The Effect Of Androgens On Sperm Activation Of Aged Semen In Vitro

Athesis

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

Aqeel Handhil Tarish Aljeboory

B.Sc. 2000

2004

المختصرات والرموز في الدراسة

BWW	Biggar Witten Wittingham
cAMP	cyclic adenosine monophosphate
DAG	Diacyle glycerol

E_2	Estradiol
EBSS	Earles Balance Salt Solution
FSH	Follicle Stimulating hormone
GH	Growth hormone
GOT	Glutamic oxalic transaminase
hCG	Human Chorionic gonadotropin
HMG	Human Menopausal gonadotropin
ICSI	Intracytoplasmic sperm injection
IUI	Intrautrine Insemination
IVF	In Vitro Fertilization
IP3	Inositol 1,4,5 Triphosphate
LDH	Lactic acid dehydrogenase
LH	Luteinizing hormone
LH-RH	Luteinizing hormone releasing hormone
LPO	Lipid Peroxidation
MAD	Malondyaldehyde
PAF	Platelet activating factor
19 OH PGF	19 OH Prostaglandin F
PGF_2	Prostaglandin F_2
19 OH PGE	19 OH Prostaglandin E
PKA	Protein kinase A
PKC	Protein kinase C
PKG	Protein kinase G
ROS	Reactive Oxygen Species
SHBG	Sex hormone binding globulin
SOD	Superoxide dismutase
XO	Xanthine Oxidase

Summary

This study aimed to evalute the effect of different incubation periods on human sperm criterian of normospermic and asthenospermic men .

Also to evalute the effect of using of two types of androgens : Sustanone and Decavenone with Ham's F-10 media which is used in sperm activation of asthenospermsic patients where the opitmal concentration is found to these hormones and their suitable incubation periods.

The first part of study comprised the effect of different incubation periods (half,one,two and three)hours on human sperm criterian by using 10 semen samples gathard from asthenospermic patients and 10 semen samples from normospermic men.While the second part of study comprised in vitro sperm activation by using 80 semen samples gathard from asthenospermic patients .the centrifugation wash –out technique was used to sperm acivation using hams's F10 media alone and with three different concentrations of sustanone and decavenone as follow :1 mg/ml, 2 mg/ml ,3 mg/ml separately with four incubation periods :((half ,one ,two and three hours). These result showed significant improvement ($p<0.05$) in sperm criterion compared with their vaules befor activation for incubation periods which used in this study. .

The result of incubation periods showed that half and one hour Periods of incubation have insignificant difference ($p>0.05$) in the sperm criterian for both groups (Normospermia & asthenospermia), but it was noticed that two and three hours of incubations have a significant decreased ($p<0.05$)in decline of each motile sperm percentage , grade activity and viable sperm percentage .

The result showed that the total protein concentration in semen samples with significant increase in both groups at the two incubation periods for two and three hours compare with half and one hour periods of incubation . While the incubation periods half and one hour didn't reveal any significant difference ($p>0.05$) in protein concentration for both groups.

Means of decrease in the values of motile sperm percentage grade activity of sperm and the percentage of viable sperm showed significant difference ($p<0.05$) in semen samples of asthenospermic patients compared with noromospermic men for all incubations periods. Also ,the mean of increase in values of protien concentration revealed significant difference ($p<0.05$) in asthenspermic patients compared with noromospermic men for incubation periods.

The adding sustanone and decavenone in their three concentrations:(1 mg/ml ,2 mg /ml & 3 mg/ml) with hams'F10 media was caused significant increasing ($p<0.05$) in each of motile sperm percentage and grade activity compared to control group (hams'F10 media alone) for all incubation periods .Also it was noticed a significant difference ($p<0.05$)between the above concentrations in different incubation periods.

The concentration 1 mg/ml from sustanone was having the strong effect for significant increasing($p<0.05$) in each motile sperm percentage and grade actvity then this effect reduced by increasing of sustanone concentration for all incubation periods.

It was noticed that 2mg/ml from decavenone had the more effect in sperm activation and it is significant decresead ($p<0.05$) where using the two concentrations 1 mg/ml,and 3 mg/ml respectively.

The comparsion study of motile sperm pecentage and grade activity between the incubation periods, revealed one hour period for all concentrations is the best period to gain amaximum significant increasing, while three hours incubation preriods showed asignificant reduce compared with other incubation periods in case of using different concentrations for both hormones (sustanone and decavenone).

It was concluded that 1 mg/ml from sustanone , 2 mg/ml from decavenone and one hour incubation period were the best for sperm activation of asthenospermic patients .The incubation periods of more than one hour were having the significant effect in decreasing the motile sperm percentage, grade activity and viable sperm percentage .Also a siginficant increased of protein concentration for both group (asthenospermic patients and normospermic men).

تأثيرالاندروجينات في تنشيط النطف لعينات المني المعمرة في الزجاج

رسالة مقدمه إلى مجلس كلية العلوم –جامعة بابل

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

من قبل

عقيل حنظل طارش الجبوري

بكالوريوس علوم حياة,2000

رجب 1425 هـ **أب 2004 م**

الخلاصه

هدفت الدراسة إلى معرفة تأثير فترات التحضين المختلفة على معايير النطف البشرية لمرضى العقم والأشخاص الخصبين ,كما هدفت إلى معرفة تأثير استعمال نوعين من الاندروجينات وهما السيستانون والديكافينون مع المستنبت هام أف 10 المستعمل في تنشيط مرضى العقم المصابين بوهن النطف بحيث يتم ايجاد التركيز الامثل لهذه الهرمونات وفترة التحضين الملائمة .

شمل الجزء الاول من الدراسة تاثير فترات التحضين المختلفة(نصف ساعة, ساعة واحدة,ساعتين وثلاث ساعات)على معايير النطف باستخدام 10 عينات مني جمعت من مرضى يعانون وهن النطف و 10عينات مني من اشخاص خصبين.شمل الجزء الثاني من الدراسة دراسة تنشيط النطف في الزجاج باستعمال 80 عينه مني جمعت من مرضى يعانون من وهن النطف .استعملت تقنية الغسل والنبذ في تنشيط النطف مع المستنبت هام أف 10 وباستعمال ثلاثة تراكيز متباينة من السيستانون والديكافينون وهي 1 ملغم/مل و 2 ملغم/مل و 3 ملغم/مل كل على حده ,استعملت أربع مدد تحضين نصف ساعة وساعة وساعتين وثلاث ساعات

أظهرت نتائج دراسة تأثير مدد التحضين في معالم النطف إلى أن مدة التحضين نصف ساعة وساعة واحده لم تؤثر معنويا ($p>0.05$) في معايير النطف ولكلا المجموعتين (مرضى العقم و الأشخاص الخصبين),على حين لوحظ أن لمدة التحضين ساعتين وثلاث ساعات الأثر المعنوي ($p<0.05$) في انخفاض كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف والنسبة المئوية لعيوشية النطف .كذلك أظهرت النتائج أن تركيز البروتين الكلي في عينات المني ولكلتا المجموعتين يزداد معنويا ($p<0.05$) عند مدتي التحضين ساعتين وثلاث ساعات قياساً بمدد التحضين نصف ساعة وساعة ,حيث لم تظهر مدد التحضين نصف ساعة وساعة واحده اى فروق معنويه ($p>0.05$).

أظهرت معدلات الانخفاض في قيم النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف والنسبة المئوية لعيوشية النطف فرقا معنويا ($p<0.05$)في عينات المني لمرضى العقم مقارنة بالأشخاص الخصبين ولجميع فترات التحضين ,وأظهرت معدلات الارتفاع في قيم تركيز البروتين فرقا معنويا ($p<0.05$)في عينات مرضى العقم قياساً بالأشخاص الخصبين ولجميع مدد التحضين .

أظهرت نتائج تنشيط النطف تحسنا معنويا ($p<0.05$) في معالم النطف قياساً بقيمها قبل التنشيط ولمدد الحضن المستعملة في الدراسة الحالية.

سبب إضافة السيستانون والديكافينون بالتراكيز الثلاثة كل على حده مع المستنبت هام أف 10 حدوث زيادة معنوية ($p<0.05$)في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف قياساً بمجموعة السيطرة (المستنبت هام أف 10 لوحده) ولجميع مدد التحضين .و لوحظ وجود فروق معنوية بين التراكيز أعلاه ولمدد التحضين المختلفة.لقد كان للتركيز 1 ملغم/مل من السيستانون الأثر الأقوى للزيادة المعنوية في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف ومن ثم ينخفض هذا التأثير بزيادة تركيز السيستانون ولجميع فترات التحضين..كما لوحظ بان للتركيز 2ملغم/مل من الديكافينون الأثر الأول في تنشيط حركة النطف وينخفض معنويا ($p<0.05$) عند استعمال التركيزين 1 و 3 ملغم/مل على التوالي .

وعند قياس قيم النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف بين مدد التحضين المختلفة ,أظهرت مدة التحضين ساعة واحده أفضل فتره لإعطاء أقصى زيادة معنوية ,على حين أظهرت مدة التحضين ثلاث ساعات انخفاض معنوي مقارنة بفترات التحضين الأخرى في حالة استعمال التراكيز المختلفة من كلا الهرمونيين (السيستانون والديكافينون) .

نستنتج من هذه الدراسة أن التركيز 1 ملغم/مل من السيستانون و 2 ملغم/مل من الديكافينون بمدة التحضين ساعة واحده هما الأفضل في تنشيط نطف المرضى الذين يعانون من وهن النطف . كما ان مدة التحضين لأكثر من ساعة واحده له الأثر المعنوي في انخفاض كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف والنسبة المئوية لعيوشية النطف, كما له الأثر في الزيادة المعنوية لتركيز البروتين في السائل المنوي ولكلتا المجموعتين ,

توصية الأستاذ المشرف

نشهد أن إعداد هذه الرسالة قد جرى تحت إشرافنا في قسم علوم الحياة /كلية العلوم - جامعة بابل وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة (علم الحيوان).

التوقيع:
الاسم:د.فارس ناجي عبود الهادي
المرتبة العلمية:أستاذ مساعد
العنوان :جامعة بابل-كلية العلوم
التاريخ: / /2004

توصية رئيس قسم علوم الحياة

إشارة إلى التوصية المقدمة من قبل الأستاذ المشرف ,أحيل هذه الرسالة إلى لجنة المناقشة لدراستها وبيان الرأي فيها.

التوقيع:
الاسم:د.كريم حميد رشيد
المرتبة العلمية:أستاذ
العنوان:جامعة بابل-كلية العلوم
التاريخ: / / 2004

قرار لجنة المناقشة

نحن أعضاء لجنة التقويم والمناقشة,نشهد أننا قد اطلعنا على هذه الرسالة وقد ناقشنا الطالب في محتوياتها,وفي ما له علاقة بها,و وجدنا أنها جديرة بالقبول وبتقدير(**امتياز**) لنيل درجة ماجستير في علوم الحياة/فسلجة الحيوان.

رئيس اللجنة

التوقيع:
الاسم: ا.د. صباح ناصر العلوجي
المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان:جامعة بغداد-كلية العلوم
التاريخ: / /2004

عضو اللجنة

التوقيع :
الاسم: د.سعد صالح الدجيلي زيدان
المرتبة العلمية: أستاذ مساعد
العنوان: المعهد العراقي لبحوث الأجنة وعلاج العقم
التاريخ : / / 2004

عضو اللجنة

التوقيع:
الاسم: ا.م.حيدر كامل
المرتبة العلمية: أستاذ مساعد
العنوان: جامعة بابل-كلية العلوم
التاريخ: / /2004

عضو اللجنة(المشرف)

التوقيع:
الاسم:د.فارس ناجي عبود
المرتبة العلمية:أستاذ مساعد
العنوان:جامعة بابل/كلية العلوم
التاريخ: / /2004

مصادقة عمادة كلية العلوم
أصادق على ماجاء في قرار اللجنة أعلاه
التوقيع:
الاسم:د.عوده مزعل الزاملي
المرتبة العلمية:أستاذ مساعد
العنوان:جامعة بابل/كلية العلوم
التاريخ: / / 2004

الاهداء

إلـى.... السبب المتصل بين الأرض والسماء ؛ **بقية الله** في أرضه عهدا على الولاية والوفاء..

إلـــى .... المتــرع صــفاء" وأيمانـــا"في زمـــن التجعــد والجحود والردة الشهيد البطل "**ثامر هادي حسين** " ....

إلـى ... جنـاح ألرحمـه وفـيض المـودة ؛ **أمـي** نبضـة وفاء وخفقة قلب ينبض بالحب..

إلـى .... مفتاح رضا ربي ومنبع ذاتي ؛**أبي** رحمه الله..

إلـى .... من قدم يد العون إلي **أخواني وأخواتي..**

إلـى ..... كل عين رمقت جهدي بلحظـة تشـجيع ,وكـل قلـب خفق وجلا" على أفكـاري وكـل بسـمة تشـجيع سـموت بهـا أليـك أستاذي المشرف فأنت فرس رهانها ,لأنه فيض علمك وبعض جداك...

اهدي روحي وأفكاري وأسمى شيء عندي.....علمي

عقيل

شكر وتقدير

الحمد لله رب العالمين ,والصلاة والسلام على الرسول الأمين ,واله الطيبين الطاهرين

يطيب لي وأنا على مشارف إنهاء دراستي أن أتقدم بالشكر الجزيل إلى أستاذي **الدكتور فارس ناجي عبود الهادي** لاقتراحه موضوع البحث ومتابعته خطواتة.

كمـا أتقـدم بالشـكر إلـى **رئاسـة جامعـة بابـل وعمـادة كليـة العلـوم و قسم علـوم الحيـاة** لمـا أبـدوه مـن مسـاعده علـى تـذليل الكثيـر مـن الصعوبات .

وأتقدم بالشكر إلى**مستشفى بابل للولادة والأطفال** لما أبدوه من مساعده في جمع عينات الدراسة.

كما أتقدم بالشكر إلى الأخ **عامر هادي حسين** لجهوده المبذولة في طباعة الرسالة.ولايفوتني آن أقدم شكري وخالص امتناني **لزملائي طلبة الدراسات العليا** داعيا لهم ألعلي القدير بالنجاح والموفقيه.

عقيل

قائمة الجداول

الرقم	العنوان	الصفحة
1-3	المواد المستعملة في قياس تركيز البروتين الكلي في السائل المنوي	26
2-3	جدول يوضح تحضير 100ملليتر من المستنبت هام أف 10المستعمل في تنشيط النطف	28
1-4	معالم النطف لفترات التحضين المختلفة في مرضى العقم المصابين بوهن النطف	33
2-4	معالم النطف لفترات التحضين المختلفة في الأشخاص الخصبين	34
3-4	معالم النطف قبل وبعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف باستعمال المستنبت هام أف 10 و التراكيز المختلفة من السيستانون و لمدة تحضين نصف ساعة	41
4-4	معالم النطف قبل وبعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف باستعمال المستنبت هام أف 10 و التراكيز المختلفة من السيستانون و لمدة تحضين ساعة واحده	42
5-4	معالم النطف قبل وبعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف باستعمال المستنبت هام أف 10 و التراكيز المختلفة من السيستانون و لمدة تحضين ساعتين	43
6-4	معالم النطف قبل وبعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف باستعمال المستنبت هام أف 10 و التراكيز المختلفة من السيستانون و لمدة تحضين ثلاث ساعات	44
7-4	معالم النطف قبل وبعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف باستعمال المستنبت هام أف 10 و التراكيز المختلفة من الديكافنون و لمدة تحضين نصف ساعة	54
8-4	معالم النطف قبل وبعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف باستعمال المستنبت هام أف 10 و التراكيز المختلفة من الديكافنون و لمدة تحضين ساعة واحده	55
9-4	معالم النطف قبل وبعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف باستعمال المستنبت هام أف 10 و التراكيز المختلفة من الديكافنون و لمدة تحضين ساعتين	56
10-4	معالم النطف قبل وبعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف باستعمال المستنبت هام أف 10 و التراكيز المختلفة من الديكافنون و لمدة تحضين ثلاث ساعات	57

الفهرس

	العنوان	الصفحه
1-3	المنحى القياسي للبروتين الكلي في السائل المنوي	**27**
2-3	مخطط يوضح تصميم التجارب	**31**
1-4	مقارنة قيم معدلات الانخفاض في النسبة المئوية للنطف المتحركة لمدد التحضين المختلفة بين عينات مرضى و الأشخاص الخصبين	**35**
2-4	مقارنة قيم معدلات الانخفاض في درجة نشاط للنطف المتحركة لمدد التحضين المختلفة بين عينات مرضى العقم و الأشخاص الخصبين	**36**
3-4	مقارنة قيم معدلات الانخفاض في النسبة المئوية لعيوشية النطف لمدد التحضين المختلفة بين عينات مرضى العقم و الأشخاص الخصبين	**37**
4-4	مقارنة قيم معدلات الارتفاع في تركيز البروتين لمدد التحضين المختلفة بين عينات مرضى العقم و الأشخاص الخصبين	**38**
5-4	مقارنة قيم النسبة المئوية للنطف المتحركة لمدد التحضين المختلفة باستعمال المستنبت هام أف 10 .	**45**
6-4	مقارنة قيم درجة نشاط النطف لمدد التحضين المختلفة باستعمال المستنبت هام أف 10 .	**46**
7-4	مقارنة قيم النسبة المئوية للنطف المتحركة لمدد التحضين المختلفة باستعمال السيستانون بتركيز 1ملغم/مل مع المستنبت هام أف 10	**47**
8-4	مقارنة قيم درجة نشاط النطف لمدد التحضين المختلفة باستعمال السيستانون بتركيز 1ملغم/مل مع المستنبت هام أف 10	**48**
9-4	مقارنة قيم النسبة المئوية للنطف المتحركة لمدد التحضين المختلفة باستعمال السيستانون بتركيز 2ملغم/مل مع المستنبت هام أف 10	**49**
10-4	مقارنة قيم درجة نشاط النطف لمدد التحضين المختلفة باستعمال السيستانون بتركيز 2ملغم/مل مع المستنبت هام أف 10	**50**
11-4	مقارنة قيم النسبة المئوية للنطف المتحركة لمدد التحضين المختلفة باستعمال السيستانون بتركيز3ملغم/مل مع المستنبت هام أف 10	**51**
12-4	مقارنة قيم درجة نشاط النطف لمدد التحضين المختلفة باستعمال السيستانون بتركيز3ملغم/مل مع المستنبت هام أف 10	**52**

13-4	مقارنة قيم النسبة المئوية للنطف المتحركة لمدد التحضين المختلفة باستعمال الديكافينون بتركيز 1ملغم/مل مع المستنبت هام أف 10	**58**
14-4	مقارنة قيم درجة نشاط النطف لمدد التحضين المختلفة باستعمال الديكافينون بتركيز 1ملغم/مل مع المستنبت هام أف 10	**59**
15-4	مقارنة قيم ألنسبه المئوية للنطف المتحركة لمدد التحضين المختلفة باستعمال الديكافينون بتركيز2ملغم/مل مع المستنبت هام أف 10	**60**
16-4	مقارنة قيم درجة نشاط النطف لمدد التحضين المختلفة باستعمال الديكافينون بتركيز 2ملغم/مل مع المستنبت هام أف 10	**61**
17-4	مقارنة قيم النسبة المئوية للنطف المتحركه لمدد التحضين المختلفة باستعمال الديكافينون بتركيز 3ملغم/مل مع المستنبت هام أف 10	**62**
18-4	مقارنة قيم درجة نشاط النطف لمدد التحضين المختلفة باستعمال الديكافينون بتركيز 3ملغم/مل مع المستنبت هام أف 10	**63**
19-4	مقارنة قيم النسبة المئوية للنطف المتحركة للتراكيز المثلى لمدة التحضين المثلى بين كلا النوعين من الاندروجين	**64**
20-4	مقارنة قيم درجة نشاط النطف للتراكيز المثلى ولمدة التحضين المثلى بين كلا النوعين من الاندروجين	**65**

المحتويات		الصفحة
	قائمة الجداول	VI
	قائمة الأشكال	VII
الفصل الأول	المقدمه	1
الفصل الثاني	استعراض المراجع	3
1-2	دور الهرمونات والعوامل الأخرى في عملية نشأة النطف	3
2-2	الكيمياء ألحياتيه للمني	6
3-2	العوامل الموثره على حركة النطف	9
1-3-2	المعادن	10
2-3-2	السائل الجريبي	12
3-3-2	النيكوتين والكافئين والكحول	13
4-3-2	الهرمونات والموثينات	14
5-3-2	الادويه وعوامل أخرى	16
4-2	التمكين وتفاعل الجسيم الطرفي	18
الفصل الثالث	المواد وطرائق العمل	21
1-3	جمع السائل المنوي	21
2-3	فحص السائل المنوي	21
1-2-3	الفحص العياني	22
1-1-2-3	الحجم	22
2-1-2-3	اللون	22
3-1-2-3	الاماعه	22
4-1-2-3	الأس الهيدروجيني(الباءهاء)	22
2-2-3	الفحص ألمجهري	22
1-2-2-3	تركيز النطف	23
2-2--2-3	النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف	23
3-2-2-3	النسبة المئوية للنطف غير السوية	23
4-2-2-3	النسبة المئوية لعيوشية النطف	24
5-2-2-3	تركيز الكريات البيض والخلايا البلعمية	25
3-3	فحص تركيز البروتين	25
1-3-3	مبدأ قياس البروتين	25
2-3-3	تحضير محلول البايوريت	25
3-3-3	المنحنى القياسي	26
4-3-3	طريقة العمل	26
4-3	المستنبت المستعمل في تنشيط النطف في الزجاج	27
1-4-3	المستنبت هام أف 10	27
2-4-3	المواد المستعملة في تنشيط النطف البشرية في الزجاج	29
1-2-4-3	السيستانون	29
2-2-4-3	الديكافينون	29
5-3	تحضير المصل البشري المثبط	29
6-3	التقنيه المستعملة في تنشيط النطف في الزجاج	29
7-3	تصميم التجارب	30

8-3	التحليل الإحصائي	**30**
الفصل الرابع	النتائج	**32**
1-4	تأثير فترات التحضين في معايير النطف	**32**
2-4	تنشيط النطف	**39**
الفصل الخامس	ألمناقشه	**66**
1-5	تأثير فترات التحضين في معايير النطف	**66**
2-5	تنشيط النطف	**69**
	الاستنتاجات	**76**
	التوصيات	**76**
	المصادر	**77**

قائمة الاشكال

الفصل الاول CHAPTER ONE

المقدمة INTRODUCTION

العقم (infertilily):- هو عدم قدرة الزوجين couple على احداث الحمل والانجاب بعد مرور عام على ممارسة الجماع الحر غير المنقطع Free intercourse (Zavos *et al*.,1999). ان اسباب العقم عند الرجال كثيرة فقد تعود الى وجود خلل هرموني والمتمثل في الاضطرابات الحاصله في الغدد الصم حيث تؤدي الاضطرابات في تحت المهاد (Hypothalamus) أو الغده النخامية(pitiutary gland) الى نقص في انتاج الهرمونات المغذيه للقند (Gonadotropins Hormons) ومن ثم حدوث عجز خصوي(Testicular failure). و قد يعود السبب الى اضطرابات في الخصيه نفسها كما في القيلة الدواليه(Varicocele) والرضوض(Injuries) والاخماج (Infections) وتعاطي الادوية(Drugs) والسموم(Toxins) وشذوذ الصبغيات (Chromosomes) .كما أن الاضطرابات الحاصله في عمليه نقل النطف والمتمثله بانسداد مجرى النطف قد يؤدي الى غياب النطف في المني اللانطفيه(Azoospermia), زيادة على ذلك فان الدفق الرجوعي (Retrograde Ejaculation) وانعدام المني(Aspermia) والاضداد النطفيه (Antisperm Antibody) تعد من اسباب العقم الذكري(كايتون,.1997).

وفي دراسة حديثة اشارت الى أن الضغط التنافذي للسائل المنوي له تاثير على حركة النطف, فقد وجد بان الضغط التنافذي للسائل المنوي للاشخاص الخصيين يكون مساويا الى 306-309 ملى ازمول /مل, على حين يكون اعلى بكثير في السائل المنوي للاشخاص المصابين بوهن النطف ,حيث وجد بأن الضغط التنافذي للسائل المنوي يكون له ارتباط سلبي مع النسبة المنوية للنطف المتحركةودرجة نشاط النطف (Rossato *et al*.,2002) .

يتم علاج حالات العقم في الوقت الحاضر في المراكز المتقدمه لعلاج العقم بوساطة التقنيات الساندة للتلقيح (Assisted Reproductive Techniques) باستعمال نطف الزوج الذي يسبقه تنشيط النطف باستعمال التقنيات المختلفة (Ory,1989). لقد اثبتت تقنية الغسل والنبذ (Centrifugation Wash-out Technique) لعينات المني باستعمال المستنبتات الزرعية المختلفة والمجهزة بالمصل نجاحا كبيرا في الحصول على نسب عالية من النطف ذات النشاط المفرط ومن ثم الحصول على نتائج جيدة في نسب الاخصاب والحمل(Dugan *et al*.,1997;Ridha-Albarazanchi *et al*.,1992). لقد بات من المعروف وجود علاقة طردية بين عدد النطف المسترجعة المتحركة ومعدل الاخصاب عند اجراء عمليات الاخصاب في الزجاج In Vitro Fertilization(IVF) باستعمال تقنيه الغسل والنبذ في تنشيط النطف , ان معدل الاخصاب يكون عاليا عندما يكون تركيز النطف مساويا او اكثرمن 20 مليون نطفه /مل وينخفض معدل الاخصاب الى معدلات واطئة عندما يكون التركيز اقل من3 مليون نطفه/مل (Thanki *et al*,1992) .

ان اضافة بعض المواد الى المستنبت الزرعي الخاص بتنشيط النطف والتلقيح الاصطناعي قد سبب تاثيرا واضحا في نتائج التلقيح, فمثلا سبب اضافة المصل البشري الى المستنبت الزرعي المستعمل لتنشيط النطف زيادة معنويه في النسبة المئويه للنطف المتحركه (Feichtinger *et al*.,1986;Hovt *et al*.,1990) وقد اشارت احدى الدراسات الى ان اضافة هرمون الكوريون البشري Human (hCG) Chorionic gonadotropin وهرمون ما بعد الياس Human Menoposal (HMG) gonadotropin وهرمون الاستروجين بشكل منفصل الى المستنبت الزرعي قد ادى الى زيادة معنويه في النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف قياساً بالمستنبت الذي لم يضاف له الهرمون (الجراح,2002) . و اشارت دراسة اخرى الى ان اضافة الموثين F_2 α والبروجسترون والكافئين بتراكيز معينه الى المستنبت الزرعي الخاص بتنشيط النطف أدى الى زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف قياساً بمجموعة السيطرة (الحسيني,2003).

