختلفة من الكافائين و لفترة حضن 45 دقيقة.	53
6-3	معالم النطف قبل و بعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف بأستخدام المحلول الفسيولوجي السكري و التراكيز المختلفة من الكافائين و لفترة حضن 60 دقيقة .	54

F

7-3	معالم النطف قبل و بعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف بأستخدام المحلول الفسيولوجي السكري و التراكيز المختلفة من الموثين $F_2\alpha$ و لفترة حضن 30 دقيقة .	62
8-3	معالم النطف قبل و بعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف بأستخدام المحلول الفسيولوجي السكري و التراكيز المختلفة من الموثين $F_2\alpha$ و لفترة حضن 45 دقيقة .	63
9-3	معالم النطف قبل و بعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف بأستخدام المحلول الفسيولوجي السكري و التراكيز المختلفة من الموثين $F_2\alpha$ و لفترة حضن 60 دقيقة .	64
10-3	معالم النطف قبل و بعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف بأستخدام المحلول الفسيولوجي السكري و التراكيز المختلفة من خلات الميدروكسي بروجسترون و لفترة حضن 30 دقيقة .	69
11-3	معالم النطف قبل و بعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف بأستخدام المحلول الفسيولوجي السكري و التراكيز المختلفة من خلات الميدروكسي بروجسترون و لفترة حضن 45 دقيقة .	70
12-3	معالم النطف قبل و بعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف بأستخدام المحلول الفسيولوجي السكري و التراكيز المختلفة من خلات الميدروكسي بروجسترون و لفترة حضن 60 دقيقة .	71

قائمة الأشكال

الرقم	العنوان	رقم الصفحة
1-2	مخطط يوضح تصميم التجارب .	39
1-3	يوضح النسب المئوية لمظاهر العقم في منطقة الفرات الاوسط .	42
2-3	يوضح النسب المئوية لأنواع العقم الذكري .	43
3-3	يوضح النسب المئوية لأنواع العقم الانثوي .	44
4-3	مقارنة قيم منسب حركة النطف لفترات التحضين المختلفة	47

G

	بأستخدام الكافائين بتركيز 0.043 مولاري مع المستنبت ايرل .	
5-3	مقارنة قيم منسب حركة النطف لفترات التحضين المختلفة بأستخدام الكافائين بتركيز 0.074 مولاري مع المستنبت ايرل .	50
6-3	مقارنة قيم منسب حركة النطف لفترات التحضين المختلفة بأستخدام الكافائين بتركيز 0.097 مولاري مع المستنبت ايرل.	51
7-3	مقارنة قيم منسب حركة النطف لفترات التحضين المختلفة بأستخدام الكافائين بتركيز 0.043 مولاري مع المحلول الفسيولوجي السكري .	56
8-3	مقارنة قيم منسب حركة النطف لفترات التحضين المختلفة بأستخدام الكافائين بتركيز 0.074 مولاري مع المحلول الفسيولوجي السكري.	57
9-3	مقارنة قيم منسب حركة النطف لفترات التحضين المختلفة بأستخدام الكافائين بتركيز 0.097 مولاري مع المحلول الفسيولوجي السكري .	58
10-3	منسب حركة النطف لتراكيز الكافائين المختلفة في كل من المستنبت ايرل و المحلول الفسيولوجي السكري و لفترة حضن 30 دقيقة .	59
11-3	منسب حركة النطف لتراكيز الكافائين المختلفة في كل من المستنبت ايرل و المحلول الفسيولوجي السكري و لفترة حضن 45 دقيقة .	60
12-3	منسب حركة النطف لتراكيز الكافائين المختلفة في كل من المستنبت ايرل و المحلول الفسيولوجي السكري و لفترة حضن 60 دقيقة .	61
13-3	مقارنة قيم منسب حركة النطف لفترات التحضين المختلفة بأستخدام الموثين $F_2\alpha$ و بتركيز 4.245 مايكروغرام /مل.	65
14-3	مقارنة قيم منسب حركة النطف لفترات التحضين المختلفة بأستخدام الموثين $F_2\alpha$ و بتركيز 6.818 مايكروغرام /مل.	66
15-3	مقارنة قيم منسب حركة النطف لفترات التحضين المختلفة بأستخدام الموثين $F_2\alpha$ و بتركيز 12.500 مايكروغرام/مل	67
16-3	مقارنة قيم منسب حركة النطف لفترات التحضين المختلفة بأستخدام خلات الميدروكسي يروجسترون و بتركيز 0.136 ملغم /مل	72
17-3	مقارنة قيم منسب حركة النطف لفترات التحضين المختلفة بأستخدام خلات الميدروكسي يروجسترون و بتركيز 0.409 ملغم /مل	73
18-3	مقارنة قيم منسب حركة النطف لفترات التحضين المختلفة بأستخدام خلات الميدروكسي يروجسترون و بتركيز 0.954 ملغم /مل.	74

جدول (3-1) : معالم النطف قبل و بعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف بأستخدام المستنبت ايرل و التراكيز المختلفة من الكافائين ولفترة حضن 30 دقيقة .

(المعدل ± الانحراف المعياري)

معالم النطف	قبل التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)	بعد التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)			
		مجموعة السيطرة (ايرل لوحده)	ايرل + الكافائين التركيز (مولاري)		
			0.043	0.074	0.097
تركيز النطف (×10 ^{6} /مل)	49.00 ^{a} ± 23.66	8.40 ^{b} ± 4.81	8.50 ^{b} ± 5.75	8.20 ^{b} ± 5.51	8.90 ^{b} ± 5.78
النسبة المئوية للنطف المتحركة	29.00 ^{a} ± 11.25	57.00 ^{b} ± 26.37	79.00 ^{c} ± 28.16	64.00 ^{cb} ± 23.30	58.50 ^{cb} ± 23.81
درجة نشاط النطف	1.70 ^{a} ± 0.67	2.70 ^{b} ± 1.18	3.95 ^{c} ± 1.36	3.17 ^{cb} ± 1.00	3.05 ^{cb} ± 0.99
النسبة المئوية للنطف غير السوية	46.50 ^{a} ± 11.06	19.56 ^{b} ± 5.99	17.86 ^{b} ± 14.36	18.51 ^{b} ± 13.51	18.35 ^{b} ± 9.45
تركيز الكريات البيض و الخلايا البلعمية (×10 ^{6} /مل)	4.80 ^{a} ± 2.20	0.30 ^{b} ± 0.48	0.20 ^{b} ± 0.42	0.30 ^{b} ± 0.48	0.40 ^{b} ± 0.51

عدد المرضى = 10

(P<0.001) الحروف المختلفة دلالة على المعنوية .

جدول (3-2) : معالم النطف قبل و بعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف بأستخدام المستنبت ايرل و التراكيز المختلفة من الكافائين و لفترة حضن 45 دقيقة .

(المعدل ± الانحراف المعياري)

معالم النطف	قبل التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)	بعد التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)			
		مجموعة السيطرة (ايرل لوحده)	ايرل + الكافائين التركيز (مولاري)		
			0.043	0.074	0.097

تركيز النطف (× 10 ^{6} /مل)	49.00 ^{a} ± 23.66	8.80 ^{b} ± 5.45	9.30 ^{b} ± 6.07	8.70 ^{b} ± 6.16	8.80 ^{b} ± 4.80
النسبة المئوية للنطف المتحركة	29.00 ^{a} ± 11.25	63.50 ^{b} ± 26.14	73.50 ^{b} ± 19.15	63.50 ^{b} ± 21.99	57.00 ^{b} ±14.56
درجة نشاط النطف	1.70 ^{a} ± 0.67	3.05 ^{b} ± 1.12	3.52 ^{b} ± 0.72	3.12 ^{b} ± 0.84	2.90 ^{b} ± 0.55
النسبة المئوية للنطف غير السوية	46.50 ^{a} ± 11.06	18.48 ^{b} ± 12.83	18.66 ^{b} ± 10.52	19.85 ^{b} ± 10.98	20.32 ^{b} ± 6.98
تركيز الكريات البيض و الخلايا البلعمية (×10 ^{6} /مل)	4.80 ^{a} ± 2.20	0.40 ^{b} ± 0.51	0.40 ^{b} ± 0.51	0.20 ^{b} ± 0.42	0.30 ^{b} ± 0.48

عدد المرضى = 10
(P<0.001) الحروف المختلفة دلالة على المعنوية .

جدول (3-3) : معالم النطف قبل و بعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطــف بأستخدام المستنبت ايرل و التراكيز المختلفة من الكافائين و لفترة حضن 60 دقيقة .

(المعدل ± الانحراف المعياري)

معالم النطف	قبل التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)	بعد التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)			
		مجموعة السيطرة (ايرل لوحده)	**ايرل + الكافائين التركيز (مولاري)**		
			0.043	**0.074**	**0.097**
تركيز النطف (×10 ^{6} / مل)	49.00 ^{a} ± 23.66	8.80 ^{b} ± 6.16	9.20 ^{b} ± 5.57	10.00 ^{b} ± 5.45	9.00 ^{b} ± 6.03
النسبة المئوية للنطف المتحركة	29.00 ^{a} ± 11.25	53.50 ^{b} ± 23.81	66.50 ^{b} ± 17.00	55.50 ^{b} ± 18.32	52.00 ^{b} ± 15.49
درجة نشاط النطف	1.70 ^{a} ± 0.67	2.72 ^{*b} ± 1.21	3.25 ^{*b} ± 0.76	2.85 ^{*b} ± 0.76	2.70 ^{*b} ± 0.67
النسبة المئوية للنطف غير السوية	46.50 ^{a} ± 11.06	19.41 ^{b} ± 13.83	20.64 ^{b} ± 5.47	18.46 ^{b} ± 8.94	19.26 ^{b} ± 9.84
تركيز الكريات البيض و الخلايا البلعمية	4.80 ^{a} ± 2.20	0.40 ^{b} ± 0.51	0.50 ^{b} ± 0.52	0.40 ^{b} ± 0.51	0.20 ^{b} ± 0.42

(×10 ^{6} /مل)					

عدد المرضى = 10
(P<0.001) ، *(P<0.01)الحروف المختلفة دلالة على المعنوية .

جدول (3-4) : معالم النطف قبل و بعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف بأستخدام المحلول الفسيولوجي السكري و التراكيز المختلفة من الكافائين و لفترة حضن 30 دقيقة .

(المعدل ± الانحراف المعياري)

معالم النطف	قبل التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)	بعد التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)			
		مجموعة السيطرة (المحلول الفسيولوجي السكري فقط)	المحلول الفسيولوجي السكري + الكافائين التركيز (مولاري)		
			0.043	0.074	0.097
تركيز النطف (× 10 ^{6} / مل)	55.60 ^{a} ± 27.65	10.00 ^{b} ± 5.23	10.40 ^{b} ± 5.94	9.90 ^{b} ± 5.78	10.10 ^{b} ± 6.87
النسبة المئوية للنطف المتحركة	33.50 ^{a} ± 8.51	51.00 ^{b} ± 9.94	72.00 ^{c} ± 12.51	59.50 ^{b} ± 14.42	58.50 ^{b} ± 16.50
درجة نشاط النطف	2.02 ^{a} ± 0.39	3.00 ^{b} ± 0.35	3.74 ^{c} ± 0.53	3.30 ^{b} ± 0.42	3.21 ^{b} ± 0.43
النسبة المئوية للنطف غير السوية	51.45 ^{a} ± 13.42	20.68 ^{b} ± 6.45	21.06 ^{b} ± 5.53	19.57 ^{b} ± 8.57	22.40 ^{b} ± 12.35
تركيز الكريات البيض و الخلايا البلعمية (×10 ^{6}/مل)	4.20 ^{a} ± 2.39	0.40 ^{b} ± 0.51	0.30 ^{b} ± 0.48	0.20 ^{b} ± 0.42	0.30 ^{b} ± 0.48

عدد المرضى = 10

(P<0.001) الحروف المختلفة دلالة على المعنوية .

جدول (3-5) : معالم النطف قبل و بعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف بأستخدام المحلول الفسيولوجي السكري و التراكيز المختلفة من الكافائين و لفترة حضن 45 دقيقة .

(المعدل ± الانحراف المعياري)

معالم النطف	قبل التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)	بعد التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)			
		مجموعة السيطرة (المحلول الفسيولوجي السكري فقط)	المحلول الفسيولوجي السكري + الكافائين التركيز (مولاري)		
			0.043	0.074	0.097
تركيز النطف (× 10 ^{6} /مل)	55.60 ^{a} ± 27.65	10.70 ^{b} ± 6.09	12.30 ^{b} ± 5.94	11.30 ^{b} ± 5.96	11.60 ^{b} ± 6.52
النسبة المئوية للنطف المتحركة	33.50 ^{a} ± 8.51	60.00 ^{cb} ±14.52	67.50 ^{c} ± 9.20	58.00 ^{b} ± 8.23	56.00 ^{b} ± 8.09
درجة نشاط النطف	2.02 ^{a} ± 0.39	3.30 ^{cb} ± 0.32	3.52 ^{c} ± 0.24	3.22 ^{b} ± 0.24	3.15 ^{b} ± 0.21
النسبة المئوية للنطف غير السوية	51.45 ^{a} ± 13.42	22.40 ^{b} ± 6.80	20.91 ^{b} ± 4.59	20.24 ^{b} ± 4.50	21.53 ^{b} ± 5.66
تركيز الكريات البيض و الخلايا البلعمية (×10 ^{6} /مل)	4.20 ^{a} ± 2.39	0.40 ^{b} ± 0.69	0.30 ^{b} ± 0.48	0.30 ^{b} ± 0.48	0.40 ^{b} ± 0.51

عدد المرضى = 10

(P<0.001) الحروف المختلفة دلالة على المعنوية .

جدول (3-6) : معالم النطف قبل و بعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف بأستخدام المحلول الفسيولوجي السكري و التراكيز المختلفة من الكافائين و لفترة حضن 60 دقيقة .

(المعدل ± الانحراف المعياري)

معالم النطف	قبل التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)	بعد التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)			
		مجموعة السيطرة (المحلول الفسيولوجي السكري فقط)	المحلول الفسيولوجي السكري + الكافائين التركيز (مولاري)		
			0.043	0.074	0.097

تركيز النطف (× 10 ^{6} / مل)	55.60 ± 27.65 ^{a}	11.20 ± 7.19 ^{b}	14.00 ± 8.16 ^{b}	11.20 ± 6.76 ^{b}	11.00 ± 7.00 ^{b}
النسبة المئوية للنطف المتحركة	33.50 ± 8.51 ^{a}	61.50 ± 9.73 ^{b}	62.00 ± 11.59 ^{b}	52.50 ± 9.20 ^{c}	48.50 ± 7.83 ^{c}
درجة نشاط النطف	2.02 ± 0.39 ^{a}	3.26 ± 0.47 ^{b}	3.18 ± 0.39 ^{b}	2.82 ± 0.23 ^{c}	2.58 ± 0.28 ^{c}
النسبة المئوية للنطف غير السوية	51.45 ± 13.42 ^{a}	22.77 ± 12.73 ^{b}	20.62 ± 9.32 ^{b}	21.92 ± 9.72 ^{b}	21.18 ± 8.64 ^{b}
تركيز الكريات البيض و الخلايا البلعمية (×10 ^{6}/ مل)	4.20 ± 2.39 ^{a}	0.30 ± 0.48 ^{b}	0.30 ± 0.48 ^{b}	0.40 ± 0.51 ^{b}	0.20 ± 0.42 ^{b}

عدد المرضى = 10

(P<0.001) الحروف المختلفة دلالة على المعنوية .

جدول (3-7) : معالم النطف قبل و بعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف بأستخدام المحلول الفسيولوجي السكري و التراكيز المختلفة من الموثين F2α و لفترة حضن 30 دقيقة .

(المعدل ± الانحراف المعياري)

معالم النطف	قبل التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)	بعد التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)			
		مجموعة السيطرة (المحلول الفسيولوجي السكري فقط)	المحلول الفسيولوجي السكري + الموثين التركيز (مايكروغرام / مل)		
			4.245	6.818	12.500
تركيز النطف (× 10 ^{6} / مل)	37.40 ^{a} ± 14.53	6.20 ^{b} ± 5.20	7.40 ^{b} ± 7.60	6.10 ^{b} ± 6.96	5.60 ^{b} ±7.26
النسبة المئوية للنطف المتحركة	33.50 ^{a} ± 4.11	58.50 ^{b} ± 5.79	62.00 ^{b} ± 4.21	66.50 ^{*c} ± 6.25	69.50 ^{c} ± 8.64
درجة نشاط النطف	1.81 ^{a} ± 0.44	3.20 ^{b} ± 0.08	3.25 ^{b} ± 0.12	3.40 ^{*c} ± 0.20	3.47 ^{c} ± 0.24
النسبة المئوية للنطف غير السوية	43.06 ^{a} ± 12.67	13.60 ^{b} ± 6.26	14.97 ^{b} ± 7.46	13.27 ^{b} ± 7.42	13.00 ^{b} ± 4.98
تركيز الكريات البيض و الخلايا البلعمية (×10 ^{6} /مل)	2.60 ^{a} ± 0.69	0.12 ^{b} ± 0.21	0.10 ^{b} ± 0.31	0.12 ^{b} ± 0.31	0.15 ^{b} ± 0.24

عدد المرضى = 10

(P<0.001) الحروف المختلفة دلالة على المعنوية .

* فرق معنوي مقارنة بمجموعة السيطرة فقط .

جدول (3-8) : معالم النطف قبل و بعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف بأستخدام المحلول الفسيولوجي السكري و التراكيز المختلفة من الموثين F2α و لفترة حضن 45 دقيقة .

(المعدل ± الانحراف المعياري)

معالم النطف	قبل التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)	بعد التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)		
		مجموعة السيطرة (المحلول الفسيولوجي السكري فقط)	المحلول الفسيولوجي السكري + الموثين التركيز (مايكروغرام /مل)	
			4.245	6.818	12.500
تركيز النطف (× 10 ^{6} / مل)	37.40 ^{a} ± 14.53	6.00 ^{b} ± 5.09	7.10 ^{b} ± 5.97	7.70 ^{b} ± 4.16	6.60 ^{b} ± 3.40
النسبة المئوية للنطف المتحركة	33.50 ^{a} ± 4.11	64.50 ^{b} ± 5.50	65.00 ^{b} ± 4.71	68.00 ^{b} ± 7.52	69.00 ^{b} ±10.21
درجة نشاط النطف	1.81 ^{a} ± 0.44	3.31 ^{b} ± 0.09	3.38 ^{b} ± 0.12	3.47 ^{b} ± 0.27	3.45 ^{b} ± 0.29
النسبة المئوية للنطف غير السوية	43.06 ^{a} ± 12.67	13.50 ^{b} ± 5.15	11.10 ^{b} ± 3.19	10.21 ^{b} ± 3.37	11.39 ^{b} ± 3.48
تركيز الكريات البيض و الخلايا البلعمية (×10 ^{6} /مل)	2.60 ^{a} ± 0.69	0.07 ^{b} ± 0.16	0.10 ^{b} ± 0.21	0.15 ^{b} ± 0.33	0.20 ^{b} ± 0.42

عدد المرضى = 10
(P<0.001) الحروف المختلفة دلالة على المعنوية .

جدول (3-9) : معالم النطف قبل و بعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف بأستخدام المحلول الفسيولوجي السكري و التراكيز المختلفة من الموثين F2α و لفترة حضن 60 دقيقة .

(المعدل ± الانحراف المعياري)

معالم النطف	قبل التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)	بعد التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)		
		مجموعة السيطرة (المحلول الفسيولوجي السكري فقط)	المحلول الفسيولوجي السكري + الموثين التركيز (مايكروغرام / مل)	
			4.245	6.818	12.500
تركيز النطف (× 10 ^{6} / مل)	37.40 ^{a}	6.60 ^{b}	6.80 ^{b}	7.30 ^{b}	7.40 ^{b}

±2.95	± 4.29	± 3.19	± 7.01	± 14.53	
66.00 b ± 9.06	70.00 b ± 4.08	67.50 b ± 4.85	68.50 b ± 5.79	33.50 a ± 4.11	**النسبة المئوية للنطف المتحركة**
3.42 b ± 0.20	3.49 b ± 0.21	3.44 b ± 0.11	3.42 b ± 0.16	1.81 a ± 0.44	**درجة نشاط النطف**
10.78 b ± 3.10	11.03 b ± 3.91	10.94 b ± 3.51	11.03 b ± 3.11	43.06 a ± 12.67	**النسبة المئوية للنطف غير السوية**
0.10 b ± 0.31	0.12 b ± 0.21	0.20 b ± 0.42	0.15 b ± 0.33	2.60 a ± 0.69	**تركيز الكريات البيض و الخلايا البلعمية (×10 ^{6} /مل)**

عدد المرضى = 10

(P<0.001) الحروف المختلفة دلالة على المعنوية .

جدول (3-10) : معالم النطف قبل و بعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف بأستخدام المحلول الفسيولوجي السكري و التراكيز المختلفة من خلات الميدروكسي بروجسترون و لفترة حضن 30 دقيقة .

(المعدل ± الانحراف المعياري)

معالم النطف	قبل التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)	بعد التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)			
		مجموعة السيطرة (المحلول الفسيولوجي السكري فقط)	المحلول الفسيولوجي السكري+ خلات الميدروكسي بروجسترون التركيز (ملغم / مل)		
			0.136	0.409	0.954
تركيز النطف (× 10 ^{6} /مل)	63.20 ^{a} ± 22.73	10.90 ^{b} ± 8.13	8.80 ^{b} ± 6.14	10.10 ^{b} ± 8.33	9.10 ^{b} ± 4.86
النسبة المئوية للنطف المتحركة	35.50 ^{a} ± 9.26	53.50 ^{b} ± 8.88	60.00 ^{b} ± 6.85	74.50 ^{c} ± 8.31	70.00 ^{c} ± 13.94
درجة نشاط النطف	2.18 ^{a} ± 0.44	3.05 ^{b} ± 0.30	3.26 ^{b} ± 0.23	3.61 ^{c} ± 0.23	3.55 ^{c} ± 0.40
النسبة المئوية للنطف غير السوية	44.84 ^{a} ± 13.66	20.00 ^{b} ± 9.35	17.19 ^{b} ± 6.09	18.68 ^{b} ± 6.81	18.67 ^{b} ± 6.94
تركيز الكريات البيض و الخلايا البلعمية (×10 ^{6} /مل)	2.10 ^{a} ± 1.72	0.15 ^{b} ± 0.33	0.22 ^{b} ± 0.33	0.15 ^{b} ± 0.41	0.10 ^{b} ± 0.31

عدد المرضى = 10

(P<0.001) الحروف المختلفة دلالة على المعنوية .

جدول (3-11) : معالم النطف قبل و بعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف بأستخدام المحلول الفسيولوجي السكري و التراكيز المختلفة من خلات الميدروكسي بروجسترون و لفترة حضن45 دقيقة .

(المعدل ± الانحراف المعياري)

معالم النطف	قبل التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)	بعد التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)		
		مجموعة السيطرة (المحلول الفسيولوجي السكري فقط)	المحلول الفسيولوجي السكري+ خلات الميدروكسي بروجسترون التركيز (ملغم/مل)	
			0.136	0.409	0.954
تركيز النطف (× 10 ^{6} / مل)	63.20 ^{a} ± 22.73	12.40 ^{b} ± 10.81	8.70 ^{b} ± 4.73	12.10 ^{b} ± 7.06	10.90 ^{b} ± 6.22
النسبة المئوية للنطف المتحركة	35.50 ^{a} ± 9.26	61.50 ^{b} ± 5.79	68.50 ^{b} ± 7.83	79.50 ^{c} ± 6.43	75.50 $^{*\ bc}$ ± 11.65
درجة نشاط النطف	2.18 ^{a} ± 0.44	3.40 ^{b} ± 0.15	3.59 ^{c} ± 0.21	3.92 ^{d} ± 0.19	3.80 ^{d} ± 0.38
النسبة المئوية للنطف غير السوية	44.84 ^{a} ± 13.66	19.03 ^{b} ± 6.86	18.12 ^{b} ± 8.14	18.77 ^{b} ± 7.54	17.57 ^{b} ± 6.44
تركيز الكريات البيض و الخلايا البلعمية (×10 ^{6} / مل)	2.10 ^{a} ± 1.72	0.10 ^{b} ± 0.31	0.15 ^{b} ± 0.33	0.20 ^{b} ± 0.42	0.12 ^{b} ± 0.31

عدد المرضى = 10
(P<0.001) الحروف المختلفة دلالة على المعنوية .
* فرق معنوي مقارنة بالسيطرة فقط .

جدول (3-12) : معالم النطف قبل و بعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف بأستخدام المحلول الفسيولوجي السكري و التراكيز المختلفة من خلات الميدروكسي بروجسترون و لفترة حضن 60 دقيقة .

(المعدل ± الانحراف المعياري)

معالم النطف	قبل التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)	بعد التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)		
		مجموعة السيطرة (المحلول الفسيولوجي السكري فقط)	المحلول الفسيولوجي السكري+ خلات الميدروكسي بروجسترون التركيز (ملغم / مل)	
			0.136	0.409	0.954
تركيز النطف	63.20 ^{a}	10.80 ^{b}	9.80 ^{b}	11.70 ^{b}	8.70 ^{b}

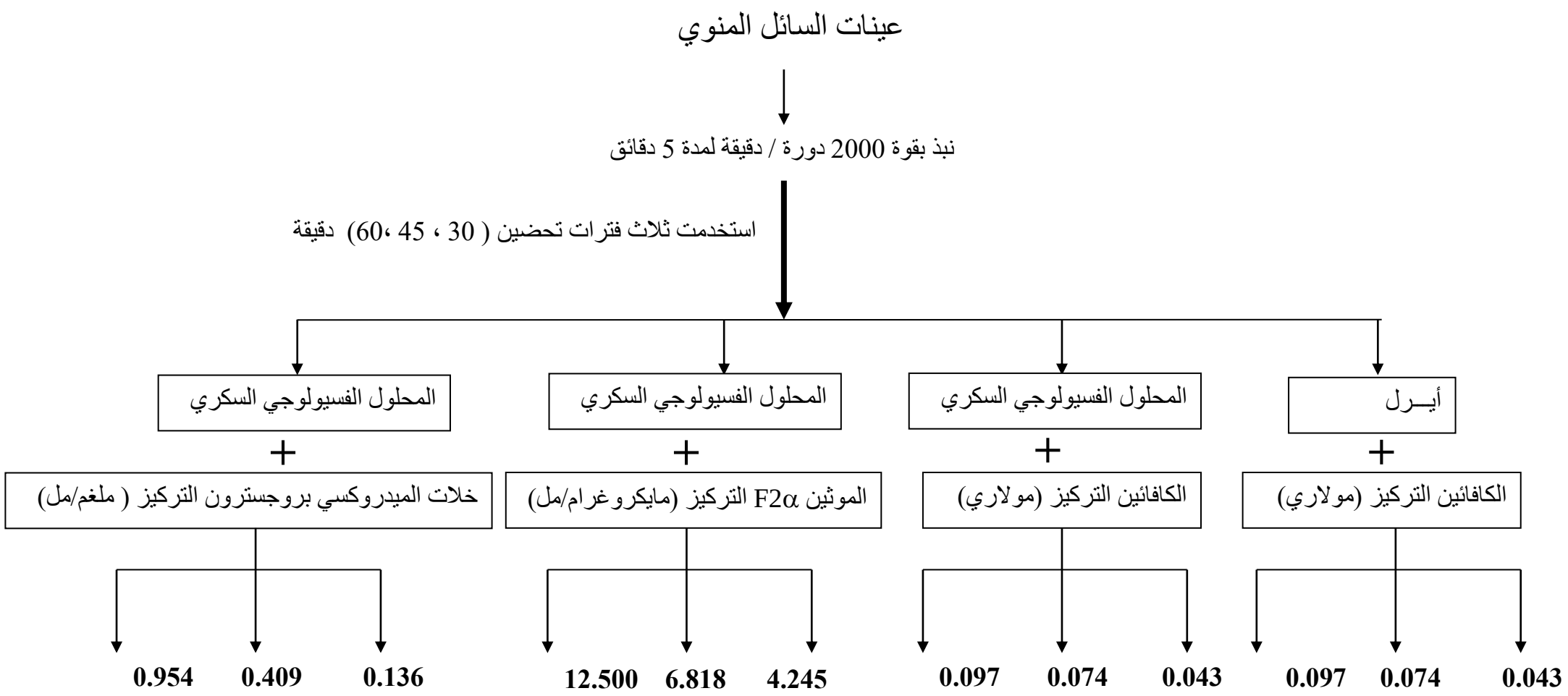
± 4.83	± 7.31	± 4.75	± 7.52	± 22.73	**(× 10 ^{6} / مل)**
64.50 ^{b} ± 7.97	75.50 ^{c} ± 4.97	63.00 ^{b} ± 5.86	67.00 ^{b} ± 7.14	35.50 ^{a} ± 9.26	**النسبة المئوية للنطف المتحركة**
3.52 ^{b} ± 0.24	3.82 ^{c} ± 0.19	3.50 ^{b} ± 0.21	3.57 ^{b} ± 0.22	2.18 ^{a} ± 0.44	**درجة نشاط النطف**
18.23 ^{b} ± 6.45	18.11 ^{b} ± 8.35	19.63 ^{b} ± 7.99	17.20 ^{b} ± 7.64	44.84 ^{a} ± 13.66	**النسبة المئوية للنطف غير السوية**
0.15 ^{b} ± 0.33	0.20 ^{b} ± 0.42	0.10 ^{b} ± 0.31	0.10 ^{b} ± 0.21	2.10 ^{a} ± 1.72	**تركيز الكريات البيض و الخلايا البلعمية (× 10 ^{6} /مل)**

عدد المرضى = 10

(P<0.001) الحروف المختلفة دلالة على المعنوية .

المختصرات و الرموز في الرسالة

AIH	Artificial Insemination by Husband
BSC	Balanced Salt Culture
CDY_1	Chromodomain Y_1
CFTR	Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulating Gene
DAZ	Deleted Azoospermia
DHT	Dihydrotestosterone
DIPI	Direct Intraperitonial Insemination
E_2	Estradiol
FN	Fibronectine
FSH	Follicle Stimulating Hormone
GIFT	Gamete Intrafallopian Transfer
GnRH	Gonadotropine Releasing Hormone
HIV	Human Immunodeficiency Virus
hMG	Human Menopausal Gonadotropine
ICSI	Intracytoplasmic Sperm Injection
IUI	Intrauterine Insemination
IVF-ET	In Vitro Fertilization and Embryo Transfer
LH	Luteinizing Hormone
LH-RH	Luteinizing Hormone Releasing Hormone
NO	Nitric Oxide
PAF	Platelet Activating Factor
PGE	Prostglandin E
PGF	Prostglandin F
PI_3	Inositol 1,4,5-triphosphate
RBM	RNA Binding Motif
r-FSH	Recombinant Human FSH
ROS	Reactive Oxygen Species
ROSI	Round Spermatid Injection
SOD	Super Oxide Dimutase



ملاحظــة : السيطرة شملت مستنبت ايرل لوحده او المحلول الفسيولوجي السكري لوحده

شكل (2-1) : مخطط يوضح تصميم التجارب

قائمة الاخطاء

رقم الصفحة	السطر	الخطأ	الصواب
2	25	دون	من
3	16	نشأت	نشأة
3	21	يحفيز	يحفز
4	23	نشأت	نشأة
5	20	عد	عدد
10	5	الانابيب	النبيبات
10	11	دراسات	دراسة
10	13	ذنب	ذيل
12	10	على	في
12	10	تداخل	تتداخل
13	24	في	الى
25	25	يحب	يجب
27	18	حرارى	حرارة
34	14	سجل	تسجيل
37	9	0.079	0.097
38	14	الفعلل	الفعال
76	8	IVF	GIFT
78	1	قترتي	فترتي
78	5	ادى	ان
78	17	3-3	5-3

ذي القعدة 1423 هـ

كانون الثاني 2003 م

امكانية Evans عدد الاوعية الفوليك

النبيبات دراسة ذيل بالبويضة Abou 50نانوغرام/مل

10^{-13} و Striaght line velocity Protein carrier (Hogarth , 1978)

الاصطناعي الانجاب حرارة ان البويضات فلـــه الاخصاب DNA

البويضة البويضة 6-2 5 4-3 5-3 Centerifuge

الفعال 20-25 °م بويضة بويضات للبويضة نشأة

فترتي ان (Comhaire *et al* ., 1983)

مدرس (طبيبة) جامعة بابل- كلية الطب

5-3

1-3-3 : النيكوتين والكافائين والكحول

1-3-4 : الموثينات وعوامل اخرى

المصادر العربية :

توصية الاستاذ المشرف

نشهد إن أعداد هذه الرسالة قد جرى تحت إشرافنا في قسم علوم الحياة/ كلية العلوم جامعة بابل كجزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة (الحيوان) .

التوقيع :
الاسم : د. فارس ناجي عبود
المرتبة العلمية : أستاذ مساعد
العنوان : جامعة بابل- كلية العلوم
التاريخ : / / 2002

التوقيع:
الأسم : د. بشرى جابر الربيعي
المرتبة العلمية :
العنوان :
التاريخ : / / 2002

توصية رئيس قسم علوم الحياة

إشارة الى التوصية أعلاه المقدمة من قبل الأستاذين المشرفين ، أحيل هذه الرسالة الى لجنة المناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها .

التوقيع :
الاسم : د. فكرت مجيد حسن
المرتبة العلمية :
العنوان : كلية العلوم – جامعة بابل
التاريخ : / / 2002

قرار لجنة المناقشة

نشهد نحن أعضاء لجنة التقويم والمناقشة ، أننا اطلعنا على هذه الرسالة وقد ناقشنا الطالب في محتوياتها ، و في ما له علاقة بها ، و رأينا أنها جديرة بالقبول لنيل درجة ماجستير علوم في الفيزياء ، وعليه نوصي بقبول الرسالة وبتقدير ( ) .

رئيس اللجنة
التوقيع :
الاسم :
المرتبة العلمية :
العنوان :
التأريخ : / / 2002

عضو اللجنة
التوقيع :
الاسم :
المرتبة العلمية :
العنوان:
التاريخ : / / 2002

عضو اللجنة
التوقيع :
الاسم :
المرتبة العلمية :
العنوان:
التاريخ : / / 2002

عضو اللجنة (المشرف)
التوقيع :

عضو اللجنة (المشرف)
التوقيع :

الاسم : د. عبد عون كاظم السعدي
المرتبة العلمية : أستاذ مساعد
العنوان : جامعة كربلاء- كلية العلوم
قسم الفيزياء
التأريخ : / / 2002

الأسم : د. حمد رحيم حمود العزاوي
المرتبة العلمية : باحث علمي اقدم
العنوان : شركة الرازي العامة

التاريخ : / / 2002

مصادقة عمادة كلية العلوم

أصادق على ما جاء في قرار اللجنة أعلاه

التوقيع :
الاسم : أ.د. فلاح حسن حسين
المرتبة العلمية : أستاذ
التأريخ : / / 2002

الخلاصة

ان العمل المنجز في هذه الرسالة قد تم في كلية العلوم – جامعة بابل من ايار 2001 الى ايار 2002 و بأشراف الدكتور فارس ناجي عبود الهادي و الدكتورة بشرى جابر الربيعي و بأستثناء ما أشير اليه بمصدر معين فأن المعلومات الموجودة من نتاج الباحث و انها لم تقدم لنيل درجة علمية اخرى سابقا .

هدفت هذه الدراسة الى تحديد نسب العقم للمرضى المصابين الذين راجعوا مستشفى بابل للولادة و الاطفال ، و قد اظهرت نتائج الدراسة ان عقم الاناث يشكل 51.32% و عقم الذكور 42.19% و العقم المشترك 6.09% و العقم غير المفسر 0.40% . و شمل العقم الذكري حالات اللانطفية (24.09%) ، و قلة النطف (21.27%) ، ووهن النطف (20.71%) ، و قلة ووهن النطف (20.06%) ، و قلة و وهن و تشوه النطف (6.65%) ، ووهن و تشوه النطف (3.56%)، و العقم المناعي (1.69%) ، و ابيضاض المني (1.03%) ، و انعدام المني (0.75%) و اخيرا العنة (0.19%) .

اجريت عمليات تنشيط النطف في الزجاج لبعض مرضى وهن النطف المذكورين اعلاه ، حيث تم استخدام بعض المواد و بتراكيز مختلفة لأيجاد التركيز الامثل لكل منها و فترة الحضن الملائمة . تم تنشيط النطف في الزجاج لـ 160 عينة مني جمعت من المرضى. استخدمت تقنية الغسل و النبذ في تنشيط نطف المرضى بأستخدام كل من المستنبت ايرل والمحلول الفسيولوجي السكري مع ثلاثة تراكيز متباينة من الكافائين كل على حده و اضيف الى المحلول الفسيولوجي السكري كل من الموثين $F_2\alpha$ و خلات الميدروكسي برجسترون كل على حده و بثلاثة تراكيز واستخدمت ثلاث فترات تحضين 30 و 45 و 60 دقيقة لجميع العينات.

اما مظاهر عقم الاناث فشملت انقطاع الطمث (87.60%) ، و تكيس المبيض (4.93%) ، و التهاب البطانة الرحمية(4.47%) ، وانسداد الانابيب(3.00%)

اظهرت نتائج تنشيط النطف تحسنا معنويا في معالم النطف مقارنة بقيمها قبل التنشيط لجميع التراكيز و فترات الحضن المستخدمة في الدراسة الحالية .

لقد سبب اضافة الكافائين بتركيز 0.043 مولاري الى كل من المستنبت ايرل و المحلول الفسيولوجي السكري حدوث زيادة معنوية ($P< 0.001$) في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف مقارنة مع مجموعة السيطرة (استخدام المستنبت ايرل لوحده او المحلول الفسيولوجي السكري لوحده) و لفترة حضن 30 دقيقة . كما لوحظ وجود فروق معنوية بين التركيز اعلاه و التركيزين 0.074 و 0.097 مولاري في حالة المحلول الفسيولوجي السكري و لفترات التحضين المختلفة .

عند مقارنة قيم منسب حركة النطف بين فترات التحضين المختلفة باستخدام التراكيز المختلفة من الكافائين مع كل من المستنبت ايرل و المحلول الفسيولوجي السكري كل على حده ، اظهرت النتائج عدم وجود أي فرق معنوي في حالة المستنبت ايرل اما بالنسبة للمحلول الفسيولوجي السكري فقد لوحظ حدوث زيادة معنوية ($P< 0.05$) في منسب حركة النطف عند فترة حضن 30دقيقة وللتركيز 0.043 مولاري .كما اظهر التركيز 0.097 مولاري حدوث انخفاض معنوي ($P< 0.01$) في منسب حركة النطف عند فترة الحضن 60 دقيقة مقارنة مع 30 و 45 دقيقة .

اما اضافة الموثين $F_2\alpha$ بتركيز 6.818 و 12.500 مايكروغرام/مل الى المحلول الفسيولوجي السكري فقد ادى الى حدوث زيادة معنوية ($P< 0.001$) في النسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف مقارنة مع مجموعة السيطرة و لفترة حضن 30 دقيقة . أظهرت الدراسة المقارنة لمنسب حركة النطف لفترات الحضن المختلفة لتراكيز الموثين $F_2\alpha$ المختلفة

C

حدوث زيادة معنوية ($P< 0.01$) في منسب حركة النطف و لفترة حضن 45 و 60 دقيقة بالنسبة للتركيز 4.245 مايكروغرام /مل فقط.

اشارت نتائج اضافة خلات الميدروكسي بروجسترون بتركيز 0.409 ملغم /مل و 0.954 ملغم /مل الى المحلول الفسيولوجي السكري حدوث زيادة معنوية ($P< 0.001$) في النسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف و لفترتي حضن 30 و 45 دقيقة مقارنة مع مجموعة السيطرة . كما لوحظ حدوث الزيادة المعنوية نفسها في النسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف مقارنة مع مجموعة السيطرة و لفترة الحضن 60 دقيقة و بأستخدام التركيز 0.409 ملغم /مل . و تم مقارنة منسب حركة النطف و لفترات الحضن المختلفة و بأستخدام تراكيز خلات الميدروكسي برجسترون كل على حده ، فلوحظ ان أضافته بتركيز 0.136 ملغم/مل ادى الى حدوث زيادة معنوية ($P< 0.01$) في منسب حركة النطف لفترة الحضن 45 دقيقة مقارنة مع 30 دقيقة فقط .

نستنتج من هذه الدراسة امكانية استخدام المحلول الفسيولوجي السكري بدلا من الوسط ايرل بعد اضافة الكافائين له . و ان التراكيز 0.043 مولاري من الكافائين و 6.818 و 12.500 مايكروغرام/مل من الموثين $F_2\alpha$ و 0.409 ملغم/مل من خلات الميدروكسي بروجسترون هي الافضل في تنشيط نطف المرضى الذين يعانون من وهن النطف .

CHAPTER ONE الفصل الاول
INTRODUCTION المقدمة

1-1: المقدمةالعامة General Introduction

العقم Infertility : هو عدم قدرة الزوج Couple على الحمل بعد مرور عام على الزواج المستمر غير المتقطع ، دون استعمال مانع الحمل (Zavos *et al.* ,1999) . و اسباب العقم كثيرة فقد يعود السبب الى خلل هرموني و المتمثل في الاضطرابات الحاصلة في الغدد الصم ، أذ تؤدي الاضطرابات في منطقة تحت المهاد Hypothalamus او في الغدة النخاميه Pituitary gland الى نقص في انتاج الهرمونات الموجهة الى الاقناد و من ثم حدوث عجز خصوي . كما ان القيلة الدوالية و الجروح و الاخماج و الادوية و السموم و شذوذ الصبغيات هي الاخرى مسؤولة عن العقم الذكري . اما الاضطرابات الحاصلة في عملية نقل النطف و المتمثلة بأنسداد مجرى النطف مما يؤدي الى غياب النطف في المني (اللانطفية Azoospermia) بالأضافة الى ذلك فأن الدفق الرجوعي Retrograde ejaculation و انعدام المني Aspermia و الاضداد النطفية Antisperm antibodies تعد من اسباب عقم الذكور (كايتون ، 1997) . اشارت احدى الدراسات الى ان الضغط التنافذي للسائل المنوي البشري السوي ما بين 360-380 ملي اوزمول و ان حصول تغيرات في الضغط التنافذي يؤدي الى العقم و الذي قد يعزى الى خمج الغدد الجنسية الملحقة او الى الافرازات اللاسوية لهذه الغدد و التي ينتج عنها عدم توازن الشوارد Electrolytes ، فمن المعروف ان تعرض النطف البشرية الى السوائل ذات الضغط التنافذي المنخفض ينتج عنه انتفاخ الغشاء البلازمي للنطف (Gopalkrishnan *et al.* , 1989) . كما قد تكون اسباب العقم وراثية و خاصة حالة اللانطفية و قلة النطف الحاد الذي ممكن ان ينتقل البالابناء بعد حقن نطف الاباء داخل سايتوبلازم البويضة Intracytoplasmic sperm injection(ICSI)(Vries *et al.*,2001;Oliva *et al.*,1998).

يتم علاج حالات العقم في الوقت الحاضر في المراكز المتقدمة لعلاج العقم بوساطة التقنيات الساندة للتلقيح Assisted reproductive techniques بأستخدام نطف الزوج ، الذي يسبقه تنشيط النطف بأستخدام التقنيات المختلفة التي عن طريقها يتم الحصول على معدلات حمل جيدة . لقد اثبتت عمليات غسل و نبذ Centerifugation النطف بأستعمال المستنبتات الزرعية Culture media المختلفة و المجهزة بالمصل نجاحا كبيرا في الحصول على نسبة عالية من النطف المتحركة ذات النشاط الجيد و بالتالي الحصول على نتائج جيدة في عمليات التلقيح الاصطناعي و الاخصاب في الزجاج (Dugan *et al.* , 1997 ; Ridha-Albarazanchi *et al.* , 1992; Cruz *et al.*,1986) .

تلعب المواد المنشطة حياتيا مثل الكافائين دورا متميزا في تحسين القابلية الاخصابية عند الذكور . أذ لوحظ ان شرب القهوة و بجرع مختلفة سبب زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة من خلال زيادة مستوى الادينوسين احادي الفوسفات الحلقي cAMP داخل الخلايا النطفية الذي يعمل على تحفيز ايض النطف (Marshburn *et al.* , 1989) . اما بخصوص الموثينات مثل الموثين $F_2\alpha$ و الهرمونات مثل البروجسترون ، فقد لوحظ ان الحقن العضلي للجاموس بالموثين $F_2\alpha$ ادى الى حدوث زيادة معنوية في نسب النطف الحية بعد ساعة واحدة من الحقن (Shankar *et al.*,1984) . كما اشارت احدى الدراسات الى ان عمل السائل الجريبي داخل الجسم In vivo يتمثل في ازالة ارتباط النطف من جدران قناة فالوب ، و قد يعزى سبب ذلك

الى دور البروجسترون في زيادة النشاط المفرط للنطف و من ثم تحررها و تحسين فرصة اخصاب البويضة المتحررة (Kulin *et al.* , 1994) .

1-2: عملية نشأة النطفة والعوامل المؤثرة عليها

Spermatogenesis and factors affecting it.

نشأة النطفة هي عملية متعددة الخطوات تتمايز من خلالها الخلايا الجرثومية غير الناضجة الى نطف و تتم تحت السيطرة الهرمونية ، و قد درست عملية نشأة النطفة في الحي In vivo فقط (Takagi *et al.*,2001 ; Henriksen&Parvinen,1998 ; Orlando *et al.*,1985) .

تحتوي النبيبات ناقلة المني على عدد كبير من الخلايا الجرثومية تدعى اسلاف النطف Spermatogonia التي تحتوي عل العدد المضاعف (46) من الصبغيات ، و تترتب بطبقتين او ثلاث طبقات على طول الحافة الخارجية للظهارة النبيبية و تتكاثر هذه الخلايا بأستمرار و يتمايز جزء منها . تنقسم اسلاف النطف نمط A المستندة الى الغشاء القاعدي للنبيبات ناقلة المني بواقع اربع انقسامات لتشكل 16 خلية اكثر تمايزا من النمط A بقليل تسمى النطف نمط B ، و خلال 24 يوما تنقسم اسلاف النطف نمط B لتشكل خلايا اكبر حجما تعرف بالخلايا النطفية الاولية Primary spermatocyte ، و تخضع هذه الخلايا للأنقسام الانقدادي الاول First meiotic division لتعطي الخلايا النطفية الثانوية Secondary spermatocyte و يختزل في هذا الانقسام عدد الصبغيات الى النصف (23) . بعد ذلك تدخل الخلايا النطفية الثانوية الانقسام الانقدادي الثاني Second meiotic division لتعطي كل خلية نطفية ثانوية اثنتين من أرومات النطف Spermatidالذي يحتوي كل واحد منها 23 صبغيا (كايتون ،1997).

بعدها تتحور هذه الارومات و تنضج بدون ان تمر بأي انقسام فتفقد معظم السايتوبلازم بما فيه الحامض النووي الرايبي الرسولي mRNA والماء و الكلايكوجين وتسمى عملية التحول هذه بحؤول النطف Spermiogenesis و كلما تقدم نضج و تخصص النطفة يزاح السايتوبلازم الزائد بشكل يعرف بالجسم المتبقي Residual body (عشير و العلوجي ، 1989) . تترك النطف الخصى وهي غير قادرة على الحركة تماما فتكمل نضجها و تكتسب الحركة خلال مرورها بالبربخ Epididymis و تخزن في ذيل البربخ Cauda epididymis لحين القذف (Ganong , 1989;Amann, 1989) .

يتم تنظيم عملية نشأة النطفة بوساطة هرمونات مختلفة حيث يفرز تحت المهاد Hypothalamus الهرمونات المحررة لمغذيات القند Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH) الذي يحفز الغدة النخامية الامامية على افراز الهرمونين الموجهين للقند و هما : الهرمون اللوتيني Luteinizing hormone (LH) و الهرمون المنبه للجريب Follicle Stimulating Hormone (FSH) . يحفز الهرمون اللوتيني خلايا ليدك Leydig cells على افراز هرمون الشحمون الخصوي Testosterone الذي فضلا عن دوره في عملية نشأة النطفه كذلك له الاثر في تطور الصفات الجنسية الثانوية بعد تحوله الى صيغته الفعالة المعروفة بـ Dihydrotestosterone(DHT) في النسيج الهدف و يثبط افراز هرمون الشحمون الخصوي بتثبيط افرازات الهرمونات المحررة لمغذيات القند المفرزة من تحت المهاد (Ganong 1989 , ; كايتون ،1997) . اما الهرمون المنبه للجريبات FSH ، فقد لوحظ ان الانقسامات الواقعة بين اسلاف النطف A_1 الى B_2 تكون حساسة لنقص FSH (Kilglour *et al.* , 1998) . كما ينبه خلايا سرتولي على افراز الاستروجينات و البروتينات الرابطة للأندروجين Androgen binding proteins الذي يحافظ على مستوى الاندروجينات مستقرا في السائل المنوي (Ganong,1989) ، و يعتقد ان الاستروجينات التي تفرزها خلايا سرتولي لها دور في عملية تحرر النطف من تلك الخلايا (محي الدين و جماعته ، 1990) . ان

التراكيز العالية للـ FSH تسبب تلف اسلاف النطف و بالتالي اختزال في عملية نشأة النطفة . لوحظ ان مرضى اللانطفية و قلة النطف غير المفسر Idiopathic azoo-oligospermia يعانون من خلل في تحت المهاد ينتج عنه نقصان في الهرمون المحرر للهرمون اللوتيني LH-RH و ارتفاع مستوى الهرمون المحفز للجريبات و يمكن علاج هؤلاء المرضى بتكرار الحقن بالهرمون LH-RH الذي يعمل على تغيير افراز LH و FSH من قبل الغدة النخامية (Aulitzky *et al.*,1988 ; Gross *et al.*,1986) .

ان انعدام او نقص تركيز النطف في بعض الاحيان ليس له علاقة بالفعالية الحيوية لهرمون محفز الجريبات اذ يكون ناتجا عن خلل في وظيفة الظهارة الجرثومية (Foresta *et al.*,1998 ; Matzkin *et al.* ,1990) او عدم تكون الخلايا الجرثومية Aplasia كما في متلازمة خلايا سرتولي Sertoli cell syndrome التي تعد سببا لأنعدام النطف في السائل المنوي نتيجة موت الخلايا الجرثومية الابتدائية او عدم حدوث الانقسام (Rothman *et al.* , 1982) .

ان ارتفاع تركيز هرمون Estradiol (E_2) يسبب اضطراب عملية نشأة النطفة من خلال تأثيره في الغدة النخامية و تثبيط طرح LH و FSH كما يعمل بصورة مباشرة على خلايا ليدك مؤديا الى انخفاض في انتاج الاندروجينات (Krause , 1988) . اشارت احدى الدراسات الى ان حقن الرجال الخصبين بـ 600 ملغم/لتر من هرمون الشحمون الخصوي لوحده او مع 10 ملغم/لتر او 20 ملغم/لتر من الاسترادايول يؤدي الى تثبيط LH و FSH بالدم مؤثرا سلبا على عملية نشأة النطفة (Handelsman *et al.*,2000) .

يشارك هرمون الحليب Prolactin و هرمون النمو Growth hormone في عملية نشأة النطفة ، حيث يعمل هرمون النمو على تحفيز انقسام الخلايا الجرثومية الذكرية و غيابه يؤثر تأثيرا حاد في نشأة النطفة (محي الدين و جماعته ، 1990) . اعطاء هرمون النمو للمرضى الذين يعانون من نقص محررات مغذيات القند بجرعة (4 وحدة دولية) ثلاث مرات اسبوعيا و لمدة 12 اسبوعاً يكون كفيلاً بتحفيز عملية نشأة النطفة حيث يزداد انتاج هرمون الشحمون الخصوي و انتاج النطف (Shoham , 1992) . يرافق المستوى العالي لهرمون الحليب في البلازما المنوية اختزال في عملية نشأة النطفة ، فقد اشارت دراسة الخزعة الخصوية Testicular biopsy لمرضى العقم الذين يعانون من ارتفاع مستوى هرمون الحليب Hyperprolactinemia الى حدوث نقص معنوي في عدد اسلاف و اورمات النطف (Aiman *et al.* , 1988 ; Sueldo *et al.*,1985 ; Jequier *et al.*,1979) .

تحتوي النبيبات ناقلة المني التي تظهر عملية نشأت نطفة طبيعية على cAMP responsive element modulator الذي يعمل منظماً لعملية نشأة النطفة البشرية من خلال سيطرته على استنساخ الجينات المشتركة في نضج الخلية النطفية بعد الانقسام الانقدادي و ان غيابه يؤدي الى كبح عملية نضج الخلية النطفية الاولية و زيادة موت الخلايا الجرثومية Apoptosis مسببا فشل خصوي (Lin *et al.* , 1998) . كما تفرز الخلايا النطفية عوامل نمو متعددة الببتيد منظمة للمناعة تسمى السايتوكاينز Cytokines منها Interlukin -1 الذي يلعب دوراً في تنظيم المرحلة المبكرة من عملية نشأة النطفة من خلال تنظيم بناء الستيرويدات و اشتراكها في عمليات التمايز في الخصية و على الرغم من ان مستوى تلك السايتوكاينز متشابه في الخصبين و غير الخصبين الا ان مستقبلاتها تكون مختلفة و هذا الاختلاف ينعكس على وظائف النطف (Huleihel *et al.*,1996;Huleihel *et al.* , 2000).

ان الوظيفة التكاثرية يمكن ان تتغير بالتعرض المزمن للمركبات الفعالة حياتيا Bioactive compounds القادرة على عبورالحواجز الدموية الخصوية - Testicular blood barrier بعد امتصاصها جهازيا و ان الاعتياد على اخذ هذه المركبات هو الذي يمكنها من ان تلعب هذا الدور .

يؤثر التدخين على عملية نشأة النطفة اذ يسبب اختزال في تركيز هرمون الشحمون الخصوي في نسيج الخصية من خلال تأثيره المباشر على خلايا ليدك (Zavos *et al.*,1999;Shaarawy & Mahmoud,1982) ، او من خلال زيادة تحول هرمون الشحمون الخصوي الى الاسترادايول . حيث يعمل المستوى العالي للأخير على اختزال عدد

النطف (Klaiber & Broverman , 1988) . في حين اشار اخرون الى إن التدخين يؤثر في عملية نضج النطف مسببا زيادة في نسبة اشكال النطف غير السوية دون التأثير في عدد النطف او حركة النطف . (Wong *et al.* ,2000a; Wong *et al.* ,2000b; Evant & Fletcher , 1981) و اشارت دراسات اخرى الى عدم وجود أي نقص معنوي في كل من حجم القذفة ، و تركيز النطف ، و العدد الكلي للنطف ، و النسبة المئوية للنطف المتحركة و السوية في الاشخاص المدخنين (Dikshit *et al.*,1987 ; Vogt *et al.* , 1986) . بينما اشار اخرون الى ان التدخين يختزل حجم القذفة بصورة معنوية ، و يعود هذا الاختزال الى عجز في ميكانيكية القذف Ejaculation (Nakagawa *et al.* , 1990;Marshburn *et al.*,1989) .

يسبب الكافائين نقصا ملحوظا في عد الخلايا النطفية الاولية و اورومات النطف بعد معاملة مجاميع الفئران بجرعات مختلفة من الكافائين اما اسلاف النطف و خلايا سرتولي فلم تتأثر بالمعاملات المختلفة من الكافائين (Alwachi & Balach , 1988) بينما اشارت دراسة اخرى الى ان شرب القهوة سبب زيادة في كثافة النطف و النسبة المئوية لأشكال النطف غير السوية (Marshburn *et al.*,1989) .كما ان الادمان المزمن على الكوكائين يسبب نضوب للناقلات العصبية في تحت المهاد وبالتالي تثبيط انتاج مغذيات القند (Bracken *et al.*, 1990).

