دراسة العلاقة بين تراكيز الأضداد النطفية وكل من الإجهاد التأكسدي ومضادات الأكسدة في البلازما المنوية للرجال غير الخصبين

كمونة, زينب حكمت عبد؛ الأطرقجي, صاحب علي مهدي؛ المسعودي, هادي رسول حسن.
بحث مستل من رسالة ماجستير للباحثة الأولى

الخلاصة

تهدف الدراسة إلى توضيح العلاقة بين تراكيز الأضداد النطفية وكل من الإجهاد التأكسدي ومضادات الأكسدة في البلازما المنوية للرجال غير الخصبين. حيث تم قياس تراكيز الأضداد النطفية(ASA) Antisperm antibodies في البلازما المنوية والنسبة المئوية للأضداد النطفية صنفي IgG وIgA على سطح النطف, فضلاً عن قياس تركيز كل من المالوندالديهايد وفيتامين C وفيتامينE في البلازما المنوية ل(38) من مرضى عدم الخصوبة قسموا إلى ثلاث مجاميع, بالإضافة إلى12 رجلاً خصباً (متزوجين ولديهم أطفال) تم اعتبارهم كمجموعة سيطرة. وكان المرضى من المراجعين لمعهد أبحاث الأجنة وعلاج العقم في محافظة بغداد والمراجعين للعيادات الخارجية في محافظة كربلاء. للمدة من شهر آذار إلى شهر آب من عام 2010. أظهرت نتائج الدراسة وجود علاقة طردية معنوية ($P<0.05$) بين مستويات الأضداد النطفية وتركيز المالوندالديهايد في البلازما المنوية؛ فيما لوحظ وجود علاقة عكسية معنوية ($P<0.05$) بين مستويات الأضداد النطفية وكل من فيتامين C و E في البلازما المنوية.

Abstract

The study aims to determined the relationships among antisperm antibodies, lipid peroxidation and antioxidants in seminal plasma in some immune infertile male. The concentrations of antisperm antibodies(ASAs) in seminal plasma, the percent of ASA classes IgG, IgA on the surface of sperms, the concentrations of Malondialdehyde (MDA), vitamin C and vitamin E have been measured for 38 infertile patient, the sample of study were divided in to three groups, we also have taken 12 fertile men (they have children) as healthy subjects. The patient were attending to Institute of Embryo Research and Infertility Treatment, Al-Nahrain University, and in the laboratories of Karbala. During March to August 2010. The results of study were showed a significant positive correlation between the concentrations of ASA and Malondialdeyde in seminal plasma, and a significant negative correlation between the levels of ASA and vitamin C and E concentration in seminal plasma.

المقدمة Introduction

تعرف حالة عدم الخصوبة Infertility على أنها عدم حصول الحمل على الرغم من مرور عام على الزواج المستمر, دون استعمال مانع لأي من الزوجين(1).

ترجع أسباب عدم الخصوبة غير المفسر إلى عدة عوامل منها الإجهاد المزمنchronic stress واضطراب إفرازات الغدد الصم endocrine disruption وزيادة الأنواع الأوكسجينية الفعالة reactive oxygen species والشذوذ الوراثي genetic abnormalities, بالإضافة إلى العوامل المناعيةimmunological factors (2). حيث ترتبط زيادة الأنواع الأوكسجينية الفعالة (الإجهاد التأكسديoxidative stress) بعلاقة عكسية مع معالم النطف السوية كالعدد والحركة والشكل السوي (3,4). كما أن هناك العديد من الأدلة القوية التي تدعم فكرة أن الأجسام المضادة المرتبطة بمستضدات سطوح النطف (الأضداد النطفية antisperm antibodies) تسبب عدم الخصوبة infertility (5). لذا يعتقد بأن الأضداد النطفية تضعف الخصوبة من خلال تثبيطها لحركة النطف إذ تؤدي إلى تلازنها agglutination أو عرقلة حركتها immobilization, فقد وجودت علاقة عكسية بين دليل حركة النطف sperm motility index ومستوى الأضداد النطفية, وعلاقة طردية بين حركة النطف الاهتزازية sperm shaky head movementومستوى الأضداد النطفية. كما تقوم الأضداد النطفية بتقليل الخصوبة من خلال إعاقة اختراق النطف لمخاط عنق الرحم وإتمام عملية التمكين capacitation وتفاعل الجسيم الطرفي وبالتالي إعاقة اتحاد النطفة مع البيضة (7). وقد تؤثر في حدوث الإجهاض abortion فقد وجدت مستويات عالية من الأضداد النطفية في مصل الإناث التي تعاني من الإجهاض(8).