ان الهدف من الدراسه الحاليه يمكن تقسيمه على جزئين:.

1: دراسة تأثير عمر العينه (حضن العينه بمدد تحضين مختلفة) وهي نصف ساعه ، ساعه ، ساعتين و ثلاث ساعات لعينات السائل المنوي للاشخاص المصابين بوهن النطف Asthenospermic patients وعينات السائل المنوي للنطف السويه Normospermia في معايير النطف:

وقد شملت تركيز النطف sperm concentration والنسبة المئوية للنطف المتحركة sperm motility percent و درجة نشاط النطف grade activity of sperm والنسبة المئوية للنطف غير السويه Abnormal sperm percent و النسبة المئوية لعيوشية النطف sperm viability percent و تركيز الخلايا البيض والخلايا البلعميه leucocytes &phagocytes concentration .وكذلك تأثير عمر العينه في التركيز الكلي للبروتين .

2: دراسه تأثير اضافة نوعين من الاندروجينات وهما السيستانون والديكافينون وكل منهما بثلاثة تراكيز هي 1 و2 و3 ملغم/مل على التوالي الى المستنبت الزرعي هام اف 10 ودوره في تنشيط نطف المرضى المصابين بوهن النطف باستعمال تقنية الغسل والنبذ ولمدد تحضين مختلفه وهي نصف ساعه , ساعه , ساعتين و ثلاث ساعا ت كما درست امكانية تحسين المستنبت الزرعي في تنشيط النطف .

.

الفصل الثاني CHAPTER TWO

استعراض المراجع LITRETURE REVIEW

2-1: دور الهرمونات والعوامل الاخرى في عملية نشأة النطفة

يتم تنظيم عمليه نشأة النطفة بوساطة هرمونات مختلفه حيث يفرز تحت المهاد Hypothalamus الهرمونات المحرره لمغذيات القند Gonadotropin Releasing Hormones(Gn-RH) الذي يحفز الجزء الغدي للغدة النخامية Adenohypophysis of pituitary gland على افراز الهرمونين المغذيين للقند وهما الهرمون اللوتيني Luteinizing hormone(LH) والهرمون المنبهه للجريب Follicle stimulating hormone(FSH) . يحفز الهرمون اللوتيني خلايا ليدك Leydig cells على افراز هرمون الشحمون الخصوي Testeosterone الذي يعد أهم انواع الاندروجنيات التي تفرز من الخصيه و الذي فضلا عن دوره في عملية نشأة النطفة كذلك له الاثر في تطور الصفات الجنسيه الذكريه الثانويه بعد تحوله الى صيغته الفعاله المعروفه Dihydrotestosterone في النسيج الهدف ويثبط افراز هرمون الشحمون الخصوي بتثبيط افرازات الهرمونات المحررة لمغذيات القند المفرزة من تحت المهاد (كايتون,1997) . اما الهرمون المنبهه للجريب(FSH) فقد لوحظ ان الانقسامات الواقعه بين خلايا اسلاف النطف A1 الى B1 تكون حساسه لنقص هرمون منبهه الجريب (Kilgoure *et al* .,1998).و ينبهه الهرمون نفسه خلايا سرتولي على افراز الاستروجينات والبروتينات الرابطه للاندروجينات Androgens binding proteins التي تحافظ على مستوى الاندروجينات مستقرا في السائل المنوي (Ganong,1989). ويعتقد ان الاستروجينات التي تفرزها خلايا سرتولي لها دور في عملية تحرر النطف من تلك الخلايا (عشير والعلوجي, 1991).

ان التراكيز العالية لـ FSH تسبب تلف اسلاف النطف ومن ثم اختزال في عمليه نشأة النطفة, فقد لوحظ بأن مرضى اللانطفية وقلة النطف غيرالمفسر Idiopathic azoo-oligozoospermia يعانون من خلل في تحت المهاد ينتج عنه نقصان في الهرمون المحرر للهرمون اللوتيني -Luteinizing hormone releasing hormone(LH-RH) وارتفاع مستوى الهرمونات المنبهه للجريبات , ويمكن علاج هولاء المرضى بتكرار الحقن بالهرمون LH-RH الذي يعمل على افراز LH وFSH من قبل الغدة النخاميه (Aultitzky *et al*.,1988;Gross *et al*.,1986) . ان استعمال هرمون FSH كعلاج لمرضى العقم اللذين يعانون من قلة النطف الناتج عن نقص عملية نشأة النطفه Hypospermatogensis يؤدي الى زيادة معنويه في اعداد كل من اسلاف النطف والخلايا النطفيه الاولية ومن ثم تحسن معنوي في عملية نشاة النطفة (Foresta *et al*.,1998). ان لمعاملة الحيوانات المختبريه بمضادات الاندروجين المتباينه تأثير واضح في اعداد الخلايا المسوؤله عن نشأة النطفة, حيث لوحظ في احدى الدراسات نقصا معنويا في اعداد اسلاف النطف والخلايا النطفية الاولية والثانوية وخلايا سرتولي, ويعتقد بان تأثير مضادات الاندروجين قد يكون بشكل مباشر عن طريق التزاحم مع هرمون الشحمون الخصوي على الارتباط مع المواقع الهدف او قد يكون بشكل غير مباشر عن طريق التاثير في افراز مغذيات القند لاسيما LH (الهادي,1993).كما ان انعدام او نقص تركيز النطف في بعض الاحيان ليس له علاقه بالفعاليه الحيوية لهرمون FSH , اذ قد يكون ناتجاً عن خلل في وظيفة الظهارة الجرثومية (Foresta *et al* .,1998;Matzkin *et al* .,1990), أو عدم تكون الخلايا الجرثومية Aplasia كما في متلازمه خلايا سرتولي Sertoli cell syndrome التي تعد سببا لانعدام النطف في السائل المنوي نتيجه موت الخلايا الجرثوميه الابتدائيه أو عدم حدوث الانقسام (Rothmon *et al* .,1982). ان ارتفاع تركيز هرمون الاستراديول (E_2) Estradiol سبب اضطراب في عملية نشأة النطفة من خلال تاثيره في الغدة النخاميه وتثبيط افرز LH و FSH وقد يعمل بصورة مباشرة على خلايا ليدك مؤديا الى انخفاض في انتاج الا ندروجينات (Kranse,1988). اشارت احدى الدراسات الى ان حقن الرجال الخصيين 600 mg/L من هرمون الشحمون الخصوي لوحده او مع 10 mg/L او 20 mg/L من الاستراديول(E_2) يؤدي الى تثبيط LH وFSH بالدم والذي يؤثر سلبيا على عملية نشأة النطفة (Handelsman *et al* .,2000).

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 فرط هرمون الحليبHyperprolactinemia الى حدوث نقص معنوي في عدد اسلاف النطف واورمات النطف(Aiman *et al* .,1979;Jequier *et al* .,1985;Sueldo *et al* .,1988). يشارك هرمون النمو Growth hormone(GH) في عملية نشأة النطفة حيث يعمل هرمون النمو على تحفيز انقسام الخلايا الجرثوميه الذكريه وغيابه يؤثر تاثيرا حادا في نشأة النطفة (محي الدين وجماعته,1990).

ان الوظيفة التكاثرية يمكن ان تتغير بالتعرض المزمن للمركبات الفعاله حياتيا Bioactive compounds القادرة على عبور الحواجز الدمويه الخصويه Testicular -blood barriers بعد امتصاصها جهازيا وان الاعتياد على اخذ هذ ه المركبات هو الذي يمكنها من أن يكون لها هذا الأثر.اذ يؤثر التدخين في نشأة النطفةحيث يسبب اختزال في تركيز هرمون الشحمون الخصوي في نسيج الخصيه من خلال تاثيرة المباشر في خلايا لايدك (Zavos *et al*.,1999; Shaarawy and Mahamoud,1982) , أومن خلال زيادة تحول هرمون الشحمون الخصوي الى الاسترادبول حيث يعمل المستوى العالي للاخيرعلى اختزال عدد النطف (Klaiber and Broverman,1988). في حين اشار اخرون الى أن تعرض نطف غير المدخنين الى البلازما المنوية للاشخاص المدخنين وحضنها 48 ساعه يؤدي الى حدوث تغيرات سلبيه في كل من نوعية النطف وحيويتها خلال مدة التحضين, على حين وجد بان تعرض نطف المدخنين الى البلازما المنوية للاشخاص غير المدخنين وحضنها بنفس مدة الحضانة اعلاه يؤدي الى تحسن معنوي في نوعية النطف وعيوشيتها (Zavos *et al* .,1998). وفي دراسة اخرى وجد بأن التدخين يؤدي الى زيادة معنوية في مستوى هرمون E_2 في البلازما المنوية عند الرجال قياساً بغير المدخنين وهذا بدوره يؤدي الى حدوث اختزال في معايير النطف المختلفه (Klaiber and Broverman,1988). كما ان الادمان على النيكوتين يسبب نضوب للناقلات العصبيه في تحت المهاد ومن ثم تثبيط انتاج مغذيات القند (Bracken *et al* .,1990).

يسبب الكافائين نقصا ملحوضا في عدد الخلايا النطفيه الاؤلية وأرومات النطف بعد معاملة مجاميع الفئران بجرعات مختلفه من الكافائين أما اسلاف النطف وخلايا سرتولي فلم تتاثر بالمعاملات المختلفه من الكافئنين (Alwachi and Balash,1988) .على حين اشارت دراسة اخرى الى ان شرب القهوة سبب زيادة في كثافة النطف والنسبة المئوية لاشكال النطف غيرالسويه (Marshburn *et al* .,1989).

ان للمواد البيئه السامه Environmental toxic substances تاثيرا ضارا على نوعية السائل المنوي حيث لوحظ حدوث تلف في عملية نشأة النطفة لدى الاشخاص المعرضين للمركبات الهايدروكاربونيه قياساً بالاشخاص غيرالمعرضين ,علاوة على حدوث نقص معنوي في كل من تركيز النطف ودرجة نشاطها ونسبة النطف السوية ويزداد هذا التاثير مع زيادة مدة التعرض (Celis *et al* .,2000). كما ان تعرض ذكور الهامستر الذهبية البالغة الى 1,3 dinitrobenzene بتركيز 1.5 ملغم/كغم لمدة اربعة اسابيع سبب انخفاضا معنويا في معايير النطف المختلفه لاسيما سرعة النطف (Peiris and Moor,2001).

ان لتقدم العمرفي الانسان الأثر في اختزال العدد الكلي للنطف والنسبة المئويه للنطف *المتحركة*زيادة على حجم القذفه, فقد اشارت دراسات عديدة الى أن الاختزال يبدأ من عمر 25 سنه ولكن هذا الاختزال غير معنوي Kidd *et al*.,2001 ;Centola and Erberly,1999; Schwartz *et al*.,1983).
كما ان لفصول السنه المختلفه تأثيرا في معالم النطف و هذا يعود الى اختلاف طول المدة الضوئية , فقد لوحظ ان الغدة النخامية لكل من الطيور واللبائن تستجيب للضوء بفعالية اكبرمما يسبب زيادة في افراز الهرمونات المغذية للاقناد وبالتالي التاثير في معالم النطف (عشير و العلوجي ،1991).

يعزا اختزال عملية نشأة النطفة لدى بعض مرضى العقم الى الجهد التاكسدي Oxidaditive Stress للنطف وكريات الدم البيض الذي يؤدي الى تلف الحامض النووي الرايبي منقوص الاوكسيجين (دنا) DNA اثناء المراحل المبكرة لعملية نشأة النطفة (Kodama *et al*., 1997). و أن تمزق الحواجز الدمويه الخصويه التي تكونها خلايا سرتولي يؤدي الى تكوين الاضداد النطفيه (Hass and Beer,1986). وللمناعة الذاتية Autoimmunity دور في تاثيرها في النسيج الخصوي مؤديه الى تلفه في بعض مرضى قلة النطف (Zhong *et al*.,1989) .

ان القيله الدواليه تسبب انخفاضا في عملية نشأة النطفة, وأن القيله الدواليه من جانب واحد قد تسبب عجزا في عملية نشأة النطفة لكلتا الخصيتين نتيجه تدفق الدم من الوريد الكلوي الى الخصية ومن ثم تلفها (Takihara *et al*.,1990). ويصاحبها اختزال في حجم الخصيه ورداءة في حركة واشكال النطف وانخفاض مستوى هرمون الشحمون الخصوي (WHO,1992;Rodriguez-Rigau *et al*.,1981). ترتبط القيله الدواليه بالعجز الحاصل في تنظيم طرح بقايا السايتوبلازم اثناء تحرر النطف من خلايا سرتولي أو اثناء الانتقال المبكر في البربخ مؤديه الى زيادة نسبة الاشكال غير السوية للنطف (Zini *et al*.,2000). ان الخلل الحاصل في الانقسام الانقدادي Meiotic divisin نتيجة للعجز في اقتران الكروما تيدات اثناء هذا الانقسام يقود الى انحدار عملية نشأة النطفة(Yogev *et al* .,2000). كذلك فأن الخلل الحاصل في تنظيم المادة الوراثيه داخل الخليه النطفية يجعل DNA اكثر حساسيه للمسخ Denaturation الناتج من انخفاض الأس الهيدروجيني مسببا اختزالا في القابلية الاخصابية للنطف (Spano *et al*.,2000). لقد اشارت دراسة اخرى الى ان خذف الجينات من الكروسوم Y لمرضى اللانطفيه وقلة النطف الحاد ممكن ان ينتقل الى الابناء عند حقن النطفه داخل سايتوبلازم البييضه Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) (Vries *et al*.,2001;Oliva *et al*.,1998).

2-2 : الكيمياء الحياتيه للمني Biochemistry of semen

يتكون السائل المنوي نتيجه لافرازات الغدد الجنسيه الملحقه حيث تشكل افرازات كل من غدة البروستات (Prostate gland) والحويصلات المنوية (Seminal vesicle) حوالي 73-93 %من حجم القذفة (Abou-shakra *et al* .,1989) . وتشكل البلازما المنوية اكثر من 95 % من حجم المني المقذوف . وتكون البلازما عبارة عن محلول متعادل الشد Isotonic يقوم بوظيفتين رئيستين هما عمله كوسط

منشط لخلايا النطف غير المتحركه وتجهيزه الخلايا بالمواد الغنيه بالشوارد (كلوريد الصوديوم و البوتاسيم والنتروجين) والفركتوز وكميات قليله من الفيتامينات والانزيمات ((Garner and Hafez,1980. يبدو السائل المنوي متجانساً ذا لون رصاصي براق ويعكس اللون الاصفر و جود خمج السائل المنوي (Acosta *et al*.,1988) . كما ويمتاز المني برائحة قوية حادة ويعتقد ان هذه الرائحه ناتجه عن اكسدة الـ spermine المنتج من غدة البروستات (Philipp and Carruthers,1985).

ويكون السائل المنوي المفرز من غدة البروستات حامضياً ويمتاز بكونه يحتوي على تركيز عالٍ من حامض الستريك Citric acid والفسفوتيز الحامضي Acid phosphotase وتشكل افرازات البروتينات 33% من حجم القذفه (Lundquist,1949). كما وتحتوي افرازات البروستات على فعالية كبيرة للانزيمات حالة الليفين Fibrolytic enzyme والحالة للبروتين proteolytic enzyme , كما انه غني بوجود ايونات مثل الصوديوم والكالسيوم والمغنسيوم والزنك بالاضافة الى وجود السبيرمينspermineوالانسيتول inositol (Lewin and Beer,1973). كما لوحظ وجود علاقه عكسيه بين تركيز هذه الايونات ومعالم النطف الاخرى وبما ان الكالسيوم والمغنيسيوم يفرزان بصورة رئيسه من البروستات لذلك يمكن تحديد أي عجز في افراز غدة البروستات من خلال قياس تركيز هذه الايونات (Homonai *et al*.,1978). وقد وجد بأن السبرمين المفرز من البروستات له علاقه عكسيه مع النسبة المئويه للنطف المتحركة وحجم القذفه ,ولم يلاحظ أي علاقة بين تركيز السبرمين والشكل السوي للنطف (Fair *et al* .,1972).

يكون السائل المنوي المفرز من الحويصلات المنوية قاعدياً ومصفر الون بسبب وجود بروتين الفلافين Flavin ويشكل حوالي 50% من حجم القذفه و يحتوي افراز الحويصلات المنوية مواد قابلة للاختزال وهي الفركتوز التي يتراوح تركيزها ما بين 50-500 ملغم/ 100مل. يعد الفركتوز مصدراً رئيساً للطاقه تحت الظروف اللاهوائيه حيث يكون استهلاك الفركتوز مفقودا في حالة اللانطفية او حالة انعدام الحركه (Philipp and Carruthers,1985). كما وجد الباحث لويس وجماعته (Lewis *et al*.,1996) بان تركيز الفركتوز في السائل المنوي له ارتباط سلبي مع النسبة المئوية للنطف المتحركة . كما تقوم الحويصلات المنوية بانتاج وافراز مواد اخرى مثل Semenoglin المسوؤل عن عملية التجلط وفي حالة غياب هذا البروتين فأن السائل المنوي لا يتجلط (Mandel and Bhattacharyga,1985). وبالاضافة الى ذلك فأن الحويصلات المنويه تفرز الموثينات التي تعمل بشكل مباشر على تحفيز حركة النطف(Gottlieb *et al* .,1988). وتفرز كذلك البيكاربونات وهرمون Prolactin والزنك, حيث لوحظ بأن تركيز الزنك في السائل المنوي له ارتباط موجب مع كل من النسبة المئويه للنطف المتحركة وتركيز النطف وعيوشيتها ,فقد وجد بان تركيز الزنك ينخفض بشكل معنوي في السائل المنوي للاشخاص العقيمين قياساً بالخصبين (Chia *et al*.,2000). وأن للبيكاربونات أثر مهم في تحفيز حركة النطف من خلال فعلها على نظام انزيم Adenyle cyclase الذي بدوره يؤدي الى زيادة الادينوسين احادي الفوسفات الحلقي cAMP (Okamura *et al*.,1985). و ان فيتامين C (Ascorbic acid) المفرز من قبل الحويصلات المنويه له أثر مهم في وسائل الدفاع ضد الجذور الحرة التي تهاجم النطف (Lewis *et al*.,1997).

وتتراوح قيم الاس الهيدروجينيpH للسائل المنوي ما بين 7.6-8 وتكون تقريبا ثابتة فهي لا تتاثربطول مدة الامتناع اوقصرها وذلك لانها تحدد بافرازات كل من الحويصلات المنوية وغدة البروستات (Blackwell and Zaneveld,1992). يعمل السائل المنوي على تغيير حموضه المهبل وذلك بجعله متعادلا وان أي تغير في قيم الاس الهيدروجيني للسائل المنوي يؤثر سلبا على النطف ,ففي دراسة حديثة تم تغيير الاس الهيدروجيني للسائل المنوي الى الحامضيه (4.6)باضافة حامض الهيدروكلوريك مما تسبب بفقدان النطف القابلية على الحركه بعد دقيقه واحدة وبعد عشر دقائق قتلت جميعها وكانت نسبة النطف المقتوله تتناسب طرديا مع تركيز ايون الهايدروجين(Olmsted *et al*.,2000). كما اشار شين وجماعتة (Chen *et al* .,1995) بان اضافة البول بتركيز اكثر من 40% الى المستنبت الزرعي هام اف 10 بحيث يكون قيم الاس الهيدروجيني pH=4.5 ادى الى نقص معنوي في النسبة المئويه للنطف المتحركه واختزال قابلية النطفه للاختراق والهجرة في كل من مخاط عنق الرحم وبيوض الهامستر .

وتقدر البروتينات الموجودة في السائل المنوي مابين 3-7% من نسبة البلازما المنوية (Philipp and Carruthers,1985). ان البروتينات الموجودة في السائل المنوي لها دور حيوي في نضج وحركة واكتساب

النطف القابليه التخصيبيه (Roaveermachanemia *et al* .,1990).تقسم البروتينات الموجودة في السائل المنوي الى :.

1.بروتينات غير انزيميه NON-ENZYMATIC PROTEINS

هذه البروتينات يمكن تمييزها بوساطة الترحيل الكهربائي Electrophoresis (باستعمال المصل كمصدر) باشتراك الاضداد او بوساطة التحلل الكيميائي المناعي. ان عدد كبيرمن البروتينات الموجودة في السائل المنوي تماثل في تركيبها الكيميائي المناعي Immunochemical structure البروتينات الموجودة في مصل الدم. و ان هناك عشر ة انواع من بروتينات المصل موجودة في البلازما المنويه للانسان وهي

Albumine,Antitrypsin,Glycoprotein,b,A/cGlobulinIgA,IgG,Orosomucoid,Transferrin and ceruoplasmin (Herrmann and Herrmann,1969).

والبروتينات Ceruoplasmin و Transferrin يفرزان من خلايا سرتولي حيث يتم قياس مستوى هذين البروتينين في منى الرجال العقيمين الذين يعانون من انعدام النطف الناتج من خلل في عمل خلايا سرتولي, فقد وجد بان مستوى Transferrin أعلى من ceruoplasmin عند الاشخاص الذين يعانون من قلة النطف ولم يلاحظ أي علاقه بين مستوى هذه البروتينات وحركة النطف(Orlando *et al* .,1985).

2.بروتينات انزيميه ENZYMATIC PROTEINS

البلازما المنوية غنيه بالانزيمات لاسيما الانزيمات الحاله للبروتينات , هذه الانزيمات ليست مسوؤله فقط على هضم بروتينات البلازما المنوية ولكنها ممكن ان تعمل عمل انزيمات اخرى يكون فيها البروتين كمادة اساس, فقد وجد بأن فعالية انزيم الادينوسين ثلاثي الفوسفيتيز تقل بنسبة 61% بعد حضن عينة المني بدرجة 37 م ولمدة 45 دقيقه, على حين تنخفض فعالية انزيم Lactic acid dehydrgenase (LAD) بسرعة عند حضن عينه المني بدرجة 4 درجه مئوية(Eliasson *et al*.,1967) . يقوم البربخ بافراز مجموعة من الانزيمات تدعى Glycosidase, فقد اشارت الدراسات الحديثه الى أن الخلل في تركيز ومواقع هذه الانزيمات يؤكد وجود خلل وظيفي في نطف المرضى المصابين بقلة ووهن وتشوه النطف Oligoasthenoteratozoospermia , حيث لوحظ انخفاض معنوي في فعالية B-N-acetylglucosaminidase,B-galactosidase في الاشخاص المصابين بقلة ووهن وتشوه النطف قياساً بالاشخاص الخصبين (Corrales *et al* .,2000). اشار مان (Mann,1964) الى أن النطف ربما تحرر الانزيمات الداخله في حالة تحطم الغشاء الخلوي للنطف بوساطه النبذ السريع او تغير في تركيب هذا الغشاء بوساطة فعل الجذور الحرة اثناء مدة الخزن مما يؤدي الى زيادة في تركيز هذه الانزيمات في السائل المنوي. اشارت دراسه اخرى بان 53% من انزيم Lactic dehydrogenase الموجود في البلازما المنوية اصلها من النطف (Eliasson *et al* .,1967). واشارت دراسة لتقدير تركيز البروتين الكلي في السائل المنوي الى انه لايوجد فرق معنوي في تركيز البروتين في عينات السائل المنوي للاشخاص المصابين بقلة النطف , اللانطفية والاشخاص الخصيين (Nun *et al* .,1972). وفي دراسة اخرى لمقارنة تركيز البروتين في عينات السائل المنوي للاشخاص المصابين بقلة النطف,و اللانطفية والاشخاص الخصبين وجد بان تركيز البروتين يكون اعلى في عينات السائل المنوي للاشخاص المصابين بقلة النطف ولكن هذه الزيادة غير معنويه(Gregoire and Moran,1973).

لقد اشارت احدى الدراسات الى ان وجود الاوكسالات في السائل المنوي يؤثر بصورة سلبيه على خصوبة الرجال حيث يتراوح تركيز جامض الاسكوريك Ascorbic acid في السائل المنوي مابين 200-300ملغم/مل ويتحول هذا الحامض الى حامض الاوكزاليك Oxalic acid اثناء الخزن من خلال عملية غير مسيطر عليها من قبل الانزيمات حيث لوحظ وجود علاقه طرديه بين تركيز الاوكسالات والشكل غير السوي لراس النطف,على حين لم تلاحظ أي علاقه بين تركيز الاوكسالات وكل من عدد النطف وحركتها وتركيز كريات الدم البيض ,كما لوحظ وجود علاقه عكسيه بين حجم القذفه وتركيز الاوكسالات (Eiss *et al* .,2000).

2-3: العوامل المؤثرة على حركة النطف Facters Affecting Sperm Motility

تعد حركة النطف من اهم المعالم في تقييم الامكانية التخصيبية للسائل المنوي, اذ ان معدل اخصاب البيويضات في الزجاج ومعدل حدوث الحمل ذو علاقه مباشرة بحركة النطف (Mahadevan and Trounson,1984) .ان امكانية حدوث الحمل لزوجات مرضى العقم المصابين بوهن النطف تكون ضعيفه جدا وذلك بسبب انخفاض عدد النطف المتحركه الكلي الى حوالي^{6} 10 نطفة متحركة خلال رحلة النطف في القناة التناسليه الانثويه . ان نجاح انتقال النطف واختراقها لمخاط عنق الرحم يتناسب طرديا مع حركة النطف بشكل معنوي (Mortimer *et al* .,1982).يعد الادينوسين ثلاثي الفوسفات ATP مصدر الطاقه لحركة النطف وعن طريق تحولة الى الادينوسين ثنائي الفوسفاتADP تنتج الطاقه التي تنقل من المتقدرات الى ذيل النطفه, اما فوسفات الكرياتين وانزيم كرياتين كاينيز Creatine kinase (كما هو الحال في انسجه العضلات) فيعد وسيلةً مهمةً لتجديد ونقل الطاقه من خلال تعويض ATP المستهلك. ويستعمل انزيم الكرياتين كاينيز في فسفرة الكرياتين في المتقدرات واعادة الفسفرة للـADP وتحويله الى ATP في ذيل النطف حيث تؤكد هذه الاليه نقصان نسبة ATP/ADP مع تزايد حركة النطف .وقد اشارت احدى الدراسات الى أن اضافة 100ملي مول من فوسفات الكرياتين و1ملي مول من الكالسيوم النالمستنبت الحاوي على النطف في الزجاج سبب زيادة معنوية في حركة النطف وسرعتها (Fakih *et al* .,1986).