ان للمواد البيئية السامة Environmental toxic substance تاثيرا ضارا على نوعية السائل المنوي ، حيث لوحظ حدوث تلف في عملية نشأة النطفة لدى الاشخاص المعرضين للمركبات الهايدروكربونية مقارنة مع الاشخاص غير المعرضين ، بالأضافة الى حدوث نقص معنوي في تركيز النطف و درجة نشاط النطف تتناسب طرديا مع فترة التعرض ، و حدوث زيادة في نسبة النطف غير السوية (Celis *et al.* , 2000) و نقصان في حجم القذفه (Nelson & Bunge , 1974) . ان التعرض لجرع متوسطة لكل من الرصاص (400 مايكروغرام /لتر) و الكادميوم (10 مايكروغرام / لتر) يقلل نوعية السائل و بشكل معنوي و يعتقد ان السبب يعود الى تداخل هذه المعادن في عمل الزنك الضروري لفعالية عدد كبير من الانزيمات التي تشترك في بناء و اصلاح الدنا DNA و الرنا RNA و بناء البروتينات (Telisman *et al.* , 2000) . بينما اشارت دراسة اخرى الى ان معاملة الفئران بالرصاص و لفترات طويلة لم تؤثر في النسيج الخصوي لتجمع الرصاص في الخلايا البلعمية للنسيج الخلالي (Wenda-Rozewicka *et al.*,1996) . اما في البربخ فأنه يتجمع داخل حويصلات موجودة في سايتوبلازم ظهارة البربخ و بتركيز اقل في تجويف البربخ ، و بسبب قابلية الرصاص على العبور من الاوردة الدموية خلال الخلايا الظهارية للبربخ الى تجويفة لهذا فمن الممكن ان يخرج من القناة التناسلية الذكرية اثناء القذف (Piasecka *et al.*, 1995) . كما أشار اخرون الى وجود كميات كبيرة من التراكيب الصفاحية Lamellar structures في ظهارة البربخ للفئران المعاملة بالرصاص التي يعتقد انها ناتجة عن التهام ظهارة البربخ للنطف و تحلل المايتوكوندريا والتراكيب الاخرى فتكوّن الدهون الناتجة اغشية تحيط بالرصاص المترسب (Wiszniewska *et al.* , 1998) .اما حقن فلوريد الصوديوم داخل خصى الفئران لم يظهر أي تأثير على عملية نشأة النطفة . (Sprando *et al.* , 1998 ; Sprando *et al.* , 1997 ; Sprando *et al.*,1996)

يسبب التعرض للأشعاع تسريع في موت الخلايا الجرثومية و من ثم اختزال في عدد اسلاف النطف مؤديا الى نقصان عدد النطف من خلال انخفاض عملية نشأة النطفة (Takagi *et al.* ,2001;Henriksen & Parvinen , 1998) .

ان لتقدم العمر في الذكور الاثر في اختزال العدد الكلي للنطف و النسبة المئوية للنطف المتحركة بالأضافة الى حجم القذفة ، فقد اشارت دراسات عديدة الى ان الاختزال يبدأ من عمر 25 سنة ، و لكن هذا الاختزال غير معنوي (Kidd *et al.*,2001;Cetalo & Eberly , 1999 ; Schwartz *et al.* , 1983) .

ان تأثير فصول السنة المختلفة في معالم النطف يعود الى اختلاف طول الفترة الضوئية ، فقد لوحظ انخفاض معنوي في القيم السوية لمعالم النطف خلال الاشهر تموز و اب و ايلول و

تشرين الاول (Levin *et al.* , 1992) . كما ان للتوتر الانفعالي الاثر في اختزال الوظائف الخصوية مما يؤدي الى اختزال إنتاج الاندروجينات (Giblin *et al.* , 1988) .

يعزى اختزال عملية نشأة النطف لدى بعض مرضى العقم الى الجهد التأكسدي Oxidative stress للنطف و كريات الدم البيض ، الذي يؤدي الى تلف الدنا DNA اثناء المراحل المبكرة لعملية نشأة النطفة (Kodama *et al.* , 1997) . كما ان تمزق الحواجز الدموية - الخصوية التي تكونها خلايا سرتولي يؤدي الى تكوين الاضداد النطفية (Hass&Beer,1986) ، و للمناعة الذاتية Autoimmunity دور في تأثيرها في النسيج الخصوي مؤدية الى تلفه في بعض مرضى قلة النطف Oligospermia (Zhong *et al.*,1989) .

اما الجزيئات الغذائية الدقيقة Micronutrients فيعتقد بأنها السبب في احداث عدم الخصوبة و خاصة حالات العقم مجهول الاسباب Idiopathic infertility . فقد وجد ان الزنك يلعب دورا مهما في التطور الخصوي ، و عملية نشأة النطفة و حركة النطفة ، و يدخل في تركيب الجزيئات العملاقة Macromolecules مثل DNA و RNA و يشترك في تصنيع البروتين و انقسام الخلايا . وقد لوحظ ان نقص الزنك يسبب انخفاضاً في وظيفة المناسل (Wong *et al.* ,2000b;Carreras & Mendoza, 1990) . ان وجود الفوليت في السائل المنوي يشير الى انه ضروري بطريقة ما لعملية نشأة النطفة او عملية نضج النطفة ، أذ لوحظ ان قلة تركيز النطف في المدخنين ذو علاقة مع التراكيز الواطئة للفوليت في السائل المنوي (Wallock *et al.* , 2001) . و قد اشارت احدى الدراسات الحديثة الى ان معاملة الرجال الخصبين و غير الخصبين بسلفات الزنك و حامض الفوليك بجرعة 66 ملغم / يوم و 5 ملغم/ يوم على التوالي و لمدة 26 اسبوعاً سبب زيادة معنوية في عدد النطف الكلي (Wong *et al.*,2002) . يسبب نقص فيتامين A في ذكور الفئران كبح عملية نشأة النطفة و تحلل الخلايا الجرثومية ، الا ان الحقن المتكرر بحامض الريتونك Retinoic acid للفئران التي تعاني من نقص هذا الفيتامين قادر على تحفيز التكاثر و تمايز سليفة النطف نمط A و دعم التطور الكامل لأسلاف النطف و تحولها الى ارومات النطف (Pelt& Rooij,1991) . اما فيتامين C Ascorbic acid فأنه يتحول الى حامض الاوكزاليك Oxalic acid اثناء فترة الخزن الذي يرتبط بشكل معنوي مع نسبة الاشكال غيرالسوية لرأس النطفة (Eiss *et al.* , 2000) .

يحفز الاندروجين نزول الخصى في كيس الصفن Scrotum ، و لكي يعمل الاندروجين يحتاج الى مستقبلات في العضو الهدف و قد لوحظ ان حدوث اية طفرة في الجين المسؤول عن مستقبلات الاندروجين قد يسبب أختفاء الخصية Cryptochidism و من ثم تلف الظهارة الجرثومية (Suzuki *et al.* , 2001;Steinberger , 1978) ، كذلك الحال عند الأصابة بخمج الخصى النكافي Mump orchitis بعد البلوغ الذي يرافقه تلف النبيبات ناقلة المني ، و قد تشمل الاصابة خصية واحدة او الاثنتين معا و هذا الخمج يسبب انخفاضاً ملحوظاً في نوعية النطف وتركيزها وقد يؤدي الى حصول حالة اللانطفية (Shulman *et al.* ,1992).

القيلة الدوالية Varicocel تسبب انخفاضاً في عملية نشأة النطفة ، و ان القيلة الدوالية من جانب واحد قد تسبب عجزاً في عملية نشأة النطفة لكلا الخصيتين نتيجة تدفق الدم من الوريد الكلوي الى الخصية و بالتالي تلفها (Takihara *et al.*,1990) و يصاحبها اختزال في حجم الخصى ورداءة في نوعية النطف و انخفاض مستوى هرمون الشحمون الخصوي (WHO,1992; Rodriguez-Rigau *et al.* , 1981) . ترتبط القيلة الدوالية بالعجز الحاصل في تنظيم طرح بقايا السايتوبلازم اثناء تحرر النطف من خلايا سرتولي او اثناء الانتقال المبكر في البربخ مؤدية الى زيادة نسبة الاشكال غير السوية للنطف (Zini *et al.* , 2000) . و قد اشارت احدى الدراسات الى حدوث تحسن في عملية نشأة النطفة لبعض مرضى اللانطفية و مرضى قلة ووهن النطف الحادين الذين يعانون من القيلة الدوالية بعد خضوعهم للجراحة (Matthews *et al.* , 1998) .

تلعب الخلايا العدلة Neutrophil cells دوراً مهماً في تطور الاستجابة المناعية في خصى المرضى الذين يعانون من الذوى الخصوي Testicular ischemia و نتيجة لألتصاق هذه الخلايا داخل الاوردة الواقعة تحت الغلالة تتولد كميات كبيرة من Reactive

Oxygen Species (ROS) ، و يمكن تثبيط هذا الالتصاق عن طريق حقن الوريد بقشرانيات كلوكوزية مصنعة Synthetic glucocorticoid مثل الديكساميثازون Dexamethasone (Yazawa *et al.* , 2001) .

يسبب سرطان الخصية Testicular cancer في بعض الاحيان تلفاً حاداً غير عكسي لظهارة النبيبات ناقلة المني فتكون متلازمة خلايا سرتولي و يحدث تثبيط كامل لعملية نشأة النطفة ، و في هذه الحالة تكون الوراثة و العوامل البيئية هي المسؤولة عن الاستعداد لتطور السرطان و في احيان اخرى يسبب السرطان اختزالاً في نشأة النطفة حتى قبل الاشعاع او العلاج الكيمياوي (Berthelsen & Skakkebaek,1983) . اشارت دراسة اخرى الى ان بعض مرضى سرطان الخصية من جهة واحدة يعانون من انخفاض في مستوى هرمون الشحمون الخصوي الذي يرافقه اختزال في الخلايا الجرثومية للخصية الاخرى (Hansen *et al.* , 1989) . كما لوحظ ان بعض المرضى الذين يتناولون الفيوردنتين Furadantine بجرعة 10ملغم /كغم يوميا كعلاج للأصابات البكتيرية بالقناة البولية يعانون من نقصان في تركيز النطف (Nelson & Bunge , 1957) .

تسيطر الجينات الموجودة على الكروموسوم Y على عملية نشأة النطفة ، حيث تقوم ببناء البروتينات الضرورية لمراحل هذه العملية فيعد جين Chromodomain $Y_1(CDY_1)$ مسؤولاً عن تكوين البروتينات الضرورية لنضح ارومات النطف ، اما الجينان Deleted Azoospermia(DAZ) و RNA binding motif(RBM) فهما مسؤولان عن عملية تمايز سليفة النطف Spermatogonia و تحولها الى خلية نطفية Spermatocyte (Kleiman *et al.* , 2001) . ان حذف او انحراف احد هذه الجينات يؤدي الى اضطراب المرحلة المسؤول عنها ذلك الجين ، فقد يحدث هذا الحذف او الانحراف للجين المسؤول عن الانقسام الخيطي Mitotic division ، حيث ان عدم ثبوتية الانقسام الخيطي يؤدي الى الاضطراب في الانقسام الخلوي (Gazvani *et al.* , 2000a ;Gazvani *et al.*,2000b; Simoni *et al.*,1997) كما ان الخلل الحاصل في الانقسام الانقدادي Meiotic division نتيجة العجز في اقتران الكروماتيدات اثناء هذا الانقسام يقود الى انحدار عملية نشأة النطفة (Yogev *et al.* , 2000b) . اما الطفرة الحاصلة في الجين Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene (CFTR) لبعض مرضى اللانطفية الانسدادية Obstructive azoospermia فتسبب اختزالاً في تركيز الفركتوز الذي تفرزه الحويصلة المنوية و من ثم نقصان حجم القذفة و انخفاض الاس الهيدروجيني(pH) (Von Eckardstein *et al.* , 2000) . كذلك فأن الخلل الحاصل في تنظيم المادة الوراثية داخل الخلية النطفية يجعل الدنا DNA اكثر حساسية للمسخ Denaturation الناتج عن انخفاض الاس الهيدروجيني مسببا اختزالا في القابلية الاخصابية للنطف (Spano *et al.* ,2000). لقد اشارت دراسة اخرى الى ان حذف الجينات من الكروموسوم y لمرضى اللانطفية و قلة النطف الحاد ممكن ان ينتقل الى الابناء عند حقن النطفة داخل سايتوبلازم البيضة (ICSI) (Vries *et al.*,2001;Oliva *et al.*,1998) .

1-3: العوامل المؤثرة في حركة النطف

Factors Affecting Sperm Motility

يعد الادينوسين ثلاثي الفوسفات (ATP) مصدر الطاقة لحركة النطف، و عن طريق تحوله الى الادينوسين ثنائي الفوسفات (ADP) تنتج الطاقة التي تنتقل من المتقدرات الى ذيل

النطفة . يقوم انزيم الكرياتين كاينيز Creatinine kinase بفسفرة الكرياتين في المتقدرات و اعادة الفسفرة للـ ADP و تحوله الى ATP في ذيل النطفة حيث تؤكد هذه الالية نقصان نسبة ATP / ADP مع تزايد حركة النطف (Fakih *et al.* , 1986 ; Amelar *et al.*,1980) .

ان حركة النطفة و قابليتها الاخصابية تتطور اثناء مرورها على طول البربخ حيث تلعب افرازات البربخ دورا مهما في تطور حركة النطف (Yeung *et al.* ,1993 ; Morton *et al.* ,1978 ; Cooper & Orgebin-Crist,1975). و ان فشل الظهارة المبطنة للبربخ في تجهيز النطف بالمواد الضرورية التي تدعم حركتها يفسر العجز الحاصل في حركة النطف ، حيث اشارت دراسات عديدة الى وجود علاقة طردية بين فعالية انزيم α-Glucosidase و حركة النطف و النسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية الامامية الجيدة ، و يكون مستوى هذا الانزيم ثابتاً عندما تكون النسبة المئوية للنطف المتحركة اقل من 50% بينما تزداد النسبة المئوية للنطف المتحركة مع ارتفاع مستوى هذا الانزيم و تكون بحدود 60%-70% (Yassa *et al.*,2001; Corrales *et al.* ,2000,Viljoen *et al.* ,1990; Brown,1975) .

ان انعدام حركة النطف قد يعود الى وجود تغييرات في التراكيب الدقيقة لذيل النطف و تشمل هذه التغييرات فقدان كلي او جزئي لذراع الدينين او فقدان احد الانابيب الدقيقة (Ryder *et al.* , 1990) . ان التغييرات الحاصلة في محور السوط وحدها غير كافية لأضعاف حركة النطف بل ترتبط مع حالات الشذوذ في تركيب المتقدرات و ترتيبها . لقد اشارت احدى الدراسات الى ان 50% من المرضى الذين يعانون من وهن النطف مجهول الاسباب يكون سببه غمد المايتوكوندريا غير السوي و 30-50% يعانون من وجود نقص في الغمد الليفي المحيط بالمحور السوطي (Courtade *et al.* , 1971, 1998; Pedersen *et al.* ,1998) . و قد اعزيت دراسات اخرى انعدام حركة النطف الى عوامل ولادية Congenital ، فقد لوحظ وجود اختلافات تركيبية واضحة في ذنب النطف غير المتحركة مقارنة بالنطف المتحركة و تدعى بمتلازمة عسر الحركة الهدبي Immotile cilia syndrome (Williamson *et al.* ,1984) .

قد تحتوي قذفة السائل المنوي على نطف ذات تركيب Ultrastructure سوي و لكنها تكون غير متحركة و يرجع السبب الى بقاء النطف لفترة طويلة داخل البربخ ، حيث ظهر ان زيادة فترة خزن النطف في البربخ يؤدي الى نقصان في كل من حركة النطف و قابليتها الحيوية (Wilton *et al.* , 1988) و الذي يحدث نتيجة للعوامل غير الملائمة التي تتعرض لها النطف اثناء مرورها أو خزنها في البربخ كأرتفاع درجة حرارة كيس الصفن التي تؤثر على ذيل البربخ بصورة كبيرة ، و تكون هذه التأثيرات رجعية و بتكرار القذف تتحسن حركة النطف حيث تقذف اولا النطف المتحللة الموجودة في الاسهر و البربخ ثم تظهر النطف الفتية التي لم تعان خزناً داخل البربخ و من ثم تكون سرعتها افضل (Mallidis *et al.* , 2000) و بالمقابل فأن تكرار القذف يؤدي الى انخفاض تركيز النطف في القذفة (Mallidis *et al.* , 2000;Levin *et al.* , 1986) .

تفرز كل من الحويصلات المنوية و البروستات بروتينات سكرية تعرف بالفايبرونكتين Fibronectine (FN) التي ترتبط برأس النطفة و تلعب دورا في التصاق النطفة بالبيضة. ان وجود الالتهابات في القناة التناسلية الذكرية يسبب زيادة في انتاج الفايبرونكتين مؤدياً الى اختزال حركة النطف ، حيث وجد ان تركيز الفايبرونكتين بالأشخاص العقيمين يصل الى 0.8-1000 مايكروغرام /مل (Wennemuth *et al.* , 1997) . يرافق الحالات الالتهابية في القناة التناسلية وجود كريات الدم البيض الا ان النتيجة الموجبة لوجود الجراثيم الممرضة في السائل المنوي لا يمكن اعتمادها الا بالنتيجة الموجبة للزرع المختبري(Trum *et al.* , 1998)، فقد لوحظ ان التهاب البروستات Prostitis الناتج عن الاصابة بالـ *Chlamydia* و *Ureaplasma* يؤدي الى حدوث خلل في الوظيفة الافرازية للبروستات فيقل تركيز الزنك المفرز و يقل الاس الهيدروجيني للسائل المنوي كما يزداد تركيز كريات الدم البيض . كما لوحظ ان المستوى العالي لكريات الدم البيض في السائل المنوي يسبب انخفاضاً معنوياً في تركيز النطف و

النسبة المئوية للنطف المتحركة و اختزال حجم القذفة (Wolf *et al.* ,1980;Caldamon *et al.* ,1990) و ذلك من خلال انتاج الكريات البيض لكميات كبيرة من ROS استجابة للسموم الداخلية Endotoxine للبكتريا و المتمثلة بمتعدد السكريات الدهنية Lipopolysaccharide (Urata *et al.* ,2001) . ان انتاج اوكسيد النتريك Nitric oxide (NO) من قبل الخلايا البلعمية Macrophages يسبب اختزالاً في حركة النطف (Perera *et al.* ,1996) و يتأيض NO الى Nitrite الا ان وجود الاخير في البلازما المنوية لا يعد مؤشرا على تكوّن NO داخل الجسم (Revelli *et al.* , 2001) . اما انتاج الجذور الحرة و منها الهيدروكسيل Hydroxyl و بيروكسيد الهيدروجين Hydrogen peroxide فتكون مسؤولة عن فقدان حركة النطف ، و يوفر السائل المنوي طرق حماية تعود الى الجزيئات ذات الاوزان الجزيئية العالية و الواطئة الموجودة فيه التي تعرف بمضادات الاكسدة Antioxidants (Pasqualotto *et al.* ,2000 ; Kovalski *et al.* , 1992) ، الا ان المستوى العالي من ROS يسبب اختزالاً معنوياً في Ascorbate وهو من مضادات الاكسدة الرئيسية التي تمنح السائل المنوي حماية ضد الجذور الحرة . ومن مضادات الاكسدة الاخرى هي Thiols و Urates وGalactase و Glutathione وSuperOxideDimutase(SOD) وPeroxidase (Momen *et al.* , 1999 ; Ermilov *et al.* , 1999 ; Lewis *et al.* , 1997).

كما ان اصابة الذكور بفايروس العوزالمناعي Human immunodeficiency virus(HIV) الذي يعرف بمرض الايدز تسبب انخفاضاً معنوياً في حركة النطف و زيادة لزوجة السائل المنوي (Grittenden *et al.* , 1992) . ان وجود كريات الدم البيض في السائل المنوي يؤثر سلبا في النسبة المئوية لأختراق النطف ، حيث لوحظ وجود علاقة عكسية بين تركيز كريات الدم البيض و نسبة الاختراق و يرجع السبب في ذلك الى ان كريات الدم البيض تفرز مواد سامة Toxic substances التي تقلل من قابلية النطف على اختراق البيوض (Berger *et al.* , 1982) .

يعد الفركتوز الذي تفرزه الحويصلات المنوية مصدرا رئيساً للطاقة في الظروف اللاهوائية ، حيث لوحظ انخفاض تركيز الفركتوز في عينات السائل المنوي ذات التركيز الطبيعي للنطف و ذلك بسبب استخدام الفركتوز في ايض الخلايا و تحرير الطاقة اللازمة للحركة (Biswas *et al.* , 1978) . كما تفرز الحويصلات المنوية مستضدات Antigens لتمنع الاستجابة المناعية ضد النطف ، و في حالة حدوث خمج الحويصلات المنوية Vesiculitis يقل افرازها لتلك المستضدات مؤديا الى تكوين الاضداد النطفية Antisperm antibodies (Gonzales *et al.* , 1992) و هناك اسباب اخرى كثيرة تؤدي الى ظهور الاضداد النطفية في السائل المنوي التي بدورها تسبب اختزال حركة النطف ، فقد لوحظ إن خمج الاحليل Urethritis نتيجة الاصابة بالبكتريا الكروية الثنائية *Neisseria gonorrhoea* تسبب ظهور الاضداد النطفية في السائل المنوي لهؤلاء المرضى (Shahmanesh *et al.* , 1986) ، بالأضافة الى ان ركود الدم الوريدي و فرط الحرارة الموضعية لمرضى القيلة الدوالية يؤدي الى تحطم الحواجز الدموية - الخصوية و تكوين الاضداد النطفية (Hass&Beer , 1986 ; Golomb *et al.* ,1986) . ان الاضداد النطفية الموجودة على المصل و/او البلازما المنوية تداخل مع قدرة النطف في قابليتها على عبور القناة التناسلية الانثوية و ذلك بسبب تلازن النطف و شل حركتها (Wang *et al.* , 1985 ; Parslow *et al.* , 1985 ; Mathur *et al.* ,1984) ، كما تعمل على تثبيط ارتباط النطف البشرية بالبيوض و من ثم انخفاض نسبة اختراق النطف للبيوض وقد يعود السبب في ذلك الى احتلال الاضداد النطفية لمواقع التمييز Recognition sites الموجودة على رأس النطفة التي عن طريقها ترتبط النطفة بالبيضة (Shibahara *et al.* , 1993 ; Tsukui *et al.* , 1986 ; Abdel-Latif *et al.* , 1986) كما تحتوي سطوح كثير من نطف اللبائن على بروتين يعرف بالاكتين Actin و بلمرة هذا البروتين تعد ضرورية لتفاعل الجسيم الطرفي Acrosome reaction فقد لوحظ ان وجود Anti-actin monoclonal antibody في السائل المنوي يقلل و بشكل معنوي النسبة المئوية

للنشاط المفرط دون التأثير في النسبة المئوية للنطف المتحركة كما يثبط تفاعل الجسيم الطرفي (Liu *et al.* , 2002) .

تلعب القناة التناسلية الانثوية دورا واضحا في خزن و نقل خلايا النطف ، وقد اشارت احدى الدراسات الى ان تحضين النطف في الزجاج مع مخاط عنق الرحم يزيد من حركة النطف (Eriksen *et al.* , 1998 ; Overstreet *et al.* , 1980 a) . و تعمل قناة البيض البشرية على تنشيط حركة النطف من خلال افرازها لسلسلة ببتيدية من اللايسين و الارجنين تعرف بالعامل S (Yao *et al.* , 2000 a) . هنالك العديد من المركبات و المواد الطبيعية و الصنعية التي تؤثر في حركة النطف و نستعرض منها ما يلي :-

1-3-1 : المعادن

تكتسب النطفة قابليتها على الحركة اثناء مرورها على طول البربخ و خاصة في منطقة ذيل البربخ ، حيث لوحظ وجود علاقة طردية بين حركة النطف و تركيز الكالسيوم الحر و المحيط بالنطف في ذيل البربخ (Morton *et al.* , 1978) . و في الوقت الذي تعمل فيه قنوات الجهاز التناسلي الذكري على خزن و نقل النطف فان عمل الغدد الجنسية الملحقة هو افراز السائل المنوي . و تشمل هذه الغدد الحويصلات المنوية و غدة البروستات و غدة كوبر . و يشكل افراز كل من الحويصلات المنوية و البروستات حوالي 73-93% من حجم السائل المنوي المفرز الذي يلعب دورا مهما في تغذية و حركة النطف . و يكون السائل المنوي غنيا بعدد من الايونات مثل الكالسيوم الذي يعمل على تنظيم وظائف النطف الا ان التراكيز العالية منه تؤدي الى تثبيط حركة النطف (Adou-Shakra *et al.* , 1989) . اما بالنسبة لأيون البوتاسيوم K^+ فقد اشارت دراسات الى ان حضن النطف في وسط غذائي حاوي على البوتاسيوم قد ادى الى زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة (Robler *et al.* , 1988) . كما ان وجود الزنك في السائل المنوي يعد ضروريا للنطف السوية وظيفيا ، الا ان المستوى العالي من هذا الايون يسبب نقصان حركة النطف ، وقد لوحظ ارتفاع مستوى الزنك في السائل المنوي للأشخاص المصابين بقلة ووهن النطف مقارنة بالأشخاص المصابين بقلة النطف فقط ، حيث يرتبط مستوى الزنك بعلاقة طردية مع كثافة النطف و علاقة عكسية مع النطف ذات الحركة السوية (Carreras & Mendoza , 1990) ، و الزنك بهيئة سترات الزنك هو الذي يؤثر في حركة النطف و فعالية البلازما المنوية المضادة للبكتريا (Marmar *et al.* , 1975) . و اظهرت نتائج دراسة اخرى بأن هنالك علاقة معنوية بين مستوى الزنك و الحالات الالتهابية ، اذ لوحظ ان مني الاشخاص الحاوي على 10-20 مليون كرية بيضاء قد قابله انخفاض في مستوى الزنك الى 11.8 ملغم /100 مل (Caldamon *et al.* , 1980) . كما لوحظ ان حضن النطف البشرية مع 1 او 3 ملي مولاري/لتر من الزنك لمدة 30 دقيقة سبب انخفاضاً معنوياً في انتاج ROS و يعود السبب في دور الزنك في اعادة ترتيب دهون الغشاء المتأكسدة و بذلك يقل معدل تأكسد دهون الغشاء (Gavella & Lipovac,1998) . كما يعمل كل من المغنيسيوم و الكروم على زيادة حركة النطف و قابليتها الاخصابية (Abou-Shakra *et al.* , 1989) .

يسبب التعرض للرصاص اختزالاً في كثافة النطف ، و حيوية النطف و النسبة المئوية للحركة كما يؤثر في الوظيفة الافرازية للبروستات (الزنك ، انزيم الفوسفوتيز ، حامض الستريك في السائل المنوي) . اما التعرض للكادميوم فيكون مسؤولا عن الاختزال الحاصل في حركة النطف و النسبة المئوية لأشكال النطف السوية وزيادة مستوى هرمون الشحمون الخصوي (Telisman *et al.* , 2000) .

يعد السيلينيوم مقياسا مهما لتقدير الخصوبة عند الرجال الذين يعانون من قلة ووهن النطف ، حيث اشارت احدى الدراسات الى وجود علاقة معنوية بين عدد النطف و حركتها و تركيز

السيلينيوم حيث تكون حركة النطف ضعيفة عندما يكون تركيز السيلينيوم 35 نانوكرام/مل بينما تزداد حركة النطف عندما يكون تركيز السيلينيوم 60-69 نانوكرام /مل ، كما يرافق انخفاض مستوى السيلينيوم اختزال في بروتين السيلينيوم Selenium protein الموجود في سوط الخلية النطفية و من ثم نقصان في حركة النطف و انخفاض معدل الحمل . و لوحظ ان تجهيز الاشخاص غير الخصبين بالسيلينيوم و بجرعة 100 مايكروغرام سبب ارتفاع مستوى السيلينيوم في الدم و تحسناً معنوياً في حركة النطف (Scoti *et al.* , 1997 ; Bleau *et al.* , 1984) .

1-3-2 :السائل الجريبي البشري

يحتوي السائل الجريبي على العديد من الستيرويدات التي تؤثر في حركة النطف و تشمل الاستروجين و (E_2) estradiol β-17 و هرمون الشحمون الخصوي و البروجسترون (Frachimont *et al.* , 1989) . وجد ان استعمال السائل الجريبي كوسط لتنشيط النطف قد سبب زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف (Al-Hady,1999 a)كما سبب انخفاضاً في النسبة السالبة لأختبار اختراق النطف Sperm Penetration assay ((McClure *et al.*,1990;Blumenfeld & Nahhas,1989;Yee& Cummings, 1988 و ذلك لأنه يعمل على زيادة النسبة المئوية للنطف الممكنة (Yao *et al.*,2000b) و قد اشارت احدى الدراسات الى حدوث زيادة معنوية في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف و تفاعل الجسيم الطرفي بعد حضن النطف البشرية لمدة 6 ساعات مع السائل الجريبي البشري او مزارع الخلية الحبيبية Granulosa cell culture مقارنة مع الحضن بوسط هام اف -Ham's F-10 او السائل القنوي البشري Human tubal fluid (Fabbri *et al.* , 1998) . كما اشارت دراسة اخرى الى ان تعريض النطف الى السائل الجريبي البشري او المصل الانثوي يؤدي الى زيادة نشاط النطف بعد ساعة واحدة و ذلك عند تحضين النطف في وسط زرعي قياسي Balanced Salt Culture (BSC) لمدة ثلاث ساعات قبل اضافة السائل الجريبي او المصل الانثوي مقارنة مع مجموعة السيطرة (Kulin *et al.* , 1994) .

1-3-3 : الكافائين والنيكوتين والكحول

يمكن للوظائف التناسلية الذكرية ان تتأثر بالتعرض المزمن الى المركبات ذات النشاط الحياتي التي بأمكانها اختراق الحواجز الدموية – الخصوية وخاصة بعد الامتصاص الجهازي لهذه المركبات . و تشمل هذه المركبات الكافائين و النيكوتين و الكحول حيث يعمل النيكوتين على تقليل حجم القذفة و يرجع السبب الى تداخل فعل النيكوتين مع عمل الجهاز السمبثاوي (Marshburn *et al.* , 1989) . اما دكشت و جماعته (Dikshit *et al.* , 1987) فقد اشاروا الى ان النقص في حجم الدفق و كثافة النطف كان غير معنوي في الاشخاص المدخنين او الذين يمضغون التبغ .

يؤثر التدخين بصورة مباشرة او غير مباشرة على معالم النطف فيسبب انخفاضاً معنوياً في حركة النطف و عدد النطف السوية من خلال خفض مستوى هرمون الشحمون الخصوي لحدوث خلل في عمل خلايا ليدك و بالتالي ينشأ خلل في عملية نشأة النطفة او قد تتأثر عملية نشأة النطفة بشكل مباشر عن طريق تاثير النيكوتين في انسجة الخصية ، كما يعمل التدخين على احداث تلف وراثي Genetic damage لنطف المدخنين الذي يحتمل ان ينتقل من الاباء المدخنين الى ابنائهم (Zavos *et al.* , 1999 ; Rubes *et al.* , 1998 ; Shaarawy & Mahmoud , 1982) في حين لوحظ عدم وجود علاقة بين التدخين و مستوى كل من الهرمونين LH و FSH عند المدخنين

(Vogt *et al.* , 1986) . اشار كليبر و بروفرمان (Klaiber & Broverman , 1988) الى ان التدخين يزيد من تحول هرمون الشحمون الخصوي الى الاسترادايول E_2 مسبباً انخفاضاً في مستوى الهرمون الشحمون الخصوي و ارتفاع في مستوى الاسترادايول الذي بدوره يؤدي الى انخفاض معنوي في عدد النطف (Zavos *et al.* ,1998) . في حين ذكر ونك و جماعته (Wong *et al.* , 2000a) بأن دخان السكائر يؤثر في نضج و تطور النطف دون التأثير في عدد النطف و حركتها .

ان تعريض النطف البشرية للكافائين بتركيز 6 ملي مول يؤدي الى زيادة معنوية في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف (Harrison , 1978 ; Schoenfeld *et al.* , 1975 ; Schoenfeld *et al.*, 1973) . و قد اظهرت نتائج احدى الدراسات ان مدى تحفيز الكافائين للنسبة المئوية للحركة يكون متبايناً وقد يعود السبب في ذلك الى الكميات المختلفة من مصادر الكاربون ذات المنشأ الداخلي Endogenous المتبقية في النطف المغسولة (Haesungcharen & Chulavatnatol , 1973) وسبب اضافة 7.2 ملي مولاري من الكافائين الى النطف البشرية زيادة في النسبة المئوية للنطف المتحركة من 40% الى 80% للعينات المجمدة لمدة ثلاثين يوما (Barkay *et al.* , 1977) . و اشارت دراسة اخرى الى ان اضافة التراكيز المختلفة من الكافائين (2،5،10) ملي مولاري الى النطف المجمدة بعد اذابتها سبب زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة دون التأثير على نوعية الحركة كما سبب زيادة في عدد النطف المخترقة لمخاط عنق الرحم في وحدة الزمن (Aitken *et al.* , 1983) . كما لوحظ ان تناول القهوة يسبب زيادة كل من كثافة النطف و النسبة المئوية للنطف غير السوية (Marshburn *et al.* ,1989) .

اما فيما يخص الكحول ، فقد اشارت احدى الدراسات الى ان تناول الكحول لا يؤثر في معالم النطف في السائل المنوي (Marshbrun *et al.* , 1989) . بينما اوضحت نتائج دراسة اخرى ان حضن النطف البشرية في الزجاج مع الايثانول بتراكيز مكافئة لما موجود في مصل المدمنين على تناول كميات متوسطة Moderate و كميات كبيرة Heavy من الكحول سبب اختزالاً معنوياً في عدد النطف ذات الحركة التقدمية و النسبة السوية لأشكال النطف و قد يعود التأثير الضار للكحول الى تأثيره في تركيب المحور لذيل النطفة و الضروري لحركتها (Donnelly *et al.* , 1999) .

1-3-4 : الهرمونات الجنسية والموثينات وعوامل اخرى .

تحتوي سطوح النطف البشرية على مستقبلات خاصة للموثينات Prostaglandins التي تلعب دورا مهما في انتقال النطف خلال القناة التناسلية الانثوية من خلال تأثيرها المباشرفي القناة التناسلية الانثوية او من خلال فعاليتها التحفيزية على حركة النطف (Mercado *et al.* , 1977) . كما يعتقد ان للموثينات دوراً في السيطرة على مرور النطف خلال البربخ و الاسهر ، و قد اشارت دراسات عديدة الى ان افراز الموثينات يكون واقعاً تحت سيطرة الاندروجينات (Badr *et al.* , 1975 ; Barcikowski *et al.* , 1973) . يحتوي السائل المنوي على انواع عديدة من الموثينات و تقدر نسبتها بـ 35 ملغم /مل من القذفة ، و قد وجدت علاقة وثيقة بين كمية الموثينات الموجودة و الخصوبة ، حيث تعمل PGF و PGE كمنظمات لحركة النطف ، فقد لوحظ انخفاض مستوى النوع الاول و ارتفاع مستوى النوع الثاني في القذفة التي تكون فيها حركة النطف طبيعية مقارنة مع النطف ذات الحركة غير الطبيعية . كما يرتبط تركيز هذه الموثينات بعلاقة عكسية مع تركيز النطف في السائل المنوي (Gottlieb *et al.* , 1988 ; Bendvold *et al.* ,1984 ; Kelly *et al.* , 1979) .

يعد PGE_1 عامل تمكين Capacitating factor عند اضافته بتركيز 10^{-9} مولاري الى المستنبت المستخدم لتنشيط نطف الفئران ، حيث يعمل على تحفيز تفاعل الجسم الطرفي و

زيادة معدل اختراق النطف للبيوض الذي يعد مؤشرا في زيادة القابلية الاخصابية للنطف (Herrero *et al.* ,1997; Viggiano *et al.* , 1995) . بينما اشار اخرون الى ان الزيادة الحاصلة في معدل اختراق النطف للبيوض نتيجة تعرض النطف لتركيز 3.3-8.4 مايكروغرام/مل من PGE_1 او اكثر من 8.4 مايكروغرام/مل من PGE_2 (Aitken & Kelly , 1985) ، يلاحظ مما تقدم ان لوجود الموثينات في البلازما المنوي الاثر الكبير على الخصوبة عند الذكور ، و يتضح ذلك من وجود انخفاض معنوي في مستوى PGE عند الرجال غير الخصبين عند مقارنتهم مع الخصبين (Bygdeman *et al.* , 1970) . ان تناول جرع عالية من الاسبرين Asprin و المتمثلة بـ 7.2 غم /يوم و لمدة ثلاثة ايام تعمل على ايقاف بناء الموثينات تماما (Horton *et al.* , 1973) .

يحتوي السائل المنوي على الهرمون المرخي Relaxin و هو عبارة عن متعدد الببتيدات و يكون تركيزه حوالي 50ملغم /مل (Colon *et al.* , 1986) . يعمل الهرمون المرخي على تنشيط حركة النطف المجمدة عند استعماله بتركيز 16.7 ملي مول (Lessing *et al.* , 1985) و اشارت دراسة اخرى الى ان اضافة الموثين E_2 و LH معا لا يؤثر في حركة النطف و ذلك بسبب عمل التضاد الذي يظهره كل منهما حيال الاخر (Colon *et al.* , 1986) . كما ان استخدام الوسط الدافق لقناة البيض الذي يحوي في مكوناته هرموني LH و FSH يؤدي الى تنشيط نطف المرضى المصابين بقلة ووهن النطف (Al-Dujaily *et al.* , 1999) .

يشترك الهرمون الدرقي في تمايز و نمو الكثير من الاعضاء الجنسية فأنخفاض الهرمون الدرقي قبل البلوغ يسبب عدم الخصوبة عند الرجال ، اما بعد البلوغ فأن الخلل في وظيفة الهرمون الدرقي Thyroid dysfunction لا يعد سببا للعقم اذا لم يكن المريض يعاني من مرض اخر يؤدي الى العقم . ان التهاب الدرقية Thyroiditis يسبب ظهور مستوى عالي من اضداد الهرمون الدرقي Thyroid antibody الذي ينتج عنه نقص الدرقية Hypothyroidism ، اذ لوحظ وجود علاقة معنوية بين المستوى العالي لهذه الاضداد ووهن النطف (Trummer *et al.* , 2001) .

يلعب العامل المنشط للصفيحات الدموية Platelet activating factor (PAF) و هو احد انواع الدهون المفسفرة دورا مهما في حركة النطف ، حيث توجد مستقبلات خاصة لهذا المركب على سطح النطف و تتركز هذه المستقبلات في القطعة الوسطية و الرأس الطرفي Proximal head وقد لوحظ وجود فروق معنوية في مواقع استقبال PAF لمنطقة العنق بين الشكل السوي و غير السوي للنطف ، و لم تلاحظ أي فروق معنوية في مناطق الاستقبال الاخرى ، كما ان مناطق استقبال PAF في الحامض النووي الرسولي mRNA في النطف غير السوية اكثر من النطف السوية و تعزى هذه الاختلافات الى وجود خلل في الجين المسؤول عن الاستنساخ (Roudebush *et al.* , 2000 ;Reinhardt *et al.* , 1999) . لقد اشار ريكر و جماعته (Ricker *et al.* , 1989) الى ان اضافة PAF بتركيز 10^{-3} - 10^{-7} مولاري يزيد من حركة النطف ، بينما يؤدي التركيز المساوي أو الاعلى من 10^{-5} مولاري الى موت النطف ، و لم يلاحظ أي تغير في الحركة عند معاملة النطف بالشكل غير الفعال من PAF . بينما ذكر اخرون بأن هناك علاقة طردية بين تركيز PAF في النطف و كل من تركيز النطف و حركتها ، و سجلت نسبة حمل عالية لدى زوجات مرضى العقم الذين لديهم ارتفاع ملحوظ في نسبة PAF في نطفهم مقارنة مع مرضى العقم الذين يكون لديهم نقص في تركيز PAF (Roudebush & Pumell , 2000) .

يعد التعرض الى المركبات الهيدروكربونية السامة عاملا مهما في تقليل حركة النطف التي قد تعمل على تغيير بعض الصفات الكيمياوية للسائل المنوي مؤدية الى زيادة لزوجة السائل المنوي و من ثم تقليل حركة النطف . و قد تتداخل هذه المركبات مع ميكانيكية حركة الاسواط فتكون مسؤولة عن تجمع النطف مع المادة المخاطية بشمل تجمعات غير منتظمة مما يعمل على تقليل حركة النطف (Celis *et al.* , 2000) .

1-3-5: الادويـــــة

يستعمل البروموكربتين Bromocriptine المهبلي في علاج حالات فرط هرمون الحليب Hyperprolactinemia ، وقد لوحظ ان هذا العلاج لا يؤثر في فحص ما بعد الجماع و عملية الاخصاب الطبيعية في الحي الا ان اضافة هذا الدواء الى النطف في الزجاج بتركيز 10^{-3} مايكروغرام يسبب اختزالا في حركة النطف و سرعتها (Chenette *et al.* , 1988) . كما يعد استخدام اليود الحر مهبليا و بتركيز2-5 ppm وسيلة للقضاء على المايكروبات و الفايروسات و ان فترة بقاء اليود حرا قصيرة لأنه سرعان ما يتحول الى يود غير عضوي بوساطة المواد المختزلة الموجودة في المهبل حيث يتأكسد الى حالات تأكسد عالية مثل IO^- و I_2O_2 و IO_3^- مسببة جهداً تأكسدياً عالياً الذي يكون مسؤولا عن فقدان النطف لحيويتها و حركتها بعد فترة قصيرة من الجماع (Green *et al.* , 2001) .

اما المضادات الحياتية Antibiotics المستخدمة في علاج المرضى الذين يعانون من الاصابة بالبكتيريا *Ureplasma urealyticum* و *Mycoplasma* فينتج عنها تحسن في خصوبة هؤلاء المرضى (Toth & Lesser , 1982) ، اما اضافة المضادات الحياتية مثل البنسلين Pencilline و الستربتومايسين Streptomycine الى الاوساط الزرعية المختلفة المستخدمة في الأغراض المختبرية فأنها تسبب اختزالاً معنوياً في نسبة الاحياء المجهرية الملوثة (Cottell *et al.* , 1997) . و ان لبعض المضادات الحياتية الاثر الواضح في وظائف النطف في الزجاج ، فقد اظهرت نتائج احدى الدراسات ان Ofloxacin يعمل على زيادة القابلية الاخصابية للنطف اما Ciproflaxin فأنه يؤثر سلبا في النشاط المفرط للنطف من خلال تغيير خصائص الغشاء البلازمي بينما يثبط Doxycyline عملية التمكين Capacitation ، اما انقطاع حركة النطف بوجود Cefuroxime axetil فله علاقة بتمزق اغشية رأس النطفة ، ويسبب Nitrofurantoin اختزالاً في حركة النطف و قابليتها الاخصابية من خلال نقصان التأيض (King *et al.* , 1997) . كما لوحظ ان استخدام Cyclosporin A و Prednisolone بجرعة 5-10 ملغم/كغم /يوم و 15 ملغم /يوم علي التوالي و لمدة ستة اشهر لعلاج مرضى العقم المناعي قد سبب انخفاضاً في مستوى الاضداد في السائل المنوي و المصل و حدوث تحسن ملحوظ في تركيز النطف و النسبة المئوية للنطف المتحركة (Hendry *et al.* , 1986 ; Bouloux *et al.* , 1986) .

ان البنتوكسيفايلين Pentoxifylline عبارة عن مثيل زانثين يستعمل لزيادة حركة النطف البشرية في عمليات الاخصاب بالزجاج ، حيث لوحظ ان حضن النطف البشرية مع البنتوكسيفايلين يؤدي الى حدوث زيادة في نسبة النطف ذات الحركة التقدمية و النسبة المئوية للنطف المتحركة و عدد النطف المخترقة لمخاط عنق رحم الابقار كما سبب زيادة معنوية في ارتباط النطف مع النطاق الشفاف و حدوث تفاعل الجسيم الطرفي (Nassar *et al.*,1999a; Nassar *et al.*,1999b ;Nassar *et al.*,1998; Yovich *et al.*,1990) .

ان اضافة البنتوكسيفايلين في الزجاج لنطف الاشخاص الخصبين Normospermia و المصابين بوهن النطف لم يسبب زيادة في كل من السرعة الخطية المستقيمة Stright line velocity و السرعة الخطية Linearity (Pang *et al.* , 1993) ، بينما اشارت دراسة اخرى الى ان البنتوكسيفايلين يعمل على زيادة السرعة الخطية المنحنية (Lewis *et al.* , 1993) .

1-3-6: التجميد بالنتروجين السائل

ان المشكلة الرئيسة للنطف المجمدة هي اعادة حركتها بعد الاذابة ، حيث تؤثر عملية التجميد و الاذابة Freezing and thawing سلبا في الغشاء البلازمي للنطف و خاصة في منطقة

الرأس اذ ينتفخ الغشاء و يتحطم الجسيم الطرفي و يعود السبب الى تلف وظيفة الغشاء البلازمي و التلف الاوزموزي و هذا يفسر الخصوبة الواطئة للسائل المنوي المجمد مقارنة مع السائل المنوي الطازج (Mahadevan & Trounson , 1984) ، و ان اضافة البروجسترون او Acetyl - L-carnitine الى نطف المرضى المصابين بقلة ووهن و تشوة النطف الى النطف قبل تجميدها لم يؤد الى تفادي حصول التغايرات في اغشية النطف او تحسن حركتها بعد التجميد (Duru *et al.* , 2000) . و قد لوحظ ان انتقاء النطف ذات الحركة الافضل و سليمة المادة الوراثية من خلال تحضير النطف بطريقة السباحة الى اللاعلى Swim-up ثم اضافة البلازما المنوية و تجميدها هي الطريقة الامثل لحفظ النطف مقارنة مع تحضيرالنطف و تجميدها بدون اضافة البلازما المنوية و يعود السبب الى احتواء البلازما المنوية على مضادات الاكسدة التي تعمل على حماية النطف (Donnely *et al.* , 2001) .

1-4: التمكين وتفاعل الجسيم الطرفي

Capacitation and acrosome reaction

يحدث التمكين اثناء مرور النطف خلال القناة التناسلية الانثوية و تتضمن هذه العملية بعض التحورات الوظيفية و البايوكيميائية للخلايا النطفية التي تسبب زيادة في معدل حركة النطف الضرورية لعبور طبقات البيضة و حدوث تفاعل الجسيم الطرفي و بالتالي الاخصاب (Baldi *et al.* , 1999 a) ، اذ يعد كل من بقاء و انتقال النطف في القناة التناسلية الانثوية و قدرتها على اختراق اغشية البيضة و قدرتها على الاندماج مع هيولي البيضة Ooplasm من العوامل التي ترتبط بقوة مع القابلية الاخصابية لتلك النطف (Overstreet *et al.* , 1980) . اذ لا تتحد النطف بالبيوض الابعد اختراقها عددا من الطبقات الخلوية التي تحيط بالبيوض . و تشمل هذه الطبقات من الخارج الى الداخل : المتراكم الخلوي Cumulus oophorous ، و التاج الشعاعي Corona radiata ، و النطاق الشفاف Zona pellucida و الغشاء المحي Vitelline membrane . تتكون منطقة المتراكم الخلوي و الغشاء المحي من طبقة من خلايا حبيبية Granulosa . بينما تحتوي منطقة النطاق الشفاف على البروتينات السكرية Glycoprotein و لكي تخترق النطفة هذه الاغشية فأنها تستعين بحركتها التقدمية و انزيماتها الحالة (Zaneveld *et al.* , 1991) .

تستغرق عملية مرور النطف خلال القناة التناسلية الانثوية مدة قصيرة 15-30 دقيقة و تحتاج عملية التمكين الى فترة اطول 3-4 ساعة ، و تنتهي عملية التمكين بعد اختراق النطفة المخصبة الى المتراكم الخلوي و هذه الميكيانيكية ذات فائدة كبيرة من حيث عدم استجابة النطف المخصبة الى العوامل المحثة لتفاعل الجسيم الطرفي الا بعد وصول النطفة المخصبة الى منطقة النطاق الشفاف و بذلك حدث منع طبيعي لحصول تفاعل جسيم طرفي قبل اوانه (Zaneveld & Jonge , 1991) . و بذلك يعد التمكين المفتاح اللازم لأبتداء عملية الاخصاب ، وليس بأمكان النطف غير الممكنة اخصاب البيوض مطلقا (Quanzhong *et al.* , 1996) .

و تشمل عملية التمكين في اللبائن الخطوات التالية :

1- ازالة العوامل المانعة للتمكين Decapacitation factors

يحتوي سطح النطف على بعض العوامل الكيمياوية المثبطة لعملية التمكين و هي عبارة عن بروتينات سكرية ذات وزن جزيئي عالٍ تمتصها النطف اثناء مرورها داخل القناة التناسلية الذكرية قبل حدوث عملية الدفق ، لذا فأن ازالة هذه العوامل تعد خطوة اساسية لحدوث عملية التمكين (Zanveled & Jonge , 1991) .

2- تغير المكونات الدهنية لغشاء النطفة

Change in membrane lipid composition

ان اختزال الكولسترول في الغشاء الخلوي يعد خطوة حاسمة في حدوث التمكين اذ ان انخفاض نسبة الكولسترول مع زيادة الدهون المسفرة يؤدي الى تغيير استقرارية الغشاء و جعله اكثر نفاذية (Hoshi *et al.* , 1990) . و يتم فقد الكولسترول عن طريق بعض الحوامل البروتينية Carrier protein او بعض الانزيمات ، و يحتوي الدم على بعض مستقبلات الكولسترول و منها البروتينات الدهنية Lipoproteins و الالبومين Albumin . و يمكن ان توجد احدى هذه المستقبلات داخل القناة التناسلية الانثوية او قد يعمل مصل الدم Blood serum المضاف الى الاوساط الزرعية في عملية الاخصاب الخارجي كمستقبل للكولسترول و بالتالي تنخفض نسبة الكولسترول في الغشاء الخلوي للنطفة (Zaneveld *et al.* , 1991) .

3- انتقال الايونات Iones transport

تتم السيطرة على عملية انتقال الايونات كايون الكالسيوم و البوتاسيوم و الصوديوم بواسطة انزيمات معينة و تشمل هذه الانزيمات Ca^{+2}-ATPase و Na^{+}-K^{+}-ATPase التي تعمل كمضخات Pumps للأيونات المذكورة (Zaneveld *et al.* , 1991) . و قد اشارت احدى الدراسات الى ان تحرير الكالسيوم الداخلي و زيادة تكوين احادي الفوسفات الحلقي نتيجة اضافة الموثين E الى النطف المغسولة ادى الى زيادة تفاعل الجسيم الطرفي (Herrero *et al.* , 1997 ; Joyce *et al.* , 1987) .

4- زيادة القدرة التنشيطية الحركية للنطف

تعد الزيادة في مستوى الادينوسين احادي الفوسفات الحلقي cAMP سببا لحركة النطف ذات النشاط المفرط Hyperactivation (Nassar *et al.* , 1999 a) . ويمكن تسريع عملية التمكين بوساطة عدد من السوائل الحياتية و من المعروف ان تعريض النطف البشرية للسائل الجريبي البشري في الزجاج يحفز حدوث عملية التمكين (Yao *et al.* , 2000 b) .

تعاني نطف اللبائن عملية تفاعل الجسيم الطرفي Acrosome reaction قبل حدوث الاخصاب ، و تتضمن هذه العملية التحام الغشاء الخارجي للجسيم الطرفي مع الغشاء البلازمي ، التحوصل Vesiculation و اختفاء الاغشية الملتحمة و اخيرا افراز الانزيمات من الجسيم الطرفي التي تعمل على الاغشية المحيطة بالبيضة (Zaneveld & Jonge , 1991) و من اهم تلك الانزيمات هي :-

1- انزيم الهاليروندیز Hyaluronidase

يساعد هذا الانزيم النطف على اختراق المتراكم الخلوي و المتكون من بوليمرات حامض الهايلرونك Hyaluronic acid (Anderson , 1977) ، حيث يمثل المتراكم الخلوي حاجزاً يمنع دخول النطف الى البيوض . لقد لوحظ ان استخدام الهاليروندیز في ازالة المتراكم الخلوي للبيوض المسترجعة ادى الى ارتفاع معدل الاخصاب مقارنة مع البيوض غير المعاملة بالهاليروندیز الذي كان 55% و 31% على التوالي (Lavy *et al.* , 1988) .

2- انزيم اختراق طبقة التاج الشعاعي Corona penetrating enzyme

يساعد هذا الانزيم النطف على اختراق منطقة التاج الشعاعي .

3- انزيم الاكروسين Acrosin enzyme

يفرز هذا الانزيم عند اختراق النطف للنطاق الشفاف حيث يعمل على تحطيم اصرة الارجنين-لايسين (Zaneveld & Jonge , 1991) ، و يتواجد بهيئة غير فعالة داخل النطف تدعى سلف الاكروسين Proacrosin الذي يتكون من سلسلة مفردة متعددة الببتيد و يتحول الى الهيئة الفعالة خلال عملية تمكين النطف (Parrish & Polakoski , 1979) .

4- انزيم نيورامنديز Neuraminidase

يساعد هذا الانزيم النطف على اختراقها للنطاق الشفاف (Hogarth *et al.* , 1978). ان النطف غير السوية غير قادرة على الارتباط مع النطاق الشفاف و من ثم اختراقه . تعد قابلية النطف على الارتباط بالنطاق الشفاف مؤشرا على القابلية الاخصابية لتلك النطف (Yogev *et al.* , 2000 a) ، اذ تمتلك رؤوس النطف مستقبلات للنطاق الشفاف تسمى

Mannose binding sites و يرتبط وجود تلك المستقبلات بعلاقة موجبة مع الشكل السوي للنطف (Youssef *et al.* , 1996) . تحتوي منطقة النطاق الشفاف على عوامل منشطة لتفاعل الجسيم الطرفي و منها Zp_3 ، اذ لوحظ ان حضن النطف مع النطاق الشفاف يؤدي الى تنشيط تفاعل الجسيم الطرفي ، و ذلك عن طريق تنشيط البروتين كاينيز Protein kinase نتيجة تنشيط احادي الفوسفات الحلقي (Bielfeld *et al.* , 1994) . و هناك العديد من المواد التي تستخدم محفزات في تفاعل الجسيم الطرفي و منها السائل الجريبي البشري ، فبالأضافة الى دوره في تحفيز حركة النطف الممكنة فأنه يعمل على تحسين قابلية اختراقها لبيوض الهامستر من خلال تحفيز تفاعل الجسيم الطرفي (Fabbri *et al.* , 1989 , Calvo *et al.* , 1990 ; McClure *et al.* , 1998) . اذ لوحظ ان حضن النطف المغسولة مع السائل الجريبي البشري بدلا من الوسط هام اف – 10 و استخدامها في تقنية التلقيح الصناعي داخل جوف الرحم اعطى معدل حمل 51.6% بينما كان معدل الحمل 3.2% باستخدام الوسط هام اف –10 (Blumenfeld & Nahhas , 1989) . و قد اشارت احدى الدراسات الحديثة الى ان هرمون Angiotensin II (وهو احد مكونات السائل الجريبي) لوحده قادر على تحفيز تفاعل الجسيم الطرفي لنطف الخيول الممكنة (Sabeur *et al.* , 2000). كما إن لوجود البروجسترون في المتراكم الخلوي دورا مهما في وظائف النطف المختلفة و المتمثلة بالحركة ، و التمكين و تفاعل الجسيم الطرفي و يكون هذا التأثير عبر ارتباط البروجسترون بمستقبلاته الموجودة على سطح النطف (Baldi *et al.* ,1999 b) مؤديا الى زيادة القابلية الاخصابية للنطف (Forti *et al.* ,1999) . بالأضافة الى ذلك فأن معاملة النطف بالبنتوكسيفايلين او العامل المنشط للصفيحات الدموية PAF تسبب زيادة في تفاعل الجسيم الطرفي مقارنة مع النطف غير المعاملة (Lee *et al.* , 1997) .

يعد التعرض للملوثات كالكادميوم ، احد الاسباب التي تعمل على تثبيط تفاعل الجسيم الطرفي لنطف المتعرضين ، حيث يتداخل الكادميوم مع بروتين الاكتين الموجود على الغشاء البلازمي للنطف اثناء حؤول النطف او نضج النطف في البربخ مما يؤدي الى تثبيط تفاعل الجسيم الطرفي لتلك النطف لأن بلمرة هذا البروتين تعد ضرورية لتفاعل الجسيم الطرفي (Benoff *et al.* , 1997) . كما لوحظ ان وجود الضد Anti-actin monoclonal antibody في السائل المنوي يقلل و بشكل معنوي كل من النسبة المئوية للنشاط المفرط و تفاعل الجسيم الطرفي (Liu *et al.* , 2002).

1-5: تقنيات التلقيح الاصطناعي

Artificial insemination techniques

يقصد بالتلقيح الاصطناعي عن طريق الزوج Artificial insemination by husband ايداع نطف الزوج في مواقع مختلفة من القناة التناسلية الانثوية لغرض تخطي الموانع و نقل النطف الى مواقع الاخصاب (Yovich *et al.* , 1988) .

تستعمل تقنيات التلقيح الاصطناعي في علاج حالات العقم عند المتزوجين التي تعود الى اسباب عديدة منها ، وهن النطف او قلة النطف و كذلك في حالة وجود الاضداد النطفية (Confino *et al.* , 1986) . تلعب الاضداد النطفية دورا في عرقلة حركة النطف في القناة التناسلية الانثوية و تثبيط اختراق النطف للبيوض (Rust *et al.* , 1986 ; Dor *et al.* , 1981) و من ثم انخفاض معدل الاخصاب (Junk *et al.* , 1986) .