يؤدي الإجهاد التأكسدي دوراً هاماً في عدم الخصوبة فقد أظهرت الدراسات ارتفاع مستويات الأنواع الأوكسجينية الفعالة في مني الرجال غير الخصبين مقارنة بالرجال الخصبين (9,10). حيث تعيق الكميات الفائقة من الجذور الحرة والأنواع الأوكسجينية الفعالة وظيفة النطف عند المستوى الجزيئي, إذ تهاجم سلاسل الأحماض الدهنية المتعددة غير المشبعة polyunsaturated fatty acids (PUFA) الموجودة في أغشية النطف وتؤكسدها بعملية بيروكسدة الدهون lipid peroxidation (LPO) مؤثرة بذلك على نقل الأيونات ومرونة fluidity أغشية النطف, فقد تبين أن للإجهاد التأكسدي إسهام كبير في ضرر النطف وضعف معايير السائل المنوي كتركيز النطف والحركة التقدمية والشكل السوي(11,12). كما يسبب الإجهاد التأكسدي تضرر الجسيم الطرفي وإعاقة عملية تفاعل الأكروسوم acrosome reaction , ويزيد من أكسدة البروتينات وتثبيط إنزيمات التحلل السكري وتلف DNA النطف مؤدياً إلى زيادة الموت المبرمج للخلايا الجرثومية germ cells؛ كما يعيق عملية انشطار البيضة وتطور الجنين embryo development (13,14). حيث أظهرت دراسة ارتفاع مستويات الأنواع الأوكسجينية الفعالة وزيادة تجزيء الـDNA (DNA fragmentation) مع انخفاض معايير النطف السوية لدى مرضى عدم الخصوبة مقارنة بالرجال الخصبين(15).

يعد فيتامينC وفيتامين E من مضادات الأكسدة الرئيسية الموجودة في السائل المنوي, وقد أشارت العديد من الدراسات إلى الدور المهم الذي يمثلانه في تحسين معايير النطف وعلاج حالة عدم الخصوبة, فقد أظهرت إحدى الدراسات وجود علاقة إيجابية بين مستوى فيتامين C ومعايير النطف السوية, وسلبية مع تركيز المالوندای ألديهايد(16). كما أظهرت دراسة أخرى وجود علاقة سلبية بين تركيز فيتامين C وتركيز المالوندای ألديهايد في البلازما المنوية للأشخاص غير الخصبين(17).

الهدف من الدراسة The aim of the study

دراسة العلاقة بين تركيز الأضداد النطفية وتركيز كل من الإجهاد التأكسدي ومضادات الأكسدة وهي فيتامينC (ascorbic acid), وفيتامينE (α-tocopherol) في البلازما المنوية للرجال غير الخصبين.

المواد وطرائق العمل Materials and methods

1- جمع العينات collection of sampls

شملت الدراسة جمع عينات السائل المنوي من مرضى عدم الخصوبة الذين تظهر لديهم أضداد نطفية على سطح النطف وعددهم 38 مريض, بالإضافة إلى عينات السيطرة من الأشخاص الخصبين وعددهم12. وقد تم تقسيم عينة الدراسة من المرضى إلى ثلاثة مجاميع: هي: المجموعة الأولى شملت 15 مريضاً لديهم أضداد نطفية بنسبة 1-10% , والمجموعة الثانية شملت 13 مريضاً لديهم أضداد نطفية بنسبة 11-20%, والمجموعة الثالثة شملت 10مرضى لديهم أضداد نطفية أكثر من 20%, حيث تم قياس الأضداد النطفية صنف IgG و IgA على سطح النطف الحية بطريقة اختبار تفاعل مزيج مضاد الكلوبيولين Mar Test mixed antiglobulin aeaction بواسطة العدة المنتجة من شركةBelgium, 32 Noord Idustriepark N.V. FetiPro . 8730 Beernem, وقد جمعت العينات للفترة من شهر آذار إلى شهر آب لعام 2010 في معهد أبحاث الأجنة وعلاج العقم/ جامعة النهرين, وفي المختبرات الأهلية في محافظة كربلاء وبشكل عشوائي Randomly. حيث قيست المعايير العيانية والمجهرية للنطف حسبWHO (2010)(18).

2-الفحوصات المناعية Immunological tests

تم قياس تركيز الأضداد النطفية في البلازما المنوية لعينة السيطرة والمرضى بطريقة اختبار الإمتزاز المناعي المرتبط بالأنزيم(ELISA) Enzyme-Linked Immunosorbent Assay بواسطة عدة التحليل المنتجة من شركة DRC Instruments GmbH, Germany.

3-الفحوصات الكيموحيوية Biochemical tests

تم تقدير كمية المالوندای الديهايد (Malondialdehyde(MDA في البلازما المنوية حسب طريقةRoberts وجماعته 1990 (19) باستخدام المركب Thiobarbutric acid-Trichlora acetic acid-Hydrochloric acid (TBATCA-HCL) .

كما تم قياس تركيز فيتامينC (ascorbic acid), وفيتامينE (α-tocopherol) بطريقة كروموتوغرافيا السائل عالي الأداء High Performance Liquid Chromatography (HPLC) وقد حللت البيانات إحصائياً باستعمال برنامج SAS (20), وقورنت متوسطات المعاملات باستخدام اختبار دنكن متعدد الحدود.

النتائج Results

أ- بينت نتائج جدول(1) ارتفاع معنوي($P<0.05$) في تركيز الأضداد النطفية في البلازما المنوية لدى مرضى المجموعتين الثانية والثالثة مقارنة بمجموعة السيطرة. كما أظهرت وجود ارتفاع معنوي($P<0.05$) في تركيز المالوندای ألديهايد MDA لدى مرضى المجموعتين الثانية والثالثة مقارنة بمجموعة السيطرة.