ان حركة النطفة وقابليتها الاخصابيه تتطور اثناء مرورها على طول البربخ حيث انه ذو أثر مهم في تطور حركة النطف (Yenug *et al* .,1993). اشارت احدى الدراسات الى ان طول مدة الانقطاع عن الجماع يؤثرسلبيا على نسبة النطف المتحركة على الرغم من وجود تركيز سوي للنطف وهذا مما يؤدي الى اختزال حيوية النطف وقابليتها التخصيبية (Wilton *et al* .,1988). كما ان انعدام حركة النطف قد يرجع الى عوامل بيئيه وولاديه Congenital ,حيث اشارت احدى الدراسات الى وجود اختلافات تركيبية واضحة في خزين النطف غير المتحركه قياساً بالنطف المتحركه وهذا مايعرف بمتلازمة عسر الحركة Immotile cilia syndrome(Williamsan *et al* .,1984). في حين اطلق شلر وجماعته (Schaller *et al* .,2000) مصطلح عسر الحركة الهدبي المكتسب Acquired immotile sperm cilia عند دراستهم لعينة سائل منوي بدت فيها جميع النطف غير متحركة .

ومن العوامل التي تؤثر في حركة النطف نذكر ما يأتي:.

2-3-1: المعادن

في الوقت الذي تعمل قنوات الجهاز التناسلي الذكري على خزن ونقل النطف فأن عمل الغدد الجنسية الملحقة هو افراز السائل المنوي . وتشمل هذه الغدد الحويصلات المنوية وغدة البروستات وغدة كوبر . ويشكل افراز كل من الحويصلات المنوية والبروستات حوالي 73-93% من حجم السائل المنوي المفرز الذي يؤثر تاثيراً مهما في تغذية وحركة النطف. ان السائل المنوي غني بالكالسيوم الذي يعمل على تنظيم وظائف النطف, وقد لوحظ فعلا نقصا معنويا في ايون الكالسيوم في السائل المنوي للذكور الذين يعانون من نقص الخصوبة (Abou-shakra *et al* .,1989) . فقد اشارت دراسة الى أن اضافة الكالسيوم بشكل كلوريد الكالسيوم بتركيز 1 ملي مول الى المستنبت الزرعي هام اف 10 ادى الى زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركه ودرجة نشاطها قياساً بمجموعة السيطرة, وكذلك فان ايون الكالسيوم عمل على المحافظه على حركة النطف لوقت اطول قياساً بمجموعة السيطرة, ان قابلية نطف اللبائن الناضجه في المحافظة على الحركه التقدمية تعتمد على مستوى الكالسيوم الخلوي الحر وهناك ميكانيكيتان لتنظيم تركيز الكالسيوم الخلوي هما:.

A. تجمع وتحرير الكالسيوم وانتقاله من المتقدرات والمكونات السايتوبلازميه للنطف.

B. امتصاص الكالسيوم خلال الغشاء وامتصاصه عن طريق مضخة كالسيوم مغنسيوم Ca+-Mg+ ATPase pump (Fakih *et al* .,1986).وفي نفس الدراسه المذكورة اعلاه وجد بان اضافة المغنسيوم لوحدة مع المستنبت الزرعي هام اف 10 لا يؤثر في حركة النطف ولكن عند اضافة الكالسيوم معه ادى ذلك الى زيادة ملحوظة في النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف قياساً بمجموعة السيطرة.

ويعد لايون البيكابونات(HCO3) دور مهم في السيطرة على حركة النطف من خلال تنظيم مستوى الادينوسين احادي الفوسفات الحلقي cAMP داخل النطف ,فقد لوحظ أن اضافة البيكاربونات الى المستنبت

الزرعي الخاص بتنشيط النطف بتركيز من 4-200 مايكرومول ادى الى زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف وان هذه الزيادة تتناسب طرديا مع تركيز البيكاربونات المستعمل. كما ان تركيز cAMP داخل الخلية ذات علاقة موجبه مع تركيز البيكاربونات ,فقد لوحظ ان تحضين نطف الخنزير في مستنبت خالٍ من البيكاربونات فان دليل الحركة غالبا ما يكون ثابت خلال 15 دقيقه بعد مدة الحضن ولكن ينخفض بعد حوالي 60 دقيقه من الحضن .حيث ان مستوى cAMP الداخلي ينخفض بانخفاض الحركة .على حين عند تحضين نفس النطف بمستنبت يحتوي على البيكاربونات فان دليل الحركة يزداد تدريجيا بزيادة cAMP الداخلي وتبقى النطف محتفظه بحركتها لاكثر من 60 دقيقه (Okamura *et al* .,1985).

اما بالنسبه لايون البوتاسيوم, فقد اشارت احدى الدراسات الى ان حضن النطف في مستنبت غذائي حاوي على البوتاسيوم أدى الى زيادة معنوية في النسبة المئويه للنطف المتحركه(Robler *et al* .,1988).

كما ان فلوريد الصوديوم له تاثير على النطف, فقد لوحظ بان اضافة فلوريد الصوديوم (NaF) بتراكيز مختلفه 10و20و200 مايكرومول و0.1 مول الى المستنبت الزرعي المستخدم في تنشيط نطف الثور وحضن العينات لمدة خمس ساعات بدرجة 37 درجه مئويه أدى الى انخفاض معنوي في درجة نشاط النطف والنسبة المئوية للنطف المتحركه وكذلك انخفاض في عدد النطف الحاويه على الجسيم الطرفي وهذا الانخفاض يتناسب طرديا مع تركيز NaF (Zakrzewska *et al* .,2002).

ان الزنك في السائل المنوي يعد ضروريا للنطف السويه وظيفيا, ان تركيز الزنك في السائل المنوي يرتبط ارتباطا طرديا مع تركيز النطف والنسبة المئويه للنطف المتحركه وعيوشيتها . يعد الزنك من العوامل المهمه المضاده للاكسدة ,اذ لوحظ انخفاض معنوي في تركيز الزنك في عينات السائل المنوي للاشخاص العقيمين قياساً بتركيزه في عينات المني للاشخاص الخصبين (Chia *et al* .,2000). وفي دراسة اخرى لوحظ بان حضن النطف البشريه مع 1 و3 ملي مولاري/لتر من الزنك لمدة 30 دقيقه سبب انخفاضا معنويا في انتاج Reactive Oxygen Species(ROS) ويعد السبب لدور الزنك في اعادة ترتيب دهون الغشاء المتاكسده وبذلك يقلل من معدل تاكسد دهون الغشاء(Gavella and Lipovac,1998).

يعمل الكروم والمغنيسيوم على زيادة حركة النطف وقابليتها الاخصابية (Abou-shakra *et al*,1989).

كما يسبب التعرض للرصاص اختزالا في كثافه النطف وحيويتها والنسبة المئوية للنطف المتحركه كما يؤثر في الوظيفه الافرازيه للبروستات (الزنك و أنزيم الفوسفاتي وحامض السترك) في السائل المنوي,

أما التعرض للكادميوم فيسبب اختزالا في حركة النطف والنسبة المئوية لاشكال النطف السوية وزيادة مستوى هرمون الشحمون الخصوي(Telisman *et al* .,2000).

يعد السيلنيوم معياراً مهما لتقدير الخصوبه في الرجال الذين يعانون من قلة ووهن النطف, اذ اشارت احدى الدراسات الى وجود علاقه معنويه بين عدد النطف وحركتها وتركيز السيلنيوم في السائل المنوي حيث تكون حركة النطف في مستواها المثالي عندما يكون تركيز السيلنيوم بين 40-70 نانوغرام/مل ,ويرافق المستوى الواطئ للسيلنيوم في المني اقل من 35 نانوغرام/مل حصول العقم لدى الذكور على حين يرافق زيادة مستوى السيلنيوم اكثر من 80 نانوغرام/مل في المني زيادة في حدوث الاجهاض وبعض الاضطرابات في مبيض الزوجه(Bleau *et al*.,1984).

2-3-2: السائل الجريبي

يحتوي السائل الجريبي على العديد من المواد التي تؤثر في أداء النطف, فيحتوي السائل الجريبي على العديد من الهرمونات الستيرويديه التي تؤثر في حركة النطف وتشمل الاستروجين و17 بيتا الاستراديول وهرمون الشحمون الخصوي والبروجسترون(Frachimont *et al* .,1989). ويحتوي كذلك على كل من العامل المنشط للصفيحات الدمويه Platelet activating factor(PAF) و Glycosamineglycans والالبومين و مشتقات مثيل زانثين التي تعمل مثبطات للفوسفوداي استيريز Phosphodiesterase inhibiters التي تؤدي الى زيادة تركيز cAMP . لذلك تم استعمال السائل الجريبي كمحفز قوي لاداء النطف في الزجاج (Minhas and Ripp,1996). ان استعمال السائل الجريبي كوسط لتنشيط النطف سبب زيادة

معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركه ودرجة نشاطها (Al-Hady.,1999). وسبب ايضاً انخفاضاً في النسبة السالبه لاختبار اختراق النطفSperm penetration assay

(Mcclure *et al* .,1990;Blumenfeld and Nahhas,1989;Yee and Cumming,1988) , ذلك لامكانية السائل الجريبي على زيادة النسبة المئوية للنطف الممكنه (Yao *et al* .,2000).وقد اشارت دراسة اخرى الى حدوث زيادة معنوية في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركه ودرجة نشاطها وتفاعل الجسيم الطرفي بعد حضن النطف البشرية لمدة 6 ساعات مع السائل الجريبي او مزارع الخلية الحبيبية Granulosa cells culture قياساً مع الحضن بمستنبت هام أف 10 أو السائل القنوي البشري Human tubular fluids(Fabbri *et al* .,1998). واشارت دراسة اخرى الى أن اضافة السائل الجريبي لعينات السائل المنوي البشري وحضنها لمدة 9 ساعات ادى الى زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة مقارنة بمجموعة السيطرة المتمثله بالمستنبت Earles Balance Salt Solution(EBSS) لوحده حيث كانت النطف محتفظه بحركتها لمدة اكثر من ثلاث ساعات عند حضنها بالسائل الجريبي على حين عند حضنها بوسط خالٍ من السائل الجريبي فان النطف تنخفض سرعتها بعد ثلاث ساعات من الحضن(Yao *et al* .,2000).

2-3-3: النيكوتين والكافئين والكحول

يمكن للوظائف التناسليه الذكرية أن تتأثر بالتعرض المزمن الى المركبات ذات النشاط الحياتي التي بامكانها اختراق الحواجز الدموية الخصوية لاسيما بعد الامتصاص الجهازي لهذه المركبات وتشمل هذه المركبات الكافئين والنيكوتين والكحول, حيث يعمل النيكوتين على تقليل حجم القذفة ويرجع السبب الى تداخل فعل النيكوتين مع عمل الجهاز السيمبثاوي (Marshburn *et al* .,1989) . يؤثر التدخين بصورة مباشرة أو غير مباشرة على معالم النطف فيسبب انخفاضاً معنوياً في حركة النطف وعدد النطف السوية من خلال خفض مستوى هرمون الشحمون الخصوي لحدوث خلل في عمل خلايا ليدك ومن ثم ينشا خلل في عملية نشأة النطفة أو قد يكون التاثير مباشر عن طريق تاثير النيكوتين في أنسجة الخصيه(Zavos *et al*.,1999). .لقد لوحظ في دراسة اخرى أن اضافة Nicotine وCotinine الى المستنبت الزرعي Tyrode solution لتنشيط النطف ولمدد تحضين مختلفه تبدء من ساعه الى 24 ساعه لم تؤثر معنويا على معايير النطف الحركيه قياساً مع مجموعة السيطرة, قي حين وجد بان تعرض العينات لدخان السكائر وحضنها بعد تعرضها الى اخر تعرض لدخان سكائر بدرجة حراره 37 م ولمدة 60 و45 و 30 دقيقه أدت الى انخفاض معنوي في معايير النطف الحركيه بعد 30 دقيقه من مدة الحضن وادت الى موت النطف بعد ساعه واحده من التعرض لدخان السكائر, لقد اقترح بان النيكوتين والكوتنين لاتكون مسوؤله عن التاثيرات السلبيه لدخان السكائر على معايير النطف(Gandini *et al* .,1997).

في حين لوحظ عدم وجود علاقه بين التدخين ومستوى كل من الهرمونFSHوLH عند المدخنين (Vogt *et al* .,1986). وقد اشار كليبر وبروفومان(Klaiber and Broverman,1988) الى إن التدخين يزيد من تحول هرمون الشحمون الخصوي الى الاستراديول مسببا انخفاضا في مستوى هرمون الشحمون الخصوي وارتفاع في مستوى الاستراديول الذي يقود بدوره الى انخفاض معنوي في عدد النطف . وفي دراسة اخرى لوحظ ان اضافة البلازما المنويه للمدخنين الى نطف ماخوذه من اشخاص غير مدخنين وتحضينها ادت الى انخفاض معنوي في عيوشية النطف ,على حين لوحظ العكس عند اضافة البلازما المنويه للاشخاص غير المدخنين الى نطف ماخوذة من اشخاص مدخنين ادت الى زيادة معنوية في عيوشيه النطف قياساً بمجموعة السيطرة بعد التحضين (Zavos *et al* .,1998).

إن تعرض النطف البشريه للكافئين بتركيز 6 ملي مول يؤدي الى زيادة معنوية في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف (Harrison,1978;Schoenfeld *et*) *al*.,1975;Schoenfeld *et al* .,1973. وفي دراسة اخرى لوحظ أن اضافة التراكيز المختلفه من الكافئين5 و10 و25 ملي مولاري الى النطف المجمدة بعد إذابتها سبب زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة دون التأثير على نوعية الحركة كما سبب زيادة في عدد النطف المخترقه لمخاط عنق الرحم في وحدة الزمن(Aitken *et al* .,1983). وفي دراسة حديثه اشارت الى أن اضافة الكافئين بتركيز 0.043 ملغم/مل الى المحلول الفسلجي السكري (Glucosaline solution) المستعمل كمستنبت لتنشيط نطف مرضى

العقم المصابين بوهن النطف وتحضين العينات بدرجه 37 م ولمدد تحضين مختلفة ادى الى زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف قياساً بمجموعة السيطرة(الحسيني,2003) .

اما فيما يخص الكحول فقد اشارت احدى الدراسات الى ان تناول الكحول لا يؤثر على معالم النطف (Marshburn *et al*.,1989) .على حين اوضحت نتائج دراسة اخرى الى ان تحضين النطف البشريه في الزجاج مع الايثانول بتراكيز مكافئه لما موجود في مصل المدمنين على تناول كميات متوسطه وكميات عاليه من الكحول سبب اختزالا معنويا في عدد النطف ذات الحركه التقدميه و النسبة السوية للنطف وقد يعود التاثير الضار للكحول الى تاثيره في تركيب محور ذيل النطفة الضروري لحركتها (Donnelly *et al* .,1999).

4-3-2: الهرمونات والموثيات

إن للهرمونات دوراً مهماً في التاثير في فعالية النطف, فقد اشارت الجراح (الجراح,2002) الى إن اضافة هرمون hCG وHMG الى المستنبت الزرعي المستعمل في تنشيط نطف مرضى العقم المصابين بوهن النطف وبتراكيز مختلفة 10و15و20 وحده دوليه وتحضين العينات لمدد تحضين مختلفه أدت الى زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف قياساً بمجموعة السيطرة. يعمل هرمون البروجسترون على زيادة حركة النطف من خلال زيادة تدفق الكالسيوم الى داخل النطف(Blackmore *et al*.,1990).وفي دراسة اخرى وجد بان اضافة البروجسترون بتركيز 10^{-6} M سبب زيادة معنوية عالية في الكالسيوم الداخلي خلال تحضين عينات نطف الخروف المعامله بالكافئين قياساً بمجموعة السيطرة, هذا علاوة على أن البروجسترون ادى الى زيادة معنوية في النطف التي تظهر فسفرة التايروسين في بروتينات ذيل النطف قياساً بمجموعة السيطرة (Gwathmey *et al* .,2000). واشارت الحسيني(الحسيني ,2003) الى أن اضافة خلات الميدروكسي بروجسترون بتركيز0.409 ملغم /مل الى المستنبت الزرعي الخاص بتنشيط نطف مرضى العقم المصابين بوهن النطف له الأثر في تحسين النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف ولمدة طويله نسبيا قياساً مع النطف غير المعامله .

لقد لوحظ بان اضافة هرمون الشحمون الخصوي و هرمون البروجسترون progesterone والاندروستنيديونAndrostendione (كل على حده) الى المستنبت الزرعي لتنشيط نطف الخروف ادى الى قلة الاوكسجين الماخوذ من قبل النطف في المستنبت الزرعي وزيادة معنوية في عملية التحلل السكري ومن ثم زيادة في تكوين ATP الضروري لحركة النطف (White *et al* .,1975) . إن اضافة هرمون الشحمون الخصوي بتراكيز مختلفه 1 و10 و100 مايكروغرام/مل الى المستنبت الزرعي Biggar Witten Wittingham(BWW) لتنشيط نطف الانسان ادى الى زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة وزيادة في تركيز النطف المسترجعه قياساً بمجموعة السيطرة, اما في حالة اضافه البروجسترو ن فقد سبب زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة وزيادة معنوية بتركيز النطف المسترجعه قياساً باضافة هرمون الشحمون الخصوي الى المستنبت الزرعي (Sliwa,1995).أما فيما يخص هرمون الحليب Prolactin فقد لوحظ بان تركيزه في السائل المنوي للاشخاص الخصبين اقل من تركيزه في الاشخاص المصابين بوهن النطف (Sueldo *et al* .,1985). اما في حالة اضافة هرمون الحليب بالتراكيز الفسيولوجيه والتراكيز الدوائيه وهي 1000,100,50 نانوغرام/مل الى المستنبت الزرعي BWW لتنشيط النطف فقد أدى الى انخفاض في معدل اختراق البيضة في الزجاج بعد خمس ساعات ,وكذلك وجد بانه ليس له تاثير في زيادة النسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف (Chan *et al* .,1984). إن استعمال الاستروجين بتراكيز 0.02 و0.04 و0.06 ملغم/ مل الى المحلول الفسيولوجي Normal saline المستعمل كمستنبت في تنشيط نطف مرضى العقم المصابين بوهن النطف أدى الى زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف قياساً بمجموعة السيطرة (الجراح ,2002). يحتوي السائل المنوي على الهرمون المرخي Relaxin وهو عبارة عن متعدد الببتيدات ويبلغ تركيزة حوالي 50 نانوغرام /مل (Colon *et al* .,1988). يعمل الهرمون المرخي على تنشيط حركة النطف المجمدة عند استعماله بتركيز 16.7ملي مول(Lessing *et al* .,1985).

يشترك هرمون الثايروكسين في تمايز ونمو الكثير من الاعضاء الجنسية ,وانخفاضه قبل البلوغ يسبب عدم الخصوبه في الرجال , اما بعد البلوغ فإن الخلل في وظيفة الدرقيه Thyroid dysfunction لا يعد

سببا للعقم اذا لم يكن المريض يعاني من مرض أخر يؤدي الى العقم. إن التهاب الغده الدرقيه Thyroiditis يسبب ظهور مستوى عالٍ من اضداد الهرمون الدرقي Thyroid antibody الذي يعمل بدوره على خفض حركة النطف معنويا (Trummer *et al* .,2001) . ان هرمون الميلاتونين Melatonin والذي هو عباره عن افراز غدي يكون بشكل اندول يفرز من الغدة الصنوبريه له تاثير على المحورلتكاثري الغدي العصبي وله عمل مضاد للهرمونات المغذية للقند Antigandotropics effect (Ganong,1995).وفي دراسة وجد بان اضافة الميلاتونين بتركيز 200 بيكوغرام/مل الى المستنبت الزرعي هام أف 10 وحضن العينات لمدة ساعتين أدى الى زيادة معنوية في النسبة المئويه للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف وكذلك في معدل سرعه النطف قياساً بمجموعة السيطرة الخاليه من الميلاتونين . و يعتقد ان الميلاتونين يعمل مضاداً للاكسدة وكانسا للجذور الحرة لاسيما جذر الهايدروكسيل -OH (Logoglu *et al* .,1996).

يحتوي السائل المنوي على انواع عديدة من الموثينات Prostaglandins (PG) وتقدر نسبتها 3.5 مايكروغرام/مل في القذفه الواحدة. وقد وجدت علاقه وثيقه بين كميه الموثين الموجودة و.الخصوبه.اذ يقل مستوى النوع 19 OH PGF ويرتفع مستوى 19-OH PGE في القذفه التي تكون فيها النطف ذات حركة طبيعية مقارنة مع النطف ذات الحركه غير الطبيعيه(Bendvold *et al* .,1984).إن اضافة الموثين نوع PGE و PGF الى النطف يؤدي الى زيادة معنوية في حركة النطف وذلك عن طريق زيادة مستوى الادينوسين ثلاثي الفوسفات الذي يعد مصدراً اساسيا لتوفير الطاقة اللازمة لحركة النطف (Gottlieb *et al* 1988.,). وفي دراسة حديثة لوحظ بان اضافة PGF_2 بتركيز6.818 و 12.5 مايكروغرام/مل الى الستنبت الزرعي لتنشيط النطف وحضنها بفترات حضن مختلفه سبب زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة مقارنة بمجموعة السيطرة(الحسيني,2003) .

2-3-5: الادوية وعوامل اخرى

يستعمل البروموكريبتين Bromocriptine لعلاج حالات فرط هرمون الحليب Hyperprolactinemia . فقد لوحظ أن اضافة هذا الدواء الى النطف في الزجاج بتركيز 0.003 مايكروغرام /مل يحدث اختزال في حركة النطف وسرعتها ,في حين اظهر فحص مابعد الجماع لعشرة نساء يستعلمن هذا العلاج المذكور عدم تاثير هذا العلاج في حركة النطف في الحي in vivo لذا فقد استنتج بان هذا العلاج لا يؤثر على عمليه الاخصاب الطبيعيه في الحي ولكنه يختزل حركة النطف في الزجاج(Chenette *et al* .,1988).

يستعمل Theophylline وهو عبارة عن مثيل زانثين methyl xanthine في تنشيط النطف, فقد لوحظ بان اضافة Theophylineبتركيزين 5 و 10 ملي مولاري الى المستنبت الزرعي BWW وتحضين العينه لمدة 5 ساعات سببت زيادة معنوية في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة و معدل اختراق بيوض الهامستر المنزوعة النطاق الشفاف Free-zona egg penetration assay مقارنة بمجموعة السيطرة, كذلك وجد بان اضافة cAMP بتركيز 10 ملي مولاري الى المستنبت BWW ادى الى زيادة معنوية في كل من درجة نشاط النطف ومعدل اختراق بيوض الهامستر (Chan *et al* .,1983).

إن علاج Gossypol المستخرج من بذور القطن الذي يستعمل كمانع لخصوبة الرجال Male Contraceptive ,وهو عباره عن متعدد الحلقات Polycyclic ,لوحظ عند تحضين النطف البشرية مع هذا الدواء المذكور قد سبب تثبيط حركتها ,وان مستوى التثبيط يتناسب طرديا مع زيادة التركيز .ان ميكانيكية عمل هذا العلاج في تثبيط حركة النطف عن طريق تثبيط عملية التحلل السكري ومن ثم انخفاض جزيئاتATP المتكونه التي بدورها تؤثر على حركة النطف (Wichaman *et al* .,1983).اظهرت الدراسات أن اضافة الكلوميد Clomiphene citrate (وهو مركب غيرستيرويدي مصنع)الى النطف في الزجاج بتركيز 0.05 ملغم/مل سبب نقصا في حركة النطف والاخصاب وربما يعود السبب الى الحقيقه التي مفادها ان الكلوميد يعد عاملا مضاد للاستروجين ويرتبط الكلوميد مع النطف البشرية في مواقع ارتباط الاستروجين المحددة ولهذا فإنه يحدث تغير في كل من نشاط انزيم Adenyle cyclase ومستوى cAMP أو الايض الخلوي الذي ينتج عنه نقص في حركة النطف البشرية والنشاط التخصيبي (Chan *et al* .,1985). ان البنتوزافيلين Pentoxifylline الذي هو عبارة عن مشتقات مثيل زانثين Methyl xanthine drivatives يستعمل لزيادة حركة النطف البشرية في عمليات الاخصاب في الزجاج. فقد لوحظ بان تحضين النطف البشرية مع البنتوزافيلين بتركيز1 ملغم/مل مع المستنبت الزرعي أدى الى زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة

وتركيز النطف المسترجعة مقارنة بمجموعة السيطرة (Zavos *et al* .,1998). كما اشارت دراسة اخرى الى أن اضافة البنتوزافيلين بتركيز 1.5 ملغم/مل الى المستنبت BWW لتنشيط النطف في الاشخاص`ذات النطف السوية Normospermia ولفترات تحضين مختلفة من ساعه واحده الى 4 ساعات أدى الى زيادة ملحوظة في معايير النطف المختلفة لاسيما النسبة المئوية للنطف مفرطة الحركه والنشاط ولجميع فترات التحضين المذكوره اعلاه مقارنة بمجموعة السيطرة ,كما لوحظ بأن هناك ارتباطاً موجباً لتركيزcAMP داخل النطف وبين تركيز البنتوزافيلين المضاف من جهة وبين تركيز cAMP وفرط النشاط من جهة اخرى(Calogero *et al* .,1998).

يؤثر العامل المنشط للصفحيات الدمويه Platelete activating factor(PAF) وهو احد انواع الدهون المفسفرة أثراً مهما في حركة النطف. حيث اشارت الدراسات الى أن اضافة (PAF) بتركيز 10^{-7}!-10^{-6}مولاري الى المستنبت الزرعي هام اف 10 لتنشيط نطف الخنزير ادت الى زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة بغض النظر عن فترة الحضانه على حين يعمل التركيز الاكثر من $5x10^{-7}$الى تثبيط حركة النطف المسترجعة. وقد يؤدي اضافة (PAF)الى النطف زيادة في طول عيوشيتها مقارنة بمجموعة السيطرة (Kardan and Strzezek,2002). في حين اشارت دراسة اخرى بان تركيز (PAF) في النطف له علاقة طردية مع كل من تركيز النطف وحركتها وقد سجلت نسبة حمل لدى زوجات مرضى العقم الذين لديهم ارتفاع ملحوظ في تركيز (PAF) في نطفهم مقارنة مع مرضى العقم الذين يكون لديهم نقص في تركيز PAF (Roudebush *et al*.,2000). يعد الكلوكوز مصدراً مهماً للطاقة لحركة النطف وعمليات الاخصاب بالزجاج في الانسان. فقد اشارت دراسة الى أن اضافة الكلوكوز بتركيز0.5 و 5 ملي مولاري الى المستنبت الزرعي هام أف 10 المستعمل في تنشيط النطف أدى الى زيادة معنوية في معايير النطف وزيادة في معدل الاخصاب مقارنة بمجموعة السيطرة (Mahadevan *et al* .,1997).