كما تستخدم هذه التقنيات في علاج العقم غير المفسر (Tucker *et al.* , 1987 ; Hull *et al.* , 1984) و لعلاج المرضى الذين يعانون من القذف الرجوعي Retrograde ejaculation . فقد اشارت احدى الدراسات الى امكانية الحصول على عدد مناسب من النطف

المسترجعة من الادرار و ذات الحركة الجيدة لهؤلاء المرضى بعد اعطائهم بيكاربونات الصوديوم لجعل وسط الادرار قاعدي و تم تسجيل نسبة حمل جيدة و بأستخدام تقنيات التلقيح الاصطناعي (Urry *et al.* , 1986) ، كما تعد هذه التقنيات علاجا ناجحا لبعض حالات اللانطفية الانسدادية الناتجة عن الغياب الولادي لقناة الاسهر و ذلك بعد رشف النطف من البربخ Epididymal aspiration (Ord *et al.*,1992;Silber *et al.*, 1988) .

تعد عملية اضافة السائل المنوي مباشرة الى البيوض (بدون اجراء عمليات التنشيط و العزل) غير صحيحة في هذا المجال السبب يعود الى ان النطف غير الممكنة تكون غير قادرة على اخصاب البيوض (Quanzhong *et al.* , 1996) . اذ ترتبط قابلية النطف على الاخصاب مع قدرتها علىالحركة و نوعية حركتها التي تمكنها من الوصول الى البويضة و اخصابها (Geyter *et al.* , 1988 ; Macleod & Gold , 1951) . ان تنشيط النطف في الزجاج و اضافة المصل الى الاوساط المستخدمة يعمل على اختزال الوقت اللازم لتمكين النطف مقارنة بالوقت الذي تحتاجه في الجسم الحي (Karabinus & Gelety,1997;Dugan *et al.*,1997) . اثبتت تقنيات تنشيط النطف كفاءة عالية في اختزال النسبة المئوية للنطف غير السوية من النطف المسترجعة ، و قد اشارت احدى الدراسات الى التأثير المهم للنطف السوية في نجاح عملية الاخصاب في الزجاج ، حيث لوحظ ان نسب نجاح عالية لعمليات الاخصاب في الزجاج تحدث عندما تكون النسبة المئوية للنطف السوية اعلى من 14% (Chan *et al.* , 1990 ; Kruger *et al.* , 1988) . كما ان لعملية الغسل المزدوج لنطف مرضى العقم المناعي الاثر الواضح في حدوث تحسن في فرصة الحمل (Ayvaliotis *et al.* , 1985) . لذلك تعد عملية تنشيط النطف في الزجاج ضرورية قبل اجراء تقنيات التلقيح الصناعي . و قد اوضحت دراسات عديدة انه على الرغم من الاختلاف في عدد النطف المسترجعة عند استخدام التقنيات المختلفة لتنشيط النطف في الزجاج الا انه لا يوجد فرق في معدل الانتاجية Fecundity rates و يعود السبب في ذلك الى ان كل تقنيات تنشيط النطف المستخدمة في تلك الدراسة قد تجاوزت العتبة لعدد النطف المتحركة الضرورية لحدوث الاخصاب داخل الجسم الحي ، فلا توجد فائدة تذكر لوجود النطف الاضافية (Dodson *et al.* , 1998 ; Karlstrom *et al.* , 1991) . و في حالة مرضى قلة النطف يفضل استخدام الجزء الاول من الدفق First split بدلا من استعمال الدفق بأكمله في تقنيات التلقيح الأصطناعي ، حيث اشار الهادي (Al-Hady , 1999 b) الى ان معالم النطف تكون افضل و بشكل معنوي مقارنة مع الجزء الثاني من الدفق او الدفق بأكمله كما اظهرت نتائج تنشيط الجزء الاول من الدفق تحسنا معنويا في معالم النطف مقارنة مع قيمها قبل التنشيط .

يعد تنبيه المبيض Ovarian stimulation بأستخدام الهرمون المحفز للجريبات عاملا مهما في برنامج التلقيح الاصطناعي حيث يعمل على زيادة عدد البيوض المنتجة و يوفر فرصة أكبر لنجاح عملية التلقيح الاصطناعي ، و قد استعمل سابقا الهرمون المحفز للجريبات المستخلص من بول النساء ما بعد سن اليأس لهذا الغرض اما في الوقت الحاضر يستعمل بدلا عنه Recombinant human FSH(r-FSH) (Brinsden *et al.* , 2000) . او يتم تنبيه المبيض عن طريق اخذ Human menopausal gonadotropin (hMG) المتكون من كميات متساوية من الهرمون اللوتيني والهرمون المحفز للجريبات (Gordon *et al.* , 2001) . و قد لوحظ عدم وجود فرق معنوي في تنبيه المبيض عند استخدام r-FSH او hMG (Strehler *et al.* , 2001) توجد عدة تقنيات للتلقيح الاصطناعي و منها :-

1-5-1: التلقيح داخل المهبل و داخل عنق الرحم

Intravaginal and intracervical insemination

هـو ايـداع نطـف الـزوج داخـل المهبـل Intravaginal او داخـل عنـق الـرحم Intacervically بأستعمال محقنة ذات ماصة زجاجية (Harrison , 1978) و تعد هذه التقنية من اقل التقنيات كفاءة (Carroll & Palmer , 2001) .

1-5-2: التلقيح داخل جوف الرحم

Intrauterine insemination (IUI)

يتم في هذه التقنية ايداع نطف الزوج الممكنة داخل تجويف الرحم ، حيث تكون الزوجة بوضع الاستلقاء و يتم اظهار عنق الرحم بأستخدام منظار ثنائي الصمام Bivalv speculum و من ثم ادخال القطارة الحاوية على النطف المنشطة الى داخل تجويف الرحم بضع ملمترات و تحقن ببطئ لمنع حدوث شنجات Spasms الرحم ، ثم تزال القطارة و تنصح الزوجة ببقائها مستلقية 30 دقيقة (Hoing *et al.* , 1986) .

ان الازواج غير الخصبين المرشحين للتلقيح بهذه التقنية يحب ان تتوفر بهم شروط معينة و هي ان تكون الزوجة بطور الاباضة و تكون قناة البيض مفتوحة بالأضافة الى وجود نطف متحركة في قذفة السائل المنوي للزوج (Voorhis *et al.* , 2001) . و تعد هذه الطريقة بسيطة و غير مؤذية نسبيا كما انها تعد خط العلاج الاول لعلاج الرجال الذين يعانون من قلة ووهن النطف على ان يكون السائل المنوي لهؤلاء المرضى حاوياً على نسبة جيدة من النطف ذات الاشكال السوية (Francavilla *et al.* , 1990 ; Cruz *et al.* , 1986) . و قد اشارت دراسات عديدة الى ان IUI علاج فعال لعقم الذكور عندما يكون عدد النطف $\leq 5 \times 10^6$ نطفة و النسبة المئوية للنطف المتحركة ≤30% بالأضافة الى وجود نسبة جيدة من النطف ذات الشكل السوي في عينات السائل المنوي (Dicky *et al.* , 1999 ; Chung *et al.* , 1997) .

كما تعد تقنية IUI وسيلة لأدخال نطف الزوج الذي يعاني من مشكلة عدم القدرة على الجماع بعيدا عن حاجز مخاط عنق الرحم Cervical mucus barrier (Yovich&Matson , 1988) الا ان التغلب على هذا الحاجز لا يزيل تداخل الاضداد النطفية مع الخصوبة في حالة العقم المناعي مسببا فشل IUI (Francavilla *et al.* , 1992). يتم في هذه التقنية وضع عدد كبير من النطف المغسولة مباشرة في جوف الرحم دون حصول ميكانيكية ترشيح عنق الرحم الواقية ، و مناعيا تعد النطف جسماً غريباً بالنسبة للزوجة الا انه لا يحفز بشكل معنوي تكوين الاضداد النطفية في المصل (Rojas *et al.* , 1990) .

1-5-3: نقل الامشاج داخل قناة فالوب

Gamete intrafallopian transfer (GIFT)

هي عملية نقل مباشرة لبيوض مستحصلة قبل تحررها مع نطف الزوج المغسولة الى داخل قناة فالوب لجعل كل من النطفة و البيضة في مكان الاخصاب الطبيعي . فتحمل 100000 نطفة متحركة و ممكنة مع 1-2 بيضة داخل قطارة و تدخل تقريبا 1.5 سم داخل قناة فالوب و تعاد نفس العملية لقناة فالوب الاخرى (Asch *et al.* , 1986) .

تستعمل هذه التقنية في علاج الازواج الذين يعانون من العقم غير المفسر ، و مشاكل عنق الرحم ، و العقم الذكري على ان تكون على الاقل قناة واحدة من قناتي فالوب عند الزوجة مفتوحة (Ory , 1989 ; Wessels *et al.* , 1987 ; Asch *et al.* , 1986) فهي تسمح بجعل البيضة في تماس مباشر مع النطف السابحة الحرة في قناة فالوب و بهذا تتجاوز النطف كل الحواجز . كما تعد وسيلة فعالة لعلاج العقم المناعي بعد فشل العلاج بالسترويدات (Merwe *et al.* , 1990) . و من مساوئ هذه التقنية انها مؤذية و مكلفة و تحتاج الى وقت طويل (Asch *et al.* , 1984) .

1-5-4 : التلقيح المباشر داخل البريتون

Direct intraperitonial insemination (DIPI)

تعد هذه التقنية طريقة بديلة عن GIFT و تتضمن رشف النطف المغسولة في محقنة ذات ابرة عيار 19 و من ثم حقنها خلال القبو الخلفي للمهبل Posterior vaginal fornix داخل الردب Cul-de -sac (Forrler *et al.* , 1986) .

يعد التلقيح المباشر داخل البريتون المسبق بتنبيه المبيض طريقة بسيطة نوعا ما و يفضل استخدامها بدلا عن الطرق المعقدة مثل GIFT ، و تستخدم هذه التقنية لعلاج العقم غير المفسر ، و مشاكل عنق الرحم ، و العقم الذكري (Karlstrom *et al.* , 1991 ; Forrler *et al.* , 1986) ، الا ان تكرار هذه التقنية لأكثر من مرة يرافقه نقصان في معدل الحمل و يعود السبب الى ظهور الاضداد النطفية كأستجابة سريعة و مؤشر في تنشيط الجهاز المناعي عند حقن النطف المغسولة داخل البريتون و الذي يعد منطقة غنية بالأوعية اللمفاوية على الرغم من ان مستوى الكلوبيولينات المناعية الموجودة في الرحم و قناة فالوب يكون اقل مما هو عليه في الدم (Livi *et al.* , 1990) .

1-5-5: الاخصاب في الزجاج ونقل الاجنة

In vitro fertilization and embryo transfer (IVF-ET)

تتضمن هذه الطريقة حضن البيوض مع النطف في انبوب حاوٍ على 2 مل من الوسط هام اف –10 الحاوي على 10-15% البومين مصل البقر و مجهز ب 5% Co_2 للمحافظة على pH من 7.2-7.4 و بدرجة حرارى 37 °م و لمدة من 3-5 ساعة . تعد النتيجة موجبة عند ملاحظة تطور الجنين بعد 6 ايام او عند انقسام البيضة و تكون ثماني خلايا قبل نقلها الى رحم الزوجة (Hull *et al.* , 1984) .

اكدت الدراسات الحديثة ضرورة اختزال عدد الاجنة المنقولة بسبب احتمال انبات جميع الاجنة وإن مثل هذا الحمل له اخطار كبيرة كمشاكل تشوه الاجنة ، لذلك يجب ان يكون الجنين المنقول ذا نوعية جيدة و بمرحلة الكيسة الأُريمية Blastocyst خلال اليوم الخامس من الزرع حيث تكون قدرة هذا الجنين على الانبات اعلى من قدرة الجنين الذي لم يصل الى تلك المرحلة حتى اليوم السادس من الزرع (Shapiro *et al.* , 2001 a ; Sheiner *et al.*, 2001 ; Roest *et al.* , 1997) ، بينما ذكر اخرون ان اختيار الكيسة الأُريمية التي يجب نقلها يعتمد على شكلها بدلا من عمرها بعد التلقيح. فيفضل نقل الكيسة الأُريمية التي تظهر توسعاً كاملاً لجوف الاريمة Blastocoel cavity و متصل مع عدد جيد من الخلايا في الاديم الخارجي المغذي Trophoectoderm والخلايا الداخلية (Kausche *et al.* , 2001) ، كما لوحظ ان تطور الاجنة البشرية يتحسن في وسط خالٍ من الكلوكوز فيكون عدد الخلايا في مرحلة الكيسة الأُريمية اكثر عند عدم وجود الكلوكوز الا ان معدل الحمل لم يتغير (Coates *et al.* , 1999) .

تستخدم هذه التقنية عندما يكون السائل المنوي للزوج رديئاً من الناحية الكمية و النوعية (Hirsch *et al.* , 1986) فهي تعد علاجا ناجحا للذكور الذين يعانون من قلة ووهن النطف (Yovich *et al.* , 1988) ، كما تستخدم لعلاج العقم غير المفسر و عدم ملائمة مخاط عنق

الرحم (Hewitt *et al.* , 1985) بالأضافة الى استخدامها في علاج النساء اللواتي يعانن من التهاب البطانة الرحمية (Parikh *et al.* , 1997) او انسداد الانابيب (Blazar *et al.* , 1997) . و من مساوئ هذه التقنية انها تعد من اكثر التقنيات اذية و ذات كلفة عالية . و ان المرشحين للتلقيح بهذه التقنية يكون تركيز النطف المتحركة الكلية اقل من 5×10^{6} في السائل المنوي للزوج او معاناة الزوجة من احد اسباب العقم (Matkov *et al.* , 2001) .

اشارت دراسات عديدة الى وجود علاقة طردية بين نسبة النطف ذات الاشكال السوية و معدل الاخصاب في الزجاج (Kruger *et al.* , 1988 ; Kruger *et al.* , 1986) ، و لكي يحدث الاخصاب في الزجاج يجب ان تكون النطف المستخدمة في التلقيح ذات شكل سوي ، و تمتلك حركة خطية ، و لها جسيم طرفي و تكون قادرة على الارتباط بالنطاق الشفاف للبويضة (Liu & Baker , 1992) ، اذ لوحظ في حالة عدم قدرة النطف على الاندماج مع البيوض يؤدي الى فشل الاخصاب (Wolf *et al.* , 1996) .

ان تقلص رحم الزوجة اثناء نقل الجنين يؤدي الى انخفاض معدل غرس الجنين لذا يعد الاستعمال المهبلي للبروجسترون قبل يومين من نقل الجنين ذا اهمية كبيرة ، حيث يعمل البروجسترون على تقليل تكرار تقلص الرحم و بذلك يتم تجنب ابدال موضع الجنين من تجويف الرحم (Fanchin *et al.* , 2001) . يسبب وجود السوائل المتجمعة Hydrosalpinx في بعض حالات انسداد الانابيب انخفاضاً في معدل الانغراس و من ثم اختزال نسبة الحمل حيث تؤثر تلك السوائل سلبا في بطانة الرحم و الانغراس بسبب تغير البيئة كيمياويا و حياتيا (Blazar *et al.* , 1997) . اما نمو الفطريات بعد زرع الجنين فانه يؤدي الى فشل تطور الجنين و الانغراس لأن اغلب الاوساط المستخدمة للأخصاب في الزجاج لا تحتوي على مضادات للفطريات (Mahadevan *et al.* , 1996) ، بالأضافة الى ذلك فأن هناك كثيراً من المشاكل التي تحدث اثناء نقل الجنين و تكون سببا في فشل انغراسه و هي حدوث كلم Trauma للجنين عند تلوث القطارة بالدم او المادة المخاطية (Schoolcraft *et al.* , 2001) . كما ان حالة الكرب Stress و القلق الشخصي Axious personality عند النساء اللواتي يخضعن لبرنامج IVF-ET يؤدي الى انخفاض نسبة خلايا تي المساعدة T helper المسؤولة عن افراز منظمات المناعة السايتوكاينز الى خلايا تي المثبطة T suppressor الذي بدوره يعمل على اختزال معدل الانغراس (Gallinelli *et al.* , 2001) . اما وجود الاضداد النطفية في مصل و / او افرازات كلا الزوجين ، لوحظ ان لهذه الاضداد دوراً في انخفاض معدل الاخصاب في الزجاج (Mathur *et al.* , 1987) .

بعد فشل المحاولة الاولى للـ IVF-ET ، فأن تكرار المحاولة و نقل الاجنة يرافقه نقصان في معدل الحمل و الانغراس و يعود السبب في ذلك الى ان تكرار المحاولة له علاقة بأنخفاض نوعية البيوض و الاجنة مقارنة بالمحاولة الاولى كما ان قابلية تقبل بطانة الرحم للجنين قد تكون عاملا في انخفاض معدل الحمل و الانغراس (Shapiro *et al.* , 2001 b) .

1-5-6 : حقن النطفة داخل السايتوبلازم

Intracytoplasmic sperm injection (ICSI)

تتضمن هذه التقنية حقن النطفة داخل سايتوبلازم البيضة باستخدام ماصة قطرها الخارجي اقل من 6 مايكروميتر و تكون قمتها قصيرة و حادة . يتم مسك الخلية النطفية و منعها من الحراك بوساطة ابرة المحقنة و التي تدخل خلال النطاق الشفاف و هيولي البيضة عميقا داخل السايتوبلازم و تحقن النطفة و تسحب الماصة ببطئ لتجنب ازالة النطفة او حدوث شتر خارجي Eversion لهيولي البيضة (Palermo *et al.* , 1993) .

يعد ICSI وسيلة لعلاج حالات العقم الذكري الحادة . فهو خط العلاج الثاني بعد الجراحة لمرضى اللانطفية الانسدادية او مرضى قلة النطف الذين يعانون من الانسداد الجزئي للقناة القاذفة

(Kadioglu *et al.* , 2001) ، و ذلك بأستخدام النطف او اورمات النطف المتأخرة التي ترشف مباشرة من البربخ او الخصية او بأستخدام النطف المستخلصة من الخزعة الخصوية (Battaglia *et al.* , 2001 ; Madgar *et al.* , 1998 ; Araki *et al.* , 1997) . و لوحظ ان حقن اورمات النطف غير الناضجة داخل السايتوبلازم Round spermatid injection (ROSI) يؤدي الى انخفاض معدل الاخصاب مقارنة مع حقن النطف الناضجة و كان معدل الاخضاب 44.9% و 69% على التوالي (Levran *et al.* , 2000) ، كما اشارت احدى الدراسات الى ان النطف المستخلصة من الخزعة الخصوية تعطي معدل اخصاب اوطأ مقارنة بالنطف المرشوفة من البربخ و يعود السبب الى وجود خلل وظيفي بالنطف او عدم نضج النطف (Watkins *et al.* , 1997) . كما يعد استخلاص النطف او رشف النطف الموجودة في الاسهر و البربخ قبل العلاج الكيمياوي لمرضى اللانطفية الذين يعانون من سرطان الخصية و استخدامها بتقنية ICSI وسيلة لحفظ الخصوبة لهؤلاءالمرضى لأن العلاج الكيمياوي يؤدي الى تلف دنا الخلايا النطفية و من ثم فشل ICSI (Kobayashi *et al.* , 2001 ; Baniel & Sella , 2001 ; Lopes *et al.* , 1998) و يفضل حفظ النطف المرشوفة من البربخ لغرض اجراء عملية ICSI عدة مرات بدون تكرار الجراحة الدقيقة Microsurgical للبربخ (Holden *et al.* , 1997) .

كما تعد تقنية ICSI علاج لمرضى عسر الحركة الهدبي الذين يعانون من غياب اذرع الداينين او النبيبات الدقيقة للمحور . ان حقن البيوض بنطف حية لكنها غير متحركة اعطت معدل اخصاب جيد و حدوث حالات حمل (Cayan *et al.*, 2001; Kamal *et al.*, 1999) . ان فقدان النطف لغشاء الجسيم الطرفي و محتوياته من الانزيمات يجعلها غير قادرة على اختراق النطاق الشفاف للبيضة او ان تلتحم مع هيولي البيضة و تعرف تلك النطف بالنطف الكروية Globozoospermia ، فيعد حقن النطفة كاملا داخل سايتوبلازم البيضة حلا للتغلب على هذه المشكلة و احداث الحمل (Kim *et al.* , 2001) .

بذلك تعد تقنية ICSI علاج فعال جدا عندما يكون عدد النطف قليلاً جداً في القذفة او النسيج الخصوي لمرضى العقم الذكري الحاد لكن المشكلة هي حقن النطف ذات التركيب الوراثي غير السوي (Levron *et al.* , 2001 ; Veld *et al.* , 1995) بسبب المستوى العالي للـ DNA التالف لنطف الاشخاص غير الخصبين مقارنة مع الاشخاص الخصبين بالأضافة الى وجود تشوهات بالكروسومات الجنسية لبعض المرضى الذين يعانون من قلة ووهن و تشوه النطف فأن ذلك كله يزيد من خطر انتقال الطفرات الوراثية و اللاسوية بالكرموسومات الى النسل (Zini *et al.* , 2001 ; Aboulghar *et al.* , 2001 ; Pfeffer *et al.* , 1999)، كما لوحظ انخفاض معدل الاخصاب عند استخدام نطف ذات شكل غير سوي و حقنها داخل سايتوبلازم البيضة مقارنة مع مجموعة السيطرة (Gomez *et al.* , 2000) فالشكل غير السوي للنطف يزيد من احتمال كون المادة الوراثية غير سوية و من ثم تنتقل الى النسل (Ryu *et al.* , 2001) .

قد يتم حقن عدد قليل من النطف الفعالة تحت النطاق الشفاف الا ان معدل الاخصاب في هذه الحالة يكون اوطأ مقارنة بالـ ICSI (Palermo *et al.* , 1993) .

1-6: الهدف من الدراسة *The aim of the study*

من اجل معرفة نسب العقم و أنواعها تم اجراء دراسة احصائية لتحديد نسب العقم الذكري ، و العقم الانثوي و المشترك و تفاصيلها .

هدفت هذه الدراسة الى معرفة تأثير بعض المواد النشطة حياتيا التي لها القابلية على اختراق الحواجز الدموية-الخصوية ، و الهرمونات او شبيهاتها الموجودة في السائل المنوي او القناة التناسلية الانثوية في تنشيط النطف خارج الجسم .

تم استخدام الكافائين و الموثين $F_2\alpha$ و خلات الميدروكسي بروجسترون بثلاثة تراكيز متباينة و اوقات حضن متباينة ايضا لمعرفة تأثيرها عند اضافتها الى الاوساط الزرعية المستخدمة في تنشيط النطف البشرية في الزجاج و لمعرفة التركيز الامثل و فترة الحضن الملائمة لكل منها ، و لأيجاد بديل عن الاوساط الزرعية المستوردة الباهظة الثمن .

CHAPTER ONE الفصل الاول
INTRODUCTION المقدمة

1-1: المقدمةالعامة General Introduction

العقم Infertility : هو عدم قدرة الزوج Couple على الحمل بعد مرور عام على الزواج المستمر غير المتقطع ، دون استعمال مانع الحمل (Zavos *et al.* ,1999) . و اسباب العقم كثيرة فقد يعود السبب الى خلل هرموني و المتمثل في الاضطرابات الحاصلة في الغدد الصم ، أذ تـؤدي الاضـطرابات فـي منطقـة تحـت المهـاد Hypothalamus او فـي الغـدة النخاميـه Pituitary gland الى نقص في انتاج الهرمونات الموجهة الى الاقناد و من ثم حدوث عجز خصوي . كما ان القيلة الدوالية و الجروح و الاخماج و الادوية و السموم و شذوذ الصبغيات هي الاخرى مسؤولة عن العقم الذكري . اما الاضطرابات الحاصلة في عملية نقل النطف و المتمثلة بأنسداد مجرى النطف مما يؤدي الى غياب النطف في المني (اللانطفية Azoospermia) بالأضافة الى ذلك فأن الدفق الرجوعي Retrograde ejaculation و انعدام المني Aspermia و الاضداد النطفية Antisperm antibodies تعد من اسباب عقم الذكور (كايتون ، 1997) . اشارت احدى الدراسات الى ان الضغط التنافذي للسائل المنوي البشري السوي ما بين 360-380 ملي اوزمول و ان حصول تغيرات في الضغط التنافذي يؤدي الى العقم و الذي قد يعزى الى خمج الغدد الجنسية الملحقة او الى الافرازات اللاسوية لهذه الغدد و التي ينتج عنها عدم توازن الشوارد Electrolytes ، فمن المعروف ان تعرض النطف البشرية الى السوائل ذات الضغط التنافذي المنخفض ينتج عنه انتفاخ الغشاء البلازمي للنطف (Gopalkrishnan *et al.* , 1989) . كما قد تكون اسباب العقم وراثية و خاصة حالة اللانطفية و قلة النطف الحاد الذي ممكن ان ينتقل الابناء بعد حقن نطف الاباء داخل سايتوبلازم البويضة Intracytoplasmic sperm injection(ICSI)(Vries *et al.*,2001;Oliva *et al.*,1998).

يتم علاج حالات العقم في الوقت الحاضر في المراكز المتقدمة لعلاج العقم بوساطة التقنيات الساندة للتلقيح Assisted reproductive techniques بأستخدام نطف الزوج ، الذي يسبقه تنشيط النطف بأستخدام التقنيات المختلفة التي عن طريقها يتم الحصول على معدلات حمل جيدة . لقد اثبتت عمليات غسل و نبذ Centerifugation النطف بأستعمال المستنبتات الزرعية Culture media المختلفة و المجهزة بالمصل نجاحا كبيرا في الحصول على نسبة عالية من النطف المتحركة ذات النشاط الجيد و بالتالي الحصول على نتائج جيدة في عمليات التلقيح الاصطناعي و الاخصاب في الزجاج (Dugan *et al.* , 1997 ; Ridha-Albarazanchi *et al.* , 1992; Cruz *et al.*,1986) .

تلعب المواد المنشطة حياتيا مثل الكافائين دورا متميزا في تحسين القابلية الاخصابية عند الذكور . أذ لوحظ ان شرب القهوة و بجرع مختلفة سبب زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة من خلال زيادة مستوى الادينوسين احادي الفوسفات الحلقي cAMP داخل الخلايا النطفية الذي يعمل على تحفيز ايض النطف (Marshburn *et al.* , 1989) . اما بخصوص الموثينات مثل الموثين $F_2\alpha$ و الهرمونات مثل البروجسترون ، فقد لوحظ ان الحقن العضلي للجاموس بالموثين $F_2\alpha$ ادى الى حدوث زيادة معنوية في نسب النطف الحية بعد ساعة واحدة من الحقن (Shankar *et al.*,1984) . كما اشارت احدى الدراسات الى ان عمل السائل الجريبي داخل الجسم In vivo يتمثل في ازالة ارتباط النطف من جدران قناة فالوب ، و قد يعزى سبب ذلك

الى دور البروجسترون في زيادة النشاط المفرط للنطف و من ثم تحررها و تحسين فرصة اخصاب البويضة المتحررة (Kulin *et al.* , 1994) .

1-2: عملية نشأة النطفة والعوامل المؤثرة عليها

Spermatogenesis and factors affecting it.

نشأة النطفة هي عملية متعددة الخطوات تتمايز من خلالها الخلايا الجرثومية غير الناضجة الى نطف و تتم تحت السيطرة الهرمونية ، و قد درست عملية نشأة النطفة في الحي vivo In فقط (Takagi *et al.*,2001 ; Henriksen&Parvinen,1998 ; Orlando *et al.*,1985) .

تحتوي النبيبات ناقلة المني على عدد كبير من الخلايا الجرثومية تدعى اسلاف النطف Spermatogonia التي تحتوي عل العدد المضاعف (46) من الصبغيات ، و تترتب بطبقتين او ثلاث طبقات على طول الحافة الخارجية للظهارة النبيبية و تتكاثر هذه الخلايا بأستمرار و يتمايز جزء منها . تنقسم اسلاف النطف نمط A المستندة الى الغشاء القاعدي للنبيبات ناقلة المني بواقع اربع انقسامات لتشكل 16 خلية اكثر تمايزا من النمط A بقليل تسمى النطف نمط B ، و خلال 24 يوما تنقسم اسلاف النطف نمط B لتشكل خلايا اكبر حجما تعرف بالخلايا النطفية الاولية Primary spermatocyte ، و تخضع هذه الخلايا للأنقسام الانقدادي الاول First meiotic division لتعطي الخلايا النطفية الثانوية Secondary spermatocyte و يختزل في هذا الانقسام عدد الصبغيات الى النصف (23) . بعد ذلك تدخل الخلايا النطفية الثانوية الانقسام الانقدادي الثاني Second meiotic division لتعطي كل خلية نطفية ثانوية اثنتين من أرومات النطف Spermatidالذي يحتوي كل واحد منها 23 صبغيا (كايتون ،1997).

بعدها تتحور هذه الارومات و تنضج بدون ان تمر بأي انقسام فتفقد معظم السايتوبلازم بما فيه الحامض النووي الرايبي الرسولي mRNA والماء و الكلايكوجين وتسمى عملية التحول هذه بحؤول النطف Spermiogenesis و كلما تقدم نضج و تخصص النطفة يزاح السايتوبلازم الزائد بشكل يعرف بالجسم المتبقي Residual body (عشير و العلوجي ، 1989) . تترك النطف الخصى وهي غير قادرة على الحركة تماما فتكمل نضجها و تكتسب الحركة خلال مرورها بالبربخ Epididymis و تخزن في ذيل البربخ Cauda epididymis لحين القذف (Ganong , 1989;Amann, 1989) .

يتم تنظيم عملية نشأة النطفة بوساطة هرمونات مختلفة حيث يفرز تحت المهاد Hypothalamus الهرمونات المحررة لمغذيات القند Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH) الذي يحفز الغدة النخامية الامامية على افراز الهرمونين الموجهين للقند و هما : الهرمون اللوتيني Luteinizing hormone (LH) و الهرمون المنبه للجريب Follicle Stimulating Hormone (FSH) . يحفز الهرمون اللوتيني خلايا ليدك Leydig cells على افراز هرمون الشحمون الخصوي Testosterone الذي فضلا عن دوره في عملية نشأة النطفه كذلك له الاثر في تطور الصفات الجنسية الثانوية بعد تحوله الى صيغته الفعالة المعروفة بـ Dihydrotestosterone(DHT) في النسيج الهدف و يثبط افراز هرمون الشحمون الخصوي بتثبيط افرازات الهرمونات المحررة لمغذيات القند المفرزة من تحت المهاد (Ganong 1989 , ; كايتون ،1997) . اما الهرمون المنبه للجريبات FSH ، فقد لوحظ ان الانقسامات الواقعة بين اسلاف النطف A_1 الى B_2 تكون حساسة لنقص FSH (Kilglour *et al.* , 1998) . كما ينبه خلايا سرتولي على افراز الاستروجينات و البروتينات الرابطة للأندروجين Androgen binding proteins الذي يحافظ على مستوى الاندروجينات مستقرا في السائل المنوي (Ganong,1989) ، و يعتقد ان الاستروجينات التي تفرزها خلايا سرتولي لها دور في عملية تحرر النطف من تلك الخلايا (محي الدين و جماعته ، 1990) . ان

التراكيز العالية للـ FSH تسبب تلف اسلاف النطف و بالتالي اختزال في عملية نشأة النطفة . لوحظ ان مرضى اللانطفية و قلة النطف غير المفسر Idiopathic azoo-oligospermia يعانون من خلل في تحت المهاد ينتج عنه نقصان في الهرمون المحرر للهرمون اللوتيني LH-RH و ارتفاع مستوى الهرمون المحفز للجريبات و يمكن علاج هؤلاء المرضى بتكرار الحقن بالهرمون LH-RH الذي يعمل على تغيير افراز LH و FSH من قبل الغدة النخامية (Aulitzky *et al.*,1988 ; Gross *et al.*,1986) .

ان انعدام او نقص تركيز النطف في بعض الاحيان ليس له علاقة بالفعالية الحيوية لهرمون محفز الجريبات اذ يكون ناتجا عن خلل في وظيفة الظهارة الجرثومية (Foresta *et al.*,1998 ; Matzkin *et al.* ,1990) او عدم تكون الخلايا الجرثومية Aplasia كما في متلازمة خلايا سرتولي Sertoli cell syndrome التي تعد سببا لأنعدام النطف في السائل المنوي نتيجة موت الخلايا الجرثومية الابتدائية او عدم حدوث الانقسام (Rothman *et al.* , 1982) .

ان ارتفاع تركيز هرمون Estradiol (E_2) يسبب اضطراب عملية نشأة النطفة من خلال تأثيره في الغدة النخامية و تثبيط طرح LH و FSH كما يعمل بصورة مباشرة على خلايا ليدك مؤديا الى انخفاض في انتاج الاندروجينات (Krause , 1988) . اشارت احدى الدراسات الى ان حقن الرجال الخصبين بـ 600 ملغم/لتر من هرمون الشحمون الخصوي لوحده او مع 10 ملغم/لتر او 20 ملغم/لتر من الاسترادايول يؤدي الى تثبيط LH و FSH بالدم مؤثرا سلبا على عملية نشأة النطفة (Handelsman *et al.*,2000) .

يشارك هرمون الحليب Prolactin و هرمون النمو Growth hormone في عملية نشأة النطفة ، حيث يعمل هرمون النمو على تحفيز انقسام الخلايا الجرثومية الذكرية و غيابه يؤثر تأثيرا حاد في نشأة النطفة (محي الدين و جماعته ، 1990) . اعطاء هرمون النمو للمرضى الذين يعانون من نقص محررات مغذيات القند بجرعة (4 وحدة دولية) ثلاث مرات اسبوعيا و لمدة 12 اسبوعاً يكون كفيلاً بتحفيز عملية نشأة النطفة حيث يزداد انتاج هرمون الشحمون الخصوي و انتاج النطف (Shoham , 1992) . يرافق المستوى العالي لهرمون الحليب في البلازما المنوية اختزال في عملية نشأة النطفة ، فقد اشارت دراسة الخزعة الخصوية Testicular biopsy لمرضى العقم الذين يعانون من ارتفاع مستوى هرمون الحليب Hyperprolactinemia الى حدوث نقص معنوي في عدد اسلاف و اورمات النطف (Aiman *et al.* , 1988 ; Sueldo *et al.*,1985 ; Jequier *et al.*,1979) .

تحتوي النبيبات ناقلة المني التي تظهر عملية نشأة نطفة طبيعية على cAMP responsive element modulator الذي يعمل منظماً لعملية نشأة النطفة البشرية من خلال سيطرته على استنساخ الجينات المشتركة في نضج الخلية النطفية بعد الانقسام الانقدادي و ان غيابه يؤدي الى كبح عملية نضج الخلية النطفية الاولية و زيادة موت الخلايا الجرثومية Apoptosis مسببا فشل خصوي (Lin *et al.* , 1998) . كما تفرز الخلايا النطفية عوامل نمو متعددة الببتيد منظمة للمناعة تسمى السايتوكاينز Cytokines منها Interlukin -1 الذي يلعب دوراً في تنظيم المرحلة المبكرة من عملية نشأة النطفة من خلال تنظيم بناء الستيرويدات و اشتراكها في عمليات التمايز في الخصية و على الرغم من ان مستوى تلك السايتوكاينز متشابه في الخصبين و غير الخصبين الا ان مستقبلاتها تكون مختلفة و هذا الاختلاف ينعكس على وظائف النطف (Huleihel *et al.*,1996;Huleihel *et al.* , 2000).

ان الوظيفة التكاثرية يمكن ان تتغير بالتعرض المزمن للمركبات الفعالة حياتيا Bioactive compounds القادرة على عبورالحواجز الدموية الخصوية - Testicular blood barrier بعد امتصاصها جهازيا و ان الاعتياد على اخذ هذه المركبات هو الذي يمكنها من ان تلعب هذا الدور .

يؤثر التدخين على عملية نشأة النطفة اذ يسبب اختزال في تركيز هرمون الشحمون الخصوي في نسيج الخصية من خلال تأثيره المباشر على خلايا ليدك (Zavos *et al.*,1999;Shaarawy & Mahmoud,1982) ، او من خلال زيادة تحول هرمون الشحمون الخصوي الى الاسترادايول . حيث يعمل المستوى العالي للأخير على اختزال عدد

النطف (Klaiber & Broverman , 1988) . في حين اشار اخرون الى إن التدخين يؤثر في عملية نضج النطف مسببا زيادة في نسبة اشكال النطف غير السوية دون التأثير في عدد النطف او حركة النطف . (Wong *et al.* ,2000a; Wong *et al.* ,2000b; Evans & Fletcher , 1981) و اشارت دراسات اخرى الى عدم وجود أي نقص معنوي في كل من حجم القذفة ، و تركيز النطف ، و العدد الكلي للنطف ، و النسبة المئوية للنطف المتحركة و السوية في الاشخاص المدخنين (Dikshit *et al.*,1987 ; Vogt *et al.* , 1986) . بينما اشار اخرون الى ان التدخين يختزل حجم القذفة بصورة معنوية ، و يعود هذا الاختزال الى عجز في ميكانيكية القذف Ejaculation (Nakagawa *et al.* , 1990;Marshburn *et al.*,1989) .

يسبب الكافائين نقصا ملحوظا في عدد الخلايا النطفية الاولية و ارومات النطف بعد معاملة مجاميع الفئران بجرعات مختلفة من الكافائين اما اسلاف النطف و خلايا سرتولي فلم تتأثر بالمعاملات المختلفة من الكافائين (Alwachi & Balach , 1988) بينما اشارت دراسة اخرى الى ان شرب القهوة سبب زيادة في كثافة النطف و النسبة المئوية لأشكال النطف غير السوية (Marshburn *et al.*,1989) .كما ان الادمان المزمن على الكوكائين يسبب نضوب للناقلات العصبية في تحت المهاد وبالتالي تثبيط انتاج مغذيات القند (Bracken *et al.*, 1990).

ان للمواد البيئية السامة Environmental toxic substance تاثيرا ضارا على نوعية السائل المنوي ، حيث لوحظ حدوث تلف في عملية نشأة النطفة لدى الاشخاص المعرضين للمركبات الهايدروكربونية مقارنة مع الاشخاص غير المعرضين ، بالأضافة الى حدوث نقص معنوي في تركيز النطف و درجة نشاط النطف تتناسب طرديا مع فترة التعرض ، و حدوث زيادة في نسبة النطف غير السوية (Celis *et al.* , 2000) و نقصان في حجم القذفه (Nelson & Bunge , 1974) . ان التعرض لجرع متوسطة لكل من الرصاص (400 مايكروغرام /لتر) و الكادميوم (10 مايكروغرام / لتر) يقلل نوعية السائل و بشكل معنوي و يعتقد ان السبب يعود الى تداخل هذه المعادن في عمل الزنك الضروري لفعالية عدد كبير من الانزيمات التي تشترك في بناء و اصلاح الدنا DNA و الرنا RNA و بناء البروتينات (Telisman *et al.* , 2000) . بينما اشارت دراسة اخرى الى ان معاملة الفئران بالرصاص و لفترات طويلة لم تؤثر في النسيج الخصوي لتجمع الرصاص في الخلايا البلعمية للنسيج الخلالي (Wenda-Rozewicka *et al.*,1996) . اما في البربخ فأنه يتجمع داخل حويصلات موجودة في سايتوبلازم ظهارة البربخ و بتركيز اقل في تجويف البربخ ، و بسبب قابلية الرصاص على العبور من الاوعية الدموية خلال الخلايا الظهارية للبربخ الى تجويفة لهذا فمن الممكن ان يخرج من القناة التناسلية الذكرية اثناء القذف (Piasecka *et al.*, 1995) . كما أشار اخرون الى وجود كميات كبيرة من التراكيب الصفاحية Lamellar structures في ظهارة البربخ للفئران المعاملة بالرصاص التي يعتقد انها ناتجة عن التهام ظهارة البربخ للنطف و تحلل المايتوكوندريا والتراكيب الاخرى فتكوّن الدهون الناتجة اغشية تحيط بالرصاص المترسب (Wiszniewska *et al.* , 1998) .اما حقن فلوريد الصوديوم داخل خصى الفئران لم يظهر أي تأثير على عملية نشأة النطفة . (Sprando *et al.* , 1998 ; Sprando *et al.* , 1997 ; Sprando *et al.*,1996)

يسبب التعرض للأشعاع تسريع في موت الخلايا الجرثومية و من ثم اختزال في عدد اسلاف النطف مؤديا الى نقصان عدد النطف من خلال انخفاض عملية نشأة النطفة (Takagi *et al.* ,2001;Henriksen & Parvinen , 1998) .

ان لتقدم العمر في الذكور الاثر في اختزال العدد الكلي للنطف و النسبة المئوية للنطف المتحركة بالأضافة الى حجم القذفة ، فقد اشارت دراسات عديدة الى ان الاختزال يبدأ من عمر 25 سنة ، و لكن هذا الاختزال غير معنوي (Kidd *et al.*,2001;Cetalo & Eberly , 1999 ; Schwartz *et al.* , 1983) .

ان تأثير فصول السنة المختلفة في معالم النطف يعود الى اختلاف طول الفترة الضوئية ، فقد لوحظ انخفاض معنوي في القيم السوية لمعالم النطف خلال الاشهر تموز و اب و ايلول و

تشرين الاول (Levin *et al.* , 1992) . كما ان للتوتر الانفعالي الاثر في اختزال الوظائف الخصوية مما يؤدي الى اختزال إنتاج الاندروجينات (Giblin *et al.* , 1988) .

يعزى اختزال عملية نشأة النطف لدى بعض مرضى العقم الى الجهد التأكسدي Oxidative stress للنطف و كريات الدم البيض ، الذي يؤدي الى تلف الدنا DNA اثناء المراحل المبكرة لعملية نشأة النطفة (Kodama *et al.* , 1997) . كما ان تمزق الحواجز الدموية - الخصوية التي تكونها خلايا سرتولي يؤدي الى تكوين الاضداد النطفية (Hass&Beer,1986) ، و للمناعة الذاتية Autoimmunity دور في تأثيرها في النسيج الخصوي مؤدية الى تلفه في بعض مرضى قلة النطف Oligospermia (Zhong *et al.*,1989) .

اما الجزيئات الغذائية الدقيقة Micronutrients فيعتقد بأنها السبب في احداث عدم الخصوبة و خاصة حالات العقم مجهول الاسباب Idiopathic infertility . فقد وجد ان الزنك يلعب دورا مهما في التطور الخصوي ، و عملية نشأة النطفة و حركة النطفة ، و يدخل في تركيب الجزيئات العملاقة Macromolecules مثل DNA و RNA و يشترك في تصنيع البروتين و انقسام الخلايا . وقد لوحظ ان نقص الزنك يسبب انخفاضاً في وظيفة المناسل (Wong *et al.* ,2000b;Carreras & Mendoza, 1990) . ان وجود الفوليت في السائل المنوي يشير الى انه ضروري بطريقة ما لعملية نشأة النطفة او عملية نضج النطفة ، أذ لوحظ ان قلة تركيز النطف في المدخنين ذو علاقة مع التراكيز الواطئة للفوليك في السائل المنوي (Wallock *et al.* , 2001) . و قد اشارت احدى الدراسات الحديثة الى ان معاملة الرجال الخصبين و غير الخصبين بسلفات الزنك و حامض الفوليك بجرعة 66 ملغم / يوم و 5 ملغم/ يوم على التوالي و لمدة 26 اسبوعاً سبب زيادة معنوية في عدد النطف الكلي (Wong *et al.*,2002) . يسبب نقص فيتامين A في ذكور الفئران كبح عملية نشأة النطفة و تحلل الخلايا الجرثومية ، الا ان الحقن المتكرر بحامض الريتونك Retinoic acid للفئران التي تعاني من نقص هذا الفيتامين قادر على تحفيز التكاثر و تمايز سليفة النطف نمط A و دعم التطور الكامل لأسلاف النطف و تحولها الى ارومات النطف (Pelt& Rooij,1991) . اما فيتامين C Ascorbic acid فأنه يتحول الى حامض الاوكزاليك Oxalic acid اثناء فترة الخزن الذي يرتبط بشكل معنوي مع نسبة الاشكال غيرالسوية لرأس النطفة (Eiss *et al.* , 2000) .

يحفز الاندروجين نزول الخصى في كيس الصفن Scrotum ، و لكي يعمل الاندروجين يحتاج الى مستقبلات في العضو الهدف و قد لوحظ ان حدوث اية طفرة في الجين المسؤول عن مستقبلات الاندروجين قد يسبب أختفاء الخصية Cryptochidism و من ثم تلف الظهارة الجرثومية (Suzuki *et al.* , 2001;Steinberger , 1978) ، كذلك الحال عند الأصابة بخمج الخصى النكافي Mump orchitis بعد البلوغ الذي يرافقه تلف النبيبات ناقلة المني ، و قد تشمل الاصابة خصية واحدة او الاثنتين معا و هذا الخمج يسبب انخفاضاً ملحوظاً في نوعية النطف وتركيزها وقد يؤدي الى حصول حالة اللانطفية (Shulman *et al.* ,1992).

القيلة الدوالية Varicocel تسبب انخفاضاً في عملية نشأة النطفة ، و ان القيلة الدوالية من جانب واحد قد تسبب عجزاً في عملية نشأة النطفة لكلا الخصيتين نتيجة تدفق الدم من الوريد الكلوي الى الخصية و بالتالي تلفها (Takihara *et al.*,1990) و يصاحبها اختزال في حجم الخصى ورداءة في نوعية النطف و انخفاض مستوى هرمون الشحمون الخصوي (WHO,1992; Rodriguez-Rigau *et al.* , 1981) . ترتبط القيلة الدوالية بالعجز الحاصل في تنظيم طرح بقايا السايتوبلازم اثناء تحرر النطف من خلايا سرتولي او اثناء الانتقال المبكر في البربخ مؤدية الى زيادة نسبة الاشكال غير السوية للنطف (Zini *et al.* , 2000) . و قد اشارت احدى الدراسات الى حدوث تحسن في عملية نشأة النطفة لبعض مرضى اللانطفية و مرضى قلة ووهن النطف الحادين الذين يعانون من القيلة الدوالية بعد خضوعهم للجراحة (Matthews *et al.* , 1998) .

تلعب الخلايا العدلة Neutrophil cells دوراً مهماً في تطور الاستجابة المناعية في خصى المرضى الذين يعانون من الذوى الخصوي Testicular ischemia و نتيجة لألتصاق هذه الخلايا داخل الاوردة الواقعة تحت الغلالة تتولد كميات كبيرة من Reactive

Oxygen Species (ROS) ، و يمكن تثبيط هذا الالتصاق عن طريق حقن الوريد بقشرانيات كلوكوزية مصنعة Synthetic glucocorticoid مثل الديكساميثازون Dexamethasone (Yazawa *et al.* , 2001) .

يسبب سرطان الخصية Testicular cancer في بعض الاحيان تلفاً حاداً غير عكسي لظهارة النبيبات ناقلة المني فتكون متلازمة خلايا سرتولي و يحدث تثبيط كامل لعملية نشأة النطفة ، و في هذه الحالة تكون الوراثة و العوامل البيئية هي المسؤولة عن الاستعداد لتطور السرطان و في احيان اخرى يسبب السرطان اختزالاً في نشأة النطفة حتى قبل الاشعاع او العلاج الكيمياوي (Berthelsen & Skakkebaek,1983) . اشارت دراسة اخرى الى ان بعض مرضى سرطان الخصية من جهة واحدة يعانون من انخفاض في مستوى هرمون الشحمون الخصوي الذي يرافقه اختزال في الخلايا الجرثومية للخصية الاخرى (Hansen *et al.* , 1989) . كما لوحظ ان بعض المرضى الذين يتناولون الفيوردنتين Furadantine بجرعة 10ملغم /كغم يوميا كعلاج للأصابات البكتيرية بالقناة البولية يعانون من نقصان في تركيز النطف (Nelson & Bunge , 1957) .

تسيطر الجينات الموجودة على الكروموسوم Y على عملية نشأة النطفة ، حيث تقوم ببناء البروتينات الضرورية لمراحل هذه العملية فيعد جين Chromodomain $Y_1(CDY_1)$ مسؤولاً عن تكوين البروتينات الضرورية لنضح ارومات النطف ، اما الجينان Deleted Azoospermia(DAZ) و RNA binding motif(RBM) فهما مسؤولان عن عملية تمايز سليفة النطف Spermatogonia و تحولها الى خلية نطفية Spermatocyte (Kleiman *et al.* , 2001) . ان حذف او انحراف احد هذه الجينات يؤدي الى اضطراب المرحلة المسؤول عنها ذلك الجين ، فقد يحدث هذا الحذف او الانحراف للجين المسؤول عن الانقسام الخيطي Mitotic division ، حيث ان عدم ثبوتية الانقسام الخيطي يؤدي الى الاضطراب في الانقسام الخلوي (Gazvani *et al.* , 2000a ;Gazvani *et al.*,2000b; Simoni *et al.*,1997) كما ان الخلل الحاصل في الانقسام الانقدادي Meiotic division نتيجة العجز في اقتران الكروماتيدات اثناء هذا الانقسام يقود الى انحدار عملية نشأة النطفة (Yogev *et al.* , 2000b) . اما الطفرة الحاصلة في الجين Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene (CFTR) لبعض مرضى اللانطفية الانسدادية Obstructive azoospermia فتسبب اختزالاً في تركيز الفركتوز الذي تفرزه الحويصلة المنوية و من ثم نقصان حجم القذفة و انخفاض الاس الهيدروجيني(pH) (Von Eckardstein *et al.* , 2000) . كذلك فأن الخلل الحاصل في تنظيم المادة الوراثية داخل الخلية النطفية يجعل DNA اكثر حساسية للمسخ Denaturation الناتج عن انخفاض الاس الهيدروجيني مسببا اختزالا في القابلية الاخصابية للنطف (Spano *et al.* ,2000). لقد اشارت دراسة اخرى الى ان حذف الجينات من الكروموسوم y لمرضى اللانطفية و قلة النطف الحاد ممكن ان ينتقل الى الابناء عند حقن النطفة داخل سايتوبلازم البيضة (ICSI) (Vries *et al.*,2001;Oliva *et al.*,1998) .

1-3: العوامل المؤثرة في حركة النطف

Factors Affecting Sperm Motility

يعد الادينوسين ثلاثي الفوسفات (ATP) مصدر الطاقة لحركة النطف، و عن طريق تحوله الى الادينوسين ثنائي الفوسفات (ADP) تنتج الطاقة التي تنتقل من المتقدرات الى ذيل

النطفة . يقوم انزيم الكرياتين كاينيز Creatinine kinase بفسفرة الكرياتين في المتقدرات و اعادة الفسفرة للـ ADP و تحوله الى ATP في ذيل النطفة حيث تؤكد هذه الالية نقصان نسبة ATP / ADP مع تزايد حركة النطف (Fakih *et al.* , 1986 ; Amelar *et al.*,1980) .

ان حركة النطفة و قابليتها الاخصابية تتطور اثناء مرورها على طول البربخ حيث تلعب افرازات البربخ دورا مهما في تطور حركة النطف (Yeung *et al.* ,1993 ; Morton *et al.* ,1978 ; Cooper & Orgebin-Crist,1975). و ان فشل الظهارة المبطنة للبربخ في تجهيز النطف بالمواد الضرورية التي تدعم حركتها يفسر العجز الحاصل في حركة النطف ، حيث اشارت دراسات عديدة الى وجود علاقة طردية بين فعالية انزيم α-Glucosidase و حركة النطف و النسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية الامامية الجيدة ، و يكون مستوى هذا الانزيم ثابتاً عندما تكون النسبة المئوية للنطف المتحركة اقل من 50% بينما تزداد النسبة المئوية للنطف المتحركة مع ارتفاع مستوى هذا الانزيم و تكون بحدود 60%-70% (Yassa *et al.*,2001; Corrales *et al.* ,2000,Viljoen *et al.* ,1990; Brown,1975) .

ان انعدام حركة النطف قد يعود الى وجود تغييرات في التراكيب الدقيقة لذيل النطف و تشمل هذه التغييرات فقدان كلي او جزئي لذراع الدينين او فقدان احد النبيبات الدقيقة (Ryder *et al.* , 1990) . ان التغييرات الحاصلة في محور السوط وحدها غير كافية لأضعاف حركة النطف بل ترتبط مع حالات الشذوذ في تركيب المتقدرات و ترتيبها . لقد اشارت احدى الدراسات الى ان 50% من المرضى الذين يعانون من وهن النطف مجهول الاسباب يكون سببه غمد المايتوكوندريا غير السوي و 30-50% يعانون من وجود نقص في الغمد الليفي المحيط بالمحور السوطي (Courtade *et al.* , 1971, 1998; Pedersen *et al.*) . و قد اعزيت دراسة اخرى انعدام حركة النطف الى عوامل ولادية Congenital ، فقد لوحظ وجود اختلافات تركيبية واضحة في ذيل النطف غير المتحركة مقارنة بالنطف المتحركة و تدعى بمتلازمة عسر الحركة الهدبي Immotile cilia syndrome (Williamson *et al.* ,1984) .

قد تحتوي قذفة السائل المنوي على نطف ذات تركيب Ultrastructure سوي و لكنها تكون غير متحركة و يرجع السبب الى بقاء النطف لفترة طويلة داخل البربخ ، حيث ظهر ان زيادة فترة خزن النطف في البربخ يؤدي الى نقصان في كل من حركة النطف و قابليتها الحيوية (Wilton *et al.* , 1988) و الذي يحدث نتيجة للعوامل غير الملائمة التي تتعرض لها النطف اثناء مرورها أو خزنها في البربخ كأرتفاع درجة حرارة كيس الصفن التي تؤثر على ذيل البربخ بصورة كبيرة ، و تكون هذه التأثيرات رجعية و بتكرار القذف تتحسن حركة النطف حيث تقذف اولا النطف المتحللة الموجودة في الاسهر و البربخ ثم تظهر النطف الفتية التي لم تعان خزناً داخل البربخ و من ثم تكون سرعتها افضل (Mallidis *et al.* , 2000) و بالمقابل فأن تكرار القذف يؤدي الى انخفاض تركيز النطف في القذفة (Mallidis *et al.* , 2000;Levin *et al.* , 1986) .

تفرز كل من الحويصلات المنوية و البروستات بروتينات سكرية تعرف بالفايبرونكتين Fibronectine (FN) التي ترتبط برأس النطفة و تلعب دورا في التصاق النطفة بالبويضة. ان وجود الالتهابات في القناة التناسلية الذكرية يسبب زيادة في انتاج الفايبرونكتين مؤدياً الى اختزال حركة النطف ، حيث وجد ان تركيز الفايبرونكتين بالأشخاص العقيمين يصل الى 0.8-1000 مايكروغرام /مل (Wennemuth *et al.* , 1997) . يرافق الحالات الالتهابية في القناة التناسلية وجود كريات الدم البيض الا ان النتيجة الموجبة لوجود الجراثيم الممرضة في السائل المنوي لا يمكن اعتمادها الا بالنتيجة الموجبة للزرع المختبري(Trum *et al.* , 1998)، فقد لوحظ ان التهاب البروستات Prostitis الناتج عن الاصابة بالـ *Chlamydia* و *Ureaplasma* يؤدي الى حدوث خلل في الوظيفة الافرازية للبروستات فيقل تركيز الزنك المفرز و يقل الاس الهيدروجيني للسائل المنوي كما يزداد تركيز كريات الدم البيض . كما لوحظ ان المستوى العالي لكريات الدم البيض في السائل المنوي يسبب انخفاضاً معنوياً في تركيز النطف و

النسبة المئوية للنطف المتحركة و اختزال حجم القذفة (Wolf *et al.* ,1980 ;Caldamon *et al.* ,1990) و ذلك من خلال انتاج الكريات البيض لكميات كبيرة من ROS استجابة للسموم الداخلية Endotoxine للبكتريا و المتمثلة بمتعدد السكريات الدهنية Lipopolysaccharide (Urata *et al.* ,2001) . ان انتاج اوكسيد النتريك Nitric oxide (NO) من قبل الخلايا البلعمية Macrophages يسبب اختزالاً في حركة النطف (Perera *et al.* ,1996) و يتأيض NO الى Nitrite الا ان وجود الاخير في البلازما المنوية لا يعد مؤشرا على تكوّن NO داخل الجسم (Revelli *et al.* , 2001) . اما انتاج الجذور الحرة و منها الهيدروكسيل Hydroxyl و بيروكسيد الهيدروجين Hydrogen peroxide فتكون مسؤولة عن فقدان حركة النطف ، و يوفر السائل المنوي طرق حماية تعود الى الجزيئات ذات الاوزان الجزيئية العالية و الواطئة الموجودة فيه التي تعرف بمضادات الاكسدة Antioxidants (Pasqualotto *et al.* ,2000 ; Kovalski *et al.* , 1992) ، الا ان المستوى العالي من ROS يسبب اختزالاً معنوياً في Ascorbate وهو من مضادات الاكسدة الرئيسية التي تمنح السائل المنوي حماية ضد الجذور الحرة . ومن مضادات الاكسدة الاخرى هي Thiols و Urates وGalactase و Glutathione وSuperOxideDimutase(SOD) وPeroxidase (Momen *et al.* , 1999 ; Ermilov *et al.* , 1999 ; Lewis *et al.* , 1997).

