

ارتباط أنماط الخلل في المعايير الأساسية للسائل المنوي في نطاف الذكور المصابة بالعقم الناتج عن قلة النطاف

هلا أيوبي⁽¹⁾ و سعاد العقلة⁽²⁾ و محمد علي العجلوني⁽³⁾

^(*) قسم البيولوجيا الحيوانية - كلية العلوم - جامعة دمشق - سورية
^(**) قسم الأطفال - كلية الطب البشري - جامعة دمشق - سورية

تاريخ الإيداع 2012/04/12

قبل للنشر في 2012/08/06

الملخص

إن تحديد سبب العقم، ونوعية النطاف في السائل المنوي، من أهم المحددات لاختيار طريقة العلاج المناسبة من تقنيات الإخصاب المساعد طبيياً التي أثبتت اليوم بأنها الطرائق الأكثر فعالية في علاج العديد من حالات العقم الذكري. وهي تتيح اختبار النطفة الفضلى لإجراء تقنية الحقن المجهرى للنطفة داخل سيتوبلازما البويضة (Intracytoplasmic sperm injection (ICSI). في إطار دراستنا بحثنا عن احتمال ارتباط الخلل في أحد معايير السائل المنوي مع المعايير الأخرى الأساسية، فقمنا بدراسة كل من تركيز النطاف وحركتها وشكلها. ودرست 23 عينة لمرضى سوريين من الذكور الذين يعانون من قلة النطاف، و5 عينات شاهدة تعود لأفراد غير عقيمة. جمعت عينات السائل المنوي لدراسة الخصائص الوظيفية؛ وبشكل خاص تحديد تركيز النطاف وأنماط الحركة (بحسب معايير منظمة الصحة العالمية)، والفحص الخلوي للسائل المنوي لتحديد النسبة المئوية للتشوهات الشكلية وأنماطها (بحسب معايير David et al/1975 المعدلة من قبل Auger & Eustache/ 2000)، كما حُدثت قيمة مؤشر الـ SDI الذي يدل على عدد التشوهات في النطفة الواحدة، وهو يعبر عن قدرة النطفة على الإخصاب. وبيّنت نتائج هذه الدراسة ارتباط أنماط الخلل في هذه الخصائص ببعضها بعضاً ارتباطاً معنوياً وبنسب مختلفة، حيث تزداد نسبة النطاف ذات التشوهات الشكلية وتقل نسبة النطاف ذات الحركة المتطورة إلى الأمام كلما قل تركيز النطاف وخاصة عند المرضى الذين يعانون من قلة النطاف الشديدة. كما أثبتت الدراسة وجود ارتباط معنوي سالب القيمة بين نسبة النطاف المشوهة شكلياً ونسبة النطاف ذات الحركة المتطورة إلى الأمام. وبالنتيجة، تبين هذه النتائج ارتباط العقم بترافق في أنماط الخلل الذي يصيب النطاف ولا يقتصر الخلل على خاصة واحدة فقط للسائل المنوي. الكلمات المفتاحية: معايير السائل المنوي، تشوهات النطاف الشكلية، تركيز النطاف، تقنيات الإخصاب المساعد.

(1) طالب، (2) الأستاذ المشرف، (3) الأستاذ المشرف المشارك.

The association of defect patterns of basic semen parameters in sperms of infertile men caused by Oligozoospermia

H. Ayoubi^{*(1)}; S. Al-okla^{*(2)} and M. A. Al-ajlouni^{***(3)}

^(*) Department of Biology, Faculty of Sciences, Damascus University, Syria

^(**) Department of Children, Faculty of Medicine, Damascus University, Syria.

Received 12/04/2012

Accepted 06/08/2012

ABSTRACT

Determination of infertility cause and the quality of sperms in semen are the most important factors when we want to choose the suitable method of therapy of assisted reproduction techniques, which has been proven to be the most effective method today in the treatment of many cases of male infertility, and it allows to choose the best sperm for Intracytoplasmic sperm injection technique (ICSI).

In our study we tried to find a relationship between one of the semen parameters with the other basic parameters, we studied the concentration motility and morphology of sperms of 23 infertile men with oligozoospermia, and 5 control cases for fertile men. Semen samples were collected for semen evaluation, especially the concentration of sperm and its motility (using the world health organization Laboratory manual WHO), and the cytological sperm test for detecting the percentages of morphological abnormalities (depending on David et al./1975 extender by Auger & Eustache/2000), also the values of SDI (Sperm deformity index) were determined (it refers to the number of morphological abnormalities in each sperm, showing the ability of this sperm of achieving fertilization).

The statical studies showed that each of these parameters relates to the other with different percentages, as both of the percentages of defected sperms increases and the percentages of forward motile sperms decreases when the sperm concentration is lower especially in men with severe Oligozoospermia. Also this study showed that there is a negative incorporeal correlation between the percentages of morphological defected sperms and forward motile sperms.

Finally these results show that the infertility is often related to the association of many types of abnormality of all semen parameters, not only in one of them.

Keywords: Semen parameters, Morphological sperm abnormalities, Sperm concentration, Forward motile sperm.

⁽¹⁾Student, ⁽²⁾ Supervisor, ⁽³⁾ Associated supervisor.

المقدمة

يعتمد تشخيص الخصوبة لدى الذكور بشكل أساسي على التقييم الحيوي الكيميائي والمجهري لنوعية السائل المنوي. ويُقيّم عادة عدد من المعايير الخاصة بتركيز النطاف وحركتها وشكلها، وقد أضيفت مؤخراً العديد من التحاليل الأخرى مثل اختبار العيوشية vitality وقدرة النطاف على اختراق البيضة Sperm penetration Test والتفاعل الأكروزومي acrosomic reaction والعديد غيرها من التحاليل التي تسهم في التشخيص الأولي لحالات العقم، إلا أنها -في كثير من الأحيان- لا تكون كافية للكشف عن السبب الأساسي للعقم الذكري [1].

تعود أسباب العقم عند الذكور لأي خلل قد يؤثر في أحد الشروط اللازمة لحدوث الإخصاب الطبيعي، فقد ينتج العقم عن اضطرابات هرمونية، أو عن أسباب متعلقة بالخصيتين بشكل مباشر مثل تعرضهما للإصابة بالتهاب شديد أو للمواد الكيميائية مثل الرصاص والزرنيق أو تناول بعض العقاقير أو المخدرات أو الكحول، أو العلاج الكيميائي للسرطانات، أو أسباب متعلقة بخلل في الطرق الناقلة للنطاف مثل انسداد البربخ أو الحبل المنوي أو الحويصلات المنوية.