ان لمضادات الاكسدة الانزيميه وغير الانزيميه أثراً مهماً في السيطرة على حركة النطف , فقد لوحظ انخفاض معنوي في تركيز كل من Vitamine Eو Glutathione في عينات السائل المنوي للاشخاص المصابين بقلة النطف و اللانطفيه مقارنة بالاشخاص الخصبين (Bhardwaj *et al* .,2000). وفي دراسه اخرى وجد بان الحركه التقدميه للنطف ترتبط ارتباطا موجبا بفعاليه انزيم Superoxide dismutase(SOD) في السائل المنوي الذي يعمل على كبح فعل الجذر الحر(-O)Superoxide anion وتكون النطف قليلة الحركة منتجه للجذور الحرة اكثر من النطف ذات الحركه السويه وان هذه الجذور تهاجم الغشاء الخلوي للنطف وتعمل على حث عملية اكسدة الدهون الموجودة في الغشاء الخلوي للنطف ومن ثم تغير في تركيب هذه الدهون واخيرًا تعمل على زيادة اماعية الغشاء الخلوي Fluidity للنطف(Kurpisz *et al* 1996.,). اوضحت دراسة حديثة أن عينة السائل المنوي للاشخاص المصابين بوهن النطف تحتوي على نسبة عالية من malondyaldhyde(MAD) و هو المركب النهائي لاكسدة الدهون الذي يعد مؤشراً لتكوين الجذور الحره مقارنة بعينات السائل المنوي للاشخاص الخصبين, وفي حاله تناول Vitamine E ادى ذلك الى انخفاض في مستوى MAD في النطف وتحسن معنوي في حركة النطف(Suleiman *et al* .,1996).

4-2 :التمكين وتفاعل الجسيم الطرفي Capacitation and Acrosome Reaction

يحدث التمكين اثناء مرور النطف خلال القناة التناسلية الانثوية وتتضمن هذه العملية بعض التحورات الوظيفية والبايوكيميائية للنطف التي تسبب زيادة في معدل حركتها الضرورية لاختراق اغلفة البيضة وحدوث تفاعل الجسيم الطرفي ومن ثم الاخصاب (Baldi *et al* .,1999). اذ يعد كل من بقاء وانتقال النطف في القناة التناسلية الانثوية وقدرتها على اختراق اغشية البيضة وقدرتها على الاندماج مع هيولي البيضة Ooplasm من العوامل التي ترتبط بقوة مع القابلية الاخصابية لتلك النطف(Overstreet *et al* .,1980). إذ لا تتحد النطف بالبيوض الا بعد اختراقها عدد من الطبقات الخلويه التي تحيط بالبيوض. وتشمل هذه الطبقات من الخارج الى الداخل المتراكم الخلوي Cumulus oophorus والتاج الشعاعي Corana radiata والنطاق الشفاف Zona Pellucida والغشاء المحي Vitelline membrane . تتكون منطقه المتراكم الخلوي والغشاء المحي من طبقه من خلايا حبيبيه Granulosa , على حين تحتوي منطقة النطاق الشفاف على البروتينات السكرية Glycoprotein ولكي تخترق النطف هذه الاغشيه فإنها تستعين بحركتها التقدمية وانزيماتها الحالة(Zaneveld *et al* .,1991).

تستغرق عملية مرور النطف خلال القناة التناسليه الانثوية مدة قصيره 15-30 دقيقه وتحتاج عملية التمكين الى مدة اطول 3-4 ساعه وتنتهي عمليه التمكين بعد اختراق النطف المخصبة الى المتراكم الخلوي وهذه الميكانيكيه ذات فائدة كبيرة من حيث عدم استجابة النطف المخصبة الى العوامل المحثه لتفاعل الجسيم الطرفي الا بعد وصول النطف المخصبة الى منطقة النطاق الشفاف وبذلك حدث منع طبيعي لحصول تفاعل جسيم طرفي قبل اوانه (Zaneveld and Jonge,1991).وبذلك يعد التمكين المفتاح اللازم لابتداء عملية الاخصاب او ليس بامكان النطف غير الممكنه اخصاب البيضة اطلاقا(Quanzhong *et al* .,1996).

وتشمل عمليه التمكين في اللبائن الخطوات الاتية:.

1 .إزالة العوامل المانعه للتمكين Decapacitation facters

يحتوي سطح النطف على بعض العوامل الكيميائيه المثبطه لعملية التمكين وهي عبارة عن بروتينات سكريه ذات وزن جزيئي عال تمتصها النطف اثناء مرورها داخل القناة التناسلية الذكرية قبل حدوث عملية التمكين لذا فإن أزالة هذه العوامل تعد خطوة اساسية لحدوث عملية التمكين (Zaneveld and Jonge,1991).

2. تغيير المكونات الدهنيه لغشاء النطفه Change in membrane lipid composition

إن أختزال الكولستيرول في الغشاء الخلوي يعد خطوة حاسمة في حدوث التمكين إذ إن انخفاض نسبة الكولسترول تؤدي الى انخفاض نسبة الكولستيرول/الدهون المفسفرة وهذا بدوره يودي الى تغيير استقرارية الغشاء وجعله اكثر نفاذيه (Hoshi *et al* .,1990) .ويتم فقد الكولسترول عن طريق بعض الحوامل البروتينيه protein carriers او بعض الانزيمات ,ويحتوي الدم على بعض مستقبلات الكولسترول ومنها البروتينات الدهنيه Lipoprotein والالبومين Albumin ويمكن ان توجد احدى هذه المستقبلات داخل القناة التناسلية الانثوية او قد يعمل مصل الدم المضاف الى المستنبتات الزرعية في عملية الاخصاب الخارجي كمستقبل للكولسترول ومن ثم تنخفض نسبة الكولسترول في الغشاء الخلوي للنطف (Zaneveld *et al* .,1991).

3. انتقال الايونات Ions Transport

تتم السيطرة على عمليات انتقال الايونات كايون الكالسيوم والصوديوم بوساطة انزيمات معينة وتشمل هذه الانزيمات ATPase Na+-K+ وCa^{+2}-ATPase التي تعمل كمضخات للايونات المذكورة(Zaneveld *et al* .,1991). وقد اشارت احدى الدراسات الى إن تحرير الكالسيوم الداخلي وزيادة تكون احادي الفوسفات الحلقي نتيجة اضافة الموثين PGE الى النطف المغسولة ادى الى زيادة تفاعل الجسيم الطرفي(Herrero *et al* .,1997;Joyce *et al* .,1987).

4. زيادة القدرة التنشيطية الحركية للنطف Hyperactivation of sperm

تعد الزيادة في مستوى cAMP سببا لحركة النطف ذات النشاط المفرط(Nassar *et al* .,1999). ويمكن تسريع عملية التمكين بوساطة عدد من السوائل الحياتيه ومن المعروف ان تعريض النطف البشرية للسائل الجريبي البشري في الزجاج يحفز حدوث عمليه التمكين (Yao *et al* .,2000).

تعاني نطف اللبائن عملية تفاعل الجسيم الطرفي قبل حدوث الاخصاب .تتضمن هذه العملية التحام الغشاء الخارجي للجسيم الطرفي مع الغشاء البلازمي ثم التحوصل Vesiculation ثم اختفاء الاغشية واخيرا افراز الانزيمات من الجسيم الطرفي التي تعمل على الاغشية المحيطة بالبيضة (Zaneveld and Jonge.,1991). ومن اهم تلك الانزيمات هي:.

1. انزيم الهاليروندیز Hyaluronidase

يساعد هذا الانزيم النطف على اختراق المتراكم الخلوي والمتكون من بولميرات حامض الهايلرونك Hyaluronic acid (Anderson,1977).وقد لوحظ زيادة في نسبة اخصاب البيوض التي ازيل منها

المتراكم الخلوي مقارنه مع غير المزالة المتراكم الخلوي ,اذ بلغت 55% مقابل 31%على التوالي (Lavy *et al* .,1988)

2. انزيم اختراق طبقه التاج الشعاعيCorona Penetrating enzyme

يساعد هذا الانزيم النطف خلال مرورها في منطقه التاج الشعاعي.

3 .انزيم الاكروسين Acrosin

يتواجد انزيم الاكرو سين بهيأة غير فعالة داخل النطف تدعى اسلاف الاكروسين Proacrosin, الذي يتكون من سلسله مفردة من متعدد الببتيدات والذي يتحول الى الهيأة الفعالة خلال عملية تكييف النطف (Parrish and Polakoski,1979). يعمل الاكروسين على تحطيم آصرة ارجنين-لايسين , ويفرز هذا الانزيم مع اختراق النطف للنطاق الشفاف(Zaneveld and Jonge,1991).

4. انزيم نيورومانيديز Neuraminidase

يعمل هذا الانزيم على اختراق منطقة النطاق الشفاف والغشاء المحي (Hogarth,1978).

تعمل هذه الانزيمات معا على عمل ممر خلال المتراكم الخلوي والتاج الشعاعي والنطاق الشفاف. ان للنطاق الشفاف وظيفة مهمة تتمثل في منع مرور النطف الغريبة التي ترجع الى انواع اخرى, وذلك لان النطاق الشفاف يحوي على مستقبلات خاصه لمرور نطف ذكور نفس نوع الحيوان فقط وبذلك تصبح النطف الغريبة غير قادره على اختراق منطقه النطاق الشفاف (Anderson,1977).

إن تحضين النطف مع النطاق الشفاف يؤدي الى تنشيط تفاعل الجسيم الطرفي وذلك عن طريق تنشيط البروتين كاينيز(PK) Protein kaniase بانواعه(PKG,PKC,PKA) ومن ثم تنشيط cAMP (الرسول الثاني) حيث تحتوي منطقه النطاق الشفاف على عوامل منشطة لتفاعل الجسيم الطرفي ومنهاZP3 (Bielfeld *et al* .,1994).

الفصل الثالث CHAPTER THREE

المواد وطرائق العمل Material and Methods

3-1:جمع السائل المنوي البشري Human Seminal Fluid Collection

أجريت هذه الدر اسة على مرضى العقم الذين راجعوا مركز العقم- مستشفى بابل للولادة والأطفال - محافظة بابل وجمعت عينات المني في إطباق بترية نبذة بطريقة الاستمناء باليد Masturbation بعد مدة امتناع Abstinence لأتقل عن ثلاثة ولا تزيد عن سبعة أيام قبل جمع العينات .وضعت العينات في الحاضنة بدرجة 37 م لكي يسمح لها بالاماعه الطبيعيةNormal Liquefaction .

3-2: فحص السائل المنوي البشري Human Seminal Fluid Analysis

بعد حدوث الاماعه حيث سجل زمن الاماعة فحصت كل عينه وسجلت بيانات كل من الفحص العياني والمجهري وحسب الاستمارة ألمبينه أدناه:.

اسم المريض:	الاصابه بالأمراض ألجنسيه:
العمر:	التدخين:
نوع العقم:	فترة العقم:
تناول الكحول :	مدة الامتناع الجنسي:
الفحص العياني	**القيم السوية**
حجم العينة :	2-5مل
اللون:	رصاصي براق
مدة الاماعه :	اقل من 30 دقيقة
الأس الهيدروجيني:	7.6-8
الفحص المجهري	**القيم السوية**
تركيز النطف:	اكثر من 20 مليون نطفة/مل
النسبة المئوية للنطف المتحركة:	اكثر من 50 %
درجه نشاط النطف:	3
النسبة المئوية للنطف غير السوية:	اقل من 40 %
النسبة المئوية لعيوشية النطف:	اكثر من 75%
تركيز كريات الدم البيض والخلايا البلعمية:	اقل من مليون كرية/مل

3-2-1:الفحص العياني Macroscopic Examination

3-2-1-1 :الحجم Volume

يتم قياس حجم السائل المنوي بصورة دقيقه بوساطة الأنابيب المختبريه المدرجة, عدت العينة ناقصة الحجم Hypovolumic إذا قل حجمها عن 1.5 ملي لتر ,في حين عدت مفرطة الحجم Hypervolumic إذا زاد حجمها عن 5 ملي لتر(WHO,1992).

3-2-1-2 :اللون Colour

يعد السائل المنوي ذا مظهر متجانس بلون رصاص براق, أما تلونه بلون احمر فيعد دليلا على وجود كريات الدم الحمر في السائل المنوي, أما وجود الخيوط المخاطية مع اللون الأصفر فيشير إلى وجود الالتهابات.

3-2-1-3: الاماعه Liquefaction

تتم الإماعة التامة لعينة السائل المنوي السوي في مدة لا تزيد عن 30 دقيقة في الحاضنة, تم تقدير قوام (لزوجة) السائل المنوي المتميع من خلال ملاحظة الخيط المخاطي وذلك بدفق العينة من ماصة باستور .يعد قوام المني سويا عند تدفقه قطرة قطرة من الماصة على حين يكون القوام شاذا عندما تكون العينة خيطا أكثر من3 سم و قد يعود سبب عدم تميع بعض عينات السائل المنوي إلى ضعف فعالية غدة البروستات في إنتاج إنزيم الفايبرينولايسينFibrinolysin enzyme . استعملت المصطلحات الأتية لوصف درجة لزوجة المني سوي Normal , لزج Viscid ,لزج جدا Highly viscid.

3-2-1-4: الأس الهيدروجيني (الباء هاء) pH

تم قياس الأس الهيدروجيني بعد الاماعه مباشرة بوساطة اشرطة خاصة لهذا الغرض, يكون الأس الهيدروجيني للسائل المنوي نوعا ما قاعديا يتراوح 7.6-8.

3-2-2: الفحص المجهري Microscopic Examination

أخذت قطرة واحدة من كل عينة ممزوجة جيدا بعد الاماعة التامة, ووضعت قطرة بحجم 50 مايكروليتر على شريحة زجاجية وغطيت بغطاء الشريحة الزجاجية القياسية ,فحصت أولا تحت القوة 10 X ومن ثم القوةX40. تم قياس معالم النطف الأتية: تركيز النطف والنسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف والنسبة المئوية للنطف غير السوية والنسبة المئوية لعيوشية لنطف وتركيز كريات الدم البيض والخلايا البلعمية.

3-2-2-1: تركيز النطف Sperm Concentration

تم تقدير تركيز النطف في 1 مل من معدل عدد النطف في عشرة مجالات Field عشوائية وضرب معدل العدد بالعامل 10^6 (Hinting,1989).ويمكن على التركيز الكلي للدفق بضرب تركيز النطف بحجم الدفق. يعد المريض مصابا بقلة النطف عندما يكون تركيز النطف اقل من 20 مليون نطفه في كل مليلترواحد من السائل المنوي.

3-2-2-2: النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف

Sperm Motility Percent and Grade activity

تم حساب مائتي نطفة في الأقل لكل عينة, ثم سجل معدل عدد النطف ذات الحركة التقدمية والنسبة المئوية للنطف المتحركة من خلال ملاحظة الحركة التقدمية في حيز محدود Definite space gain وتقدر درجة نشاط النطف كما يأتي:.

0 . نطف غير متحركة
1.نطف ذات حركة دائرية موضعية
2. حركة تقدميه بطيئة
3. حركة تقدمية جيدة ,حركة خطية مستقيمة
4. حركة تقدمية جيدة جدا ,حركة خطية مستقيمة
5. حركة تقدميه ممتازة , حركة خطية مستقيمة,مفرطة النشاط

ويعد المريض مصابا بوهن النطف عندما تكون النسبة المئوية للنطف المتحركة اقل من50% ودرجة نشاطها اقل من 3 لعينه السائل المنوي (1989,. Hinting).

3-2-2-3: النسبة المئوية للنطف غير السوية

Abnormal Sperm Morphology Percent

تعد النطف مشوهه عند ملاحظة أي انحراف في تركيبها أو شكلها السوي. ويكون رأس النطفه السوي بيضوي ومحدداً بشكل منتظم مع وجود قلنسوة الجسيم الطرفي Acrosomal cap الذي يغطي حوالي ثلثي السطح الخارجي للرأس. أما القطعة الوسطية فتكون اسطوانية الشكل ومستقيمة وذات حدود منتظمة .ويكون

الذيل اسطواني الشكل وغير ملتف وذا حدود منتظمة وتشمل التشوهات التي تحدث في راس النطف الحالات الآتية: وهي الرأس الضخم Macrocephalic , والرأس الصغير Microcephalic و الرأس المستدق Tapered head و ثنائية الرأس Double head و مستديرة الرأس Round head و غير منتظمة الرأس Amorphous head وذو الجسيم الطرفي المحطم Head with acrosome damage . أما التشوهات في ذيل النطف فتشمل الذيل الثنائي Double tail و الذيل المنحني Bent tail و الذيل المكسور وعديمة الذيل .إما وجود القطرة الهيولية التي تكون على شكل جزيئه دائرية متصلة بالقطعة الوسطية فتدل على خلل في نضج النطف في البربخ او سبب الدفق المتكرر (Acosta *et al* .,1988).

تم حساب مائتي نطفة على الأقل في كل شريحة ومن ثم حسبت النسبة المئوية للنطف غير السوية وحسب المعادله الأتية :

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

يعد المريض مصابا بتشوه النطف إذا كانت % 40 ج

3-2-2-4:النسبة المئوية لعيوشية النطف

Sperm Viability Percent

تحسب النسبة المئوية لعيوشية النطف باستعمال صيغة الايوسين (Eosin) بتركيز 0.5% .إن أساس عمل هذه الصبغة هو وضع قطرة من هذه الصبغه على شريحة زجاجية ثم توضع قطرة من السائل المنوي وتمزج القطرتين على الشريحة الزجاجية ثم تغطى بغطاء الشريحة. إن النطف الميتة سوف تصطبغ كلها بالصبغة على اعتبار أن الغشاء الخلوي للنطفة الميتة فقد القابلية على نفاذية مواد دون مواد أخر وبذلك دخلت الصبغه إلى داخل الخليه وجعلتها ذات لون احمر, أما النطف الحية فيصطبغ غشاؤها الخارجي فقط بالصبغة دون أن تدخل الصبغه إلى داخل الخليه على اعتبار أن الغشاء الخلوي يمنع مرورها.

تم حساب مائتي نطفة على الأقل في كل شريحة ومن ثم حسبت النسبة المئوية لعيوشية النطفه حسب المعادله الأتية: .

$$\text{النسبة المئوية لعيوشية النطف} = \frac{\text{عدد النطف الحية}}{\text{عدد النطف الكلي}} \times 100$$

يعد المريض مصابا بموت الـــ Necrospermia إذا ـــ النسبة المئوية لعيوشية النطف اقل من 75%.

3-2-2-5: تركيز الكريات البيض والخلايا البلعمية

Leucocytes and Phagocytes Concentration

تم حساب تركيز كريات الدم البيض والخلايا اليلعميه في عشرة مجالات مختلفة وضرب المعدل بالعامل 10^6 إن العدد السوي للكريات البيض في عينه السائل المنوي اقل من مليون /مل على حين يكون هذا العدد اقل من نصف مليون /مل بالنسبة للخلايا البلعميه .

وقد عدت عينه السائل المنوي الحاوي على اكثر من مليون كرية/مل بأنها مصابة بالخمج (Hinting,1989).

3-3: تركيز البروتين الكلي Total protien concentration

تـم حسـاب تركيـز البـروتين الكلـي فـي السـائل المنـوي بطريقـه البايرويـت Biuret Method (Silverman *et al* .,1986).

1-3-3 : مبدأ قياس البروتين

إن الأواصر الببتدية للبروتين تتفاعل مع ايون النحاس (+Cu) الموجود في الوسط القاعدي لتكوين مركب ذو لون بنفسجي ,هذا اللون يمتص بوساطة جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometerبطول موجي(540 nM).

2-3-3: تحضير محلول البايرويت

يذاب 3غم من كبريتات النحاس (CuSO4.5H2O) في500 مل من الماء المقطر. يضاف 9غم من ترترات صوديوم بوتاسيوم(KOOC-(CHOH)2-COONa-4H2O) و 5غم من ايوديد البوتاسيم (KI). وعندما يصبح المحلول رائق .يضاف 100 مل من (NaOH) بتركيز N 6 ويكمل المحلول بوساطة الماء المقطر لغاية 1 لتر .

3-3-3: المنحنى القياسي

تم اخذ تراكيز مختلفة من بروتين الا لبومين وهي 1 و 2 و 3 و4 و 5غم/100مل وتم حساب امتصاص هذه التراكيز بطول موجي 540 nM والشكل (3-1) يشير إلى المنحى القياسي بين الامتصاصية وتراكيز الألبومين المختلفة.

4-3-3: طريقه العمل

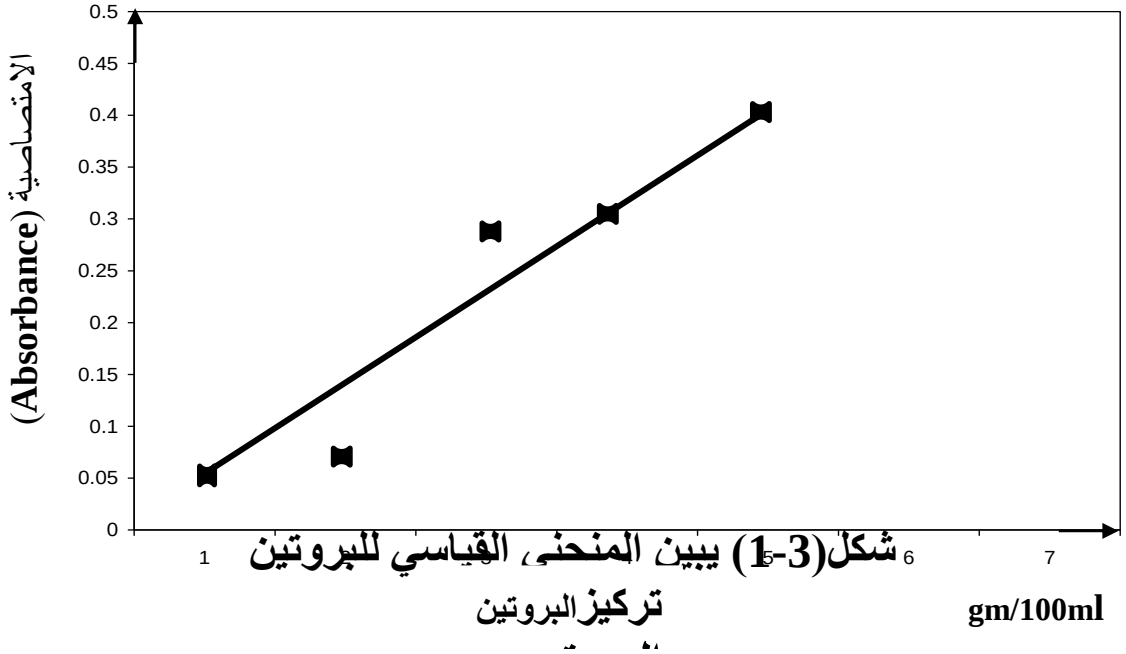
تم تحضير ثلاثة أنابيب و قياسات هذه الأنابيب بالملليمتر وبالشكل الأتي:-

جدول (3-1) يبين المواد المستعملة في قياس تركيز البروتين الكلي في السائل المنوي

Reagents	Unknown	Stander	Blank
Biuret reagents	5	5	5
Sample*	0.1	-	-
w.Standard Solution	-	0.1	-
Distil Water	-	-	0.1

*عينة السائل المنوي البلازما يتم فصل المنويه

Seminal plasmaعن النطف وذلك بنبذ العينه عن طريق جهاز النبذ Centrifuge لمدة 15 دقيقه وبسرعة 3000 دورة/ دقيقه ومن ثم ياخذ 0.1 مل من البلازما المنوية لغرض فحص تركيز البروتين الكلي (Mann ., 1964).



شكل(3-1) يبين المنحنى القياسي للبروتين

تركيزالبروتين

3-4: المستنبت المستعمل في تنشيط النطف في الزجاج

In vitro Sperm activation media

تم استعمال المستنبت هام أف 10 ا Ham's F-10 medium في عملية تنشيط النطف في الزجاج .

3-4-1: المستنبت هام أف 10

يبين الجدول(3-2) مكونات المستنبت هام أف 10 . ويحضر 100 مل من هذا المستنبت بحسب الخطوات الاتيه:

1. يضاف ملح هام اف10 (CMV-L France) والامبسيلين وبايروفيت الصوديوم إلى 90 مل من الماء المقطر.
2. تضاف بيكاريو نات الصوديوم إلى المزيج المذكور أعلاه.
3. تمزج المكونات بصورة تدريجية حتى تذوب المواد جميعا .
4. يضبط الضغط التنافذي ما بين 280-290 ملي ازمول/لتر بوساطة مقياس الضغط التنافذي .
5. يضاف الماء المقطر (أن تطلب الأمر) لغرض الحصول على الضغط التنافذي المضبوط .
6. تضبط قيمه الأس الهيدروجين (pH) 7.6 ,لغرض الحصول على الأس الهيدروجيني المعين ,تضاف قطرة من حامض الهيدروكلوريك (HCL) المخفف عندما يكون المحلول قاعدياً أو قطرة من هيدروكسيد الصوديوم

(NaOH) المخفف عندما يكون المحلول حامضياً ويضبط الأس الهيدروجيني باستعمال مقياس الـpH(pH meter).

7. يتم تعقيم المستنبت المحضر بوساطة تعريض المستنبت المحضر إلى الاشعة فوق البنفسجية لمدة 20 دقيقة.

جدول (3-2) *يوضح تحضير100 ملي للتر من المستنبت هام أف 10 المستعمل في تنشيط النطف في الزجاج .

المكونات	الكمية
ملح هام أف -10	0.99 gm
امبسيلين	0.008 gm
بايروفيت الصوديوم	0.001gm
بيكاربونات الصوديوم	0.21gm
ماء مقطر	لغاية الحجم 100ml
الضغط التنافذي	285 mosm/L
الأس الهيدروجيني	7.6
درجة الحرارة	23 c˚

***يضاف مصل أنثوي غير فعال بتركيز 20% عند استعمال المستنبت في تنشيط النطف**

3-4-2 : المواد المستعملة في تنشيط النطف البشرية في الزجاج

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

3-4-2-1: السيستانون SUSTANONE

وهو نوع من الاندروجينات يكون بشكل Testosterone Enantate المحضر من قبل شركة ايرانية بتركيز 250 mg/ml . تحضر ثلاث تراكيز متباينة وهي(1 ملغم/مل و 2 ملغم/مل و3 ملغم/مل), استعمل زيت زهرة الشمس للتخفيف علما انه تم استعمال زيت زهرة الشمس لوحده في اختبارات تنشيط النطف لمعرفه تأثيره فوجد انه لاتأثير له فأقصي عن استعمالة لوحده في الدراسة.