يعد الفركتوز الذي تفرزه الحويصلات المنوية مصدرا رئيساً للطاقة في الظروف اللاهوائية ، أذ لوحظ انخفاض تركيز الفركتوز في عينات السائل المنوي ذات التركيز الطبيعي للنطف و ذلك بسبب استخدام الفركتوز في ايض الخلايا و تحرير الطاقة اللازمة للحركة (Biswas *et al.* , 1978) . كما تفرز الحويصلات المنوية مستضدات Antigens لتمنع الاستجابة المناعية ضد النطف ، و في حالة حدوث خمج الحويصلات المنوية Vesiculitis يقل افرازها لتلك المستضدات مؤديا الى تكوين الاضداد النطفية Antisperm antibodies (Gonzales *et al.* , 1992) و هناك اسباب اخرى كثيرة تؤدي الى ظهور الاضداد النطفية في السائل المنوي التي بدورها تسبب اختزال حركة النطف ، فقد لوحظ إن خمج الاحليل Urethritis نتيجة الاصابة بالبكتريا الكروية الثنائية *Neisseria gonorrhoea* تسبب ظهور الاضداد النطفية في السائل المنوي لهؤلاء المرضى (Shahmanesh *et al.* , 1986) ، بالأضافة الى ان ركود الدم الوريدي و فرط الحرارة الموضعية لمرضى القيلة الدوالية يؤدي الى تحطم الحواجز الدموية - الخصوية و تكوين الاضداد النطفية (Hass&Beer , 1986 ; Golomb *et al.* ,1986) . ان الاضداد النطفية الموجودة في المصل و/او البلازما المنوية تتداخل مع قدرة النطف في قابليتها على عبور القناة التناسلية الانثوية و ذلك بسبب تلازن النطف و شل حركتها (Wang *et al.* , 1985 ; Parslow *et al.* , 1985 ; Mathur *et al.* ,1984) ، كما تعمل على تثبيط ارتباط النطف البشرية بالبيوض و من ثم انخفاض نسبة اختراق النطف للبيوض وقد يعود السبب في ذلك الى احتلال الاضداد النطفية لمواقع التمييز Recognition sites الموجودة على رأس النطفة التي عن طريقها ترتبط النطفة بالبيضة (Shibahara *et al.* , 1993 ; Tsukui *et al.* , 1986 ; Abdel-Latif *et al.* , 1986) كما تحتوي سطوح كثير من نطف اللبائن على بروتين يعرف بالاكتين Actin و بلمرة هذا البروتين تعد ضرورية لتفاعل الجسيم الطرفي Acrosome reaction فقد لوحظ ان وجود Anti-actin monoclonal antibody في السائل المنوي يقلل و بشكل معنوي النسبة المئوية للنشاط المفرط دون التأثير في النسبة المئوية للنطف المتحركة كما يثبط تفاعل الجسيم الطرفي (Liu *et al.* , 2002) .

كما ان اصابة الذكور بفايروس العوزالمناعي Human immunodeficiency virus(HIV) الذي يعرف بمرض الايدز تسبب انخفاضاً معنوياً في حركة النطف و زيادة لزوجة السائل المنوي (Grittenden *et al.* , 1992) . ان وجود كريات الدم البيض في السائل المنوي يؤثر سلبا في النسبة المئوية لأختراق النطف ، حيث لوحظ وجود علاقة عكسية بين تركيز كريات الدم البيض و نسبة الاختراق و يرجع السبب في ذلك الى ان

كريات الدم البيض تفرز مواد سامة Toxic substances التي تقلل من قابلية النطف على اختراق البويضات (Berger *et al.* , 1982) .

تلعب القناة التناسلية الانثوية دورا واضحا في خزن و نقل خلايا النطف ، وقد اشارت احدى الدراسات الى ان تحضين النطف في الزجاج مع مخاط عنق الرحم يزيد من حركة النطف (Eriksen *et al.* , 1998 ; Overstreet *et al.* , 1980 a) . و تعمل قناة البيض البشرية على تنشيط حركة النطف من خلال افرازها لسلسلة ببتيدية من اللايسين و الارجنين تعرف بالعامل S (Yao *et al.* , 2000 a) .

هنالك العديد من المركبات و المواد الطبيعية و الصنعية التي تؤثر في حركة النطف و نستعرض منها ما يلي :-

1-3-1 : المعادن

تكتسب النطفة قابليتها على الحركة اثناء مرورها على طول البربخ و خاصة في منطقة ذيل البربخ ، حيث لوحظ وجود علاقة طردية بين حركة النطف و تركيز الكالسيوم الحر و المحيط بالنطف في ذيل البربخ (Morton *et al.* , 1978) . و في الوقت الذي تعمل فيه قنوات الجهاز التناسلي الذكري على خزن و نقل النطف فان عمل الغدد الجنسية الملحقة هو افراز السائل المنوي . و تشمل هذه الغدد الحويصلات المنوية و غدة البروستات و غدة كوبر . و يشكل افراز كل من الحويصلات المنوية و البروستات حوالي 73-93% من حجم السائل المنوي المفرز الذي يلعب دورا مهما في تغذية و حركة النطف . و يكون السائل المنوي غنيا بعدد من الايونات مثل الكالسيوم الذي يعمل على تنظيم وظائف النطف الا ان التراكيز العالية منه تؤدي الى تثبيط حركة النطف (Abou-Shakra *et al.* , 1989) . اما بالنسبة لأيون البوتاسيوم K^+ فقد اشارت دراسات الى ان حضن النطف في وسط غذائي حاوي على البوتاسيوم قد ادى الى زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة (Robler *et al.* , 1988) . كما ان وجود الزنك في السائل المنوي يعد ضروريا للنطف السوية وظيفيا ، الا ان المستوى العالي من هذا الايون يسبب نقصان حركة النطف ، وقد لوحظ ارتفاع مستوى الزنك في السائل المنوي للأشخاص المصابين بقلة ووهن النطف مقارنة بالأشخاص المصابين بقلة النطف فقط ، حيث يرتبط مستوى الزنك بعلاقة طردية مع كثافة النطف و علاقة عكسية مع النطف ذات الحركة السوية (Carreras & Mendoza , 1990) ، و الزنك بهيئة سترات الزنك هو الذي يؤثر في حركة النطف و فعالية البلازما المنوية المضادة للبكتريا (Marmar *et al.* , 1975) . و اظهرت نتائج دراسة اخرى بأن هنالك علاقة معنوية بين مستوى الزنك و الحالات الالتهابية ، اذ لوحظ ان مني الاشخاص الحاوي على 10-20 مليون كرية بيضاء قد قابله انخفاض في مستوى الزنك الى 11.8 ملغم /100 مل (Caldamon *et al.* , 1980) . كما لوحظ ان حضن النطف البشرية مع 1 او 3 ملي مولاري/لتر من الزنك لمدة 30 دقيقة سبب انخفاضاً معنوياً في انتاج ROS و يعود السبب في دور الزنك في اعادة ترتيب دهون الغشاء المتأكسدة و بذلك يقل معدل تأكسد دهون الغشاء (Gavella & Lipovac,1998) . كما يعمل كل من المغنيسيوم و الكروم على زيادة حركة النطف و قابليتها الاخصابية (Abou-Shakra *et al.* , 1989) .

يسبب التعرض للرصاص اختزالاً في كثافة النطف ، و حيوية النطف و النسبة المئوية للحركة كما يؤثر في الوظيفة الافرازية للبروستات (الزنك ، انزيم الفوسفوتيز ، حامض الستريك في السائل المنوي) . اما التعرض للكادميوم فيكون مسؤولا عن الاختزال الحاصل في حركة النطف و النسبة المئوية لأشكال النطف السوية وزيادة مستوى هرمون الشحمون الخصوي (Telisman *et al.* , 2000) .

يعد السيلينيوم مقياسا مهما لتقدير الخصوبة عند الرجال الذين يعانون من قلة ووهن النطف ، حيث اشارت احدى الدراسات الى وجود علاقة معنوية بين عدد النطف و حركتها و تركيز السيلينيوم حيث تكون حركة النطف ضعيفة عندما يكون تركيز السيلينيوم 35 نانوكرام/مل بينما تزداد حركة النطف عندما يكون تركيز السيلينيوم 60-69 نانوكرام /مل ، كما يرافق انخفاض مستوى السيلينيوم اختزال في بروتين السيلينيوم Selenium protein الموجود في سوط الخلية النطفية و من ثم نقصان في حركة النطف و انخفاض معدل الحمل . و لوحظ ان تجهيز الاشخاص غير الخصبين بالسيلينيوم و بجرعة 100 مايكروغرام سبب ارتفاع مستوى السيلينيوم في الدم و تحسناً معنوياً في حركة النطف (Scoti *et al.* , 1997 ; Bleau *et al.* , 1984) .

1-3-2 :السائل الجريبي البشري

يحتوي السائل الجريبي على العديد من الستيرويدات التي تؤثر في حركة النطف و تشمل الاستروجين و (E_2) estradiol β-17 و هرمون الشحمون الخصوي و البروجسترون (Frachimont *et al.* , 1989) . وجد ان استعمال السائل الجريبي كوسط لتنشيط النطف قد سبب زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف (Al-Hady,1999 a)كما سبب انخفاضاً في النسبة السالبة لأختبار اختراق النطف Sperm Penetration assay (McClure *et al.*,1990;Blumenfeld & Nahhas,1989;Yee& Cummings, 1988) و ذلك لأنه يعمل على زيادة النسبة المئوية للنطف الممكنة (Yao *et al.*,2000b) و قد اشارت احدى الدراسات الى حدوث زيادة معنوية في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف و تفاعل الجسيم الطرفي بعد حضن النطف البشرية لمدة 6 ساعات مع السائل الجريبي البشري او مزارع الخلية الحبيبية Granulosa cell culture مقارنة مع الحضن بوسط هام اف -Ham's F-10 10 او السائل القنوي البشري Human tubal fluid (Fabbri *et al.* , 1998) . كما اشارت دراسة اخرى الى ان تعريض النطف الى السائل الجريبي البشري او المصل الانثوي يؤدي الى زيادة نشاط النطف بعد ساعة واحدة و ذلك عند تحضين النطف في وسط زرعي قياسي Balanced Salt Culture (BSC) لمدة ثلاث ساعات قبل اضافة السائل الجريبي او المصل الانثوي مقارنة مع مجموعة السيطرة (Kulin *et al.* , 1994) .

1-3-3 : النيكوتين و الكافائين و الكحول

يمكن للوظائف التناسلية الذكرية ان تتأثر بالتعرض المزمن الى المركبات ذات النشاط الحياتي التي بأمكانها اختراق الحواجز الدموية – الخصوية وخاصة بعد الامتصاص الجهازي لهذه المركبات . و تشمل هذه المركبات الكافائين و النيكوتين و الكحول حيث يعمل النيكوتين على تقليل حجم القذفة و يرجع السبب الى تداخل فعل النيكوتين مع عمل الجهاز السمبثاوي (Marshburn *et al.* , 1989) . اما دكشت و جماعته (Dikshit *et al.* , 1987) فقد اشاروا الى ان النقص في حجم الدفق و كثافة النطف كان غير معنوي في الاشخاص المدخنين او الذين يمضغون التبغ .

يؤثر التدخين بصورة مباشرة او غير مباشرة على معالم النطف فيسبب انخفاضاً معنوياً في حركة النطف و عدد النطف السوية من خلال خفض مستوى هرمون الشحمون الخصوي لحدوث خلل في عمل خلايا ليدك و بالتالي ينشأ خلل في عملية نشأة النطفة او قد تتأثر عملية نشأة النطفة بشكل مباشر عن طريق تاثير النيكوتين في انسجة الخصية ، كما يعمل التدخين على احداث تلف وراثي Genetic damage لنطف المدخنين الذي يحتمل ان ينتقل من الاباء المدخنين الى ابنائهم (Zavos

في حين (*et al.* , 1999 ; Rubes *et al.* , 1998 ; Shaarawy & Mahmoud , 1982) لوحظ عدم وجود علاقة بين التدخين و مستوى كل من الهرمونين LH و FSH عند المدخنين (Vogt *et al.* , 1986) . اشار كليبر و بروفرمان (Klaiber & Broverman , 1988) الى ان التدخين يزيد من تحول هرمون الشحمون الخصوي الى الاستراديول E_2 مسبباً انخفاضاً في مستوى الهرمون الشحمون الخصوي و ارتفاع في مستوى الاستراديول الذي بدوره يؤدي الى انخفاض معنوي في عدد النطف (Zavos *et al.* ,1998) . في حين ذكر ونك و جماعته (Wong *et al.* , 2000a) بأن دخان السكائر يؤثر في نضج و تطور النطف دون التأثير في عدد النطف و حركتها .

ان تعريض النطف البشرية للكافائين بتركيز 6 ملي مول يؤدي الى زيادة معنوية في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف (Harrison , 1978 ; Schoenfeld *et al.* , 1975 ; Schoenfeld *et al.*, 1973) . و قد اظهرت نتائج احدى الدراسات ان مدى تحفيز الكافائين للنسبة المئوية للحركة يكون متبايناً وقد يعود السبب في ذلك الى الكميات المختلفة من مصادر الكاربون ذات المنشأ الداخلي Endogenous المتبقية في النطف المغسولة (Haesungcharen & Chulavatnatol , 1973) وسبب اضافة 7.2 ملي مولاري من الكافائين الى النطف البشرية زيادة في النسبة المئوية للنطف المتحركة من 40% الى 80% للعينات المجمدة لمدة ثلاثين يوما (Barkay *et al.* , 1977) . و اشارت دراسة اخرى الى ان اضافة التراكيز المختلفة من الكافائين (10،5،2) ملي مولاري الى النطف المجمدة بعد اذابتها سبب زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة دون التأثير على نوعية الحركة كما سبب زيادة في عدد النطف المخترقة لمخاط عنق الرحم في وحدة الزمن (Aitken *et al.* , 1983) . كما لوحظ ان تناول القهوة يسبب زيادة كل من كثافة النطف و النسبة المئوية للنطف غير السوية (Marshburn *et al.* ,1989) .

اما فيما يخص الكحول ، فقد اشارت احدى الدراسات الى ان تناول الكحول لا يؤثر في معالم النطف في السائل المنوي (Marshbrun *et al.* , 1989) . بينما اوضحت نتائج دراسة اخرى ان حضن النطف البشرية في الزجاج مع الايثانول بتراكيز مكافئة لما موجود في مصل المدمنين على تناول كميات متوسطة Moderate و كميات كبيرة Heavy من الكحول سبب اختزالاً معنوياً في عدد النطف ذات الحركة التقدمية و النسبة السوية لأشكال النطف و قد يعود التأثير الضار للكحول الى تأثيره في تركيب المحور لذيل النطفة و الضروري لحركتها (Donnelly *et al.* , 1999) .

1-3-4 : الموثينات وعوامل اخرى .

تحتوي سطوح النطف البشرية على مستقبلات خاصة للموثينات Prostaglandins التي تلعب دورا مهما في انتقال النطف خلال القناة التناسلية الانثوية من خلال تأثيرها المباشرفي القناة التناسلية الانثوية او من خلال فعاليتها التحفيزية على حركة النطف (Mercado *et al.* , 1977) . كما يعتقد ان للموثينات دوراً في السيطرة على مرور النطف خلال البربخ و الاسهر ، و قد اشارت دراسات عديدة الى ان افراز الموثينات يكون واقعاً تحت سيطرة الاندروجينات (Badr *et al.* , 1975 ; Barcikowski *et al.* , 1973) . يحتوي السائل المنوي على انواع عديدة من الموثينات و تقدر نسبتها بـ 35 ملغم /مل من القذفة ، و قد وجدت علاقة وثيقة بين كمية الموثينات الموجودة و الخصوبة ، حيث تعمل PGF و PGE كمنظمات لحركة النطف ، فقد لوحظ انخفاض مستوى النوع الاول و ارتفاع مستوى النوع الثاني في القذفة التي تكون فيها حركة النطف طبيعية مقارنة مع النطف ذات الحركة غير الطبيعية . كما يرتبط تركيز هذه الموثينات بعلاقة عكسية مع تركيز النطف في السائل المنوي (Gottlieb *et al.* , 1988 ; Bendvold *et al.* ,1984 ; Kelly *et al.* , 1979) .

يعد PGE_1 عامل تمكين Capacitating factor عند اضافته بتركيز 10^{-9} مولاري الى المستنبت المستخدم لتنشيط نطف الفئران ، حيث يعمل على تحفيز تفاعل الجسم الطرفي و زيادة معدل اختراق النطف للبيوض الذي يعد مؤشرا في زيادة القابلية الاخصابية للنطف (Herrero *et al.* ,1997; Viggiano *et al.* , 1995) . بينما اشار اخرون الى ان الزيادة الحاصلة في معدل اختراق النطف للبيوض نتيجة تعرض النطف لتركيز 3.3-8.4 مايكروغرام/مل من PGE_1 او اكثر من 8.4 مايكروغرام/مل من PGE_2 (Aitken & Kelly , 1985) ، يلاحظ مما تقدم ان لوجود الموثينات في البلازما المنوي الاثر الكبير على الخصوبة عند الذكور ، و يتضح ذلك من وجود انخفاض معنوي في مستوى PGE عند الرجال غير الخصبين عند مقارنتهم مع الخصبين (Bygdeman *et al.* , 1970) . ان تناول جرع عالية من الاسبرين Asprin و المتمثلة بـ 7.2 غم /يوم و لمدة ثلاثة ايام تعمل على ايقاف بناء الموثينات تماما (Horton *et al.* , 1973) .

يحتوي السائل المنوي على الهرمون المرخي Relaxin و هو عبارة عن متعدد الببتيدات و يكون تركيزه حوالي 50 نانوغرام /مل (Colon *et al.* , 1986) . يعمل الهرمون المرخي على تنشيط حركة النطف المجمدة عند استعماله بتركيز 16.7 ملي مول (Lessing *et al.* , 1985) و اشارت دراسة اخرى الى ان اضافة الموثين E_2 و LH معا لا يؤثر في حركة النطف و ذلك بسبب عمل التضاد الذي يظهره كل منهما حيال الاخر (Colon *et al.* , 1986) . كما ان استخدام الوسط الدافق لقناة البيض الذي يحوي في مكوناته هرموني LH و FSH يؤدي الى تنشيط نطف المرضى المصابين بقلة ووهن النطف (Al-Dujaily *et al.* , 1999) .

يشترك الهرمون الدرقي في تمايز و نمو الكثير من الاعضاء الجنسية فأنخفاض الهرمون الدرقي قبل البلوغ يسبب عدم الخصوبة عند الرجال ، اما بعد البلوغ فأن الخلل في وظيفة الهرمون الدرقي Thyroid dysfunction لا يعد سببا للعقم اذا لم يكن المريض يعاني من مرض اخر يؤدي الى العقم . ان التهاب الدرقية Thyroiditis يسبب ظهور مستوى عالي من اضداد الهرمون الدرقي Thyroid antibody الذي ينتج عنه نقص الدرقية Hypothyroidism ، اذ لوحظ وجود علاقة معنوية بين المستوى العالي لهذه الاضداد ووهن النطف (Trummer *et al.* , 2001) .

يلعب العامل المنشط للصفيحات الدموية Platelet activating factor (PAF) و هو احد انواع الدهون المفسفرة دورا مهما في حركة النطف ، حيث توجد مستقبلات خاصة لهذا المركب على سطح النطف و تتركز هذه المستقبلات في القطعة الوسطية و الرأس الطرفي Proximal head وقد لوحظ وجود فروق معنوية في مواقع استقبال PAF لمنطقة العنق بين الشكل السوي و غير السوي للنطف ، و لم تلاحظ أي فروق معنوية في مناطق الاستقبال الاخرى ، كما ان مناطق استقبال PAF في الحامض النووي الرسولي mRNA في النطف غير السوية اكثر من النطف السوية و تعزى هذه الاختلافات الى وجود خلل في الجين المسؤول عن الاستنساخ (Roudebush *et al.* , 2000 ;Reinhardt *et al.* , 1999) . لقد اشار ريكر و جماعته (Ricker *et al.* , 1989) الى ان اضافة PAF بتركيز 10^{-13} - 10^{-7} مولاري يزيد من حركة النطف ، بينما يؤدي التركيز المساوي أو الاعلى من 10^{-5} مولاري الى موت النطف ، و لم يلاحظ أي تغير في الحركة عند معاملة النطف بالشكل غير الفعال من PAF . بينما ذكر اخرون بأن هناك علاقة طردية بين تركيز PAF في النطف و كل من تركيز النطف و حركتها ، و سجلت نسبة حمل عالية لدى زوجات مرضى العقم الذين لديهم ارتفاع ملحوظ في نسبة PAF في نطفهم مقارنة مع مرضى العقم الذين يكون لديهم نقص في تركيز PAF (Roudebush & Pumell , 2000) .

يعد التعرض الى المركبات الهيدروكربونية السامة عاملا مهما في تقليل حركة النطف التي قد تعمل على تغيير بعض الصفات الكيمياوية للسائل المنوي مؤدية الى زيادة لزوجة السائل المنوي و من ثم تقليل حركة النطف . و قد تتداخل هذه المركبات مع ميكانيكية حركة الاسواط فتكون مسؤولة عن تجمع النطف مع المادة المخاطية بشمل تجمعات غير منتظمة مما يعمل على تقليل حركة النطف (Celis *et al.* , 2000) .

1-3-5: الادويـــــة

يستعمل البروموكربتين Bromocriptine المهبلي في علاج حالات فرط هرمون الحليب Hyperprolactinemia ، وقد لوحظ ان هذا العلاج لا يؤثر في فحص ما بعد الجماع و عملية الاخصاب الطبيعية في الحي الا ان اضافة هذا الدواء الى النطف في الزجاج بتركيز 10^{-3} مايكروغرام يسبب اختزالا في حركة النطف و سرعتها (Chenette *et al.* , 1988) . كما يعد استخدام اليود الحر مهبليا و بتركيز2-5 ppm وسيلة للقضاء على المايكروبات و الفايروسات و ان فترة بقاء اليود حرا قصيرة لأنه سرعان ما يتحول الى يود غير عضوي بوساطة المواد المختزلة الموجودة في المهبل حيث يتأكسد الى حالات تأكسد عالية مثل IO^- و I_2O_2 و IO_3^- مسببة جهداً تأكسدياً عالياً و الذي يكون مسؤولا عن فقدان النطف لحيويتها و حركتها بعد فترة قصيرة من الجماع (Green *et al.* , 2001) .

اما المضادات الحياتية Antibiotics المستخدمة في علاج المرضى الذين يعانون من الاصابة بالبكتيريا *Ureplasma urealyticum* و *Mycoplasma* فينتج عنها تحسن في خصوبة هؤلاء المرضى (Toth & Lesser , 1982) ، اما اضافة المضادات الحياتية مثل البنسلين Pencilline و الستربتومايسين Streptomycine الى الاوساط الزرعية المختلفة المستخدمة في الأغراض المختبرية فأنها تسبب اختزالاً معنوياً في نسبة الاحياء المجهرية الملوثة (Cottell *et al.* , 1997) . و ان لبعض المضادات الحياتية الاثر الواضح في وظائف النطف في الزجاج ، فقد اظهرت نتائج احدى الدراسات ان Ofloxacin يعمل على زيادة القابلية الاخصابية للنطف اما Ciproflaxin فأنه يؤثر سلبا في النشاط المفرط للنطف من خلال تغيير خصائص الغشاء البلازمي بينما يثبط Doxycyline عملية التمكين Capacitation ، اما انقطاع حركة النطف بوجود Cefuroxime axetil فله علاقة بتمزق اغشية رأس النطفة ، ويسبب Nitrofurantoin اختزالاً في حركة النطف و قابليتها الاخصابية من خلال نقصان التأيض (King *et al.* , 1997) . كما لوحظ ان استخدام Cyclosporin A و Prednisolone بجرعة 5-10 ملغم/كغم /يوم و 15 ملغم /يوم علي التوالي و لمدة ستة اشهر لعلاج مرضى العقم المناعي قد سبب انخفاضاً في مستوى الاضداد في السائل المنوي و المصل و حدوث تحسن ملحوظ في تركيز النطف و النسبة المئوية للنطف المتحركة (Hendry *et al.* , 1986 ; Bouloux *et al.* , 1986) .

ان البنتوكسيفايلين Pentoxifylline عبارة عن مثيل زانثين يستعمل لزيادة حركة النطف البشرية في عمليات الاخصاب بالزجاج ، حيث لوحظ ان حضن النطف البشرية مع البنتوكسيفايلين يؤدي الى حدوث زيادة في نسبة النطف ذات الحركة التقدمية و النسبة المئوية للنطف المتحركة و عدد النطف المخترقة لمخاط عنق رحم الابقار كما سبب زيادة معنوية في ارتباط النطف مع النطاق الشفاف و حدوث تفاعل الجسيم الطرفي (Nassar *et al.*,1999a;Nassar *et al.*,1999b ;Nassar *et al.*,1998; Yovich *et al.*,1990) .

ان اضافة البنتوكسيفايلين في الزجاج لنطف الاشخاص الخصبين Normospermia و المصابين بوهن النطف لم يسبب زيادة في كل من السرعة الخطية المستقيمة Striaght line velocity و السرعة الخطية Linearity (Pang *et al.* , 1993) ، بينما اشارت دراسة اخرى الى ان البنتوكسيفايلين يعمل على زيادة السرعة الخطية المنحنية (Lewis *et al.* , 1993) .

1-3-6: التجميد بالنتروجين السائل

ان المشكلة الرئيسة للنطف المجمدة هي اعادة حركتها بعد الاذابة ، حيث تؤثر عملية التجميد و الاذابة Freezing and thawing سلبا في الغشاء البلازمي للنطف و خاصة في منطقة

الرأس اذ ينتفخ الغشاء و يتحطم الجسيم الطرفي و يعود السبب الى تلف وظيفة الغشاء البلازمي و التلف الاوزموزي و هذا يفسر الخصوبة الواطئة للسائل المنوي المجمد مقارنة مع السائل المنوي الطازج (Mahadevan & Trounson , 1984) ، و ان اضافة البروجسترون او Acetyl - L-carnitine الى نطف المرضى المصابين بقلة ووهن و تشوة النطف الى النطف قبل تجميدها لم يؤد الى تفادي حصول التغايرات في اغشية النطف او تحسن حركتها بعد التجميد (Duru *et al.* , 2000) . و قد لوحظ ان انتقاء النطف ذات الحركة الافضل و سليمة المادة الوراثية من خلال تحضير النطف بطريقة السباحة الى اللاعلى Swim-up ثم اضافة البلازما المنوية و تجميدها هي الطريقة الامثل لحفظ النطف مقارنة مع تحضيرالنطف و تجميدها بدون اضافة البلازما المنوية و يعود السبب الى احتواء البلازما المنوية على مضادات الاكسدة التي تعمل على حماية النطف (Donnely *et al.* , 2001) .

1-4: التمكين وتفاعل الجسيم الطرفي

Capacitation and acrosome reaction

يحدث التمكين اثناء مرور النطف خلال القناة التناسلية الانثوية و تتضمن هذه العملية بعض التحورات الوظيفية و البايوكيميائية للخلايا النطفية التي تسبب زيادة في معدل حركة النطف الضرورية لعبور طبقات البويضة و حدوث تفاعل الجسيم الطرفي و بالتالي الاخصاب (Baldi *et al.* , 1999 a) ، اذ يعد كل من بقاء و انتقال النطف في القناة التناسلية الانثوية و قدرتها على اختراق اغشية البويضات و قدرتها على الاندماج مع هيولي البويضة Ooplasm من العوامل التي ترتبط بقوة مع القابلية الاخصابية لتلك النطف (Overstreet *et al.* , 1980 b). اذ لا تتحد النطف بالبيوض الا بعد اختراقها عددا من الطبقات الخلوية التي تحيط بالبيوض . و تشمل هذه الطبقات من الخارج الى الداخل : المتراكم الخلوي Cumulus oophorous ، و التاج الشعاعي Corona radiata ، و النطاق الشفاف Zona pellucida و الغشاء المحي Vitelline membrane . تتكون منطقة المتراكم الخلوي و الغشاء المحي من طبقة من خلايا حبيبية Granulosa . بينما تحتوي منطقة النطاق الشفاف على البروتينات السكرية Glycoprotein و لكي تخترق النطفة هذه الاغشية فأنها تستعين بحركتها التقدمية و انزيماتها الحالة (Zaneveld *et al.* , 1991) .

تستغرق عملية مرور النطف خلال القناة التناسلية الانثوية مدة قصيرة 15-30 دقيقة و تحتاج عملية التمكين الى فترة اطول 3-4 ساعة ، و تنتهي عملية التمكين بعد اختراق النطفة المخصبة الى المتراكم الخلوي و هذه الميكيانيكية ذات فائدة كبيرة من حيث عدم استجابة النطف المخصبة الى العوامل المحثة لتفاعل الجسيم الطرفي الا بعد وصول النطفة المخصبة الى منطقة النطاق الشفاف و بذلك حدث منع طبيعي لحصول تفاعل جسيم طرفي قبل اوانه (Zaneveld & Jonge , 1991) . و بذلك يعد التمكين المفتاح اللازم لأبتداء عملية الاخصاب ، وليس بأمكان النطف غير الممكنة اخصاب البيوض مطلقا (Quanzhong *et al.* , 1996) .

و تشمل عملية التمكين في اللبائن الخطوات التالية :

1- ازالة العوامل المانعة للتمكين Decapacitation factors

يحتوي سطح النطف على بعض العوامل الكيمياوية المثبطة لعملية التمكين و هي عبارة عن بروتينات سكرية ذات وزن جزيئي عالٍ تمتصها النطف اثناء مرورها داخل القناة التناسلية الذكرية قبل حدوث عملية الدفق ، لذا فأن ازالة هذه العوامل تعد خطوة اساسية لحدوث عملية التمكين (Zanveled & Jonge , 1991) .

2- تغير المكونات الدهنية لغشاء النطفة

Change in membrane lipid composition

ان اختزال الكولسترول في الغشاء الخلوي يعد خطوة حاسمة في حدوث التمكين اذ ان انخفاض نسبة الكولسترول مع زيادة الدهون المسفرة يؤدي الى تغيير استقرارية الغشاء و جعله اكثر نفاذية (Hoshi *et al.* , 1990) . و يتم فقد الكولسترول عن طريق بعض الحوامل البروتينية Protein carrier او بعض الانزيمات ، و يحتوي الدم على بعض مستقبلات الكولسترول و منها البروتينات الدهنية Lipoproteins و الالبومين Albumin . و يمكن ان توجد احدى هذه المستقبلات داخل القناة التناسلية الانثوية او قد يعمل مصل الدم Blood serum المضاف الى الاوساط الزرعية في عملية الاخصاب الخارجي كمستقبل للكولسترول و بالتالي تنخفض نسبة الكولسترول في الغشاء الخلوي للنطفة (Zaneveld *et al.* , 1991) .

3- انتقال الايونات Iones transport

تتم السيطرة على عملية انتقال الايونات كايون الكالسيوم و البوتاسيوم و الصوديوم بواسطة انزيمات معينة و تشمل هذه الانزيمات Ca^{+2}-ATPase و Na^{+}-K^{+}-ATPase التي تعمل كمضخات Pumps للأيونات المذكورة (Zaneveld *et al.* , 1991) . و قد اشارت احدى الدراسات الى ان تحرير الكالسيوم الداخلي و زيادة تكوين احادي الفوسفات الحلقي نتيجة اضافة الموثين E الى النطف المغسولة ادى الى زيادة تفاعل الجسيم الطرفي (Herrero *et al.* , 1987 ; Joyce *et al.* , 1997) .

4- زيادة القدرة التنشيطية الحركية للنطف

تعد الزيادة في مستوى الاديتوسين احادي الفوسفات الحلقي cAMP سببا لحركة النطف ذات النشاط المفرط Hyperactivation (Nassar *et al.* , 1999 a) . ويمكن تسريع عملية التمكين بوساطة عدد من السوائل الحياتية و من المعروف ان تعريض النطف البشرية للسائل الجريبي البشري في الزجاج يحفز حدوث عملية التمكين (Yao *et al.* , 2000 b) .

تعاني نطف اللبائن عملية تفاعل الجسيم الطرفي Acrosome reaction قبل حدوث الاخصاب ، و تتضمن هذه العملية التحام الغشاء الخارجي للجسيم الطرفي مع الغشاء البلازمي ، التحوصل Vesiculation و اختفاء الاغشية الملتحمة و اخيرا افراز الانزيمات من الجسيم الطرفي التي تعمل على الاغشية المحيطة بالبيضة (Zaneveld & Jonge , 1991) و من اهم تلك الانزيمات هي :-

1- انزيم الهاليروندیز Hyaluronidase

يساعد هذا الانزيم النطف على اختراق المتراكم الخلوي و المتكون من بوليمرات حامض الهايلرونك Hyaluronic acid (Anderson , 1977) ، حيث يمثل المتراكم الخلوي حاجزاً يمنع دخول النطف الى البيوض . لقد لوحظ ان استخدام الهاليروندیز في ازالة المتراكم الخلوي للبيوض المسترجعة ادى الى ارتفاع معدل الاخصاب مقارنة مع البيوض غير المعاملة بالهاليروندیز الذي كان 55% و 31% على التوالي (Lavy *et al.* , 1988) .

2- انزيم اختراق طبقة التاج الشعاعي Corona penetrating enzyme

يساعد هذا الانزيم النطف على اختراق منطقة التاج الشعاعي .

3- انزيم الاكروسين Acrosin enzyme

يفرز هذا الانزيم عند اختراق النطف للنطاق الشفاف حيث يعمل على تحطيم اصرة الارجنين-لايسين (Zaneveld & Jonge , 1991) ، و يتواجد بهيئة غير فعالة داخل النطف تدعى سلف الاكروسين Proacrosin الذي يتكون من سلسلة مفردة متعددة الببتيد و يتحول الى الهيئة الفعالة خلال عملية تمكين النطف (Parrish & Polakoski , 1979) .

4- انزيم نيورامنديز Neuraminidase

يساعد هذا الانزيم النطف على اختراقها للنطاق الشفاف (Hogarth, 1978). ان النطف غير السوية غير قادرة على الارتباط مع النطاق الشفاف و من ثم اختراقه . تعد قابلية النطف على الارتباط بالنطاق الشفاف مؤشرا على القابلية الاخصابية لتلك النطف (Yogev *et al.*

Mannose binding ، اذ تمتلك رؤوس النطف مستقبلات للنطاق الشفاف تسمى (, 2000 a sites و يرتبط وجود تلك المستقبلات بعلاقة موجبة مع الشكل السوي للنطف (Youssef *et al.* , 1996) . تحتوي منطقة النطاق الشفاف على عوامل منشطة لتفاعل الجسيم الطرفي و منها Zp_3 ، اذ لوحظ ان حضن النطف مع النطاق الشفاف يؤدي الى تنشيط تفاعل الجسيم الطرفي ، و ذلك عن طريق تنشيط البروتين كاينيز Protein kinase نتيجة تنشيط احادي الفوسفات الحلقي (Bielfeld *et al.* , 1994) . و هناك العديد من المواد التي تستخدم محفزات في تفاعل الجسيم الطرفي و منها السائل الجريبي البشري ، فبالأضافة الى دوره في تحفيز حركة النطف الممكنة فأنه يعمل على تحسين قابلية اختراقها لبيوض الهامستر من خلال تحفيز تفاعل الجسيم الطرفي (Fabbri *et al.* , 1998 ; McClure *et al.* , 1989 , Calvo *et al.* , 1990) . اذ لوحظ ان حضن النطف المغسولة مع السائل الجريبي البشري بدلا من الوسط هام اف – 10 و استخدامها في التقنية الساندة للتلقيح داخل جوف الرحم اعطى معدل حمل عالي بينما كان معدل الحمل اقل باستخدام الوسط هام اف –10 (Blumenfeld & Nahhas , 1989) . و قد اشارت احدى الدراسات الحديثة الى ان هرمون Angiotensin II (وهو احد مكونات السائل الجريبي) لوحده قادر على تحفيز تفاعل الجسيم الطرفي لنطف الخيول الممكنة (Sabeur *et al.* , 2000). كما إن لوجود البروجسترون في المتراكم الخلوي دورا مهما في وظائف النطف المختلفة و المتمثلة بالحركة ، و التمكين و تفاعل الجسيم الطرفي و يكون هذا التأثير عبر ارتباط البروجسترون بمستقبلاته الموجودة على سطح النطف (Baldi *et al.* ,1999 b) مؤديا الى زيادة القابلية الاخصابية للنطف (Forti *et al.* ,1999) . بالأضافة الى ذلك فأن معاملة النطف بالبنتوكسيفايلين او العامل المنشط للصفيحات الدموية PAF تسبب زيادة في تفاعل الجسيم الطرفي مقارنة مع النطف غير المعاملة (Lee *et al.* , 1997) .

يعد التعرض للملوثات كالكاديوم ، احد الاسباب التي تعمل على تثبيط تفاعل الجسيم الطرفي لنطف المتعرضين ، حيث يتداخل الكاديوم مع بروتين الاكتين الموجود على الغشاء البلازمي للنطف اثناء حؤول النطف او نضج النطف في البربخ مما يؤدي الى تثبيط تفاعل الجسيم الطرفي لتلك النطف لأن بلمرة هذا البروتين تعد ضرورية لتفاعل الجسيم الطرفي (Benoff *et al.* , 1997) . كما لوحظ ان وجود الضد Anti-actin monoclonal antibody في السائل المنوي يقلل و بشكل معنوي كل من النسبة المئوية للنشاط المفرط و تفاعل الجسيم الطرفي (Liu *et al.* , 2002).

1-5: التقنيات الساندة للتلقيح

Assisted reproductive techniques

يقصد بالتقنيات الساندة للتلقيح بأستخدام نطف الزوج ايداع نطف الزوج في مواقع مختلفة من القناة التناسلية الانثوية لغرض تخطي الموانع و نقل النطف الى مواقع الاخصاب (Yovich *et al.* , 1988) .

تستعمل تقنيات التلقيح الاصطناعي في علاج حالات العقم عند المتزوجين التي تعود الى اسباب عديدة منها ، وهن النطف او قلة النطف و كذلك في حالة وجود الاضداد النطفية (Confino *et al.* , 1986) . تلعب الاضداد النطفية دورا في عرقلة حركة النطف في القناة التناسلية الانثوية و تثبيط اختراق النطف للبيوض (Rust *et al.* , 1986 ; Dor *et al.* , 1981) و من ثم انخفاض معدل الاخصاب (Junk *et al.* , 1986) . كما تستخدم هذه التقنيات في علاج العقم غير المفسر (Tucker *et al.* , 1987 ; Hull *et al.* , 1984) و لعلاج المرضى الذين يعانون من القذف الرجوعي Retrograde

ejaculation . فقد اشارت احدى الدراسات الى امكانية الحصول على عدد مناسب من النطف المسترجعة من الادرار و ذات الحركة الجيدة لهؤلاء المرضى بعد اعطائهم بيكاربونات الصوديوم لجعل وسط الادرار قاعدي و تم تسجيل نسبة حمل جيدة و بأستخدام تقنيات التلقيح الاصطناعي (Urry *et al.* , 1986) ، كما تعد هذه التقنيات علاجا ناجحا لبعض حالات اللانطفية الانسدادية الناتجة عن الغياب الولادي لقناة الاسهر و ذلك بعد رشف النطف من البربخ Epididymal aspiration (Ord *et al.*,1992;Silber *et al.*, 1988) .

تعد عملية اضافة السائل المنوي مباشرة الى البيوض (بدون اجراء عمليات التنشيط و العزل) غير صحيحة في هذا المجال السبب قد يعود الى ان النطف غير الممكنة تكون غير قادرة على اخصاب البيوض (Quanzhong *et al.* , 1996) . اذ ترتبط قابلية النطف على الاخصاب مع قدرتها علىالحركة و نوعية حركتها التي تمكنها من الوصول الى البويضة و اخصابها (Geyter *et al.* , 1988 ; Macleod & Gold , 1951) . ان تنشيط النطف في الزجاج و اضافة المصل الى الاوساط المستخدمة يعمل على اختزال الوقت اللازم لتمكين النطف مقارنة بالوقت الذي تحتاجه في الجسم الحي (Karabinus & Gelety,1997;Dugan *et al.*,1997) . اثبتت تقنيات تنشيط النطف كفاءة عالية في اختزال النسبة المئوية للنطف غير السوية من النطف المسترجعة ، و قد اشارت احدى الدراسات الى التأثير المهم للنطف السوية في نجاح عملية الاخصاب في الزجاج ، حيث لوحظ ان نسب نجاح عالية لعمليات الاخصاب في الزجاج تحدث عندما تكون النسبة المئوية للنطف السوية اعلى من 14% (Chan *et al.* , 1990 ; Kruger *et al.* , 1988) . كما ان لعملية الغسل المزدوج لنطف مرضى العقم المناعي الاثر الواضح في حدوث تحسن في فرصة الحمل (Ayvaliotis *et al.* , 1985) . لذلك تعد عملية تنشيط النطف في الزجاج ضرورية قبل اجراء تقنيات التلقيح الأصطناعي . و قد اوضحت دراسات عديدة انه على الرغم من الاختلاف في عدد النطف المسترجعة عند استخدام التقنيات المختلفة لتنشيط النطف في الزجاج الا انه لا يوجد فرق في معدل الانجاب Fecundity rates و يعود السبب في ذلك الى ان كل تقنيات تنشيط النطف المستخدمة في تلك الدراسة قد تجاوزت العتبة لعدد النطف المتحركة الضرورية لحدوث الاخصاب داخل الجسم الحي ، فلا توجد فائدة تذكر لوجود النطف الاضافية (Dodson *et al.* , 1998 ; Karlstrom *et al.* , 1991) . و في حالة مرضى قلة النطف يفضل استخدام الجزء الاول من الدفق First split بدلا من استعمال الدفق بأكمله في تقنيات التلقيح الأصطناعي ، حيث اشار الهادي (Al-Hady , 1999 b) الى ان معالم النطف تكون افضل و بشكل معنوي مقارنة مع الجزء الثاني من الدفق او الدفق بأكمله كما اظهرت نتائج تنشيط الجزء الاول من الدفق تحسنا معنويا في معالم النطف مقارنة مع قيمها قبل التنشيط .

يعد تنبيه المبيض Ovarian stimulation بأستخدام الهرمون المحفز للجريبات عاملا مهما في برنامج التلقيح الاصطناعي حيث يعمل على زيادة عدد البيوض المنتجة و يوفر فرصة أكبر لنجاح عملية التلقيح الاصطناعي ، و قد استعمل سابقا الهرمون المحفز للجريبات المستخلص من بول النساء ما بعد سن اليأس لهذا الغرض اما في الوقت الحاضر يستعمل بدلا عنه Recombinant human FSH(r-FSH) (Brinsden *et al.* , 2000) . او يتم تنبيه المبيض عن طريق اخذ Human menopausal gonadotropin (hMG) المتكون من كميات متساوية من الهرمون اللوتيني والهرمون المحفز للجريبات (Gordon *et al.* , 2001) . و قد لوحظ عدم وجود فرق معنوي في تنبيه المبيض عند استخدام r-FSH او hMG (Strehler *et al.* , 2001) توجد عدة تقنيات للتلقيح الاصطناعي و منها :-

1-5-1 : التلقيح داخل المهبل و داخل عنق الرحم

Intravaginal and intracervical insemination

هـو ايـداع نطـف الـزوج داخـل المهبـل Intravaginal او داخـل عنـق الـرحم Intacervically بأستعمال محقنة ذات ماصة زجاجية (Harrison , 1978) و تعد هذه التقنية من اقل التقنيات كفاءة (Carroll & Palmer , 2001) .

1-5-2: التلقيح داخل جوف الرحم

Intrauterine insemination (IUI)

يتم في هذه التقنية ايداع نطف الزوج الممكنة داخل تجويف الرحم ، حيث تكون الزوجة بوضع الاستلقاء و يتم اظهار عنق الرحم بأستخدام منظار ثنائي الصمام Bivalve speculum و من ثم ادخال القطارة الحاوية على النطف المنشطة الى داخل تجويف الرحم و تحقن ببطئ لمنع حدوث شنجات Spasms الرحم ، ثم تزال القطارة و تنصح الزوجة ببقائها مستلقية 30 دقيقة (Hoing *et al.* , 1986) .

ان الازواج غير الخصبين المرشحين للتلقيح بهذه التقنية يجب ان تتوفر بهم شروط معينة و هي ان تكون الزوجة بطور الاباضة و تكون قناة البيض مفتوحة بالأضافة الى وجود نطف متحركة في قذفة السائل المنوي للزوج (Voorhis *et al.* , 2001) . و تعد هذه الطريقة بسيطة و غير مؤذية نسبيا كما انها تعد خط العلاج الاول لعلاج الرجال الذين يعانون من قلة ووهن النطف على ان يكون السائل المنوي لهؤلاء المرضى حاوياً على نسبة جيدة من النطف ذات الاشكال السوية (Francavilla *et al.* , 1990 ; Cruz *et al.* , 1986) . و قد اشارت دراسات عديدة الى ان IUI علاج فعال لعقم الذكور عندما يكون عدد النطف $\leq 5 \times 10^6$ نطفة و النسبة المئوية للنطف المتحركة ≤30% بالأضافة الى وجود نسبة جيدة من النطف ذات الشكل السوي في عينات السائل المنوي (Dicky *et al.* , 1999 ; Chung *et al.* , 1997) .

كما تعد تقنية IUI وسيلة لأدخال نطف الزوج بعيدا عن حاجز مخاط عنق الرحم Cervical mucus barrier عندما تكون الزوجة تعاني من مشكلة النوعية الرديئة لمخاط عنق الرحم (Yovich&Matson , 1988) الا ان التغلب على هذا الحاجز لا يزيل تداخل الاضداد النطفية مع الخصوبة في حالة العقم المناعي مسببا فشل IUI (Francavilla *et al.* , 1992). يتم في هذه التقنية وضع عدد كبير من النطف المغسولة مباشرة في جوف الرحم دون حصول ميكانيكية ترشيح عنق الرحم الواقية ، و مناعيا تعد النطف جسماً غريباً بالنسبة للزوجة الا انه لا يحفز بشكل معنوي تكوين الاضداد النطفية في المصل (Rojas *et al.* , 1990) .

1-5-3: نقل الامشاج داخل قناة فالوب

Gamete intrafallopian transfer (GIFT)

هي عملية نقل مباشرة لبيوض مستحصلة قبل تحررها مع نطف الزوج المغسولة الى داخل قناة فالوب لجعل كل من النطفة و البيضة في مكان الاخصاب الطبيعي . أذ تحمل 100000 نطفة متحركة و ممكنة مع 1-2 بيضة داخل قطارة و تدخل تقريبا 1.5 سم داخل قناة فالوب و تعاد نفس العملية لقناة فالوب الاخرى (Asch *et al.* , 1986) .

تستعمل هذه التقنية في علاج الازواج الذين يعانون من العقم غير المفسر ، و مشاكل عنق الرحم ، و العقم الذكري على ان تكون على الاقل قناة واحدة من قناتي فالوب عند الزوجة مفتوحة (Ory , 1989 ; Wessels *et al.* , 1987 ; Asch *et al.* , 1986) فهي تسمح بجعل البيضة في تماس مباشر مع النطف السابحة الحرة في قناة فالوب و بهذا تتجاوز النطف كل الحواجز . كما تعد وسيلة فعالة لعلاج العقم المناعي بعد فشل العلاج بالسترويدات (Merwe *et al.* , 1990) .

1-5-4 : التلقيح المباشر داخل البريتون

Direct intraperitonial insemination (DIPI)

تعد هذه التقنية طريقة بديلة عن GIFT و تتضمن رشف النطف المغسولة في محقنة ذات ابرة عيار 19 و من ثم حقنها خلال القبو الخلفي للمهبل Posterior vaginal fornix داخل الردب Cul-de -sac (Forrler *et al.* , 1986) .

يعد التلقيح المباشر داخل البريتون المسبق بتنبيه المبيض طريقة بسيطة نوعا ما و يفضل استخدامها بدلا عن الطرق المعقدة مثل GIFT ، و تستخدم هذه التقنية لعلاج العقم غير المفسر ، و مشاكل عنق الرحم ، و العقم الذكري (Karlstrom *et al.* , 1991 ; Forrler *et al.* , 1986) ، الا ان تكرار هذه التقنية لأكثر من مرة يرافقه نقصان في معدل الحمل و يعود السبب الى ظهور الاضداد النطفية كأستجابة سريعة و مؤشر في تنشيط الجهاز المناعي عند حقن النطف المغسولة داخل البريتون و الذي يعد منطقة غنية بالأوعية اللمفاوية على الرغم من ان مستوى الكلوبيولينات المناعية الموجودة في الرحم و قناة فالوب يكون اقل مما هو عليه في الدم (Livi *et al.* , 1990) .

1-5-5: الاخصاب في الزجاج ونقل الاجنة

In vitro fertilization and embryo transfer (IVF-ET)

تتضمن هذه الطريقة حضن البيوض مع النطف في انبوب حاوٍ على 2 مل من الوسط هام اف –10 الحاوي على 10-15% البومين مصل البقر و مجهز ب 5% Co_2 للمحافظة على pH من 7.2-7.4 و بدرجة حرارة 37 °م و لمدة من 3-5 ساعة . تعد النتيجة موجبة عند ملاحظة تطور الجنين بعد 6 ايام او عند انقسام البيضة و تكون ثماني خلايا قبل نقلها الى رحم الزوجة (Hull *et al.* , 1984) .

اكدت الدراسات الحديثة ضرورة اختزال عدد الاجنة المنقولة بسبب احتمال انبات جميع الاجنة وإن مثل هذا الحمل له اخطار كبيرة كمشاكل تشوه الاجنة ، لذلك يجب ان يكون الجنين المنقول ذا نوعية جيدة و بمرحلة الكيسة الأُريمية Blastocyst خلال اليوم الخامس من الزرع حيث تكون قدرة هذا الجنين على الانبات اعلى من قدرة الجنين الذي لم يصل الى تلك المرحلة حتى اليوم السادس من الزرع (Shapiro *et al.* , 2001 a ; Sheiner *et al.*, 2001 ; Roest *et al.* , 1997) ، بينما ذكر اخرون ان اختيار الكيسة الأُريمية التي يجب نقلها يعتمد على شكلها بدلا من عمرها بعد التلقيح. فيفضل نقل الكيسة الأُريمية التي تظهر توسعاً كاملاً لجوف الاريمة Blastocoel cavity و متصل مع عدد جيد من الخلايا في الاديم الخارجي المغذي Trophoectoderm والخلايا الداخلية (Kausche *et al.* , 2001) ، كما لوحظ ان تطور الاجنة البشرية يتحسن في وسط خالٍ من الكلوكوز فيكون عدد الخلايا في مرحلة الكيسة الأُريمية اكثر عند عدم وجود الكلوكوز الا ان معدل الحمل لم يتغير (Coates *et al.* , 1999) .

تستخدم هذه التقنية عندما يكون السائل المنوي للزوج رديئاً من الناحية الكمية و النوعية (Hirsch *et al.* , 1986) فهي تعد علاجا ناجحا للذكور الذين يعانون من قلة ووهن النطف (Yovich *et al.* , 1988) ، كما تستخدم لعلاج العقم غير المفسر و عدم ملائمة مخاط عنق الرحم (Hewitt *et al.* , 1985) بالأضافة الى استخدامها في علاج النساء اللواتي يعانن من

التهاب البطانة الرحمية (Parikh *et al.* , 1997) او انسداد الانابيب (Blazar *et al.* , 1997) . و من مساوئ هذه التقنية انها تعد من اكثر التقنيات اذية و ذات كلفة عالية . و ان المرشحين للتلقيح بهذه التقنية يكون تركيز النطف المتحركة الكلية اقل من 5×10^6 في السائل المنوي للزوج او معاناة الزوجة من احد اسباب العقم (Matkov *et al.* , 2001) .

اشارت دراسات عديدة الى وجود علاقة طردية بين نسبة النطف ذات الاشكال السوية و معدل الاخصاب في الزجاج (Kruger *et al.* , 1986 ; Kruger *et al.* , 1988) ، و لكي يحدث الاخصاب في الزجاج يجب ان تكون النطف المستخدمة في التلقيح ذات شكل سوي ، و تمتلك حركة خطية ، و لها جسيم طرفي و تكون قادرة على الارتباط بالنطاق الشفاف للبويضة (Liu & Baker , 1992) ، اذ لوحظ أن عدم قدرة النطف على الاندماج مع البويضات يؤدي الى فشل الاخصاب (Wolf *et al.* , 1996) .

ان تقلص رحم الزوجة اثناء نقل الجنين يؤدي الى انخفاض معدل غرس الجنين لذا يعد الاستعمال المهبلي للبروجسترون قبل يومين من نقل الجنين ذا اهمية كبيرة ، حيث يعمل البروجسترون على تقليل تكرار تقلص الرحم و بذلك يتم تجنب ابدال موضع الجنين من تجويف الرحم (Fanchin *et al.* , 2001) . يسبب وجود السوائل المتجمعة Hydrosalpinx في بعض حالات انسداد الانابيب انخفاضاً في معدل الانغراس و من ثم اختزال نسبة الحمل حيث تؤثر تلك السوائل سلبا في بطانة الرحم و الانغراس بسبب تغير البيئة كيمياويا و حياتيا (Blazar *et al.* , 1997) . اما نمو الفطريات بعد زرع الجنين فانه يؤدي الى فشل تطور الجنين و الانغراس لأن اغلب الاوساط المستخدمة للأخصاب في الزجاج لا تحتوي على مضادات للفطريات (Mahadevan *et al.* , 1996) ، بالأضافة الى ذلك فأن هناك كثيراً من المشاكل التي تحدث اثناء نقل الجنين و تكون سببا في فشل انغراسه و هي حدوث كلم Trauma للجنين عند تلوث القطارة بالدم او المادة المخاطية (Schoolcraft *et al.* , 2001) . كما ان حالة الكرب Stress و القلق الشخصي Axious personality عند النساء اللواتي يخضعن لبرنامج IVF-ET يؤدي الى انخفاض نسبة خلايا تي المساعدة T helper المسؤولة عن افراز منظمات المناعة السايتوكاينز الى خلايا تي المثبطة T suppressor الذي بدوره يعمل على اختزال معدل الانغراس (Gallinelli *et al.* , 2001) . اما وجود الاضداد النطفية في مصل و / او افرازات كلا الزوجين ، فله دوراً في انخفاض معدل الاخصاب في الزجاج (Mathur *et al.* , 1987) .

بعد فشل المحاولة الاولى للـ IVF-ET ، فأن تكرار المحاولة و نقل الاجنة يرافقه نقصان في معدل الحمل و الانغراس و يعود السبب في ذلك الى ان تكرار المحاولة له علاقة بأنخفاض نوعية البيوض و الاجنة مقارنة بالمحاولة الاولى كما ان قابلية تقبل بطانة الرحم للجنين قد تكون عاملا في انخفاض معدل الحمل و الانغراس (Shapiro *et al.* , 2001 b) .

1-5-6 : حقن النطفة داخل السايتوبلازم

Intracytoplasmic sperm injection (ICSI)

تتضمن هذه التقنية حقن النطفة داخل سايتوبلازم البيضة باستخدام ماصة قطرها الخارجي اقل من 6 مايكروميتر و تكون قمتها قصيرة و حادة . يتم مسك الخلية النطفية و منعها من الحراك بوساطة ابرة المحقنة و التي تدخل خلال النطاق الشفاف و هيولي البيضة عميقا داخل السايتوبلازم و تحقن النطفة و تسحب الماصة ببطئ لتجنب ازالة النطفة او حدوث شتر خارجي Eversion لهيولي البيضة (Palermo *et al.* , 1993) .