بينما أظهرت انخفاض معنوي($P<0.05$) في تركيز فيتامين C لدى مجاميع المرضى الثلاثة مقارنة بمجموعة السيطرة (مع عدم وجود فروق معنوية بين المجموعتين الثانية والثالثة).وقد أظهرت انخفاض معنوي($P<0.05$) في تركيز فيتامينE في المجموعتين الثانية والثالثة مقارنة بمجموعة السيطرة (مع عدم وجود فروق معنوية بين المجموعتين الثانية والثالثة).

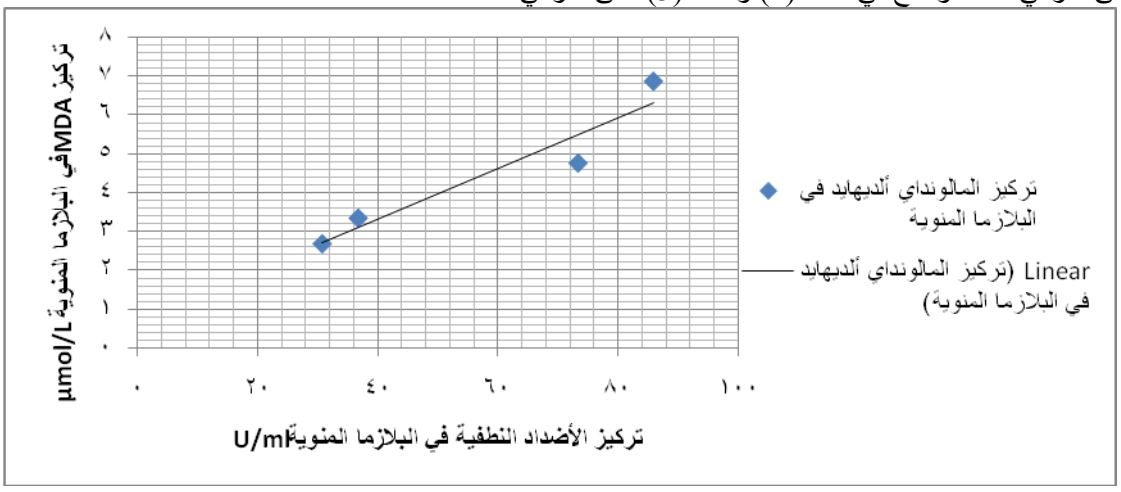
جدول (1) الاختبارات المناعية والكيموحيوية للسائل المنوي للمرضى الذين تظهر لديهم الأضداد النطفية على سطح النطف مقارنة بعينة السيطرة (المعدل ± الخطأ القياسي).

الاختبارات / الحالة المرضية	تركيز الأضداد النطفية في البلازما المنوية (U/ml)	تركيز MDA في البلازما المنوية (µmol/L)	تركيز فيتامينC في البلازما المنوية (µmol/L)	تركيز فيتامينE في البلازما المنوية (µmol/L)
الأشخاص الخصبين (عينة السيطرة) n =12	30.89 C ±4.0	2.66 C ±0.28	290.87 A ±12.83	4.76A ±0.14
المجموعة الأولى: مرضى لديهم أضداد نطفية بنسبة 1-10% n =15	38.34 C ±4.15	3.23C ±0.31	266.92 B ±14.98	4.61 A ±0.24
المجموعة الثانية: مرضى لديهم أضداد نطفية بنسبة 11-21% n =13	74.59 B ±3.89	4.74 B ±0.36	246.73 C ±16.43	4.23 B ±0.32
المجموعة الثالثة: مرضى لديهم أضداد نطفية بنسبة 21% فأكثر n =10	88.93 A ±3.12	6.85 A ±0.62	240.64 C ±15.64	4.2 B ±0.34

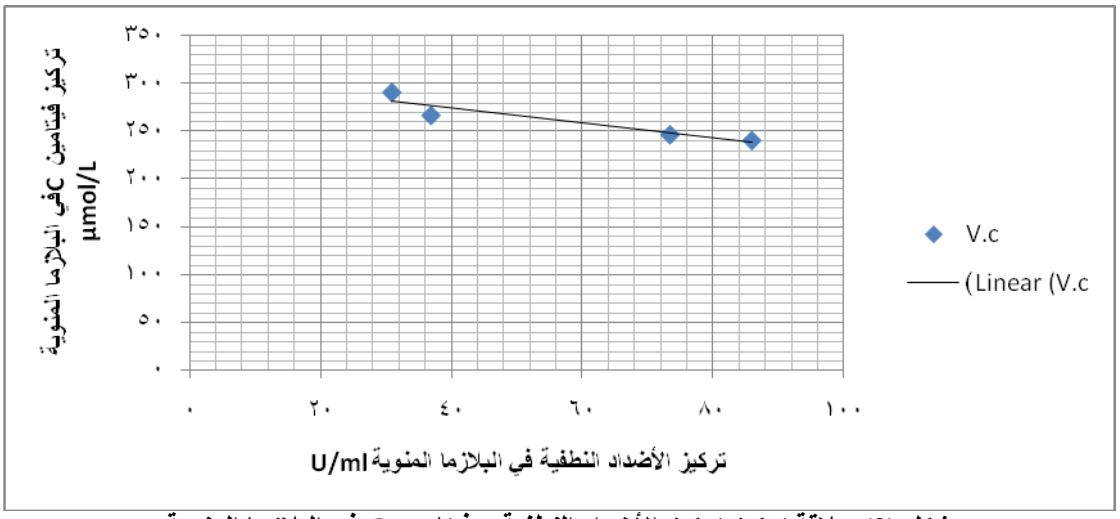
عدد العينات الكلي =50

*المتوسطات التي تحمل حروف مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنوياً عند مستوى احتمالية $P<0.05$