3-4-2-2: الديكافينون DECAVENONE

وهو نوع اخر من الاندروجينات المحضر من شركة اردنية بتركيز 25 mg/ml . تم تحضير ثلاثة تراكيز متباينة وهي(1 ملغم/مل و 2 ملغم/مل و 3 ملغم/مل). واستعمل نفس الزيت المذكور أعلاه للتخفيف.

3-5: تحضير المصل البشري المثبط

Preparation of inactivated human serum

جهز المستنبت المستعمل في تنشيط النطف في الزجاج في الدراسة الحالية بمصل أنثوي غير فعال. أخذت عينات الدم من النساء في اليوم الثالث عشر من الدورة الحيضية Menstural cycle , تركت العينات حتى تجلطت وفصل المصل عن كريات الدم بوساطة جهاز النبذ Centrifuge بسرعة 3000 دوره/دقيقه ولمدة 15 دقيقه. وضع المصل في حمام مائي بدرجه 56م لمدة 30 دقيقه لأزالة المتمم Decomplementation (السعد و الزبيدي,1989) . حفظ المصل في الثلاجة, يضاف المصل غير الفعال بتركيز 20% إلى المستنبت عند تنشيط النطف في الزجاج.

3-6: التقنيه المستعملة في تنشيط النطف في الزجاج

Technique used for human sperm activation in vitro

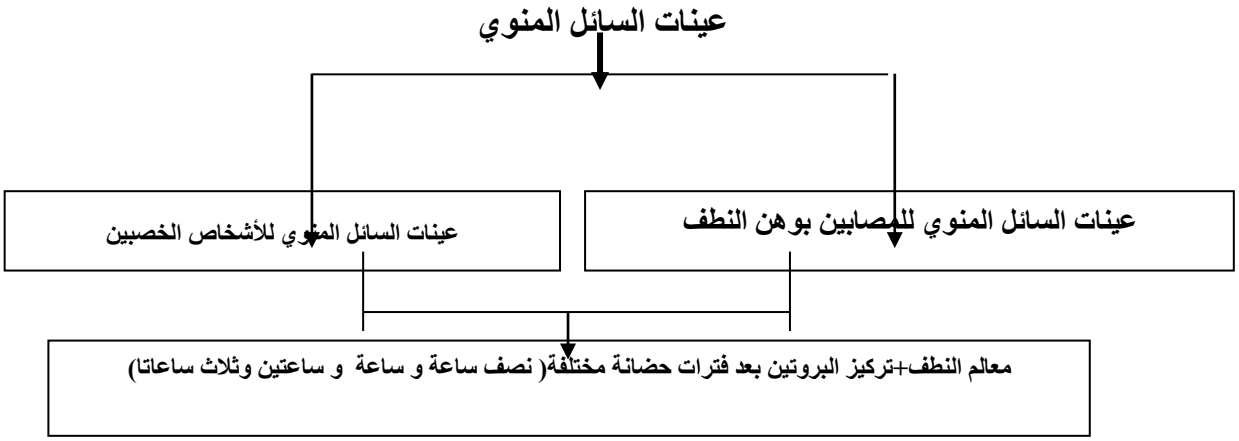
تم تنشيط النطف في الزجاج باستعمال تقنية الغسل والنبذ (الهادي,1997) حيث مزج 0.5 مل من السائل المنوي و 0.5 مل من المستنبت المحضر والمجهز بالمصل الأنثوي غير الفعال بتركيز 20% ثم أجريت عملية النبذ بقوة 2000 دوره /دقيقه لمدة 5 دقائق بدرجه حرارة الغرفه . أزيل الطافي supernatant بعد عملية النبذ وغطيت الحبيبة ب 0.5 مل من المستنبت المستعمل أما في حاله استعمال الهرمون مع المستنبت فقد تم إضافته بثلاثة تراكيز متباينة .ثم وضعت العينات في الحاضنه بدرجة حرارة 37 م وتم فحص معايير النطف في اربعة أوقات (نصف ساعة و ساعة و ساعتين و ثلاث ساعات) .أخذت قطرة واحده من الجزء العلوي من المستنبت وفحصت بوساطة المجهر تحت قوة 40 x . تم حساب تركيز النطف المسترجعة والنسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف والنسبة المئوية للنطف غير السوية والنسبة المئوية لعيوشية النطف وتركيز الخلايا البلعميه وكريات الدم البيض .

3-7: تصميم التجارب Experimental Design

شملت الدراسة جزيئين, تم في الجزء الأول دراسة تأثير عمر العينة لفترات التحضين المختلفة وهي نصف و ساعة و ساعتين و ثلاث ساعات على معايير النطف المختلفة لعينات السائل المنوي للأشخاص المصابين بوهن النطف وعينات الأشخاص الخصبين كمجموعة سيطرة. أما في الجزء الثاني من الدراسة فقد استعملت تقنيه الغسل و النبذ في تنشيط نطف المصابين بوهن النطف واستعملت قوة نبذ 2000 دورة /دقيقه خلال مدة نبذ مقدارها 5 دقائق. واستعمل مع المستنبت هام أف 10 المحور نوعان من الاندروجينات وهما السيستانون والديكافينون بثلاثة تراكيز(1 ملغم/مل و 2 ملغم/مل و 3 ملغم/مل) لكل منهما على حده .لقد استعملت أربع فترات تحضين وهي نصف ساعة و ساعة و ساعتين و ثلاث ساعات لجميع العينات المدروسة .لوحظ تأثير هذه المتغيرات من خلال معالم النطف الفسلجية التي تشمل تركيز النطف المسترجعة والنسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف و النسبة المئوية للنطف غير السوية و النسبة المئوية لعيوشية النطف وتركيز الخلايا البيض والخلايا البلعمية .يوضح الشكل (3-2) تصميم التجربة للدراسة الحالية.

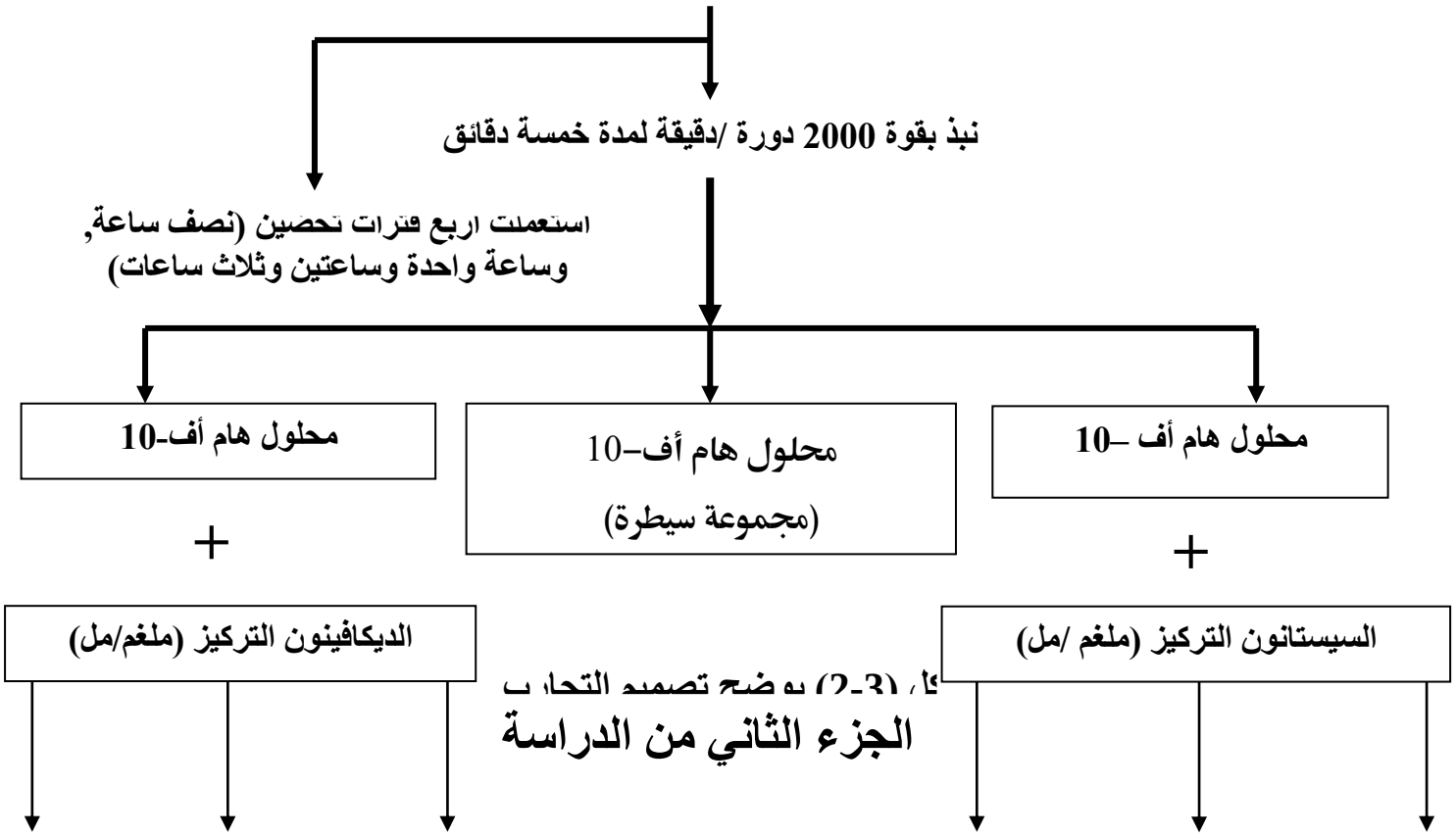
3-8:التحليل الإحصائي

استعمل اختبار T-student واختبار F للاستدلال على الدلالة المعنوية .كما استعمل المعامل المعنوي الاصغري Least Significant Difference (LSD) في المقارنه بين النتائج علاوة على الطرائق العياريه المستعملة في تحديد المتوسط Mean والانحراف المعياري Standard Deviation(SD) (الراوي,2000).



الجزء الأول من الدراسة

عينات السائل المنوي



يوضح تصميم التجارب (2-3) ،

الجزء الثاني من الدراسة

الفصل الرابع CHAPTER FOUR

النتائج RESULTS

4-1: تأثير فترات التحضين في معايير النطف

بينت نتائج دراسة تأثير فترات التحضين المختلفة في معايير النطف لعينات السائل المنوي لمرضى العقم المصابين بوهن النطف (10 عينات) أن مدة الحضانة نصف ساعة و ساعة واحده لم تظهر أي فرق معنوي ($P>0.05$)في جميع معايير النطف .أما التحضين لمدة ساعتين وثلاث ساعات ,فقد سبب انخفاض معنوي ($P<0.05$)في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف والنسبة المئوية لعيوشية النطف قياساً بفترات التحضين الاخرى.و أن النسبة المئوية للنطف غير السوية و تركيز الخلايا البيض وتركيز الخلايا البلعمية لم تظهر أي فرق معنوي ($P>0.05$)ولجميع فترات التحضين المدروسة.كما لوحظ زيادة معنويه ($P<0.05$)في تركيز البروتين الكلي ولفترات التحضين ساعتين وثلاث ساعات (جدول 4-1).

أما تأثير فترات التحضين في معايير النطف للأشخاص الخصبين(10 عينات) ,فيشير الجدول 4-2 إلى أن فترات التحضين نصف ساعة و ساعة واحده لم تظهر فرقاً معنوياً ($p>0.05$)لجميع معايير النطف,أما التحضين للفترات ساعتين وثلاث ساعات فقد سبب انخفاضاً معنوياً ($P<0.05$) في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف والنسبة المئوية لعيوشية النطف ,كما أظهرت نتائج تركيز البروتين زيادة معنويه($P<0.05$)لفترات التحضين ساعتين وثلاث ساعات قياساً مع فترتي التحضين نصف ساعة وساعة واحدة .في حين لم يلاحظ أي فرق معنوي($P>0.05$)في كل من النسبة المئوية للنطف غير السوية وتركيز النطف وتركيز الخلايا البيض والخلايا البلعمية .

وعند مقارنة معدلات الانخفاض في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف والنسبة المئوية لعيوشية النطف ولفترات التحضين المختلفة بين عينات المني لمرضى العقم و الأشخاص الخصبين,أظهرت النتائج أن معدلات الانخفاض في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف والنسبة المئوية لعيوشية النطف في عينات مرضى العقم أكثر معنويه($P<0.05$)مقارنة بعينات الأشخاص الخصبين ولفترات التحضين المختلفة الإشكال 4-1 و4-2 و 4-3 . وعند مقارنة معدلات الارتفاع في تركيز البروتين لكلتا المجموعتين ,أظهرت النتائج زيادة معنويه ($P<0.05$) في معدلات الارتفاع في عينات المني لمرضى العقم مقارنة بالأشخاص الخصبين شكل 4-4 .

جدول (4-1) معالم النطف المختلفة لفترات تحضين مختلفة في المرضى المصابين بوهن النطف

معالم النطف	نصف ساعة	ساعة واحدة	ساعتين	ثلاث ساعات
تركيز النطف($\times 10^6$ /مل)	30.00 a ± 3.87	30.20 a ± 3.75	30.30 a ± 3.66	28.60 a ± 4.63
النسبة المئوية للنطف المتحركة	27.70 a ± 3.36	24.50 a ± 3.17	17.30 b ± 2.37	10.00 c ± 1.53
درجة نشاط النطف	1.66 a	1.47 a	1.04 b	0.55 c

	± 0. 19	± 0.18	± 0.13	± 0.08
النسبة المئوية للنطف غير السوية	44.50 a ± 6.70	44.50 a ± 6.69	45.70 a ± 6.31	47.00 a ± 6.23
النسبة المئوية لعيوشية النطف	64.60 a ± 5.92	60.42 a ± 5.29	50.28 b ± 5.34	33.75 c ± 3.71
تركيز البروتين(غم/100مل)	4.63 a ± 0.35	5.32 a ± 0.37	6.62 b ± 0.43	8.01 c ± 0.56
تركيز كريات الدم البيض والخلايا البلعمية($\times 10^6$/مل)	3.20 a ± 0.29	3.50 a ± 0.25	3.80 a ± 0.20	4.10 a ± 0.22

عدد المرضى =10
($P<0.05$) الحروف المختلفة دلالة على المعنوية.

جدول (4-2) معالم النطف المختلفة لفترات تحضين مختلفة في الأشخاص الخصبين

معالم النطف	نصف ساعة	ساعة واحدة	ساعتين	ثلاث ساعات
تركيز النطف($\times 10^6$ /مل)	64.60 a ± 3.40	63.00 a ± 3.15	63.8 a ± 3.40	61.60 a ± 2.80
النسبة المئوية للنطف المتحركة	58.80 a ± 1.85	53.00 a ± 1.19	45.00 b ± 3.10	37.20 c ± 3.54
درجة نشاط النطف	3.53 a ± 0.09	3.18 a ± 0.13	2.70 b ± 0.17	2.23 c ± 0.02
النسبة المئوية للنطف غير السوية	31.20 a ± 1.85	31.30 a ± 2.54	34.20 a ± 1.90	36.70 a ± 1.60
النسبة المئوية لعيوشية النطف	85.60 a ± 1.36	82.50 a ± 1.36	74.10 b ± 1.16	60.82 c ± 2.20
تركيز البروتين(غم/100مل)	5.20 a ± 0.32	5.38 a ± 0.4	6.10 b ± 0.34	6.98 c ± 0.27
تركيز كريات الدم البيض والخلايا البلعمية($\times 10^6$/مل)	1.40 a ± 0.19	1.50 a ± 0.20	1.80 a ± 0.12	2.10 a ± 0.20

عدد المرضى =10
الحروف المختلفة دلالة على المعنوية. ($P<0.05$)

4-2: تنشيط النطف

تضمن الجزء الثاني من الدراسة تنشيط 80 عينة مني جمعت من مرضى يعانون من وهن النطف .تم تنشيط النطف باستعمال تقية الغسل والنبذ وباستعمال المستنبت هام أف 10 مضاف إليه السيستانون والديكافينون كل على حده .لقد استعمل ثلاثة تراكيز متباينة لكل من السيستانون والديكافينون وهي 1 ملغم/مل و 2 ملغم/مل و3 ملغم/مل .كما درست معالم النطف في أربع فترات تحضين وهي نصف ساعة و ساعة و ساعتين و ثلاث ساعات .حيث سببت المعاملات كافة تحسنا معنويا ($P<0.05$)في معالم النطف مقارنة بقيمها قبل التنشيط .

أظهرت نتائج تنشيط النطف الواهنة باستعمال المستنبت هام أف 10 تحسنا معنويا ($P<0.05$)في معالم النطف مقارنة بقيمها قبل التنشيط ولفترات التحصين المختلفة.فقد لوحظ زيادة معنويه ($P<0.05$)في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف والنسبة المئوية لعيوشية النطف مقارنة بقيمها قبل التنشيط ولفترات التحضين المختلفة .كما أظهرت النتائج انخفاضاً معنوياً ($P<0.05$)في كل من تركيز النطف المسترجعة والنسبة المئوية للنطف غير السوية وتركيز الخلايا البيض والخلايا البلعمية مقارنة بقيمها قبل التشيط ولفترات التحضين المختلفة(الجداول 4-3 و4-4 و4-5 و4-6).

أما نتائج مقارنة قيم معايير النطف ولفترات التحضين المختلفة ,فقد أظهرت وجود فرق معنوي($P<0.05$)في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف باختلاف فترات التحضين ,فقد لوحظ بان فترات التحضين ساعة وساعتين سببت زيادة معنويه($P<0.05$)مقارنة بمدة التحضين نصف ساعة وكانت الزيادة المعنوية أقصاها في مدة التحضين ساعة واحده,في حين سبب التحضين لمدة ثلاث ساعات انخفاض معنوي($P<0.05$)في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف مقارنة بفترات التحضين الأخرى (الأشكال 4-5 و 4-6).لم تظهر معالم النطف الأخرى وهى تركيز النطف المسترجعة و النسبة المئوية لعيوشية النطف والنسبة المئوية للنطف غير السوية وتركيز الخلايا البيضاء والخلايا البلعميه فرقا معنويا($P>0.05$) باختلاف فترات التحضين.

إن إضافة السيستانون إلى المستنبت الزرعي هام أف 10 بتراكيزه الثلاثة أدى إلى حدوث زيادة معنويه ($P<0.05$)في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف مقارنة بمجموعة السيطرة(المستنبت هام أف 10 لوحده)ولفترات التحضين المختلفة (الجداول 4-3 و4-4 و4-5 و4-6).

لقد لوحظ وجود فروق معنويه ($P<0.05$)في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف بين تراكيز السيستانون ,حيث سبب إضافة التركيز 1ملغم/مل زيادة معنويه ($P<0.05$)مقارنة بالتركيز 3 ملغم/مل ,بينما لم يلاحظ أي فروق معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف بين التركيز 2 ملغم/مل و1 ملغم/مل من جهة وبين التركيز 2 ملغم/مل و3 ملغم/مل من جهة أخرى (الجدول 4-3).

يشير جدول 4-4و4-6 إلى وجود زيادة معنويه ($P<0.05$)في كل من السبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف عند استعمال التراكيز الثلاثة المذكورة من السيستانون مقارنة بمجموعة السيطرة ولمدة التحضين ساعة واحده وثلاث ساعات .لقد كان للتركيز 1 ملغم/مل الأثر الأقوى للزيادة المعنوية ومن ثم ينخفض هذا التأثير بزيادة تركيز السيستانون المضاف إلى المستنبت.

أما مدة التحضين ساعتين,فقد لوحظ وجود زيادة معنويه ($P<0.05$)في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاطها عند استعمال السيستانون بتراكيزه الثلاثة مقارنة لقيمها عند استعمال المستنبت لوحده.وعند دراسة الفرق المعنوي لقيم النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف بين التراكيز الثلاثة للسيستانون لوحظ وجود زيادة معنويه($P<0.05$)فيها في التركيز 1 ملغم/مل مقارنة مع التركزين 2 و3 ملغم/مل(جدول4-5).

هذا ولم يلاحظ أي فروق معنويه ($P<0.05$) في كل من تركيز النطف المسترجعة والنسبة المئوية لعيوشية النطف والنسبة المئوية للنطف غير السوية وتركيز الخلايا البيض والخلايا البلعمية باستعمال التراكيز المختلفة من السيستانون مع المستنبت هام أف 10 مقارنة باستعمال المستنبت لوحده ولفترات التحضين المختلفة(الجداول 4-3 و4-4 و4-5 و4-6).

أشارت الأشكال 4-7 إلى 4-12 المقارنة قيم النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف بين فترات التحضين الأربعة ولتراكيز السيستانون الثلاثة .فقد سبب إضافة 1 ملغم/مل من السيستانون إلى حدوث زيادة معنويه ($P<0.05$)في النسبة المئوية للنطف المتحركة عند التحضين لفترة ساعة وساعتين مقارنة بنصف ساعة وثلاث ساعات. وكانت الزيادة أقصاها في مدة ساعة واحده ,في حين لم يلاحظ أي فرق معنوي ($P>0.05$)بين فترات التحضين نصف ساعة و ثلاث ساعات (شكل4-7).كذلك فقد لوحظ زيادة معنويه

(P<0.05)في درجة نشاط النطف في فترات التحضين ساعة وساعتين مقارنة بفترات التحضين الأخرى ,كما حدث نقص معنوي (P<0.05) في مدة التحضين ثلاث ساعات مقارنة بنصف ساعة (شكل4-8).

سبب إضافة 2 و 3 ملغم/مل من السيستانون إلى حدوث زيادة معنويه (P<0.05) في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف عند التحصين لمدة ساعة مقارنة مع قيمها في مدد التحضين الأخرى(الأشكال4-9 الى4-12).كما يلاحظ من الأشكال نفسها عدم وجود أي فرق معنوي بين قيم المعلمين المذكورين لدى التحضين لمدة نصف ساعة و ساعتين ,على حين حدث نقص معنوي (P<0.05)عند التحضين لمدة ثلاث ساعات مقارنة بفترات التحضين الأخرى.

جدول (4-3) معالم النطف قبل وبعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف باستعمال المستنبت الزرعي هام أف 10 والتراكيز المختلفة من السيستانون ولمدة حضن نصف ساعة

معالم النطف	قبل التنشيط(المعدل ± الخطأ القياسي)	بعد التنشيط(المعدل ± الخطأ القياسي)			
		السيطرة (المستنبت هام أف 10 لوحده)	المستنبت هام اف10+السيستانون		
			1mg/ml	2mg/ml	3mg/ml
تركيز النطف($\times 10^6$/مل)	42.70 a ± 3.32	6.00 b ± 0.61	6.20 b ± 0.55	6.60 b ± 0.56	6.60 b ± 0.45
النسبة المئوية للنطف المتحركة	30.56 a ± 1.55	40.65 b ± 2.04	54.90 c ± 1.99	52.15 cd ± 2.72	48.10 d ± 1.42
درجة نشاط النطف	1.84 a ± 0.08	2.44 b ± 0.12	3.29 c ± 0.10	3.13 cd ± 0.16	2.88 d ± 0.08
النسبة المئوية للنطف غير السوية	35.73 a ± 2.75	17.20 b ± 0.73	16.50 b ± 1.22	16.40 b ± 0.76	16.30 b ± 0.94
النسبة المئوية لعيوشية النطف	70.38 a ± 3.86	90.05 b ± 1.04	90.21 b ± 1.10	90.32 b ± 1.13	89.72 b ± 1.13
تركيز كريات الدم البيض والخلايا البلعمية($\times 10^6$/مل)	3.02 a ± 0.85	0.22 b ± 0.50	0.23 b ± 0.03	0.22 b ± 0.05	0.23 b ± 0.05

عدد المرضى =10

(P<0.05) الحروف المختلفة دلالة على المعنوية.

جدول (4-4) معالم النطف قبل وبعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف باستعمال المستنبت الزرعي هام أف 10 والتراكيز المختلفة من السيستانون ولمدة حضن ساعة واحدة

معالم النطف	قبل التنشيط(المعدل ± الخطأ القياسي)	بعد التنشيط(المعدل ± الخطأ القياسي)			
		السيطرة(المستنبت هام أف 10 لوحده)	المستنبت هام اف10+السيستانون		
			1mg/ml	2mg/ml	3mg/ml
تركيز النطف($\times 10^6$/مل)	41.50 a ± 3.24	8.00 b ± 0.55	8.20 b ± 0.53	8.30 b ± 0.47	7.85 b ± 0.45
النسبة المئوية للنطف المتحركة	27.25 a ± 1.80	52.82 b ± 1.74	71.40 c ± 2.27	64.95 d ± 1.75	60.92 e ± 1.45
درجة نشاط النطف	1.68 a ± 0.09	3.16 b ± 0.10	4.26 c ± 0.14	3.89 d ± 0.10	3.65 e ± 0.08
النسبة المئوية للنطف غير السوية	35.37 a ± 2.75	18.20 b ± 1.57	17.80 c ± 1.94	17.15 b ± 0.92	17.50 b ± 2.47
النسبة المئوية لعيوشية النطف	66.82 a ± 3.90	91.31 b ± 0.58	91.81 b ± 0.69	91.44 b ± 0.73	91.18 b ± 0.77
تركيز كريات الدم البيض والخلايا البلعمية($\times 10^6$/مل)	3.05 a ± 0.84	0.46 b ± 0.25	0.41 b ± 0.13	0.44 b ± 1.77	0.44 b ± 0.17

عدد المرضى =10
(P<0.05) الحروف المختلفة دلالة على المعنوية.

جدول (4-5) معالم النطف قبل وبعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف باستخدام المستنبت الزرعي هام أف 10 والتراكيز المختلفة من السيستانون ولمدة حضن ساعتين

معالم النطف	قبل التنشيط(المعدل ± الخطأ القياسي)	بعد التنشيط(المعدل ± الخطأ القياسي)			
		السيطرة(المستنبت هام أف 10 لوحده)	المستنبت هام اف10+السيستانون		
			1mg/ml	2mg/ml	3mg/ml
تركيز النطف($\times 10^6$/مل)	40.60 a ± 3.07	11.55 b ± 0.53	12.55 b ± 0.53	11.77 b ± 0.49	11.70 b ± 0.61
النسبة المئوية للنطف المتحركة	18.75 a ± 1.03	46.40 b ± 1.93	65.67 c ± 1.99	58.00 d ± 1.72	55.30 d ± 1.74
درجة نشاط النطف	1.13 a ± 0.06	2.79 b ± 1.10	3.94 c ± 0.12	3.48 d ± 0.10	3.32 d ± 0.10
النسبة المئوية للنطف غير السوية	37.85 a ± 2.23	20.35 b ± 1.02	18.65 b ± 1.13	18.95 b ± 1.10	18.90 b ± 1.41
النسبة المئوية لعيوشية النطف	57.50 a ± 2.93	89.21 b ± 0.70	88.75 b ± 1.8 5	89.02 b ± 0.68	89.03 b ± 0.68
تركيز كريات الدم البيض والخلايا البلعمية($\times 10^6$/مل)	3.67 a ± 0.98	0.66 b ± 0.22	0.56 b ± 0.16	0.68 b ± 0.27	0.58 b ± 0.17

عدد المرضى =10
($P<0.05$) الحروف المختلفة دلالة على المعنوية.