يعد ICSI وسيلة لعلاج حالات العقم الذكري الحادة . فهو خط العلاج الثاني بعد الجراحة لمرضى اللانطفية الانسدادية او مرضى قلة النطف الذين يعانون من الانسداد الجزئي للقناة القاذفة (Kadioglu *et al.* , 2001) ، و ذلك بأستخدام النطف او اورمات

النطف المتأخرة التي ترشف مباشرة من البربخ او الخصية او بأستخدام النطف المستخلصة من الخزعة الخصوية (Battaglia *et al.* , 2001 ; Madgar *et al.* , 1998 ; Araki *et al.* , 1997) . و لوحظ ان حقن ارومات النطف غير الناضجة داخل السايتوبلازم Round spermatid injection (ROSI) يؤدي الى انخفاض معدل الاخصاب مقارنة مع حقن النطف الناضجة و كان معدل الاخصاب 44.9% و 69% على التوالي (Levran *et al.* , 2000) ، كما اشارت احدى الدراسات الى ان النطف المستخلصة من الخزعة الخصوية تعطي معدل اخصاب اوطأ مقارنة بالنطف المرشوفة من البربخ و يعود السبب الى وجود خلل وظيفي بالنطف او عدم نضج النطف (Watkins *et al.* , 1997) . كما يعد استخلاص النطف او رشف النطف الموجودة في الاسهر و البربخ قبل العلاج الكيمياوي لمرضى اللانطفية الذين يعانون من سرطان الخصية و استخدامها بتقنية ICSI وسيلة لحفظ الخصوبة لهؤلاءالمرضى لأن العلاج الكيمياوي يؤدي الى تلف DNA الخلايا النطفية و من ثم فشل ICSI (Kobayashi *et al.* , 2001 ; Baniel & Sella , 2001 ; Lopes *et al.* , 1998) و يفضل حفظ النطف المرشوفة من البربخ لغرض اجراء عملية ICSI عدة مرات بدون تكرار الجراحة الدقيقة Microsurgical للبربخ (Holden *et al.* , 1997) .

كما تعد تقنية ICSI علاج لمرضى عسر الحركة الهدبي الذين يعانون من غياب اذرع الداينين او النبيبات الدقيقة للمحور . ان حقن البويضات بنطف حية لكنها غير متحركة اعطت معدل اخصاب جيد و حدوث حالات حمل (Cayan *et al.*, 2001; Kamal *et al.*, 1999) . ان فقدان النطف لغشاء الجسيم الطرفي و محتوياته من الانزيمات يجعلها غير قادرة على اختراق النطاق الشفاف للبويضة او ان تلتحم مع هيولي البويضة و تعرف تلك النطف بالنطف الكروية Globozoospermia ، فيعد حقن النطفة كاملا داخل سايتوبلازم البويضة حلا للتغلب على هذه المشكلة و احداث الحمل (Kim *et al.* , 2001) .

بذلك تعد تقنية ICSI علاج فعال جدا عندما يكون عدد النطف قليلاً جداً في القذفة او النسيج الخصوي لمرضى العقم الذكري الحاد لكن المشكلة هي حقن النطف ذات التركيب الوراثي غير السوي (Levron *et al.* , 2001 ; Veld *et al.* , 1995) بسبب المستوى العالي للـ DNA التالف لنطف الاشخاص غير الخصبين مقارنة مع الاشخاص الخصبين بالأضافة الى وجود تشوهات بالكروسومات الجنسية لبعض المرضى الذين يعانون من قلة ووهن و تشوه النطف فأن ذلك كله يزيد من خطر انتقال الطفرات الوراثية و اللاسوية بالكرموسومات الى النسل (Zini *et al.* , 2001 ; Aboulghar *et al.* , 2001 ; Pfeffer *et al.* , 1999)، كما لوحظ انخفاض معدل الاخصاب عند استخدام نطف ذات شكل غير سوي و حقنها داخل سايتوبلازم البويضة مقارنة مع مجموعة السيطرة (Gomez *et al.* , 2000) فالشكل غير السوي للنطف يزيد من احتمال كون المادة الوراثية غير سوية و من ثم تنتقل الى النسل (Ryu *et al.* , 2001) .

قد يتم حقن عدد قليل من النطف الفعالة تحت النطاق الشفاف الا ان معدل الاخصاب في هذه الحالة يكون اوطأ مقارنة بالـ ICSI (Palermo *et al.* , 1993) .

1-6: الهدف من الدراسة *The aim of the study*

من اجل معرفة نسب العقم و أنواعها في منطقة الفرات الاوسط تم اجراء دراسة احصائية في مستشفى بابل للولادة و الاطفال لتحديد نسب العقم الذكري ، و العقم الانثوي و المشترك و تفاصيلها .

هدفت هذه الدراسة الى معرفة تأثير بعض المواد النشطة حياتيا و التي لها القابلية على اختراق الحواجز الدموية-الخصوية ، و الهرمونات او شبيهاتها و الموجودة في السائل المنوي او القناة التناسلية الانثوية في تنشيط النطف خارج الجسم .

تم استخدام الكافائين و الموثين $F_2\alpha$ و خلات الميدروكسي بروجسترون بثلاثة تراكيز متباينة و اوقات حضن متباينة ايضا لمعرفة تأثيرها عند اضافتها الى الاوساط الزرعية المستخدمة في تنشيط النطف البشرية في الزجاج و لمعرفة التركيز الامثل و فترة الحضن الملائمة لكل منها ، و لأيجاد بديل عن الاوساط الزرعية المستوردة الباهظة الثمن .

الفصل الثاني Chapter Two
المواد وطرائق العمل
Materials and methods

2-1 : جمع السائل المنوي البشري

Human seminal fluid collection

جمعت عينات السائل المنوي في اطباق بتري نبيذة بطريقة الاستمناء باليد Masturbation بعد فترة امتناع Abstinence period لا تقل عن يومين و لا تزيد عن خمسة ايام قبل جمع العينات . وضعت العينات قبل فحصها في الحاضنة في درجة حرارة 37° م لكي يسمح لها بالأماعة الطبيعية Normal liquefaction .

2-2 : فحص السائل المنوي البشري

Human seminal fluid analysis

بعد حدوث الاماعة ، تم تدوين زمن الاماعة Liquefaction time فحصت كل عينة و سجلت بيانات كل من الفحص العياني و المجهري و بالشكل التالي :

الفحص العياني	***Macroscopical examination***
حجم العينة	volume
اللون	color
مدة الاماعة	liquefaction time
الاس الهيدروجيني	pH
اللزوجة	viscosity

الفحص المجهري	***Microscopic examination***
تركيز النطف ($\times 10^6$ / مل)	Sperm concentration
النسبة المئوية للنطف المتحركة	Sperm motility percent
درجة نشاط النطف	Sperm grade activity
النسبة المئوية للنطف غير السوية	Abnormal sperm percent
تركيز كريات الدم البيض و الخلايا البلعمية ($\times 10^6$/ مل)	Leukocytes and phagocytes concentration

2-2-1- : الفحص العياني *Macroscopic examination*

2-2-1-1 الحجم : *Volume*

تم قياس حجم السائل المنوي بوساطة انابيب الاختبار المدرجة . ان الحجم السوي لدفق الرجل يكون 2-6 مل و تعد العينة ناقصة الحجم Hypovolumic اذا كان حجمها اقل من 1.5 مللتر في حين تعد مفرطة الحجم Hypervolumic اذا زاد حجمها عن 6 مللتر .

2-2-1-2 اللون Color

يعد السائل المنوي ذا مظهر متجانس بلون رصاصي براق ، اما تلونه بلون احمر بني يعد دليلا على وجود كريات الدم الحمر في السائل المنوي اما وجود الخيوط المخاطية مع اللون الاصفر يشير الى وجود الالتهابات .

2-2-1-3 الاماعة Liquefaction

تتم الاماعة التامة لعينة السائل المنوي في مدة لا تزيد عن 30 دقيقة . تم تقدير قوام (لزوجة) السائل المنوي المتميع من خلال ملاحظة الخيط المخاطي و ذلك بدفق العينة من ماصة باستور. يعد قوام المني سويا عند تدفقه قطرة فقطرة من الماصة بينما يكون القوام شاذا عندما تكون العينة خيطا اكثر من 3 سم ، و قد يعود سبب عدم تميع بعض عينات السائل المنوي الى ضعف فعالية غدة البروستات في انتاج Fibrinolysin enzyme . استعملت المصطلحات التالية لوصف درجة لزوجة المني و هي : سوي Normal ، لزج Viscid او لزج جدا Highly viscid .

2-2-1-4 الاس الهيدروجيني الباء هاء (pH

تم قياس الاس الهيدروجيني بعد الاماعة مباشرة بوساطة اشرطة خاصة لهذا الغرض . يكون الاس الهيدروجيني للسائل المنوي نوعا ما قاعديا يتراوح 7.6-8.0 .

2-2-2: الفحص المجهري Microscopic examination

اخذت قطرة واحدة من كل عينة ممزوجة جيدا بعد الاماعة التامة ، ووضعت القطرة على شريحة زجاجية دافئة و غطيت بغطاء الشريحة الزجاجية القياسية ، فحصت اولا تحت القوة 10س و من ثم قوة 40س . تم قياس معالم النطف الاتية : تركيز النطف ، و النسبة المئوية للنطف المتحركة ، و درجة نشاط النطف ، و النسبة المئوية للنطف غير السوية ، و تركيز كريات الدم البيض و الخلايا البلعمية .

2-2-2-1. تركيز النطف Sperm concentration

تم تقدير تركيز النطف في 1 مل من معدل عدد النطف في عشرة مجالات Fields عشوائية و ضرب معدل العدد بالعامل 10^6 (WHO , 1992) . و يمكن الحصول على التركيز الكلي للدفق بضرب تركيز النطف بحجم الدفق . يعد المريض مصابا بقلة النطف عندما يكون تركيز النطف اقل من 20 مليون نطفة في كل مللتر واحد من السائل المنوي .

2-2-2-2 النسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف

Sperm motility percent and Grade activity

تم حساب مائتي نطفة في الاقل لكل عينة ، ثم سجل معدل عدد النطف ذات الحركة التقدمية Progressive forward movement و النسبة المئوية للنطف المتحركة من خلال ملاحظة الحركة التقدمية في حيز محدد Definite space gain ، او السرعة الخطية المستقيمة التقريبية Approximate straight velocity . كما شخصت النطف ذات الحركة اللاتقدمية و التي لا

تظهر التقدم في الحيز المحدد او السرعة الخطية المستقيمة و تشمل كذلك النطف التي لا تظهر حركة سوطية (Mortimer *et al.* , 1988) . و يعد المريض مصابا بوهن النطف عندما تكون النسبة المئوية للنطف المتحركة اقل من 50% و درجة نشاطها اقل من 3 لعينة السائل المنوي (Hinting , 1989) .

2- 2- 2- 3 منسب حركة النطف *Sperm motility index*

بعض العينات تكون ذات نسبة مئوية عالية لحركة النطف و لكنها ذات درجة نشاط قليلة، بينما تظهر عينات اخرى نسبة مئوية للنطف المتحركة قليلة و درجة نشاط عالية . لهذا اقترح قياس منسب حركة النطف للربط بين هذين المعلمين المهمين و يحسب منسب حركة النطف من حاصل ضرب النسبة المئوية للنطف المتحركة × درجة نشاط النطف .

2- 2- 2- 4: النسبة المئوية للنطف غير السوية

Abnormal sperm morphology percent

تعد النطف مشوهة عند ملاحظة أي انحراف في تركيبها او شكلها السوي . و يكون رأس النطفة السوي بيضويا و محددا بشكل منتظم مع وجود قلنسوة الجسيم الطرفي Acrosomal cap الذي يغطي حوالي ثلثي السطح الخارجي للراس ، اما القطعة الوسطية فتكون اسطوانية الشكل و مستقيمة و ذات حدود منتظمة . و يكون الذيل اسطواني الشكل و غير ملتف و ذا حدود منتظمة . و تشمل التشوهات التي تحدث في رأس النطفة الحالات التالية و هي: الرأس الضخم Macrocephalic ، و الرأس الصغير Microcephalic ، الرأس المستدق Tapred head ، ثنائية الرأس Double head ، مستديرة الرأس Round head ، غير منتظمة الرأس Head with amorphous head او الرأس ذو الجسيم الطرفي المحطم acrosome's damage . اما التشوهات في ذيل النطفة فتشمل الذيل الثنائي Double tail ، الذيل المنحني Bent tail ، الذيل المكسور و عديمة الذيل . و قد يحدث تشوه في القطعة الوسطية و هو وجود القطيرة الهيولية حولها التي تصنف على انها تشوه ثانوي . تم حساب مائتي نطفة على الاقل في كل عينة و من ثم حسبت النسبة المئوية للنطف غير السوية و حسب المعادلة التالية :-

$$\text{النسبة المئوية} = \frac{\text{عدد النطف غير السوية}}{\text{عدد النطف الكلي}} \times 100$$

يعد المريض مصابا بتشوه النطف اذا كانت النسبة المئوية للنطف غير السوية اكثر من 40% .

2- 2- 2- 5 : تركيز الكريات البيض و الخلايا البلعمية

Leukocytes and phagocytes concentration

تم حساب تركيز كريات الدم البيض و الخلايا البلعمية عن طريق عد هذه الخلايا في عشرة مجالات مختلفة و ضرب المعدل بالعامل 10^6 ، ان العدد السوي للكريات البيض في عينة السائل المنوي اقل من مليون / مل ، بينما يكون هذا العدد اقل من نصف مليون / مل بالنسبة للخلايا البلعمية .

2-3 : المستنبتات المستعملة في تنشيط النطف في الزجاج

In vitro sperm activation media

تم استعمال نوعين من المستنبتات في هذه الدراسة لغرض تنشيط النطف البشرية في الزجاج.

أ- المستنبت ايرل Earle's medium

ب- المحلول الفسيولوجي السكري Glucosaline medium

2-3-1 : المستنبت ايرل

يبين الجدول (2-1) مكونات المستنبت ايرل . و يتم تحضير 100 مل من المستنبت حسب الخطوات الاتية :

1- اضافة ملح ايرل* و الامبسلين Ampicilline و بايروفيت الصوديوم Sodium pyruvate الى 90 مل من الماء المقطر ، ثم رجت المحتويات لغرض حصول الاذابة .
2- اضيفت بيكاربونات الصوديوم Sodium bicarbonate الى المزيج المذكور اعلاه .
3- ضبط الضغط التنافذي Osmotic pressure ما بين 280-290 ملي اوزمول/لتر بوساطة مقياس الضغط التنافذي Osmometer نوع Osmomat 030 .
4- ضبط قيمة الاس الهيدروجيني (pH) 7.6 بأضافة قطرة من NaoH او Hcl المخففين و بأستعمال جهاز PH meter.
5- تم تعقيم المستنبت المحضر بوساطة تعريضه الى الاشعة فوق البنفسجية Ultraviolet radiation لمدة 20 دقيقة .

جدول (2-1) : يوضح تحضير 100 مللتر من المستنبت ايرل المستعمل في تنشيط النطف في الزجاج .

المكونات	الكمية
ملح ايرل	0.88 غم
امبسلين	0.088 غم
بايروفيت الصوديوم	0.001 غم
بيكاربونات الصوديوم	0.210 غم
ماء مقطر	لغاية الحجم 100 مل

2-3-2 : المحلول الفسيولوجي السكري

تم استخدام المحلول الجاهز Sodium chloride and dextrose intravenous infusion و المتكون من المواد الموضحة في الجدول (2-2) *.

جدول (2-2) : يوضح مكونات 100 مللتر من المحلول الفسيولوجي السكري المستعمل في تنشيط النطف في الزجاج .

المكونات	الكمية
Dextrose monohydrate	4.4 غم
كلوريد الصوديوم	0.18 غم

* (CMV-1 Company , France)

*Fresenius AG Fed.Rep of Germany

2-3-3: المواد المستخدمة في تنشيط النطف البشرية في الزجاج

تم اختيار التراكيز المذكورة ادناه اعتمادا على التجربة من خلال اختبار عدة تراكيز .

2-3-3-1 الكافائين Caffeine

استخدم الكافائين المحضر من قبل شركة USA- Randox Laboratories **و تم تحضير ثلاثة تراكيز للكافائين و هي : 0.043 و 0.074 و 0.097 مولاري .

2-3-3-2 الموثين $F_2\alpha$ Prostglandin $F_2\alpha$

استخدم الموثين $F_2\alpha$ المحضر من قبل شركة Barcelones , 26 *** و تم تحضير ثلاثة تراكيز من هذا الموثين و هي : 4.245 و 6.818 و 12.500 مايكروغرام / مل .

2-3-3-3 خلات الميدروكسي بروجسترون

Medroxy Progestrone acetate suspension

استخدم خلات الميدروكسي بروجسترون المحضر من قبل شركة Upjohn**** .و تم تحضير ثلاثة تراكيز من خلات الميدروكسي بروجسترون و هي : 0.136 و 0.409 و 0.954 ملغم /مل .

2-4: تحضير المصل البشري المثبط

Preparation of inactivated human serum

جهز المستنبت المستعمل في تنشيط النطف في الزجاج في الدراسة الحالية بمصل انثوي بشري غير فعال . اخذت عينات الدم من النساء في اليوم الثالث عشر من الدورة الحيضية Menstural cycle . تركت العينات في الحمام المائي بدرجة 37° م حتى تجلطت ثم ازيل عنها الدم المتجلط بعود خشبي . و فصل المصل عن كريات الدم بوساطة المنبذة Centerifuge بسرعة 3000 دورة / دقيقة و لمدة 15 دقيقة . وضع المصل في حمام مائي بدرجة 56 °م لمدة 30 دقيقة لأزالة المتممات Decomplementation . حفظ المصل بدرجة حرارة -20 °م لحين استعماله (Shibahara *et al.* , 1993) . يضاف المصل غير الفعال بتركيز 20% الى المستنبت عند الاستعمال في عمليات تنشيط النطف في الزجاج .

2-5: التقنية المستعملة في تنشيط النطف في الزجاج

Technique used for human sperm activation in vitro

تم تنشيط النطف في الزجاج باستعمال تقنية الغسل والنبذ (الهادي ، 1997) حيث مزج 0.5 مللتر من السائل المنوي مع مللتر واحد من المستنبت المجهز بالمصل الانثوي غير الفعال بتركيز 20% ثم اجريت عملية النبذ بقوة 2000 دورة / دقيقة لمدة 5 دقائق بدرجة حرارة 20- 25 °م. ازيل الطافي Supernatant بعد عملية النبذ و غطيت الحبيبية Pellet بمللتر من المستنبت المستخدم ، اما في حالة استخدام المواد المستعملة في هذه الدراسة فقد اضيفت الى المستنبت بثلاثة

** 70 Dorman Street , Suite 3A , San Francisco , CA 94124 , USA.

*** 08520 Les Franqueses Del Valles (Barcelona) Spain .

**** USP , Upjohn S.9., Puurs-Belgium .

تراكيز متباينة و من ثم وضعت العينات في الحاضنة بدرجة حرارة 37 °م و تم الفحص بثلاثة اوقات متباينة 30 و 45 و 60 دقيقة . اخذت قطرة واحدة من الجزء العلوي من المستنبت و فحصت بواسطة المجهر تحت قوة 40 س ، حيث تم حساب تركيز النطف المسترجعة و النسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف و النسبة المئوية للنطف غير السوية وتركيز كريات الدم البيض و الخلايا البلعمية .

2-6: تصميم التجارب *Experimental design*

تم تصميم التجارب حسب شكل (2-1) .

2-7: التحليل الاحصائي *Statistical analysis*

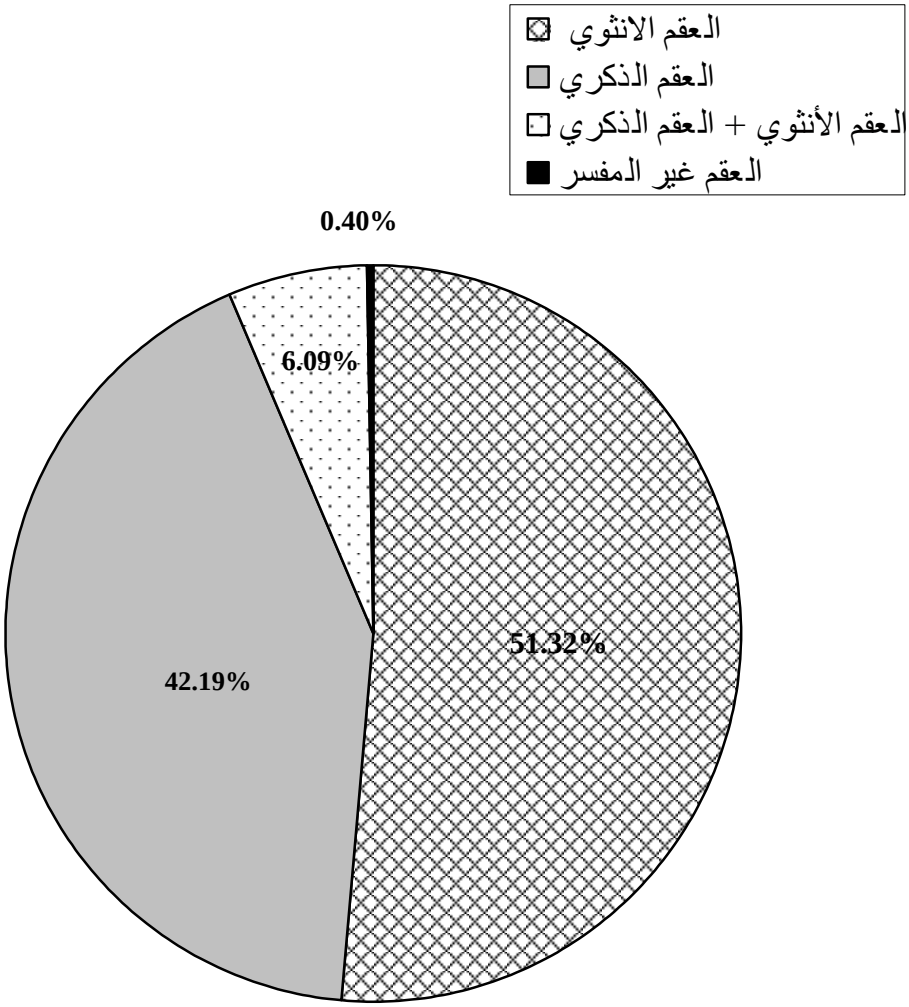
استخدم اختبار T-student و اختبار F للأستدلال على الدلالة المعنوية . كما استعمل المعامل المعنوي الاصغري Least Significant Differences (LSD) في المقارنة بين النتائج بالأضافة الى الطرائق العيارية المستخدمة في تحديد المتوسط Mean و الانحراف المعياري Standard Deviation (SD) (الراوي ، 2000) .

Chapter Three الفصل الثالث
Results النتائج

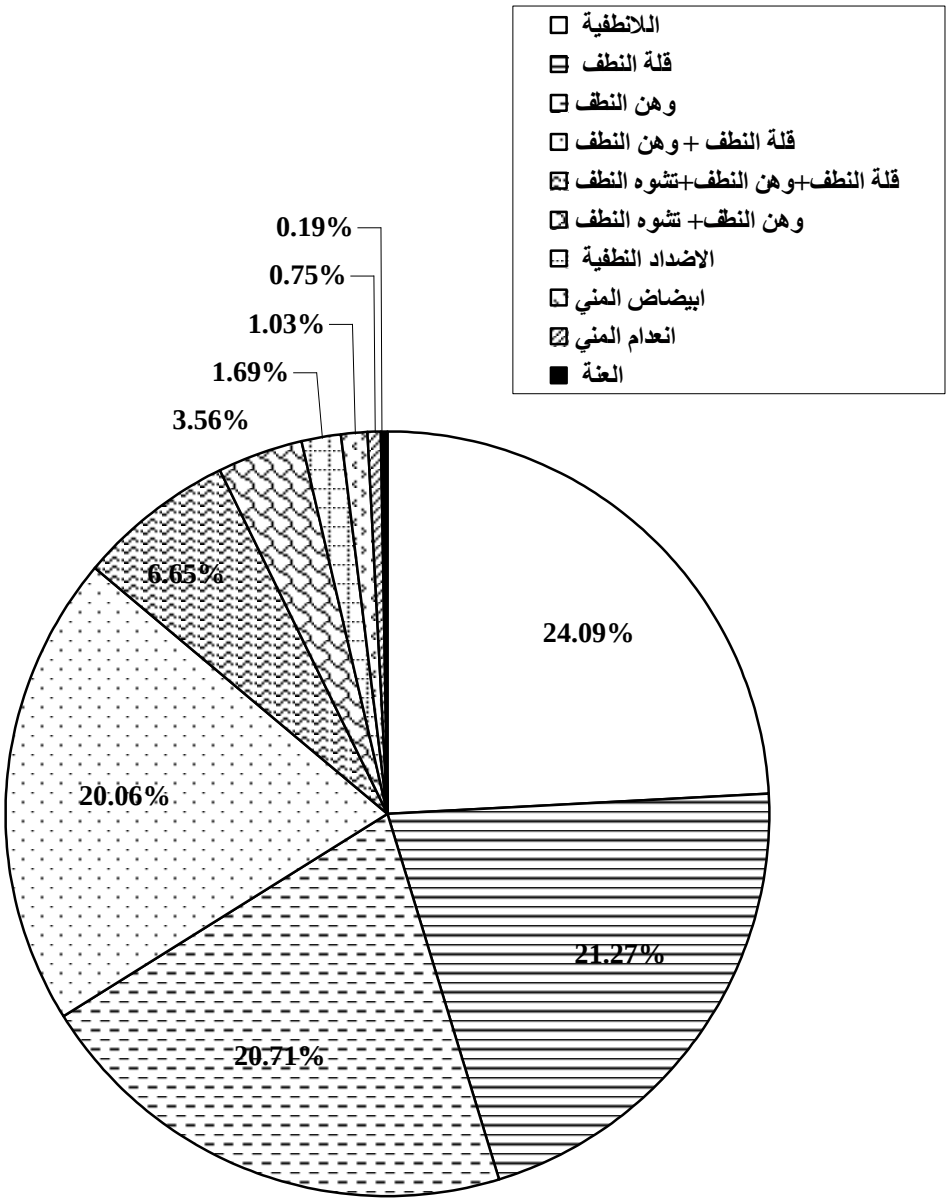
تضمنت الدراسة حساب النسب المئوية لأنواع العقم للمرضى الذين راجعوا مركز العقم في مستشفى بابل للولادة و الاطفال و البالغ عددهم 2529 زوجا Couples . اظهرت الدراسة ان نسبة العقم الانثوي المئوية قد بلغت 51.32% (1298 مريضة) و العقم الذكري 42.19% (1067 مريض) و العقم المشترك 6.09% (154 زوج) اما العقم غير المفسر فقد بلغت نسبته 0.4% (10 زوج) . (شكل 3-1) . و شملت مظاهر العقم الذكري Male infertility factor حالات اللانطفية و تمثلت بنسبة 24.09% (257) و قلة النطف 21.27% (227) ووهن النطف 20.71% (221) و قلة النطف + وهن النطف 20.06% (214) و قلة النطف + وهن النطف + تشوه النطف 6.65% (71) ووهن النطف + تشوه النطف 3.56% (38) و الاضداد النطفية 1.69% (18) و ابيضاض المني 1.03% (11) و انعدام المني 0.75% (8) و العنة 0.19% (2) .(شكل 3-2) .

كما تضمنت الدراسة تنشيط نطف المرضى المصابين بوهن النطف في الزجاج In vitro بطريقة الغسل و النبذ و بأستخدام بعض المواد المنشطة و هي الكافائين مع كل من المستنبت ايرل و المحلول الفسيولوجي السكري ، و الموثين $F_2\alpha$ و خلات الميدروكسي بروجسترون مع المحلول الفسيولوجي السكري و كل على حده . كما استخدمت ثلاث تراكيز متباينة لكل من المواد المستخدمة فكانت تراكيز الكافائين هي 0.043 مولاري و 0.074 مولاري و 0.097 مولاري اما تراكيز الموثين $F_2\alpha$ المستعملة كانت : 4.245 مايكروغرام/مل و 6.818 مايكروغرام/مل و 12.500 مايكروغرام / مل . اما تراكيز خلات الميدروكسي بروجسترون فهي : 0.136 ملغم/مل و 0.409 ملغم/ مل و 0.954 ملغم /مل . و قد تركت العينات في ثلاث فترات تحضين 30 و 45 و 60 دقيقة ، حيث سببت المعاملات كافة تحسنا معنويا في معالم النطف مقارنة بقيمتها قبل التنشيط .

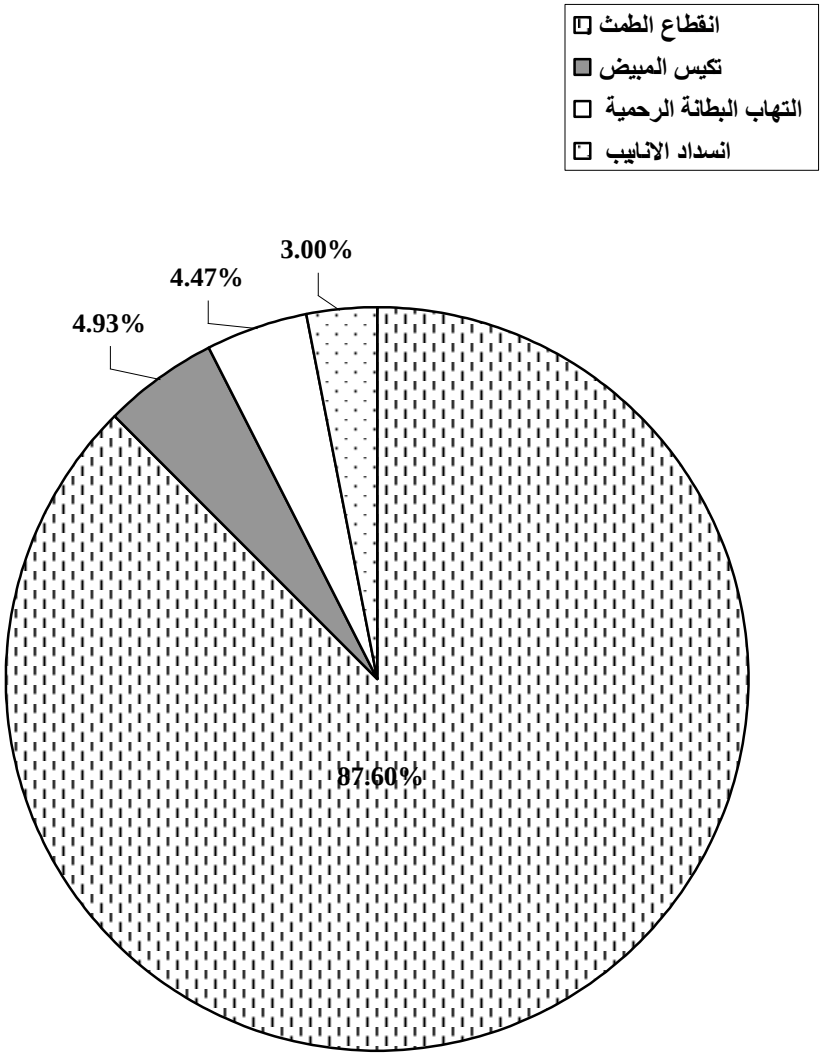
في حين شملت مظاهر العقم الانثوي Female infertility factor انقطاع الطمث و بنسبة 87.60% (1137) و تكيس المبيض 4.93% (64) و التهاب البطانة الرحمية 4.47% (58) و اخيرا انسداد الانابيب 3.00% (39) . (شكل 3-3) . اما النسب المئوية للعقم الأولي و الثانوي فكانت 71.13% (1799) و 28.87% (730) بالتعاقب.



شكل (3-1) يوضح النسب المئوية لمظاهر العقم في منطقة الشرق الاوسط



شكل (3-2) : يوضح النسب المئوية لأنواع العقم الذكري



شكل (3-3) : يوضح النسب المئوية لأنواع العقم الانثوي

اظهرت نتائج تنشيط النطف الواهنة بأستخدام كل من المستنبت ايرل و المحلول الفسيولوجي السكري تحسنا معنويا في معالم النطف مقارنة بقيمها قبل التنشيط . و سبب اضافة الكافائين و بالتركيز 0.043 مولاري الى المستنبت ايرل حدوث زيادة معنوية($P< 0.001$) في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف مقارنة مع مجموعة السيطرة (استخدام المستنبت ايرل لوحده) . و لم يلاحظ وجود فروق معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف بين التراكيز المختلفة من الكافائين كما لم يظهر وجود فروق معنوية في كل من تركيز النطف المسترجعة و النسبة المئوية للنطف غير السوية و تركيز الكريات البيض و الخلايا البلعمية عند اضافة التراكيز المختلفة من الكافائين مقارنة مع مجموعة السيطرة و لفترة حضن 30 دقيقة . (جدول 3-1) . اما عند فترتي حضن 45 و 60 دقيقة فلم يلاحظ وجود أي فرق معنوي في معالم النطف كافة عند اضافة التراكيز المختلفة من الكافائين مقارنة مع مجموعة السيطرة بعد التنشيط . (جدول 3-2 و 3-3) .

اظهرت نتائج مقارنة قيم منسب حركة النطف و لفترات الحضن المختلفة عدم وجود فروق معنوية عند استخدام التراكيز المختلفة من الكافائين مع المستنبت ايرل (شكل 3-4 و3-5 و 3-6) .

اشارت نتائج اضافة تراكيز الكافائين المذكورة سابقا الى المحلول الفسيولوجي السكري الى حدوث زيادة معنوية($P< 0.001$) في كل من النسب المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف مقارنة مع مجموعة السيطرة (المحلول الفسيولوجي السكري لوحده) في حالة التركيز 0.043 مولاري ، كما لوحظ وجود فرق معنوي في النسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف بين التركيز 0.043 من جهة و التركيزين 0.074 و 0.097 من جهة اخرى ، و لم يلاحظ وجود أي فروق معنوية في كل من تركيز النطف المسترجعة و النسبة المئوية للنطف غير السوية و تركيز الكريات البيض و الخلايا البلعمية باستخدام التراكيز المختلفة من الكافائين مقارنة مع مجموعة السيطرة و لفترة حضن 30 دقيقة . (جدول 3-4) . يبين الجدول 3-5 عدم وجود فروق معنوية في معالم النطف كافة باستخدام التراكيز المختلفة من الكافائين مقارنة مع مجموعة السيطرة مع استمرار وجود فرق معنوي في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف بين التركيز 0.043 و كل من التركيزين 0.074 و 0.097 و لفترة حضن 45 دقيقة . اما عند فترة حضن 60 دقيقة فلم تظهر أي فروق معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف باستخدام التركيز 0.043 مولاري من الكافائين مقارنة مع مجموعة السيطرة اما التركيزان 0.074 و 0.097 مولاري فقد سببا انخفاضاً معنوياً ($P< 0.001$) في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف مقارنة مع كل من مجموعة السيطرة و التركيز 0.043 (جدول 3-6) .

جدول (3-1) : معالم النطف قبل و بعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف بأستخدام المستنبت ايرل و التراكيز المختلفة من الكافائين ولفترة حضن 30 دقيقة

(المعدل ± الانحراف المعياري)

معالم النطف	قبل التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)	بعد التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)			
		مجموعة السيطرة (ايرل لوحده)	ايرل + الكافائين التركيز (مولاري)		
			0.043	0.074	0.097
تركيز النطف (×10 ^{6} /مل)	49.00 ^{a} ± 23.66	8.40 ^{b} ± 4.81	8.50 ^{b} ± 5.75	8.20 ^{b} ± 5.51	8.90 ^{b} ± 5.78

النسبة المئوية للنطف المتحركة	29.00 a ± 11.25	57.00 b ± 26.37	79.00 c ± 28.16	64.00 c b ± 23.30	58.50 c b ± 23.81
درجة نشاط النطف	1.70 a ± 0.67	2.70 b ± 1.18	3.95 c ± 1.36	3.17 c b ± 1.00	3.05 c b ± 0.99
النسبة المئوية للنطف غير السوية	46.50 a ± 11.06	19.56 b ± 5.99	17.86 b ± 14.36	18.51 b ± 13.51	18.35 b ± 9.45
تركيز الكريات البيض و الخلايا البلعمية (×10 ^{6} /مل)	4.80 a ± 2.20	0.30 b ± 0.48	0.20 b ± 0.42	0.30 b ± 0.48	0.40 b ± 0.51

جدول (3-2) : معالم النطف قبل و بعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف بأستخدام المستنبت ايرل و التراكيز المختلفة من الكافائين و لفترة حضن 45 دقيقة .

(المعدل ± الانحراف المعياري)

معالم النطف	قبل التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)	بعد التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)			
		مجموعة السيطرة (ايرل لوحده)	**ايرل + الكافائين التركيز (مولاري)**		
			0.043	**0.074**	**0.097**
تركيز النطف (× 10 ^{6} /مل)	49.00 a ± 23.66	8.80 b ± 5.45	9.30 b ± 6.07	8.70 b ± 6.16	8.80 b ± 4.80
النسبة المئوية للنطف المتحركة	29.00 a ± 11.25	63.50 b ± 26.14	73.50 b ± 19.15	63.50 b ± 21.99	57.00 b ±14.56
درجة نشاط النطف	1.70 a ± 0.67	3.05 b ± 1.12	3.52 b ± 0.72	3.12 b ± 0.84	2.90 b ± 0.55
النسبة المئوية للنطف غير السوية	46.50 a ± 11.06	18.48 b ± 12.83	18.66 b ± 10.52	19.85 b ± 10.98	20.32 b ± 6.98
تركيز الكريات البيض و الخلايا البلعمية	4.80 a ± 2.20	0.40 b ± 0.51	0.40 b ± 0.51	0.20 b ± 0.42	0.30 b ± 0.48

					(×10 ^{6} /مل)

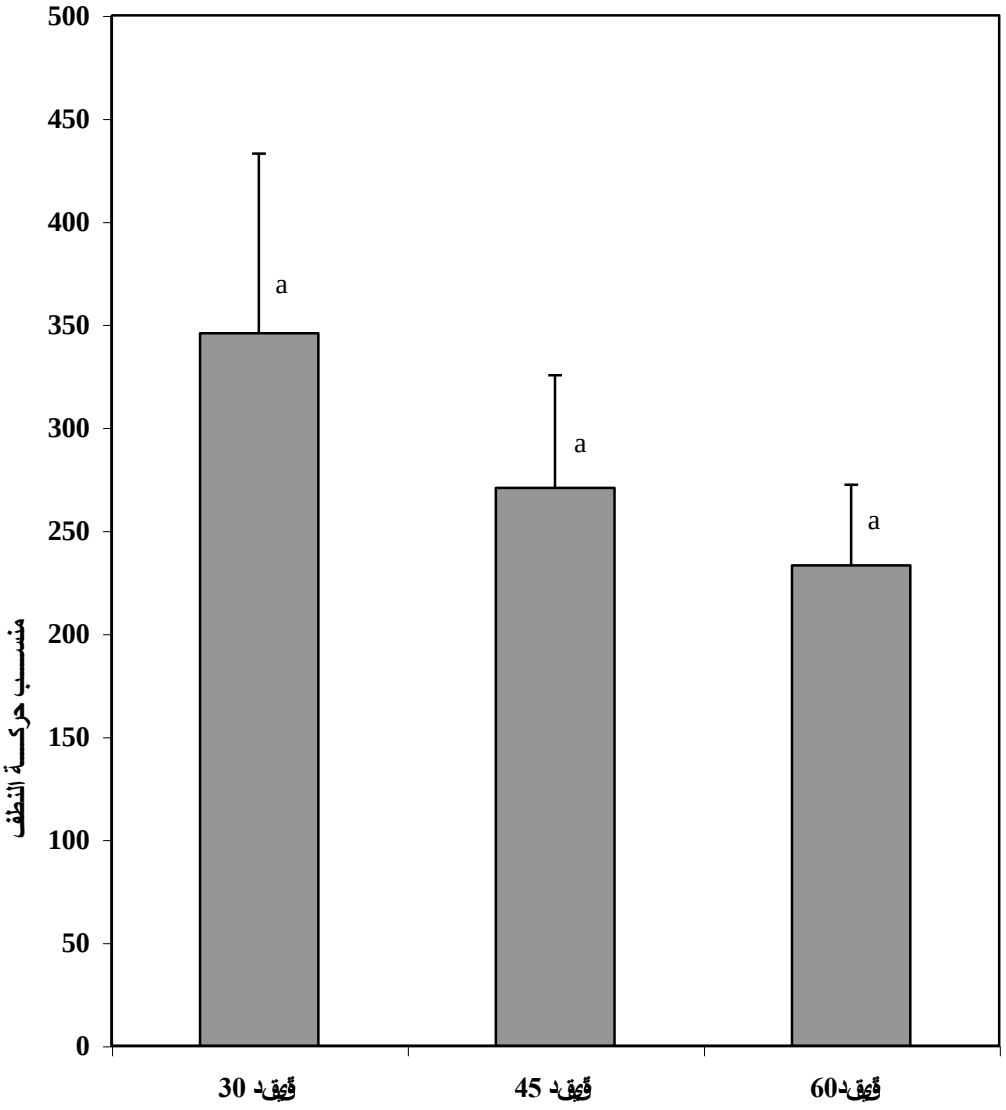
عدد المرضى = 10
(P<0.001) الحروف المختلفة دلالة على المعنوية .

جدول (3-3) : معالم النطف قبل و بعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطــف بأستخدام المستنبت ايرل و التراكيز المختلفة من الكافائين و لفترة حضن 60 دقيقة .

(المعدل ± الانحراف المعياري)

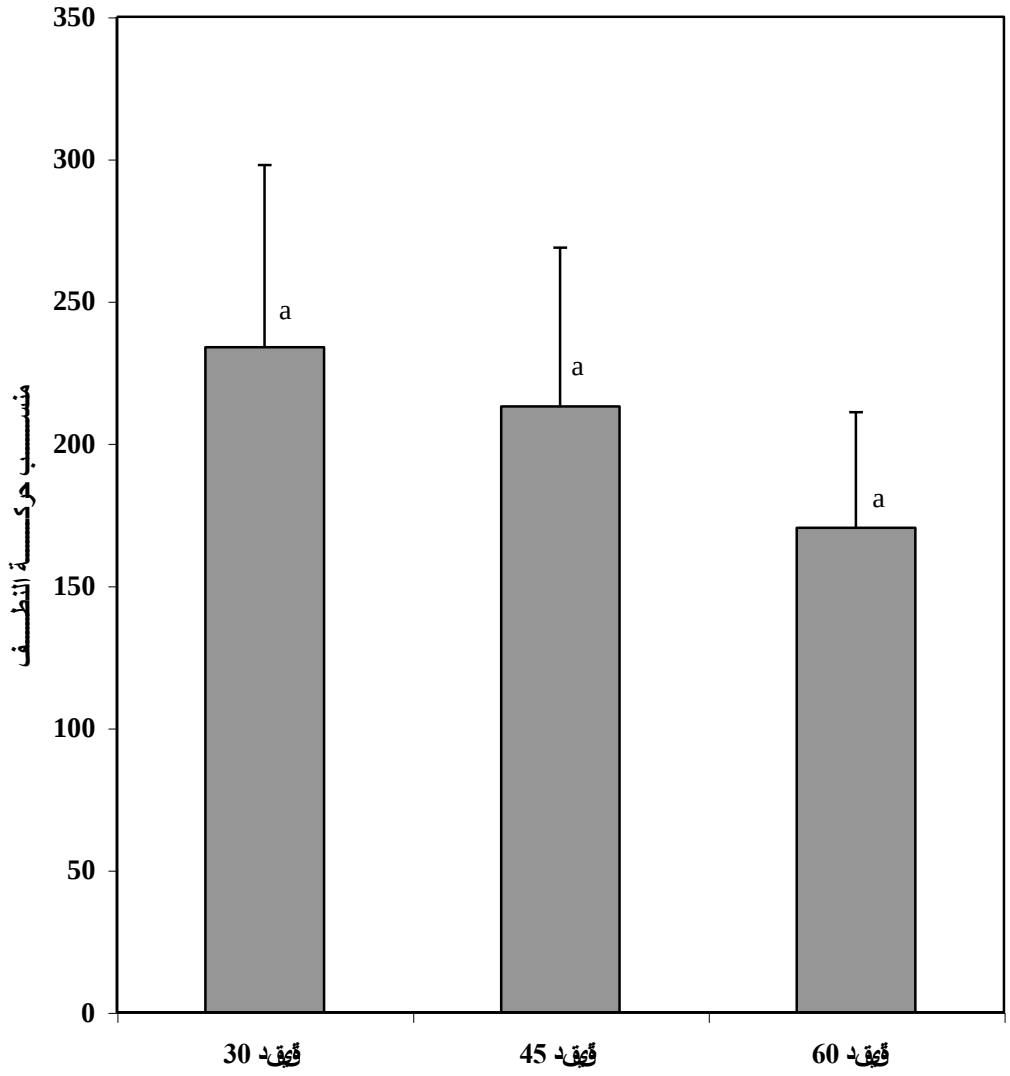
معالم النطف	قبل التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)	بعد التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)			
		مجموعة السيطرة (ايرل لوحده)	**ايرل + الكافائين التركيز (مولاري)**		
			0.043	**0.074**	**0.097**
تركيز النطف (×10 ^{6} / مل)	49.00 ^{a} ± 23.66	8.80 ^{b} ± 6.16	9.20 ^{b} ± 5.57	10.00 ^{b} ± 5.45	9.00 ^{b} ± 6.03
النسبة المئوية للنطف المتحركة	29.00 ^{a} ± 11.25	53.50 ^{b} ± 23.81	66.50 ^{b} ± 17.00	55.50 ^{b} ± 18.32	52.00 ^{b} ± 15.49
درجة نشاط النطف	1.70 ^{a} ± 0.67	2.72 ^{*b} ± 1.21	3.25 ^{*b} ± 0.76	2.85 ^{*b} ± 0.76	2.70 ^{*b} ± 0.67
النسبة المئوية للنطف غير السوية	46.50 ^{a} ± 11.06	19.41 ^{b} ± 13.83	20.64 ^{b} ± 5.47	18.46 ^{b} ± 8.94	19.26 ^{b} ± 9.84
تركيز الكريات البيض و الخلايا البلعمية (×10 ^{6} /مل)	4.80 ^{a} ± 2.20	0.40 ^{b} ± 0.51	0.50 ^{b} ± 0.52	0.40 ^{b} ± 0.51	0.20 ^{b} ± 0.42

عدد المرضى = 10
(P<0.001) ، *(P<0.01)الحروف المختلفة دلالة على المعنوية .



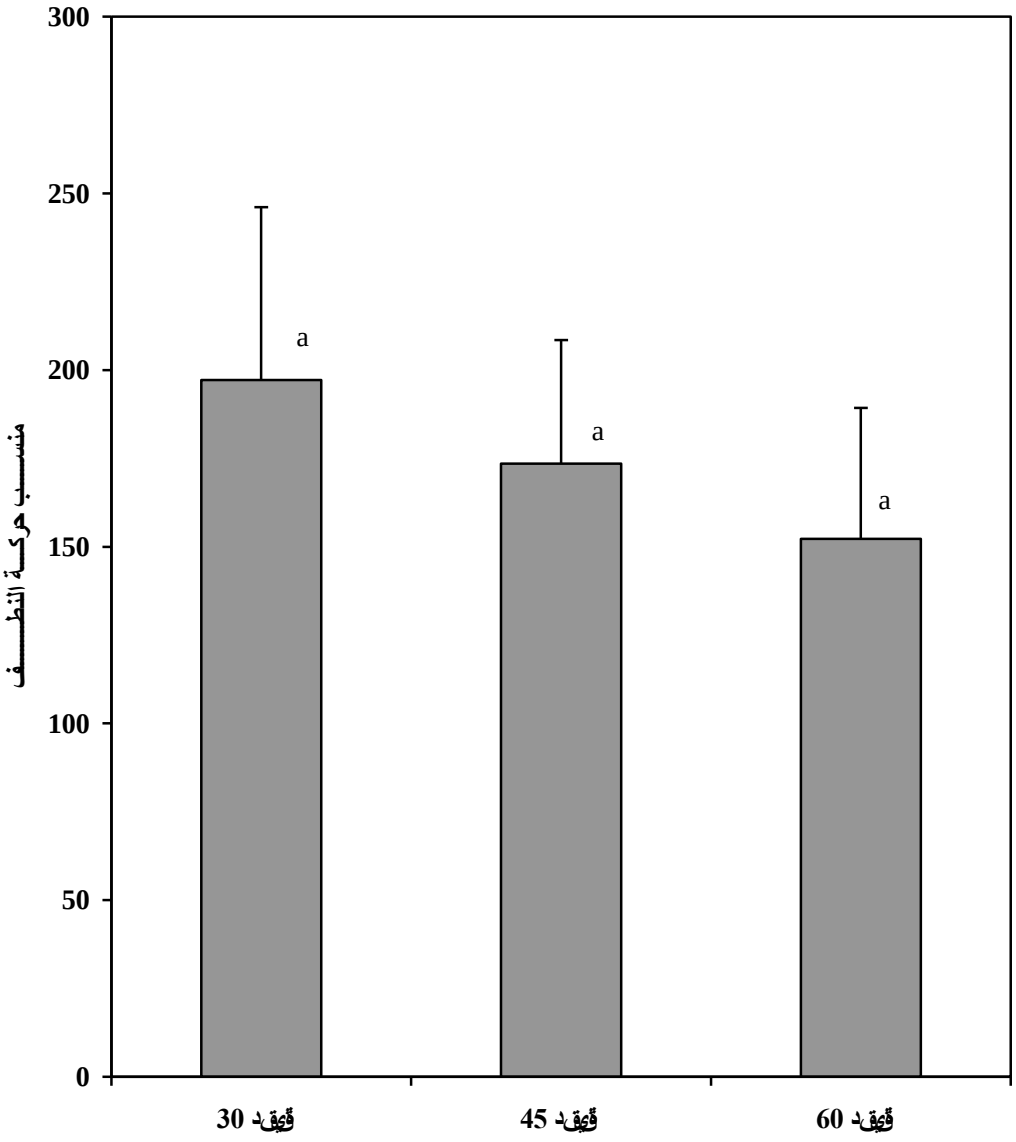
شكل (4-3) : مقارنة قيم منسوب حركة النطف لفترات التخزين المختلفة بأستخدام الكافائن بتركيز (340.0 ملاري) مع المستنبت ايول.

(P>0.05) فرق غير معنوي



شكل (5-3) : مقارنة قيم منسوب حركة النطف لفترات التخزين المختلفة باستخدام الكافائين بتركيز (470.0 مولاري) مع المستنبت ايول.

(P>0.05) فرق غير معنوي



شكل(3-6) : مقارنة قيم منسوب حركة النطف لمستربك التخزين المختلفة باستخدام الكافائن بتركيز(790.0 ملاري) مع المستنبت ايول.

(P>0.05) فرق غير معنوي

جدول (3-4) : معالم النطف قبل و بعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف بأستخدام المحلول الفسيولوجي السكري و التراكيز المختلفة من الكافائين و لفترة حضن 30 دقيقة .

(المعدل ± الانحراف المعياري)

معالم النطف	قبل التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)	بعد التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)			
		مجموعة السيطرة (المحلول الفسيولوجي السكري فقط)	المحلول الفسيولوجي السكري + الكافائين التركيز (مولاري)		
			0.043	0.074	0.097
تركيز النطف (× 10 ^{6} / مل)	55.60 ^{a} ± 27.65	10.00 ^{b} ± 5.23	10.40 ^{b} ± 5.94	9.90 ^{b} ± 5.78	10.10 ^{b} ± 6.87
النسبة المئوية للنطف المتحركة	33.50 ^{a} ± 8.51	51.00 ^{b} ± 9.94	72.00 ^{c} ± 12.51	59.50 ^{b} ± 14.42	58.50 ^{b} ± 16.50
درجة نشاط النطف	2.02 ^{a} ± 0.39	3.00 ^{b} ± 0.35	3.74 ^{c} ± 0.53	3.30 ^{b} ± 0.42	3.21 ^{b} ± 0.43
النسبة المئوية للنطف غير السوية	51.45 ^{a} ± 13.42	20.68 ^{b} ± 6.45	21.06 ^{b} ± 5.53	19.57 ^{b} ± 8.57	22.40 ^{b} ± 12.35
تركيز الكريات البيض و الخلايا البلعمية (×10 ^{6}/مل)	4.20 ^{a} ± 2.39	0.40 ^{b} ± 0.51	0.30 ^{b} ± 0.48	0.20 ^{b} ± 0.42	0.30 ^{b} ± 0.48

عدد المرضى = 10
(P<0.001) الحروف المختلفة دلالة على المعنوية .

جدول (3-5) : معالم النطف قبل و بعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف بأستخدام المحلول الفسيولوجي السكري و التراكيز المختلفة من الكافائين و لفترة حضن 45 دقيقة .

(المعدل ± الانحراف المعياري)

معالم النطف	قبل التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)	بعد التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)			
		مجموعة السيطرة (المحلول الفسيولوجي السكري فقط)	المحلول الفسيولوجي السكري + الكافائين التركيز (مولاري)		
			0.043	0.074	0.097

تركيز النطف (× 10 ^{6} /مل)	55.60 ^{a} ± 27.65	10.70 ^{b} ± 6.09	12.30 ^{b} ± 5.94	11.30 ^{b} ± 5.96	11.60 ^{b} ± 6.52
النسبة المئوية للنطف المتحركة	33.50 ^{a} ± 8.51	60.00 ^{cb} ±14.52	67.50 ^{c} ± 9.20	58.00 ^{b} ± 8.23	56.00 ^{b} ± 8.09
درجة نشاط النطف	2.02 ^{a} ± 0.39	3.30 ^{cb} ± 0.32	3.52 ^{c} ± 0.24	3.22 ^{b} ± 0.24	3.15 ^{b} ± 0.21
النسبة المئوية للنطف غير السوية	51.45 ^{a} ± 13.42	22.40 ^{b} ± 6.80	20.91 ^{b} ± 4.59	20.24 ^{b} ± 4.50	21.53 ^{b} ± 5.66
تركيز الكريات البيض و الخلايا البلعمية (×10 ^{6} /مل)	4.20 ^{a} ± 2.39	0.40 ^{b} ± 0.69	0.30 ^{b} ± 0.48	0.30 ^{b} ± 0.48	0.40 ^{b} ± 0.51

عدد المرضى = 10
(P<0.001) الحروف المختلفة دلالة على المعنوية .

جدول (3-6) : معالم النطف قبل و بعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف بأستخدام المحلول الفسيولوجي السكري و التراكيز المختلفة من الكافائين و لفترة حضن 60 دقيقة .