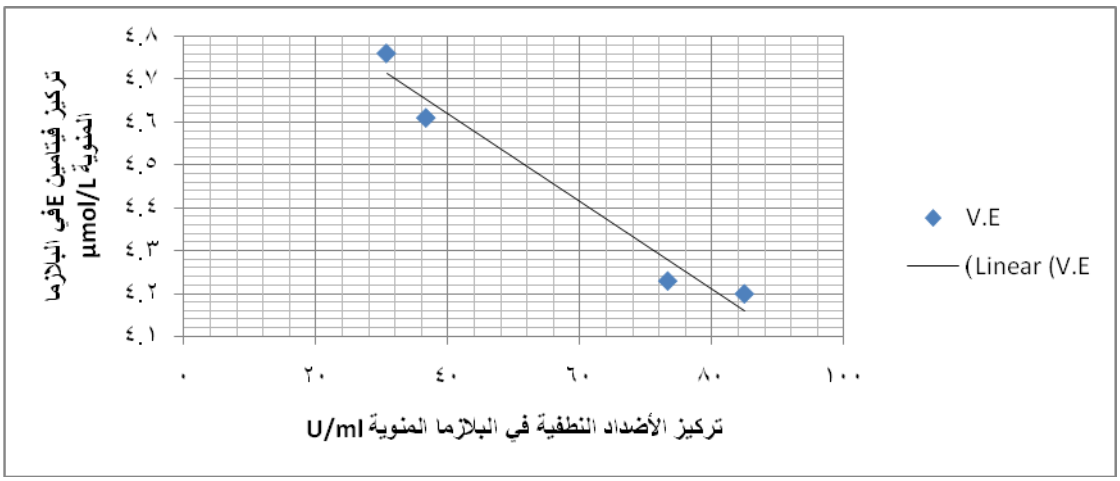
ب- أوضحت نتائج الدراسة وجود علاقة طردية معنوية ($P<0.05$) بين تركيز المالوندالي ألديهايد وتركيز الأضداد النطفية في البلازما المنوية وبلغت قيمة معامل الارتباط 0.60, كما موضح في شكل (1). فيما أظهرت وجود علاقة عكسية معنوية ($P<0.05$) بين تركيز فيتامين C وكذلك فيتامين E مع الأضداد النطفية في البلازما المنوية وبلغت قيمة معامل الارتباط -0.55, -0.49 على التوالي. كما موضح في شكل (2) وشكل (3) على التوالي.



شكل (1) علاقة تركيز المالوندالي ألديهايد مع تركيز الأضداد النطفية في البلازما المنوية

