

Effect of Incubation Period and Vitamin C on in vitro Sperm Activation in Oligozoospermic infertile Patients by using FertiCult Flushing Medium

تأثير فترة الحضان وفيتامين C على عملية تنشيط نطف المرضى المصابين بقلة النطف
وباستخدام الوسط الزراعي FertiCult Flushing Medium

Dhirgam F. Al -Shimerty Ass-Lect / Department of Toxins and Drugs
Athmar J .Abo - Saibaa Ass-Lect/ Department of Pharmaceutical chemistry
Miss Jinan J. Al – Hefery/ Al-Sader City Fertile center

Abstract:

Aim: This study was aimed to know effects of Incubation period and vitamin C on sperm for Oligospermic infertile patients parameters by activated at using mixing technique and using FertiCult Flushing Medium .

Methods : This study was perform on 32 samples , belongs to 26 patients. In this study divided one samples into two parts. The first part activated by FertiCult Flushing Medium and incubation period (30,45,60,75) min while the second part activated by FertiCult Flushing Medium with vitamine C .

Results : The results showed that there was a significant improvement ($P<0.05$) in the sperm motility percent and sperm grade activity in comparison to the results before activation and the results showed significant improvement ($P<0.05$) in the sperm motility percent and sperm grade activity in 60 min activation Incubation period comparison to that activation in Incubation period (30,45,75) min. The results showed that there was a significant improvement ($P<0.05$) in the sperm motility percent , sperm grade activity in activation at using FertiCult Flushing Medium with vitamin C in 60 min Incubation period comparison to its result in activation at used by FertiCult Flushing Medium without vitamin C in 60 min Incubation period.

Conclusion : using 60 min Incubation period a human sperm activation can give a better results than the activation in (30,45,75) min Incubation period. Also, it was found that addition of vitamin C to FertiCult Flushing Medium improve the sperm parameters in Oligospermia .

Keyword : Incubation period , Vitamine C , Oligospermic infertile patients .

الخلاصة

الهدف: تستهدف الدراسة الحالية معرفة تأثير فترة الحضان وفيتامين C على عملية تنشيط نطف المرضى المصابين بقلة النطف وباستخدام FertiCult Flushing Medium .

المنهجية : اجريت هذه الدراسة على 32 عينة تعود الى 26 مريضاً يعانون من قلة النطف حيث تم في هذه الدراسة تقسيم العينة الى قسمين القسم الاول نشط بالمستنبت الزراعي FertiCult Flushing Medium وباستخدام تقنية الخلط وبفترات حضان مختلفة (30,45,60,75) دقيقة

60 دقيقة وتم دراسة تأثير فترة الحضان وفيتامين C على عملية تنشيط النطف .

النتائج : اوضحت النتائج حصول زيادة معنوية ($P<0.05$) في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف مقارنة بقيمتها قبل التنشيط كذلك اوضحت النتائج ان فترة الحضان 60 دقيقة هي الافضل في عملية تنشيط النطف حيث اوضحت النتائج حصول زيادة معنوية ($P<0.05$) في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف مقارنة بفترات الحضان الاخرى (30, 45, 75) دقيقة في حين لم تكن هنالك أي فروقات معنوية في كل من تركيز النطف والنسبة المئوية للنطف السوية وتركيز الخلايا الدائرية في العينة

(30,45,60,75) دقيقة مقارنة بقيمتها قبل التنشيط كذلك اوضحت النتائج حصول زيادة معنوية

($P<0.05$) في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف بالنسبة للعينات التي نشطت بالمستنبت الزراعي FertiCult Flushing Medium المجهر بفيتامين C 60 دقيقة مقارنة بالعينات التي نشطت بالمستنبت FertiCult Flushing Medium الغير مجهز بفيتامين C 60 دقيقة.

