Print ISSN: 2073-8854 & Online ISSN: 2311-6544
Magazin of Al-Kufa University for Biology / VOL.7/ NO.2/ Year : 2015
http://www.kufabiojournal.org

علاقة تركيز المالون ثنائي الديهايد (MDA) بمعالم النطف والنسبة المئوية لكروماتين النطف غير السوي في مرضى العقم المصابين بوهن النطف .

وليد عبد علي الخفاف
كلية التربية للبنات /
قسم علوم الحياة/جامعة الكوفة

أ . م . د . صاحب يحيى المرشدي
كلية الطب / فرع الجراحة البولية و العقم /
جامعة الكوفة

أ . م . د . زينب شنيور مهدي الطرفي
كلية التربية للبنات
قسم علوم الحياة/جامعة الكوفة

الخلاصة Abstract

انجزت هذه الدراسة في مركز الخصوبة / مدينة الصدر الطبية / محافظة النجف الاشرف للفترة من 2012/11/1 الى 30 / 4/ 2013 قسمت عينات المني الى مجموعتين الرجال الخصبين والذين يبلغ عددهم17عينة Fertile Normozoospermia ومرضى وهن النطف Asthenozoospermia والذين يبلغ عددهم (32) عينة ,وكان معدل اعمارهم للرجال الخصبين (30.9±1.36) ولمرضى وهن النطف (31.4±1.63) . وبلغ عدد العينات الكلي (49) عينة , هدفت هذه الدراسة الى معرفة العلاقة بين تركيز المالون ثنائي الديهايدMalondialdehyde(MDA) ومعالم النطف والنسبة المئوية لكروماتين النطف غير السوي في مرضى وهن النطف Asthenozoospermia .اظهرت نتائج هذه الدراسة وجود انخفاض معنوي ($p< 0.05$) في تركيز النطف والنسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية والنسبة المئوية للنطف السوية لمرضى وهن النطف مقارنة بالرجال الخصبين بينما لوحظ وجود زيادة معنوية ($p< 0.05$) في تركيز المالون ثنائي الديهايد (MDA) والنسبة المئوية لكروماتين النطف غير السوي لمرضى وهن النطف مقارنة بالرجال الخصبين كما أظهرت نتائج هذه الدراسة وجود علاقه سالبة بين تركيز المالون ثنائي الديهايد (MDA) ومعالم النطف المتمثلة بتركيز النطف ($r=-0.5543, p< 0.05$) ، والنسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية ($R=-0.7756,P<0.05$) , والنسبة المئوية للنطف السوية بينما لوحظ وجود علاقة موجبه بين تركيز المالون ثنائي الديهايد (MDA) والنسبه المئوية لكروماتين النطف غير السوي ($r= 0.7066,P<0.05$) يستنتج من البحث الحالي ان الزياده في تركيز المالون ثنائي الديهايد (MDA) يؤثر بشكل سلبي في معالم النطف وسلامة كروماتين النطف .

المقدمة Introduction

يطلق مصطلح وهن النطف عندما تكون النسبة المئوية للنطف المتحركه حركه تقدميه أقل من 32 % (WHO,2010) اشار Curi وجماعته (2003) الى ان حوالي (20 %) من الرجال غير الخصبين يعانون من وهن النطف كما صنف Pardo وجماعته (1988) وهن النطف الى نوعين رئيسين هما وهن النطف المتوسط Moderate Asthenozoospermia وذلك عندما تكون حركة النطف ما بين (20-40 %) والصنف الاخر هو وهن النطف الحاد Sever Asthenozoospermia وذلك عندما تكون حركة النطف أقل من (20 %) . من الاسباب التي تسهم في وهن النطف هو وجود التغيرات في التراكيب الدقيقه لذيل النطفه وان من اهم هذه التغيرات الفقدان الكلي او الجزئي لذراع الداينين وكذلك فقدان احد النبيبات الدقيقة Microtubules (Ryder *et al* ., 1990) .لاحظ كمونه (2011) ان تركيز المالون ثنائي الديهايد (MDA) في البلازما المنوية يرتبط بعلاقه عكسية مع النسبه المئوية للنطف ذات الحركه التقدميه وعلاقه طرديه مع النطف ذات الحركه الموضعيه والنطف غير المتحركه. أشارت بعض الدراسات الى ان الزياده في الانواع الاوكسجينيه الفعاله Reactive oxygen species (ROS) تعد احد اسباب تحطم الحامض النووي (DNA) للنطفه في نواة خلية النطفة ويرافق ذلك انخفاض في الحركه والقدره الاخصابية للنطفة (Aitken *et al*.,1998)، كما يعتقد ان الجهد التاكسدي Oxidative stress (OS) يلعب دور المفتاح لاسباب التحطم الحاصل في الحامض النووي (DNA) للنطفة (Aitken *et al*., 2010) . يعرف الجهد التاكسدي (OS) بانه حالة عدم التوازن بين انتاج الانواع الاوكسيجينيه الفعاله (ROS) وبين ميكانيكية الدفاع المتمثله بمضادات الاكسده Antioxidants في القناة التكاثرية (Momen *et al* . ,1999) حيث ترتبط الزياده في الجهد التاكسدي بعلاقه عكسية مع معالم النطف السوية التي تتمثل بالحركه والعيوشية والشكل السوي كماتؤدي الى فشل عمليتي التمكين Capacitation وتفاعل الجسيم الطرفي Acrosome reaction (Pasqualotto *et al* . , 2000) لان الزياده في مستوى الانواع الاوكسجنية الفعالة (ROS) في المني تسبب زيادة في اكسدة الدهون وضرر الغشاء البلازمي للنطف مما ينتج عنها انخفاض في حركة النطف (Al-Varez and storey ,1982) وتثبيط انزيمات التحلل السكري وضرر غشاء الجسيم الطرفي (Al-Varez and storey ,1984) الذي يؤدي الى انخفاض قابلية النطف على اختراق البيوض (Gil-Guzman *et al* . ,2001) ، كما تعمل الانواع الاوكسيجينيه الفعاله (ROS) على اكسدة البروتينات وكسرالاواصر الهيدروجينيه بين القواعد النتروجينيه المشكله للحامض النووي (DNA)

Print ISSN: 2073-8854 & Online ISSN: 2311-6544
Magazin of Al-Kufa University for Biology / VOL.7/ NO.2/ Year : 2015
http://www.kufabiojournal.org

للنطف (Allen and Tresini ,2000) . يعد موضوع سلامة الحامض النووي DNA integrity للنطف ذات اهميه كبيرة في الاخصاب وتطور الاجنه (Evenson *et al.* ,1999) حيث ذكر Carrell وجماعته (2003) ان ضرر الحامض النووي(DNA) للنطفه يسبب انخفاض في معدلات الاخصاب وفشل تطور الاجنه قبل الغرس وزيادة في نسبة الطلاق وزيادة في امراضية النسل .
هدف البحث الحالي الى معرفة تاثير الزيادة في تركيز المالون ثنائي الديهايد (MDA) في معالم النطف وكروماتين النطف .

