دراسة بعض الجوانب المناعية للذكور العقيمين

سحر منفي احمد* طالب عبدالله حسين* علي حسين ادحية**

استلام البحث 16، حزيران، 2010
قبول النشر 26، تشرين الاول، 2010

الخلاصة:

صُممت الدراسة الحالية لتقييم الحالة المناعية في عينات من الذكور العراقيين المصابين بالعقم الاولي ممن تراوحت اعمارهم بين 18-55 سنة. إذ جُمعت هذه العينات من مركز الخصوبة وعلاج العقم واطفال الانابيب (مستشفى كمال السامرائي، بغداد) للمدة من كانون الاول/2008 ولغاية نيسان/2009. قُسمت تلك العينات على ثلاث مجاميع؛ 40 عينة للمرضى المصابين باضداد النطف و20 عينة للمرضى المصابين بوهن النطف و20 عينة للمرضى المصابين باللانطفية، فضلاً عن 20 عينة للذكور الخصبين بوصفها مجموعة سيطرة. شملت هذه التقييمات اختبارات تحليل السائل المنوي واضداد النطف واضداد المايتوكوندريا في المصل، لذلك جمعت نوعين من العينات (السائل المنوي والدم) لكل مجموعة.

توصلت الدراسة الى النتائج الآتية:

1. وجود انخفاض معنوي عند مستوى احتمالية ≤ 0.05 في اعداد النطف للمرضى المصابين باضداد النطف (44.6×10^6 نطفة/مل) والمرضى المصابين بوهن النطف (46.9×10^6 نطفة/مل) مقارنة بالسيطرة (63.2×10^6 نطفة/مل) لكنها كانت ضمن الحدود الطبيعية.
2. كانت النسبة المئوية لاضداد النطف في المصل 100.0% للمرضى المصابين باضداد النطف، بينما كانت النسبة اقل في المرضى المصابين باللانطفية (25% في المصل)، وكانت هذه النسبة اقل في افراد السيطرة (5% في المصل لكنها كانت ضمن المستويات المنخفضة وليس لها تأثير واضح)، وفي المقابل لم تلاحظ اضداد النطف في المرضى المصابين بوهن النطف. وكانت هذه النتائج ذات علاقة ايجابية مع مستويات تركيز هذه الاضداد في المصل، ولوحظ اعلى مستوى لها في المرضى المصابين باضداد النطف في المصل (107.6 وحدة عالمية/مل). واكتسبت هذه الاختلافات فرقاً معنوياً.
3. اظهرت النسب المئوية لاضداد المايتوكوندريا في المصل اختلافات في المرضى المصابين باضداد النطف ووهن النطف واللانطفية والسيطرة حيث كانت (37.5%، 25.0%، 20.0%، 15.0% على التوالي)، وعلى الرغم من ان هذه الاختلافات لم تكن معنويةاحصائيا، إلا أن المستويات المصلية لتلك الاضداد كانت في زيادة معنوية للمرضى المصابين باضداد النطف مقارنة بافراد السيطرة (11.9 مقابل 6.5 وحدة عالمية/مل).

الكلمات المفتاحية: العقم الذكري, اضداد النطف, اضداد المايتوكوندريا

المقدمة:

تُعرف الخصوبة إنها القدرة على حدوث الحمل خلال مدة 12 شهراً من العلاقة الجنسية غير المنقطعة وتؤلف نحو 75% من الازواج، اما في حالة عدم حدوث الحمل بعد تلك المدة فيُعد الازواج غير خصبين (Infertile) ويمثل هؤلاء نحو 25% من الازواج ويعتمد 15% من الازواج غير الخصبين على الإستشارة الطبية لزيادة قدرتهم على انجاز الحمل وبالإعتماد على العقاقير الطبية الخاصة بالعقم، في حين يبقى نحو اقل من 10% غير خصبين على الرغم من الإستشارة الطبية وتناول العقاقير[1]. وقد اوضحت الدراسات التي قام بها العالم[2]. إن ثلث حالات العقم تعزى الى عوامل خاصة بالذكر فقط، ويحدث الثلث الآخر نتيجة مشاكل خاصة بالإناث تحديداً، في حين يشترك كلا الجنسين في الثلث الاخير من حالات العقم الذي ينتج عن مشاكل خاصة بكلا الزوجين، وتوجد أسباب كثيرة لقلة الخصوبة عند الذكور منها عوامل متعلقة بإنتاج ونضج النطف، فقد تكون النطف ذات اشكال شاذة أو غير طبيعية (Teratozoospermia) او عدم قدرة النطف على الحركة بشكل مناسب او مايسمى بوهن النطف (Asthenozoospermia)، او قلة انتاج النطف (Oligospermia) بحيث تكون أعدادها غير كافية للإخصاب، او عدم أنتاجها بالكامل (Azoospermia)[3]. والإختلالات الهرمونية وامراض وراثية وإختلالات مناعية ينتج فيها بعض الذكور اضداداً ضد تُطفهم (Anti-sperm