تؤدي هذه العوامل غالباً إلى اضطراب في معايير السائل المنوي أو بالأحرى في نوعية النطاف كارتفاع النسبة المئوية للنطاف المشوهة Teratozoospermia أو إلى خلل في حركتها (وهن الحركة) Asthenozoospermia أو في تركيزها (قلة النطاف) Oligozoospermia [2].

ترتبط طرائق علاج العقم ارتباطاً أساسياً بسبب العقم؛ حيث تتفاوت بين اتباع إرشادات معينة لزيادة عدد النطاف القادرة على الإخصاب، مثل تغيير العادات المتبعة في أسلوب الحياة، والحد من التعرض لبعض العوامل البيئية، والتوقف عن تناول الأدوية التي تؤثر في وظيفة النطاف، أو المعالجة باستعمال الهرمونات أو المضادات الحيوية أو الفيتامينات، وأحياناً قد يتطلب العلاج تدخلاً جراحياً مثل إجراء عملية لإصلاح دوالي الخصية، أو إصلاح طرق وصول النطاف إلى البيضة كإصلاح الانسداد الخلفي للبربخ Vasoepididymostomy أو الانسداد الناتج عن إنتان، وأخيراً قد يكون العلاج باستخدام إحدى تقنيات العلاج الحديثة التي تدعى "تقنيات الإخصاب المساعد طبيياً Assisted Reproductive Technologies (ART)" مثل حقن النطاف داخل الرحم Intrauterine insemination (IUI)، والإخصاب في الزجاج In vitro Fertilization (IVF)، والحقن المجهري للنطفة داخل سيتوبلازما البيضة Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) وهي طرائق ذات كلفة عالية [2].

ومن المعروف أن تحديد الطريقة الملائمة من طرائق الإخصاب المساعد طبيياً يرتبط بنوعية السائل المنوي. تتبّع طريقة حقن النطاف في الرحم (IUI) في حالات الخلل

الطفيف في عدد النطاف وحركتها، ووجود أصداد للنطاف في السائل المنوي، ووجود اضطراب في آلية خروج النطاف من القناة التناسلية الذكرية، وفي بعض الحالات الإنتانية التناسلية، وفي حالات تجميد النطاف لمرضى يخضعون للمعالجة الكيميائية والإشعاعية، خاصة عند عدم وجود أسباب واضحة للعقم عند المرأة. كما تستعمل في حال وجود مخاط عنق رحم يعيق وصول النطاف إلى البويضة بسبب توليده لأصداد ضد النطاف، وفي حالات الأندومتريوز Endometriosis أو ما يسمى بـ "البطانة الرحمية الهاجرة". أما طريقة الإلقاح التقليدي في المختبر IVF فتفيد في حالات عدم الخصوبة الأنثوية، وعدم الخصوبة مجهولة السبب، وعدم الخصوبة الذكرية غير الشديدة. وتطبق تقنية ICSI عادة في حالات الاضطراب الشديد في عدد النطاف أو حركتها أو أشكالها، وفي حالات غياب النطاف في السائل المنوي بسبب عيب خلقي ينتج عن عدم تشكل القناة الناقلة للنطاف أو بسبب انسدادها، وفي حالات حدوث تفاعلات مناعية بين النطاف والبيوض، وحالات إخفاق الإلقاح التقليدي IVF [2]. [3].

وقد أظهرت دراستا Kruger وزملائه عام 1986 و Enginsu وزملائه عام 1991 أن ارتفاع النسبة المئوية للنطاف المشوهة يؤدي إلى انخفاض نسبة حدوث الإلقاح. وأكدت دراسة Parinaud وزملائه عام 1993 أن شكل النطاف المستعملة للإخصاب باستعمال إحدى تقنيات الإخصاب المساعد طبيياً يؤثر في نوعية الأجنة الناتجة، ومن ثم في معدل حدوث الحمل. وبالمقابل أثبتت الدراسات التي قام بها كل من Check و Fetterolf و Kaskar في عامي 1990 و 1994 أن نسبة النطاف المتحركة هي مؤشر تنبؤي مهم لنتائج تقنيات الإخصاب المساعد طبيياً [4]. ووجد أيضاً أن دراسة العلاقة بين التشوهات الشكلية ونسبة النطاف ذات الحركة المتقدمة هو أفضل معيار لتقييم قدرة النطاف على الإخصاب عند العلاج بتقنية الـ IVF [5]، واقترحت بعض الدراسات أن سبب هذه العلاقة بين تشوه شكل النطاف وحركتها تعود إلى أن العديد من التشوهات الشكلية تؤدي إلى توقف حركة النطفة أو تراجعها، فالحركة السليمة للنطفة مرتبطة بشكل كبير بسلامة كل من الذيل والرأس والقطعة المتوسطة التي تحتوي على عضيات الميتوكوندريا التي تزودها بالطاقة اللازمة للحركة [6].

وأكدت دراسات أخرى مماثلة أن كلاً من العوامل البيئية، وأسلوب الحياة، والتعرض لبعض المواد الكيميائية أو التدخين هي جميعها عوامل تؤثر في معايير النطاف بنسب مختلفة، كما بيّنت عند دراسة عينات لمرضى من أربع مدن أوروبية مختلفة (أدنبره، باريس، كوبنهاجن، توركو) أن نسب التشوهات الشكلية المختلفة للنطاف تختلف بين الأشخاص باختلاف المنطقة الجغرافية والعوامل الفصلية [7]. في النهاية نلاحظ أن معظم الدراسات أكدت وجود علاقة ارتباط بين العقم والخلل في معايير السائل المنوي، وفي

محاولة لفهم الفيزيولوجيا المرضية التي قد تؤدي إلى حدوث الخلل في هذه المعايير بشكل مترافق، دُرست في بحوث عديدة علاقة الارتباط بين هذه المعايير. إن تحديد السبب الأساسي للعدم يُعدُّ خطوة مهمة جداً لتحديد طريقة العلاج الملائمة، ونظراً إلى أن معظم حالات العقم الذكري باختلاف أسبابها تترافق عادة بخلل في المعايير الأساسية للسائل المنوي، لذلك أُجريت العديد من البحوث التي هدفت إلى دراسة هذه المعايير بشكل أعمق ودراسة مدى ارتباطها ببعضها بعضاً خاصة، أن الاضطراب في بيئة الخصى المحيطة بالخلايا المنشئة للنطاف التي سببت العقم قد يكون لها دور في الخلل في معايير السائل المنوي وسلامة الفعالية الوظيفية للنطاف المرتبطة بشكل كبير بكل من تركيز النطاف وقدرتها على الحركة وشكلها الطبيعي، ولأن الدراسات بيّنت دور العامل البيئي والجغرافي في اختلاف نسب هذه الاختلالات، فقد هدف البحث الحالي إلى دراسة مدى الارتباط بين حدوث أنماط الخلل المختلفة في السائل المنوي بشكل مترافق لدى عينة من المرضى السوريين.