جدول (4-6) معالم النطف قبل وبعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف باستعمال المستنبت الزرعي هام أف 10 والتراكيز المختلفة من السيستانون ولمدة حضن ثلاث ساعات

معالم النطف	قبل التنشيط(المعدل ± الخطأ القياسي)	بعد التنشيط(المعدل ± الخطأ القياسي)			
		السيطرة(المستنبت هام أف 10 لوحده)	المستنبت هام اف10+السيستانون		
			1mg/ml	2mg/ml	3mg/ml
تركيز النطف($\times 10^6$/مل)	40.40 a ± 3.05	14.90 b ± 0.54	16.80 b ± 0.56	15.55 b ± 0.53	15.45 b ± 0.59
النسبة المئوية للنطف المتحركة	12.05 a ± 0.75	31.50 b ± 1.49	49.90 c ± 1.42	44.90 d ± 1.42	39.25 e ± 1.00
درجة نشاط النطف	0.73 a ± 0.04	1.89 b ± 0.09	2.90 c ± 0.08	2.70 d ± 0.08	2.36 e ± 0.06
النسبة المئوية للنطف غير السوية	40.05 a ± 2.14	2.25 b ± 0.63	18.85 b ± 1.09	18.00 b ± 0.58	18.10 b ± 0.57

النسبة المئوية لعيوشية النطف	44.80 a ± 2.40	88.43 b ± 1.28	88.98 b ± 0.98	88.79 b ± 0.98	88.41 b ± 1.10
تركيز كريات الدم البيض والخلايا البلعمية($\times 10^6$/مل)	3.79 a ± 0.94	0.89 b ± 0.28	0.93 b ± 0.26	0.85 b ± 0.30	0.83 b ± 0.20

عدد المرضى =10
(P<0.05) الحروف المختلفة دلالة على المعنوية.

إن أضافة الديكافينون الى المستنبت الزرعي هام أف 10 بتراكيزه الثلاثة أدى إلى حدوث زيادة معنويه ($p<0.05$) في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف مقارنة بمجموعة السيطرة (المستنبت هام أف 10 لوحده) ولفترات التحضين المختلفة (الجداول 4-7 و 4-8 و 4-9 و 4-10) .

لقد لوحظ وجود فروق معنوية ($p<0.05$)في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف بين التراكيز المختلفة للديكافينون ,حيث سبب إضافة التركيز 2 ملغم/مل حدوث زيادة ($p<0.05$)في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف مقارنة بالتركيزين الأخيرين ,على حين لم يلاحظ فروق معنويه ($p>0.05$)في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف بين التركيزين 1 ملغم/مل و 3 ملغم/مل ولفترات التحضين نصف ساعة وساعة وساعتين (الجد وال 4-7 و4-8 و4-9على التوالي).أما مدة التحضين لثلاث ساعات فقد أظهرت نتائج مقارنة قيم النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف وجود فروق معنويه ($p<0.05$)بين التراكيز الثلاثة المستعملة من الديكافينون .فقد لوحظ بان للتركيز 2 ملغم/مل الأثر الأول في تنشيط حركة النطف وينخفض معنويا($p<0.05$)عند استعمال التركبزين 1 ملغم/مل و 3 ملغم/مل على التوالي (جدول 4-10).

لم تظهر معالم النطف الأخرى فرقا معنويا ($p>0.05$) باستعمال التراكيز المختلفة من الديكافينون مع المستنبت الزرعي هام أف 10 ولمدد التحضين المختلفة.

تشير الأشكال 4-13 الى 4-18 الى مقارنة قيم النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف لفترات التحضين المختلفة باستعمال التراكيز الثلاثة للديكافينون .لقد لوحظ عند استعمال التركيز 1 ملغم/مل 2ملغم/مل للديكافينون مع المستنبت إلى ان أعلى زيادة معنويه ($p<0.05$)في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط كانت في مدة التحضين لمدة ساعة واحده ,كما يلاحظ من الأشكال 4-13 و4-14 و 4-15و 4-16 إلى وجود فروق معنويه أخرى في مدد التحضين الأخرى .

أما عند استعمال التركيز 3 ملغم/مل من الديكافينون فقد لوحظ وجود زيادة معنويه ($p<0.05$)في كل من المعلمين المذكورين أعلاه في مدة التحضين ساعة واحده مقارنة مع مدد التحضين الأخرى ,في حين لم يلاحظ أي فرق معنوي بين فترتي التحضين نصف ساعة وساعتين ,كما أشارت الأشكال إلى وجود نقص معنوي ($p<0.05$)عند مدة التحضين ثلاث ساعات مقارنة بمدد التحضين الأخرى (الأشكال 4-17 و 4-18).

لدى مراجعة النتائج يتضح بان التركيز الامثل للسيستانون والديكافينون المستعمل هو 1 ملغم/مل و2ملغم/مل على التوالي أما مدة التحضين المثلى فهي ساعة واحده .لدى مقارنة نتائج تنشيط النطف بين التركيزين المثليين لنوعي الاندروجينات لم يلاحظ أي فرق معنوي في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف (الأشكال 4-19 و4-20 على التوالي).

جدول (4-7) معالم النطف قبل وبعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف باستعمال المستنبت الزرعي هام أف 10 والتراكيز المختلفة من الديكافينون ولمدة حضن نصف ساعة

معالم النطف	قبل التنشيط(المعدل ± الخطأ القياسي)	بعد التنشيط(المعدل ± الخطأ القياسي)			
		السيطرة(المستنبت هام أف 10 لوحده)	المستنبت هام اف10+الديكافينون		
			1mg/ml	2mg/ml	3mg/ml
تركيز النطف($\times 10^6$/مل)	34.20 a ± 5.09	4.65 b ± 0.53	4.55 b ± 0.40	5.45 b ± 0.47	4.53 b ± 0.41
النسبة المئوية للنطف المتحركة	35.50 a ± 2.73	42.10 b ± 1.82	50.50 c ± 1.36	58.25 d ± 1.46	49.00 c ± 1.96
درجة نشاط النطف	2.13 a ± 0.67	2.53 b ± 0.11	3.03 c ± 0.08	3.50 d ± 0.09	2.96 c ± 0.12
النسبة المئوية للنطف غير السوية	38.20 a ± 1.74	16.10 b ± 1.10	14.72 b ± 0.99	15.30 b ± 1.08	15.65 b ± 1.19
النسبة المئوية لعيوشية النطف	61.74 a ± 4.15	88.40 b ± 1.17	89.26 b ± 1.07	89.46 b ± 1.20	89.01 b ± 1.14
تركيز كريات الدم البيض والخلايا البلعمية($\times 10^6$/مل)	2.67 a ± 0.34	0.37 b ± 0.06	0.38 b ± 0.07	0.37 b ± 0.07	0.36 b ± 0.07

عدد المرضى =10

(P<0.05) الحروف المختلفة دلالة على المعنوية.

جدول (4-8) معالم النطف قبل وبعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف باستعمال المستنبت الزرعي هام أف 10 والتراكيز المختلفة من الديكافينون ولمدة حضن ساعة واحدة

معالم النطف	قبل التنشيط(المعدل ± الخطأ القياسي)	بعد التنشيط(المعدل ± الخطأ القياسي)			
		السيطرة(المستنبت هام أف 10 لوحده)	المستنبت هام اف10+الديكافينون		
			1mg/ml	2mg/ml	3mg/ml
تركيز النطف($\times 10^6$/مل)	33.60 a ± 5.16	6.80 b ± 0.63	6.75 b ± 0.51	7.60 b ± 0.61	6.80 b ± 0.65
النسبة المئوية للنطف المتحركة	31.90 a ± 3.83	55.70 b ± 1.55	65.00 c ± 1.76	73.00 d ± 1.52	61.15 c ± 1.97
درجة نشاط النطف	1.90 a	3.42 b	3.90 c	4.38 d	3.67 cb

	± 0.16	± 0.09	± 0.10	± 0.09	± 0.12
النسبة المئوية للنطف غير السوية	37.08 a ± 1.33	17.65 b ± 1.15	15.70 b ± 0.87	16.55 b ± 1.03	16.05 b ± 1.02
النسبة المئوية لعيوشية النطف	61.70 a ± 3.02	87.84 b ± 1.48	89.78 b ± 1.25	88.78 b ± 1.20	88.08 b ± 1.41
تركيز كريات الدم البيض والخلايا البلعمية($\times 10^6$/مل)	2.64 a ± 0.34	0.43 b ± 0.08	0.44 b ± 0.08	0.45 b ± 0.10	0.40 b ± 0.09

عدد المرضى =10
($P<0.05$) الحروف المختلفة دلالة على المعنوية.

جدول (4-9) معالم النطف قبل وبعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف باستعمال المستنبت الزرعي هام أف 10 والتراكيز المختلفة من الديكافينون ولمدة حضن ساعتين

معالم النطف	قبل التنشيط(المعدل ± الخطأ القياسي)	بعد التنشيط(المعدل ± الخطأ القياسي)			
		السيطرة(المستنبت هام أف 10 لوحده)	المستنبت هام اف10+الديكافينون		
			1mg/ml	2mg/ml	3mg/ml
تركيز النطف($\times 10^6$/مل)	33.00 a ± 5.57	9.55 b ± 0.65	9.60 b ± 0.67	10.45 b ± 0.63	9.65 b ± 0.81
النسبة المئوية للنطف المتحركة	23.70 a ± 2.29	44.95 b ± 1.48	55.05 c ± 1.17	62.70 d ± 1.11	52.75 c ± 1.26
درجة نشاط النطف	1.43 a ± 0.13	2.90 b ± 0.18	3.30 c ± 0.07	3.76 d ± 0.06	3.17 c ± 0.07
النسبة المئوية للنطف غير السوية	41.15 a ± 1.71	21.20 b ± 0.87	19.90 b ± 0.90	20.65 b ± 0.97	20.65 b ± 0.90
النسبة المئوية لعيوشية النطف	54.60 a ± 2.79	86.97 b ± 1.42	87.38 b ± 1.44	88.53 b ± 1.30	88.11 b ± 1.57
تركيز كريات الدم البيض والخلايا البلعمية($\times 10^6$/مل)	2.90 a ± 0.43	0.55 b ± 0.10	0.56 b ± 0.09	0.56 b ± 0.09	0.58 b ± 0.11

عدد المرضى =10
(P<0.05) الحروف المختلفة دلالة على المعنوية.

جدول (4-10) معالم النطف قبل وبعد التنشيط للمرضى المصابين بوهن النطف باستعمال المستنبت الزرعي هام أف 10 والتراكيز المختلفة من الديكافينون ولمدة حضن ثلاث ساعات

معالم النطف	قبل التنشيط(المعدل ± الخطأ القياسي)	بعد التنشيط(المعدل ± الخطأ القياسي)			
		السيطرة(المستنبت هام أف 10 لوحده)	المستنبت هام اف10+االديكافينون		
			1mg/ml	2mg/ml	3mg/ml
تركيز النطف(×10^6/مل)	33.40 a ± 5.50	13.05 b ± 0.60	12.75 b ± 0.62	13.25 b ± 0.70	13.20 b ± 0.69
النسبة المئوية للنطف المتحركة	17.15 a ± 1.84	33.90 b ± 1.51	44.15 c ± 0.70	49.25 d ± 0.69	40.17 e ± 0.70
درجة نشاط النطف	1.03 a ± 0.10	2.03 b ± 0.03	2.65 c ± 0.04	3.00 d ± 0.04	2.42 e ± 0.04
النسبة المئوية للنطف غير السوية	42.00 a ± 1.83	21.20 b ± 1.28	19.90 b ± 1.07	19.65 b ± 0.94	21.52 b ± 1.24
النسبة المئوية لعيوشية النطف	46.85 a ± 2.64	85.71 b ± 1.35	88.27 b ± 1.26	87.59 b ± 1.41	87.33 b ± 1.37
تركيز كريات الدم البيض والخلايا البلعمية(×10^6/مل)	2.81 a ± 0.32	0.73 b ± 0.12	0.74 b ± 0.13	0.70 b ± 0.11	0.74 b ± 0.13

عدد المرضى =10
(P<0.05) الحروف المختلفة دلالة على المعنوية.

الفصل الخامس CHAPTER FIVE

المناقشة DISSCUATION

5-1:تأثير فترات التحضين في معايير النطف

اظهرت نتائج الجزء الأول من الدراسة أن فترات التحضين المختلفة قد سببت فروقا معنوية في معايير النطف لاسيما ما يتعلق بالنسبة المئوية للنطف المتحركه ودرجة نشاط النطف والنسبة المئوية لعيشوية النطف ولكلتا المجموعتين(مجموعه مرضى العقم المصابين بوهن النطف والأشخاص الخصبين), فقد اظهرت (الجداول 4-1 و4-2) إلى أن معايير النطف المختلفة لا تختلف معنويا عند مدة التحضين نصف ساعة وساعة بالنسبة لكلتا المجموعتين وهذه النتيجة تتفق مع ما توصلت إليه دراسة سابقه ,فقد أشارت إلى أن مدة التحضين الطبيعية هي بحدود ساعة واحدة بدرجه 37 درجه مئوية وهي مدة السماح لعينة السائل المنوي للاماعة (NAFA.,2002) . كما لوحظ انخفاض معنوي ($P<0.05$) في النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف وهذا الانخفاض يزداد بزيادة مدة التحضين(جدول 4-1و4-2) وهذه النتيجة تتفق مع ما توصلت إليه دراسات سابقه, فقد أشار انجل وجماعته(Engel *et al* .,1999) إلى أن النطف ذات الحركة التقدمية تنخفض بمرور الزمن وان انخفاض النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف في الدراسة الحالية ربما يرجع إلى عدة أسباب منها:.

1. انخفاض في تركيز الكلوكوز والفركتوز في السائل المنوي بمرور الوقت الذي يعد المصدر الرئيسي للطاقة, حيث أن عيوشية وحركة النطف الناضجه تعتمد على الفركتوز وبعض المواد الأخرى من خارج الخلية لغرض توفير الطاقة اللازمة للحركة وذلك لان النطف لا تمتلك أي مخزون غذائي ما عدا الدهون كما أنها لا تستطيع التمايز والانقسام أكثر مما هي عليه لذا فإنها تتوجه للحفاظ على تركيز ATP المتكون من المتقدرات المحيطه بالمنطقة الوسطية لغرض إتمام عمليه التحلل السكري والتنفس اللتين تحدثان داخل النطف وان معدل الايض يكون موازيا لحركة النطف (Page *et al* .,1981).

ولقد أشارت دراسة اخرى إلى أن تركيز الكلوكوز في السائل المنوي ينخفض بشكل معنوي خلال حركة النطف. وكذلك وجد بان أضافة الكلوكوز إلى المستنبت الزرعي الخاص بتنشيط النطف يؤدي الى المحافظه على حركة النطف ذات الحركة التقدمية خلال مدد التحضين المختلفة مقارنة بمجموعة السيطرة (Mahadevan *et al* .,1997). إن لانخفاض مستوى البايروفيت ومساعد الأنزيم Coenzyme A داخل الخلية الأثر الكبير على حركة النطف وعيشوتها, فقد أشارت أحدى الدراسات إلى أن أضافة البايروفيت ومساعد الأنزيم Coenzyme A إلى المستنبت الزرعي سبب زيادة في عمر النطف وحافظ على حركتها(Lahnsteiner *et al* ., 1999).

2. زيادة معدل أنتاج Reactive oxygen species(ROS) , أن الحركة التقدمية للنطف تنخفض بشكل معنوي في حاله زيادة مستوى Xanthin Oxidase(XO) الذي يقوم بتكوين الجذر الحر Hydrogen peroxide الذي يؤثر على حركة النطف كما أن زيادة مستوى Superoxide dismutase(SOD) في السائل المنوي يؤدي الى كبح تأثير الجذور الحره (Kurpisz *et al* .,1996). وفي دراسة أخرى وجد بان عمليه الأكسدة الذاتية للدهون(Lipid peroxidation(LPO تزداد بزيادة فترات تحضين النطف وهذه الزيادة يرافقها نقص في حركة النطف, حيث أظهرت الدراسة اعلاة زيادة مستوى تكون الجذور الحرة وقلة حركة النطف بعد ثلاث ساعات من تحضين النطف, وان الزيادة في عمليه الأكسدة الذاتية للدهون تكون أكثر معنوية في النطف ذات الحركة البطيئة مقارنه بالنطف ذات الحركة التقدمية أي انه كلما انخفضت حركة النطف أصبحت حساسة أكثر لعمليه الأكسدة الذاتية للدهون وتكوين الجذور الحرة (Engel *et al* .,1999).
لقد أشارت دراسة أخرى بان عينات النطف البشرية المحضنه في المستنبت هام أف 10 لفترات تحضين مختلفة أظهرت انخفاض في حركة النطف ودرجه نشاطها مقابل زيادة في عملية تكوين ROS وهذه الزيادة تزداد بزيادة فترات التحضين المختلفة وأن تكون الجذور الحره يؤدي إلى تغير في تركيب الغشاء الخلوي

للنطف ومن ثم زيادة في اماعية fluidity غشاء النطف, كما أن أضافة أنزيم catalase إلى المستنبت المذكور أدى إلى الحفاظ على مستوى معين من ROS في العينات (Calamera *et al* .,2001).

3. وجود كريات الدم البيض والخلايا البلعميه أكثر من 2 مليون/ خليه في المللتر الواحد من السائل المنوي له الأثر في تغيير معالم النطف, حيث ان لكريات الدم البيض القابلية على تكوين اوكسيد النتريك NO الذي يقلل من حركه النطف وأن إضافة N-G monomethyl-L arginine المثبط لتكوين اوكسيد النتريك في تنشيط النطف باستعمال تقنيه الغسل والنبذ أدى إلى تحسين النسبة المئوية للنطف المتحركة وهذا ما يؤكد تكوين اوكسيد النتريك من قبل النطف نفسها علاوة على الخلايا البلعمية(Perera *et al* .,1996) .

4. قلة نشاط جهد الغشاء البلازمي للمتقدرات Mitochondria membrane potential , فقد وجد أن هناك ارتباطاً موجباً بين وظيفة المتقدرات لتكوين ATP والنسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف (Kasai *et al* .,2002). و في دراسة أخرى لوحظ بان هنالك اختلاف معنوي في جهد الغشاء البلازمي للمتقدرات للنطف ذات الحركة التقدميه والنطف الأقل حركه وقد يكون واحدة من أسباب قلة جهد الغشاء البلازمي للمتقدرات هي تحسس جينوم المتقدرات إلى الهجوم من قبل الجذور الحرة بحيث يكون جينوم المتقدرات ذو حساسية 100 مرة أكثر من حساسية جينوم النواة حيث يكون الأخير محمي من قبل بروتين الهستون (John *et al* .,2000).

كما أظهرت نتائج دراستنا انخفاضا معنويا في النسبة المئوية لعيوشيه النطف عند مدد التحضين ساعتين وثلاث ساعات ولكلتا المجموعتين(الجداول 4-1 و4-2) وهذا الانخفاض ربما يعزا إلى انخفاض مصادر الطاقة اللازمة لتكوين ATP ,حيث وجد بأن العديد من مصادر الطاقة وهي Pyruvateو Coenzyme Aو Gloucose لها دور مهم في المحافظه على عيوشية النطف (Lahnsteiner *et al* .,1999). كما أشارت دراسة أخرى إلى أن أضافة مادة Quercetine الى النطف البشرية سبب انخفاض في النسبة المئوية لعيوشية النطف و أوضحت الدراسة بان عيوشيه النطف ترتبط ارتباطاً مباشراً بفعالية Ca-ATPase حيث تنخفض فعالية الاخير بزيادة مدة التحضين ومن ثم تؤدي الى التأثير في عيوشية النطف(Khanduja *et al* .,2001).

أما عند مقارنه فترات التحضين المختلفة وتركيز البروتين ,أظهرت نتائج دراستنا زيادة معنوية ($P<0.05$) في تركيز البروتين الكلي لكلتا المجموعتين(الجداول 4-1 و4-2) عند مدتي التحضين ساعتين وثلاث ساعات مقارنة بمدتي التحضين نصف ساعة وساعة ,على حين لم يلاحظ وجود أي فرق معنوي($P>0.05$) بين مدتي التحضين نصف ساعة وساعة . هذه الزيادة ترتبط ارتباطاً طردياً مع زيادة مدد التحضين, وهذا يتفق مع دراسة الدراجي وجماعته (Al Daragii *et al*.,2002) الذي أشار إلى زيادة في فعالية الانزيمات (LAD),Glutamic oxalic transaminase(GOT) في السائل المنوي خلال مدد الخزن وهذا يرتبط بعدم الاستقرار التركيبي لغشاء النطف خلال مدة الخزن الأمر الذي يؤدي الى زيادة تركيز البروتين الكلي في السائل المنوي خلال مدة الخزن. لقد أوضح الباحث ثرستون (Thurston,1976), بان هناك ارتباطاً موجباً بين زيادة تركيز البروتين الكلي في السائل المنوي وتركيز الخلايا البلعمية الموجودة في السائل المنوي. و أشارت دراسة أخرى إلى أن هناك ارتباطاً موجباً بين عدد النطف الميته وغير السوية بزيادة نسبه البروتين (Hibbitt *et al* .,1971). وقد أشار الدراجي وجماعته (Al Daragii *et al*.,2000) بان هنالك ارتباطاً موجباً بين تركيز LDH وGOT في السائل المنوي والنسبة المئوية للنطف الميتة وتزداد فعالية هذه الإنزيمات عند قلة النسبة المئوية لعيوشية النطف وهذا ما لاحظناه في دراستنا الحالية التي أظهرت حدوث زيادة في تركيز البروتين يقابله انخفاض في النسبة المئوية لعيوشية النطف بمدد الحضن المختلفة. وقد يعزا السبب في زيادة تركيز البروتين الكلي في دراستنا الحالية بزيادة مدد التحضين إلى تحرر مكونات النطف من أنزيمات إلى خارج الخلية ومن ثم زيادة تركيز هذه الإنزيمات في السائل المنوي. وقد أشارت أحدى الدراسات إلى أن النطف ربما تحرر الإنزيمات الداخله في حاله تحطم الغشاء الخلوي للنطف بوساطة النبذ السريع أو عن طريق تغير في تركيب غشاء الخليه بسبب تأثير فعل الجذور الحرة أثناء مدد الحضن مما يؤدي إلى زيادة تركيز هذه الأنزيمات في السائل المنوي (Mann,1964). وأشارت دراسة أخرى بان 53% من أنزيم LDH الموجود في السائل المنوي أصله من النطف (Eliasson *et al* .,1967).

وتشير الجداول 4-1و 4-2 عدم وجود فروق معنوية (P>0.05) في كل من تركيز النطف والنسبة المئوية للنطف غير السوية وتركيز الخلايا البيض والخلايا البلعمية لقيمها في مدد التحضين المختلفة ولكلتا المجموعتين. وهذه النتيجة ربما تعود الى أن مدد الحضن الطويلة تؤثر على الصفات النوعيه للسائل المنوي التي تشمل حركة النطف وعيوشيتها ولا تؤثر على الصفات الكميه التي تشمل عدد النطف وتركيز الخلايا البيض والخلايا البلعمية والنسبة المئوية للنطف غير السوية .

أظهرت نتائج دراسة مقارنة معدلات الانخفاض في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف والنسبة المئوية لعيوشية النطف ولمدد التحضين المختلفة بين عينات المنى لمرضى العقم والأشخاص الخصبين زيادة معنوية (P<0.05) في عينات مرضى العقم مقارنة بالأشخاص الخصبين (الأشكال 4-1 و 4-2 و 4-3) .وهذه النتيجة تتفق مع ما توصلت إليه دراسات سابقه ,فقد أشارت دراسة إلى آن معدل قلة حركة النطف الواهنة بمرور مدة التحضين تكون أكثر معنوية مقارنة بالنطف ذات الحركة التقدمية وقد يعزا السبب في ذلك إلى أن حدوث عملية الاكسده الذاتية تكون أكثر في النطف ذات الحركة البطيئة مقارنة بالنطف ذات الحركة السريعة (Engel *et al* .,1999).

كما أظهرت دراسة معدلات الارتفاع في تركيز البروتين بين عينات المني لمرضى العقم والأشخاص الخصبين زيادة معنوية (P<0.05) في عينات مرضى العقم مقارنة بالأشخاص الخصبين (شكل 4-4).وقد يعزا السبب في ذالك إلى أن النطف الواهنة بمرور مدد التحضين ربما تحرر أنزيمات من داخلها بشكل أكثر من النطف ذات الحركة السريعة . حيث أشارت أحدى الدراسات إلى أن النطف ربما تحرر الأنزيمات ألداخله فيها في حالة تحطم غشائها بفعل النبذ السريع او عن طريق تغيير في تركيب غشاء النطف بسبب تأثير فعل الجذور ألحره (Mann,1964).

2-5 :تنشيط النطف

أظهرت نتائج الجزء الثاني من الدر اسه والتي شملت تنشيط نطف مرضى العقم المصابين بوهن النطف باستخدام المستنبت الزرعي هام أف 10 لوحده مرة واستعمال نوعين من الاندروجينات وبتراكيز ثلاث مختلفة ولمدد تحضين مختلفة . لقد بينت الدراسة باستخدام تقنيه الغسل النبذ ولجميع المعاملات ولمختلف أوقات الحضن حدوث نقصا معنويا (P<0.05) في تركيز النطف مقارنة بقيمها قبل التنشيط , وهذا يتفق مع ما توصلت إليه بحوث سابقه (الحسيني ,2003 و الجراح, 2002 و الهادي, 1997) حيث أشاروا إلى أن تقنيه الغسل والنبذ تعمل على تقليل عدد النطف المسترجعة .وربما يعود السبب في انخفاض تركيز النطف إلى بقاء النطف الميتة والنطف غير المتحركة في الحبيبة النطفيه المترسبة وعدم قدرتها على الصعود إلى الجزء الأعلى من المستنبت (Cheeck *et al* .,1993). ينخفض معدل الإخصاب والحمل عند أجراء الإخصاب الخارجي عندما يكون تركيز النطف مساويا أو اقل من ثلاثة ملايين /مل. آذ أن عدد النطف المسترجعة لا تعد عاملا محددا لخصوبة الرجال آذ تقدر القابليه التخصيبيه بعدد النطف المتحركة (Smith *et al* .,1977).