*كلية العلوم للبنات/ قسم علوم الحياة/ جامعة بغداد.
**وحدة الابحاث للمناطق الحارة / جامعة بغداد.

antibodies) وتؤلف بدورها 15% من حالات العقم الذكري في العالم[4]. إذ كلما زادت النسبة المئوية لأضداد النطف في السائل المنوي او المصل كلما قلت احتمالات الاخصاب للذكر، وتأتي أهمية الاضداد من خلال تأثيرها في وظائف النطف وفي نوعية السائل المنوي[2]، وربما يكون أضدادَ ذاتية (Autoantibodies) أخرى دورا في ذلك مثل أضداد المايتوكوندريا (Anti-mitochondrial antibodies).

المواد وطرائق العمل:

جمع العينات Sample Collection

جمعت 80 عينة من كل من السائل المنوي (Seminal fluid) والدم (Blood) للذكور المصابين بالعقم الاولي من مستشفى كمال السامرائي (مركز الخصوبة وعلاج العقم واطفال الانابيب) ممن تتراوح اعمارهم بين 18-55 سنة، للمدة من الاول من شهر كانون الاول / 2008 ولغاية الاول من شهر نيسان/ 2009، وهم 40 عينة من المصابين باضداد النطف (Anti-Sperm antibody) و20 عينة من المصابين بوهن النطف (Asthenozoospermia) و20 عينة من المصابين باللانطفية (Azoospermia). كما جُمِعت العينات نفسها لعشرين خصيباً (Control) من الذكور الذين لا يعانون من اية اعراضمرضية ، وقياس السائل المنوي لهم كان ضمن الحدود الطبيعية.

جمع عينات السائل المنوي Collection of Seminal Fluid

جُمِعت عينات السائل المنوي بطريقة الاستمناء باليد (Masturbation) في علبة نبيذة (Disposable container) ومدرجة، اذ أُخذت عينات السائل المنوي بعد ان تم التأكد من ان مدة الانقطاع الجنسي تتراوح بين 3-5 ايام. وضِعت العينات في الحاضنة بدرجة حرارة 37°م لمدة 30 دقيقة لغرض اماعة العينة فُحِصت عينات السائل المنوي (Seminal Fluid Analysis) بعد مدة حضانة 30 دقيقة تقريباً.

جمع عينات الدم Collection of Blood Samples

سُحِب 5 مل من الدم الوريدي لكل مريض من الذكور العقيمين والخصبين بإستخدام محقنة نبيذة لاجراء فحوصات التحري عن اضداد النطف في المصل وفحوصات التحري عن اضداد المايتوكوندريا. اذ وضِع الدم المسحوب في انابيب بلاستيكية (Plain tube) ذات سداد لولبي سعة 10 مل وتركت الانابيب لمدة 15 دقيقة تقريباً الى حين تخثر الدم ثم فُصِلت بإستعمال جهاز النابذة (Centerifuge) بسرعة 3500 دورة/الدقيقة لمدة 10 دقائق لفصل خثرة الدم عن المصل ثُم اخذ المصل ووضع في انابيب اختبار ودِونت على كل انبوبة اسم المريض ونوع الاختبار المراد إجراؤه وحُفِظت في درجة حرارة -20°م الى حين الاستعمال.

الطرائق المختبرية Laboratory Methods

أختبر السائل المنوي طبقاً لتعليمات منظمة الصحة العالمية[5] وتضمنت اختبارات السائل المنوي فحوصات عيانية ومجهرية

الفحوصات العيانية للسائل المنوي Macroscopical Examinations

وتعتمد هذه الفحوصات على المظهر(Appearance) و الحجم (Volume) والتمييع (Liquifaction) واللزوجة (Viscosity) للسائل المنوي.