المواد وطرائق العمل

انجزت الدراسه في مختبرات مركز الخصوبة /Fertility Center/ مدينة الصدر الطبيه / في محافظة النجف الاشرف وتم جمع عينات السائل المنوي للمدة من 1 / 11/ 2012 ولغاية 30 / 4 / 2013 للرجال الخصبين والذين يبلغ عددهم (17) عينة ومرضى وهن النطف الذي يبلغ عددهم (32) عينه وكانت معدل اعمارهم للرجال الخصبين (30.9±1.36) ولمرضى وهن النطف (31.4±1.63) وبلغ عدد العينات الكلي (49) عينه . تم دراسة معالم النطف وتركيز المالون ثنائي الديهايد (MDA) في البلازما المنوية والنسبة المئوية لكروماتين النطف غير السوي لمرضى وهن النطف والاشخاص الخصبين ودراسة العلاقة بين تركيز المالون ثنائي الديهايد (MDA) ومعالم النطف والنسبة المئوية لكروماتين النطف غير السوي .

***جمع عينات السائل المنوي Seminal fluid specimens collection**

جمعت عينات السائل المنوي في وعاء Container نظيف وجاف ومعقم سعته(40) مليلتر وكتب اسم الزوج على الوعاء حيث جمع المني بطريقة الاستمناء Masturbation بعد فترة امتناع (3-5) أيام Abstinence period ثم وضعت العينات في الحاضنة بدرجة حرارة (37) درجة مئوية للسماح لها بالاماعه الطبيعيه Normal Liquefaction(WHO,1999) .

*** فحص السائل المنوي Seminal fluid analysis**

اخذت قطرة واحدة من كل عينه ممزوجة جيدا بعد الاماعه التامة ووضعت القطرة على شريحة زجاجية Slide دافئة وغطيت بغطاء الشريحة الزجاجية القياسية Cover slip ثم فحصت اولا تحت القوة 10X ومن ثم القوة 40X وتم قياس معالم النطف التالية :(WHO,1999).

***تركيز النطف Sperm concentration**

تم تقدير تركيز النطف من معدل عدد النطف في عشرة حقول مجهرية Fields عشوائيا وضرب معدل العدد $\times 10^6$ مليون / نطفة للمليلتر الواحد (WHO, 1999) .

***النسبه المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية Progressive Sperm Motility Percent**

تم حساب النسبه المئوية للنطف المتحركه تقدميا **Progressively Motile Sperm** بحسب المعادلة الاتية :

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

. (WHO,1999)

*** النسبة المئوية للنطف السوية Normal Sperm Morphology Percent**

يكون راس النطفة السوي بيضويا ومحددا بشكل منتظم مع وجود قلنسوة الجسيم الطرفي Acrosomal Cap الذي يغطي حوالي 40-70 % من منطقة الراس , اما القطعة الوسطية فتكون اسطوانية الشكل ومستقيمة وذات حدود منتظمة , ويكون الذيل اسطواني الشكل وغير ملتف ذات حدود منتظمه ,وتعد النطفه مشوهة عند ملاحظة اي انحراف في تركيبها او شكلها السوي (WHO ,2010) تم عد النطف في عشرة حقول عشوائيا ومن ثم حسبت النسبة المئوية للنطف السوية حسب المعادله الاتيه :

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

*** تركيز المالون ثنائي الديهايد Malondialdehy concentration(MDA)**

تم حساب تركيز المالون ثنائي الديهايد(MDA) في البلازما النوويه حسب الطريقه الموصوفه في (muslih *et al* ,2002) حيث وضعت عينات المني في جهاز الطرد المركزي وبسرعه 3000 دوره/ دقيقه لمدة 15دقيقه للحصول على البلازما المنويه .

Print ISSN: 2073-8854 & Online ISSN: 2311-6544
Magazin of Al-Kufa University for Biology / VOL.7/ NO.2/ Year : 2015
http://www.kufabiojournal.org

***خطوات طريقة قياس تركيز المالون ثنائي الديهايد (MDA)**

1- وضع 150 مايكرو ليتر من البلازما المنوية للسائل المنوي في انبوبة اختبار زجاجية نظيفة وجافة ثم أضيف اليها 1سم^3 من كل (17.5) حامض الخليك ثلاثي الكلور Trichloroacetic acid (TCA) وحامض الثايوباربيتوريك Thiobarbituric acid (TBA).
2- وضعت الانبوبة الزجاجية في حمام مائي مغلي لمدة 15دقيقة ومن ثم بردت .
3- اضافة 1سم3 من 70 % (TCA) ثم ترك المزيج في درجة حرارة الغرفة لمدة 20 دقيقة
4- فصل الراشح باستعمال جهاز الطرد المركزي لمدة 15 دقيقة عند السرعه 2000دوره / دقيقة
5- قراءة الامتصاصية للراشح باستعمال جهاز المطياف الضوئي عند الطول الموجي 532 نانومتر
وتم حساب تركيز المالون ثنائي الديهايد (MDA) حسب المعادلة الاتيه :

$$\text{MDA Conc (µmol/L)} = \frac{A532}{LXEo} \times D$$

A: Absorbance at 532 nm
L: Light bath =1cm
E: Extiniction Coefficient= 1.56×10^5 $M^{-1}cm^{-1}$
D:Dilution factor = 1M /0.15Ml=6.7

*** تقييم كروماتين النطفه Sperm chromatin assessment**

تم تقييم التحطم الحاصل في كروماتين النطف حسب الطريقة الموصوفة في(Erenpreiss *et al* ,2001) .