الاستنتاج : نستنتج من هذا البحث ان فترة الحضان 60 دقيقة هي الافضل في تحسين معالم النطف بالنسبة لمرضى العقم المصابين بقلة النطف وباستخدام تقنية الخلط على كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف. كذلك فان اضافة فيتامين C

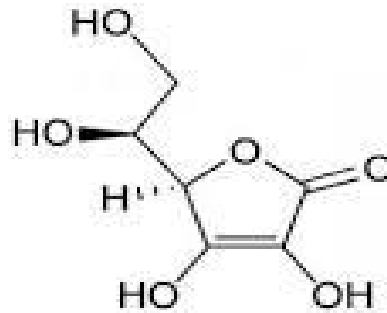
FertiCult Flushing Medium اثبت من الدراسة كفاءة عالية في الحصول على قيم جيدة لمعالم النطف على كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف بالنسبة لمرضى العقم المصابين بقلّة النطف .
مفتاح البحث : فترة الحضانة ، فيتامين C ، مرضى قلّة النطف .

المقدمة

Semen Infertility بأنه
Parameter ونوعيته (1) ويكون الزوج غير قادر على احداث الحمل في زوجته بعد مرور عام من الزواج (2)

يطلق مصطلح قلّة النطف Oligospermia للدلالة على النقص في العدد السوي للخلايا النطفية يهبط عدد النطف في كل مليلتر واحد من السائل المنوي إلى اقل من حوالي 20 مليون نطفة ، يحتمل أن يصبح الشخص عديم الخصوبة (3) تنتج النطف كميات قليلة من الأنواع الاوكسجينية الفعالة Reactive Oxygen Species(ROS) في ظروف فسيولوجية معينة والتي تعد ضرورية لأتمام عملية التمكين Capacitation الجسم الطرفي Acrosome reaction بينما تعد الكميات الكبيرة من الأنواع الاوكسجينية الفعالة التي تنتجها النطف غير الناضجة، وخلايا الدم البيض ذات ضرر للنطف السوية نتيجة زيادة فعالية أكسدة الدهون Lipid Peroxidation (4). يحتوي السائل المنوي على جزيئات ذات أوزان جزيئية عالية وأوزان جزيئية Antioxidants Scavengers system بتوفير

طرائق حماية (5) يعد فيتامين C وله دور كبير في الحفاظ على حركة النطف بحالة سوية ، وهو من مضادات الأكسدة الذائبة في الماء ويوجد داخل وخارج الأنظمة البيولوجية الخلوية ، وهو من أهم مضادات الأكسدة الموجودة في بلازما الدم ؛ وذلك لسرعة تفاعله مع اغلب الأنواع الأوكسجينية الفعالة لاسيما جذور البيروكساييل (6) ويوضح الشكل الاتي التركيب الكيميائي لفيتامين C ()



ويعمل هذا الفيتامين بالأشتراك مع فيتامين E على حماية التراكيب الدهنية من عمليات الأكسدة حيث يقوم فيتامين C بإعادة تكوين فيتامين E وهذا يفسر وجود فيتامين E بكميات قليلة في السائل المنوي (7).
يتم علاج حالات العقم في الوقت الحاضر في المراكز المتقدمة لعلاج العقم عن طريق اجراء عمليات تنشيط النطف خارج الجسم باستعمال تقنيات مختلفة ، وكانت أغلب هذه التقنيات تسعى إلى حصاد أعلى نسبة مئوية للنطف المتحركة سوية الأشكال ، بهدف الحصول على معدلات حمل جيدة ومن هذه التقنيات غسل النطف والسباحة نحو Washing and Swim-up غيرها (8) وقد استعملت أوساط مختلفة لإغراض تنشيط النطف خارج الجسم منها مستنبت إيرل (Earle's) وهام أف-10 (Ham's F-10) وغيرها (9). ان الهدف من الدراسة هو معرفة تأثير فترة الحضانة وفيتامين C على عملية تنشيط نطف المرضى المصابين بقلّة النطف وباستخدام الوسط الزرا FertiCult Flushing Medium.