(المعدل ± الانحراف المعياري)

معالم النطف	قبل التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)	بعد التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)			
		مجموعة السيطرة (المحلول الفسيولوجي السكري فقط)	**المحلول الفسيولوجي السكري + الكافائين التركيز (مولاري)**		
			0.043	**0.074**	**0.097**
تركيز النطف (× 10 ^{6} / مل)	55.60 ^{a} ± 27.65	11.20 ^{b} ± 7.19	14.00 ^{b} ± 8.16	11.20 ^{b} ± 6.76	11.00 ^{b} ± 7.00
النسبة المئوية للنطف المتحركة	33.50 ^{a} ± 8.51	61.50 ^{b} ± 9.73	62.00 ^{b} ± 11.59	52.50 ^{c} ± 9.20	48.50 ^{c} ± 7.83
درجة نشاط النطف	2.02 ^{a} ± 0.39	3.26 ^{b} ± 0.47	3.18 ^{b} ± 0.39	2.82 ^{c} ± 0.23	2.58 ^{c} ± 0.28
النسبة المئوية للنطف غير السوية	51.45 ^{a} ± 13.42	22.77 ^{b} ± 12.73	20.62 ^{b} ± 9.32	21.92 ^{b} ± 9.72	21.18 ^{b} ± 8.64
تركيز الكريات البيض و الخلايا البلعمية	4.20 ^{a} ± 2.39	0.30 ^{b} ± 0.48	0.30 ^{b} ± 0.48	0.40 ^{b} ± 0.51	0.20 ^{b} ± 0.42

					(×10 ^{6}/ مل)

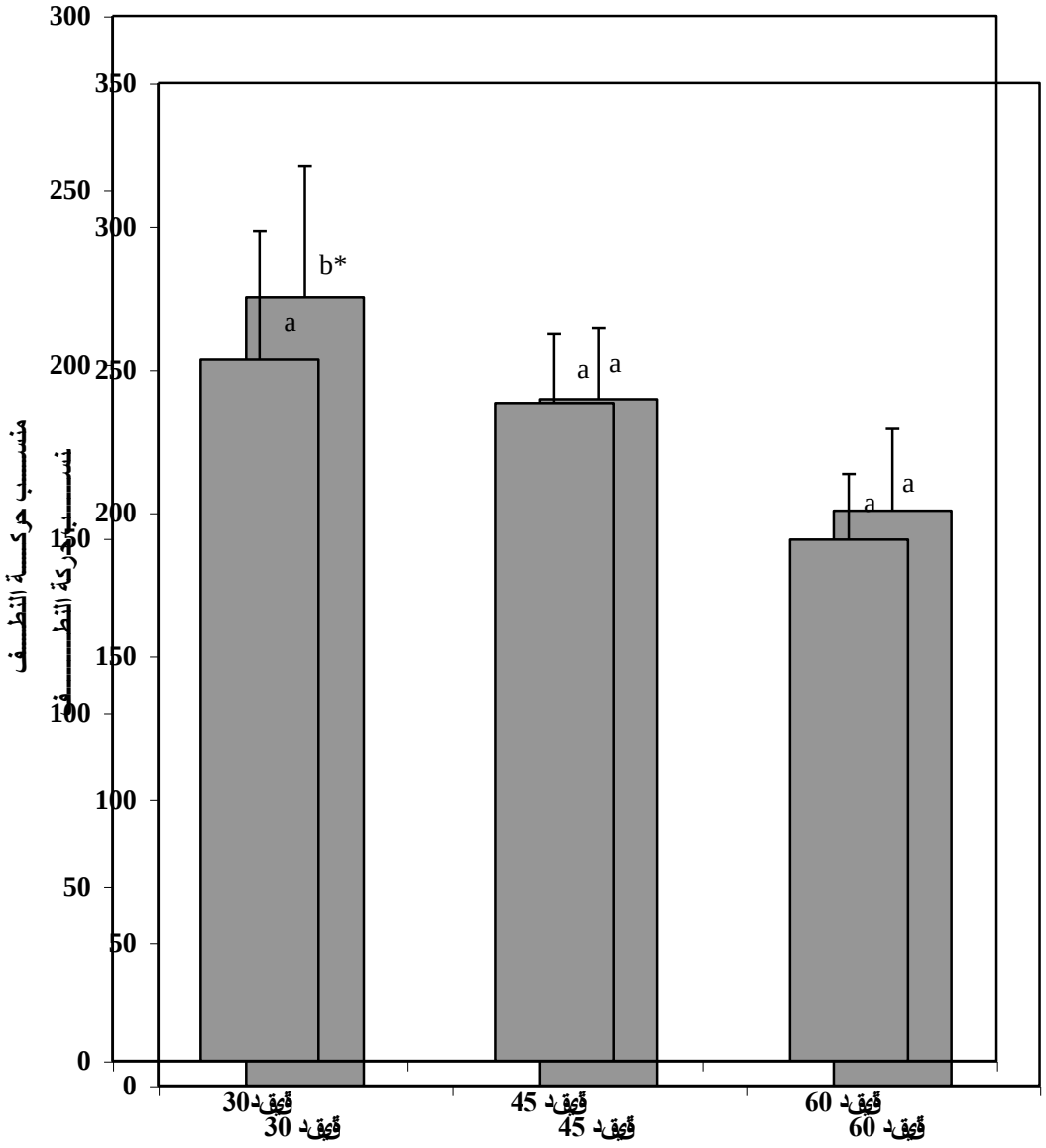
عدد المرضى = 10
(P<0.001) الحروف المختلفة دلالة على المعنوية .

يبين الشكل 3-7 حدوث زيادة معنوية (P< 0.05) في منسب حركة النطف و لفترة حضن 30دقيقة مقارنة مع فترتي الحضن الاخرى عند استخدام التركيز 0.043 من الكافائين مع المحلول الفسيولوجي السكري ، اما عند استخدام التركيز 0.074 فقد اظهرت النتائج عدم وجود أي فرق معنوي بين قيم منسب حركة النطف و لفترات الحضن المختلفة . (شكل 3-8) . و بالنسبة للتركيز 0.097 فقد لوحظ حدوث زيادة معنوية (P< 0.01) في قيم منسب حركة النطف عند فترتي الحضن 30 و 45 دقيقة مقارنة مع 60 دقيقة . (شكل 3-9) .

لدى مقارنة قيم منسب حركة النطف لتراكيز الكافائين المستخدمة مع كل من المستنبت ايرل و المحلول الفسيولوجي السكري ، لم يلاحظ وجود أي فرق معنوي (P> 0.05) في قيم منسب حركة النطف لكافة المجاميع و لفترة حضن 30 و 45 و 60 دقيقة .(شكل 3-10 و3 -11 و 3-12) .

سببت اضافة التراكيز 6.818 و 12.500 مايكروغرام/مل من الموثين $F_2\alpha$ الى المحلول الفسيولوجي السكري زيادة معنوية (P< 0.001) في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف مقارنة مع مجموعة السيطرة ، و لم يظهر أي فرق معنوي بين التركيزين كما لم يلاحظ وجود فروقات معنوية في كل من تركيز النطف المسترجعة ، النسبة المئوية للنطف غير السوية و تركيز الكريات البيض و الخلايا البلعمية بين التراكيز المختلفة من الموثين $F_2\alpha$ و مجموعة السيطرة و لفترة حضن 30 دقيقة . (جدول 3-7) . بينما لم يظهر وجود أي فرق معنوي و لمعالم النطف كافة عند اضافة التراكيز المختلفة من الموثين $F_2\alpha$ مقارنة مع مجموعة السيطرة و لفترتي الحضن 45 و 60 دقيقة . (جدول 3-8 و 3-9) .

اظهرت نتائج مقارنة قيم منسب حركة النطف و لفترات التحضين المختلفة بأستخدام التركيز 4.245 مايكروغرام /مل من الموثين $F_2\alpha$ حدوث زيادة معنوية (P< 0.01) في منسب حركة النطف و لفترة حضن 45 و 60 دقيقة مقارنة مع 30دقيقة . (شكل 3-13) . بينما لم يلاحظ وجود أي فرق معنوي (P> 0.05) في منسب حركة النطف و لفترات التحضين المختلفة عند اضافة التركيز 6.818 أو 12.500 من الموثين $F_2\alpha$ الى المحلول الفسيولوجي السكري .(شكل 3-14 و 3-15) .

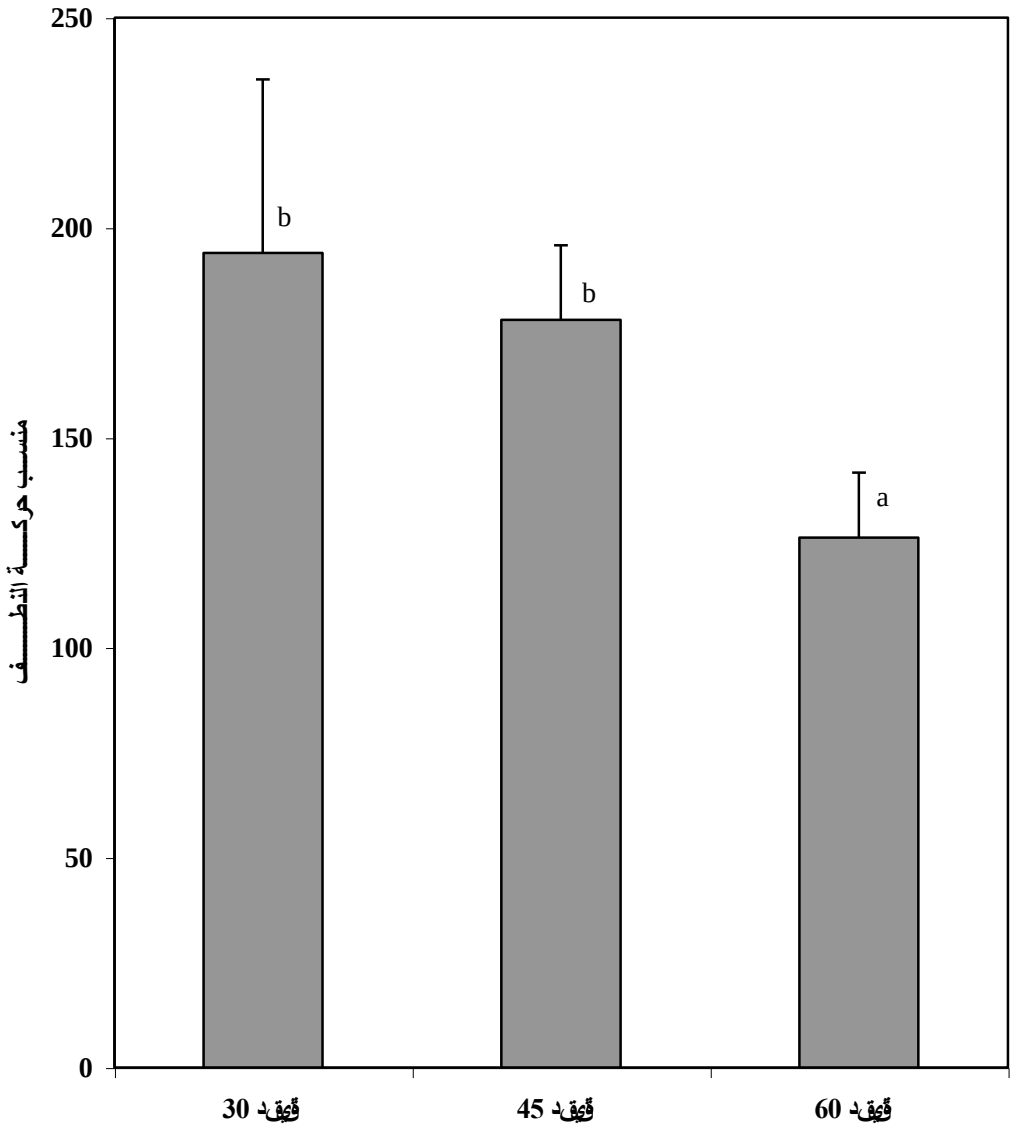


شكل (3-8) مقارنة قيم منسوب حركة النطاف لفترات التضخين المختلفة باستخدام الكاشف البرقي (0.470 ولاري)
مع الحدود الدنيا والعليا للمدى الطبيعي.

شكل (3-7) مقارنة قيم منسوب حركة النطاف لفترات التضخين المختلفة باستخدام الكاشف البرقي (0.470 ولاري)
مع الحدود الدنيا والعليا للمدى الطبيعي.

فرق غير معنوي (P>0.05)
* b فرق معنوي عن 60 دقيقة فقط (P<0.05)

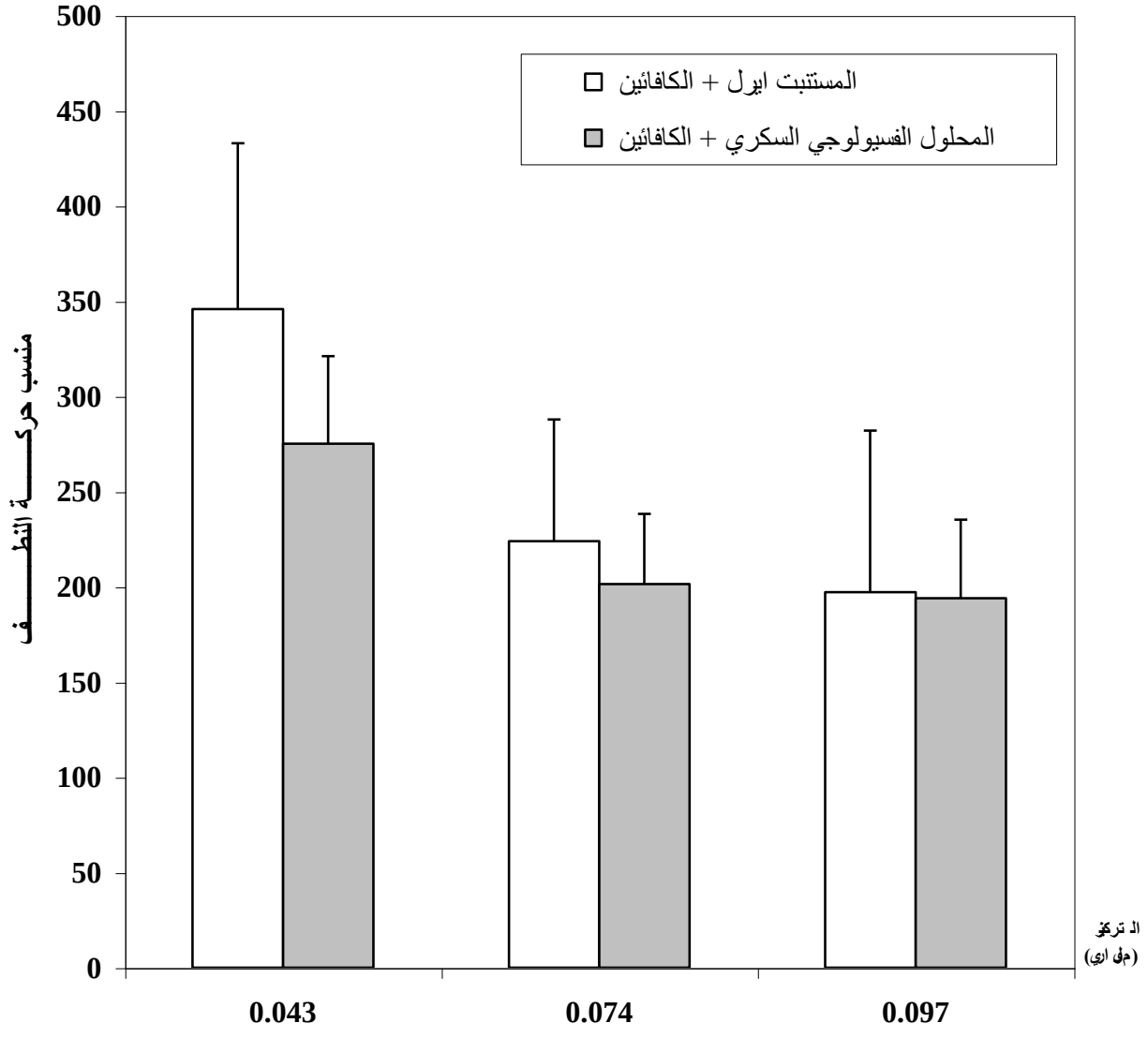
الحروف المختلفة دلالة على المعنوية



شكل (3-9): مقارنة قيم منسب حركة الدقيق لفترات التقنين المختلفة بإستخدام الكافائن بتركيز (790.0 مولاري) مع المحلول الفسيولوجي السكري

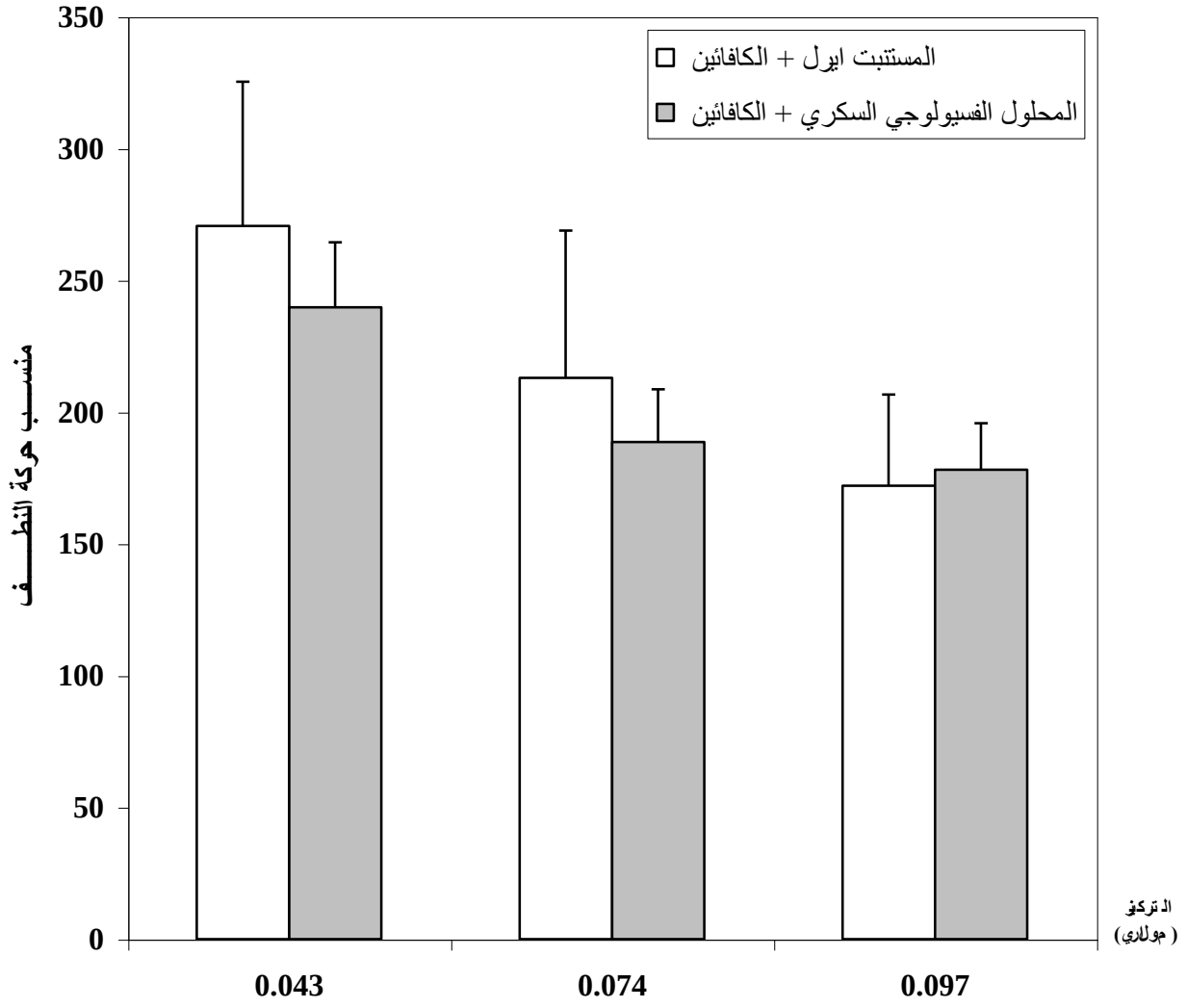
b (P10.0>) فرق معنوي

الحروف المختلفة دلالة على المعنوية



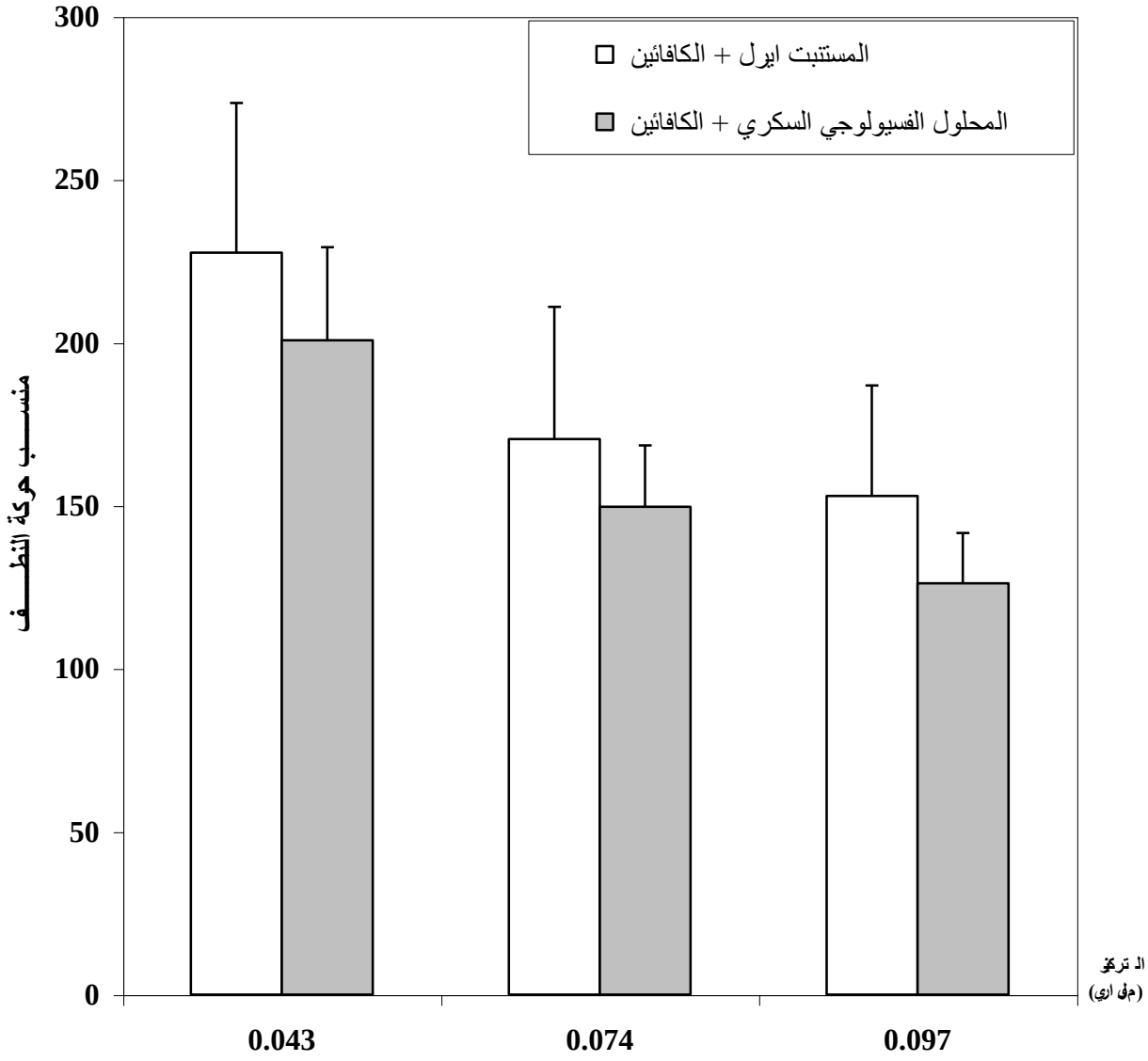
شكل (3-01) : ضرب حركة التطف لتراكيز الكفوي ن لمختلف ة في كل من الـ مستنبت ايرل و المحـ لول الـ فسيولوجي السكري ولفترة ضن 03 دقيقة .

(P>0.05) فرق غير معنوي لـ كافة المجام يع



شكل (3-11) : ضرب حركة التطفل لتركيز الكفوي ن لمختلفة في كل من المستنبت ايرل والمحلول الفسيولوجي السكري لفترة التحضين 54 دقيقة .

فرق غير معنوي لكافة المجاميع (P>0.05)



شكل (3-21) : يوضح حركة النطاف لتوكيز الكفاءين المختلف ففي كل من المستنبت ايرل و المحلول الفسيولوجي السكري و لفترة التضين 06 دقيقة .

(P>0.05) فرق غير معنوي لكافة المجاميع

جدول (3-7) : معالم النطف قبل و بعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف بأستخدام المحلول الفسيولوجي السكري و التراكيز المختلفة من الموثين F2α و لفترة حضن 30 دقيقة .

(المعدل ± الانحراف المعياري)

معالم النطف	قبل التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)	بعد التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)			
		مجموعة السيطرة (المحلول الفسيولوجي السكري فقط)	المحلول الفسيولوجي السكري + الموثين التركيز (مايكروغرام / مل)		
			4.245	6.818	12.500
تركيز النطف (× 10 ^{6} / مل)	37.40 ^{a} ± 14.53	6.20 ^{b} ± 5.20	7.40 ^{b} ± 7.60	6.10 ^{b} ± 6.96	5.60 ^{b} ±7.26
النسبة المئوية للنطف المتحركة	33.50 ^{a} ± 4.11	58.50 ^{b} ± 5.79	62.00 ^{b} ± 4.21	66.50 ^{*c} ± 6.25	69.50 ^{c} ± 8.64
درجة نشاط النطف	1.81 ^{a} ± 0.44	3.20 ^{b} ± 0.08	3.25 ^{b} ± 0.12	3.40 ^{*c} ± 0.20	3.47 ^{c} ± 0.24
النسبة المئوية للنطف غير السوية	43.06 ^{a} ± 12.67	13.60 ^{b} ± 6.26	14.97 ^{b} ± 7.46	13.27 ^{b} ± 7.42	13.00 ^{b} ± 4.98
تركيز الكريات البيض و الخلايا البلعمية (×10 ^{6} /مل)	2.60 ^{a} ± 0.69	0.12 ^{b} ± 0.21	0.10 ^{b} ± 0.31	0.12 ^{b} ± 0.31	0.15 ^{b} ± 0.24

عدد المرضى = 10
(P<0.001) الحروف المختلفة دلالة على المعنوية .
* فرق معنوي مقارنة بمجموعة السيطرة فقط .

جدول (3-8) : معالم النطف قبل و بعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف بأستخدام المحلول الفسيولوجي السكري و التراكيز المختلفة من الموثين F2α و لفترة حضن 45 دقيقة .

(المعدل ± الانحراف المعياري)

معالم النطف	قبل التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)	بعد التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)			
		مجموعة السيطرة (المحلول الفسيولوجي السكري فقط)	المحلول الفسيولوجي السكري + الموثين التركيز (مايكروغرام /مل)		
			4.245	6.818	12.500

تركيز النطف (× 10 ^{6} / مل)	37.40 ^{a} ± 14.53	6.00 ^{b} ± 5.09	7.10 ^{b} ± 5.97	7.70 ^{b} ± 4.16	6.60 ^{b} ± 3.40
النسبة المئوية للنطف المتحركة	33.50 ^{a} ± 4.11	64.50 ^{b} ± 5.50	65.00 ^{b} ± 4.71	68.00 ^{b} ± 7.52	69.00 ^{b} ±10.21
درجة نشاط النطف	1.81 ^{a} ± 0.44	3.31 ^{b} ± 0.09	3.38 ^{b} ± 0.12	3.47 ^{b} ± 0.27	3.45 ^{b} ± 0.29
النسبة المئوية للنطف غير السوية	43.06 ^{a} ± 12.67	13.50 ^{b} ± 5.15	11.10 ^{b} ± 3.19	10.21 ^{b} ± 3.37	11.39 ^{b} ± 3.48
تركيز الكريات البيض و الخلايا البلعمية (×10 ^{6} /مل)	2.60 ^{a} ± 0.69	0.07 ^{b} ± 0.16	0.10 ^{b} ± 0.21	0.15 ^{b} ± 0.33	0.20 ^{b} ± 0.42

عدد المرضى = 10
(P<0.001) الحروف المختلفة دلالة على المعنوية .

جدول (3-9) : معالم النطف قبل و بعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف بأستخدام المحلول الفسيولوجي السكري و التراكيز المختلفة من الموثين F2α و لفترة حضن 60 دقيقة .

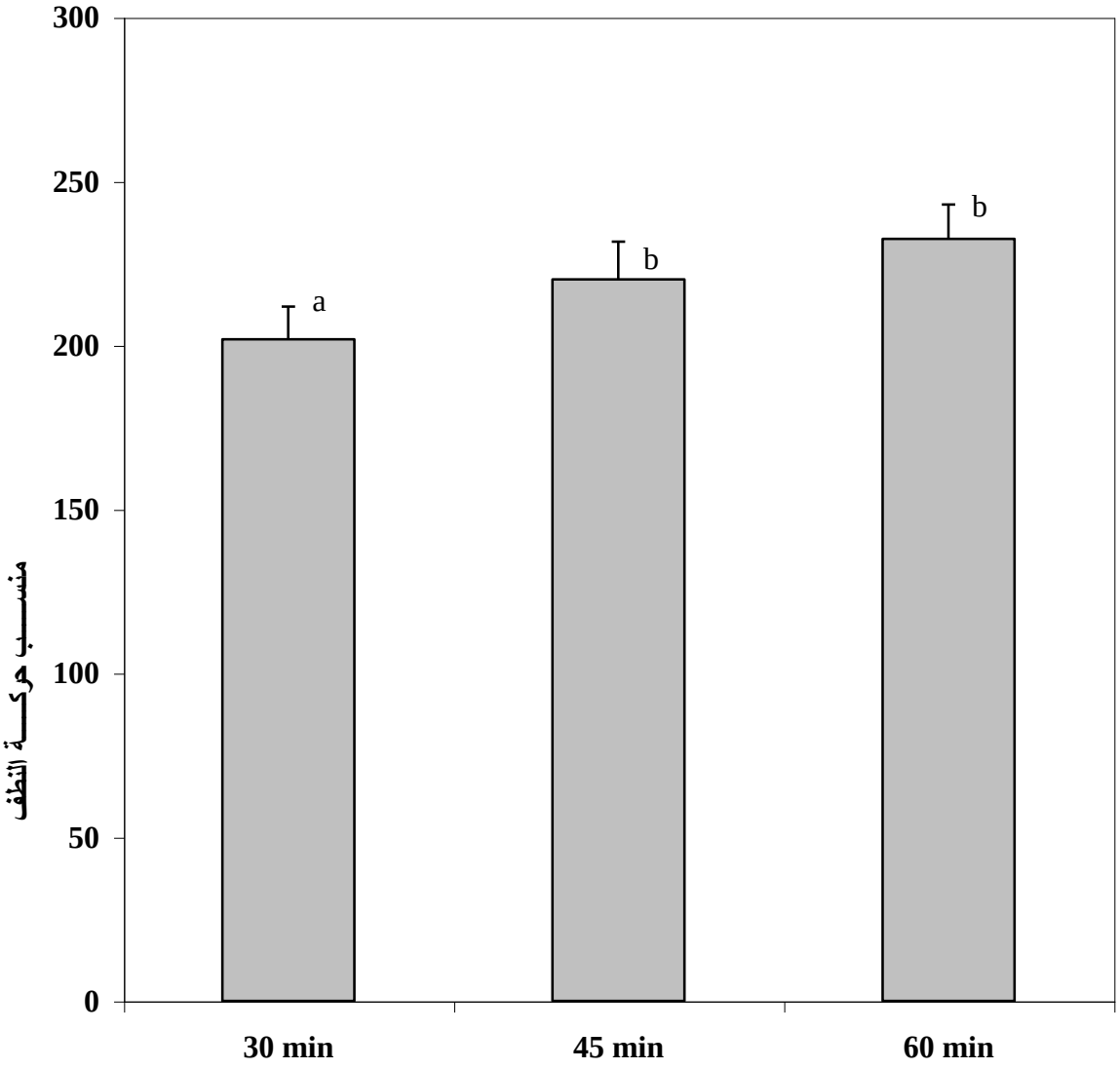
(المعدل ± الانحراف المعياري)

معالم النطف	قبل التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)	بعد التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)			
		مجموعة السيطرة (المحلول الفسيولوجي السكري فقط)	**المحلول الفسيولوجي السكري + الموثين التركيز (مايكروغرام / مل)**		
			4.245	**6.818**	**12.500**
تركيز النطف (× 10 ^{6} / مل)	37.40 ^{a} ± 14.53	6.60 ^{b} ± 7.01	6.80 ^{b} ± 3.19	7.30 ^{b} ± 4.29	7.40 ^{b} ±2.95
النسبة المئوية للنطف المتحركة	33.50 ^{a} ± 4.11	68.50 ^{b} ± 5.79	67.50 ^{b} ± 4.85	70.00 ^{b} ± 4.08	66.00 ^{b} ± 9.06
درجة نشاط النطف	1.81 ^{a} ± 0.44	3.42 ^{b} ± 0.16	3.44 ^{b} ± 0.11	3.49 ^{b} ± 0.21	3.42 ^{b} ± 0.20
النسبة المئوية للنطف غير السوية	43.06 ^{a} ± 12.67	11.03 ^{b} ± 3.11	10.94 ^{b} ± 3.51	11.03 ^{b} ± 3.91	10.78 ^{b} ± 3.10

تركيز الكريات البيض و الخلايا البلعمية (×10 ^{6} /مل)	2.60 ^{a} ± 0.69	0.15 ^{b} ± 0.33	0.20 ^{b} ± 0.42	0.12 ^{b} ± 0.21	0.10 ^{b} ± 0.31

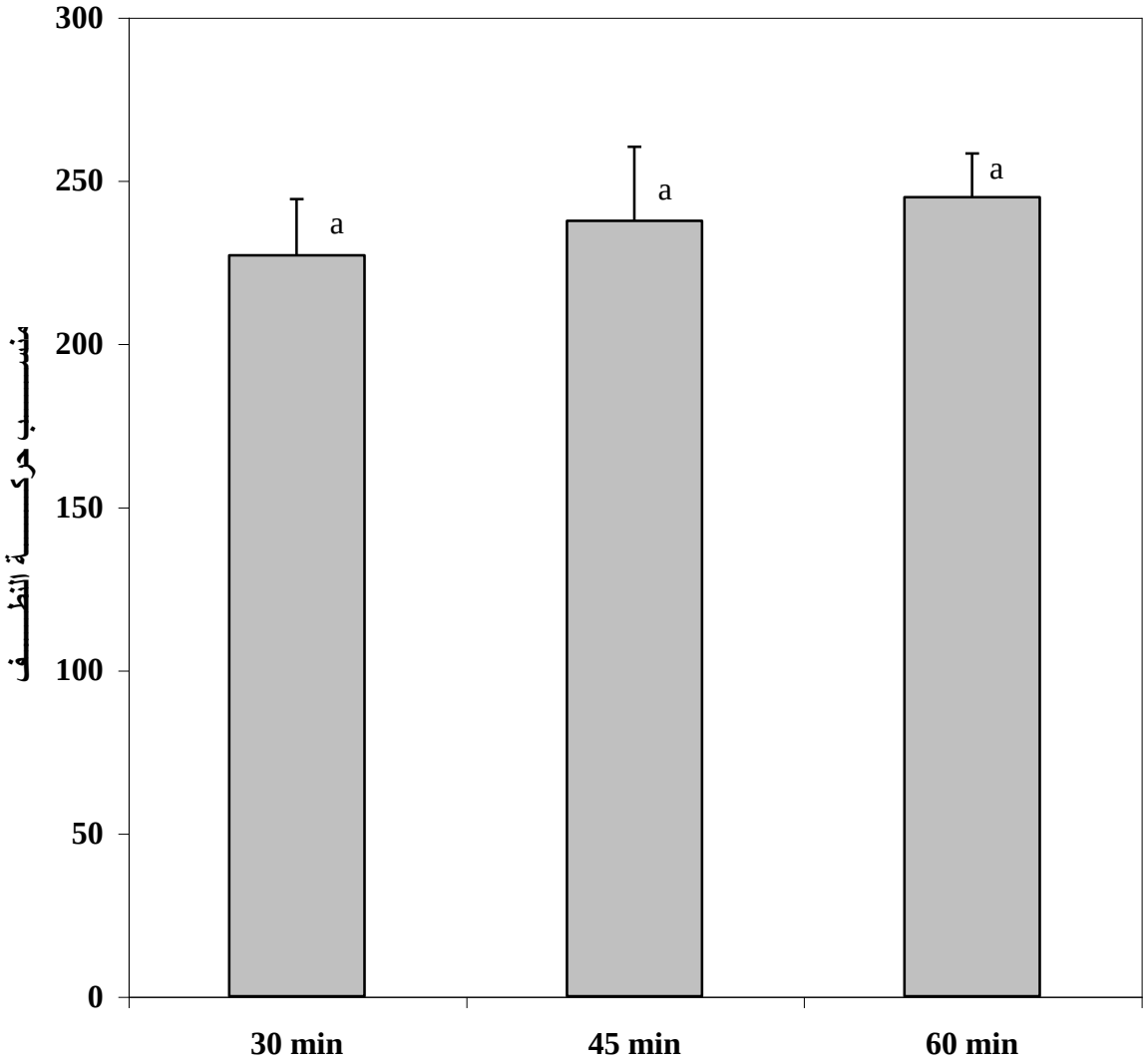
عدد المرضى = 10

(P<0.001) الحروف المختلفة دلالة على المعنوية .



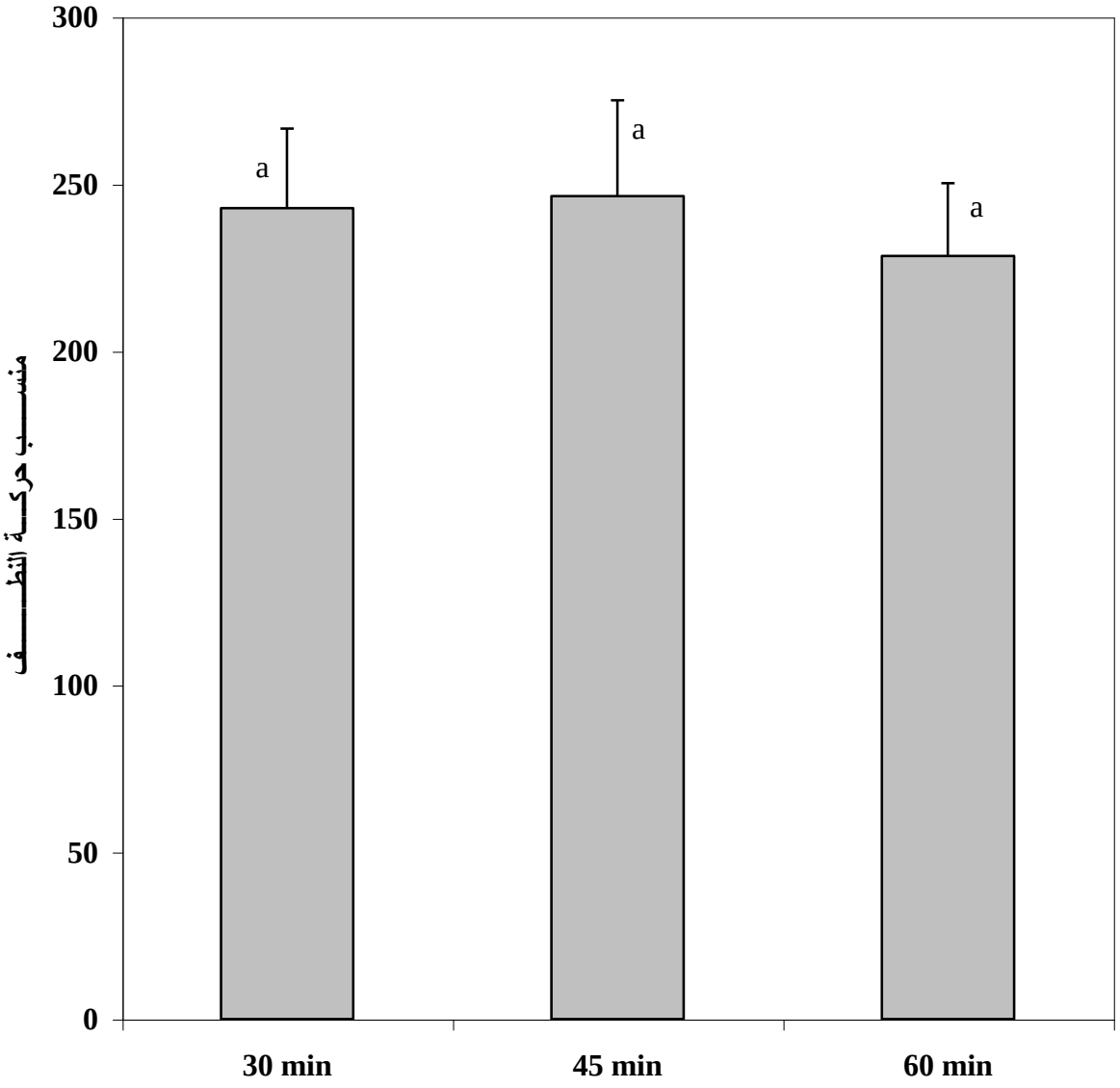
شكل (3-31) : مقارنة قيم معدل حركة النطف المتحررة من الخصيتين المختلفة بأستخدام الموشن F2 وبتركيز مليون/مل) .

فرق معنوي عن 30 دقيقة (P<0.01) b



شكل (3-41) : مقارنة قيم منسوب حركة التطيف لبروتين الـ F2 المختلفة باستخدام الموشن و بتركيز (6.818 ميكروغرام / مل)

(P>0.05) فرق غير معنوي



شكل (3-51): تأثير زمن التحضين المختلفة باستخدام الموشن F2 وبتركيز 12.500 مايكروغرام / مل)

(P>0.05) فرق غير معنوي

يبين جدول 3-10 نتائج تنشيط النطف بأضافة خلات الميدروكسي برجسترون الى المحلول الفسيولوجي السكري و لفترة التحضين 30 دقيقة ، حيث ادت اضافة التراكيز 0.409 ملغم /مل و 0.954 ملغم /مل من خلات الميدروكسي بروجسترون الى حدوث زيادة معنوية في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف مقارنة مع مجموعة السيطرة و التركيز 0.316 ملغم /مل من خلات الميدروكسي بروجسترون .اما عند فترة حضن 45 دقيقة فقد لوحظ حدوث زيادة معنوية ($P< 0.001$) في درجة نشاط النطف للتراكيز كافة مقارنة مع مجموعة السيطرة مع وجود فرق معنوي في درجة نشاط النطف بين التركيز 0.136 و كل من التركيزين 0.409 و 0.954 ، كما لوحظ حدوث الزيادة المعنوية نفسها في النسبة المئوية للنطف المتحركة عند استخدام التركيزين 0.409 و 0.954 مقارنة مع مجموعة السيطرة ، و لم يلاحظ وجود أي فرق معنوي في النسبة المئوية للنطف المتحركة بين التركيز 0.409 و التركيز 0.954 . كما لم يلاحظ وجود أي فرق معنوي في كل من تركيز النطف المسترجعة ، النسبة المئوية للنطف غير السوية و تركيز كريات الدم البيض و الخلايا البلعمية عند استخدام التراكيز المختلفة من خلات الميدروكسي بروجسترون مقارنة مع مجموعة السيطرة . (جدول 3-11) . بينما لوحظ حدوث زيادة معنوية ($P< 0.001$) في كل النسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف بالنسبة للتركيز 0.409 فقط مقارنة مع كل من مجموعة السيطرة و التركيزين 0.136 و 0.954 من خلات الميدروكسي بروجسترون و لفترة حضن 60 دقيقة ، كما لم يلاحظ وجود أي فروق معنوية بالنسبة لتركيز النطف المسترجعة ، النسبة المئوية للنطف غير السوية و تركيز الكريات البيض و الخلايا البلعمية عند اضافة التراكيز المختلفة من خلات الميدروكسي بروجسترون مقارنة مع مجموعة السيطرة . (جدول 3-12) .

اظهرت نتائج مقارنة منسب حركة النطف لفترات التحضين المختلفة و بأستخدام التركيز 0.136 من خلات الميدروكسي بروجسترون حدوث زيادة معنوية ($P< 0.01$) في منسب حركة النطف و لفترة حضن 45 دقيقة مقارنة مع 30 دقيقة فقط . (شكل 3-16) . و لم يلاحظ وجود أي فرق معنوي في قيم منسب حركة النطف و لفترات التحضين المختلفة عند استخدام كل من التركيزين 0.409 و 0.954 من خلات الميدروكسي بروجسترون . (شكل3-17 و 3-18) .

جدول (3-10) : معالم النطف قبل و بعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف بأستخدام المحلول الفسيولوجي السكري و التراكيز المختلفة من خلات الميدروكسي بروجسترون و لفترة حضن 30 دقيقة .

(المعدل ± الانحراف المعياري)

معالم النطف	قبل التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)	بعد التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)			
		مجموعة السيطرة (المحلول الفسيولوجي السكري فقط)	المحلول الفسيولوجي السكري+ خلات الميدروكسي بروجسترون التركيز (ملغم / مل)		
			0.136	0.409	0.954
تركيز النطف	63.20 a	10.90 b	8.80 b	10.10 b	9.10 b

± 4.86	± 8.33	± 6.14	± 8.13	± 22.73	**(× 10 ^{6} /مل)**
70.00 ^{c} ± 13.94	74.50 ^{c} ± 8.31	60.00 ^{b} ± 6.85	53.50 ^{b} ± 8.88	35.50 ^{a} ± 9.26	**النسبة المئوية للنطف المتحركة**
3.55 ^{c} ± 0.40	3.61 ^{c} ± 0.23	3.26 ^{b} ± 0.23	3.05 ^{b} ± 0.30	2.18 ^{a} ± 0.44	**درجة نشاط النطف**
18.67 ^{b} ± 6.94	18.68 ^{b} ± 6.81	17.19 ^{b} ± 6.09	20.00 ^{b} ± 9.35	44.84 ^{a} ± 13.66	**النسبة المئوية للنطف غير السوية**
0.10 ^{b} ± 0.31	0.15 ^{b} ± 0.41	0.22 ^{b} ± 0.33	0.15 ^{b} ± 0.33	2.10 ^{a} ± 1.72	**تركيز الكريات البيض و الخلايا البلعمية (×10 ^{6} /مل)**

عدد المرضى = 10
(P<0.001) الحروف المختلفة دلالة على المعنوية .

جدول (3-11) : معالم النطف قبل و بعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف بأستخدام المحلول الفسيولوجي السكري و التراكيز المختلفة من خلات الميدروكسي بروجسترون و لفترة حضن45 دقيقة .

(المعدل ± الانحراف المعياري)

معالم النطف	قبل التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)	بعد التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)		
		مجموعة السيطرة (المحلول الفسيولوجي السكري فقط)	المحلول الفسيولوجي السكري+ خلات الميدروكسي بروجسترون التركيز (ملغم/مل)	
			0.136	0.409	0.954
تركيز النطف (× 10 ^{6} / مل)	63.20 ^{a} ± 22.73	12.40 ^{b} ± 10.81	8.70 ^{b} ± 4.73	12.10 ^{b} ± 7.06	10.90 ^{b} ± 6.22
النسبة المئوية للنطف المتحركة	35.50 ^{a} ± 9.26	61.50 ^{b} ± 5.79	68.50 ^{b} ± 7.83	79.50 ^{c} ± 6.43	75.50 $^{* bc}$ ± 11.65
درجة نشاط النطف	2.18 ^{a} ± 0.44	3.40 ^{b} ± 0.15	3.59 ^{c} ± 0.21	3.92 ^{d} ± 0.19	3.80 ^{d} ± 0.38
النسبة المئوية للنطف غير السوية	44.84 ^{a} ± 13.66	19.03 ^{b} ± 6.86	18.12 ^{b} ± 8.14	18.77 ^{b} ± 7.54	17.57 ^{b} ± 6.44
تركيز الكريات البيض و	2.10 ^{a}	0.10 ^{b}	0.15 ^{b}	0.20 ^{b}	0.12 ^{b}

الخلايا البلعمية (×10 ^{6} / مل)	± 1.72	± 0.31	± 0.33	± 0.42	± 0.31

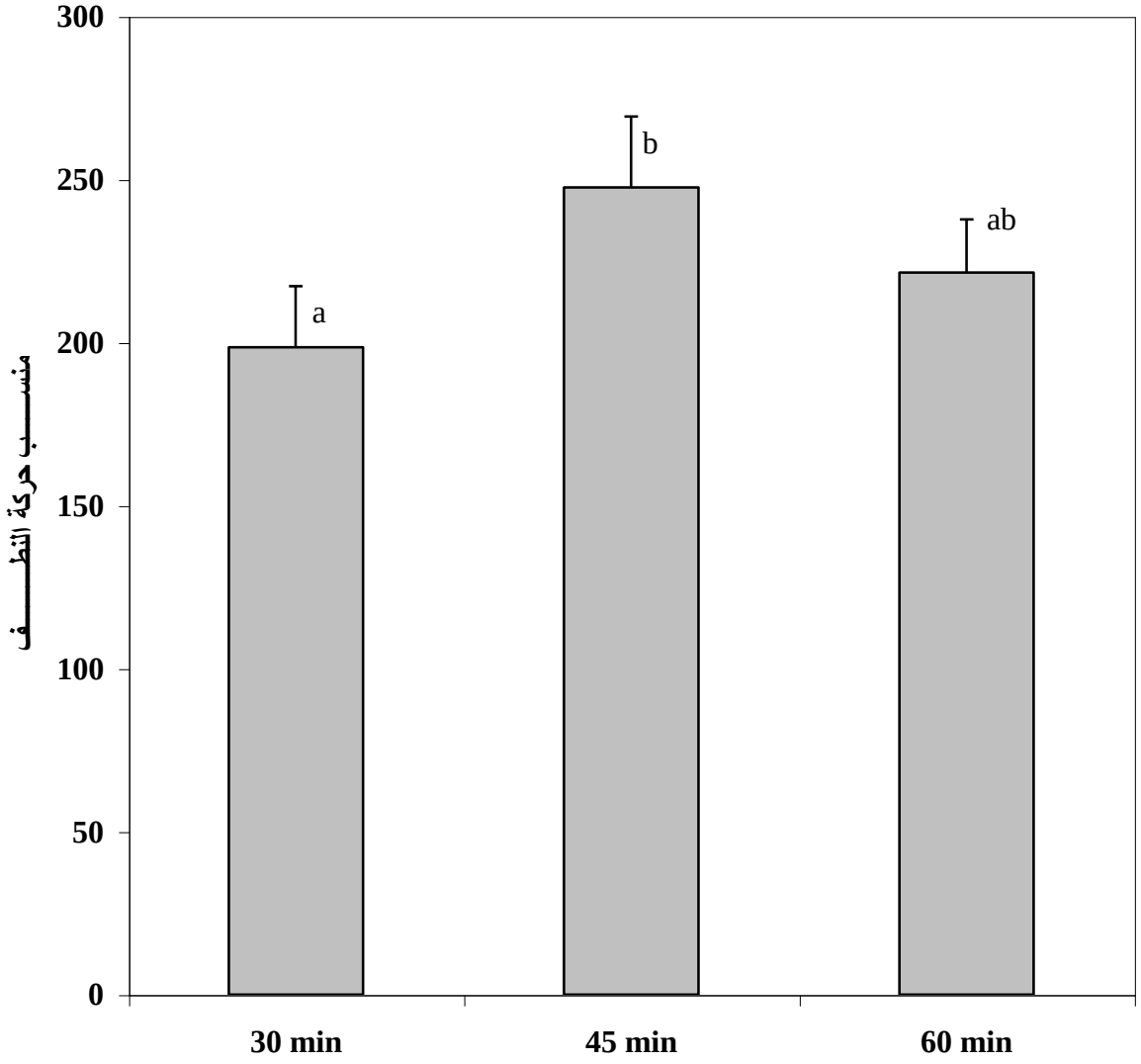
عدد المرضى = 10
(P<0.001) الحروف المختلفة دلالة على المعنوية .
* فرق معنوي مقارنة بالسيطرة فقط .

جدول (3-12) : معالم النطف قبل و بعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف بأستخدام المحلول الفسيولوجي السكري و التراكيز المختلفة من خلات الميدروكسي بروجسترون و لفترة حضن 60 دقيقة .

(المعدل ± الانحراف المعياري)

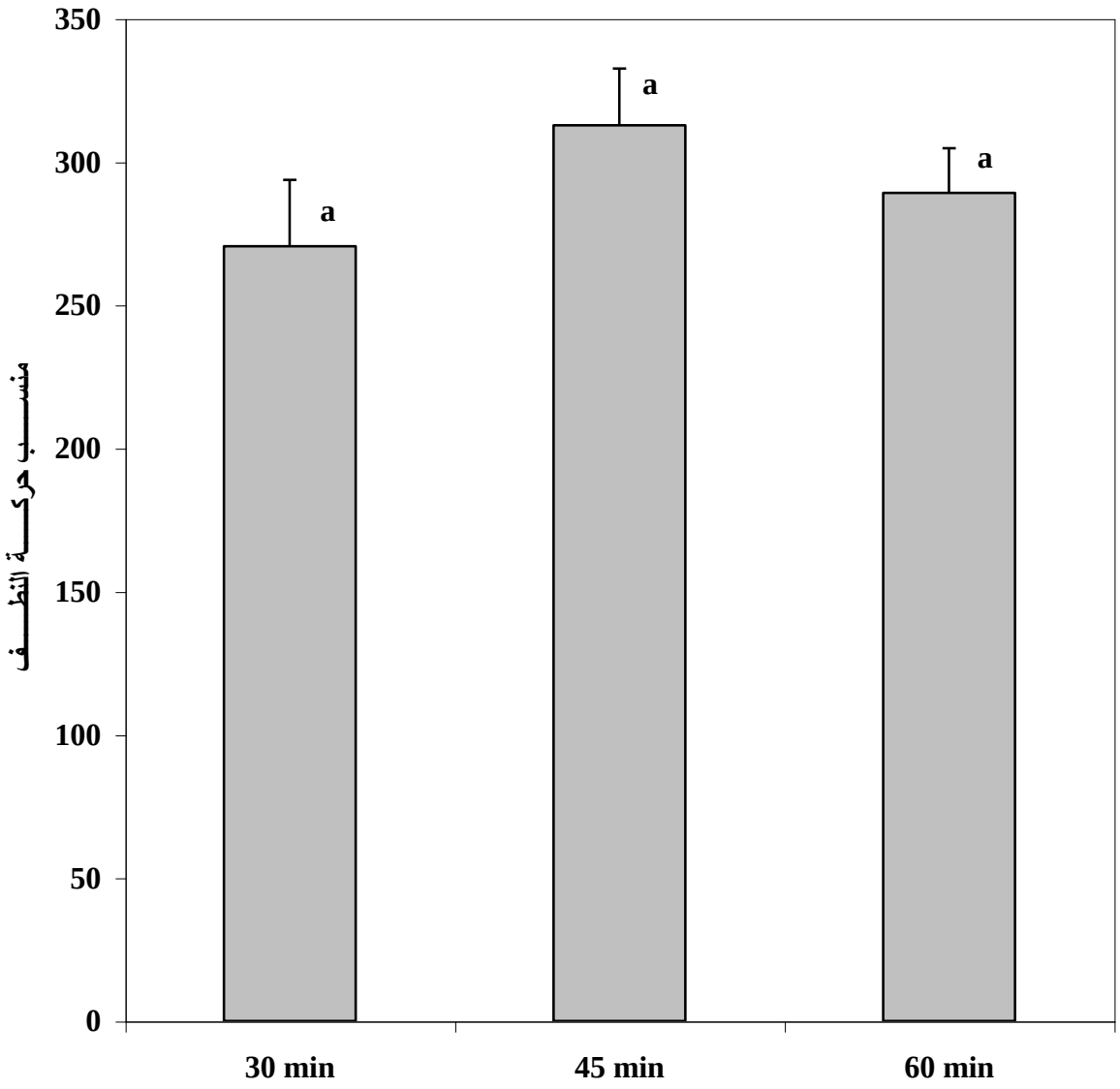
معالم النطف	قبل التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)	بعد التنشيط (المعدل ± الانحراف المعياري)			
		مجموعة السيطرة (المحلول الفسيولوجي السكري فقط)	المحلول الفسيولوجي السكري+ خلات الميدروكسي بروجسترون التركيز (ملغم / مل)		
			0.136	0.409	0.954
تركيز النطف (× 10 ^{6} / مل)	63.20 ^{a} ± 22.73	10.80 ^{b} ± 7.52	9.80 ^{b} ± 4.75	11.70 ^{b} ± 7.31	8.70 ^{b} ± 4.83
النسبة المئوية للنطف المتحركة	35.50 ^{a} ± 9.26	67.00 ^{b} ± 7.14	63.00 ^{b} ± 5.86	75.50 ^{c} ± 4.97	64.50 ^{b} ± 7.97
درجة نشاط النطف	2.18 ^{a} ± 0.44	3.57 ^{b} ± 0.22	3.50 ^{b} ± 0.21	3.82 ^{c} ± 0.19	3.52 ^{b} ± 0.24
النسبة المئوية للنطف غير السوية	44.84 ^{a} ± 13.66	17.20 ^{b} ± 7.64	19.63 ^{b} ± 7.99	18.11 ^{b} ± 8.35	18.23 ^{b} ± 6.45
تركيز الكريات البيض و الخلايا البلعمية (× 10 ^{6} /مل)	2.10 ^{a} ± 1.72	0.10 ^{b} ± 0.21	0.10 ^{b} ± 0.31	0.20 ^{b} ± 0.42	0.15 ^{b} ± 0.33

عدد المرضى = 10
(P<0.001) الحروف المختلفة دلالة على المعنوية .