الفحوصات المجهرية للسائل المنوي Microscopical Examinations

وتعتمد هذه الفحوصات على المظهر الخارجي للنطف (Sperm morphology) وتركيز النطف (Sperms concentration) وحركة النطف (Sperms motility)، فُحِصت هذه العينات باستخدام الشرائح الزجاجية الخاصة بالمجهر الاعتيادي وتحت قوة تكبير×40، وشمل الفحص تعداد 8 حقول مجهرية بصورة عشوائية لتعداد النطف الشاذة والطبيعية وتعداد انماط حركات 100-200 نطفة ومعرفة نمط ونسبة حركة النطفة بحسب تقسيمات منظمة الصحة العالمية[5] وسجلت النتائج كالآتي:

أ- حركة تقدمية وخطية سريعة للنطف Rapid linear progressive (A) motility وتُسمى(Grade A).

ب- حركة تقدمية وخطية متوسطة او بطيئة السرعة Slow or moderate progressive motility(B) وتُسمى (Grade B).

ت- حركة لاتقدمية او حركة نفظية الى الجوانب No progressive motility or twitching motility(C) وتُسمى (Grade C).

ث- تُطف غير متحركة Immotile sperm (D) وتُسمى (Grade D).

إختبارات التحري عن اضداد النطف بتقنية (ELISA)

تم التحري عن اضداد النطف في البلازما المنوية والمصل بإستخدام تقنية الامتزاز المناعي المرتبط بالأنزيم (ELISA). وتعد طريقة ELISA ذات حساسية عالية (0.0001-0.001 ملغم/مليلترمن الاضداد) مقارنة باختبار التراص ذي الحساسية 0.05 ملغم/مليلترمن الاضداد[7]،

ويعتمد مبدأ الاختبار على أستخدام عدة تشخيصية (Kit) لإجراء هذا الإختبار الذي أستخدم فيه اضداد الغلوبيولين (Anti-globulin) المرتبط بالإنزيم (Horse-Raddish peroxidase; HRP) التي لها القدرة على الارتباط بالاضداد الموجودة في مصل الدم والبلازما المنوية للذكور قليلي الخصوبة اذ ان لهذه الاضداد القدرة على الارتباط بمستضدات النطف[8].

- **طريقة العمل**

أ- حُضِر محلول الغسل وذلك بتخفيف محلول الغسل المركز(50 مل) بإضافة 450 مل من الماء المقطر.

ب- خففت الامصال (100:1) وذلك باضافة 5 مايكروليتر من كل مصل الى495 مايكروليتر من أنموذج التخفيف.

ت- أضيف 50 مايكروليترمن المحاليل القياسية الى الحفر الأربع الاولى ومن دون تخفيف، ثم أضيف 50 مايكروليتر من مصل السيطرة الموجب و50 مايكروليتر من مصل السيطرة السالب ثم أضيف 50 مايكروليتر من الامصال المخففة (Diluted samples) الى باقي الحفر.

ث- حُضنت الصفيحة (Microtiter strips) بدرجة حرارة 37 ˚م لمدة 60 دقيقة في مكان رطب.

ج- بعد الحضن فُرغت حفر الصفيحة من المحتويات ثم غُسلت بإضافة 200 مايكروليترمن محلول الغسل المخفف وأعيدت عملية الغسل ثلاث مرات ثم قُلبت الصفيحة على ورق نشاف وطُرقت جيداً للتخلص من محلول الغسل.

ح- أضيف 50 مايكروليترمن المقترن الى الحفر كلها وهو عبارة عن HRP (Anti-human –IgG,IgA,IgM).

خ- حُضنت الصفيحة بدرجة حرارة 37˚م لمدة 60 دقيقة في مكان رطب.

د- ُفرّغت حفر الصفيحة من المحتويات ثم ُغسلت بإضافة 200 مايكروليترمن محلول الغسل المخفف واعيدت عملية الغسل خمس مرات ثم قلبت الصفيحة على ورق نشاف وطرقت جيداً للتخلص من محلول الغسل.

ذ- أضيف 50 مايكروليتر من محلول (Substrate solution) الى الحفر كلها بعد الغسل مباشرة، ثم ُحضنت بدرجة حرارة الغرفة لمدة 30 دقيقة، عندها تحولت النماذج الموجبة الى اللون الازرق .