المواد وطرائق العمل

عينات السائل المنوي قليلي النطف Container نظيف ومعقم وجاف سعته (40) مليلتر وكتب اسم الزوج على الوعاء بعد ان اخذت العينات بطريقة الاستمناء باليد Masturbation Sexual abstinence period لاتقل عن ثلاثة أيام ولا تزيد عن سبعة أيام للمرضى الذين كانوا يراجعون مركز الخصوبة لمدينة الصدر الطبية في محافظة النجف الأشرف، ثم وضعت عينات السائل المنوي قبل فحصها في 37 ° للسماح لها بالاماعة الطبيعية (60 دقي) ومن ثم تم فحصها فحصاً عيانياً ومجهرياً حسب نوع العينات (3) ثم تم فحص العينات قبل التنشيط و تم تنشيطها بأربعة فترات زمنية مختلفة وهي

(60) دقيقة

الثانية (45) دقيقة

(30) دقيقة

(75) دقيقة .

■ فحص السائل المنوي Seminal fluid Analysis

بعد اكتمال الاماعة التي تم تثبيت زمنها فحصت كل عينة فحصاً عيانياً ومجهرياً وسجلت معلومات ونتائج

:

■ الفحص العياني Macroscopic Examination**■ حجم العينة Volume**

تم قياس حجم العينة بواسطة أنابيب الاختبار المدرجة ويتراوح الحجم الطبيعي لدفق الرجل 1.5- 6 (3).

■ اللون Color

للمني السوي لون رصاصي براق ومظهر متجانس . أما تلونه باللون البني المحمر فقد يعزى إلى وجود كريات الدم الحمر ، كما أن وجود الخيوط المخاطية وإصفرار لون المني قد يشير ان إلى وجود الالتهاب .

■ الاماعة Liquefaction

يمتاز المني المتدفق حديثاً بكونه سائلاً وسرعان ما يتحول إلى حالة شبه صلبة Semisolid وتحديث الاماعة الطبيعية خلال 15-20 دقيقة (3).

■ اللزوجة Viscosity

تقدير لزوجة المني المائع من خلال ملاحظة الخيط المخاطي وذلك بدفق العينة من ماصة باستور ، يعد قوام المني سوياً عند تدفقه قطرة فقطرة من الماصة ، بينما يكون القوام شاداً عندما تكون العينة خيطاً أكثر من 2 (3).

■ الأس الهيدروجيني pH

تم قياس الأس الهيدروجيني بعدة بوساطة أشرطة خاصة لهذا (Lackmuspapier rot – Merck) ، يكون الأس الهيدروجيني للسائل المنوي نوعاً ما خفيف القلوية يتراوح بين 7.2 - 8.0 (3) .

■ الفحص المجهرى Microscopic examinatio

10 مايكروليتر من عينة السائل المنوي للأشخاص المصابين بقلة النطف ومزجها جيداً بعد الاماعة التامة ووضعت على شريحة زجاجية وفحصت تحت المجهر X10 X40 ويلاحظ وجود النطف (3) بعد ذلك تم دراسة معالم المني والنطف للعينات الداخلة بالدراسة.

■ محتوى وتركيز النطف Total count and Sperm concentration

تقدير النطف في القذف الكلي من معدل عدد النطف في عشرة حقول مجهرية Fields عشوائية على حجم السائل المنوي الكلي للعينة لغرض استخراج تركيز (3) 10^6

■ النسبة المئوية للنطف المتحركة Sperm motility percent

تم حساب النسبة المئوية للنطف المتحركة حركة تقدمية بحسب المعادلة التالية :

عدد النطف المتحركة تقدماً

$$\text{النسبة المئوية للنطف المتحركة تقدماً} = \frac{\text{عدد النطف المتحركة تقدماً}}{100} \times 100$$

■ النسبة المئوية للنطف السوية Normal sperm morphology percent

حسبت النسبة المئوية للنطف السوية حسب المعادلة الآتية :

عدد النطف السوية

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

■ تركيز الخلايا الدائرية Round cell concentration

تم حساب تركيز الخلايا الدائرية عن طريق عد هذه الخلايا في عشرة حقول مجهرية وضرب المعدل بالعام 6 (3) 10 ان الخلايا الدائرية الموجودة في عينة المني البشري هي خلايا الدم البيض وخلايا نطفية غير ناضجة كطلائع Spermatid ، إن العدد السوي للخلايا البيض في عينة السائل المنوي إقل من مليون في المليلتر الواحد ، بينما يبلغ عدد الخلايا البلعية الطبيعي إقل من نصف مليون في المليلتر الواحد من السائل المنوي (3).