*** خطوات طريقة تصبيغ كروماتين النطفه باستخدام الانيلين الازرق (Aniline bue stain)**

1-وضعت كميه من محلول الكلوتر الديهايد (3 %) المحضر في جار خاص .
2-وضعت كمية صبغة الانيلين المحضره في جاراخر .
3- تم عمل مسحه من السائل المنوي على شريحه زجاجيه وتركت في درجة حرارة الغرفة لحين الجفاف .
4- وضعت الشريحه الزجاجيه الحاملة للمسحة في محلول الكلوتر الديهايد (3%) لمدة نصف ساعة .
5- تم غسل الشريحة الحاملة للمسحة باستخدام محلول الفوسفات الدارىء (PBS) .
6- وضعت الشريحة الحاملة للمسحة في صبغة الانيلين لمدة 7 دقائق .
7- نقلت الشريحة الى درجة حرارة الغرفة لحين الجفاف ولوحظ بعد فحص الشريحه المحضرة من النطف المتضررة يكون الراس فيها مصبغ باللون الازرق والنطف غير المتضرره تكون عديمة او قليلة الصبغة وتم حساب على الاقل 200 نطفة في كل شريحة وحددت النسبة المئوية لكروماتين النطف غيرالسوي Sperm chromatin abnormality حسب المعادله الاتية:

$$\text{النسبة المئوية لكروماتين النطف الغير السوي} = \frac{\text{عدد النطف ذات الكروماتين غير السوي}}{\text{عدد النطف الكلي}} \times 100$$

التحليل الاحصائي :

أنجزت التحليلات الاحصائية لهذه الدراسة باستخدام اختبار F وذلك بايجاد جدول تحليل التباين (ANOVA) وعلى مستوى الاحتماليه 0.05 وباستعمال برنامج التحليل الاحصائي (SPSS) الاصدار17 وتمت مقارنة المعدلات باستخدام اختبار اقل فرق معنوي Least significant difference(LSD). اما بانسبه للتجارب التي تتكون من معاملتين فقط فقد تم اجراء التحليل الاحصائي لها باستخدام اختبار (T-Test independent sample) وعلى مستوى أحتمالية 0.05 . (Al-Rawi and Khalf – Allah ,2000)

النتائج والمناقشة

بينت نتائج الدراسة الحالية انخفاض معنوي ($P< 0.05$) في تركيز النطف والنسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية والنسبة المئوية للنطف السوية لمرضى وهن النطف مقارنة بالرجال الخصبين (مجموعة السيطرة) جدول (1) تتفق نتائج البحث الحالي مع احدى الدراسات حيث لوحظ من نتائج هذه الدراسة انخفاض معنوي ($P<0.05$) في تركيز االنطف و النسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية و النسبة المئوية للنطف السوية لمرضى وهن النطف وتشوه النطف وقلة ووهن وتشوه النطف Oligoasthenoteratozoospermia (OAT) مقارنة بسواء النطف (Khosrowbeygi *et al .,2004*)، كما بينت دراسة اخرى انخفاض معنوي ($P<0.001$) في معالم النطف المتمثلة بتركيز النطف و الشكل السوي للنطف و النسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية (A+B) لمرضى وهن النطف مقارنة بالاشخاص سواء النطف (Tavilani *et al.*,2008) , ربما يعود السبب في تلك النتائج الى ان مرضى وهن النطف يمتازون بوجود زيادة في مستويات الانواع

Print ISSN: 2073-8854 & Online ISSN: 2311-6544
Magazin of Al-Kufa University for Biology / VOL.7/ NO.2/ Year : 2015
http://www.kufabiojournal.org

الاوكسجينية الفعالة (ROS) في القناة التكاثرية و البلازما المنوية و التي تكون سبب لحدوث انخفاض في معالم النطف المتمثلة بتركيز النطف وحركة النطف والشكل السوي لها .

حيث ذكرا Agarawal و Said (2005) ان زيادة الانواع الاوكسجينية الفعالة (ROS) لدى مرضى العقم تعد سبب رئيسي لحدوث حالة وهن النطف , وتؤدي الى تسريع عملية موت الخلايا المبرمج Apoptosis في الخلايا الجرثومية Germ cells مما يؤدي الى انخفاض عدد النطف (Agarwal and Allamaneni,2004) لوحظ من هذه النتائج زيادة معنوية ($p< 0.05$) في تركيز المالون ثنائي الديهايد (MDA) لمرضى وهن النطف مقارنة بمجموعة السيطرة (شكل 1) ربما تعود تلك الزيادة في تركيز المالون ثنائي الديهايد (MDA) الى زيادة الانواع الاوكسيجينية الفعالة (ROS) لمرضى وهن النطف مقارنة بالرجال الخصبين حيث ذكرAgarwal وSaid (2005) ان زيادة مستويات الانواع الاوكسيجينية الفعالة (ROS) في مرضى العقم تعد سبب رئيسي لحدوث حالة وهن النطف .كماتوصل Al-hady وجماعته (2012) الى ارتفاع معنوي ($P<0.05$) في تركيز المالون ثنائي الديهايد (MDA) في البلازما المنوية لمرضى وهن النطف مقارنة بالرجال الخصبين (مجموعة السيطرة) وفي دراسة حديثة لوحظ ارتفاع معنوي في تركيز المالون ثنائي الديهايد وانخفاض في مضادات الاكسده لمرضى وهن النطف(Al-Salami;2011)وفي دراسة اخرى توصل Al-Hady (2006) الى زيادة معنوية ($P< 0.05$) في تركيز المالون ثنائي الديهايد لمرضى وهن النطف مقارنة بالرجال الخصبين (مجموعة السيطرة) لوحظ ايضا زيادة في تركيز المالون ثنائي الديهايد (MDA) بزيادة فترة الحضن نتيجة لوجود كريات الدم البيض في المني . أظهرت نتائج هذه الدراسة زيادة معنوية ($P < 0.05$) في النسبة المئوية لكروماتين النطف غير السوي لمرضى وهن النطف مقارنة بمجموعة السيطرة شكل (2) حيث ذكر Oleszczuk وجماعته (2011) ان هناك تغاير في تركيب الكروماتين والتحطم في الـ (DNA) للنطف عند حساب مؤشر التحطم في الـ **DNA** (DNA fragmentation *index*) *(DFI)* **بين الرجال العقيمين وهذا يتفق مع نتائج الدراسة الحالية حيث لوحظ** ان هناك تغاير في النسبة المئوية لكروماتين النطف غير السوي لمرضى وهن النطف وسواء النطف الخصبين ,ربما يعود السبب في الزيادة المعنوية (**P< 0.05**) لكروماتين النطف غير السوي لمرضى وهن النطف مقارنة بمجموعة السيطرة الى ان الزيادة في مستوى المالون ثنائي الديهايد والتي هي مؤشر للزيادة في الانواع الاوكسيجينية الفعالة (ROS) في البلازما المنوية تعد سبب لزيادة الضرر في الكروماتين والحامض النووي (DNA) للنطف ،اذ ان هناك ثلاث نظريات تفسر التحطم في الكروماتين والـ (DNA) وهي الخلل الذي يحدث في تعبئة كروماتين النطف sperm chromatin packaging وخلل في عملية الموت المبرمج للخلايا وكذلك الجهد التاكسدي (Agarwal and said ,2003) .