ر- بعد الحضن، أضيف 50 مايكروليتر من محلول ايقاف التفاعل (Stop solution) الى الحفر كلها لايقاف تفاعل الانزيم، وهذا المحلول عبارة عن H_2SO_4 بعيارية 0.25 مولاري، الذي حول النماذج الى اللون الاصفر .

ز- قُرأت العينات بجهاز ELISA على طول موجي 450 نانوميتر، وخلال 10 دقائق من وقف التفاعل.

اختبار التحري عن اضداد المايتوكوندريا بتقنية ELISA

أستخدِمت عدة تشخيصية (Kit) لإجراء هذا الإختبار الذي أستخدِم فيه اضداد الغلوبيولين (Anti-globulin) المرتبط بالإنزيم (Pyruvate dehydrogenase complex; PDH) المغلف لحفر صفيحة Microtiter strips التي لها القدرة على الارتباط باضداد المايتوكوندريا الموجودة في مصل دم الأنسان اذ ترتبط مع مستضد الاغلفة الخارجية والداخلية للمايتوكوندريا (Inner and outer mitochondrial membranes) في مصل الدم. ويعد هذا الاختبار ذا نوعية عالية لامراض التهاب الكبد وامراض المايتوكوندريا[9].

طريقة العمل

أ- حُضِر محلول الغسل وذلك بتخفيف محلول الغسل المركز (50 مل) بإضافة 450 مل من الماء المقطر.

ب- خُففت الامصال بنسبة 100:1 وذلك بإضافة 10 مايكروليتر من المصل الى 990 مايكروليتر من دارئ التخفيف.

ت- أضيف 100 مايكروليتر من المحاليل القياسية وكانت تراكيزها كالآتي (2U/ml و8U/ml و31U/ml و125U/ml و500U/ml)الى الحفر الخمسة الاولى ومن دون تخفيف ثم أضيف 100 مايكروليتر من أنموذج السيطرة الموجب الى الحفرة السادسة و100 مايكروليتر من أنموذج السيطرة السالب الى الحفرة السابعة ثم أضيف 100 مايكروليتر من نماذج الامصال المخففة الى باقي الحفر في الصحيفة.

ث- حُضنت الصفيحة بدرجة حرارة الغرفة (18-25˚ م)لمدة ساعة واحدة في مكان رطب .

ج- بعد الحضن فُرغت حفر الصفيحة من المحتويات ثم غُسلت بإضافة 250 مايكروليتر من محلول الغسل الى كل حفرة وكُررت العملية ثلاث مرات ثم قُلبت الصفيحة على ورق نشاف وطُرقت جيداً للتخلص من محلول الغسل.

ح- أضيف 100 مايكروليتر من محلول المقترن الى كل حفرة في الصفيحة .
خ- حُضنت الصفيحة بدرجة حرارة الغرفة لمدة 30 دقيقة في مكان رطب .
د- غُسلت الصفيحة مرة أخرى بإضافة 250 مايكروليتر من محلول الغسل الى كل حفرة وكُررت العملية ثلاث مرات، ثم قُلبت الصفيحة على ورق نشاف وطُرقت جيداً للتخلص من محلول الغسل .
ذ- أضيف 100 مايكروليتر من محلول (Substrate solution) الى كل حفرة في الصفيحة وحُضنت الصفيحة لمدة 10 دقائق بدرجة حرارة الغرفة (18-25° م)، وعندها لوحظ تغير لون النماذج الموجبة الى اللون الازرق .
ر- أضيف 100 مايكروليتر من محلول ايقاف التفاعل الى كل حفرة في الصفيحة، وعندها لوحظ تغير لون النماذج الى اللون الاصفر.
ز- قُرأت العينات بجهاز ELISA على طول موجي 450 نانوميتر وخلال 30 دقيقة من وقف التفاعل.

النتائج والمناقشة:

بيانات السائل المنوي

حجم السائل المنوي

توضح نتائج الجدول(1) انعدام الفروق المعنوية بين معدلات احجام عينات السائل المنوي في كل من افراد السيطرة والمرضى المصابين باضداد النطف والمصابين بوهن النطف والمصابين باللانطفية، وكانت هذه المعدلات ضمن الحدود الطبيعية لحجم السائل المنوي (2-6 مل) والذي اشارت اليه منظمة الصحة العالمية[5].