■ المستنبت المستعمل في تنشيط النطف في الزجاج in vitro sperm activation media

FertiCult Flushing Medium المتوازن الجاهز لتنشيط النطف في الزجاج المجهر من قبل شركة (Fertipro.N.V.Belgium) حيث يحتوي هذا الوسط في تركيبه على البيكاربونات ، واملح ،

،وبابروفيت، ولاكتيت، وانسولين، وبيروتين ولايحتاج الى ثاني اوكسيد الكربون عند حضنه ويفضل قبل استخدامه وضعه في الحاضنة بدرجة حرارة 37 12 .

■ تحضير فيتامين C

استعمل فيتامين C (سمي تجارياً سيتاذيت C) المصنع من الشركة السورية للدواء Aleppo-Syria كبسولات بتركيز 500 ملغم وقد تم تحضيره على النحو :-

- 1- اضافة فيتامين C 20 .
- 2- مزج بصورة جيدة حتى يكون مستحلباً
- 3- تم تحضير تراكيز مختلفة من الفيتامين وهي 0.02 / 0.04 / 0.06 .

اضافة فيتامين C الى مستنبت FertiCult Flushing Medium

جهاز مستنبت FertiCult Flushing Medium المستعمل في تنشيط النفط خارج الجسم الحي بتقنية الخلط بفيتامين C تراكيز مختلفة وهي 0.02 / 0.04 / 0.06 .
وبعدها تم اختيار التركيز 0.06 / مل في عملية التنشيط لكونه الأفضل في التنشيط عند اجراء التجربة.
اضيف الفيتامين بتركيز 20% إلى المستنبت المستعمل في تنشيط النفط وذلك عن طريق مزج 20 محلول الفيتامين مع 80 مل من محلول المستنبت المحضر سابقاً لكل تركيز من التراكيز المستعملة .

تصميم التجارب Experimental design

صممت هذه الدراسة على وفق محورين رئيسيين هما :

المحور الأول: تنشيط النفط باستعمال FertiCult Flushing Medium فقط وباستعمال تقنية الخلط Mixing technique وبفترات حضان مختلفة.

1مللتر من المستنبت الجاهز FertiCult Flushing Medium Petri – dish
1مللتر من عينة السائل المنوي وتم تحضير العينة بدرجة 37 30 دقيقة و45 دقيقة و60 دقيقة و75 دقيقة.
بعدها تم فحص العينة بأخذ قطرة من المزيج بعد مرور فترة الحضان المشار إليها وبيان فترة الحضان الأفضل في التنشيط .

المحور الثاني: تنشيط النفط باستعمال FertiCult Flushing Medium المجهز بفيتامين C باستعمال تقنية الخلط Mixing technique.

1 FertiCult Flushing Medium المجهز بفيتامين C بتركيز 0.06 /
Petri – dish 1مللتر من عينة السائل المنوي ، وتم حضان العينة بدرجة 37 60 دقيقة .
بعدها تم فحص العينة بأخذ قطرة من المزيج بعد مرور مدة التحضين المشار إليها ومقارنة النتيجة بنتيجة التنشيط 60 دقيقة (الأفضل في التنشيط) وباستخدام المستنبت بدون فيتامين C لبيان تأثير فيتامين C عملية تنشيط النفط .

التحليل الإحصائي Statistical analysis

F للاستدلال على المعنوية ، كما استعمل اصغر فرق معنوي Least Significant Difference (LSD) في المقارنة بين النتائج بالإضافة الى الطرائق المعيارية المستخدمة في تحديد المتوسط Mean والخطأ القياسي Standard Error⁽¹⁰⁾ .