مواد البحث وطرقه

1. عينات المرضى

جمعت عينات البحث خلال المدة الواقعة بين 2008 و 2010 من مرضى سوربيين مراجعين لمخبر الذكورة في شعبة العقم والإخصاب المساعد طبياً (طفل الأنبوب) في مشفى التوليد الجامعي، جميعهم يعانون من العقم وراجعوا للعلاج بإحدى تقنيات الإخصاب المُساعد طبيياً.

جمعت عينات السائل المنوي من 15 رجلاً يعانون من حالات عقم ناتجة عن قلة النطاف الشديدة (عدد النطاف أقل من مليون نطفة/مل)، و 8 رجال يعانون من حالات عقم ناتجة عن قلة النطاف المتوسطة (عدد النطاف يراوح بين 1 مليون - 9 مليون نطفة/مل)، وقيّم السائل المنوي بإجراء فحص السائل المنوي spermogram والفحص الخلوي للسائل المنوي spermocytogram ودُرست 5 عينات شاهدة أُخذت من أفراد أسوياء (معايير السائل المنوي لديهم كلها طبيعية من حيث التركيز والشكل والحركة).

2. فحص السائل المنوي

فُحصت عينات السائل المنوي بعد نحو 30-60 دقيقة من جمع العينة ووضعها في درجة حرارة 37 مئوية؛ حيث دُرست بعض الخصائص الفيزيائية الكيميائية كحجم السائل المنوي، ولونه، ولزوجته، وحموضته pH، وحدد عدد النطاف في الملي لتر من السائل المنوي، وقيمت حركة النطاف، وحُدّت النسب المئوية لكل نمط من أنماط حركة النطاف: سريعة وذات حركة متطورة (النمط a)، بطيئة وذات حركة قليلة التطور (النمط b)، نطاف تتحرك في مكانها (النمط c)، غير المتحركة (النمط d)، وفورنت النتائج بالقيم الطبيعية المعتمدة من قبل منظمة الصحة العالمية WHO [8]، (الجدول 1).

الجدول (1) القيم الدنيا لخصائص السائل المنوي بحسب منظمة الصحة العالمية.

الحجم	$2 \leq$ ميلي لتر
درجة الحموضة pH	$7.2 \leq$
تركيز النطاف	$20 \leq$ مليون نطفة/ميلي لتر
التعداد العام للنطاف	$40 \leq$ مليون نطفة
الحركة	النمط $a+b \leq 50\%$ ، أو النمط $a \leq 25\%$

3. الفحص الخلوي للسائل المنوي

للقيام بذلك أُضيف 1500 ميكرو لتر من وسط غسيل النطاف (FertiPro, Belgium) إلى 500 ميكرو لتر من عينة السائل المنوي، ونبذ المزيج بسرعة 1700 دورة في الدقيقة لمدة 5 دقائق وفي درجة حرارة 25 مئوية، حُلَّت الرُسَابَة في وسط الغسل، وحُضِنَت لطاخة، ثبتت على صفيحة زجاجية ولونت باستعمال طقم خاص بتلوين النطاف (Morphology staining kit, FertiPro, Belgium).

درست أشكال النطاف باستعمال المجهر الضوئي بتكبير 1000 مرة، وصنفت أنماط التشوهات بحسب معايير David وزملائه عام 1975 المعدلة من قبل Auger & Eustache عام 2000 في نحو 13 مجموعة [9]؛ وهي كما يأتي:

- سبعة تشوهات للرأس؛ فقد يكون الرأس متطاوياً، أو مستدقاً، أو صغيراً، أو كبيراً، ويمكن أن تكون النطفة برأسين، أو تبدي غياباً في الجسيم الطرفي (الأكروزوم) أو تغيراً في حجمه وفي محيطه، وقد تتمركز التشوهات في قاعدة رأس النطفة.
 - ثلاثة تشوهات للقطعة المتوسطة؛ قد تتمثل بوجود بقايا سيتوبلاسمية تحيط بالرأس، أو تكون هذه القطعة مستدقة، أو أن تشكل زاوية مع قاعدة الرأس.
 - خمسة تشوهات للسوط؛ إذ يمكن أن تبدو النطفة بسوط غير منتظم العرض أو قصير وقد يغيب بشكل كامل أو تكون النطفة مضاعفة السوط وقد ينحني السوط في بعض الحالات.
- حُسِبَت النسب المئوية للنطاف الطبيعية والمشوهة، والنسب المئوية الخاصة بكل نمط من التشوهات الشكلي في كل من الرأس والقطعة المتوسطة والسوط. وحُدِّدَت قيمة مؤشر الـ SDI الذي يدل على عدد التشوهات في النطفة الواحدة لكل مريض، فهو يمثل التشوهات المرتبطة ببعضها بعضاً التي تظهر في النطفة الواحدة. ويشير ارتباط العديد من التشوهات مع بعضها بعضاً في النطفة إلى خلل كبير في وظائفها، ومن ثمَّ في قدرتها على الإخصاب [10].

4. الدراسة الإحصائية

استعمل في هذه الدراسة برنامج SPSS الإحصائي؛ حيث طُبِّقَ اختبار ANOVA لدراسة وجود علاقة بين معايير مختلفة للسائل المنوي، ولإجراء المقارنات الثنائية بين مجموعات الدراسة، في حين استعمل اختبار Pearson لدراسة قوة علاقات الارتباط ومعنويتها.

النتائج

1. تقييم السائل المنوي في مجموعات الدراسة

وُرعت العينات في 3 مجموعات قسمت بحسب عدد النطاف في الملي لتر من عينة السائل المنوي: المجموعة (A)؛ تتكون من 5 عينات شاهدة تمتاز بمعايير السائل المنوي الطبيعية من حيث تركيز النطاف وحركتها وشكلها، والمجموعة (B)؛ تتألف من 15 عينة لمرضى تركيز النطاف لديهم أقل من مليون نطفة/ملي لتر (قلة النطاف الشديدة)، والمجموعة (C)؛ وتحتوي 8 عينات لمرضى يراوح عدد النطاف لديهم بين 1 و 9 مليون نطفة/الملي لتر (وتمثل حالات قلة النطاف المتوسطة).

ويبين الجدول (2) تقييماً للسائل المنوي لأفراد المجموعات الثلاث المختلفة تتضمن بشكل خاص تركيز النطاف، والنسبة المئوية للنطاف ذات الحركة السريعة والمتطورة (النمط a)، والنسبة المئوية للنطاف الطبيعية الشكل.