جدول1: بيانات السائل المنوي في المرضى قليلي الخصوبة وأفراد السيطرة.

عينات الدراسة		العدد	بيانات السائل المنوي (المعدل ± الخطأ القياسي)*					
			حجم السائل المنوي (مل)	عدد النطف (نطفة/مل × 10^6)	شواذ النطف (%)	الحركة Motility (%)		
						A	B	C	D
السيطرة		20	$^{أ}0.3 \pm 3.6$	$^{أ}4.2 \pm 63.2$	$^{أ}1.8 \pm 31.5$	$^{أ}1.3 \pm 34.0$	$^{أ}1.6 \pm 13.5$	$^{أ}1.7 \pm 22.3$	$^{أ}1.0 \pm 30.0$
المرضى قليلو الخصوبة	أضداد النطف	40	$^{أ}0.3 \pm 3.4$	$^{ج}4.0 \pm 44.6$	$^{ج}3.0 \pm 55.0$	$^{ب}1.8 \pm 5.4$	$^{أ}1.5 \pm 11.5$	$^{ب}2.3 \pm 30.1$	$^{ج}3.3 \pm 53.0$
	وهن النطف	20	$^{أ}0.4 \pm 3.3$	$^{ج}6.0 \pm 46.9$	$^{ج}4.0 \pm 60.7$	$^{د}1.2 \pm 2.0$	$^{أ}2.2 \pm 10.2$	$^{أ}3.7 \pm 29.0$	$^{ج}5.0 \pm 58.7$
	اللانطفية	20	$^{أ}0.4 \pm 3.6$	لم تلاحظ النطف	لم تلاحظ النطف	لم تلاحظ النطف			

* تمثل الأحرف المختلفة فرقاً معنويا (الاحتمالية ≤ 0.05) بين معدلات العمود (Column) الواحد بحسب اختبار دنكن (Duncan test).

أعداد النطف

تبين نتائجاعداد النطف في الجدول (1) وجود علاقة ذات دلالة معنوية عند مستوى احتمالية ≤0.05 بين معدلات اعداد نطف السيطرة وبين كل من معدلات اعداد النطف في الذكور المصابين باضداد النطف ووهن النطف ولم يلاحظ وجود فرق معنوي في معدل اعداد النطف بين المصابين باضداد النطف والمصابين بوهن النطف، اما بالنسبة للمصابين باللانطفيةفليس هنالك وجود للنطف في السائل المنوي. وعلى الرغم من وجود فرق معنوي بين اعداد نطف السيطرة ومعدلاتها في المرضى المصابين باضداد النطف والمصابين بوهن النطف إلا أنها كانت ضمن الحدود الطبيعية التي حددتها منظمة الصحة العالمية، اي ان وجود اضداد النطف لم يؤثر في اعدادها وعملية انتاجها وانما أدى الى تراصها واضعاف قابليتها على الاخصاب وهذا يتفق مع ملاحظات العالمان[10].

شواذ النطف

اما فيما يخص شواذ النطف فقد لوحظ وجود علاقة ذات دلالة معنوية عند مستوى احتمالية ≤ 0.05 بين معدل النسبة المئوية لشواذ النطف في افراد السيطرة ومعدلاتها في المرضى المصابين باضداد النطف ووهن النطف، ولم يلاحظ وجود فرق معنوي في تلك المعدلات بين المرضى المصابين باضداد النطف والمصابين بوهن النطف، وقد يعود سبب ارتفاع معدلات النسب المئوية للنطف الشاذة في المرضى المصابين باضداد النطف الى التأثير الضار لأضداد النطف في عملية انضاج النطف والتي من الممكن ان تحدث نتيجة وجود عامل معين يؤثر في عملية الانطاف او نتيجة تدخل المناعة الخلوية وحدوث عمليات البلعمة والذي يتفق مع ملاحظات باحثين اخرين[11]. اما ارتفاع نسبة النطف الشاذة في المرضى المصابين بوهن النطف فقد اتفقت تلك النتائج مع[12] اذ يعود هذا الارتفاع الى الاصابات بخمج المسالك التناسلية الذكرية او التعرض للملوثات البيئية مثل التعرض للمواد الكيميائية والاشعاع.