النتائج

جدول رقم (1) : معالم النطف (تركيز النطف ،النسبة المئوية للنطف السوية ، تركيز الخلايا الدائرية) قبل التنشيط وبعده للمرضى المصابين بقلّة النطف.

بعد التنشيط (المعدل ± الخطأ القياسي)					قبل التنشيط المعدل ± الخطأ القياسي	معالم النطف
تنشيط النطف باستخدام المستنبت الزراعي FertiCult Flushing Medium						
المجهز بفيتامين C وبفترة حضن 60 دقيقة	فترة الحضن 75 دقيقة	فترة الحضن 60 دقيقة	فترة الحضن 45 دقيقة	فترة الحضن 30 دقيقة		
17.34 a ± 0.38	17.38 a ± 0.34	17.35 a ± 0.35	17.30 a ± 0.36	17.40 a ± 0.39		
					18.10 a ± 0.41	تركيز النطف (10 ⁶ × نطفة /مل)
60.4 a ± 9.10	60.2 a ± 10.10	58.4 a ± 8.21	59.2 a ± 8.40	60.1 a ± 9.12	58.3 a ± 8.10	النسبة المئوية للنطف السوية %
0.69 a ± 0.18	0.71 a ± 0.19	0.69 a ± 0.18	0.68 a ± 0.20	0.70 a ± 0.21	0.80 a ± 0.22	تركيز الخلايا الدائرية (10 ⁶ ×خلية /مل)

الحروف المتشابهة تعني الفروق غير معنوية عند مستوى الدلالة ($p>0.05$)، عدد العينات = 32 عينة .

يوضح الجدول (1) وجود انخفاض ولكن غير معنوي ($p>0.05$) في كل من تركيز النطف والنسبة المئوية للنطف السوية وتركيز الخلايا الدائرية بالنسبة للعينات المنشطة بالمسد (75,60,45,30) دقيقة والعينات المنشطة بالمستنبت المجهز بفيتامين C وباستخدام تقنية الخلط.

الجدول (2) : معالم النطف (النسبة المئوية للنطف المتحركة و درجة نشاط النطف) قبل التنشيط وبعده للمرضى المصابين بقلّة النطف.

بعد التنشيط (المعدل ± الخطأ القياسي)					معالم النطف	معامل التنشيط المعدل ± لخطأ القياسي
تنشيط النطف باستخدام المستنبت الزراعي FertiCult Flushing Medium						
المجهز بفيتامين C وبفترة حضن 60 دقيقة	فترة الحضن 75 دقيقة	فترة الحضن 60 دقيقة	فترة الحضن 45 دقيقة	فترة الحضن 30 دقيقة		
70.93 e ± 9.10	55.23 c ± 8.15	63.40 d ± 8.20	55.13 c ± 8.20	52.50 b ± 7.10	40.53 a ± 3.10	النسبة المئوية للنطف المتحركة %
3.71 e ± 0.18	2.56 b ± 0.19	3.31 d ± 0.23	2.72 c ± 0.18	2.51 b ± 0.20	2.10 a ± 0.21	درجة نشاط النطف

الحروف المتباينة تعني الفروق معنوية عند مستوى الدلالة ($p<0.05$)، عدد العينات = 32 عينة .

يوضح الجدول (2) حصول زيادة معنوية ($p < 0.05$) في النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف للعينات التي نشطت باستخدام المستنبت FertiCult Flushing Medium (75,60,45,30) دقيقة والعينات التي نشطت باستخدام المستنبت FertiCult Flushing Medium المجهر بفيتامين C بقيمتها قبل التنشيط ، كذلك اوضحت النتائج عند التنشيط باستخدام المستنبت FertiCult Flushing Medium 60 دقيقة تأثير كبير حيث ادت الى زيادة معنوية ($P > 0.05$) من النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف مقارنة بقيمتها قبل التنشيط والتنشيط باستخدام المستنبت FertiCult Flushing Medium (75, 45,30) دقيقة. زيادة معنوية ($P > 0.05$) النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف بالنسبة للعينات التي نشطت باستخدام FertiCult Flushing Medium المجهر بفيتامين C مقارنة بالعينات المنشطة باستخدام FertiCult Flushing Medium الغير مجهر بفيتامين C) 60 دقيقة الافضل بالتنشيط).