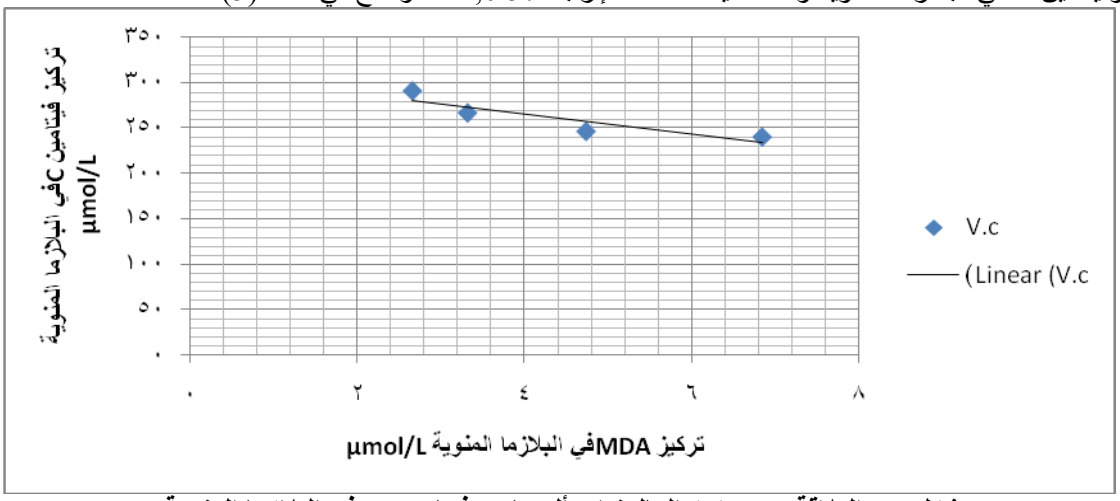


شكل (2) علاقة تركيز تركيز الأضداد النطفية و فيتامين C في البلازما المنوية

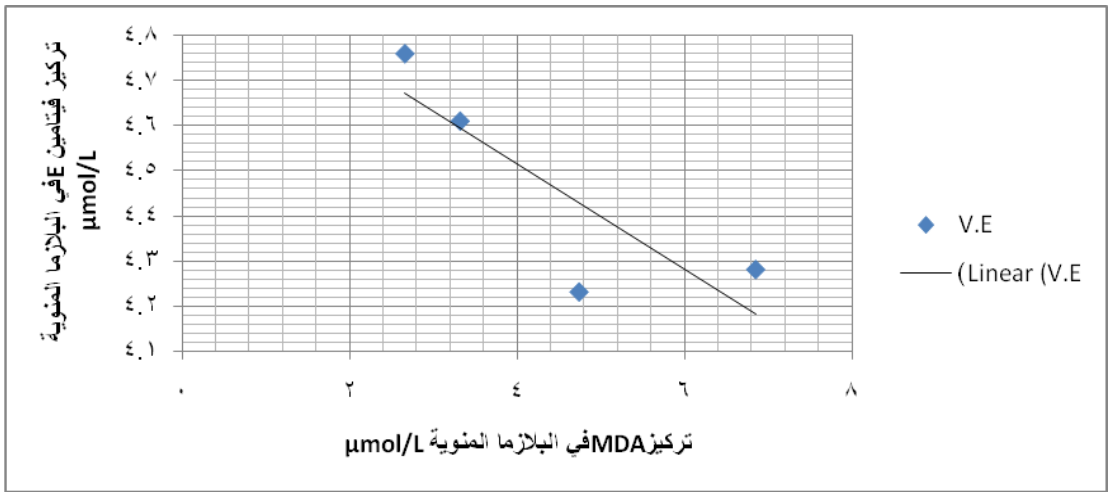


شكل (3) علاقة تركيز الأضداد النطفية وتركيز فيتامين E في البلازما المنوية

ج- أظهرت نتائج الدراسة علاقة عكسية معنوية ($P<0.05$) بين تركيز المالوندالي ألديهايد وفيتامين C في البلازما المنوية وبلغت قيمة معامل الارتباط0.7-, كما موضح في شكل (4). كما أظهرت النتائج علاقة عكسية معنوية ($P<0.05$) بين تركيز المالوندالي ألديهايد وفيتامين E في البلازما المنوية وكانت قيمة معامل الإرتباط0.57, كما موضح في شكل (5).

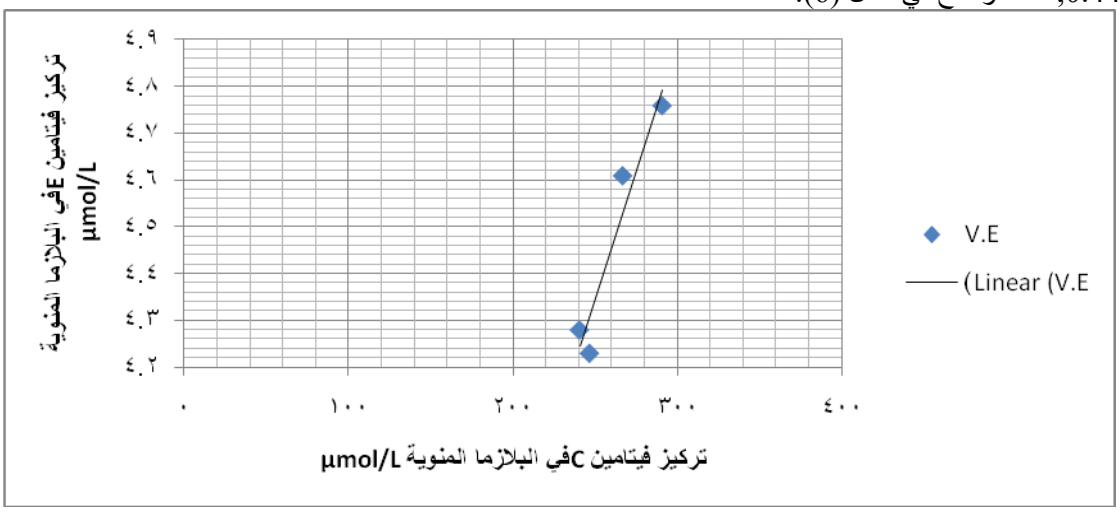


شكل (4) العلاقة بين تركيز المالوندالي ألديهايد وفيتامين C في البلازما المنوية.



شكل (5) العلاقة بين تركيز المالونداي ألديهايد وفيتامين E في البلازما المنوية.

د- أظهرت النتائج وجود علاقة طردية معنوية ($P<0.05$) بين تركيز فيتامين C وفيتامين E في البلازما المنوية وبلغت قيمة الإرتباط0.44, كما موضح في شكل (6).



شكل (6) العلاقة بين تركيز فيتامين C وفيتامين E في البلازما المنوية.

المناقشة Discussion

أظهرت نتائج الدراسة ارتفاع تركيز الأضداد النطفية في البلازما المنوية لدى مجاميع المرضى مقارنة بمجموعة السيطرة. تتفق هذه النتيجة مع ما بينته دراسة (21) من وجود ارتفاع معنوي في مستوى الأضداد النطفية لدى مرضى عدم الخصوبة مقارنة بمجموعة السيطرة. كما أوضحت دراسة أخرى ظهور الأضداد النطفية لدى 7-15% من الرجال غير الخصبين(22). حيث تعد النطف من المستضدات المحجوبة sequestrated antigens, لذا فعند تكشفها للجهاز المناعي نتيجة تكسر الحواجز الخصوية الدمويةtesticle-blood barrier تعتبرها الخلايا المناعية كمستضدات غريبةforeign antigens, فتحدث استجابة مناعية ذاتيةautoimmune response ضدها (6,23). وتقوم الأضداد النطفية بإضعاف الخصوبة من خلال تلازن النطف agglutination أوشلّهاimmobilization وبالتالي إعاقة اختراق النطف لمخاط عنق الرحم كما يمكن أن تعيق عملية التمكين capacitation وتفاعل الجسيم الطرفي, بالإضافة إلى إعاقة اتحاد النطفة مع البيضة وإتمام عملية الإخصاب (7).