حركة النطف

اظهرت نتائج حركة النطف وجود علاقة ذات دلالة معنوية عند مستوى احتمالية ≤ 0.05 بين افراد السيطرة وبين كُلٍ من المرضى المصابين باضداد النطف وفي المصابين بوهن النطف في النسب المئوية لحركات النطف الاربع اذ يعود سبب النقص في الحركتين A وB في المرضى المصابين باضداد النطف الى تأثيرالاضداد في حركة النطف اذ ان حركة النطف تتأثر بوجود الاستجابات المناعية ضد النطف والتي تعمل على اعاقة حركة النطف اما الارتفاع في معدل نسبة الحركتين C وD يعود الى وجود اضداد النطف في البلازما المنوية التي تؤدي الى مهاجمة النطف مسببة تراصها واعاقة حركتها او موتها[13] .

ويعود سبب النقص في الحركتين A وB وزيادة نسبتها في الحركتين C وD في المرضى المصابين بوهن النطف الى وجود اصابات في القناة التناسلية الذكرية او خمج المسالك التناسلية الذكرية او خللٍ في عملية الانطاف (Spermatogenesis) التي بدورها تختزل حركة النطف وهذا مابينه الباحثون[12].

اختبار اضداد النطف في المصل

تبين النتائج الموضحة في الجدول(2) وجود عينة موجبة واحدة لاضداد النطف في مصل افراد السيطرة وبنسبة 5%، في حين اظهرت النتائج وجود 40 عينة موجبة لاضداد النطف في المرضى المصابين باضداد النطف وبنسبة 100%، بينما لم تظهر اي اصابة في المصابين بوهن النطف، ولكن وجدت 5 عينات موجبة لاضداد النطف في المصابين باللانطفية وبنسبة 25%، وبينت هذه النتائج وجود 45 عينة موجبة لاضداد النطف في مصل المرضى قليلي الخصوبة وبنسبة 56.25%. وتشير هذه النتائج الى وجود علاقة ذات دلالة معنوية عند مستوى احتمالية ≤ 0.001 بين افراد السيطرة والمرضى قليلي الخصوبة، ويعود هذا الفرق المعنوي الى ارتفاع النسبة المئوية للعينات الموجبة لاضداد النطف في المرضى المصابين باضداد النطف والمصابين باللانطفية. ان لاضداد النطف في المصل اهمية كبيرة اذ اشارت بعض الدراسات ا[8] الى تأثير اضداد النطف المصلية في نسبة الخصوبة بسبب مرور هذه الاضداد من الدم الى السائل المنوي من خلال البروستات التي تسبب توقف او بطء حركة النطف ومن ثم اضعاف هجرة النطف خلال المسلك التناسلي الانثوي وتتداخل مع عملها عند وصول النطفة المغلفة بالاضداد الى موقع الاخصاب.

جدول(2): الأعداد والنسب المئوية لأضداد النطف في المصل للمرضى قليلي الخصوبة وأفراد السيطرة.

عينات الدراسة		العدد	العينات الموجبة لأضداد النطف	
			العدد	%
السيطرة		20	1	5.0
المرضى قليلو الخصوبة	أضداد	40	40	100.0
	وهن	20	0	0.0
	اللانطفية	20	5	25.0

مربع كاي (Pearson Chi-square) = 81.079 ؛ درجات الحرية = 3 ؛ الاحتمالية ≤0.001

مستويات اضداد النطف في المصل

يبين الجدول (3) معدلات مستويات اضداد النطف في المصل، اذ أوضحت هذه النتائج وجود فرق ذي دلالة معنوية عند مستوى احتمالية ≤ 0.05 في معدل المستوى المصلي لاضداد النطف بين افراد السيطرة والمرضى المصابين باضداد النطف واللانطفية.

جدول 3: مستوى أضداد النطف في المصل للمرضى قليلي الخصوبة وأفراد السيطرة

عينات الدراسة		العدد	المعدل ± الخطأ القياسي (وحدة عالمية/مل)*
			اضداد النطف في المصل
السيطرة		20	37.0 ± 3.4 ج
المرضى قليلو الخصوبة	أضداد النطف	40	107.6±9.3 أ
	وهن النطف	20	36.0 ± 2.3 ج
	اللانطفية	20	53.1 ± 8.0 ب

* تمثل الأحرف المختلفة فرقاً معنويا (الاحتمالية ≤ 0.05) بين معدلات العمود (Column) الواحد بحسب اختبار دنكن (Duncan test).