يلاحظ في نتائج الدراسة الحالية ارتفاع في مستويات المالون ثنائي الديهايد لذا ربما يعود السبب في الزيادة في كروماتين النطف غير السوي الى حدوث حالة الاجهاد التاكسدي وبالتالي زيادة الضرر في الكروماتين او الـ (DNA) للنطف هذا ان الاجهاد التاكسدي يتولد نتيجة الزيادة في الانواع الاوكسيجينية الفعالة وانخفاض في مستويات مضادات الاكسدة (Sikka ,2001) .ان قواعد الـ (DNA) للنطفة تكون حساسة لتاثير الانواع الاوكسجينية الفعالة المسببة لعملية اكسدة الدهون في اغشية النطف من جهة وانخفاض مستويات مضادات الاكسدة في اغشيتها من جهة اخرى (Sharma and Agarwal ,1996) مما يؤدي ذلك الى حدوث تكسر في شرائط الـ (DNA) ويلاحظ خصوصا عند الرجال العقيمين (Aitken and krausz ,2001) . تتفق نتائج هذه الدراسة مع ما اشار اليه Chohan وجماعته (2006) الى ان الرجال الذين يمتلكون معالم سوية للمني يمتلكون درجة عالية من التحطم في الـ (DNA) والذي يمكن ان يكون هو السبب لهؤلاء المرضى الذي لم يفسر العقم لديهم ,كما توصلت عدد من الدراسات الى ان الرجال العقيمين الذين يتميزون بضعف في الحركة والشكل السوي للنطف يمتلكون زيادة في مؤشر تحطم الـ (DNA) (DFI) مقارنة بالرجال سوي المعالم للمني (Lopes *et al* .,1998 ; Irvine *et al* .,2000 ; zini *et al* . , 2001) . في هذه الدراسة تم استخدام معامل الارتباط لدراسة العلاقة بين تركيز المالون ثنائي الديهايد في البلازما المنوية ومعالم المني والنطف والنسبة المئوية لكروماتين النطف غير السوي لمرضى وهن النطف بمجموعة السيطرة وكانت النتائج قد بيّنت وجود علاقة سالبة معنوية بين تركيز المالون ثنائي الديهايد ومعالم النطف المتمثلة بتركيزالنطف والنسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية والنسبة المئوية للنطف السوية لمرضى وهن النطف الاشكال (5و4و3)، حيث تتفق نتائج هذه الدراسة مع دراسات اخرى سابقة اشارت الى تلك العلاقة السالبة وبينت ان الزيادة في الانواع الاوكسجينية الفعالة اوالمالون ثنائي الديهايد في البلازما المنوية تسبب انخفاض في معالم النطف واحدى هذه الدراسات هي الدراسة التي اجراها كل من Zarghami و Khosrowbeygi (2004) لحساب تركيز المالون ثنائي الديهايد في البلازما المنوية حيث وجد ان هناك علاقة سالبة (r =-0.5-3) بين

Print ISSN: 2073-8854 & Online ISSN: 2311-6544
Magazin of Al-Kufa University for Biology / VOL.7/ NO.2/ Year : 2015
http://www.kufabiojournal.org

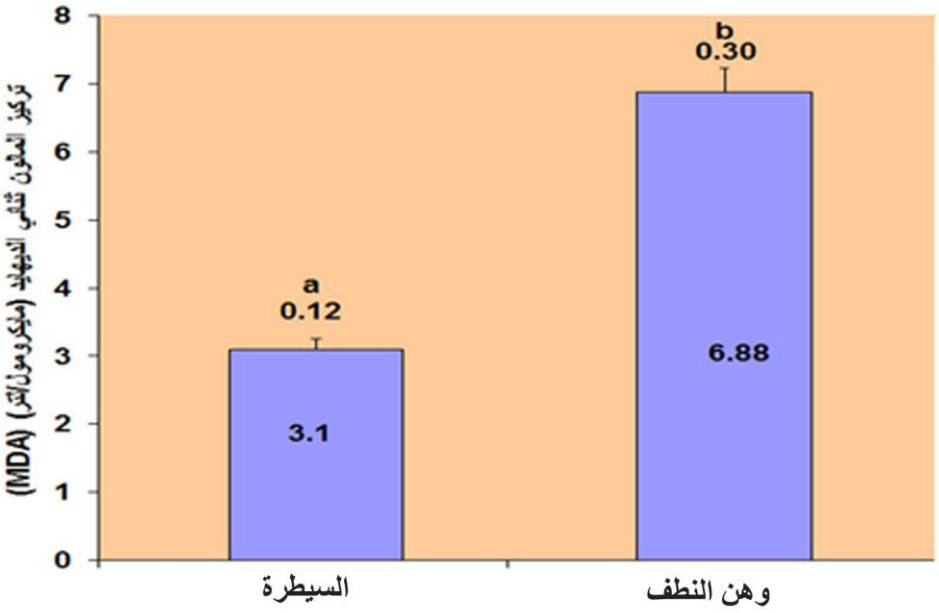
النسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية وتركيز المالون ثنائي الديهايد كما توصل Mehrotra وجماعته (2013) الى وجود علاقة سالبة بين تركيز المالون ثنائي الديهايد و تركيز النطف وحركة النطف لمرضى وهن النطف وذكروا ايضا وجود علاقة موجبة بين تركيز المالون ثنائي الديهايد والنسبة المئوية للنطف غير السوية. بينت نتائج هذه الدراسة وجود علاقة معنوية ($P< 0.05$) موجبة بين تركيز المالون ثنائي الديهايد(MDA) والنسبة المئوية لكروماتين النطف غير السوي (كمؤشر للتحطم في الـ (DNA) (DFI) في مرضى وهن النطف (شكل 6) وربما يعود السبب في وجود هذه العلاقة الموجبة الى ان الزيادة في مستويات الانواع الاوكسيجينية الفعالة لدى مرضى وهن النطف تؤدي الى الارتفاع في تركيز المالون ثنائي الديهايد في البلازما المنوية وترافق هذه بزيادة في النسبة المئوية لكروماتين النطف غير السوي , اذ لوحظ في احدى الدراسات ارتفاع معنوي في تحطم الـ (DNA) باستخدام طريقة (TUNEL) نتيجة زيادة مستويات الانواع الاوكسيجينية الفعالة في المني بعد ان قسمت الدراسة الى مجموعتين حسب المستويات الواطئه اوالعالية في الانواع الاوكسيجينية الفعالة (Mahfouz *et al* ,2010) .