الجدول (2) تقييم السائل المنوي في المجموعات الثلاث المدروسة.

المجموعة	رقم المريض	pH	حجم العينة مل	نسبة النطاف ذات الحركة السريعة والمتطورة %	تركيز النطاف مليون/مل	نسبة الأشكال الطبيعية %
المجموعة A (مجموعة العينات الشاهدة)	1	8	4.5	75	148	18
	2	8.2	2.4	51	100	20
	3	8	3.5	68	72	16
	4	8.1	3.1	61	180	17
	5	8	5	54	30	21
المجموعة B (قلة النطاف الشديدة) ($>10^6$ نطفة/مل)	6	8	5	13	0.2	13
	7	8	5.5	50	0.2	5
	8	8	3.5	20	0.1	9
	9	8	2.5	0	0.5	10
	10	7.8	5	54	1	12
	11	7.6	5.6	12	0.42	15
	12	7.8	2	19	0.65	16
	13	7.8	2.6	0	0.35	6
	14	8	8	54	0.25	9
	15	8.1	4	28	0.25	12
	16	8.1	3	17	0.7	18
	17	8.2	2.5	18	0.65	8
	18	7.8	5	35	0.63	9
19	7.8	2.8	6	0.9	11	
20	8	3	53	0.85	13	
المجموعة C (قلة النطاف المتوسطة) (عدد النطاف $10^6 \times 9-1$ نطفة/مل)	21	8.1	3.2	29	1.4	8
	22	8	2.5	17	1.4	6
	23	8	1.5	51	1.5	10
	24	7.8	2.5	0	7.7	12
	25	7.6	2.6	57	2.2	18
	26	7.8	2.6	26	3.8	16
	27	7.8	3	65	5.3	13
	28	8	2.6	25	2.8	11

صنفت في هذه الدراسة حالات الخلل في معايير السائل المنوي لأفراد المجموعتين B و C بحسب الحالات المرضية المختلفة المعروفة، فتبين أن حالات قلة النطاف المدروسة تنتمي معظمها إلى الحالات المسماة Oligoasthenoteratozoospermia (OAT) (ترافق كلاً من قلة النطاف ووهن الحركة وتشوه النطاف)؛ وقد ترافقت حالات قلة النطاف مع انخفاض في النسبة المئوية لكل من النطاف طبيعية الشكل والنطاف ذات الحركة السريعة المتطورة (13 حالة)، في حين بلغ عدد الحالات التي ترافقت فيها قلة النطاف فقط بانخفاض النسبة المئوية للنطاف ذات الحركة السريعة والمتطورة أربع حالات، وترافقت في ست حالات مع انخفاض فقط في النسبة المئوية للنطاف طبيعية. ومن ثمّ تبين نتائجنا أن حالات قلة النطاف غالباً ما تترافق مع وجود خلل في المعايير الأخرى للسائل المنوي (الجدول 3).

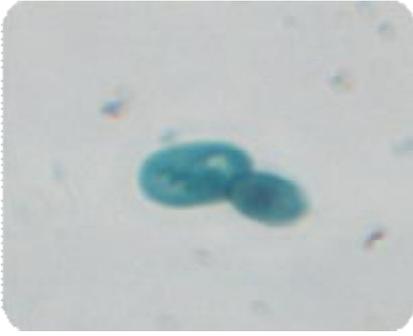
الجدول (3) عدد الحالات المختلفة التي تعاني من أكثر من خلل في معايير السائل

عدد الحالات	الأسماء التعريفية للحالات المختلفة Nomenclature
5	نطاف طبيعية Normozoospermia
23	قلة النطاف Oligozoospermia
15	قلة النطاف المتحركة Asthenozoospermia
18	قلة النطاف طبيعية الشكل Teratozoospermia
4	قلة النطاف وقلة النطاف المتحركة Oligoasthenozoospermia (OA)
6	قلة النطاف وقلة النطاف طبيعية الشكل Oligoteratozoospermia (OT)
0	قلة النطاف المتحركة وقلة النطاف طبيعية الشكل Asthenoteratozoospermia (AT)
13	قلة النطاف وقلة النطاف المتحركة وقلة النطاف طبيعية الشكل Oligoasthenoteratozoospermia (OAT)

2. دراسة التشوهات الشكلية للنطاف:

درُست أنماط التشوهات الشكلية المختلفة في أجزاء النطفة المختلفة (الرأس والقطعة المتوسطة والذيل)، باستعمال المجهر الضوئي بالتكبير 1000 مرة، ويُظهر (الشكل 1) بعض أنماط تشوهات النطاف الشكلية. وقد عُدّت نحو 100 نطفة في كل عينة، وحسبت

النسب المئوية للنتاف الطبيعية بشكل عام والنسب المئوية للأنماط المختلفة من التشوهات في العينات الشاهدة، وعينات الأفراد العائدة للمجموعتين B و C.



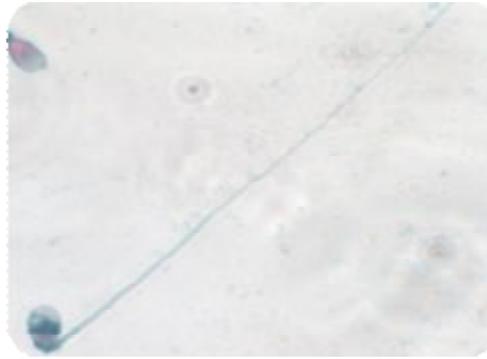
نطفة ذات ذيل ملتف



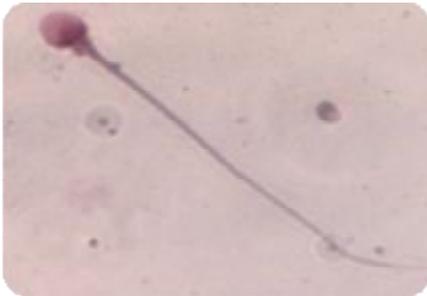
نطفة ذات ذيل مضاعف



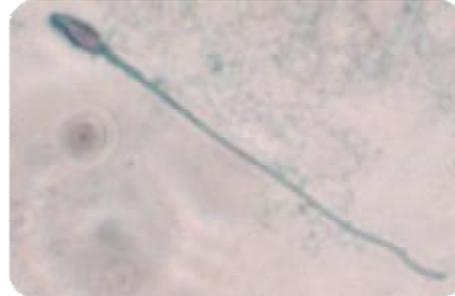
نطفة ذات قطعة متوسطة غير منتظمة ومنحنية



نطفة ذات قطعة متوسطة ومنحنية



نطفة ذات رأس مدور



نطفة ذات رأس رفيع

الشكل (1) صور بالمجهر الضوئي لأنماط مختلفة من تشوهات النتاف (تكبير 1000 X)