بينت نتائج الدراسة وجود ارتفاع معنوي($P<0.05$) في مستوى المالونداي ألديهايد لدى مرضى عدم الخصوبة مقارنة بمجموعة السيطرة, حيث تترافق حالة الإجهاد التأكسدي مع ضعف معايير السائل المنوي من عدد النطف وحركتها وشكلها السوي, وتزداد لدى الرجال غير الخصبين مقارنة بالخصبين (24,11). تتفق نتائج دراستنا مع دراسة (25) التي أظهرت ارتفاع تركيز المالونداي ألديهايد في البلازما المنوية لدى مجاميع مرضى عدم الخصوبة كافة عدا مرضى اللانطفية الإنسدادية obstructive

azoospermic مقارنة بمجموعة السيطرة. كما تتفق مع دراسة (26) التي أظهرت ارتفاع الإجهاد التأكسدي في البلازما المنوية لمرضى قلة النطف ووهن النطف واللانطفية مقارنة بمجموعة الرجال الأصحاء. ويمكن تفسير ذلك بأنه من التأثيرات المهمة لبيروكسدة الدهون هي إتلاف وتحطيم الأغشية (للخلايا والعضيات). فضلا عن إن بيروكسدة الدهون يمكن أن تحطم الحامض النووي الرايبوزي منقوص الأوكسجين (DNA) من خلال أكسدة قواعد DNA النيوكليوتيدية او من خلال تكوين أواصر تساهمية مع هذه القواعد محدثة انكسار في شريطي الـ DNA, كما إن بيروكسدة الدهون تحدث أكسدة لمجاميع الكبريت SH-groups في البروتينات والـ DNA وبالتالي تؤثر على تركيب ووظيفة النطف مع زيادة حساسيتها للتعرض للبلعميات الكبيرة (3).

أوضحت النتائج وجود علاقة طردية بين تركيز المالوندای ألديهايد وتركيز الأضداد النطفية. قد لا يرتبط وجود الأضداد النطفية مع الإجهاد التأكسدي سببياً لكنه يمكن أن يمثل ظاهرة مشتركة, فمثلا وجود العيوب في غشاء النطف يساعد على كشف مستضداتها أثناء تكونها أو نقلها خلال القناة التكاثرية, ومن جانب آخر تشترك النطف غير السوية في إنتاج الأنواع الأوكسجينية بكميات كبيرة (27), وقد يكون من أسباب ارتفاع الإجهاد التأكسدي لدى بعض الرجال غير الخصبين هو الإصابة بالقيلة الدوالية, والتي تعد أيضاً من عوامل تكون الأضداد النطفية (28,29).

أظهرت نتائج قياس تركيز فيتامين C انخفاض معنوي ($P<0.05$) في تركيزه لدى مجاميع المرضى مقارنة بمجموعة السيطرة. كما أظهرت وجود علاقة عكسية بين تركيز المالوندای ألديهايد وفيتامين C في البلازما المنوية. وهذا يتفق مع ما بينته دراسة (16) من وجود علاقة إيجابية بين مستوى فيتامين C ومعايير النطف السوية, وسلبية مع تركيز المالوندای ألديهايد. ففي حالة القذف الطبيعي فإن الكميات الفائضة من الأنواع الأوكسجينية الفعالة تكون قليلة لأنها تكسح scavenged بشكل كفوء من قبل مضادات الأكسدة المتوفرة في السائل المنوي إلى أن تصبح في حالة توازن معها. أما في مرضى عدم الخصوبة فإن المستويات العالية من الأنواع الأوكسجينية الفعالة تستهلك فيتامينC الذي يعد من مضادات الأكسدة الرئيسية في السائل المنوي. كما أشارت العديد من الدراسات إلى الدور الفعال لفيتامين C في خفض عملية بيروكسدة الدهون وتحسين مفردات السائل المنوي(17).

أظهرت نتائج الدراسة وجود علاقة عكسية معنوية بين تركيز الأضداد النطفية وتركيز فيتامين C. وقد يعزى ذلك إلى التأثير الإيجابي لفيتامين C في وظيفة الجهاز المناعي فقد أشارت بعض الدراسات إلى أنه يساعد في تخليق الموثينات Prostaglandins ويدعم إنتاج الحركيات الخلوية Cytokines (30)؛ وأشارت دراسة أخرى إلى الدور المهم لبعض مضادات الأكسدة وهو فيتامينD_3 في علاج المرضى الذين تظهر لديهم الأضداد النطفية في المصل, عند تناوله بكميات قد حددتها الدراسة بالإضافة إلى عقار ديكساميثازون Dexamethasone وقد أعزى ذلك إلى دوره المنظم مناعياً immunomodulatory للخلايا والجزيئات المناعية(31).