جدول (1) معالم النطف و المني لمرضى وهن النطف ومجموعة السيطرة سواء النطف الخصبين

مجاميع الدراسة / المعالم المدروسة	المـــــــــــــرضى وهن النطف	الســـــــــيـطـرة سواء النطف الخصبين
تركيز النطف × 10^6نطفة/مل	4.18±53.69^b	6.34±80.53^a
النسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية%	2.33±16.06^b	2.36.74.7^a
النسبة المئوية للنطف السوية%	2.21±39.00^b	2.03±62.06^a

النتائج في الجدول تمثل المعدل ±الخطأ القياسي
عددالعينات :
سواء النطف الخصبين: Fertile Normozoospermia =17
وهن النطف: Asthenozoospermia =32
الحروف المتباينة دلالة على وجود فرق معنوي ($p<0.05$) .

Print ISSN: 2073-8854 & Online ISSN: 2311-6544
Magazin of Al-Kufa University for Biology / VOL.7/ NO.2/ Year : 2015
http://www.kufabiojournal.org



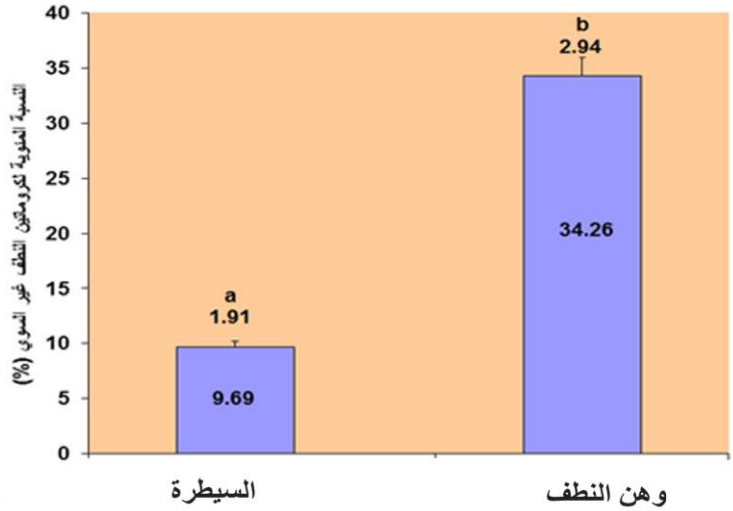
الشكل (1) . تركيز المالون ثنائي الديهايد (MDA) لمرضى وهن النطف مقارنة بمجموعة السيطرة (سواء النطف الخصبين) .

عدد العينات :

سواء النطف الخصبين :Fertile Normozoospermia= 17

وهن النطف :Asthenozoospermia=32

الحروف المتباينة دلالة على وجود فرق معنوي (P<0.05)



الشكل (2) .النسبة المئوية لكروماتين النطف غير السوي لمرضى وهن النطف مقارنة بمجموعة السيطرة (سواء النطف الخصبين) .

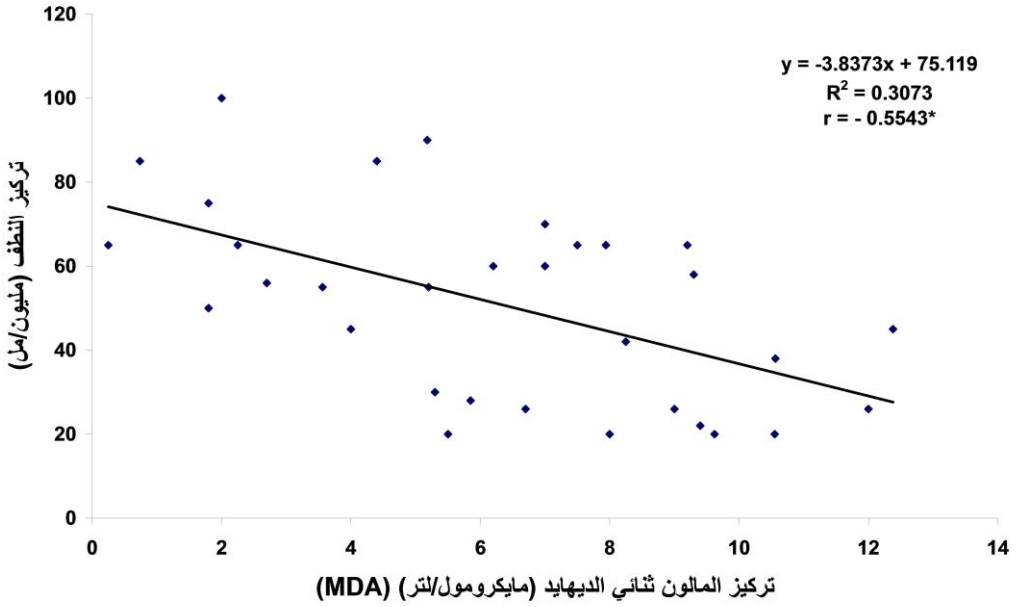
عدد العينات :