حُسبَ أيضاً كل من مؤشري الـ SDI والـ TZI اللذين يدلان على نسب التشوهات في النطفة الواحدة عند كل فرد من أفراد المجموعات المدروسة [10]:

TZI: Teratozoospermic index	SDI: Sperm deformity index
مؤشر يدل على نسبة التشوهات الشكلية في النطاف بشكل عام.	مؤشر يدل على عدد التشوهات في النطفة الواحدة.
عدد التشوهات في النطاف المدروسة جميعها =TZI	عدد التشوهات في النطاف المدروسة جميعها =SDI
عدد النطاف المشوهة	عدد النطاف المعدودة

ويُظهر الجدول 4 مقارنة بين النسب المئوية لتشوهات الرأس والقطعة المتوسطة والذيل وعدد التشوهات في النطفة الواحدة (معدل الـ TZI والـ SDI) في كل من المجموعات الثلاث.

الجدول (4) النسب المئوية لتشوهات الشكلية في النطاف وتحديد ومؤشري الـ SDI والـ TZI في المجموعات الثلاث.

TZI	SDI	نسبة تشوهات الذيل %	نسبة تشوهات القطعة المتوسطة %	نسبة تشوهات الرأس %	عدد تشوهات النطاف	نسبة النطاف الطبيعية الشكل %	النطاف المعدودة	المجموعة
1.05	0.86	21.30	46.60	13.70	85.8	18.4	100	متوسط المجموعة A
1.08	0.96	21.74	48.36	18.84	96	11.07	100	متوسط المجموعة B
1.07	0.95	22.47	43.19	22.59	94.75	11.75	100	متوسط المجموعة C

نلاحظ من الجدول (4) أن متوسطات جميع التشوهات الشكلية ومعدل مؤشرات التشوهات في النطفة الواحدة التي تعبر عن قدرة النطفة على الإخصاب، كانت أكبر بشكل ملحوظ في المجموعات المريضة مقارنة بمجموعة الأشخاص الأصحاء (مع ملاحظة أن متوسط نسبة تشوهات القطعة المتوسطة كانت في المجموعة C أصغر مما هي عليه في المجموعة A)، وسنوضح ذلك بالتفصيل في الفقرات الآتية:

– علاقة تركيز النطاف بالتشوهات الشكلية

لدراسة علاقة تركيز النطاف في السائل المنوي بالتشوهات الشكلية لهذه النطاف، قمنا في الجدول 5 بحساب متوسط النسب المئوية لكل من تشوهات النطاف في أجزاء النطفة الثلاثة، كما حُسبَ مؤشر التشوهات الشكلية في النطفة الواحدة (SDI)؛ وذلك في كل من المجموعات الثلاث المدروسة، ثم فورنت نسبة التغير بين المجموعة الشاهدة A والمجموعتين المريضتين وبشكل منفصل وذلك بالطريقة الآتية:

نسبة التغير في المجموعة B مقارنة مع A =

متوسط النسب المئوية للتشوهات في المجموعة B - متوسط النسب المئوية للتشوهات في المجموعة A

متوسط النسب المئوية للتشوهات في المجموعة B + متوسط النسب المئوية للتشوهات في المجموعة A

نسبة التغير في المجموعة C مقارنة مع A =

متوسط النسب المئوية للتشوهات في المجموعة C - متوسط النسب المئوية للتشوهات في المجموعة A

متوسط النسب المئوية للتشوهات في المجموعة C + متوسط النسب المئوية للتشوهات في المجموعة A

الجدول (5) مقارنة نسب تشوهات أجزاء النطفة الثلاثة في مجموعات الدراسة.

مؤشر SDI	نسبة تشوهات الذيل %	نسبة تشوهات القطعة المتوسطة %	نسبة تشوهات الرأس %	نسبة النطاف طبيعية الشكل %	المجموعة
0.86	21.30	46.60	13.70	18.4	متوسط المجموعة A.
0.96	21.74	48.36	18.84	11.07	متوسط المجموعة B.
0.95	22.47	43.19	22.59	11.75	متوسط المجموعة C.
0.06	0.01	0.02	0.16	0.25	نسبة التغير في المجموعة B مقارنة مع A.
0.05	0.03	-0.04	0.25	0.22	نسبة التغير في المجموعة C مقارنة مع A.

لوحظ في الجدول (5) ارتفاع في معدل تشوهات النطاف بشكل عام في المجموعتين B و C مقارنة بالمجموعة A؛ إذ بلغت قيم نسبة التغير 0.22 و 0.25 على التوالي، ولوحظ أن هذه القيم المرتفعة تعود بالنسبة الكبرى لقيم التغير في نسب تشوهات الرأس بين المجموعة الشاهدة (أشخاص غير مصابين بالعقم) وبين مجموعتي المرضى B و C وقد بلغت هذه القيم 0.16 و 0.25 على التوالي، بينما لوحظ أن النسب المئوية لتشوهات الذيل وتشوهات القطعة المتوسطة مع أنها كانت أكبر في مجموعتي المرضى إلا أن نسب التغير فيها كانت أقل مما وجد في تشوهات الرأس إذ راوحت قيم التغير بين 0.01 و 0.03، وكذلك الحال بالنسبة إلى مؤشر عدد التشوهات في النطفة الواحدة (SDI) إذ إن هذه النسبة كانت أكبر بقليل لدى الأشخاص المصابين بالعقم (المجموعتين B و C) مقارنة بنسبتها لدى الأشخاص السليمين (المجموعة A) وبلغت نسب التغير القيم 0.06 و 0.05 على التوالي، أخيراً تشير هذه النتائج إلى وجود علاقة ارتباط عكسية بين تركيز النطاف ونسبة النطاف المشوهة (وبشكل خاص تشوهات الرأس)؛ فكلما قل تركيز النطاف ارتفعت نسبة التشوهات في النطاف في المجموعات المدروسة.

واستعمل برنامج SPSS الإحصائي (اختبار ANOVA) للتحقق من وجود علاقة بين تركيز النطاف في السائل المنوي والنسبة المئوية للنطاف المشوهة الشكل وأنماط التشوهات المختلفة. وتجدر الإشارة إلى أن الاختلاف يكون ذا معنى حتى القيمة 0.05 للقيمة P (Sig) أو ما يدعى بمستوى معنوية الدلالة الإحصائية. فوَرَنَ متوسط النسب المئوية للنطاف مشوهة الشكل بين الأفراد غير العقيمة والأفراد العقيمة بشكل ثنائي، (الجدول 6).