تعد حركة النطف ضرورية لحدوث الإخصاب حيث ينخفض معدل الإخصاب والحمل عندما تنخفض حركه النطف (Hirsch *et al* .,1986;Hall,1981), وذلك لان معدل الإخصاب يعتمد على النطف ذات الحركة السريعة (Comhaire *et al* .,1988) . اظهرت نتائج دراستنا حدوث زيادة معنوية (P<0.05) في النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف باستخدام المستنبت الزرعي هام أف 10 لوحده وهذه النتيجة تتفق ما توصلت إليه دراسات سابقه, حيث أشار البر زنجي وجماعته (Ridha-Al barazanchi *et al* .,1998) إلى أن استعمال المستنبت هام أف10المحور المضاف إليه 20 %من المصل الأنثوي غير الفعال و10% من السائل الجريبي لتنشيط نطف مرضى العقم المصابين بوهن النطف سبب زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف مقارنه بقيمها قبل التنشيط وكذلك أدى ذلك إلى حصول نسبه حمل مقدارها 56.25%عند أجراء عمليات التلقيح الاصطناعي داخل الرحم Intrautrine insemination(IUI) .وإشارت دراسة أخرى إلى أن غسل النطف في المستنبت BWW وأجراء عمليه النبذ بقوة 600 xg لمدة 5 دقائق قد سبب زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة (Ginsburg *et al*., 1989). أن استعمال المستنبت الزرعي هام أف 10 المحور مع 20% من المصل الأنثوي غير الفعال سبب زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف (الهادي,1997). كما أشارت دراسة أخرى إلى أن غسل النطف بالمستنبت الزرعي هام أف 10واجراء عملية النبذ بقوة 2000 دورة /دقيقه لمدة

خمس دقائق سبب زيادة معنوية في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف (Blumenfeld and Nahhas,1989). ويعزى التحسن المعنوي في حركة النطف إلى استخدام المستنبت الزرعي هام أف10 عند أجراء التنشيط في الزجاج حيث يحتوي المستنبت هام أف 10على ايونات عديدة مثل الصوديوم و البايروفيت و المغنيسيوم والكالسيوم والبيكاربونات والتي تعمل كمصادر للطاقة أضافة إلى عملها على تحفيز عملية تكييف النطف Sperm Capacitation التي ينتج عنها زيادة في حركة النطف ونشاطها (AL-Taee,1994).

يعد وجود ايونات الكالسيوم ضروريا لحركة النطف حيث يلاحظ وجود علاقة طرديه بين تركيز الكالسيوم وحركة النطف, فقد لوحظ بان أضافة الكالسيوم بشكل كلوريد الكالسيوم بتركيز 1 ملي مول إلى المستنبت ألزرعي هام أف 10سبب زيادة معنوية في النسبة المئوية لحركة النطف ودرجة نشاطها مقارنه بمجموعة السيطرة, وكذلك عمل على المحافظه على حركة النطف لمدة أطول مقارنه بمجموعه السيطرة (Fakih *et al* .,1986). كما يعمل البايروفيت على زيادة طول فترة حركة النطف وعيوشيتها (Lahansteiner *et al* .,1999). أما البيكاربونات فتعمل على السيطرة على حركة النطف من خلال تنظيم مستوى cAMP داخل النطف حيث يلعب الأخير دور مهم في زيادة حركة النطف من خلال زيادة استهلاك الأوكسجين (Okamura *et al* .,1985). أن لاستخدام المصل الأنثوي الأثر الواضح في تنشيط النطف في الزجاج ,فقد أظهرت أحدى الدراسات إلى ان المكونات الستيرويديه للمصل الأنثوي تساعد على زيادة نشاط النطف من خلال زيادة معدل الايض ,كما يعمل المصل الأنثوي البشري على تقليل التأثير الموذي لعملية النبذ(Maklar and Jakobi,1981).

أشارت نتائج الدراسة الحالية حدوث انخفاضاً معنوياً في النسبة المئوية للنطف غير السوية ولمدد التحضين المختلفة مقارنة بمجموعة السيطرة, حيث يعد عدد النطف السوية احد معالم النطف المهمة لحدوث الإخصاب وربما يعود سبب انخفاض معدل الإخصاب في النطف المجمدة مقارنة بالنطف الطازجة إلى التشوهات الحاصله في راس النطفه بعد التجميد(Mahadevan and Trounson,1984). وفي دراسة حديثة وجد بان هنالك علاقة طرديه معنوية بين النسبة المئوية للنطف السوية ومعدل اختراق النطف Sperm penetration rate (Zahalsky *et al* .,2003). أن عملية الإخصاب تتطلب إنتاج نطف ناضجة ذات شكل سوي وحركة مناسبة لها القابلية على خضوعها لعملية التكيف وتفاعل الجسيم الطرفي اللازمة لاختراق اغلفة ألبيضة وان أي خلل في تلك ألقابليه يؤدي إلى حدوث عدم الخصوبة (Roudebush *et al* .,2000). كما أشارت دراسة أخرى إلى انخفاض معدل الإخصاب عند استعمال النطف ذات الشكل غير السوي باستعمال تقنيه حقن النطفه داخل السايتوبلازم(ICSI) مقارنة بمجموعة السيطرة (Gomez *et al* .,2000). وقد يعود سبب انخفاض النسبة المئوية للنطف غير السوية إلى أن النبذ بقوة عالية ولفترة طويلة نسبيا يسبب ضغطا على النطف من خلال قوة النبذ المسلطة التي عند إزالتها فان النطف السوية وذات السرعة الخطية هي فقط التي بأمكانها السباحه إلى الجزء الأعلى من المستنبت (الهادي, 1997).

أظهرت نتائج دراستنا زيادة معنوية ($P<0.05$) في النسبة المئوية لعيوشية النطف ولمدد التحضين المختلفة مقارنة بقيمها قبل التنشيط وهذا يتفق مع ما توصلت اليه دراسه سابقه, حيث أشار البر زنجي وجماعته (Ridha- Albaranzchi *et al* .,1998) إلى حدوث زيادة معنوية في النسبة المئوية لعيوشية النطف عند استعمال المستنبت هام أف10 مقارنة بقيمها قبل التنشيط ,وقد تعزا الزيادة في النسبة المئوية لعيوشية النطف إلى حقيقة مفادها إن النطف الميتة وغير المتحركة تبقى في الحبيبة النطفيه ولا تستطيع الصعود إلى الجزء الأعلى من المستنبت (Cheeck *et al* .,1993).

كما أظهرت نتائج استعمال المستنبت هام أف 10 لوحدة انخفاض معنوي في تركيز كريات الدم البيض والخلايا البلعمية وهذا يتفق مع ما توصلت إليه دراسات سابقه (الحسيني,2003 و الجراح ,2002 و الحربي,2002) حيث أشارت إلى حدوث انخفاض معنوي في تركيز كريات الدم البيض والخلايا البلعمية باستعمال تقنيه الغسل والنبذ بقوة 2000 دورة /دقيقه ولمدة خمس دقائق حيث أن لوجود كريات الدم البيض والخلايا البلعمية الأثر الموذي على معايير النطف .حيث أشار ولف وجماعته (Wolff *et al* .,1990) إلى أن معالم النطف تتردى عند وجود تراكيز عالية من كريات الدم البيض .كما توجد علاقة طردية بين عدد كريات الدم البيض الحبيبة وتركيز النطف عندما يكون عدد كريات الدم البيض الحبيبة 2 مليون خليه/مل من السائل المنوي (Yanuskpolsky *et al* .,1996). وربما يرجع السبب في انخفاض تركيز

كريات الدم البيض والخلايا البلعمية باستعمال تقنيه الغسل والنبذ إلى أن هذه الخلايا لا تمتلك القدرة على السباحه إلى الأعلى بعد أجراء عملية النبذ, كما ان النبذ قد يودي إلى إخلال الضغط التنافذي داخل خلية كريات الدم البيض وبالتالي يمنع فعاليتها. لم تلاحظ أي فروق معنوية في النسبة المئوية للنطف غير السوية والنسبة المئوية لعيوشية النطف وتركيز كريات الدم البيض والخلايا البلعميه عند المقارنه بين فترات التحضين المختلفة في حالة استعمال المستنبت الزرعي هام أف 10 لوحده .

أشارت نتائج الدراسة الحالية أن مدة التحضين ساعة واحدة أظهرت زيادة معنوية ($P<0.05$) في النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف مقارنة بفترات التحضين المختلفة, وهذه النتيجة تتفق مع ما توصلت إليه دراسة سابقه ,فقد أشار البرزنجي وجماعته (Ridha-Albaraznchi *et al* .,1998) إلى أن تحضين النطف في المستنبت هام أف 10لمدة ساعة سبب زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجه نشاط النطف ويفسر ذلك على أن التحضين لفترة ساعة كافيه للاستحثاث عملية فرط النشاط عند النطف . بينما لوحظ انخفاض معنوي ($P<0.05$) في النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف عند مدة تحضين ساعتين وهذا الانخفاض يزداد بزيادة مدة التحضين, وهذه النتيجة تتفق مع ما توصلت إليه دراسة سابقه التي أشارت إلى حدوث انخفاض معنوي في النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف عند تحضين النطف في المستنبت هام أف 10بعد ساعتين من التحضين مقارنة بمدة التحضين ساعة . وربما يعود السبب على استهلاك المواد الغذائية الموجودة في المستنبت الزرعي من قبل النطف والذي يزداد بزيادة مدة التحضين (Logoglu *et al* .,1996).

أظهرت نتائج الدر اسه الحالية إن استعمال السيستانون والديكافينون بتراكيزها المتباينة مع المستنبت الزرعي هام أف10سبب زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف ولمدد التحضين المختلفة مقارنة بمجموعه السيطرة (استعمال المستنبت الزرعي لوحدة)(الجداول 4-3 و 4-4 و 4-5 و 4-6 و 4-7 و 4-8 و 4-9 و 4-10) , هذه النتيجة تتفق مع ما توصلت إليه دراسة سابقه ,فقد أشار العالم سلاو (Sliwa,1995) إلى آن أضافة هرمون الشحمون الخصوي Testosterone بالتراكيز 1 و10 و100 مايكرومول/مل الى المستنبت الزرعي BWW المستعمل لتنشيط النطف سبب زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف مقارنة بمجموعة السيطرة .

أن للهرمونات الستروييديه نوعين من الفعل الفسيولوجي في النسيج الهدف وهو أما آن يكون معتمدا على مستقبلات جينيه Genomic recepters يمتاز فعل الهرمونات في هذه الحالة بكونه بطئ التأثير وهذا الفعل يؤدي إلى التأثير في المستقبلات الاستروجنيه والاندروجنيه الموجودة (Androgen recepters,Esrogen recepters)في سايتوبلازم الخليه وهذا بدوره يحث مستقبلات في نواة الخليه على عملية الاستنساخ transcription والترجمة translation وتصنيع البروتين (Falkenstein *et al* 2000.,).إن هذا الفعل مستبعد عند اضافة الاندروجينات مع المستنبت الزرعي في الدر اسه الحالية لخلايا النطف وذلك باعتبار أن النطفه الناضجة تفتقر لجهاز RNA Apparatus اللازم لتصنيع البروتين (Page *et al* .,1981). أو قد يكون الفعل معتمدا على مستقبلات غير جينيه Nongenomic recepters ويمتاز فعل الهورمونات في هذه الحالة بكونه سريع التأثير ويتمثل هذا الفعل في استحثاث سريع في تحويل أشارة الرسول الثانوي والذي يشمل زيادة في الكالسيوم الداخلي الحر وتنشيط بروتين كاينيز A (PKA) وبروتين كاينيز C (PKC). إن الرسول الثانوي المستحث بوساطة الفعل الستيرويدي غير الجيني Nongenomic steroids effect يكون غير حساس لمثبطات الاستنساخ والترجمة (Falkenstein *et al* .,2000) .

أن الستيرويدات قد تؤثر من خلال الفعل غير الجيني على الخلايا المختلفة حتى في حالة غياب المستقبلات وذلك عن طريق كون السيترويدات (مثل هرمون الشحمون الخصوي) مواد محبه للدهون Lipophilic قد تتفاعل مع الرأس القطبي للدهون المفسفرة الموجودة في الغشاء الخلوي ومن ثم تؤثر في عملية اماعية الغشاء وهذا بدورة يؤدي إلى إمكانية دخول الايونات من خارج الخليه (Duval *et al* .,1983). حيث أن دخول الايونات كالبوتاسيوم و الكالسيوم مهم لعملية تكييف النطف (Zaneveld *et al* .,1991).

وفي دراسة حول تأثير الاندروجين على مستوى الكالسيوم الداخلي, لوحظ أنه عند اضافة الاندروجين الى المستنبت الزرعي الخاص بنمو الخلايا المنتجه للعظم في ذكور الجرذان سبب زيادة سريعة في مستوى

الكالسيوم الداخلي للخلايا المعامله ,كذلك أثر على ايض الدهون المفسفرة في غشاء الخليه المنتجه للعظم في ذكور الجرذان. وقد يكون التأثير على الدهون المفسفرة عن طريق زيادة سريعة في المحتوى الداخلي للـ (Inositol triphosphate(IP3 و Diacylglycerol(DAG) المتكونة في الخلايا المنتجه للعظم والتي بدورها تؤدي إلى زيادة تحرير الكالسيوم الداخلي بوساطة IP3 الضروري لتحويل ATPإلىcAMP (Lieberherr and Grosse,1994).

أن البلازما المنوية غنية بمركب كاربوهيدراتي يعرف Inositol الذي يتكون داخل النبيبات المنوية وينتقل عبر الشبكه الخصويه Rete testis إلى البروستات ويرتبط بالنطف اثناء القذف ليكون Inositol lipid الذي يعد احد مكونات الغشاء الخلوي (Lewin and Beer,1973). أن الحالة المفسفرة لهذا المركب المتمثله بالانوستيول ثلاثي الفوسفات Inositol triphosphate(IP3) يعمل على تحرير الكالسيوم المخزون والضروري لتحفيز Adenyle cyclase لتحويل ATP إلىcAMP الذي يحفز بروتين كاينيز A المسؤول على فسفرة البروتين (Baldi *et al* .,2000). وقد توصل العالمين هو و سوراز (Ho and Suarez,2001) إلى أن اضافة Thapsigargin إلى نطف الثور المحضنه أدى إلى تحرير الكالسيوم الداخلي المخزون الذي كان كافيا لبدء الحركة ذات النشاط المفرط للنطف, وتبدآ الزيادة بالكالسيوم من منطقه العنق للنطف الناضجة, حيث يوجد مستقبل IP3 وعند ذلك الموقع تبدآ ضربة السوط ,مشيرا إلى إشراك مستقبل IP3 في تنظيم الحركة ذات النشاط المفرط للنطف.

أن الاندروجين قد يرتبط بمستقبلات خاصة تعرفG-Protein Couple (Heinlein and Chang,2002) والتي تتداخل مع عمل Phospholipase C , حيث أشارت أحدى الدراسات إلى أن تثبيط Phosphlipase C يؤدي إلى غلق الاستجابة السريعة للاندروجين المضاف إلى المستنبت الزرعي وهذا يقترح بأن الاندروجين يؤثر عن طريق مستقبل Phospholipase C (Lieberher rand Grosse,1994). وقد يعمل هرمون الشحمون الخصوي على زيادة مستوى cAMP داخل النطف عن طريق التأثير على المستقبلات الاندروجينيه Sex Hormone Binding Globulin (SHBG recepter(الموجودة في غشاء الخليه(Benten *et al* .,1999), حيث يكمن دور cAMP في زيادة استهلاك الكلوكوز بعملية التحلل السكري ودورة كريس وما ينتج عنه زيادة في إنتاج الطاقة وبالتالي تحسن حركة النطف (Hicks *et al* .,1972). كما قد يعمل هرمون الشحمون الخصوي على التقليل من عملية تصنيع الكولسترول الموجود في غشاء الخليه عن طريق تثبيط بعض الأنزيمات الخاصة بتصنيع الكولستيرول (Ramachandran *et al* .,1978). وربما يعمل هذا التقليل على خفض مستوى الكولستيرول في غشاء الخليه والذي يعتبر عامل مهم في تسريع عملية تكييف النطف .

أظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود فروق معنوية في قيم النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاطها بين التراكيز المختلفة للسيستانون المضافة مع المستنبت الزرعي هام أف 10 ولمدد التحضين المختلفة. بينت (الجداول 4-3 و4-4 و4-5 و4-6) أن أضافة التركيز 1 ملغم/مل من السيستانون مع المستنبت الزرعي هام أف 10سبب زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف مقارنة بالتراكيز الأخرى ولجميع فترات التحضين وربما تفسر هذه النتيجة على أن السيستانون هو عبارة عن هرمون الشحمون الخصوي الذي يكون فعالا عند التراكيز الواطئه ومن المعروف أن الهرمونات تكون ذات تأثير فعال عند التراكيز الواطئه مقارنه بالتراكيز العاليه.

كما اظهرت (الجداول 4-7 و4-8 و4-9 و4-10) أن أضافه التركيز 2 ملغم/مل من الديكافينون مع المستنبت الزرعي هام أف 10 سبب زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف مقارنة بالتراكيز الأخرى ولفترات التحضين المدروسه. هذه النتيجة ربما تفسر على أساس اختلاف التركيب الكيميائي للديكافينون عن السيستانون حيث يتكون الديكافينون من أكثر من مادة كيميائيه تشترك في الفعل الاندروجيني.

وعند مقارنة النسبة المئوية للنطف المتحركه ودرجة نشاط النطف لفترات التحضين المختلفة عند استعمال التراكيز المختلفة من السيستانون المضاف للمستنبت الزرعي هام أف 10 , لوحظ أن مدة التحضين ساعة واحدة سببت زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة مقارنة بفترات التحضين الأخرى عند استعمال التركيز 1ملغم/مل من السيستانون المضاف إلى المستنبت الزرعي هام أف 10(شكل 4-7). في حين

اظهر (الشكل 4-8) أن مدتي التحضين ساعة وساعتين سببت زيادة معنوية في درجة نشاط النطف مقارنة بفترات التحضين الأخرى عند استعمال نفس التركيز المذكور أعلاه. أن مدة التحضين ساعة واحدة سببت زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف مقارنة بفترات التحضين الأخرى عند استعمال التركيز 2 ملغم/مل من السيستا نون المضاف إلى المستنبت الزرعي هام أف 10(شكل 4-9 و4-10) , كما وبينت الأشكال 4-11 و4-12 أن مدة التحضين ساعة واحده سببت زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركه ودرجة نشاط النطف مقارنة بفترات التحضين الأخرى عند استخدام التركيز 3 ملغم/مل من السيستانون المضاف إلى المستنبت الزرعي هام أف 10.

وعند مقارنه النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف لفترات التحضين المختلفة عند استعمال التراكيز المختلفة من الديكافينون المضاف إلى المستنبت الزرعي هام اف10 , لوحظ أن مدة التحضين ساعة واحدة سببت زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف مقارنه بفترات التحضين المختلفة عند استعمال التركيز 1 ملغم/مل من الديكافينون المضاف إلى المستنبت الزرعي هام أف 10(شكل 4-13 و 4-14). اظهرت الأشكال 4-15 و4-16 و4-17 و4-18 بان مدة التحضين ساعة واحدة سببت زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف مقارنة بفترات التحضين المختلفة عند استعمال التراكيز2 ملغم/مل و3 ملغم/مل من الديكافينون المضاف إلى المستنبت الزرعي هام أف 10 وبالتعاقب. وهذه النتائج تتفق مع ما توصلت إليه دراسات سابقه, فقد أشارت أحدى الدراسات إلى ان إضافة هرمون الشحمون الخصوي بتراكيز من 5-200 نانو مولاري الى المستنبت الزرعي الحاوي على خلايا عضلية هيكليه أدى وبعد الاضافه ب60 دقيقه إلى أقصى زيادة معنوية لمحتوى IP3 والذي بدورة أدى الى تحرير الكالسيوم من الشبكه الاندوبلازميه عن طريق قنوات خاصة ,كما ان هنالك علاقة موجبه بين مستوى الكالسيوم الداخلي ومستوى IP3 (Estruda *et al* .,2000).

وربما يعزى سبب كون مدة التحضين ساعة واحدة هي الافضل من بين فترات التحضين في الدر اسه الحالية على أنها قد تكون كافيه لإظهار فعل الاندروجين لاستحثاث زيادة معنوية في محتوى IP3 الذي بدوره يؤدي إلى تحرير الكالسيوم الداخلي, حيث ان الأخير مهم لتحفيز أنزيم Adenyle cyclase الذي يعمل على تحويل ATPإلى cAMP المهم في تحسين حركه النطف. وعند مقارنه استعمال التراكيز المثلى وفترات التحضين المثلى للنوعين من الاندروجين يظهر الشكل 4-19- و4-20 عدم وجود فروق معنوية بين النوعين من الاندروجينات فيما يتعلق بالنسبة المئوية للنطف المتحركة وهذه النتيجة ربما تعزى الى ان النوعين من الاندروجين يعملان على تحسين حركة النطف بنفس الطريقه.

لم تظهر اية فروق معنوية في تركيز النطف المسترجعة والنسبة المئوية للنطف غير السوية والنسبة المئوية لعيوشية النطف وتركيز كريات الدم البيض والخلايا البلعمية عند المقارنه بين التراكيز المختلفة لكل من السيستا نون والديكافينون ولفترات التحضين المختلفة , وربما يرجع السبب في ذلك إلى أن التقنيه المستعملة في تنشيط عينات السائل المنوي في الزجاج واحدة وهي تقنيه الغسل والنبذ فاختلاف التراكيز يؤثر في نشاط النطف فقط.

الاستنتاجات:أظهرت هذه الدراسة عدة استنتاجات مهمة يمكن أجمالها بماياتي:.

1. انخفاض معنوي في النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف والنسبة المئوية لعيوشية النطف لعينات السائل لمرضى العقم المصابين بوهن النطف والأشخاص الخصبين بزيادة فترات التحضين .
2. زيادة معنوية في التركيز الكلي للبروتين في السائل المنوي لعينات مرضى العقم المصابين بوهن النطف والأشخاص الخصيبين بزيادة فترات التحضين.
3. أن التركيز 1 ملغم/مل من السيستانون هو الأفضل مقارنه مع التركيزين الأخرين حيث اظهر هذا التركيز تأثيرا واضحا في تنشيط النطف مقارنه مع النطف غير المعاملة.

4. أن التركيز 2 ملغم/مل من الديكافينون هو الأفضل مقارنه مع التركيزين الأخرين حيث اظهر هذا التركيز تأثيرا واضحا في تنشيط النطف مقارنه مع النطف غير المعاملة.
5. مدة التحضين ساعة واحدة أفضل مدة للإعطاء زيادة معنوية في النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف مقارنة بمدد التحضين الأخرى نصف ساعة وساعتين وثلاث ساعات عند استخدام كلا النوعين من الاندروجين مع المستنبت الزرعي هام أف 10 .

التوصيات :من خلال هذه الدراسة يمكن التوصية بما ياتي:.

1. دراسة تأثير فترات التحضين المختلفة للنطف البشرية على مستوى الأنزيمات المختلفة في السائل المنوي .
2. دراسة تأثير فترات التحضين المختلفة للنطف البشرية على مستوى الجذور الحره وسعة مضادات الأكسدة Antioxidant Capacity وعلاقة ذلك بحركة النطف .
3. استعمال التراكيز المثلى لكل من السيستانون والديكافينون والمبينة أعلاه في عمليات التلقيح الاصطناعي لمعرفه تأثير ذلك في معدلات الإخصاب والحمل.
4. دراسة تأثير استعمال بعض هرمونات الغدة الكظرية (القشريات الكلوكوزيه, والقشريات المعدنية) في تنشيط النطف البشرية في الزجاج.

المصادر Refreneces

المصادرباللغة 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 .

الحربي ، نهى يعرب محسن (2002) . دراسة لمقارنة تقنيات تنشيط النطف في الزجاج لمرضى العقم المصابين بقلة ووهن النطف . رسالة ماجستير ، كلية العلوم, جامعة بابل .

الحسيني ، بتول إبراهيم حسين(2003) . دراسة تأثير بعض المواد في تنشيط النطف البشرية . رسالة ماجستير ، كلية العلوم ، جامعة بابل .

السعد,مها روؤف والزبيدي,طارق,(1989).علم المناعه,جامعة بغداد,الطبعة الثانية, منقحة و محدثة.

عشير , عبد الرحيم والعلوجي,صباح ناصر, (1991).علم الغدد الصم والتكاثر ,مطبعة دار الحكمة,جامعة الموصل.

الراوي ، خاشع محمود (2000) ، مدخل إلى الإحصاء ، الطبعة الثانية ، كلية الزراعة والغابات . جامعة الموصل .

كايتون (1997). الفسيولوجيا الطبية و الفسيولوجيا المرضية ، العدد الثالث ، ترجمة حسان احمد قيحة ، المركز التقني المعاصر ، ابن النفيس .

محي الدين ,خير الدين و يوسف ، وليد حميد وتوحله ، سعد حسين (1990). فسلجة الغدد الصم والتكاثر في الثدييات والطيور ، دار الحكمة للطباعة والنشر، جامعة الموصل .

الهادي ، فارس ناجي عبود (1993). تأثير بعض مضادات الاندروجين من مراحل عملية نشأة النطفة في ذكور الفئران البيض . المجلة الطبية البيطرية العراقية ، 17 ,403-410

الهادي , فارس ناجي عبود (1997) ، استخدام التقنية التطبيقية المزدوجة في تنشيط نطف لمرضى المصابين بوهن النطف في الزجاج ، رسالة دكتوراه ، كلية العلوم ، جامعة بغداد .

.

المصادر باللغة الإنكليزية

Abou-Shakra ,F.R. ;Ward , N. I and Everand,D .M. (1989).The role of trace element in male in fertility .Fertil. Steril ;52 : 307-310.

Acosta , A. A . ; Oehninger , S.; Morshedi , M. ; Swanson, R . J. ;Scott , R . and Irvianni , F . (1988). Assisted reproduction in the diagnosis and treatment of the male facter . Obstet &Gynecol Survey : 1-18

Aiman , J. ; Mcasey , M . and 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 ; D.; Richardson , D . W.;Schats , R . and Simm,G.(1983).Infiuence of caffeine on movement characteristics fertilizing capacity and ability to penetrate cervical mucus of Human spermatozoa . J . Reprod . Fertil ; 67 : 19 -27

AL – Daragii , H . J . ; AL .Thari , A.K. ; and Al . Mashaadani , E . H . (2000) . Effect of ascorbic acid Supplementation on Semen characteristics of fawbra broiler breeder males reared under hot climate . Iraqi J . Agricul .Science ; 31 (3) : 343-352

AL – Daragii , H . J . ; AL . Tikriti , B . T .O. ; AL. Rawi ; A.A. .(2002). Study of the Semen traits of Indigenous Roosters reared during Summer months . Iraqi J Agricul . science; 33 (2) : 223 -228

Al – Hady , F.N.A. (1999) . Use of human Follicular Fluid For in vitro Sperm activation of infertile patients . accepted for publication ; Journal of Babylon University .