سواء النطف الخصبين :Fertile Normozoospermia= 17

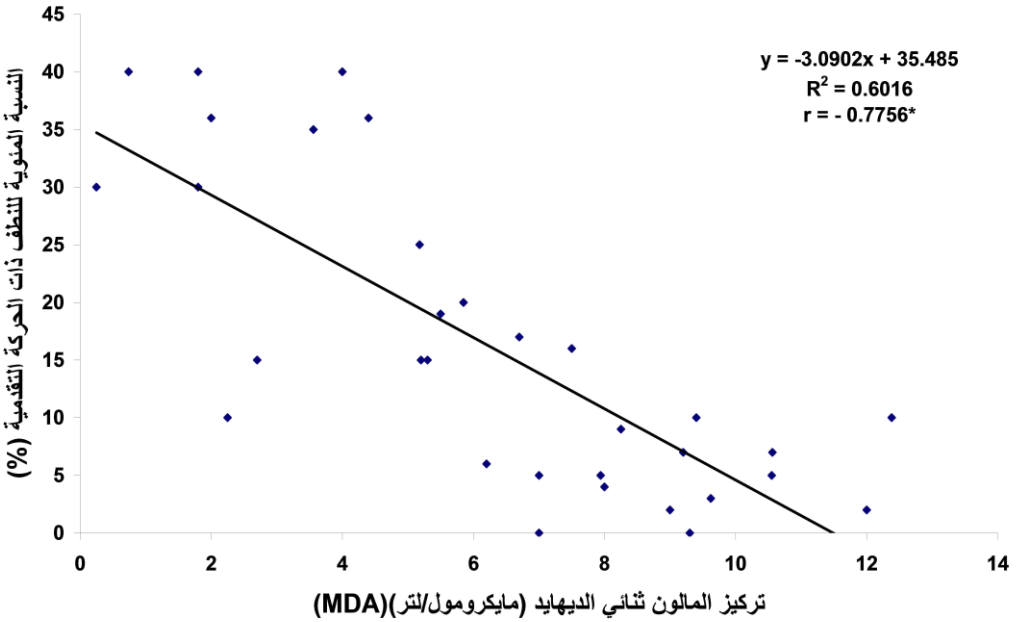
وهن النطف :Asthenozoospermia=32

الحروف المتباينة دلالة على وجود فرق معنوي (P<0.05)

Print ISSN: 2073-8854 & Online ISSN: 2311-6544
Magazin of Al-Kufa University for Biology / VOL.7/ NO.2/ Year : 2015
http://www.kufabiojournal.org

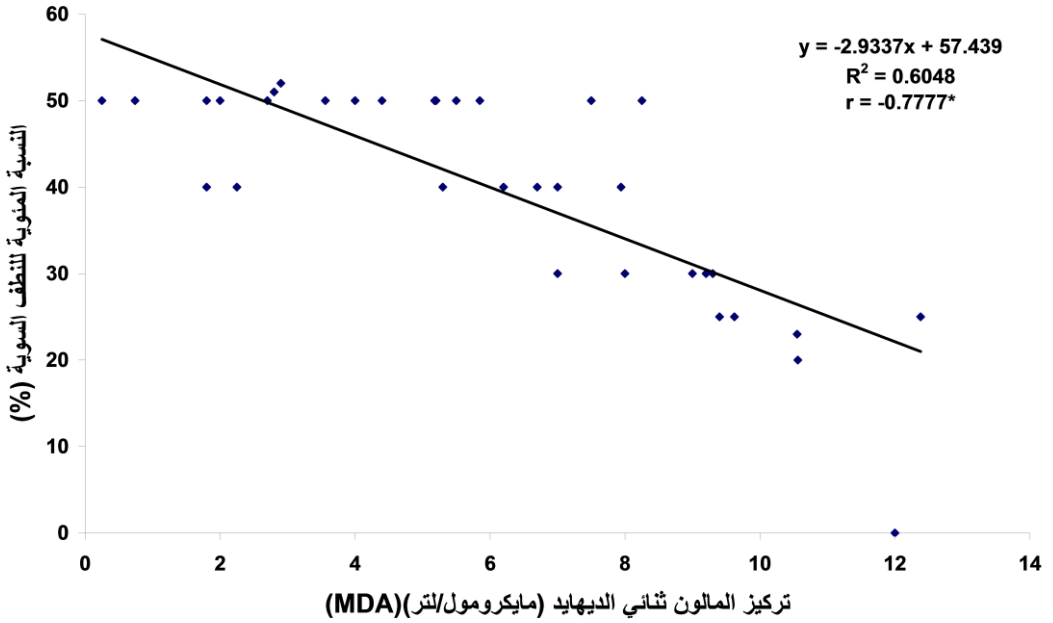


الشكل (3) : العلاقة بين تركيز المالون ثنائي الديهايد (MDA) وتركيز النطف ($P<0.05$) لمرضى وهن النطف .