الجدول (6) مقارنات ثنائية للعلاقة بين تركيز النطاف ونسبة النطاف مشوهة الشكل.

95% Confidence Interval		(Sig.) P Value	Std. Error الخطأ	Mean Difference (I-J) الفرق بين المتوسطات	(J) Index المجموعة 2	(I) Index المجموعة 1
Upper Bound	Lower Bound					
-3.84	-10.82	.000	1.316	-7.333*	المجموعة B	المجموعة A
-2.11	-11.19	.006	1.678	-6.650*	المجموعة C	
10.82	3.84	.000	1.316	7.333*	المجموعة A	المجموعة B
5.11	-3.74	.914	1.681	.683	المجموعة C	
11.19	2.11	.006	1.678	6.650*	المجموعة A	المجموعة C
3.74	-5.11	.914	1.681	-.683	المجموعة B	

يلاحظ في الجدول (6) أن متوسط النسب المئوية للنطاف المشوهة شكلياً عند الأفراد غير العقيمة هي أقل وبشكل معنوي من متوسط النسب المئوية للنطاف المشوهة في مجموعتي الأفراد العقيمة التي تنتمي إلى المجموعة B والمجموعة C؛ إذ بلغت قيمة P (Sig) 0.00 لدى مقارنة المجموعة B مع A و 0.006 لدى مقارنة المجموعتين C مع A، بينما لم يتم إيجاد فرق معنوي بين متوسط النسب المئوية للنطاف مشوهة الشكل بين المجموعتين B و C (sig = 0.914)، وهذا يشير إلى ارتفاع النسبة المئوية للنطاف مشوهة الشكل عند الرجال الذين لديهم قلة نطاف بشكل عام.

وباستخدام البرنامج SPSS الإحصائي نفسه، تم التحقق من وجود علاقة بين كل من تركيز النطاف في السائل المنوي ونسبة التشوهات في النطفة الواحدة (مؤشر الـ SDI). ويُظهر الجدول (7) نتائج تطبيق اختبار ANOVA، إذ تبين أن هناك فرقاً معنوياً بمستوى أهمية 0.05 بين متوسطات كل من المجموعتين A و B من مجموعات الدراسة الثلاث، وهذا يدل على وجود علاقة بين تركيز النطاف ونسبة التشوهات في النطفة الواحدة (SDI)، أي إن نسبة مؤشر التشوهات في النطفة الواحدة تزداد كلما انخفض تركيز النطاف في عينة السائل المنوي، في حين لم يلاحظ وجود فرق معنوي بين متوسطي نسب مؤشر الـ SDI في كل من المجموعتين A و C، والمجموعتين B و C، إذ بلغت قيم Sig عند مقارنة هذه المجموعات 0.113، و 0.872 على التوالي وهي أكبر من 0.05.

الجدول (7) المقارنات الثنائية للعلاقة بين تركيز النطاف ومؤشر الـ SDI.

95% Confidence Interval		Sig.	Std. Error الخطأ	Mean Difference (I-J) الفرق بين المتوسطات	(J) Index المجموعة 2	(I) Index المجموعة 1
Upper Bound	Lower Bound					
-0.179	-0.3688	.032	.06258	-.19333*	المجموعة B	المجموعة A
.0362	-.3597	.113	.07267	-.16175	المجموعة C	
.3688	.0179	.032	.06258	.19333*	المجموعة A	المجموعة B
.1997	-.1365	.876	.06425	.03158	المجموعة C	
.3597	-.0362	.113	.07267	.16175	المجموعة A	المجموعة C
.1365	-.1997	.876	.06425	-.03158	المجموعة B	

- علاقة تركيز النطاف بحركتها

جرى وبالطريقة نفسها دراسة العلاقة بين تركيز النطاف في السائل المنوي ونسبة النطاف ذات الحركة السريعة المتطورة (النمط الأكثر فاعلية في الإخصاب)، وبيّن الجدول 8 أن متوسط نسبة النطاف ذات الحركة السريعة المتطورة عند الأسوياء يفوق وبشكل معنوي متوسط نسب هذه النطاف في المجموعتين B و C، إذ بلغ مستوى معنوية الدلالة الإحصائية P (Sig) 0.000 و 0.025 على التوالي، في حين لم يلاحظ أي فرق معنوي في متوسط نسب النطاف السريعة المتطورة بين المجموعتين B و C إذ بلغت قيمة P 0.6؛ وهذا يدل على ترافق قلة النطاف في مع خلل في حركتها مما يؤثر في قدرة النطاف على الإخصاب.

الجدول (8) مقارنات ثنائية للعلاقة بين تركيز النطاف ونسبة النطاف ذات الحركة السريعة والمتطورة.

95% Confidence Interval		Sig.	Std. Error الخطأ	Mean Difference (I-J) الفرق بين المتوسطات	(J) Index المجموعة 2	(I) Index المجموعة 1
Upper Bound	Lower Bound					
54.01	19.05	.000	6.691	36.533*	المجموعة B	المجموعة A
52.45	3.65	.025	8.952	28.050*	المجموعة C	
-19.05	-54.01	.000	6.691	-36.533*	المجموعة A	المجموعة B
16.00	-32.96	.640	9.264	-8.483	المجموعة C	
-3.65	-52.45	.025	8.952	-28.050*	المجموعة A	المجموعة C
32.96	-16.00	.640	9.264	8.483	المجموعة B	

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

– علاقة التشوهات الشكلية للنطاف بحركتها

استعمل تحليل معامل الارتباط بيرسون Pearson (يستخدم هذا المعامل عادة لدراسة وجود علاقة بين متغيرين بحيث تتأثر درجات كل متغير بالآخر، ويُختار بشكل خاص إذا كان الارتباط بين متغيرين في شكل قيم خام متصلة وموزعة توزيعاً اعتدالياً) وقد استخدم في هذه الدراسة لبحث إمكانية وجود ارتباط بين كل من نسبة النطاف ذات التشوهات الشكلية بشكل عام ونسبة النطاف ذات الحركة السريعة المتطورة في المجموعات الثلاث، ويبين الجدول (9) وجود ارتباط معنوي (بمستوى أهمية أقل من 0.05 لأن قيمة P بلغت 0.038) ومقدار الارتباط يبلغ -0.394، وهذا يدل على وجود علاقة عكسية بين النسب المئوية للنطاف المشوهة شكلياً والنسبة المئوية للنطاف ذات الحركة السريعة المتطورة؛ فكلما ارتفعت نسبة النطاف المشوهة انخفضت نسبة النطاف ذات الحركة السريعة المتطورة.