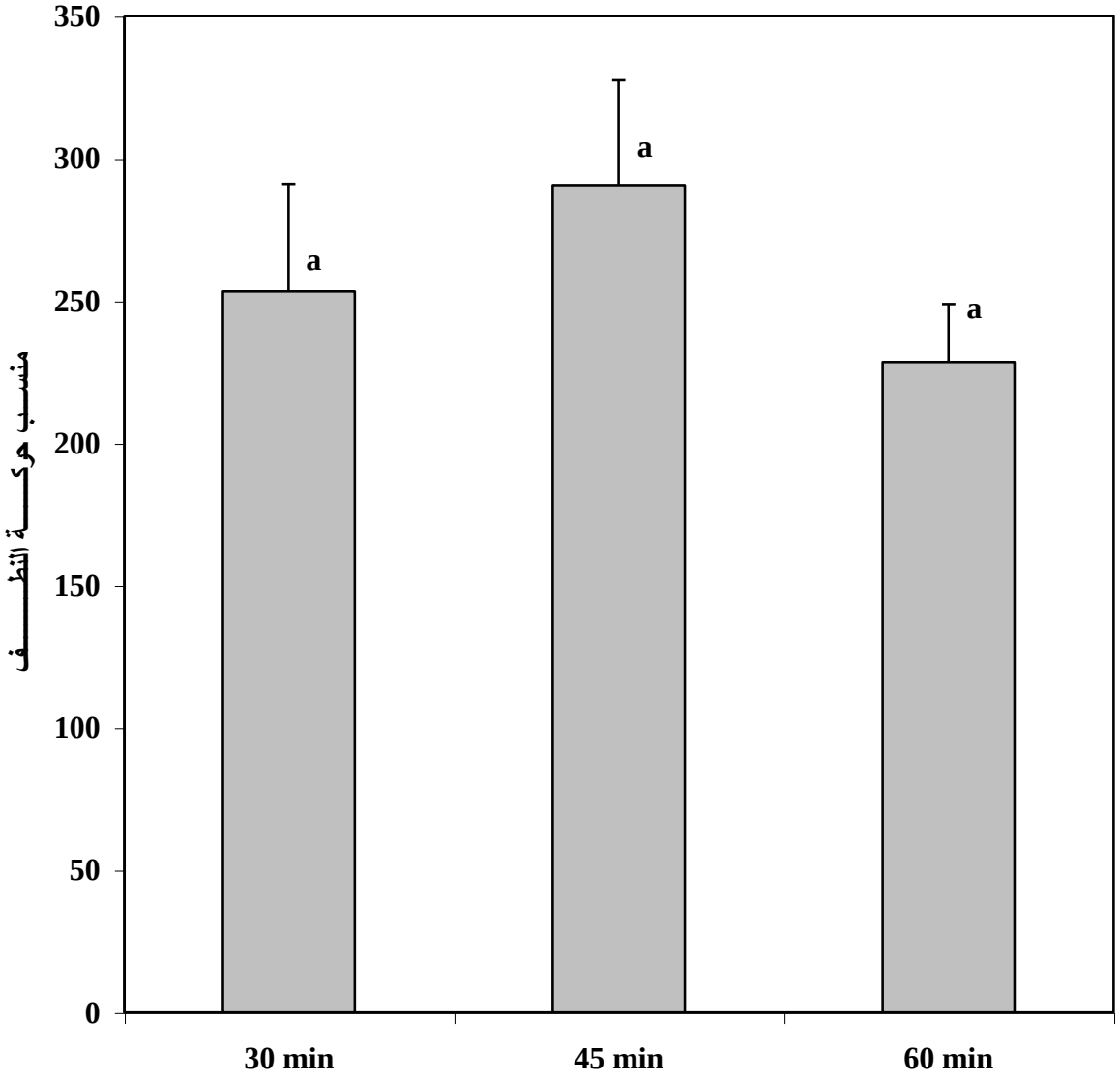
شكل (3-61) : مقارنة بين منسوب حركة الرطف لمترنك لمخين المختلفة بأستخدام محلات الميدرويك بروبيون وبتركيز (0.136 ملغم / لتر) .

b (P<0.01) فرق معنوي عن 30 دقيقة



شكل (3-71) : مقارنة قيم معدل حركة النطف لبخين الدراسة المختلفة باستخدام خلات الميدروكسي بوتيرون وبتركيز (0.409 ملغم / مل).

(P>0.05) فرق غير معنوي



شكل (3-81): تأثير الوقت على معدل حركة التطفل في طور التخزين
المختلفة باستخدام طريقة الميدروميتر بروجتون
وبتركيز 0.954 ملغم / لتر)

(P50.0>) فرق غير معنوي

chapter four الفصل الرابع
Discussion المناقشة

من خلال دراستنا تبين ان العقم الانثوي يشكل 51.32 % ، و العقم الذكري 42.19% ، و العقم المشترك 6.09% و العقم غير المفسر 0.40% (شكل 3-1) . مقارنة مع نتائج مركز Procrea Fertility Center (1997) الذي أشار الى ان العقم الانثوي يشكل 52.5% ، و العقم الذكري 40% و العقم غير المفسر 7.5% يتضح من ذلك ان نسب العقم الانثوي و الذكري متشابهة و هناك فرق في نسبة العقم غير المفسر و هذا يعزى الى عدة اسباب منها الادمان المفرط على تناول الكحول في البلدان الغربية و قلته في بلدنا ، حيث اوضح Penney اثر هذا النوع من الادمان على زيادة نسبة العقم غير المفسر . بالاضافة الى الاكتفاء بمعالجة هؤلاء المرضى في العيادات الخاصة وقلة احالتهم الى المركز . و قد اشارت نتائج دراستنا الى ان النسب المئوية لمظاهر عقم الذكور كانت كالآتي : اللانطفية 24.09% ، و قلة النطف 21.27% ، و وهن النطف 20.71% ، و قلة ووهن النطف 20.06% ، و قلة ووهن و تشوه النطف 3.56% ، و العقم المناعي 1.69% ، و ابيضاض المني 1.03% و انعدام المني 0.75% و اخيرا العنه 0.19% (شكل 3-2) . في حين اشارت دراسة Penney الى ان النسبة المئوية لحالة اللانطفية 5% ، و قلة النطف 10% ، ووهن النطف 38% و تشوه النطف 31% و العقم المناعي 10% ، و يتضح من مقارنة نتائج دراستنا الحالية من نتائج دراسة Penney وجود زيادة في نسبة اللانطفية و قلة النطف المسجلة في دراستنا . و قد يعود السبب الى دور الملوثات البيئية و المركبات الهايدروكاربونية في حدوث انخفاض معنوي في تركيز النطف (Celis *et al.* , 2000) كما ان التعرض للأشعاع له الاثر الواضح في تسريع موت الخلايا الجرثومية مؤديا الى اختزال عدد اسلاف النطف و انخفاض معدل عملية نشأة النطفة (Takagi *et al.*, 2001 ; Henriksen & Parvinen , 1998) . اما الزيادة الملاحظة في نسبة تشوه النطف و العقم المناعي المسجلتين في دراسة Penney مقارنة مع نتائج دراستنا ربما يعود سببها الى عدم الالتزام الديني ، اذ يعد الادمان على تناول الكحول احد اسباب اختزال النسبة السوية لأشكال النطف من خلال تأثيره في تركيب المحور لذيل النطفة (Donnelly *et al.* , 1999) ، كما ان الاصابة بالأمراض المنتقلة عن طريق الجنس مثل الاصابة ببكتريا *Neisseria gonorrhoea* تعد احد اسباب ظهور الاضداد النطفية في السائل المنوي (Shahmanesh *et al.*, 1986) . اما حالات مظاهر العقم الانثوي فقد شملت انقطاع الطمث 87.60% و تكيس المبيض 4.93% ،و التهاب البطانة الرحمية 4.47% و انسداد الانابيب 3.00% (شكل 3-3) . بينما اشارة دراسة Penney الى ان النسبة المئوية لانقطاع الطمث فقد كان 55% ، و تكيس المبيض 15%، و التهاب البطانة الرحمية 36% و انسداد الانابيب 31% .يتضح من ذلك وجود زيادة في نسبة انقطاع الطمث المسجلة في دراستنا التي قد يعود سببها الى وجود الملوثات في البيئة ، اذ اشارت احدى الدراسات الى ان الكادميوم معدن ثقيل و ممكن ان يتجمع في المبيض بمرور الوقت (Nandi *et al* ., 1969) او ربما يعود السبب الى سوء التغذية او الى ان مرضى هذه الفئة اغلبهم ان لم يكونوا جميعهم قد راجعوا مركز العقم لغرض العلاج . اما مرضى تكيس المبيض و التهاب البطانة الرحمية و انسداد الانابيب فأن اغلبهم يحول الى مراكز العقم الاخرى لغرض علاجهم بأحدى التقنيات الساندة للتلقيح مثل GIFI او IVF-ET و بالتالي انخفاض نسب العقم المذكورة انفا و المسجلة في دراستنا الحالية .

اظهرت نتائج دراستنا ان استخدام كل من المستنبت ايرل و المحلول الفسيولوجي السكري قد اظهر تحسنا معنويا في معالم النطف مقارنة بقيمها قبل التنشيط و هذا يتفق مع ما توصلت اليه دراسة سابقة (الجراح ، 2002) . اما النقصان الحاصل في تركيز النطف مقارنة بقيمها قبل التنشيط و لجميع المعاملات و لمختلف فترات الحضن فأنه يعود الى بقاء النطف التي لا تمتلك قابلية على السباحة الى الاعلى في الحبيبة النطفية في قعر الانبوبة (Menkveld *et al.*,1990 ، الهادي ، 1997) . ان عدد النطف المسترجعة لا تعد عاملا محددا لخصوبة الرجال اذ تقدر القابلية الاخصابية بعدد النطف المتحركة (

(Smith *et al.*, 1977) ، اذ يكون معدل الاخصاب و الحمل منخفضا عندما يكون تركيز النطف المتحركة و بأستخدام تقنية الغسل و النبذ مساويا او اقل من ثلاثة ملايين نطفة /مل (Thanki *et al.*, 1992) . اما سبب الزيادة المعنوية الحاصلة في النسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف يعود الى ان غسل النطف و اعادة تخفيفها يلعب دورا في اختزال لزوجة البيئة المحيطة بالنطف (Lee *et al.* , 1982 ; Cohen *et al.* , 1982) . كما ان لأستخدام المصل الانثوي و ما يحتويه من بروتينات الاثر الواضح في تنشيط النطف في الزجاج ، فقد اشارت احدى الدراسات الى ان اضافة الالبومين البشري الى الاوساط المستخدمة في غسل النطف لها دور في حماية النطف من التأثير المؤذي لعملية الطرد المركزي (Makler and Jakobi , 1981) . كما يعد وجود المواد المغذية المتمثلة بمصادر الكاربون في الاوساط المستخدمة للتنشيط اهمية كبيرة في تحسين حركة النطف ، اذ اشارت احدى الدراسات الى ان المحتوى القليل من الكلوكوز في مخاط عنق الرحم يعد مظهر من مظاهر Hostile cervix و الذي ممكن ان يكون سببا لعدم الخصوبة (Weed and Carrera , 1970) . اما الانخفاض المعنوي الحاصل في النسبة المئوية للنطف غير السوية فقد يعزى السبب الى ان النبذ بقوة عالية و لفترة طويلة نسبيا يسبب ضغطا على النطف من خلال قوة النبذ المسلطة التي عند ازالتها فأن النطف السوية و ذات السرعة الخطية هي فقط التي بأمكانها السباحة الى الجزء الاعلى من المستنبت (الهادي ، 1997) . ان السبب في انخفاض تركيز كريات الدم البيض و الخلايا البلعمية بأستخدام تقنية الغسل و النبذ يعود الى ان هذه الخلايا لا تمتلك القدرة على السباحة الى الاعلى بعد اجراء النبذ (الجراح ، 2002) .

اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان تأثير الكافائين معتمد على الجرعة Dose dependent و هذا يتفق مع دراسة مقارنة لتأثير ثلاث مواد في حركة النطف المجمدة و لكل منها ثلاثة تراكيز و هي 1 و 2 و 5 ملي مولاري للكافائين و 2.5 و 5 و 10 ملي مولاري للبنتوكسيفايلين و اخيرا 0.5 و 1 و 2.5 ملي مولاري لـ 2-deoxyadenosine و كان التركيز الافضل لزيادة النسبة المئوية للنطف المتحركة و تحسين نوعية حركة النطف هي 5 ملي مولاري للكافائين و 2.5 ملي مولاري لكل من البنتوكسيفايلين و 2-deoxyadenosin (Sharma *et al.* , 1996) . و من دراستنا هذه يبدو ان استخدام التركيز 0.043 مولاري من الكافائين مع المستنبت ايرل او المحلول الفسيولوجي السكري ادى الى حدوث زيادة معنوية ($P< 0.001$) في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف مقارنة مع ايرل لوحده او المحلول الفسيولوجي السكري لوحده (جدول 3-1 و 3-4) . و هذه النتيجة تتفق مع دراسات عديدة اشارت الى ان اضافة التركيز 6 ملي مولاري من الكافائين الى النطف المجمدة بعد اذابتها (Lessing *et al.*, 1985) او الى النطف البشرية الواهنة الطازجة (Harrison *et al.*, 1980 ; Schoenfeld *et al.* , 1975 ; Schoenfeld *et al.* ,1973) ادى الى حدوث زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف . كما ان اضافة 7.2 ملي مولاري من الكافائين الى النطف قبل تجميدها ادى الى حدوث زيادة النسبة المئوية للنطف المتحركة من 40% الى 80% و بعد ثلاثين يوما من الخزن المجمد (Barkay *et al.* , 1984 ; Barkay *et al.* , 1977) . و اوضحت دراسة اخرى ان معاملة النطف البشرية مع 10 ملي مولاري من الكافائين له الاثر الواضح في تنشيط النطف الحية غير المتحركة (Makler *et al.*, 1980) حيث يعمل الكافائين على تثبيط انزيم الفوسفات ثنائي الاستر Phosphodiestrase مما يؤدي الى تجمع الادينوسين احادي الفوسفات الحلقي Cyclic adenosine monophosphate (cAMP) الذي يسرع عملية التحلل السكري Glycolysis و انتاج الطاقة (Haesungcharen & Chulavatnatol , 1973) . و تستخدم هذه الطاقة في فسفرة الكرياتين و تحويله الى فوسفات الكرياتين الذي ينتقل الى العناصر المتقلصة في ذيل النطفة و يحول الادينوسين ثنائي الفوسفات ADP الى الادينوسين ثلاثي الفوسفات ATP الذي يستخدم في الحركة (Zaneveld & Jeyendran , 1992) .

اشارت نتائج دراستنا الى ان الزيادة في النسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف كانت واضحة لفترة حضن 30 دقيقة فقط ، و لم يلاحظ وجود أي زيادة معنوية عند فترتي

حضن 45 و 60 دقيقة (جدول 3-2 و 3-3 و 3-5 و 3-6) و هذه النتيجة تتفق مع دراسات عديدة ، اذ لوحظ ان اضافة 6 ملي مولاري من الكافائين الى الوسط Tyrode's solution المستخدم لحضن النطف البشرية ادى الى حدوث زيادة ملحوظة في سرعة النطف عند 30 دقيقة ثم تبعها انخفاض في سرعة النطف عند 60 دقيقة (Traub *et al.*, 1982) . كما ان حضن النطف البشرية الواهنة مع البنتوكسيفايلين بتركيز 2 ملغم/ مل ادى الى حدوث زيادة معنوية في حركة النطف خلال 30 دقيقة الاولى من الحضن (Yovich *et al.*, 1990) . كما اشار نصار و جماعته (Nassar *etal.*,1999 a) الى ان حضن النطف مع 3.6 ملي مولاري من البنتوكسيفايلين سبب زيادة معنوية في حركة النطف عند 30 دقيقة فقط ، و ربما يعود السبب في ذلك الى ان الكافائين يعمل على زيادة استهلاك مصادر الكاربون الموجودة في الوسط و التي تعد المادة الاساس لعملية التحلل السكري . ان تثبيط هذه العملية يصاحبه انخفاض في انتاج ATP الضروري حركة النطف (Pedron *et al.*, 1975) ، اذ ترتبط حركة النطف بعلاقة طردية مع تركيز ATP في الملتر الواحد من القذفة (Comhaire *et al.* , 1983) .

اما اضافة التركيز 0.074 مولاري و 0.097 من الكافائين الى المستنبت ايرل و المحلول الفسيولوجي السكري و لفترتي التحضين 30 و 45 دقيقة فلم يسبب أي فرق معنوي لمعايير النطف مقارنة بأستخدام المستنبت ايرل لوحده او المحلول الفسيولوجي السكري لوحده ايضا (الجداول 3-1 و 3-2 و 3-4 و 3-5) . اماعند فترة حضن 60 دقيقة فقد لوحظ انخفاض معنوي في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف في حالة اضافة الكافائين بالتراكيز اعلاه الى المحلول الفسيولوجي السكري مقارنة بأستخدام المحلول الفسيولوجي السكري لوحده ، و هذا يتفق مع ما لاحظه موسى (Moussa , 1983) فقد اشار الى ان اضافة 60 ملي مولاري (0.06 مولاري) من الكافائين الى النطف البشرية سبب زيادة غير معنوية في حركة النطف و بمرور وقت الحضن يكون له تأثير تثبيطي في حركة النطف .

لم يلاحظ في دراستنا وجود أي فرق معنوي بين التركيز 0.043 مولاري و كل من التركيزين 0.074 مولاري و 0.097 مولاري بخصوص النسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف و لفترات الحضن المختلفة في حالة المستنبت ايرل ، في حين لوحظ وجود الفرق المعنوي عند استخدام المحلول الفسيولوجي السكري ، و ربما يعود السبب في ذلك الى ان المستنبت ايرل يعوض بطريقة ما الضرر الحاصل من اضافة التراكيز العالية من الكافائين (0.074 مولاري و 0.097 مولاري) .

لدى مقارنة منسب حركة النطف لفترات الحضن المختلفة عند استخدام الكافائين مع المحلول الفسيولوجي السكري لوحظ حدوث زيادة معنوية ($P< 0.05$) في منسب حركة النطف و لفترة الحضن 30 دقيقة مقارنة مع فترتي الحضن الاخرى عند استخدام التركيز 0.043 (شكل 3-7) . اما عند استخدام التركيز 0.074 فقد اظهرت النتائج عدم وجود أي فرق معنوي بين قيم منسب حركة النطف و لفترات الحضن المختلفة (شكل 3-8) . اما بالنسبة للتركيز 0.097 فقد لوحظ حدوث زيادة معنوية ($P< 0.01$) في قيم منسب حركة النطف عند فترتي الحضن 30 و 45 دقيقة مقارنة مع 60 دقيقة (شكل 3-9) . كما لم يلاحظ وجود أي فرق معنوي في منسب حركة النطف عند استخدام المستنبت ايرل لفترات الحضن المختلفة و لكافة التراكيز (شكل 3-4 و 3-5 و 3-6) ، و ربما يعود السبب الى ان المستنبت ايرل يعوض الضرر الحاصل من اضافة التراكيز العالية نسبيا من الكافائين .

اظهرت نتائج هذه الدراسة عدم وجود فروق معنوية في قيم منسب حركة النطف بأستخدام التراكيز المختلفة من الكافائين في كل من المستنبت ايرل و المحلول الفسيولوجي السكري و لفترات الحضن المختلفة (شكل 3-10 و 3-11 و 3-12) . ان الكالسيوم ضروري لتنشيط انزيم الـ Adenyl cyclase المسؤول عن تخليق cAMP ، الا ان احدى الدراسات اشارت الى ان اضافة 1 ملي مولاري من كلوريد الكالسيوم الى وسط lk-citrate– glycerol medium–dextrose-glycine المستخدم لحضن النطف البشرية لم يؤثر بشكل معنوي في حركة النطف عند مقارنتها مع مجموعة السيطرة المتمثلة بالنطف المحضنة بالوسط المذكور و الخالي من الكالسيوم (Hammitt *et al.*, 1989) . كما اظهرت نتائج دراسة مقارنة

لتأثير الكافائين على تركيز الكالسيوم داخل الخلايا النطفية المحضنة في وسط حاوي على الكالسيوم و اخر خالٍ من الكالسيوم انه لا يوجد أي تأثير للكافائين في تركيز الكالسيوم داخل الخلايا النطفية (Garde and Roldan , 2000) . اما دور البنتوكسيفايلين في زيادة حركة النطف و تفاعل الجسيم الطرفي يكون من خلال تثبيط أنزيم الفوسفات ثنائي الاستر و زيادة تركيز cAMP الذي يعمل على تنشيط بروتين الكاينيز المسؤول عن فسفرة بروتين التايروسين لذيل النطفة و من ثم تحسين حركة النطف (Nassar *et al.* , 1999 a ; Yovich *et al.* , 1988) . و قد اشار نصار و جماعته (Nassar *et al.* , 1998) الى ان عمل البنتوكسيفايلين المحفز لحركة النطف يحدث على الرغم من انخفاض تركيز الكالسيوم داخل النطف ، و ان حضن النطف في وسط خالٍ من الكالسيوم يؤدي الى تدفق الكالسيوم المخزون (Hernandez *et al.* , 1998) .

ان البلازما المنوية غنية بمركب كربوهدراتي يعرف بالأنوسيتول Inositol الذي يتكون داخل النبيبات المنوية و ينتقل عبر الشبكة الخصوية Rete testis الى البروستات و يرتبط بالنطف اثناء القذف ليكون Inositol lipid الذي يعد احد مكونات الغشاء الخلوي (Lewin and Beer , 1973) . ان الحالة المفسفرة لهذا المركب المتمثلة بالأنوسيتول ثلاثي الفوسفات Inositol triphosphate (IP3) يعمل على تحرير الكالسيوم المخزون و الضروري لتحفيز Adenyl cyclase لتحويل ATP الى cAMP الذي يحفز بروتين كاينيز A المسؤول عن فسفرة البروتين (Baldi *et al.*, 2000) و قد توصل Ho & Suarez (2001) الى ان اضافة احد المواد وهو Thapsigargin الى نطف الثور المحضنة ادى الى تحرير الكالسيوم الداخلي المخزون الذي كان كافيا لبدء الحركة ذات النشاط المفرط للنطف . و تبدأ الزيادة بالكالسيوم من منطقة العنق للنطف الناضجة ، حيث يوجد مستقبل IP3 و عند ذلك الموقع تبدأ ضربة السوط ، مشيرا الى اشتراك مستقبل IP3 في تنظيم الحركة ذات النشاط المفرط للنطف .

اشارت نتائج الدراسة الحالية الى ان اضافة الموثين $F_2\alpha$ و بالتركيزين 6.818 و 12.500 مايكروغرام/مل الى المحلول الفسيولوجي السكري سبب زيادة معنوية ($P< 0.001$) في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف مقارنة مع المحلول الفسيولوجي السكري لوحده (جدول 3-7) ، و هذه النتيجة تتفق مع اتكن و كيلي (Aitken & Kelly , 1985) حيث اشارا الى ان حضن النطف البشرية مع الموثين $F_2\alpha$ و بتركيز 67.5 مايكروغرام /مل ادى الى حدوث زيادة معنوية في سرعة النطف و يعود السبب في ذلك الى دور الموثين في تحسين فعالية انزيم Adenyl cyclase وزيادة مستوى cAMP داخل الخلايا النطفية . اذ لوحظ ان اضافة 5 ملي مولاري من cAMP الى النطف المجمدة سبب زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة مقارنة مع النطف غير المعاملة (Hammitt *et al.* , 1989) . اشارت دراسات عديدة الى ان حضن النطف مع تراكيز عالية من الموثين $F_2\alpha$ 250 مايكروغرام / مل (Cohen *et al.* , 1977) او 300 و 600 و 1200 مايكروغرام / مل (Fayed , 1996) ادى الى تثبيط حركة النطف حيث سبب تلف اغشية النطف و نفاذيتها . كما اشارت دراسة اخرى الى ان تركيز الموثين $F_2\alpha$ في الرجال غير الخصبين يكون اعلى مما هو عليه الحال في الرجال الخصبين (Schlegel *et al.*, 1981) .

اشارت نتائج دراستنا عدم وجود أي فرق معنوي في النسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف عند استخدام الموثين بتركيز 4.245 مايكروغرام / مل مقارنة بمجموعة السيطرة و لفترة حضن 30 دقيقة ، و ربما يعود السبب الى كون التركيز قليل فيكون غير كافٍ لتنشيط انزيم Adenyl cyclase . ان الزيادة الحاصلة في النسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف عند استخدام التركيزين 6.818 و 12.500 مايكروغرام / مل كانت خلال 30 دقيقة فقط ، و لم يلاحظ وجود أي فرق معنوي عند فترتي الحضن 45 و 60 دقيقة (جدول 3-8 و 3-9) ، و ربما يعزى سبب ذلك الى دور الموثين في اختزال زمن التفاعل فكان تأثيره عند 30 دقيقة الاولى من الحضن بعد المعاملة . فقد اشارت احدى الدراسات الى ان حقن الجاموس بـ 2 ملغم من الموثين $F_2\alpha$ ادى الى حدوث زيادة معنوية في نسبة النطف الحية بعد ساعة واحدة من الحقن و

يختفي تأثيره بعد سبعة ايام من الحقن (Shankar *et al.* , 1984) ، كما ان استنفاذ المواد المغذية من الوسط قد يكون سببا في عدم ظهور أي زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف لفترتي الحضن 45 و 60 دقيقة .

سبب اضافة التركيزين 0.409 ملغم / مل و 0.954 ملغم / مل من خلات الميدروكسي بروجسترون حدوث زيادة معنوية ($P< 0.001$) في النسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف مقارنة مع المحلول الفسيولوجي السكري لوحده و لفترتي الحضن 30 و 45 (جدول 3-10 و 3-11) . و هذا يتفق مع ما توصل اليه فابري و جماعته (Fabbri *et al.* , 1998) الذين اجروا دراسة مقارنة لنتائج حضن النطف البشرية مع اربعة اوساط مختلفة و هي السائل القنوي Tubal fluid ،و الوسط هام أف –10 Ham's F-10 و مستخلص الخلايا الحبيبية المخفف بالوسط هام اف –10 و السائل الجريبي البشري ، واشاروا الى ان حضن النطف مع السائل الجريبي البشري او مستخلص الخلايا الحبيبية سبب زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة و نسبة النطف ذات النشاط المفرط و يعود السبب في ذلك الى وجود المستوى العالي المعنوي من البروجسترون في كل من السائل الجريبي البشري و مستخلص الخلايا الحبيبية مقارنة مع الوسطين الاخريين الذي كان 6.62 مايكروغرام / مل و 1.82 مايكروغرام / مل على التوالي . و قد اشارت احدى الدراسات الى دور البروجسترون الموجود في السائل الجريبي في زيادة معدلات الاخصاب من خلال عمله على تحرير النطف الملتصقة بجدران انابيب الرحم اثناء حدوث عملية الاباضة و افراز السائل الجريبي ، حيث يعمل البروجسترون على تحفيز النشاط المفرط للنطف عن طريق زيادة تركيز الكالسيوم داخل الخلايا النطفية (Giojalas , 1998 ; Kulin *et al.*, 1994) . ان البروجسترون ممكن ان يرتبط مع مستقبلات غير مستقبلاته المعروفة و الموجودة في غشاء الخلية و تعرف تلك المستقبلات بالبروتين G الذي يتداخل مع Phospholipase C و من ثم زيادة تكوين الانوسيتول ثلاثي الفوسفات IP3 المسؤول عن زيادة الكالسيوم داخل الخلية عبر حركته من الشبكة الاندوبلازمية للخلايا الحبيبية المبيضية (Machelon *et al.*, 1996) . كما اكدت دراسة حديثة الدور المهم للـ IP3 في حركة النشاط المفرط للنطف من خلال دوره في تحرير الكالسيوم المخزون في العضيات المرتبطة بغشاء الخلية النطفية و هي الشبكة الهيولية الداخلية Endoplasmic reticula و الشبكة الهيولية العضلية Sarcoplasmic reticula الموجودة في القطعة الوسطية (Ho & Suarez , 2001) . و يعمل البروجسترون على زيادة cAMP داخل الخلايا النطفية و الذي يكون له علاقة بزيادة حركة النطف ذات النشاط المفرط (Parinaud & Milhet , 1996) حيث يكمن دور cAMP في زيادة استهلاك الكلوكوز بعملية التحلل السكري و دورة كربس و ما ينتج عنه من زيادة في انتاج الطاقة و بالتالي تحسين حركة النطف (Hicks *et al.* , 1972) . اما عند فترة حضن 60 دقيقة فقد لوحظ ان استخدام التركيز 0.049 ملغم/مل ادى الى حدوث زيادة معنوية ($P< 0.001$) في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف مقارنة مع مجموعة السيطرة (جدول 3-12) . وتتفق هذه النتيجة مع ما توصلت اليه احدى الدراسات التي اشارت الى ان حضن النطف البشرية مع السائل الجريبي البشري ادى الى حدوث تحسن معنوي في تمكين النطف و استمرت الزيادة بالنشاط المفرط لمدة ثلاث ساعات مقارنة مع النطف غير المعاملة بالسائل الجريبي (Yao *et al.* , 2000 b) .

عند مقارنة قيم منسب حركة النطف بين فترات التحضين المختلفة باستخدام كل من الموثين $F_2\alpha$ و خلات الميدروكسي بروجسترون و بتراكيزهما المتباينة . لوحظ ان فترة الحضن 45 و 60 دقيقة اظهرت زيادة معنوية ($P< 0.01$) في منسب حركة النطف مقارنة مع فترة الحضن 30 دقيقة عند استخدام التركيز 4.245 مايكروغرام / مل من الموثين $F_2\alpha$ (شكل 3-13) . اما عند استخدام التركيز 0.136 ملغم / مل من خلات الميدروكسي بروجسترون ، فقد لوحظ ان افضل فترة حضن كانت 45 دقيقة حيث اظهرت زيادة معنوية ($P< 0.01$) في منسب حركة النطف مقارنة مع 30 دقيقة فقط (شكل 3-16) و هذا يتفق مع الجراح (2002) حيث لوحظ ان فترة الحضن 60 و 45 دقيقة هي الفترة الملائمة لتمكين النطف بأستخدام المحلول الفسيولوجي و المستنبت ايرل على التوالي . و ربما يعزى السبب الى ان فترات الحضن تلك قد تكون هي

الوقت الملائم لأنتاج تركيز عالٍ من cAMP بحيث يكون كافيا لتحسين حركة النطف عند استخدام تلك التراكيز .

اما عند استخدام التركيزين 6.818 مايكروغرام / مل و 12.500 مايكروغرام / مل من الموثين $F_2\alpha$ (شكل 3-14 و 3-15) و التركيزين 0.409 ملغم/ مل و 0.954 ملغم/ مل من خلات الميدروكسي بروجسترون (شكل 3-17 و 3-18) فقد اظهرت نتائج دراستنا عدم وجود أي فرق معنوي في قيم منسب حركة النطف و لفترات الحضن المختلفة . وربما يعود السبب في ذلك الى دور الهرمونات في تسريع عملية التمكين و تقليل الوقت اللازم لحدوثه فيظهر تأثيرها عند فترة حضن 30 دقيقة و قد يستمر لعدة ساعات . حيث اشارت احدى الدراسات الى ان حضن نطف الفئران مع 50 او 100 نانوغرام /مل من هرمون الحليب سبب زيادة معنوية في معدل الاخصاب ، حيث يعمل هرمون الحليب على تقليل فترة الحضن الضرورية لتمكين النطف اذ يتفاعل مع مستقبلاته خلال 15 او 30 دقيقة الاولى من الحضن (Fukuda *et al.* , 1989) ، اما حضن النطف مع السائل الجريبي فقد ادى الى حدوث زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة و سرعة النطف لمدة ثلاث ساعات مقارنة مع النطف غير المعاملة بالسائل الجريبي (Yao *et al* ., 2000 b) .

لم تظهر اية فروق معنوية في تركيز النطف المسترجعة و النسبة المئوية للنطف غير السوية و تركيز كريات الدم البيض و الخلايا البلعمية عند المقارنة بين التراكيز المختلفة لكل من الكافائين و الموثين $F_2\alpha$ و خلات الميدروكسي بروجسترون و لفترات الحضن المختلفة ، وربما يرجع السبب في ذلك الى ان التقنية المستخدمة في تنشيط عينات السائل المنوي في الزجاج واحدة و هي تقنية الغسل و النبذ فأختلاف التراكيز يؤثر في نشاط النطف فقط .

الاستنتاجات و التوصيات

نستنتج من دراستنا الحالية ما يلي :

1- ان التركيز 0.043 مولاري من الكافائين هو الافضل مقارنة مع التركيزين الاخريين 0.074 و 0.097 مولاري حيث اظهر هذا التركيز تأثيرا واضحا في تنشيط النطف مقارنة مع النطف غير المعاملة

2- يمكن أستخدام المحلول الفسيولوجي السكري بدلا من الوسط ايرل باهظ الثمن بعد اضافة الكافائين له ، حيث لم تظهر نتائج دراستنا أي فرق معنوي في قيم منسب حركة النطف عند اضافة التراكيز المختلفة من الكافائين الى المستنبت ايرل او الى المحلول الفسيولوجي السكري .

3- ان استخدام التركيزين 6.818 و 12.500 مايكروغرام / مل من الموثين $F_2\alpha$ له دور في تحسين تنشيط النطف في الزجاج مقارنة مع النطف غير المعاملة .

4- يعد استخدام التركيز 0.409 ملغم / مل من خلات الميدروكسي بروجسترون الاثر في تحسين النسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف و لفترة طويلة نسبيا مقارنة مع النطف غير المعاملة .

و من خلال النتائج الحالية نوصي باجراء المشاريع البحثية الاتية :

1- استخدام التراكيز المثلى لكل من الكافائين و الموثين $F_2\alpha$ و خلات الميدروكسي بروجسترون و المبينة اعلاه في عمليات التلقيح الاصطناعي لمعرفة تأثير ذلك في معدلات الاخصاب و الحمل .

2- دراسة تأثير بعض انواع المثيل زانثين الاخرى في حركة النطف مثل Theophylline و Amino phylline .

3- دراسة تاثير الهرمون المرخي Relaxin و هرمون الحليب Prolactin في تنشيط النطف البشرية و الفئران في الزجاج .

4- دراسة تأثير اعطاء الكافائين و الموثين $F_2\alpha$ في الحيوانات المختبرية و معرفة تأثيرها في الجهاز التناسلي الذكري .

5- قياس الموثين و البروجسترون في دم الاناث خلال مرحلة الاباضة و مقارنة تراكيزهما مع التراكيز المثلى المستخدمة في دراستنا الحالية .

Summary

This work described in the thesis was undertaken at the College of Science / Babylon University between May 2001 and May 2002 under the supervision of Dr.Faris Najai Abood and Dr.Bushrra Gaber except where indicated by reference , it is the orginal work of the author and has not submitted for any degree .

This study aimed to determine the infertility percentage of patients attended the infertility center in Babylon Hospital of obstetrics and ppediatric. The statistical analysis revealed that the female infertility factor percentage was 51.32% , male infertility factor 42.19% , combined infertility 6.09% and unexplained infertility was 0.40% . The male infertility factor involved : Azoospermia (24.09%) , Oligozoospermia (21.27%),Asthenozoospermia(20.71%) , Oligoasthenozoospermia(20.06%) , Oligoasthenoteratozoospermia (3.56%) , Immunological infertility (1.69%) , Leukocytospermia (1.03%) , Aspermia (0.75%) and Impotence (0.19%) . While the female infertility factor involved : Ammenorrhoea (87.60%) , Polycystic ovary (4.93%) , Endometriosis (4.47%) and Tubal blockage (3.00%) .

This study involved in vitro sperm activation of asthenospermic patients by using different substances with different concentrations to determine the optimal concentration of each substance and suitable incubation period . In vitro sperm activation was performed of 160 semen specimens collected from patients complaining from asthenozoospermia , by using centerifugation technique with Earle's salt and Glucosaline media by addition three different concentrations of caffeine (separatly using) . Also three concentrations of both $PGF_2\alpha$ and medroxy progestrone acetate (MPA) , independent were added to glucosaline . Three incubation periods 30 , 45 , 60 minutes were used for all specimens sperms that activated in vitro.

The results of in vitro sperm activation showed a significant improvement in sperm parameters compared to those before activation in all concentrations and different incubation periods used in this study . So as when these substances were added to Earle's or glucosaline media .

The addition of 0.043 molar of caffeine into Earle's or glucosaline media caused significant increase ($P<0.001$) in sperm motility percent and grade activity compared to the control group (Earle's or glucosaline alone) following 30 minutes of incubation period . Also a significant differences were noticed between this concentration and 0.074 , 0.097 molar when added to glucosaline in different incubation period .

A comparative study of sperm motility index by using Earle's media and caffeine showed insignificant differences . The results revealed a significant increase ($P<0.05$) in sperm motility index in 30 minute of

nd2
incubation period by using 0.043 molar of caffeine with glucosaline . While the 60 minute of incubation period caused significant decrease ($P<0.01$) compared to 30 and 45 minutes when 0.097 molar was added to the glucosaline .

In vitro sperm activation by using both 6.818 and 12.500 μg/ml of $PGF_2\alpha$ caused a significant increase ($P<0.001$) in sperm motility percent and grade activity compared to control during 30 minute. The comparison study of sperm motility index for different incubation periods of the different $PGF_2\alpha$ concentrations , showed a significant increase ($P<0.01$) at 45 and 60 minutes compared to 30 minute by using 4.245 μg/ml only .

In vitro sperm activation by using 0.409 and 0.954 mg/ml of MPA with glucosaline caused a significant increase ($P<0.001$) in sperm motility percent and grade activity in 30 and 45 minutes of incubation period compared to control . Also the same significant increase was noticed in sperm motility percent and grade activity comparing with the control when 0.409 mg/ml was used only at 60 minute incubation period . The comparison study of sperm motility index for the different incubation periods by using different concentrations of MPA revealed a significant increase ($P<0.01$) at 45 minute compared to 30 minute by using 0.136 mg/ml only .

It was concluded from the results of present study that the optimum concentration used for in vitro sperm activation involved : 0.043 molar of caffeine , 6.818 and 12.500 μg/ml of $PGF_2\alpha$ and 0.409 mg/ml of MPA .

REFERENCES المصادر

المصادر العربية :

البعلبكي ، منير (1978) . المورد . دار العلم للملايين ، بيروت .
الجراح ، ابتسام عباس ناصر (2002) . دراسة تأثير استخدام بعض الهرمونات في تنشيط النطف في الزجاج للمرضى المصابين بوهن النطف . رسالة ماجستير ، كلية العلوم ، جامعة بابل .
الجليلي ، محمود (1978) . المعجم الطبي الموحد ، الطبعة الثانية . مطبعة المجمع العلمي العراقي . بغداد .
الراوي ، خاشع محمود (2000) . مدخل الى الاحصاء ، الطبعة الثانية . كلية الزراعة و الغابات . جامعة الموصل .
الهادي ، فارس ناجي عبود (1997) . استخدام التقنية المزدوجة الترسيبية في تنشيط مرضى العقم المصابين بوهن النطف . اطروحة دكتوراه ، كلية العلوم ، جامعة بغداد .
عشير ، عبد الرحيم محمد و العلوجي ، صباح ناصر (1989) . علم الغدد الصم و التكاثر . بيت الحكمة ، جامعة بغداد .
كايتون . (1997) . الفيزيولوجيا الطبية و الفيزيولوجيا المرضية ، الجزء الثالث ، ترجمة حسان احمد قمحية . المركز التقني المعاصر ، ابن النفيس .
محي الدين ، خير الدين و يوسف ، وليد حميد و توحلة ،سعد حسين . (1990) . فسلجة الغدد الصم و التكاثر في الثديات و الطيور ، دار الحكمة للطباعة و النشر ، جامعة الموصل .

المصادر الأنكليزية :

Abdul – Latif , A. ; Mathur , S. ; Rust , P.F. ; Fredricks , C.M. ; Abdel-Aal , H. & Williamson , H.O. (1986) . Cytotoxic sperm antibodies inhibit sperm penetration of zona – free hamster eggs . Fertil. Steril. ; 45: 542-549 .

Aboulghar , H.; Aboulghar , M.; Mansour , R. ; Serour , G. ; Amin , Y. & Al-Inany , H. (2001) . Aprospective controlled study of karyotyping for 430 consecutive babies conceived through intracytoplasmic sperm injection . Fertil . Steril ; 76 :249 – 252.

Abou-Shakra , F.R. ; Ward , N.I. & Everard,D.M. (1989) . The role of trace elements in male infertility . Fertil . Steril ; 52 : 307-310 .

Aiman , J.; McAsey , M. & Harms , L. (1988) . Serum and seminal plasma prolactin concentration in men with normospermia , oligospermia , or azoospermia . Fertil . Steril , 49 : 133-137.

Aitken , R.J. ; Best , F. ; Richardson , D.W. ; Schats , R.& Simm, G. (1983). Influence of caffeine on movement characteristics , fertilizing capacity and ability to penetrate cervical mucus of human spermatozoa . J. Repord . Fert; 67 : 19-27.

Aitken , R.J. & Kelly , R.W. (1985) . Analysis of the direct effects of prostglandins on human sperm function . J. Reprod . Fert ; 73 :139-146.

Al-Dujaily , S.S. ; Al-Barazanchi , M.T. & Fakhridin , M.R. (1999) . Use of mice oviductal flushing medium to activate the human and mice sperm functions in vitro . Journal of Babylon University ; 4 :508-514.

Al-Hady , F.N.A. (1999 a) . Use of human follicular fluid for invitro sperm activation of infertile patients . accepted for published ; Journal of Babylon University .

Al-Hady , F.N.A. (1999 b) . Sperm parameters in different spilts of the seminal fluid ejaculation . Journal of Babylon University , 4 : 605-608.

Alwachi , S.N. & Balash , K.J. (1988) . Induced alteration in spermatogenesis of mature albino mice injected with caffeine . J.Biol. Sci. Res. ; 19 : 457-468.

Amann , R.P. (1989) . Structure and function of the normal testies and epididymis . Toxicology , 8 : 457-470 .

Amelar , R.D. ; Dubin , L.&Schoenfeld , C.Y. (1980) . Sperm motility . Fertil . Steril ; 34 : 375-393.

Anderson , G.B.(1977) . Fertilization early development and embryo transfer In : Reproduction in Domestic animal . Cole , H.& Cupps , P.T. (eds) . Academic Pressince . New York .

Araki , Y. ; Motoyama , M. ; Yoshida , A. ; Kim , S.Y. ; Sung , H.&Araki , S. (1997) . Intracytoplasmic injection with late spermatids : a successful procedure in achieving childbirth for couples in which the male partner suffers from azoospermia due to deficient spermatogenesis . Fertil . Steril ; 67 :559-561.

Asch , R.H. ; Balmaceda , J.P. ; Ellsworth , L.R.& Wong , P.C.(1986) . Preliminary experiences with gamete intrafallopian transfer (GIFT) . Fertil . Steril ; 45 : 366-371.

Aultitzky , W. ; Frick , J. ; Galvan , G. (1988) . Pulsatile luteinizing hormone – releasing hormone treatment of male hypogonadotropic hypogonadism. Fertil . Steril ; 50 : 480-486.

Ayvaliotis , B.; Bronson , R. ; Rosenfeld , D. & Cooper , G. (1985) . Conception rates in couples where autoimmunity to sperm is detected . Ferti. Steril ; 43 : 739-743.

Badr , F.M. ; Barcikowski , B. & Bartke , A. (1975) . Effects of castration , testosterone treatment and hereditary sterility on prostglandin concentration in the male reproductive system of mice . Prostglandin ; 9 : 287-297.

Baldi , E.; Luconi , M. ; Bonaccorsi , L. & Forti , G. (1999 a) . Nongenomic effects of progestrone on spermatoza : Relevance to sperm function . Steroid Research ; 2 :119-125.

Baldi , E.; Luconi , M. ; Bonaccorsi , L. ; Maggi , M. ; Francavilla , S. ; Gabriele , A. ; Properzi , G. & Forti , G. (1999 b) . Nongenomic progestrone receptor on human spermatozoa : biochemical aspects and clinical implications . Steroids ; 64:143-148.

Baldi , E.; Luconi , M. ; Bonaccorsi , L. ; Muratori , M. & Forti , G. (2000). Intracellular events and signaling pathways involved in sperm acquistion of fertilizing capacity and acrosome reaction . Frontiers in Bioscience ; 5 :110-123.

Baniel , J. & Sella , A. (2001) .Sperm extraction at orchiectomy for testis cancer . Fertil . Steril ; 75 : 260-262.

Barcikowski , B. ; Saksena , S.K. & Bartke , A. (1973) . Androgenic regulation of plasma prostglandin F level in the rat . J. Reprod . Fert ; 35 : 549-551.

Barkay , J. ; Bartoov , B. ; Ben-Ezra , S. ; Langsam , J. ; Feldman ,E.; Gordon , S. & Zuckerman , H. (1984) . The influence of in vitro caffeine treatment on human sperm morphology and fertilizing capacity . Fertil. Steril ; 41 : 913-918.

Barkay ,J. ; Zuckerman , H. ; Sklan , D. & Gordon , S. (1977) . Effect of caffeine on increasing the motility of frozen human sperm .Fertil. Steril ; 28 : 175-177.

Battaglia , C. ; Giulini , S. ; Regnani , G. ; Madgar , I. ; Facchinetti , F. & Volpe , A. (2001) . Intratesticular doppler flow , seminal plasma nitrites / nitrates , and nonobstructive sperm extraction from patients with obstructive and nonobstructive azoospermia . Fertil. Steril ; 75 :1088-1094 .

Bendvold , E. ; Svanborg , K. ; Eneroth , P. ; Gottlieb , C. & Bygdeman , M. (1984) . The natural variations in prostglandin concentration in human seminal fluid and its relation to sperm quality . Fertil. Steril ; 41:743-747.

Benoff , S. ; Hurley , I.R. ; Barcia , M. ; Mandel , F.S. ; Cooper , G.W. & Hershlag , A. (1997) . A potential role for cadmium in the etiology of varicocel – associated infertility . Fertil. Steril; 67 : 336-347.

Berger , R.E. ; Karp , L.E. ; Williamson , R.A. ; Koehler , J. ; Moore , D.E. & Holmes , K.K. (1982) . The relationship of pyospermia and seminal fluid bacteriology to sperm function as reflected in the sperm penetration assay . Fertil. Steril; 37 :557-564.

Berthelsen , J.G. & Skakkebaek , N.E. (1983) . Gonadal function in men with testis cancer . Fertil. Steril ; 39 :68-75.

Bielfeld , P. ; Faridi , A. ; Zaneveld , L. J.D. & Jonge , C.J. (1994) . The zona pellucida - induced acrosome reaction of human spermatozoa is mediated by protein kinase . Fertil. Steril ; 61 :536-541.

Biswas , S. ; Ferguson , K. ; Seedronska , J. ; Mansfield , M. & Kosbab , M.H. (1978) . Fructose and hormone levels in semen : their correlation with sperm counts and motility . Fertil. Steril ; 30 : 200-204.

Blazar , A.S. ; Hogan , J.W. ; Seifer , D.B. ; Frishman , G.N. ; Wheeler , C.A. & Haning , R.V. (1997) . The impact of hydrosalpinx on successful pregnancy in tubal factor infertility treated by in vitro fertilization . Fertil. Steril ; 67 : 517-520.

Bleau , G. ; Lemarbre , J. ; Faucher , G. ; Roberts , K.D.&Chapdelaine , A. (1984) . Semen selenium and human fertility . Fertil. Steril; 42:890-894.

Blumenfeld , Z. & Nahhas , F. (1989) . Pretreatment of sperm with human follicular fluid for broderline male infertility . Fertil. Steril ; 51: 863-868 .

Bouloux , P.M. G. ; Wass , J.A.H. ; Parslow , J.M. ; Hendry , W. F.& Besser , G.M. (1986) . Effect of cyclosporin A in male autoimmune infertility . Fertil. Steril ; 46 :81-85.

Bracken , M.B. ; Eskenazi , B. ; Sachse , K. ; McSharry , J. ; Hellenbrand , K. & Leo-Summers , L. (1990) . Association of cocaine use with sperm concentration , motility and morphology . Fertil. Steril ; 53: 315-322.

Brinsden , P. ; Akagbosu , F. ; Gibbons , L.M. ; Lancaster , S. ; Gourdon , D. ; Engrand , P. & Loumaye , E. (2000) . Acomporison of the efficacy and tolerability of two recombinant human follicle – stimulating hormone preparations in patients undergoing invitro fertilization – embryo transfer . Fertil. Steril ; 37 :114-116.

Brown , J.S. (1975) . The effect of orally administered androgen on sperm motility . Fertil. Steril ; 26 :305-308.

Bygdeman , M. ; Fredricsson , B. ; Svanborg , K.&Samuelsson , B. (1970) . The relation between fertility and prostglandin content of seminal fluid in man . Fertil. Steril ; 21 : 662-629 .

Caldamon , A.A.; Emilson , L.B. ; Al-Juburi , A.& Cockett , A.T. K. (1980). Prostitis : prostatic secretory dysfunction affecting fertility . Fertil. Steril ; 34 :602-603 .

Calvo , L. ; Vantman , D. ; Banks , S.M. ; Tezon , J. ; Koukoulis , G.N.; Dennison , L.&Sherins , R.J. (1989) . Follicular fluid –induced acrosome reaction distinguishes a subgroup of men with unexplained infertility not identified by semen analysis . Fertil. Steril ; 52 :1048-1054 .

Carreras , A. & Mendoza , C. (1990) . Zinc levels in seminal plasma of fertile and infertile men . Andrologia ; 22 :279-283.

Carroll , N. & Palmer , J.R. (2001) . A comparison of intrauterine versus intracervical insemination in fertile single women . Fertil. Steril ; 75 :656-660 .

Cayan , S. ; Conaghan , J. ; Schriock , E.D. ; Ryan , I.P. ; Black , L. D. & Turek , P.J. (2001) . Birth after intracytoplasmic sperm injection with use of testicular sperm from men with kartagener / immotile cilia syndrome , Fertil. Steril ; 76 : 612-614 .

Celis , R.D. ; Velasco , A.F. ; Unzage , M.G. ; Calleja , J.T. & Nuevo , N.P. (2000) . Semen quality of workers occupationally exposed to hydrocarbons . Fertil. Steril; 73 :221-228 .

Centola , G.M. & Eberly , S. (1999) . Seasonal variation and age -related changes in human sperm count , motility , motion parameters , morphology , and white blood cell concentration . Fertil. Steril ; 72 :803-808.

Chan , S.Y.W. ; Wang , C. & Ho.P.C. (1990) . Differential evaluation of human sperm hypoosmotic swelling test and its relationship with the outcome of in-vitro fertilization of human oocyte . Human Reproduction ; 5 : 84-88 .

Chenette , P.E. ; Siegel , M.S. ; Vermesh , M.& Kletzky , O.A. (1988) . Dissociation between in vitro and in vivo effect of adopamine agonist on sperm mortility . (Abst.), 44th Annual Meeting of the American Fertility Society ; (Suppl.11) .

Chung,P.H. ; Verkauf , B.S. ; Mola , R. ; Skinner , L. ; Eichberg , R.D. & Maroulis , G.B. (1997) . Correlation between semen parameters of electroejaculates and achieving pregnancy by intrauterine insemination . Fertil. Steril ; 67 :129-132 .

Coates , A.;Rutherford , A.J.; Hunter , H.&Leese , H.J. (1999) . Glucose -free medium in human in vitro fertilization and embryo transfer : a large –scale , prospective , randomized clinical trial . Fertil. Steril ; 72 :229-232.

Cohen , M., ; Colin , M.J. ; Golimbu , M.& Hotchkiss , R.S. (1977) . The effects of prostglandin on sperm motility . Fertil. Steril ; 28:78-85.

Cohen ,J. ; Mooyaart , M. ; Vreeburg , J. T.M. ; Yanagimachi, R. & Zeilmaker , G.H. (1982) . Fertilizing ability and motility of spermatozoa from fertile and infertile men after exposure to heterologous seminal plasma . In :Instrumental Insemination . Hafez , E.S.E. & Semm . K. (eds). Netherland , London .Pp.: 53-62.

Colon ,J.M.; Ginsburg , F. ; Lessing , J.B. ; Schoenfeld , C. ; Goldsmith , L.T. ; Amelar , R.D. ; Dubin , L.& Weiss , G. (1986) . The effect of relaxin and prostglandin E_2 on the motility of human spermatozoa . Fertil. Steril ; 46 : 1133-1139 .

Comhaire , F. ; Vermeulen , L. ; Ghedira , K. ; Irvine ; S. & Callipolitis , G. (1983) . Adenosine triphosphate in human semen : a quantitative estimate of fertilizing potential . Fertil. Steril ; 40 : 500-505.

Confino , E. ; Fribery , J. ; Dudkiewicz , A.B. & Gleicher , N.(1986) . Intrauterine insemination with washed human spermatozoa . Fertil. Steril ; 46 :55-60.

Cooper , T.G.& Orgebin-Crist , M.C. (1975) . The effect of epididymal and testicular fluids on the fertilizing capacity of testicular and epididymal spermatozoa . Andrologia ; 7 : 85-93.

Corrales , J.J. ; Burgo , R.M. ; Miralles , J.M.& Villar , E. (2000) . Abnormalities in sperm acid glycosidases from infertile men with idiopathic oligoasthenoteratozoospermia . Fertil. Steril ; 73 :470-478.

Cottell , E. ; Lennon , B. ; McMorrow , J. ; Kinsella , C.B.& Harrison , R.F. (1997) . Processing of semen in an antibiotic – rich culture medium to minimize microbial presence during in vitro fertilization . Fertil. Steril ; 67 :98-103 .

Courtade , M. ; Lagorce , C. ; Bujan , L. ; Caratero , C. & Mieusset , R. (1998) . Clinical characteristics and light and transmission electron microscopic sperm defects of infertile men with presistent unexplained asthenozoospermia . Fertil. Steril ; 70 :297-304.

Crittenden , J.A. ; Handelsman , D. J. & Stewart , G.J. (1992) . Semen analysis in human immunodeficiency virus infection . Fertil. Steril ; 57 :1294-1299.

Cruz , R.I. ; Kemmann , E. ; Brandeis , V.T. ; Becker , K.A. ; Beck , M. ; Beardsley , L. & Shelden R. , (1986) . Aprospective study of intrauterine insemination of processed sperm from men with oligoasthenospermia in superovulated women . Fertil. Steril ; 46 :673-677 .

Dickey , R.P ; Pyrzak , R. ; Lu, P.Y. ; Taylor , S.N. & Rye , P.H. (1999) . Comparison of the sperm quality necessary for successful intrauterine insemination with world health organization threshold values for normal sperm . Fertil. Steril ; 71 :684-689.

Dikshit , P.K. ; Buch , J.G. & Mansuri , S.M. (1987) . Effect of tobacco consumption on semen quality of a population of hypofertile males . Fertil. Steril; 48 :334-336.

Dodson , W.C. ; Moessner , J. ; Miller , J. ; Legro , R.S. & Gnatuk , C.L. (1998) . Arandomized comparison of the methods of sperm preparation for intrauterine insemination . Fertil. Steril ; 70:574-574.

Donnelly , E.T. ; Mcclure , N. & Lewis , S.E.M. (2001) . Cryopreservation of human semen and prepared sperm : effect on motility parameters and DNA integrity . Fertil. Steril ; 76 :892-900.

Donnelly , G.P. ; Mcclure , N. ;Kennedy , M.S. & Lewis , E.M. (1999) . Direct effect of alcohol on the motility and morphology of human spermatozoa . Andrologia ; 31 : 43-47 .

Dor ,J. ; Rudak , E. & Aitken , R.J. (1981) . Antisperm antibodies : their effect on the process of fertilization studied in vitro . Fertil. Steril ; 35 :535-541.

Dugan , K.J. ; Shalika , S. ; Smith , R.D. & Padilla , S.L. (1997) . Comparison of synthetic serum substitute and fetal cord serum as media supplements for invitro fertilization : a prospective , randomized study . Fertil. Steril ; 67 :166-168.

Duru , N.K.; Morshedi , M.; Schuffner , A. & Oehninger , S. (2000) . Semen treatment with progestrone and /or acetyl –l- carnitine does not improve sperm motility or membrane damage after cryopreservation . Fertil. Steril ; 74 :715-720.

Eiss , M. ; Schieferstein , G. & Wahi , R. (2000) . Oxalate in human seminal plasma : possible significans and problem of determination . Fertil. Steril ; 73:961-966

Eriksen , G.V. ; Carlstedt , I. ; Uldbjerg , N. & Ernst , E. (1998) . Cevical mucins affect the motility of human spermatozoa in vitro . Fertil. Steril ; 70:350-354 .

Ermilov , A. ; Diamond , M.P.; Sacco , A.G.& Dozortsev , D.D. (1999) . Culture media and their components differ in their ability to scavenger reactive oxygen species in the plasmid relaxation assay . Fertil. Steril ; 72:154-157 .

Evans ,H.J.& Fletcher , J. (1981) . Sperm abnormalities and cigaratte smoking . Lancet ; 21 :627-629 .

Fabbri , R. ; Porcu , E. ; Lenzi , A. ; Gandini , L. ; Marsella , T. & Flamigni , C. (1998) . Follicular fluid and human granulosa cell cultures : influence on sperm kinetic parameters , hyperactivation , and acrosome reaction . Fertil. Steril ; 69:112-117 .

Fakih , H. ; Maclusky , N. ; DeCherney , A. ; Wallimann , T.& Huszar , G. (1986) . Enhancement of human sperm motility and velocity in vitro : effects of calcium and creatine phosphate . Fertil. Steril ; 46:938-944.

Fanchin , R. ; Righini , C. ; Ziegler , D. ; Olivennes , F. ; Ledee , N. & Frydman ,R. (2001) . Effects of vaginal progestrone administration on uterine contractility at the time of embryo transfer . Fertil. Steril ; 75:1136-1140.