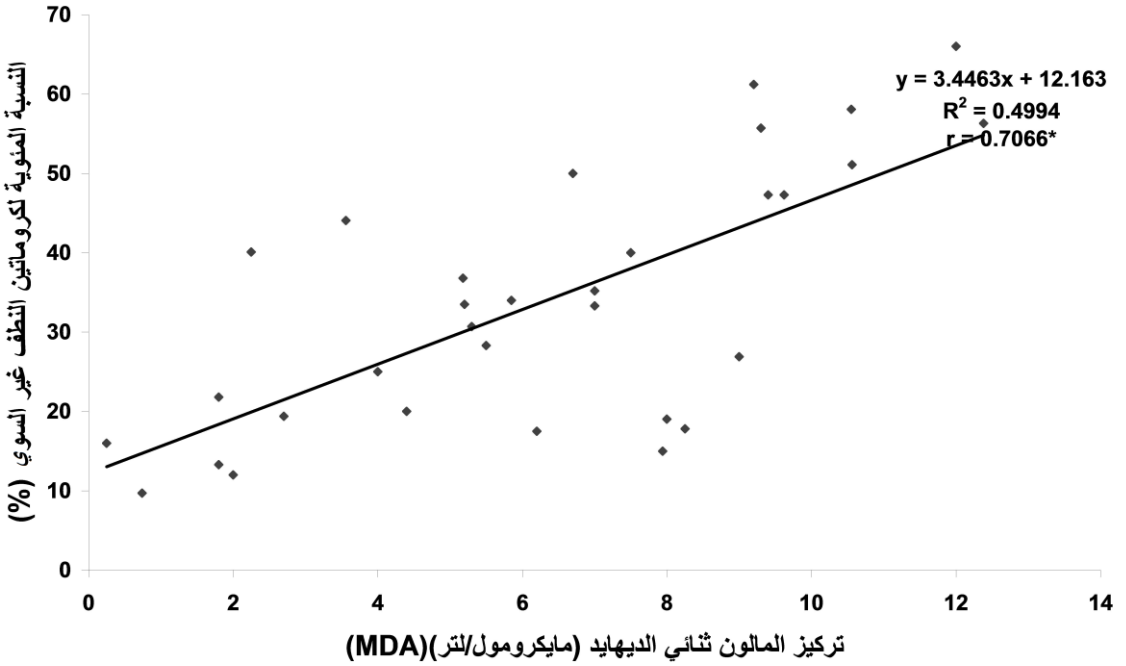


الشكل (4) : العلاقة بين تركيز المالون ثنائي الديهايد (MDA) والنسبة المئوية للنطف ذات الحركة التقدمية ($P<0.05$) لمرضى وهن النطف .

Print ISSN: 2073-8854 & Online ISSN: 2311-6544
Magazin of Al-Kufa University for Biology / VOL.7/ NO.2/ Year : 2015
http://www.kufabiojournal.org



الشكل (5) : العلاقة بين تركيز المالون ثنائي الديهايد (MDA) والنسبة المئوية للنطف السوية ($P<0.05$) لمرضى وهن النطف .



الشكل (6) : العلاقة بين تركيز المالون ثنائي الديهايد (MDA) والنسبة المئوية لكروماتين النطف غير السوي ($P<0.05$) لمرضى وهن النطف .

Print ISSN: 2073-8854 & Online ISSN: 2311-6544
Magazin of Al-Kufa University for Biology / VOL.7/ NO.2/ Year : 2015
http://www.kufabiojournal.org

المصادر باللغه العربيه :
المرشدي ,صاحب يحيى (2006) .تأثير بيروكسيد الهيدروجين وبعض مضادات الاكسده في معايير النطف البشريه خارج الجسم الحي .رسالة دكتوراه . كلية العلوم ,جامعة بابل .
كمونة , زينب حكمت (2011) . دراسة بعض المعايير المناعية و الكيموحيوية لمرضى عدم الخصوبة . رسالة ماجستير . كلية التربية , جامعة كربلاء .
المصادر باللغة الانكليزية :
Agrawal ,A .and Said , T .M. (2003) .Role of sperm chromatin abnormalities and DNA damage in male infertility .Hum .Reprod .Update ;9 :331-345.
Agarwal ,A. and Said , T .M .(2005) .Oxidative stress ,DNA damage and apoptosis in male infertility : aclinical approach . B.J.U.International ; 95 :503-507.
Agarwal ,A .and Allamaneni , S.S.R. (2004) .Oxidants and antioxidants in human fertility Middle East Fertility .Society .J ;9:187-194.
Aitken ,R.J. ;Gordon ,E.;Harkiss , D.; Twigg, J.P.; Milne, P.; Jennings,Z.and Irvine, D.S. (1998). Relative impact of oxidative stress on the functional competence and genomic integrity of human spermatozoa .Biol .Repord; 59 :1037-1046.
Aitken, R. J. and Krausz . (2001) .Oxidative stress DNA damge and the Y chromosome. Reproduction ;122:497-506.
Aitken ,R .J .;Deluliis ,G.N. ;Finnie ,J.M.Hedges,A.and Mclachlan ,R .I .(2010) .Analysis of the relationships between Oxidative stress ,DNA damage and sperm vitality in a patient population :development of diagnostic criteria .Hum .Reprod; 25: 2415-2426.
Al-hady ,F .N .A .(2006) .The level of reactive oxygen species (ROS) in fresh and aged asthenospermic ,Leukocytospermic and normospermic semen specimens.Al-qadisiya journal of veterinary medicine sciences; 5(2) :42-48.
Al-hady ,F .N .A .;Al-morshidy,S.Y.andEwadh,M.J.(2012).The effect of H2O2 and some antioxidants on human sperm parameters in vitro. J. of University of Babylon, vol.(20),No.(5):1414-1418.
Allen ,R .G .and Tresini ,M .(2000) .Oxidative stress and gene regulation .Free. Radic . Boil Med; 28:463-499.
Al-Rawi ,K .M. and Khalaf –Allah ,A .M .(2000) . Design and analysis of agriculture experiments .Mousul University .ministry of higher education and scientific research. page 488.
Al-Salami,A.S.M.(2011)).Assessment of some antioxidant in seminal fluid Asthenozoospermic patients. Ph.D.thesis. college of science, Babylon University.
Al-varez ,J.G.and storey ,B.T. (1982) .Spontaneous lipid peroxidation in rabbit epididymal spermatozoa ,Bio .Reprod ; 27 :1102-1108.
Al-vares , J.G .and storey ,B.T. (1984) .Assessment of cell damage caused by spontaneous lipid peroxidation in rabbit spermatozoa .Bio .Repord ;30 :323-332.
Carrell, D.T.; Liu ,L.; Peterson, C.M.; Jones, K.P.; Hatasaka, H.H.; Erickson, L.and Camphell, B .(2003) .sperm DNA fragmentation is increased in couples with unexplained recurrent pregency loss .Arch. Androl ; 49 :49-55.
Chohan, K. R.;Griffin ,J.T. ; Lafromboies, M. ; De jonge, C. J.and Carrell ,D .T. (2006) . Comparisan of chromatin Assay for DNA fragmentation evalution in human sperm.J.Urology ;27(1) :53-59.
Curi, S.M .; Ariagno ,J. I. ; Chenlo,P .H.; Mendeluk ,G. R. ;Puglies ,M.M .;Sardi ,L. M. ; Repetto, H.E. and Blanco ,A.M. (2003) .Asthenozoospermia: analysis of a large population arch .Androl ;49:343-349.