الجدول (9) العلاقة بين نسبة النطاف المشوهة شكلياً ونسبة النطاف ذات الحركة ذات الحركة السريعة والمتطورة في المجموعات الثلاث.

النسبة المئوية للنطاف ذات الحركة السريعة المتطورة	القيم المحسوبة باستخدام معامل بيرسون	
-0.394*	Pearson Correlation	النسبة المئوية التشوهات الشكلية
0.038	Sig. (2-tailed)	

*. Correlation is significant at the 0.05 level.

المناقشة

إن التحاليل التقليدية للسائل المنوي التي تتضمن دراسة عدد النطاف، وحركتها وتحدد النسبة المئوية لكل نمط من أنماط حركة النطاف، وغيوشية النطاف (النسبة المئوية للنطاف الحية)، والفحص الخلوي للسائل المنوي spermocytogram (دراسة أنماط تشوهات النطاف جميعها، من تشوهات في رأس النطفة والقطعة المتوسطة والسوط)، ثم تحديد قيمة SDI لكل مريض (التي تمثل التشوهات المرتبطة ببعضها البعض التي تظهر في النطفة الواحدة). رغم أن هذه الاختبارات تشكل مؤشراً للخصوبة عند الذكور كتشخيص أولي للخصوبة، إلا أنها لا تبين السبب الأساسي للعقم [10].

أظهرت نتائج الدراسة أن حالات العقم المتمثلة بقلة النطاف غالباً ما تترافق بوجود خلل في معايير السائل المنوي الأخرى، فقد وجد أن أكثر من نصف الحالات العقيمة ينتمون لحالة العقم المسماة (OAT) Oligoasthenoteratozoospermia (13 حالة)؛ وهذا يتوافق مع الإحصائيات التي بيّنت أن نسبة هذه الحالة من العقم الذكري تصل حتى 43% [11]، وذلك مهما كانت أسباب العقم سواء كانت تعود لأحد الأسباب المعروفة مثل دوالي الخصية أو الهرمونات أو مجهولة السبب. وبالمقابل فإنه من الشائع اختيار إحدى الطرائق

العلاجية الدوائية أو تقنيات الإخصاب المساعد طبيياً Assisted Reproductive Technologies (ART) الحديثة؛ وذلك بعد دراسة عوامل أخرى مثل: الحالة المرضية للزوجة، وشدة حالة المرض لدى الزوج، فضلاً عن الطرائق العلاجية السابقة المتبعة.

توصلنا في هذه الدراسة أيضاً إلى وجود علاقة عكسية بين تركيز النطاف والنسبة المئوية للنطاف مشوهة الشكل عند الأفراد الذين يعانون من العقم بسبب قلة النطاف، كما تبين وجود علاقة طردية بين تركيز النطاف والنسبة المئوية للنطاف ذات الحركة المتطورة، وقد قورنت هذه النتائج مع دراسة أجريت في كندا عام 2003 درست فيها 30 حالة لمراجعين لمركز الإخصاب حيث درست 10 حالات لكل من مرضى مصابين بقلة النطاف الشديدة والمعتدلة والمتوسطة، وعند مقارنة متوسطات كل من نسب النطاف المتحركة والنطاف الطبيعية الشكل لوحظ أن كل متوسطي النسبة المئوية للنطاف ذات الحركة المتطورة للأمام والنسبة المئوية للنطاف ذات الشكل الطبيعي نقل في مجموعتي المصابين بقلة النطاف الشديدة والمتوسطة مقارنة بنسبتيها في مجموعة المصابين بقلة النطاف المعتدلة، وهي المجموعة الأقرب للطبيعية [12].

هذا ومقارنة بدراسة أجريت عام 1996 في فرنسا على 130 عينة لأزواج يخضعون للعلاج بطريقة طفل الأنبوب لأسباب متنوعة من العقم، إذ لوحظ وجود علاقة إيجابية واضحة بين نسبة النطاف الطبيعية الشكل ونسبة النطاف ذات الحركة المتطورة للأمام. نجد أن هذه النتائج تتطابق نوعاً ما مع دراستنا التي أوضحت أنه كلما ارتفعت النسبة المئوية للنطاف المشوهة انخفضت النسبة المئوية للنطاف المتحركة، وذلك لدى مرضى سوريين راجعوا مخبر الذكورة في قسم الإخصاب المساعد إلا أنهم مصابون بنمط محدد من العقم، وهو قلة النطاف الشديدة والمتوسطة [4].

وتؤكد هذه النتائج بمجملها وجود علاقة بين حالات قلة النطاف واضطرابات في معايير السائل المنوي الأخرى، وذلك بغض النظر عن المنطقة أو الجماعة المدروسة، وهذا ما أثبت في دراسات سابقة [6، 13]، ولكن عندما درس أحد هذه الاضطرابات بشكل خاص وهي التشوهات الشكلية المختلفة للنطاف، لوحظ أن نسب التشوهات الشكلية المختلفة تتغير باختلاف المنطقة الجغرافية، وقد فسرت الدراسة هذا الاختلاف بتأثر هذه الاضطرابات بكل من الطقس والتعرض لمواد كيميائية معينة وعوامل أخرى عديدة بما فيها ضغوط الحياة اليومية التي قد يتعرض لها المريض [7].

في بعض البحوث العلاقة بين قيمة الـ SDI وتركيز النطاف، إذ بدأ الاعتماد على هذا المؤشر منذ عام 1996، وعُدَّ طريقة مهمة لتحديد مدى تشوه النطفة الواحدة ومدى قدرتها على الإخصاب. ولأن كلاً من الأشخاص السليمين والمصابين بالعقم يحملون نطافاً مشوهة، فإننا عند حساب هذا المؤشر نأخذ بالحسبان تعداد كل من النطاف السليمة

والمشوهة في أثناء الدراسة؛ مما يسمح بجعله مؤشراً يعكس مدى التوازن بين معدل النطاف التي تحمل أكثر من تشوه واحد ومعدل النطاف ذات الشكل السليم [14، 15]. كما يُعد أيضاً من المؤشرات المهمة في تقييم الخصوبة، خاصة أن بعض الدراسات أثبتت أن ارتفاع قيمة الـ SDI أكثر من 1.6 ترتبط بارتفاع حالات إخفاق الإخصاب بطريقة الـ IVF [14]. وقد بينت نتائجنا أن مؤشر التشوهات في النطفة الواحدة يزداد كلما انخفض تركيز النطاف في عينة السائل المنوي، أي إنَّ هناك علاقة عكسية بين تركيز النطاف ونسبة التشوهات في النطفة الواحدة (SDI)، وتؤكد بعض الدراسات وجود علاقة مماثلة، في حين لم تبرهن دراسات أخرى على وجود أي علاقة لقيمة هذا المؤشر ومعايير السائل المنوي الأخرى [1، 15].