Fayed , A.H.A. (1996) . Effect of prostglandin $F_2\alpha$ and methylxanthines on enzymic release of bull epididymal spermatozoa in vitro . Contraception ; 53 : 181-184 .

Foresta , C. ; Bettella , A. ; Ferlin , A. & Rossato , M. (1998) . Evidence for astimulatory role of follicle –stimulating hormone on the spermatogonial population in adult males . Fertil. Steril ; 69 : 636-642 .

Forrler , A. ; Dellenbach , P. ; Nisand , I. & Moreau , L. (1986) . Direct intraperitoneal insemination in unexplained and cervical infertility . Lancet ; 19:916-917 .

Forti , G. ; Baldi , E. ; Kpausz , C. ; Luconi , M. ; Bonaccorsi , L. ; Maggi , M. ; Bassi , F.&Scarselli , G. (1999) . Effects of progestrone on human spermatozoa : clinical implications . Annales d'Endocrinologie ; 60: 107-110.

Frachimont , P. ; Hazee-Hagelstein , M.T. ; Hazout , A. ; Frydman , R. ; Schatz , B. & Dermerle , F. (1989) . Correlation between follicular fluid content and the result of invitro fertilization and embryo transfer . 1-sex Steroid . Fertil. Steril ; 53:1006-1011 .

Francavilla , F. ; Romano , R. ; Santucci , R. ; Marrone , V. & Corrao , G. (1992) . Failure of intrauterine insemination in male immunlogical infertility in case in which all spermatozoa are antibody – coated . Fertil. Steril ; 58:587-592 .

Francavilla , F. ; Romano , R. ; Santucci , R. & Poccia , G. (1990) . Effect of sperm morphology and motile sperm count on outcome of intrauterine in oligospermia and /or asthenospermia . Fertil. Steril ; 53:892-897 .

Fukuda , A. ; Mori , C. ; Hashimoto , H. ; Noda , Y. ; Mori , T. & Hoshino , K. (1989) .Effect of prolactin during pereincubation of mouse spermatozoa on fertilizing capacity in vitro . J. in Vitro Fert. Embryo Transfer ; 6 :92-97 .

Gallinelli , A. ; Roncaglia , R. ; Matteo , M.L. ; Ciaccio , I. ; Volpe , A. & Facchinetti , F. (2001) . Immunological changes and stress are associated with different implantation rates in patients undergoing in vitro fertilization – embryo transfer . Fertil. Steril ; 76:85-91 .

Ganong , W.F. (1989) . The gonads : development & function of the reproductive system in : Review of medical physiology . Jack And Lange , D. (eds) . Fourteenth Edition , Sanfrancisco , Prentice-Hall International Inc.

Garde , J. & Roldan , E.R.S. (2000) . Stimulation of Ca^{2+} - dependent exocytosis of the sperm acrosome by cAMP acting downstream of phospholipase A_2 . J. of Reprod . and Fert ; 118: 57-68 .

Gavella , M. & Lipovac , V. (1998) . In vitro effect of zinc on oxidative changes in human semen . Andrologia ; 30 : 317-323 .

Gazvani , M.R. ; Wilson , E.A. ; Richmond , D. H. ; Howard , P.J. ; Kingsland , C.R. & Lewis – Jones , D. (2000 a) . Evaluation of the role of mitotic instability in karyotypically normal men with oligospermia . Fertil. Steril ; 73:51-55 .

Gazvani , M.R. ; Wilson , E.A. ; Richmond , D.H.; Howard , P.J. , Kingsland , C.R. & Lewis – Jones , D.(2000 b) . Role of mitotic control in spermatogensis . Fertil. Steril ; 74:251-256 .

Geyter , Ch. D. ; Pratsch , M.B. ; Doeren , M. ; Yenug , C.H. ; Grunert , J.H. ; Bordt , J. ; Schneider , H.P. & Nieschlag , E. (1988) . Human and bovin cervical mucus penetration as test of sperm function for in vitro fertilization . Human Reproduction ; 3 :948-954.

Giblin , P.T. ; Poland , M.L. ; Moghissi ,K.S. ; Ager , J.W. & Olson , J.M. (1988) . Effects of stress and characteristic adaptability on semen quality in healthy men . Fertil. Steril ; 49: 127-131 .

Giojalas , L.C. (1998) . Correlation between response to progestrone and other functional parameters in human spermatozoa . Fertil. Steril; 69:107-111 .

Golomb , J.;Vardinon , N. ; Homonnai , Z.T. ; Braf , Z. & Yust , I. (1986) . Demonstration of antispermatozoal antibodies in varicocel – related infertility with an enzyme – linked immunosorbent assay (ELISA) . Fertil. Steril ; 45:397-402 .

Gomez , E. ; Cano , I.P. ; Amorocho , B. ; Landeras , J. ; Ballesteros , A. & Pellicer , A. (2000) . Effect of injected spermatozoa morphology on the outcome of intracytoplasmic sperm injection in humans . Fertil. Steril ; 74:842-843 .

Gonzales , G.F. ; Kortebani , G.& Mazzolli , A.B. (1992) . Leukocyto-spermia and function of the seminal vesicles on seminal quality . Fertil. Steril ; 57:1058-1065.

Gopalkrishnan , K. ; Hinduja , I.N. & Kumar , T.C.A (1989) . Determining the osmolality of seminal fluids aids in the rapid diagnosis of the fertilizing potential of spermatozoa . J. Vitro .Fert . Embryo Transfer ; 6:119-121.

Gordon , U.D. ; Harrison , R.F. ; Fawzy , M. ; Hennelly , B.& Gourdon , A.C. (2001) . Arandomized prospective assessor – blind evaluation of luteinizing hormone dosage and in vitro fertilization outcome . Fertil. Steril ; 75:324-330.

Gottlieb , C. ; Svanborg , K. ; Eneroth , P. & Bygdeman , M. (1988) . Effect of prostglandins on human sperm function in vitro and seminal adenosine triphosphate content . Fertil. Steril ; 49:322-327.

Green , T.R. ; Fellman , J.H. & Wolf , D.P. (2001) . Human spermicidal activity of inorganic and organic antioxidants . Fertil. Steril ; 76:157-162 .

Gross , K.M. ; Matsumoto , A.M. ; Berger , R.E. & Bremner , W.J. (1986) . Increased frequency of pulsatile luteinizing hormone –releasing hormone administration selectively decreases follicle – stimulating hormone level in men with idiopathic azoospermia . Fertil. Steril ; 45 :392-396 .

Haesungcharen , A. & Chulavatnatol , M. (1973) . Stimulation of human spermatozoal motility by caffeine . Fertil. Steril ; 24:662-665.

Hammitt , D.G. ; Bedia , E. ; Rogers , P.R. ; Syrop , C.H. ; Donovan , J.F. & Williamson , R.A. (1989) . Comparison of motility stimulants for cryopreserved human semen . Fertil. Steril ; 52:495-502.

Handelsman , D.J. ; Wishart , S. & Conway , A.J. (2000) . Oestradiol enhance testosterone – induced suppression of human spermatogenesis . Human Reproduction ; 15 :672 – 679.

Hansen , P.V. ; Trykker , H. ; Andersen , J.& Helkjer , P.E. (1989) .Germ cell function and hormonal status in patients with testicular cancer . Cancer ; 64: 956-961 .

Harrison , R.F. (1978) . Insemination of husband's semen with and without the addition of caffeine . Fertil. Steril ; 29:532-534.

Harrison , R.F. ; Sheppard , B.L.& Kaliszer , M. (1980) . Observations on the motility , ultrastructure and elemental composition of human spermatozoa incubated with caffeine . Andrologia ; 12 :34-42 .

Hass , G.G. & Beer , A.E. (1986) . Immunological influences on reproductive biology : sperm gametogenesis and maturation in the male and female genital tracts . Fertil. Steril ; 46:753-766.

Hendry , W.F. ; Treehuba , K. ; Haghes , L. ; Stedronska , J. ; Parslow , J.M. ; Wass , J.A. & Besser , G.M. (1986) . Cyclic prednisolone therapy for male infertility associated with autoantibodies to spermatozoa . Fertil. Steril ; 45:249-253.

Henriksen , K. & Parvinen . M. (1998) . Stage – specific apoptosis of male germ cells in the rat : mechanisms of cell death cell studied by supravital squash preparation . Tissue & Cell ; 30 : 692-701 .

Hernandez , L.L.; Grenfell , A.M.G. ; Gomez , J.J.H. & Martinez , M.T.G. (1998) . Voltage- dependent calcium influx in human sperm assessed by simultaneous optical detection of intracellular calcium and membrane potential . Bioch. Biophy. Acta ; 1372 : 1-12 .

Herrero , M.B. ; Viggiano , J.M. ; Boquet , M. & Gimeno , M.A.F. (1997) . Prostglandin modulation of mouse and human sperm capacitation. Prostglandin , Leukotrienes and Essential Fatty Acids ; 57 : 207-284.

Hewitt , J. ; Cohen , J. ; Krishnaswamy , V. ; Fehilly , C.B. ; Steptoe , P.C. & Walters , D.E. (1985) . Treatment of idiopathic infertility, cervical

mucus hostility , and male infertility : artificial insemination with husband's semen or in vitro fertilization ? . Fertil. Steril ; 44:350-355.

Hicks , J.J. ; Pedron , N. & Rosado , A. (1972) . Modification of human spermatozoa glycolysis by cyclic adenosine monophosphate (cAMP) , estrogens and follicular fluid . Fertil. Steril ; 23:886-893 .

Hinting , A. (1989) . Method of semen analysis . in : assessment of human sperm fertilizing ability . Ph.D. Thesis , Mishigan University .

Hirsch , I. ; Gibbons , W.E. ; Lipshultz , L. I. ; Rossavik , K.K. ; Young , R.L. ; Poindex , A.N. ; Dodson , M.G.& Findleg , W.E.(1986) . In vitro fertilization in couples with male factor infertility . Fertil. Steril; 45:659-664.

Ho,H.C. & Suarez , S.S. (2001) . An inositol 1,4,5-triphosphate receptor – gated intracellular Ca^{2+} store is involved in regulation sperm hyperactivated motility . Biology of Reproduction ; 65:1606-1615.

Hogarth , P.J. (1978) . Capacitation and fertilization in : Biology of Reproduction . Hogarth , P.J. (ed.) Blackie , Glasgow .

Hoing , L.M. ; Devroey , P. & Steirtegham , A.C. (1986) . Treatment of infertility because of oligoasthenospermia by transcervical intrauterine insemination of motile spermatozoa . Fertil. Steril ; 45:388-391.

Holden , C.A. ; Fuscaldo , G.F. ; Jackson , P.; Cato ,A. ; Southwick , G.J. ; Hauser , R. ; Smith , P.D. & Mclachlan , R.I. (1997) . Frozen – thawed epididymal spermatozoa for intracytoplasmic sperm injection . Fertil. Steril ; 67:81-87.

Horton , E.W. ; Jones , R.L. & Marr , G.G. (1973) . Effects of aspirin on prostglandin and fructose levels in human semen . J. Reprod . Fert. ; 33 : 385-392.

Hoshi , K. ; Yanaigde , K. ; Yoshimastu , M.& Sato , A. (1990) . Variation in the cholestrol / phospholipid ratio in human spermatozoa and it's relation with capacitation . Hum. Reprod ; 5 : 71-74.

Huleihel , M. ; Lunenfeld , E. ; Horowitz , S. ; Levy , A. ; Potashnik , G.& Glezerman , M. (2000) . Production of interlukin –1-like molecules by human sperm cell. Fertil. Steril ; 73:1132-1137.

Huleihel , M. ; Lunefeld , E. ; Levy , A.; Potashnik G. & Glezerman , M . (1996) . Distinct expression levels of cytokines and soluble cytokine receptors in seminal plasma of fertile and infertile men . Fertil. Steril; 66:135-139 .

Hull, M.G.R.; Mcleod , F.N.; Joyce , D.N. ; Ray , B.D. & McDerott , A. (1984) . Human in vitro fertilisation , in vivo sperm penetration of cervical mucus , and unexplained infertility . Lancet ; 4:245-246.

Jequier , A.M. ; Crich , J,C. & Ansell , I.D. (1979) . Clinical findings and testicular histology in three hypoprolactinemic infertile men . Fertil. Steril; 31:525-530 .

Joyce , C.L. ; Nuzzon , N.A. ; Wilson , L. & Zaneveld , L.D. (1987) . Evidence for arole of cyclooxgenase (prostglandin synthase) and prostglandin in the sperm acrosome reaction and fertilization . J. Androl. ; 8 :74-82 .

Junk , S. M. ; Matson , P.L. ; Yovich , J.M. ; Bootsma , B.& Yovich , J.L. (1986) . The fertilization of human oocytes by spermatozoa from men with antispermatozoal antibodies in semen . J.Vitro . Fert. Embryo Transfer ; 3: 350-352.

Kadioglu , A. ; Cayan , S. ; Tefekli , A.; Orhan I. ; Engin , G. & Turek , P.J. (2001) . Does responce to treatment of ejaculatory duct obstruction in infertile men vary with pathology ? . Fertil. Steril; 76:138-142 .

Kamal , A. ; Rhodes , C.A. ; Fahmy , I. ; Mansour , R.T. ; Aboulghar , M.A. & Serour , G.I. (1999) . Intracytoplasmic sperm injection in men with totally immotile ejaculated sperm . Middle East Fertility Society Journal ; 4 : 154-161.

Karabinus , D.S. & Gelety , T.J. (1997) . The impact of sperm morphology evaluated by strict criteria on intrauterine insemination success . Fertil. Steril ; 67:536-541 .

Karlstrom , P. ; Bakos , O. ; Palmstierna , M. ; Bergh , T.&Lundkvist O. (1991) . Direct intraperitoneal insemination – clinical results and comparison between two methods of sperm preparation . Fertil. Steril ; 56:939-945 .

Kausche , A. ; Jones , G.M. ; Trounson , A.O. ; Figueiredo , F. ; Maclachlan , V. & Lolatgis , N. (2001) . Sex ratio and birth weights of infants born as a result of blastocyst transfers compared with early cleavage stage embryo transfer . Fertil. Steril ; 76:688-692.

Kelly , R.W. ; Cooper , I. & Templeton , A.A. (1979) . Reduced prostglandin levels in the semen of men with very high sperm concentrations . J. Reprod . Fertil ; 56: 195-199 .

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

Kilglour , R.J. ; Pisselet , C. & Dubois , M.P. (1998) . Ram lambs need FSH for normal testicular growth , sertoli cell number and onest of spermatogenesis . Reprod . Nutr . Dev ; 38 :539-550.

Kim , S.T. ; Cha , Y.B. ; Park , J. M. & Gye , M.C. (2001) . Successful pregnancy and delivery from frozen – thawed embryos after intracytoplasmic sperm injection using round- headed spermatozoa and assisted oocyte activation in a globozoospermic patient with mosaic down syndrom . Fertil. Steril ; 75:445-447 .

King , K.; Chan , P. J. ; Patton , W.C. & King , A. (1997) . Antibiotics : effect on cryopreserved – thawed human sperm motility in vitro . Fertil. Steril ; 67:1146-1151 .

Klaiber , E.L. & Broverman , D.M. (1988) . Dynamic of estradiol and testosterone and seminal fluid index in smokers and nonsmokers . Fertil. Steril ; 50:630-634 .

Kleiman , S.E. ; Lagziel , A. ; Yogev , L. ; Botchan , A. ; Paz , G. & Yavetz, H. (2001) . Expression of CDY1 , may identify complet spermatogenesis . Fertil. Steril ; 75:166-173 .

Kobayashi , H. ; Larson , K. ; Sharma , R.K. ; Nelson , D.R. ; Evenson , D.P. ; Toma , H. ; Thomas , A.J. & Agarwal , A. (2001) . DNA damage in patients with untreated cancer as measured by the chromatin structure assay . Fertil. Steril ; 75:469-475 .

Kodama , H. ; Yamaguchi , R. ; Fukuda , J. ; Kasai , H. & Tanaka , T. (1997) . Increased oxidative deoxyribonucleic acid damage in the spermatozoa of infertile male patients . Fertil. Steril ; 68:519-524 .

Kovalski , N. ; Lamirande , E. & Ganong , C. (1992) . Reactive oxygen species generated by human neutrophils inhibit sperm motility : protective effect of seminal plasma and scavengers . Fertil. Steril ; 58:809-816 .

Krause , W. (1988) . Concentration of estradiol in serum and testis tissue in patients with fertility disorders . Fertil. Steril ; 49:926-927 .

Kruger , T.F. ; Acosta , A.A. ; Simmons , R.J. ; Matta , J.F. & Oehniger , S. (1988) . Predictive value of abnormal sperm morphology in vitro fertilization . Fertil. Steril ; 49: 112-117 .

Kruger , T.F. ; Menkveld , R. ; Stander , F.S.H. ; Lombard , C.J. ; Merwe , J.P.V. ; Zyl , J.A. & Smith , K. (1986) . Sperm morphologic features as a prognostic factor in vitro fertilization . Fertil. Steril; 46:1118-1123 .

Kulin , S. ; Bastiaans , B.A. ; Hollanders , H.M.G. , Janssen , H.J.C. & Goverde , H.J.M. (1994) . Human serum and follicular fluid stimulate hyperactivation of human spermatozoa after preincubation . Fertil. Steril ; 62: 1234-1237 .

Lavy , G. ; Boyers , S.P. & Decherney , A.H. (1988) . Hyaluronidase removal of the cumulus oophorous increase in vitro fertilization . J. Vitro .Fert. Embryo Transfer ; 5 :257-260.

Lee , D.R. ; Lee , J.E. ; Yoon , H.S.&Roh , S. (1997) . Induction of acrosome reaction in human spermatozoa accelerates the time of pronucleus formation of hamster oocyte after intracytoplasmic sperm injection . Fertil. Steril ; 67:315-320 .

Lee , W.I. ; Gaddum – Rosse , R. ; Smith , W.D. ; Stenchever , M. Blandau , R.J. (1982) . Laser light – scattering study of the effect of washing on sperm motility . Fertil. Steril ; 38: 62-67 .

Lessing , J.B. ; Brenner , S.H. ; Schoenfeld , C. ; Goldsmith , L.T.;Amelar , R.D. ; Dubin, L. & Weiss , G. (1985) . the effect of relaxin on the motility of sperm in freshly thawed human semen . Fertil. Steril ; 44:406-409 .

Levin , R.J. ; Brown , M.H. ; Bell , M. ; Shue , F.; Greenberg , G.N. & Bordson , B.L. (1992) . Air - condition environments do not prevent deterioration of human semen quality during the summer . Fertil. Steril ; 57:1075-1083 .

Levin , R.M. ; Latimore , J. ; Wein , A.J. & Van Arsdalen , K.N. (1986) . Correlation of sperm count with frequency of ejaculation . Fertil. Steril ; 45:732-734 .

Levran , D. ; Nahum , H. ; Farhi , J.& Weissman , A. (2000) . Poor outcome with round spermatid injection in azoospermia patients with maturation arrest . Fertil. Steril ; 74:443-449 .

Levron , J. ; Goldring , A.A. ; Madgar , I. ; Raviv , G. ; Barkai , G. & Dor , J. (2001) . Sperm chromosome abnormalities in men with sever male factor infertility who are undergoing in vitro fertilization with intracytoplasmic sperm injection . Fertil. Steril ; 76:479-484 .

Lewin , L.M. & Beer , R. (1973) . Prostatic secretion as the source of myo – inositol in human seminal fluid . Fertil. Steril ; 24:666-670 .

Lewis ,S.E.M. ; Moohan ,J.M. & Thompson , W. (1993) . Effect of pentoxifylline on human sperm motility in normospermic individuals using computer – assisted analysis . Fertil. Steril ; 59:418-423 .

Lewis , S.E.M ; Sterling , E.S.L.; Young , I.S.& Thompson , W. (1997) . Comparison of individual antioxidants of sperm and seminal plasma infertile and fertile men . fertil. steril ;67:142-147 .

Lin , W.W. ; Lamb , D. J. ; Lipshultz , L. I. & Kim , E.D. (1998) . Absence of cyclic adenosine 3′:5′ monophosphate responsive element modulator expression at the spermatocyte arrest stage . Fertil. Steril; 69: 533-538 .

Liu , D.Y. & Baker , H.W.G. (1992) . Tests of human sperm function and fertilization in vitro . Fertil. Steril ;58:465-482 .

Liu , D.Y. ; Martic , M. ; Clark , G.N. ; Grkovic , I. ; Garrett , C. ; Dunlop , M. & Baker , H.W.G (2002) . An anti-actin monoclonal antibody inhibits the zona pellucida – induced acrosome reaction and hyperactivated motility of human sperm . Molecular Human Reproduction ; 8 :37-47.

Livi , C. ; Coccia , E. ; Tech , L.V. ; Pratesi , S. & Buzzoni , P. (1990) . Does intraperitoneal insemination in the absence of prior sensitization carry with it a risk of subsequent immunity to sperm ?. Fertil. Steril ; 53:137-142 .

Lopes , S. ; Sun , J. ; Jurisicova , A. ; Meriano , J. & Casper , R.F. (1998) . Sperm deoxyribonucleic acid fragmentation is increased in poor-quality semen sample and correlates with failed fertilization in intracytoplasmic sperm injection . Fertil. Steril ; 69:528-532 .

Machelon , V. ; Nome , F. ; Grosse , B. & Lieberherr , M. (1996) . Progestrone triggers rapid transmembrane calcium influx and / or

calcium mobilization from endoplasmic reticulum , via a pertussis-insensitive G-protein in granulosa cells in relation to luteinization process . Journal of Cellular Biochemistry ; 61 :619-628.

Macleod , J. & Gold , R.Z. (1951) . The male factor in fertility and infertility . Fertil. Steril ; 2:187-204 .

Madgar , I. ; Hourvitz , A. ; Levron , J. ; Seidman , D.S. ; Shulman , A., Raviv , G.G. , Levran , D. ; Bider , D. ; Mashiach , S. & Dor , J. (1998) . Outcome of in vitro fertilization and intracytoplasmic injection of epididymal and testicular sperm extracted from patients with obstructive and nonobstructive azoospermia . Fertil. Steril ; 69:1080-1084 .

Mahadevan , M.M. ; Batres , F. ; Miller , M.M. & Moutos , D.M. (1996) . Yeast infection of sperm , oocytes and embryo after intravaginal culture for embryo transfer . Fertil. Steril ; 66:481-483 .

Mahadevan , M.M. & Trounson , A.O. (1984) . Relationship of fine structure of sperm head to fertility of frozen human semen . Fertil. Steril ; 41:287-293 .

Makler , A. & Jakobi , P. (1981) . Factors affecting sperm motility .v. washing and resuspension of human spermatozoa in various artificial media . Fertil. Steril ;35:442-446 .

Makler , A. ; Makler , E. ; Itzkovitz , J. & Brandes , J.M. (1980) . Factors affecting sperm motility .iv. incubation of human semen with caffeine , kallikrein , and other metabolically active compounds . Fertil. Steril ; 33:624-630 .

Mallidis , C. ; Lim , T.C. ; Hill , S.T. ; Skinner , D.J. ; Brown , D.J. ; Johnston , W.I.H. & Baker , H.W.G. (2000) . Necrospermia and chronic spinal cord injury . Fertil. Steril ;74:221-227 .

Marmar , J. ; Katz , S. ; Praiss , D.E. & Debedictis , J. (1975) .Semen zinc level in infertile and posvaectomy patient and patient with prostitis . Fertil. Steril; 26:1057-1063 .

Marshburn , P.B. ; Sloan , C.S. & Hammond , M.G. (1989) . Semen quality and association with coffee drinking , cigarette smoking and ethanol consumption . Fertil. Steril ; 52:162-165 .

Mathur , S. ; Mathur , R.S. ; Holtz , G. L. ; Tsai , C.C. ; Rust , P.F. & Williamson , H.D. (1987) . Cytotoxic sperm antibodies and in vitro fertilization of mature oocytes : a preliminary report . J. Vitro . Fert. Embryo Transfer ; 4:177-180 .

Mathur , S. ; Williamson , H.O. ; Baker , M.E. ; Rust , P.F. ; Holtz , G.L. & Fudenberg , H.H. (1984) . Sperm motility on postcoital testing correlates with male autoimmunity to sperm . Fertil. Steril;41:81-87.

Matkov , T. ; Zenni , M. ; Sandlow , J. & Levine , L.A. (2001) . Preoperative semen analysis as a predictor of seminal improvement following varicocelectomy . Fertil. Steril ;75:63-68 .

Matthews , G.J. ; Matthews , E.D. & Goldstein , M. (1998) . Induction of spermatogenesis and achievement of pregnancy after microsurgical varicocelectomy in men with azoospermia and sever oligoasthenospermia . Fertil. Steril ; 70:71-75 .

Matzkin , H. ; Homonnai , Z.T. ; Galiani , D.; Paz , G. & Dekel , N. (1990). Serum bioactive and immunoreactive follicle – stimulating hormone in oligospermic and azoospermic men : application of modified granulosa cell bioassay . Fertil. Steril ; 53:709-714 .

McClure , R.O. ; Tom , R.A. & Dandekar , P.V. (1990) . Optimizing the sperm penetration assay with human follicular fluid . Fertil. Steril ; 53:546-550 .

Menkveld , R. ; Swanson , R.J. ; Kotze , T.J.W. & Kruger , T.F. (1990) . Comparison of a discontinuous percoll gradient method versus a swim –up method : effects on sperm morphology and other semen parameters . Andrologia ; 22:152-158.

Mercado , E. ; Villalobos , M. ; Dominguez , R. & Rosado , A. (1977) Differential binding of PGE-1 and $PGF_2\alpha$ to the human spermatozoa membrance . Life Science ; 22 : 429-436.

Merwe , J.P. ; Kruger , T.F. ; Windt , M.L. ; Hulme , V.A. & Menkveld , R. (1990) . Treatment of male sperm autoimmunity by using the gamete intrafallopian transfer procedure with washed spermatozoa . Fertil. Steril ; 53:682-687 .

Momen , M.N. ; Khodary , M. ; Mostafa , T. & Yossef , H.A. (1999) . Total antioxidant status in infertile males with leukocytospermia . Middle East Fertility Society Journal ; 4 : 215-221.

Mortimer , D. ; Goel , N. & Shu , M.A. (1988) . Evaluation of the cell soft automated semen analysis system in a routine laboratory setting . Fertil. Steril ; 50:960-968 .

Morton , B. ; Sagadraca , R. & Fraser , C. (1978) . Sperm motility within the mammalian epididymis : species variation and correlation with free calcium levels in epididymal plasma . Fertil. Steril ; 29:695-698 .

Moussa , M.M. (1983) . Caffeine and sperm motility . Fertil. Steril ; 39:845-848 .

Nakagawa , S.; Watanabe , H. ; Ohe , H. & Nakao , M. (1990) . Sexual behaviour in japanes males relating to area occupation , smoking , drinking and eating habits . Andrologia ; 22 :21-28 .

Nandi , M. ; Slone , D. ; Jick , H. ; Shapiro , S. (1969) . Cadmium content in cigarettes . Lancet ; 2 : 1329-30 cited by Zenzes , M.T.;Reed , T.E. ; Wang , P. & Klein , J.(1996) . Cotinine , a major metabolite

of nicotine , is detectable in follicular fluids of passive smokers in vitro fertilization therapy . Fertil . Steril ; 66:614-619 .

Nassar , A. ; Mahony , M. ; Blackmore , P. ; Morshedi , M. ; Ozgur , K. & Oehninger , S. (1998) . Increase of intracellular calcium is not a cause of pentoxifylline – induced hyperactivated motility or acrosome reaction in human sperm . Fertil. Steril ; 69:748-754 .

Nassar , A. ; Mahony , M. ; Morshedi , M. ; Lin , M.H. ; Srisombut , C. & Oehninger , S. (1999 a) . Modulation of sperm tail protein tyrosine phosphorylation by pentoxifylline and its correlation with hyperactivated motility . Fertil. Steril ;71:919-923 .

Nassar , A. ; Morshedi , M. ; Mahony , M. ; Srisombut , C. ; Lin , M.H. & Dehninger , S. (1999 b) . Pentoxifylline stimulates various sperm motion parameters and cevical mucus penetrability in patients with asthenozoospermia . Andrologia ; 31 :9-15 .

Nelson , C.M.K. & Bunge , R.G. (1974) . Semen analysis : evidence for changing parameters of male fertility potential . Fertil. Steril ; 25:503-507 .

Nelson , W.O. & Bunge , R.G. (1957) . The effect of therapeutic dosages of nitrofurantoin (furadantin) upon spermatogenesis in men . Journal of Urology ; 77 : 275-281 .

Oliva , r. ; Margarit , E. ; Ballesca , J. ; Carrio , A. ; Sanchez , A. ; Mila , M. ; Jimenez , L. ; Alvarez – Vijande , J. & Ballesta , F. (1998) . Prevalence of Y chromosome microdeletion in oligospermic and azoospermic candidates for intracytoplasmic sperm injection . Fertil. Steril ;70:506-510 .

Ord , T. ; Marello , E. ; Patrizio , P. ; Balmaceda , J.P. ; Silber , S.J. & Asch , R.H. (1992) . The role of the laborotory in the handling of epididymal sperm for assisted reproductive technologies . Fertil. Steril ; 57:1103-1106 .

Orlando , C. ; Caldini , A.L. ; Barni , T. ; Wood , W.G. ; Strasburger , C.J. ; Natali , A. ; Maver , A. ; Forti , G. & Serio , M. (1985) . Ceruloplasmin and transferrine in human seminal plasma : are they an index of seminiferous tubular function . Fertil. Steril ;43:290-294.

Ory , S.J. (1989) . What's the best approach for unexplained infertility ? . J. Vitro . Fert. Embryo Transfer ; 6 : 273-274.

Overstreet , J.W. ; Gould , J.E. ; Katz , D.F. & Hanson , F.W. (1980 a) . In vitro capacitation of human spermatozoa after passage through a colume of cervical mucus . Fertil. Steril ; 34:604-606 .

Overstreet , J.W. ; Yanagimachi , R. ; Katz , D.F. ; Hayashi , K.& Hanson , F.W. (1980 b) . Penetration of human spermatoza into the human zona pellucida and the zona – free hamster egg : a study of fertile donors and infertile patients . Fertil. Steril ; 33:534-542 .

Palermo , G. ; Joris , H. ; Derde , M.P. ; Camus , M. ; Devroey , P. & Steirteghem , A.V. (1993) . Sperm characteristics and outcome of human assisted fertilization by subzonal insemination and intracytoplasmic sperm injection . Fertil. Steril ; 59:826-835 .

Pang , S.C. ; Williams , D.B. ; Huang , T. & Wang , C. (1993) . Effects of pentoxifylline on sperm motility and hyperactivated motility in vitro : a preliminary report . Fertil. Steril ;59:465-467 .

Parikh , F.R. ; Nadkarni , S.G. ; Kamat , S.A. ; Naik , N. ; Soonawala , S.B. & Parikh , R.M. (1997) . Genital tuberculosis – a major pelvic factor causing infertility in indian women . Fertil. Steril ; 67:497-500 .

Parinaud , J. & Milhet , P. (1996) . Progestrone induces Ca^{++} - dependent 3′,5′- cyclic adenosine monophosphate increase in human sperm (Abstr.) , J.Clin. Endocrinol Metab ; 81 : 1357-60.

Parrish , R.F. & Polakoski , K.L. (1979) . Mammalian sperm proacrosin-acrosin system . Int. J. Biochem . ; 10 : 391-395.

Parslow , J.M. ; Poulton , T.A. ; Besser , G.M. & Hendry , W.F. (1985) . The clinical relevance of classes of immunoglobulin on spermatozoa from infertile and vasovasostomized males . Fertil. Steril ; 43: 621-627 .

Pasqualotto , F.F. ; Sharma , R.K. ; Nelson , D.R. ; Thomas , A.J. & Agarwal , A. (2000) . Relationship between oxidative stress , Semen characteristics , and clinical diagnosis in men undergoing infertility investigation . Fertil. Steril ; 73:459-464 .

Pedersen , H. ; Rebbe , H. & Hammen , R. (1971) . Human semen fine structure in a case of sever asthenospermia-necrospermia . Fertil. Steril; 22:156-164 .

Pedron , N. ; Giner , J. ; Hicks , J.J . & Rosado , A. (1975) . Comparative glycolytic metabolism of sperm from normal , asthenospermic , and oligospermic men . Fertil. Steril ; 26:309-313 .

Pelt , A.M.M. & Rooij , D.G. (1991) . Retinoic acid is able to reinitiate spermatogenesis in vitamin A-deficient rats and high replicate doses support the full development of spermatogenic cells . Endocrinology ; 128 : 697-704.

Penney , L.L. Unexplained infertility . In : INTERNET file : //A:unexplained infertility article – The Fertility Network , Site developed and maintained by MD website . com. Ltd.

Perrera , D.M.D. ; Katz , M. ; Heenbanda , S.R. & Marchant , S. (1996) . Nitric oxide synthase inhibitor N^{G} – monomethyl – L- arginine preserves sperm motility after swim-up . Fertil. Steril ;66:830-833 .

Pfeffer , J. ; Pang , M.G. ; Hoegerman , S.F. ; Osgood , C.J. ; Stacy , M.W. ; Mayer , J. ; Oehniger , S.& Kearns , W.G. (1999) . Aneuploidy frequencies in semen fractions from ten

oligoasthenoteratozoospermic patients donating sperm for intracytoplasmic sperm injection . Fertil. Steril ;72:472-478 .

Piasecka , M.; Rozewicka , L. ; Laszczynska , M. & Marchelewicz , M. (1995) . Electron - dense deposits in epididymal cells of rats chronically treated with lead acetate [Pb(II)] . Folia Histochemica Cytobiologica ; 33 :89 – 94 .

Procrea Fertility Center . Diagnosis male infertility . In : INTERNET bulletin . 1997 .

Quanzhong , L. ; Huidi , L. ; Yangyi , M. ; Keliang , R.& Maowen , L. (1996) . Effect of different capacitation media on rabbit sperm capacitation . 2nd Asian symposium on animal biotechnology , nanjing , China , Pp : 135-138.

Reinhardt , J.C. ; Cui , X. & Roudebush , W.E. (1999) . Immunofluorscent evidence of the platelet – activating factor receptor on human spermatozoa . Fertil. Steril ; 71:941-942 .

Revelli , A. ; Bergandi , L. ; Massobrio , M. ; Lindblom , B. ; Bosia , A. & Ghigo , D. (2001) . The concentration of nitrite in seminal plasma does not correlate with sperm concentration , sperm motility , leukocytospermia , or sperm culture . Fertil. Steril ; 76:496-500.

Ricker , C. ; Minhas , T. ; Robertson , J.L. & Dodson , M.G. (1989) . The effects of platelet – activating factor on the motility of human spermatozoa . Fertil. Steril ;52:655-658 .

Ridha – Albarazanchi , M.T. ; Khunda , S.S. ; Zakaria , M.R. ; Alfyad , R.S.F. ; Alanssari , S.A.M. & Jassim , M.M. (1992) . Human pregnancy following sperm antibodies seperation technique and sperm intrauterine transfer . J. Comm. Med. Baghdad ; 5 :37-43.

Robler , L. ; Femandez , E. ; Guadarrama , A. ; Zegers , F. & Oriz , M.E. (1988) . High potassium concentration improve the rate of acrosome reaction in human spermatozoa . Fertil. Steril ; 49:676-679 .

Rodriguez-Rigau , L. J. ; Smith , K.D. & Steinberger , E. (1981) . Varicocel and the morphology of spermatozoa . Fertil. Steril ; 35: 54-57.

Roest , J. ; Heusden , A.M. ; Verhoef , A. ; Mous , H. V.H. & Zeilmaker , G.H. (1997) . A triplet pregnancy after in vitro fertilization is a procedure – related complication that should be prevented by replacement of two embryos only . Fertil. Steril ; 67:290-295 .

Rojas , I.M. ; Rojas , F.J. ; Leisure , M. ; Stone , S.C. & Asch , R.H. (1990) Intrauterine insemination with washed human spermatozoa does not formation of antisperm antibodies . Fertil. Steril ; 53:180-182 .

Rothman , C.M. ; Sims , C.A.& Stotts , C.L. (1982) . Sertoli cell only syndrom . Fertil. Steril ; 38:388-390 .

Roudebush , W.E. & Pumell , E.T. (2000) . Platelet – activating factor content in human spermatozoa and pregnancy outcome . Fertil. Steril ;74:257-260 .

Roudebush , W.E. ; Wild , M. D. & Maguire , E.H. (2000) . Expression of the platelet – activating factor receptor in human spermatozoa : differences in messenger ribonucleic acid content and protein distribution between normal and abnormal spermatozoa . Fertil. Steril ; 73:967-971.

Rubes , J. ; Lowe , X. ; Moore , D. ; Perreault , S. ; Slott , V. ; Evenson , D.; Selvan , S.G. & Wyrobek , A.J. (1998) . Smoking cigarettes is associated with increased sperm disomy in teenage men . Fertil. Steril ; 70:715-723 .

Rust, P.F. ; Fredericks , C.M. ; Abdel – Aal , H. & Williamson , H.O. (1986) . Cytotoxic sperm antibodies inhibit sperm penetration of zona free hamster eggs . Fertil. Steril ; 45:542-549 .

Ryder , T.A. ; Mobberley , M.A. ; Hughes , L.& Hendry , W.F. (1990) . A survey of the ultrastructural defects associated with absent or imparied human sperm motility . Fertil. Steril ; 53:556-560 .

Ryu , H.M. ; Lin , W.W. ; Lamb, D.J. ; Chuang , W. ; Lipshultz , L.I, & Bischoff , F.Z. (2001) .Increased chromosome X,Y, and 18 nondisjunction in sperm from infertile patients that were indentified as normal by strict morphology : implication for intracytoplasmic sperm injection . Fertil. Steril ; 76:879-883 .

Sabeur , K. ; Vo, A. T. & Ball , B.A. (2000) . Effects of angiotensin II on the acrosome reaction in equine spermatozoa . Journal of Reproduction and Fertility ; 120 :135-142.

Schlegel , W. ; Rotermund , S.; Farber , G. & Nieschlag , E. (1981) . The influence of prostglandins on sperm motility . Prostglandins ; 21 : 87-99 .

Schoenfeld , C. ; Amelar , R.D. & Dubin , L. (1973) . Stimulation of ejaculated human spermatozoa by caffeine . Apreliminary report . Fertil. Steril ; 24:772-775 .

Schoenfeld , C. ; Amelar , R.D. & Dubin , L. (1975) . Stimulation of ejaculated human spermatozoa by caffeine . Fertil. Steril ; 26: 158-161 .

Schoolcraft , W. B. ; Surrey , E.S. & Gardner , D.K. (2001) . Embryo transfer : techniques and variables affecting success . Fertil. Steril ; 76:863-870 .

Schwartz , D. ; Mayoux , M.J. ; Spira , A. ; Moscato , M. ; Pierre , J. ; Czyglik , F.& David , G. (1983) . Semen characteristics as a function of age in 833 fertile men . Fertil. Steril ; 39:530-535 .

Scoti , R. ; Macpherson , A. & Yates , R. (1997) . Selenium supplementation in sub-fertile human males . Trace Element in Man and Animals ; 9 : 458-459 .

Shaarawy , M. & Mohmoud , K.Z. (1982) . Endocrine profile and semen characteristics in male smokers . Fertil. Steril ; 38:255-257 .

Shahmanesh , M. ; Stedronska , J. & Hendry , W.F. (1986) . Antispermatozoal antibodies in men with urethritis . Fertil. Steril ; 46:308-311 .

Shankar , U. ; Benjamin , B.R. & Agarwal , S.K. (1984) . Effect of prostglandin $F_2\alpha$($PGF_2\alpha$) on reaction time and semen characteristics of buffalo – bulls . Indian J. Anim. Sci. ; 54 :38-40.

Shapiro , B.S. ; Richter , K.S. ; Harris , D.C. & Daneshmand , S.T.(2001a). A comparison of day 5 and day 6 blastocyst transfer . Fertil. Steril ; 75:1126-1130 .

Shapiro , B.S. ; Richter , K.S. ; Harris , D.C. & Daneshmand ,S.T.(2001 b). Dramatic declines in implantation and pregnancy rates in patients who undergo repeated cycles of invitro fertilization with blastocyst transfer after one or more failed attempts . Fertil. Steril ; 76:538-542 .

Sharma , R.K. ; Tolentino , M.V. ; Thomas , A.J. & Agarwal , A. (1996) . Optimal does and duration of exposure to artificial stimulants in cryopreserved human spermatozoa . Journal of Urology ; 155 :568-573 .

Sheiner , E. ; Vardi , I.H. & Potashnik , G. (2001) . The potential association between blastocyst transfer and monozygotic twinning . Fertil. Steril ; 75:217-218 .

Shibahara , H. ; Burkman , L.J. ; Isojima , S. & Alexander , N.J. (1993) . Effects of sperm – immobilizing antibodies on sperm – zona pellucida tight binding . Fertil. Steril ; 60:533-39 .

Shoham , Z. ; Conways , G.S. ; Ostergaard , H. ; Lahlou , N. ; Bouchard , P. & Jacobs , H.S. (1992) . Cotreatment with growth hormone for induction of spermatogenesis in patients with hypogonadotropic hypogonadism . Fertil. Steril ; 57:1044-1051 .

Shulman , A. ; Shohat , B. ; Gillis , D. ; Yavetz , H. ; Homonnai , Z. & Paz , G. (1992) . Mumps orchitis among soldiers : frequency , effect on sperm quality , and sperm antibodies . Fertil. Steril ;57: 1344-1346 .

Silber , S.J. ; Balmaceda , J. ; Borrero , C. ; Ord , T. & Asch , R. (1988) . Pregnancy with sperm aspiration from the proximal head of the epididymis : a new treatment for congenital absence of the vas deferens . Fertil. Steril ;50:525-528 .

Simoni , M. ; Gromoll , J. ; Dworniczak , B. ; Rolf , C. ; Abshagen , K. ; Kamischke , A. ; Carani , C. ; Meschede , D. ; Behre , H. ; Horst , J. & Neischlag , E. (1997) . Screening for deletion of the Y chromosome involving the DAZ (deleted in azoospermia) gene in azoospermia and sever oligospermia . Fertil. Steril ; 67:542-547 .

Smith , K.D. ; Rodriguez – Rugau , L.J. & Steinberger , E. (1977) . Relation between indices of semen analysis and pregnancy retain infertile couples . Fertil. Steril ; 28:1314-1319 .

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

Sprando , R. L. ; Black , T.N. ; Ames , M. J. ; Rorie , J.I. & Collins , T.F.X. (1996) . Effect of intratesticular injection of sodium fluoride on spermatogenesis . Food and Chemical Toxicology ; 34 :377-384.

Sprando , R.L. ; Collins ,T.F.X. ; Black , T. ; Olejnik , N. & Rorie , J. (1998). Testing the potential of sodium fluoride to affect spermatogenesis : a morphometric study . Food and Chemical Toxicology ; 36 : 1117-1124.

Sprando , R.L. ; Collins , T.F.X. ; Black , T.N. ; Rorie , J. ; Ames , M.J. & O'donnell , M. (1997) . Testing the potential of sodium fluoride to affect spermatogenesis in rat . Food and Chemical Toxicology ; 35 :881-890

Steinberger , E. (1978) . The etiology and pathophysiology of testicular dysfunction in man. Fertil. Steril ; 29: 481-491 .

Strehler , E. ; Abt . , M. ; El-Dansouri , I. ; Santo , M. & Sterzik , K. (2001). Impact of recombinant follicle – stimulating hormone and human menopausal gonadotropins on in vitro fertilization outcome . Fertil. Steril ; 75:332-336 .

Sueldo , C.E. ; Berger , T. ; Kletzky , O. & Marrs , R. P. (1985) . Seminal prolactin concentration and sperm reproductive capacity . Fertil. Steril ;43:632-635 .

Suzuki , Y.; Sasagawa , I. ; Ashida , J. ; Nakada , T.; Muroya , K. & Ogata , T. (2001) . Screening for mutations of the androgen receptor gene in patients with isolated cryptochidism . Fertil. Steril ; 76:834-836 .

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

Takihara , H. ; Ishizu , K. ; Ueno , T. ; Isoyama , R. ; Baba , Y. & Sakatoku , J. (1990) . Pathogenesis of varicocele : experimental study using flow cytometric DNA analysis . Andrologia ; 22 :137-143.

Telisman , S. ; Cvitkovic , P. ; Jurasovic , J. ; Pizent , A. ; Gavella , M. & Rocic , B. (2000) . Semen quality and reproductive endocrine function in relation to biosmokers of lead , cadmium , zinc and copper in men . Environ . Health Perspect ; 108:45-53.

Thanki , K.H. ; Gagliardi , C.L. & Schmidt , C.L. (1992) . Poor in vitro fertilization outcome with semen yielding low sperm density "swin-

up " is not because of altered sperm motion parameters . Fertil. Steril ;58:770-775 .

Toth , A. & Lesser , M.L. (1982) . Ureaplasma urealyticum and infertility : the effect of different antibiotic regimens on the semen quality . Journal of Urology ; 128:705-707 .

Traub , A. I. ; Earnshaw , J.C. ; Brannigan , P.D. & Thompson , W.T. (1982) . Acritical assessment of the response to caffeine of human sperm motility . (Abst.) . Fertil. Steril ; 37:436-437 .

Trum , J.W. ; Mol, B.W.J ; Pannekoek , Y. ; Spanjaard , L. ; Wertheim , P. ; Bleker , O.P. & Veen , F. (1998) . Value of detecting leuko-cytospermia in the diagnosis of genital tract infection in subfertile men .Fertil. Steril ; 70:315-319 .

Trummer , H. ; Schwarzer , S. ; Haas , J. ; Habermann ,H. ; Pummer , K . & Leb , G. (2001) . Thyroid hormones and thyroid antibodies in infertile males . Fertil. Steril ;76: 254-257.

Tsukui , S. ; Noda , Y. ; Yano , J. ; Fukuda , A. & Mori , T. (1986) . Inhibition of sperm penetration through human zona pellucida by antisperm antibodies . Fertil. Steril ; 46:92-96.

Tucker , M. J. ; Leong , M.K.H. ; Leung , C.K.M. ; Wong , C.J. Y. & Chan , H.H.Y. (1987) . Is delayed capacitaion a complicating factor in the treatment of idiopathic infertility by IUI . J. Vitro . Fert . Embryo Transfer ; 4:245-247.

Urata ,K. ; Narahara , H. ; Tanaka , Y. ; Egashira , T. ; Takayama , F. & Miyakawa , I. (2001) . Effect of endotoxine – induced reactive oxygen species on sperm motility . Fertil. Steril ;76:163-166.

Urry , R.L. ; Middleton , R.G. & McGavin , S. (1986) . A simple and effective technique for increasing pregnancy rates in couples with retrograde ejaculation . Fertil. Steril ;46:1124-1127.

Veld , P. ; Brandenourg , H. ; Verhoeff , A. ; Dhont , M. & Los, F. (1995) . Sex chrosomal abnormalities and intracytoplasmic sperm injection . Lancet ; 346 :773-774.

Viggiano , J.M. ; Herrero , M.B.; Cebral , E. ; Boquet , M. G. & Gimeno , M.F. (1995) . Prostglandin synthesis by cumulus – oocytes complexes : effects on in vitro fertilization in mice .Prostglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids ; 53 : 261-265.

Viljoen ,M.H. ; Bornman , M.S. ; Merwe , M.P. & Plessis , D.J. (1990) . Alpha-glucosidase activity and sperm motility . Andrologia ; 22 :205-208.

Vogt , H.J. ; Heller , W.D. & Borelli , S. (1986) . Sperm quality of healthy smokers , ex-smokers and never – smokers . Fertil. Steril ;45:106-110.

VonEckardstein , S. ; Cooper , T.G. ; Rutsch , K. ; Horst , J. & Nieschlag , E. (2000) . Seminal plasma characteristics as indicators of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene mutations in men with obstructive azoospermia . Fertil. Steril;73 : 1226-1231 .

Voorhis , B.J.V. ; Barnett , M. ; Sparks , A.E.T. ; Syrop , C.H.; Rosenthal , G. & Dawson , J. (2001) . Effect of the total motile sperm count on the efficacy and cost- effectiveness of intrauterine insemination and in vitro fertilization . Fertil. Steril ;75:661-668.

Vries , J.W.A . ; Repping , S. ; Oates , R., ; Carson , R. ; Leschot , N.J. & Veen , F.V. (2001) . Absence of deleted in azoospermia (DAZ) genes in spermatozoa of infertile men with somatic DAZ deletions . Fertil. Steril ; 75:476-479.

Wallock , L. M. ; Tamura , T. ; Mayr , C.A. ; Johnston , K.E. ; Ames , B.N. & Jacob , R.A. (2001) . Low seminal folate concentrations are associated with low sperm density and count in male smokers and nonsmokers . Fertil. Steril ;75:252-259.

Wang , c. ; Baker , H.W.G. ; Jennings , M.G. ; Burger , H.G. & Lutjen , P. (1985) . Interaction between cervical mucus and sperm surface antibodies . Fertil. Steril ;44:484-488.

Watkins , W. ; Nieto , F. ; Bourne , H. ; Wntthiphan , B. ; Speirs , A. & Baker , H.W.G. (1997) . Testicular and epididymal sperm in a microinjection program : methods of retrieval results . Fertil. Steril ; 67:527-534.

Weed , J.C. & Carrera , A.E. (1970) . Glucose content of cervical mucus . Fertil. Steril ;21:866-872.

Wenda – Rozewicka , L. ; Marchlewicz , M. ; Barcew – Wiszniewska , B. & Piasecka , M. (1996) . The ultrastructure of the testis in rats after long-term treatment with lead acetate . Andrologia ; 28 :97-102.

Wennemuth , G. ; Schiemann , P.J. ; Krause , W. ; Gressner , A.M. & Aumuller . G. (1997) . Influence of fibronectine on the motility of human spermatozoa . International Journal of Andrology ; 20 : 10-16.

Wessels , P.H. ; Franken , D.R. ; Pretorius , E. ; Cron , J.H. & Burchello , H.J. (1987) . Gamete intrafallopian transfer (GIFT) : a treatment for long-standing fertility . J. Vitro . Fert . Embryo Transfer ; 4 :256-259.

Williamson , R.A. ; Koehler , J.K. ; Smith , W.D. & Stenchever , M.A. (1984) . Ultrastructural sperm defects associated with sperm immotility . Fertil. Steril ;41:103-107.

Wilton , L.J. ; Smith , P.D. T. ; Baker , H.W.G. & Kretser , D.M. (1988) . Human male infertility caused by degeneration and death of sperm in the epididymis . Fertil. Steril ;49:1052-1058.

Wiszniewska , B. ; Marchlewicz , M. ; Piasecka , M. ; Rozewicka , L.W. & Al-Amawi , M.S. (1998) . Phospholipid content and lamellar

structures in the epididymal epithelial cells of rats treated chronically with lead acetate [pb(II)] . Folia Biologica ; 46: 215-224.

Wolf , H.; Politch , J.H. ; Martinez , A. ; Haimovici , F. ; Hill , J. A. & Anderson , D.J. (1990) . Leukocytospermia is associated with poor semen quality . Fertil. Steril ;53:528-836.

Wolf , J.P. ; Bulwa , S. ; Ducot , B. ; Rodrigues , D.& Jouannet , P. (1996). Fertilizing ability of sperm with unexplained in vitro fertilization failures , as assessed by the zona-free hamster egg penetration assay : its prognostic value for sperm- oolemma interaction . Fertil. Steril ;65:1196-1201.

Wong , W.Y. ; Merkus , H.M.W.; Thomas , C.M.G. ; Menkveld , R. ; Zielhuis , G. & Steegers – Theunissen , R.P.M (2002) . Effects of folic acid and zinc sulfate on male factor subfertility : a double – blind , randomized , placebo- controlled trial . Fertil. Steril ;77:491-498.

Wong, W.Y . ; Thomas , C.M. G.; Merkus , H.M. ; Zielhuis , G.A. ; Doesburg , W.H. & Theunissen , R.P.M . (2000 a) . Cigaratte smoking and the risk of male factor subfertility : minor association between cotinine in seminal plasma and semen morphology . Fertil. Steril;74:930-935.

Wong, W.Y . ; Thomas , C.M. G.; Merkus , H.M. ; Zielhuis , G.A. ; & Theunissen , R.M .S. (2000 b) . Male factor subfertility : possible cause and the impact of nutritional factors . Fertil. Steril ;73:435-441.

World Health Organization (WHO) . (1992) . The influence of varicocel on parameters of fertility in a large group of men presenting to infertility clinics . Fertil. Steril ;57:1289-1293.

Yao , Y. ; Ho , P. & Yeung , W.S. (2000 a) . Human oviductal cells produce a factor (S) that maintains the motility of human spermatozoa in vitro .Fertil. Steril ;73:479-486.

Yao , Y. ; Ho. P. & Yeung , W.S. (2000 b) . Effects of human follicular fluid on the capacitation and motility of human spermatozoa . Fertil. Steril;73:680-686.

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

Yazawa , H. ; Sasagawa , I. ; Suzuki , Y. & Nakada , T. (2001) . Glucocorticoid hormone can suppress apoptosis of rat testicular germ cells induced by testicular ischemia . Fertil. Steril ;75:435-441.

Yee , B. & Cummings , L.M. (1988) . Modification of the sperm penetration assay using human follicular fluid to minimize false negative results . Fertil. Steril ;50:123-128.

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

Yogev , L. ; Gamzu , R. ; Botchan , A. ; Hauser , R. ; Paz , G. & Yavetz , H. (2000 a) . Zona pellucida binding improvement effect of different sperm preparation techniques is not related to changes in sperm motility characterizations . Fertil. Steril ;73:1120-1125 .

Yogev , L. ; Gamzu , R. & Kleiman , S. (2000 b) . Evaluation of meiotic impairment of azoospermic by fluorescence in situ hybridization . Fertil. Steril ;74:228-233.

Youssef , H.M. ; Doncel , G.F. ; Bassiouni , B.A. & Acosta , A.A. (1996) . Mannose – binding sites on human spermatozoa and sperm morphology . Fertil. Steril ;66:640-645.

Yovich , J.L. & Matson , P.L. (1988) . The treatment of infertility by the high intrauterine insemination of husband's washed spermatozoa . Human Reproduction ; 3 :939-943 .

Yovich , J.M. ; Edirisinghe , W.R. ; Cummins, J.M. & Yovich , J.L.(1988) . Preliminary results using pentoxifylline in a pronuclear stage tubal transfer (PROST) program for sever male factor infertility . Fertil. Steril ;50:179-181.

Yovich , J.M. ; Edirisinghe , W.R. ; Cummins , J.M. & Yovich , J. L. (1990) . Influence of pentoxifylline in sever male factor infertility . Fertil. Steril ;53:715-722.

Zavenveld , L. J. D. & Jeyendran , R.S. (1992) . Sperm function tests. Infertility and Reproductive Medicine Clinics of North America ; 3 :353-371.

Zaneveld , L. J. D. & Jonge , C.J. (1991) . Mammalian sperm acrosomal enzymes and the acrosome reaction : a comparative overview of mammalian fertilization . Dunber , B.S. ; Orand , G.O. (eds.) Plenum Press , New York . pp:63-79.

Zaneveld , L.J.D. ; Jonge , C.T. ; Anderson , R.A. & Mack , S.R. (1991) . Human sperm capacitation and the acrosome reaction . Human Reproduction ; 6 :1265-1274.

Zavos , P.M. ; Correa , J.R. ; Karagounis , C.S. ; Ahparaki ,A. ; Foroglou , C.R. ; Hicks , C.I. & Zarmakonpis – Zavos , P.N. (1998) . An electron microscope study of the an onemal ultrastructure in human spermatozoa from male smokers and non smokers . Fertil. Steril ; 69:103.

Zavos , P.M. ; Zarmakoupis , C.N. & Zavos , P.N. Z. (1999) . The impact of cigarette smoking on human reproduction : its effects on female and male fecundity . Middle East Fertility Society Journal ; 4 : 94-101.

Zhong , C. ; Ho, P. ; Fan , M. ; Chan , S.Y.W. ; So, W.W.K. & Wang , C. (1989) . Immunological studies in patients with oligospermia . Fertil. Steril ;52:667-669.

Zini , A. ; Bielecki , R. ; Phang , D. & Zenzes , M.T . (2001) . Correlation between two markers of sperm DNA integrity , DNA denaturation and DNA fragmentation , in fertile and infertile men.Fertil.Steril ; 75:674-677.

Zini , A. ; Defreitas , G. ; Freeman , M. ; Hechter , S. & Jarvi , K. (2000) . Varicocele is associated with abnormal retention of cytoplasmic droplets by human spermatozoa . Fertil. Steril ;74:461-463