أضداد المايتوكوندريا في المصل

الاعداد والنسب المئوية لاضداد المايتوكوندريا

يبين الجدول (4) الاعداد والنسب المئوية للعينات الموجبة لاضداد المايتوكوندريا في مصل افراد السيطرة والمرضى قليلي الخصوبة. توضح تلك النتائج عدم وجود فروقٍ ذي دلالة معنوية بين افراد السيطرة والمرضى قليلي الخصوبة.

جدول(4):الاعداد والنسب المئوية لاضداد المايتوكوندريافي المصل للمرضى قليلي الخصوبةوافراد السيطرة.

عينات الدراسة		العدد	العينات الموجبة لأضداد المايتوكوندريا	
			العدد	%
السيطرة		20	3	15.0
المرضى قليلو الخصوبة	أضداد النطف	40	15	37.5
	وهن النطف	20	5	25.0
	اللانطفية	20	4	20.0

مربع كاي (Pearson Chi-square) = 4.236 ؛ درجات الحرية = 3 ؛ الاحتمالية > 0.05

المستوى المصلي لاضداد المايتوكوندريا

يوضح الجدول (5) معدلات المستويات المصلية لاضداد المايتوكوندريا في عينات الدراسة

وتوضح هذه النتائج وجود فرق ذي دلالة معنوية عند مستوى احتمالية ≤ 0.05 بين افراد السيطرة والمرضى المصابين باضداد النطف، في حين لايوجد فرق معنوي بين افراد السيطرة والمصابين بوهن النطف واللانطفية. ويعود السبب لارتفاع مستوى اضداد المايتوكوندريا في مصل المرضى المصابين باضداد النطف ووهن النطف الى ان هذه الاضداد تترافق مع بعض الامراض المناعية، اذ يمكن ملاحظة تأثير هذه الاضداد في ارتفاع نسبة الشواذ في نطف المرضى المصابين باضداد النطف ووهن النطف، إذ تعمل هذه الاضداد على مهاجمة الاغلفة الخارجية للمايتوكوندريا(Outer mitochondria sheath) ومن ثم تعمل على تحطيم المايتوكوندريا مما يسبب اختزالاً في طول القطعة الوسطية للنطفة مما يؤدي الى عدم تجهيز تلك النطف بالطاقة الضرورية لحركتها وهذا ماأكده الباحثون[14]. وقد يعود السبب في وجود تلك الاضداد المهاجمة لمايتوكوندريا النطف الى تلف في الحائل القندي مما يؤدي الى تسربها من الدم خلال المسلك التناسلي الذكري.

جدول5: مستوى أضداد المايتوكوندريا في المصل للمرضى قليلي الخصوبة وأفرادالسيطرة

عينات الدراسة		العدد	المعدل ± الخطأ القياسي (وحدة عالمية/مل)*
			اضداد المايتوكوندريا في المصل
السيطرة		20	^{c}0.9±6.5
المرضى قليلو الخصوبة	أضداد النطف	40	^{1}1.4±11.9
	وهن النطف	20	^{a}1.7±8.7
	اللانطفية	20	^{c}1.0±6.8

* تمثل الأحرف المختلفة فرقاً معنويا (الاحتمالية ≤ 0.05) بين معدلات العمود (Column) الواحد بحسب اختبار دنكن (Duncan test).

المصادر:

1-Dohle, G. R., Jungwirth, A., Colpi, G., Giwercman, A., Diemer, T. and Hargreave, T. B. 2008. Guide lines on male infertility. *European Association of Urology*. pp. 6-10.

2-Turek, P. J. 2004. Male infertility. In: *Smithś General Urology*. Tanagho, E. A. and McAninch, J. W. (eds). 15th edn. Lang Medical Books /McGraw-Hill, USA. pp. 678-685.

3-Sinisi, A. A., Difinizo, B., Pasquali, D., Scurini, C., D'Apuzzo, A. and Bellastella, A. 2008. Prevalence of antisperm antibodies by sperm MAR test in subjects undergoing aroutine sperm analysis for infertility. *Int. J. Androl*. **16**: 311-314.

4-Comhaire, F. H. 1999. Conventional methods of semen analysis. In: *Male infertility*: Clinical investigation. Chapman and Hall Medical, London, Glasgow, NewYork. pp. 143-153.