Al – Taee, H A . J . (1994) . Sperm activation and intrautrine insemination : The effect of serum concentrations and culture media on sperm activation potential in vitro , Msc . Thesis , college of science , Baghadad University .

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

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

Aultitzky ,W.; Galvan ,G. (1988). Pulsable luteinzing hormone treatment of male by gandotrophic hypogandosim .Fertil.Steril;50:480-486.

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

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

Bendvold , E. ; Svanborg , K. ; Eneroth , P. ; Gottlieb, G . and Bygdemam , M. (1984) . The nature variations in prostaglandin concentration in human seminal fluid and its relation to sperm quality . Fertil . Steril ; 41 : 743 -747.

Benten , W . P . M .; Lieberherr , M.; Giese, G . ; Wrehlke , C. ; Stamm , G. ; Sekeris , C . F . ; Mossmaun , H . ; Wnnderlich, F . (1999) .Functional Testosterone recepters in plasma membrane of T cell . FASEPJ; 13 :123 -133.

Bhardwaj,M .; Verma , A. ; Majumdor , J. ; Khanduja , k . L .(2000). Status of Vitamine E and reduced glutathione in semen of oligospermia & azoospenmia .Asian .J. Androl ;2 :225 -228 .

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

Blakmore , P .F. ; Beebe, S. J. ; Danferth , O. R and Alexander , N . (1990). Progestrone and 17 hydroxy - Progesstrone : Novel Stimulation of calcium influx in hunan sperm . J. Biol . Chem;265: 1376 – 1380 .

Blackwell,J.and Zaneveld ,L.J.D.(1992).Effect of abstinence on sperm acrosin ,hyposmatic swelling and other semen variables.Fertil.Steril;58:798-802 .

Bleau, G. ; Lamarbre , G. ; Fauchor , G .; Roberts , K. D.and Chapdelaine , A. (1984). Semen selenium and human fertility .Fertil.Steril ; 42 :890 – 894 .

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

Bracken , M . B . ; Eskenazi ; B . ; Sachse ; K . ; Mcsharry , J. ; Hellenbrand , K .and Lea – Summers , L . (1990). Association of cocaine use with sperm comcentration , motility and morphology. Fertil. Steril ; 53:315 -122.

Calamera , J . C . ; Femandez , P. J . ; Buffon , M . G . ; Acosta, A.A.; Doncel ,G.F. (2001) . Effeet of long term in vitro incubation of human spermatozoa :Functional parameters and catalase effects. Andrologia ; 33(2): 779 – 783 .

Calogero,A.E.;Fishel,S.;Hall,J.;Ferrara,E.;Vicari,E.;Green,S.;Hunter,A.;Burrello,N.;Thornton,S.and Agata,R.(1998). Correlation between intraceullar cAMP content kinematic parameters and hyperactivation of human spermatozoa after incubation with penoxifylline.Human Reproduction ;13:911-915.

Celis , R . D. ; Velasco, P. F. ; Unzage , M. G. ; Calleja , J. T . and Nuervo , N. P. (2000) . Semen quality of worker occupation exposed to hydrocarbones. Fertil .Steril ; 73:221-228 .

Centola , J. M . and Erberly , S. (1999) . Seasonal variations and age related change in human Sperm count , motility , motion parameters , morphology and white blood cell concentration.Fertil . Steril ; 72 : 803 – 808 .

Chan , S.Y. W.;Tang,L .C .H.and Ma, H.K.(1983) . Stimulation of human Spermatozoal fertilizing ability By Dibutyryl 3,5-cAMP and Theophyline in vilro . Archive of Andrology ; 11:19-23.

Chan, S.Y. W.; Tang, L.C.H.; Toang , G.W.K . and Ma , H. K . (1984). Relationship of Seminal Plasma Prolactin with

spermatozoal charaeteristics and fertilizing capacity in vitro. Archive of Andrology; 12:17-24 .

Chan,S.Y.W.;Wang,C.C.L.;Tang,L.C.H.(1985). Effect of clomiphene citrate on human spermatozoal motility and fertilizing capacity in vitro.Fertil.Steril;43:773-776.

Cheeck , J.M. ; Zovas , P . M . ; Katsoff, D. and Kiefer , D . (1993) .Effect of percoll discontinous density gradient via saphadexG.Sco gel filteration in sperm (medline) Tohoku . J. Exp.mead;169: 225-231.

Chen , D .; Scobey , M.J.; Jeyendran , R .J. (1995) .Effect of urine on the function and quality of hunan spermatozoa. Fertil . Steril;64: 1216 -1219.

Chenette, P.E.; Siegel, M.S.; Vermesh,M.and 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).

Chia ,S .E .; Ong, S. N.; Chua , L H,; Ho, L. M.and Tay, S.K. (2000) . Comparsion of zinc concentration in blood & seminal Plasma and various sperm parameters between fertile and infertile men . J . of Androl; 21 : 53-57.

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

Comhaire , F . H . ; Hereulen , L . ; Hinting , A. and Schoojans , F .(1988) . Accuarcy of sperm characteristics in predicting the IVF capacity of semen . J . Vitro . Embyo . Transfer ; 5: 326-331.

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

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

Dugan , K.J.; Shalika , S.; Smith , R.D. and Padilla , S.L. (1997).Comparsion of synthetic serum substitute and fetal cord serumas media supplements for in vitro fertilization: aprospective ,randomized study . Fertil . Steril; 67 : 166 – 168 .

Duval ,D. ; Durant ,S.and Delarche , F.H. (1983). Nongernomic effects of steroids : Interaction of steroids molecules with membrane structure and functions . Biochem Biophys . Acta ; :409 – 442 .

Eiss , M.; Schieferstein , G. and Wahi , R . (2000) . Oxalate in hunan Seminal Plasma : possible signifcants and Problem of determination . Fertil . Steril ; 73 : 961 – 966

Eliasson , R .; Haggman , K . ; Wikund; B.(1967). Lactic dehydrogenase in human seminal plasma .Scand . J.Clin . lab.Invest .(Abst.).

Engel , S.; Schreiner , Ih. and Petzoldt , R . (1999) . Lipid peroxidation in human spermatozoa and maintaince of progression sperm motilily. Andrologia ; 31 (1) : 17 -25 .

Estruda, M.; Liberona , J.L.; Miranda , M . and Jaimovich , E.(2000). Aldosterone and Testosterone medialed intraellular Calcium response in skeleted muscle cells culture . Am. J. Physiol Endocrinol. Metab; 279: 122 – 139 .

Fabbri , R,; Porcu , E.; Lenzi ,A.;Gandini, L.; Marsella , T.and Flamigni , C.(1998). Follicutar fluid and human granulose Cell cultures : influence on sperm kinetic Parameters , hyperactivation and acrosome reaction. Fertil .Steril ; 69 :112 – 117.

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

Fair , W.;.Cllark , R .B. and Wehner , N.(1972). Acorrelation of seminal polyamine levels and semen analysis in the human. Fertil. Steril ; 32: 38- 42

Falkenstein,E.; Tillaann , H.C.; Christ , M .; Feuring , M.; Lwehling , M. (2000) . Muttiple actions of Steroids hormones afocus on rapid , nongenomic effect . Pharamocol . Rev; 52 : 513 -555 .

Feichtinger ,W.;Kemeter,P.;and Menezo,Y.(1986).The use of synthetic culture media and serum for human in vitro.J.Vitro.Fert.Embyro transfer;3:87-92.

Foresta , C.; Bettella , A.; Ferlin , A . and Rossato , M. (1998) . Evidance for astimulatory role of follicle – Stimulating hormone on the sprmatogonial population in adult males . Fertil . Steril; 69 : 636 – 642.

Frachimont , P.;Hazee – Higelstein , M.T.; Hazant , A.;Fryd man,R .; Schatz , P. and Dermerli , F. (1989). Crrelation between Follicular fluid content and the result of in vitro Fertilization and embryo transfer – 1 – sex Steroid . Fertil . Steril ; 53 : 1006 - 1011.

Gandini, L.;Lonbardo, F.;Lenzi , A.;Culassa ,; F.; Pacifci , R .; Zuccara , P.; Dondero , F. (1997). The in vitro effects of nicotine and cotinine on sperm motility . Human Reproduction ; (Abst.)

Ganong , W.F.(1989). The gonads:developmet and Function of the reproductive system In : Review of Medical Physiology . Jack and Lange , D. (eds) . Fourteenth Edition , San Francisco , Prentice Hall Interrntional Inc.

Ganong , W.F.(1995) . Review of medical Physiology . 17(ed) . Appletone & Longe, USA.

Garner, D.L. and Hafez , E.S.E.(1980).Spermatozoa .In:Reproduction in Farm Animal. Hafez,E.S.E.(ed) fourth Edition ,Lea and febiger, Phildelphia.page:189-201.

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

Ginsburg , K.A.; Sacco , A.G.; Moghissi , K.S.;and Sorovetz , S. (1989). Variations of movement characteristics with statistical analysis and deteetion of sperm hyperactivation . Fertil .Steril ; 51 :869 – 873.

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

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

Gregoire , A.T. and Moran,M.J.(1973). The Enzyme activating , protein and fructose content of normal , oligospermia , postvesectomgand infertile Azoospermia men . Fertil . Steril ;24 (3) : 208 – 211 .

Gross,K.M.;Matsumoto,A.M.;Berger,R.E and Bremner,W.J. (1986). Increased frequency of pulsatile luteinizing hormone –relasing hormone adiministration selectively deceased follicle –stimulatig hormone level in men with idiopathic azoospermia.Fertil.Steril; 45:392-396.

Gwathmey,T.;Blacknor, P.F.and Mahony,M.C(2000). Progestrone induced calcium influx in Cynomolgus Monkey (Macacafa Scicalaris) Spermatozoa . J. Androl ; 21: 534-540.

Hall , J.L. (1981). Relationship between sperm quality and sperm penetration of zona free hamster ova . Fertil . Steril;35 : 457 – 463 .

Handelsman , D. J.; Wishart , S. and Cenway, A.J.(2000) . Oestradiol enhance testosterone – indued suppression of human spermatogensis . Human Reproduction ; 15 :672 – 679

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

Hass, G.C.and.Beer,A.E.(1986). Immunological influence on reproductive biology : Sperm gametogensis and maturation in the male and female genital tracts .Fertil . Steril; 46 :753 – 766 .

Heinlein, C A.. and Chang, C.(2002). The role of Andgen Recepters and Androgen Binding Proteins in Nongenmic Androgen Actions . Molecular Endocrinology ;16 (10) : 2181 – 2187 .

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

Herrmann, W.P.; Herrmann ,G.(1969).Chromtographische franktion ierungund Immunologische Analyse von Menschlichen spermatplasm.Arch.khin.Exp.Dermatol;243:100.cited by:Kzeer, D.C.(1990).

Hibbitt , K.G.and Benians , M.; (1971). Some effects in vivo of thteat Canal and effects in vitro of cutionic proteins on staphylococci . J.Gen.microb. ; 86 :123 -128.(Abst.).

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

Hiniting ,A.(1989).Methods of semen analysis In :Assement 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.and Findleg , W.E. (1986). In vitro ferrilization in couples with male factor infertility . Fertil .Steril; 45 :659 – 664 .

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

Hononnai, Z.; Matzkin, H.;Faiman , M.; Pas,G. and Kraicer, P. (1978). The cation conposition of the seminal plasma and prostatic fluid and its correlation to cemen quality . Fertil.Steril ; 29 : 539 – 542 .

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

Hoshi , k . ; Yanaigde , K.; Yoshimastu ,M. and Sato , A. (1990) . Variation in the cholesterol / Phospholipid ratio in human

spermatozoa and its relation with capacitation . Human . Reproduction ; 5: 71 – 74.

Hovt , N.; Bertheussen , K.; Forsdahl , F.; Hakonsen , M.R .;Honsen , L.j.and Nielsen , H.I.(1990). Optimization and Supplementation of culture condition in human IVF and preembryo replacement by serum –free .J.IVF-ET;7:47-53.

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

John , J.C.S.; Sakkas, D.; Barratt , C.Z.R .(2000) . Role of mitochondrial DNA and sperm survival . J. Androl;21 (2) : 159 – 198.

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

Kardan , W. and Strzezek , J. ; (2002). Effect of platelet activating Facter on motility parameters and plasmalemma integrity of boar Spermatozoa . Amel. Science . Papares & report; 20:37 – 45 .

Kasai, T.J.; Ogawa , K.; Mizuno, K.; Nagea ,S.; Uchida , y.; Ohta, S.; Fujie , M.; Suzuki ,K.; Hirata, S.; Hoshi, K. (2002). Relationship between sperm mitochondrial membrane potential , sperm motility and fertility potential. Asian J Androl ;4 :97 – 103 .

Khanduja, K. L.;Verma , A. and Bhardwaj , A.(2001). Impairment of human sperm motility and viability by quercetin is independant of lipid peroxidation ; Andrologia (Abst.).

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

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

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

Kodama . H.; Yamaguchi , R .; FuKuda , J.; Kasai , H. and Tanaka,T. (1997). Increased oxidative deoxyribonucleic acid damage In the spermatozoa of infertile male patiemts . Fertil . Steril ; 68 : 519 –524 .

Kranse , W. (1988). Concentration of esteradiol in serum and testis In patients with fertility disorders . Fertil . Steril; 49 : 926 – 927.

Kurpisz , .M .; Miesel , R .; Sanocka , D. and Jedrzejc , Z. (1996) .Seminal plasma can be predictive facter for male infertiliy . Human Reproduction ; 11 :223 – 1226.

:Kzeer,D.C.(1990).Some biochemical change in human seminal fluid in relation to sperm counts.Msc.Thesis,Colleg Medicine ,University of Baghdad.

Lahnsteiner , F. ; Berger , B. ; Weismann , T . (1999) . Sperm metabolism of the telost fishes Chalcaburnus Chalcaoides and Oncarhynchus mykiss and its relation to motility and Viability .J. Exper. Zoology ; 284(4) : 454 – 465 .

Lavy , G. ; Boyers , S.P. and Decherney , A .H .(1988) . Hyaluronidase removal of the cumulus oophorous increase invitro fertilization .J .IVF-ET; 5 : 257 – 260 .

Lessing , J.B. ; Breaner , S.H. ; Schoenfeld , C. ; Goldsmith ,L.T. and Amelar , R.D. ; Dnbin , L. and Weiss , G. (1985) . The Effect of relaxin on the motility of sperm in freshly thawed human semen . Fretil . Steril ; 44 : 406 – 409 .

Lewin , L . M . and Beer , R . (1973) . Prostatic Secretion as the source of myoinositol in human seminal fluid .Fertil. Steril ; 24:666 – 670 .

Lewis , D.J. ; Aird , I.A. ; Bilijan , M.M .and Kingsland , C.R. (1996) . Effect of sperm activating on Zinc and fructose Concentration in seminal Plasma . Human Reprod ; 11 : 2465 – 2467.

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

Lieberherr , M and Grosse , B. (1994) . Androgen Increase Intracellular Calcium concentration and Inositol 1,4,5-triphosphate and diacylgycerol a via pertussis T in – sensitive G- protein . J Biological Chemistry ; 269 : 7217 – 7223 .

Logoglu , C. ,Kendirci , A ; Ilday , C. , (1996) . Melationn Exerts stimulatory effects on human sperm motility , in vitro,J.of Islamic Academy of science ; 9 :no (1) from internet .

Lundquist , F. (1949) . Aspect of Biochemical of human semen .Acta . physiol .scand ; 19 (Suppl66) . cited by:Kzeer,D.C.(1990).

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 .

Mahadevan ,M.M. ; Miller , M.M . and Montos , D.M. (1997) . Absence of glucose decrease human fertilization sperm movement characferistics in vitro . Human Reporduction; 12 : 119 – 123 .

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

Mandel,A.;Bhattacharyga,A.k.(1985).Studies on the coagulational characteristics of human ejaculates.Andrologia;17:80-86.

Mann , T. (1964) . The Biochemistry of semen and the male reproductive tract. physiol.Rev ; 31:27 – 31. cited by :Kzeer,D.C.(1990).

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

Matzkin , H. ; Homonnai ,Z.T. ; Galiani , D. ; Paz , C. and Dekel , N. (1990) . Serum bioactive and immunorcactive 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. and Dandekar , P.V. (1990) Optimizing the sperm penetration assay with human follicular fluid . Fertil. Steril ; 53 : 546 – 550 .

Minhas , R.S. and Ripps , B.A. (1996) . Methods for Ehancement of sperm function . frontiers in Bioscience ; 1 : 65 – 71.

Mortimer , D. ; Leslie , E.E. ; Kelly , R . ; and Templeton , A.A. (1982) . Morphologic selection of human sperm in vivo and in vitro . J. Repord . Fertil ; 64 : 391 – 399 .

NAFA and ESHRE-SIGA(2002) Manual on basic semen analysis .semen analysis –overview ,Nordic Association for Andrology,President Morita Rasanen(NAFA).www.Ki/Se/org/nafa. European society of human reproduction &Embrology (ESHRE).;Special interest group on Andrology (SIGA).www.eshre.com

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

Nun,S.;Muscacchio,I.and Epstein,J.A.(1972).Variations in seminal plasma constituents from fertile ,subfertile and vasectomized azoospermic men.Fertil.Steril.;23:357-360.

Okamura , N. ; Tajina ,Y. ; Soejina ,A. ; Masuda , H. and Sugita , Y. (1985) . Sodium bicarbonate in seminal plasma stimulate the motility of Mammalian spermatozoa through direct activation of adenylate cyclase .J.Biological Chemistry;260:9699-9705

Oliva , R. ; Margarit , E . ; Bullesca , J. ; Carrio , A. ; Sanchez , A. ; Mila , M . ; Jimenez , L . ; Alvarez – Vijande , J . and Ballesta , F.

(1998) . PrevaIence of Y chromosome microdeletion in oligospermic and azoospermic candidates for intracytoplasmic sperm injection . Fertil . Steril ; 70 : 506 – 510 .

Olmsted , S.S. ; Dubin , N.H ; Cone , R.A and Moench , T.R. (2000) . The rate at which human sperm are immobilized are killed by mild acidity .Fertil . Steril ; 75 : 687 – 693 .

Orlando , C. ; Caldini , A.L. ; Barni , T. ; Wood , W.G. ; Starasburger , C.J. ; Natali , A. ; Maver , A. ; Forti , G. and Serio , M. (1985) . Ceruloplasmic and transferrine in human seminal plasma : are they an index of seminiferous tubular function. Fertil. Steril ; 43 : 296 – 294 .

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

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

Page , E.W. ; Villec , C.A. and Ville , D.B(1981) . Spermatozoa , fertilization , fertility and stertility ; in human reproduction essential of reproductive and perinatal media , pay , E.W. ; Wille , C.A. and ville , D.B. (eds) ,W.B. soundrers compling , Philadelphia .

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

Peiris , L.D.C and Moor , H.D.M. , (2001) . Evaluation of effect 1-3 dinitrobenzene on sperm motility of hamster using computer assisted semen analysis (CASA) . Asian. J Androl ; 3 : 109 – 114 .

Perrera , D.M.D. ; Katz , M. ; Heenbanda , S.R and Marchant , S.C. (1996) . Nitric oxide synthase inhibitor N-G monoethy1-L-arginine . preserves sperm motility after swim – up .Fertil .Steril . ; 66 : 830 – 833 .

Philipp , E.E ; & Carruthers , G.B.(1985) . Biochemical of semen . information Phillips , E.E & Carrthers , C.B. (eds) . William , London. page ; 201 – 202 .

Quanzhong , L. ; Huidi ,L. ; Yangyi , N. ; Keliang , R. and Maowen ,L. (1996) . Effect of different capacitation media on rabbit sperm capacitation . 2nd asian symposium on animal biotechnology , manjina , china , PP : 135 – 138 .

Ramachandran , C.K.; GRY, S.L and Melaykovych ,G. (1975) . The role of steroids in biosynthesis of cholesterol in cell menbrane . Arch . Biochem . Biophys ; 189 : 205 – 211 .

Ridh - Albarazanchi , M.T. ; Khunda , S.S. ; Zakria , M.R. ; Alfyad , R.S.F. ; Alnassari , S.A.M and Jassim , M.M. (1992) . Human pregnancy following sperm antibodies separation technique and sperm Intrauterine transfer . J. Comm . Med . Baghdad ; 5 : 37 – 43 .

Ridha – Al baranzchi ,M.T. , Alansari , S.A.M. ; and Kkunda , S.S. (1998) . Ovrian stimulation , sperm activation in vitro and Intrauterine insemination in asthenospermia infertile patients .AL-Kufa J.;2:73-77

Roaveermachanemi , P.W.;Amenn , R.R. ; Palmer , J.S , and Hintor , B.T. (1990) . Proteins in luminal fluid of the ram excurrent dust : changes in composition & evidence for differentiation endocytosis . J.Andro.; 1 : 140 – 145 .

Robler,L. ; Femandez , E. ; Guadarrama , A. ; Zegers , F. and 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 and Steinberger , E. (1981) . Varicocele and the morophology of spermatozoa . Fertil . Fteril ; 35 : 54 – 57 .

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

Rossato,M.;Balercia,G.;Foresta,C.; and Mantero,F.(2002). Role of seminal osmolarity in the regulation of human sperm motility .International J. Andrology;25:230-235.

Rothman , C.M. ; Sims , C.A. and Stotts , C.L.(1982) . Sertoli cell only syndrome . Fertil . Steril ; 38 : 388 – 390 .

Schaller , M. ; Grob , A.P ; Bezold , G. ; Korting , H.C and Wolff , H. (2000) . Utrastructural defect in aquired immotile sperm flagella . Fertil . Steril ; 77 : 351 – 352 .

Schoenfeld , C. ; Amelar , R.D. and Dubin , L. (1973) . Stimulation of ejaculated human spermatozoa by caffeine . A preliminary report . Fertil . Steril ; 24 : 772 – 775 .

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

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

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

Silverman , L.M. ; Christenson , R. H and Grant , G.H. (1986) Amino acid and proteins in Tietz ,N.W(ed) . Textbook of clinical chemistry . W.B. saunders Co. Philadelphia , Chapter 4 : page ; 519 .

Sliwa , L. (1995) . Effect of some sex steroids hormones on human spermatozoa migration in vitro. Europ. J. obstet & Gyneeol and reprod . Biology ; 58 : 173 – 175 .

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

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

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

Suleiman , S.A. , Ali , M.E. , Zak , Z.M; Elmalik , E.M. ; and Nasr , M.A. ; (1996) . Lipid peroxidation and human sperm motility : protective role of vitamin E. J. Androl ; 17 : 530 – 537 .

Takihara , H. ; Ishizu , k. Ueno , T. ; Isoyama , R. ; Baba , Y. and Sakatoku , J. (1990) . Pathogenesis of varicocele : experimenteal study using flow cytometric DNA and analysis. Andrologia ; 22 : 137 – 143 .

Telisman , S. ; Cvitkovic , P. ; Jurasovic , J. ; Pizent , A. ; Gavella , M. and 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. and Schmidt , C.L. (1992) . Poor in vitro fertilization outcome with semen yielding low sperm density " siwm – up " is not because of altered sperm motion parameters . Fertil . Steril ; 58 : 770 – 775 .

Thurston , R.J. (1976) . Physiological studies of semen production in the demostic turkey ; Ph.D.Dissertation university of Missouri , Calumbia.

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

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

Vries , J.W.A. ; Repping , S. ; Oates , R. ; Carson , R. ; Leschot , N.J. and 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 .

White , I.G. ; Murdoch , R.W. ; Voglmeyr , J.K and Seamrk , R.F. (1975) . Effect of stroids hormones on the metabolism of ram spermatozoa , J. Reperd . fert. ; 53 : 380 – 385.

Wichaman , K. ; Kapyaho , K. ; sinervata ,R. and Jaune , J. (1983) .Effect of gossypol on the motility and metabolism of human spermatozoa . J. Repord . fert. ; 69 : 259 – 264

Williamson , R.A. ; Koehler , J.K. ; Smith , W.D. and 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. and Kretser , D.M. (1988) Human male infertility caused by degeneration and death of sperm in the epididymis . Fertil . Steril ; 49 : 1052 – 1058 .

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

World Health Organization (WHO) . (1992) . The influence of vaircocele on parameter of fertility in a large group of men presenting to infertiting clinics .Fertil . Steril ; 57 : 1289 – 1293 .

Yanuskpolsky . E.H. ; Politch , J.A. ; Hill , J.A. and Andrf , D.J. (1996) . Is leucospermia characteristics relevant . Fertil .Steril ; 66 : 822 – 825 .

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

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

Yeung ,C.H ; Cooper , J.G. ; Oberpenning , F.;schuize , H. and Nischinag , E. (1993) . Change in movement characterision of human spermatozoa a long the length of epididymis . Biology of Reproduction ; 49 : 274 – 280 .

Yogev , L.; Gamzu , R. and Kleinan , S. (2000) . Evaluation of meiotic impairment of azoospermic by fluoresceence insituhybridization . Fertil . Steril ; 74 : 228 – 233 .

Zahalsky , M.P. ; Zoltan , E. ; Medley ; N and Nagler , H.M. (2003). Morphology and the sperm penetration assay. Fertil .Steril ; 79 : 39 – 41 .

Zakrzewska , H. ; Udata , J. ; Blaszezyk , B. (2002) . In vitro influence of sodium fluoride on ram semen quality and enzyme activity . fluoride ; 35 : 153 – 160 .

Zaneveld , L.D. and Jonge , C.J. (1991) . Mammalian sperm acrosomal enzyme and the acrosome reaction : acomparative overview of mammalian feritization . Dunber , B.S. ; Orand , G.O. (eds) . Plenum press , New York . P : 63 – 79 .

Zaneveld , L.J.D. ; Jonge , C.T. ; Anderson , R.A. and 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. ; Foroglon , C.R. ; Hicks , C.I. and Zarmakonpis – zaros , P.N. (1998) . An electron Microscope study of the anonemal ultrastructure in human spermatozoa from male smokers and nonsmokers . Fertil . Steril ; 69 : 103 .

Zavos , P.M. ; Zarmakonpis , C.N and Zavos , P.N.Z. (1999) . The impact of cigarette smoking on human reproduction : its effect 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. and Wang , C.(1989) .Immunological studies in patients with oligospermia . Fertil . Steril ; 52 : 667 – 669 .

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