تُظهر هذه النتائج ارتباط الخلل في معايير السائل المنوي ببعضها بعضاً؛ مما يدلُّ على الأهمية الكبيرة لهذه التحاليل في تقييم حالة الخصوبة لدى الذكر، ولكنها غير كافية لتحديد سبب العقم، مع ذلك تشكل مجمل هذه التحاليل مؤشراً مهماً للتشخيص الأولي لحالة العقم يُستفاد منه لاعتماد الطريقة الملائمة من طرائق الإخصاب المُساعد Assisted Reproductive Technologies: حقن النطاف داخل الرحم Intrauterine Insemination (IUI)، أو الإلقاح التقليدي في المخبر (IVF) In Vitro Fertilization، أو الحقن المجهري للنطفة في سيتوبلازما (ICSI).

نخلص من ذلك إلى ضرورة إجراء تحاليل أخرى أكثر تعمقاً لتحديد سبب العقم ولفهم الآلية التي تؤدي إلى حدوث هذه الاضطرابات في السائل المنوي والتي وجد أنها لا تطال فقط شكل النطاف وتركيزها وحركتها بل تتعدى ذلك في كثير من الأحيان لتطال النواة وتؤدي إلي وجود خلل وراثي قد ينتقل للأجنة في حال استخدام النطفة غير المناسبة، لذلك نتجه حالياً العديد من البحوث إلى دراسة علاقة هذه المعايير المختلفة للسائل المنوي بالمادة الوراثية للنطفة وعده معياراً مهماً خاصة في حالات العقم الذكري الشديد.

جدول المصطلحات العلمية

1	Abnormal base	قاعدة مشوهة
2	Acrosomic reaction	التفاعل الأكروزومي
3	Aspermia	انعدام المنى
4	Assisted reproduction techniques	تقنيات الإخصاب المساعد
5	Asthenozoospermia	وهن النطاف
6	Azoospermia	اللانطيفية (فقد النطاف)
7	Bent middle piece	قطعة متوسطة منحنية
8	Coiled tail	ذيل ملتف
9	Cytoplasmic droplets	بقايا (قطيرات) سيتوبلاسمية
10	In Vitro Fertilization	الإخصاب في المختبر (طفل الأنبوب).
11	Infertility	العقم
12	Intracytoplasmic Sperm Injection	الحقن المجهري للنطفة داخل سيتوبلازما البويضة
13	Intrauterine insemination	حقن النطاف داخل الرحم
14	Kruger strict criteria	معايير كروجر الصارمة
15	Mild oligozoospermia	قلة تركيز النطاف المعتدلة (الخفيف).
16	Moderate oligozoospermia	قلة تركيز النطاف المتوسطة
17	Non-progressive motility	حركة غير متقدمة (في المكان)
18	Normozoospermia	نطاف طبيعية
19	Oligozoospermia	قلة النطاف
20	Rapid progressive motility	حركة سريعة متقدمة
21	Semen test	تحليل السائل المنوي
22	Severe oligozoospermia	قلة النطاف الشديدة (الوخيمة)
23	Slow progressive motility	حركة بطيئة متقدمة
24	Sperm penetration Hamster Test	فحص قدرة النطاف على اختراق بويضة الهامستير
25	Spermocytogram	الفحص الخلوي للسائل المنوي
26	Teratozoospermia	تشوه النطاف (امساخ نطفى).
27	Vasopididymostomy	الانسداد الخلقى للبربخ

المراجع REFERENCES

- العمر، عبد السلام، 2004. تشخيص العقم عند الذكور، مجلة التشخيص المخبري، المجلد3، العدد4.
ليوس، نجيب، 2002. الطريق الصحيح لتشخيص وعلاج العقم، الطبعة الثانية.
- Jakab A, Sakkas D, Delpiano E, Cayli S, Kovanci E, Ward D, Ravelli A, Huszar G, 2005. *Intracytoplasmic sperm injection: a novel selection method for sperm with normal frequency of chromosomal aneuploidies*. Fertility and Sterility. 84(6); 1665-1673.
- Parinaud J, Vieitez G, Moutaffian H, Richoille G, Milhet P, 1996. *Relationships between motility parameters, morphology and acrosomal status of human spermatozoa*. Hum Reproduction 11(6); 1240-1243.
- Karpuz V, Gokturk A, Koyuturk M, 2007. *The effects of sperm morphology and motility on the outcome of intracytoplasmic sperm injection*. Medical Journal. 20(2);92-97.
- Katz OF, Diel L, Overstreet JW, 1982. *Differences in the movement of morphologically normal and abnormal human seminal spermatozoa*. Biology of reproduction. 26; 566-570.
- Auger J, Eustache F, Andersen A.G, Irvine D.S, Jørgensen N, Skakkebaek N.E, Suominen J, Toppari J, Vierula M, Jouannet P, 2001. *Sperm morphological defects related to environment, lifestyle and medical history of 1001 male partners of pregnant women from four European cities*. Human reproduction. 16 (12); 2710- 2717.
- World Health Organization, 1992. *WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Semen-Cervical Mucus Interaction*. 3rd edn.
- Auger J, Eustache F, 2000. *Standardisation de la classification morphologique des spermatozoïdes humains selon la méthode de David modifiée*. Andrologie. 10: 358–373.
- Tang SS, Gao H, Zhao Y, Ma S, 2009. *Aneuploidy and DNA fragmentation in morphologically abnormal sperm*. International journal of Andrology. 33(1):163-179.
- Hyun-Joo K, 2005. *Medical Theraphy of Idiopathic OAT*. Pochon CHA University.
- Martin RHb, Rademaker AW, Greene C, Ko E, Hoang T, Barclay L, Chernos J. 2003. *Comparison of the Frequency of Sperm Chromosome Abnormalities in Men with Mild, Moderate, and Severe Oligozoospermia*. BIOLOGY OF REPRODUCTION. 69, 535–539.
- Morales P, Katz DF, Overstreet JW, Samuels SJ, Chang RJ, 1988. *The relationship between the motility and morphology of spermatozoa in human semen*. Journal of Andrology. 9: 241-247.
- Parastie, S. 2001. *The Importance of Sperm Morphology in the Evaluation of Male Infertility*. Course for Training in Reproductive Medicine and Reproductive Biology.
- Tomlinson M, Moffatt O, Manicardi G, Bizzaro D, Afnan M, Sakkas D, 2001. *Interrelationships between seminal parameters and sperm nuclear DNA damage before and after density gradient centrifugation*. Hum Reproduction; 16:2160- 2165.