5-World Health organization. 2002. Manual on Basic Semen Analysis. 4th edn. NAFA and ESHRE-SIGA. pp: 1-31.

6-Tanagho, E. A. 2000. Disorders of the bladder, prostate and seminal vesicles. In: *Smith´s General Urology*. Tanagho, E. A. and McAninch, J. W. (eds). 15th edn. Lang Medical Books /McGraw-Hill, USA. pp. 655-660.

7-Jones, L. L., Aziz, N., Seshadri, S., Douglas, A. and Howard, P. 2003. Sperm chromosomal abnormalities are linked to sperm morphologic deformities. *Fertile. Sterile*. **79**: 212-215.

8-Witkin, S. S. 2004. Antisperm antibodies in infertility. In: *Reproductive Medicine Secrets*. Chan, P. T. K., Goldstein, M. and Rosenwaks, Z. (eds). Hanley and Belfus, INC. USA. pp.41-48.

9-Nakada, K., Sato, A., Yoshida, K., Morita, T., Tanaka, H., Inoue, S., Yonekawa, H. and Hayashi, J. 2006. Mitochondria-related male infertility. *Pro.C.Natl.Acad.Sci*. USA. **103**: 15148-15153.

10-Kremer, R. J. and Jager, S. 1992. The significance of anti sperm antibodies for sperm-cervical mucus interaction. *Hum. Reprod*. **7**: 781-784.

11-Marshburn, P. B. 1997. Antisperm antibodies and infertility. Infertility and Reproductive Medicine. *Clin. North Am.* **8**: 243-266.

12-DeCelis, R., Feria-Velasco, A., Gonzales-Unzaga, M., Torres-Calleja, J. and Pedron-Nuevo, N. 2000. Semen quality of workers

2007. Results of intracytoplasmic sperm ingection in two infertile patients with abnormal organization of sperm mitochondrial sheaths and severe asthenoteratozoospermia. *Fertil. Steril*. **88**: 649-653.

occupationally exposed to hydro carbons. *Fertil. Steril*., **73**: 221-228.

13-Lu, J., Huang, Y. and Lu, N. 2008. Review: Anti-sperm immunity and infertility. *Expert Review of Clinical Immunology*. **4**: 113-126.

14-Rawe, V. Y., Hermes, R., Nodar, F. N., Fiszbajn, G. and Chemes, H. E.

Studying some Immunological and Hormonal profiles in Infertile Male

Sahar M. Ahmad* ***Talib A. Hussain**** ***Ali H. Ad'hiah****

*Department of Biology, College of Women Science, University of Baghdad
** Tropical- Biological Research Unit, College of Science, Univ. of Baghdad.

Abstract:

The present study was designed to evaluate the immunological status in a sample of Iraqi males with primary infertility and them age range18-55 years, who were attending the Centre of Infertility and *in vitro* Fertilization (Kamal Al-Samaraie Hospital, Baghdad) during the period December 2008 – April 2009. They were divided into three groups; 40 patients with anti-sperm antibodies (ASA), 20 patients with Asthenozoospermia (AST) and 20 patients with azoospermia (AZO). In adition to20 fertile males was as control group. The parameters of evaluations were standard seminal fluid analysis, anti-sperm antibodies and anti-mitochondrial antibodies in serum, Therefore, two types of samples were collected from each subject; seminal fluid and blood.

The following results were obtained:

1. There was a significant ($P \leq 0.05$) decrease count of sperms in ASA (44.6×10^6 sperm/ml) and AST (46.9×10^6 sperm/ml) patients as compared to controls (63.2×10^6 sperm/ml) but the the result with in normal limit.
2. Serum anti-sperm antibodies were positive in 100.% of ASA patients, while in AZO patients, a much lower percentage was observed (25% for serum), and a much lower percentage was observed in controls (5% for serum but these influence were not clear). In contrast, none of the AST patients were positive ASA. These results were positively correlated with the corresponding serum and seminal fluid level, and the highest level was observed in ASA patients (107.6 U/ml). These differences were statistically significant.
3. Serum AMA showed different percentages in ASA, AST and AZO patients and controls (37.5, 25.0 and 20.0, 15.0%, respectively), but these differences were not significant. However, their serum level was significantly increased in ASA patients as compared to controls (11.9 *vs*. 6.5 U/ml).