بينت النتائج انخفاض معنوي ($P<0.05$) في تركيز فيتامين E لدى مجاميع المرضى مقارنة بمجموعة السيطرة. إذ إن انخفاض مستويات فيتامين E في جميع مرضى عدم الخصوبة يمثل نتيجة محتملة وذلك لأهميته كمضاد أكسدة في خصوبة الرجل(32), إذ يعد فيتامين E عامل مثبت Stabilizer agent للأغشية, ويلعب دوراً مهماً في منع أكسدة الدهون في الأغشية الحيوية عن طريق اختزال الجذور الحرة والعوامل المؤكسدة الأخرى ، ومنع تكوين بيروكسيدات الدهونLipids peroxides (33).

أظهرت النتائج وجود علاقة عكسية بين النسبة المئوية للأضداد النطفية وتركيز فيتامين E. وقد يعزى ذلك إلى التأثير الإيجابي لفيتامين E على الجهاز المناعي فهو يزيد من قابليته على مقاومة الاصابات الفايروسية والبكتيرية وأمراض الحساسية عندما يؤخذ بكميات كافية مع الغذاء. ويحفز هجرة البلاعم الكبيرة والخلايا اللمفاوية السمية إلى مواقع الأورام في الجسم (34).

أظهرت النتائج وجود علاقة عكسية بين تركيز المالوندای ألديهايد وفيتامين E في البلازما المنوية. حيث يعمل فيتامين Eكمضاد قوي للأكسدة من خلال تثبيطه للجذور الحرة وكسر سلسلتها التفاعلية(35).

بينت النتائج وجود علاقة طردية بين تركيز فيتامين C وفيتامين E في البلازما المنوية. حيث يقوم فيتامين C بتجديد Re cyclicفيتامين E من خلال تصليح جذر التوكوفيروكسيل Tochopheroxyl وبذلك يسمح له بالعمل ثانية كمضاد للأكسدة ومحطم لسلسلة الجذور الحرة لذا فإنه بالرغم من وجود فيتامينE بكميات قليلة في السائل المنوي فإن وفرة فيتامينC تسهل تكراره المثالي, مما يجعل التراكيز العالية له غير ضرورية(36).

الاستنتاج Conclusion

يرتبط مستوى الأضداد النطفية بعلاقة طردية مع المالوندای الديهايد في البلازما المنوية, وعكسية مع مضادات الأكسدة المتمثلة بفيتامينC و E .

References المصادر

1. **Olayemi, F. O. (2010).** A review on some causes of male infertility. African J. of Biotechnology. 9 (20): 2834-2842.
2. **Dohle, G. R.; Jungwirth, A.; Colpi,G.; Giwercman, A.; Diemer, T.and Hargreave, T. B. (2007).** Guidelines on Male Infertility. European Association of Urology .
3. **Cocuzza, M.; Sikka, S.; Athayde, K. and Agarwal, A. (2007).** Clinical Relevance of Oxidative Stress and Sperm Chromatin Damage in Male Infertility: An Evidence Based Analysis. International Braz. J. of Urol. 33 (5): 603-621.
4. **Tremellen, k. (2008).** Oxidative stress and male infertility—a clinical. Perspective Hum. Reprod. 14 (3): 243–258.
5. **Jin-Chun, Lu.; Yu-Feng, H.; and Nian-Qing, Lu. (2008).** Antisperm Immunity and Infertility. Expert Rev. Clin. Immunol.; 4 (1):113-126.
6. **Al- Mukhatar, N. J. H. (2006).** Physiological and Immunological Studies for Human Infertile Couples. Ph.D. Thesis. College of Science, Babylon University.
7. **Feng, H. L.; Han, Y. B.; Sparks, A. E. and Sandlow, J. I. (2008).** Characterization of Human Sperm Antigens Reacting With Anti-Sperm Antibodies From an Infertile Female Patient's Serum. J. of Androl. 29 (4): 440–448.
8. **Risvanli, A.; Bulut, H.; Zonturlu. A-G.; Demiral, O.; Saat, N. and Kilic, A. (2009).** The role of immunologic factors in abortions observed in sheep and goats. Intern J. Appl. Res. Vet. Med. 7 (3): 91-96.
9. **Athayde, K. S.; Cocuzza, M.; Agarwal, A.; Krajcir, N.; Lucon, A. M.; Srougi, M. (2007).** Development of normal reference values for seminal reactive oxygen species and their correlation with leukocytes and semen parameters in a fertile population. J. of Androl. 28: 613-20.
10. **Hadwan, M. H.; Jabir, F. A.; Tarish, A. H.; Jabir, J. A. and Neima, B. A. (2009).** Zink, Copper, and Superoxide dismutase in spermatozoa of patient with asthinospermia. Karbala J. Med. 2(6): 240-248.
11. **Colagar, A. H.; Pouramir, M.; Marzony, E. T. and Jorsaraei, S. G. (2009).** Relationship between Seminal Malondialdehyde Levels and Sperm Quality in Fertile and Infertile Men. An International J . 52 (6): 1387-1392.
12. **Namaa, D. S. (2008).** Effect of vitamin E and Zink treatment on oxidative stress in some Iraqi infertile males. MSc. Thesis. Submitted to the Institute of Embryo Research and Infertility Treatment, Al-Nahrain University.
13. **Elshaari, F. A.; Fatum, A. E. and Sheriff, D. S. (2010).** Spermatozoa-aunique representation of oxygen antioxidant paradox. Acta Medica Medianae. 49 (1): 48-53.
14. **Booth, P. J.; Holm, P. and Callesen, H. (2005).** The effect of oxygen tension on porcine embryonic development is dependent on embryo type. J. of Theriogenology. 63: 2040–2052.
15. **Irvine, D. S.; Twigg, J. P. and Gordon, E. L. (2000).** DNA integrity in human spermatozoa: relationships with semen quality. J. of Androl. 21:33-45.
16. **Das, P.; Choudhari, A. R.; Dhawan, A. and Singh, R. (2009).** Role of ascorbic acid in humam seminal plasma against the oxidative damage to the sperms. Indian J. of Clinical Biochemistry. 24 (3): 312-315.
17. **Eskenazi, B.; Kidd, S. A.; Marks, A. R.; Sloter, E.; Block, G. and Wyrobek, A. J. (2005).** Antioxidant intake is associated with semen quality in healthy men. Hum. Reprod. 20 (4): 1006–1012.
18. **WHO, Laboratory Manual for Examination of Human Semen and Sperm–Cervical Mucus Interaction, 1ST ed. (2010).** Cambridge, Cambridge University Press.