Erenpreiss , J. ;Bars ,J. ;Lipatnikova , V .; Erenpreisa , J .and Zalkalns ,Z. (2001). Comparative study of cytochemical test for sperm chromatin integrity . Journal of Andrology ; 22 (1) :45-53.

Evenson, D.P.; Jost, L.K.; Marshall ,D.; Zinaman, M.J.; Clegg, E.; Purvis, K.; de Angelis, P. and Claussen, O.P. (1999) .Utility of the sperm chromatin structure assay as adiagnostic and prognostic tool in the human fertility clinic .Hum .Repord ;14:1039-1049.

Gil -Guzman ,E .G .; Ollero ,M .; Lopez ,M. C. and Sharma ,R .K. (2001) .Differential production of reactive oxygen species by subsets of human spermatozoa at different stages of maturation. Hum .Repord ; 16 :1922-1930.

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

Khosrowbeygi,A.; Zarghami,N.and Deldar,Y.(2004). Correlation between sperm quality parameters and seminal plasma antioxidants status . Iranian journal of reproduction medicine ; 2(2):58-64 .

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

Mahfouz ,R ; Sharma ,R. K .; Thiyagarajan , A .; Kale ,V . ;Gupta ,S .; Sabanegh ,E .and Agarwal , A. (2010) .Semen characteristics and sperm DNA fragmentation in infertile men with Low and high levels of seminal reactive oxygen species . Fertil .Steril ;94 (6) :2141-2146.

Mehrotra, A.; Katiyar, D .K. ; Agarwal ,A .; Das, V. And pant , K .K .(2013) . Role of total antioxidant capacity and lipid peroxidation in fertile and infertile men . Biomedical. Research ; 24(3) :347-352.

Momen ,M .N .;El –Khodany , M .; Mostafa ,T . and Abu Yossef ,H .(1999) . Total antioxidants status in infertile males with leukocytospermia . Middle East fertility society .J;4:215-221.

Muslih ,R .K. ;Al-Nimer , M.S . and Al-zamely , O .M. (2002) . The level of malondialdehyde after activation with (H_2O_2) and ($CuSO_4$) and inhibition by desferoxamine and molsidomine in the serum of patients with acute myocardial in farction .National Journal of chemistry ; 5:139-148.

Oleszczuk, k .; Giwercman, A. and Bungum, M.(2011) . Intra-individual variation of the sperm chromatin structure assay DNA fragmentation index in men from infertile couples.Hum.Reprod;26(12):3244-3248 .

Pasqualotto ,F .F.; Sharma ,R .K. ; Nelson ,D.R.;Thomas,A.J. and Agarawl,A. (2000). Relationship between oxidative stress ,semen ,characteristics and clinical diagnosis in men undergoing in fertility investigation .Fertil . steril ; 73 :459-464.

Pardo ,M.; Barri, P. N.; Bancells, N .; Corolu, B.; buxaderas, C.; Pomerol, J.M . and Shabater, J. (1988) . Spermatozoa selection in discontinuous percoll gradients for use in artificial insemination .Fertil .Steril .; 49 :505-509.

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

Sharma ,R .K. and Agarwal , A .(1996) .Role of reactive oxygen species in male infertility . Urology ; 48 :835-850.

Sikka , S . C . (2001) . Relative impact of oxidative stress on male .Reproductive function . Curr. Med .Chem ; 8: 851-862.
Tavilani,H.; Goodarzi,M.T.; Raygani,A.S.; Salimi,S.and Hassnzadeh,T.(2008). Activity of antioxidant enzymes in seminal plasma and their relationship with lipid peroxidation of spermatozoa . International . Braz. J. Urol; 34(4):485-491 .
World Health Organization .(1999) .Laboratory manual for the semen and sperm cervical mucus interaction ,4th ed ,Cambridge University press, Cambridge.
World Health Organization .(2010) .Laboratory manual for the examination and processing of human semen 5th ed Cambridge University Press ,Cambridge .
Zarghami, N . and Khosrowbeygi, A. (2004) .Evaluation of Lipid peroxidation an indirect measure of oxidative stress in seminal plasma Iranian .Journal of Reproductive Medicine ; 2 (1) :34-39.
Zini ,A.; Bielecki,R.; Phang,D. and Zenzes ,M.T.(2001). Correlations between two markers of sperm DNA integrity , DNA denaturation and fragmentation , in fertile and infertile men . Fertil .Steril; 75:674-677 .

The malondialdehyde concentration and it's correlation with sperm parameters and the percentage of abnormal sperm chromatin for Asthenozoospermic patients .

Waleed Abd-Ali Al-Khaffaf Assist.Prof.,Dr.Sahib Yahya Al-Murshedi
Assist.Prof., Dr.Zainb shnewer Al-turfi

Abstract

This study was completed at a fertility center in Al-Sadr medical City, Najaf province for the period from 1/11/2012 to 30/4/2013.

Professional samples were divided into two groups: men of high fertility those are (17) samples (fertile normozoospermia) and the sperm disease idiopathic Asthenozoospermia - those are 32 samples .The average of age for Normozoospermic was (1.36±30.9) and (1.63±31.4) for Asthenozoospermic. The number of total samples is (49) The aim of this study was to investigate the relationship between the concentration of malondialdehyde (MDA) and the parameters of sperm and the percentage of abnormal sperm chromatin in patients with asthenozoospermia .

The results of this study showed a significant decrease ($P<0.05$) in sperm concentration and progressively motile sperm and the percentage of normal sperm compared to men with fertility, while observed a significant increase in malondialdehyde (MDA) concentration and the percentage of abnormal sperm chromatin for patients with weakness of sperm compared to men with fertility. The results of this study showed a negative relationship between the concentration of malondialdehyde (MDA) and the concentration of the sperm ($r=-0.5543$, $P<0.05$) ,the percentage of sperm with progressive movement ($r=-0.7756$, $P<0.05$) , and the percentage of normal sperm ($r=-0.7777$, $P<0.05$) While observed a positive relationship between the concentration of malondialdehyde (MDA) , and the percentage of abnormal sperm chromatin ($r= 0.7066$, $P<0.05$) . We conclude from current research that the increase in the concentration of malondialdehyde (MDA) reflected negatively in the parameters of the sperm and the sperm chromatin integrity .