19. **Roberts, M.J.; Yong, T.S. & Trenton, T.G. (1990).** Function studies with the octameric and dimeric form of mitochondrial creatine kinase. Lancet. 336:143-146.
20. **SAS. (2001).** SAS/STAT 'user' Guide for personal computers. Release 6.12 .SAS Institute Inc., Cary, N. C., U.S.A.
21. **Ameen, E. M. (2007).** A Diagnostic Study of Some Causes of Male Infertility in Kurdistan Region of Iraq. Thesis, College of Science, Babylon University.
22. **Yazdi, R. S.; Sene, A. A.; Kohpaee, Z.; Zadehmodaress, S.; Hosseini, S. J. and Fallahian, M. (2009).** The Correlation between Sexual Practices and the Development of Antisperm Antibodies. International J. of Fertil. and Steril. 2 (4) : 189-192.
23. **Nowroozi, M. R.; Keyhani, A. H. and Ayati, L. (2008).** Identification of acrosome as the main antigen of the sperm cells provoking autoantibodies in vasectomized Iranian men. Acta Medica Iranica. 46 (6): 457-460.
24. **Bansal, A. K. and Bilaspuri, G. S. (2010).** Impacts of Oxidative Stress and Antioxidants on Semen Functions. Veterinary Medicine International. 2011: 1-7.
25. **Shang, X-J.; Li, K.; Ye, Z-Q.; ChenY-G.; Yu, X.; Huang, Y-F. (2004).** Analysis of lipid peroxidative levels in seminal plasma of infertile men by high- performance liquid chromatography.Systems Bio. in Reprod. Med. 50, Issue 6: 411 – 416.
26. **Abdul-Rasheed, O. F. (2007).** Co enzyme Q10 , Enzymatic Profile and Oxidative stress of serum, seminal plasma and sperm extracts of infertile men. PH.D. Thesis. College of Medicine, University of Al-Nahrain.
27. **Calamera, J. C.; Doncel, G. F.; Brugo-Olmedo, S.; Sayago, A. and Acosta, A. A. (2002).** Male antisperm antibodies: association with a modified sperm stress test and lipid peroxidation. J. of Andrologia. 34: 63–68.
28. **Al-Aboudy, N. F. H. (2007).** Outcome of Intrauterine Insemination Following In Vitro Sperm Activation of Men Complaining From Different Grades of Varicocele. High Diploma Thesis. Submitted to the Institute of Embryo Research and Infertility Treatment, Al-Nahrain University.
29. **Jain, V. and Misra, S. (2010).** Current concepts of oxidative stress and varicocele in male infertility. J. Surg. Sci.: JSS. 1 (1): 19-24.
30. **Lee, C. Y.; Lee, K. W.; Lee, H. J. and Kang, S. K. (2000)**. Explaining just how vitamin C works against cancer. J. Nutr, 359 :1-2 .
31. **Bubanovic, I.; Kojic, S.; Najman, S. and Andjelkovic, Z. (2005).** Immunomodulatory Treatment of Infertility in Men with Elevated Antisperm Antibodies. Am. J. of Immunology. 1 (4): 130-134.
32. **Agarwal, A. and Allamaneni, S. S. (2004).** Oxidants and antioxidants in human fertility. Middle East Fertility Society J. 9 (3):187-197.
33. **Mokhtar, N. M.; Rajikin, M. H.; Zakaria, Z. (2008).** Role of tocotrienol-rich palm vitamin E on pregnancy and preim-plantation embryos in nicotine-treated rats. Biomedical Research. 19 (3): 181-184.
34. **Bruninga, D. (2000).** Vitamins C and E fight side effect of pelvic radiation for cancer. Am. J. Gastroenterology, 86 :1-5.
35. **Bansal, A. K. and Bilaspuri, G. S.(2009).** Antioxidant effect of vitamin E on motility, viability and lipid peroxidation of cattle spermatozoa under oxidative stress. Animal Science Papers and Reports. 27 (1): 5-14.
36. **Nouri, M.; Ghasemzadeh, A.; Farzadi, L.; Shahnazi, V. and Novin M. G. (2008).** Vitamins C, E and lipid peroxidation levels in sperm and seminal plasma of asthenoteratozoospermic and normozoospermic men. Iranian J. of Reproductive Med. 6 (1): 1-5.