■ المناقشة

تم في هذه الدراسة الحالية استخدام المستنبت الزراعي FertiCult Flushing Medium في تقنية التنشيط دراسات عديدة الى ان استعمال المستنبتات يتم لغرض تقليل تراص الخلايا واختزال لزوجة السائل المنوي للمساعدة في زيادة حركة النطف توي هذه المستنبتات على ايونات عديدة مثل الصوديوم والبوتاسيوم والكالسيوم والمغنسيوم والبايروفين واللاكتيت كما هو الحال في مستنبت FertiCult Flushing Medium حيث تعمل هذه الايونات على تنشيط النطف وزيادة حركتها وهو ما أشار إليه (11) FertiCult Flushing Medium اثرا كبيرا في زيادة النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف، اما استخدام تقنية الخلط Mixing Technique في هذه الدراسة فيعود السبب في ذلك الى ان الحالة المرضية المستخدمة في هذه الدراسة هي قلة النطف وان تقنية الخلط تحافظ على تركيز النطف دون ان ينخفض مقارنة بالتقنيات الاخرى كتقنية السباحة للأعلى وغيرها وهذا ما اشار اليه (12) حيث لاحظ ان تقنية الخلط اكثر ملائمة لتنشيط عينات المرض المصابين بقلة النطف الحاد والمعتدل وذلك لأنها تحافظ على تركيز النطف دون ان ينخفض.

ك اوضحت نتائج البحث الحالي وجود انخفاض ولكن غير معنوي ($p > 0.05$) في كل من تركيز النطف والنسبة المئوية للنطف السوية وتركيز الخلايا الدائرية بالنسبة للعينات المنشطة بالمستنبت الزراعي لوحده وبفترات (75,60,45,30) دقيقة والعينات المنشطة بالمستنبت المجهر بفيتامين C وباستخدام تقنية الخلط ويعزى السبب في ذلك الى ان النطف التي تم تنشيطها باستعمال هذه التقنية لم تتطلب بذل أي جهد لمقاومة جاذبية الارض والتي لم يكن لها تأثير يذكر في حركة واتجاه النطف وكانت النطف تسبح بحرية اما نقصان غير المعنوي في تركيز النطف والنسبة المئوية للنطف السوية وتركيز الخلايا الدائرية فيعزى الى عملية التخفيف التي تحصل نتيجة خلط السائل المنوي والمستنبت اذا ما قورنت بمجموعة السيطرة وتتفق هذه النتائج مع ما توصل اليه (12) (13) حيث لاحظوا ان هنالك انخفاض ولكن غير معنوي في كل من تركيز النطف وتركيز الخلايا الدائرية والنسبة المئوية للنطف السوية بالنسبة لعينات مرضى العقم المصابين بقلة النطف المنشطة بتقنية الخلط.

كذلك اوضحت النتائج حصول زيادة معنوية ($p < 0.05$) في النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف للعينات التي نشطت باستخدام المستنبت FertiCult Flushing Medium (75,60,45,30) دقيقة والعينات التي نشطت باستخدام المستنبت FertiCult Flushing Medium المجهر بفيتامين C قبل مقارنة بقيمتها قبل التنشيط وتتفق هذه النتيجة مع ما توصل اليه (14) النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف بعد التنشيط مقارنة بقيمتها قبل التنشيط وقد يعزى ذلك الى قابلية النطف على الاستفادة من المادة الغذائية والايونات اللاعضوية الموجودة في المستنبت خلال فترات الحضان حيث تعمل على تجهيز الماييتوكوندريا بالمواد الغذائية الضرورية لتحفيزها على توليد الطاقة اللازمة لحركة النطف عن طريق تحول مركب الادينوسين ثلاثي الفوسفات (ATP) الى مركب الادينوسين ثنائي الفوسفات (ADP) وانتقال الطاقة من الماييتوكوندريا الى ذيل النطف لزيادة الحركة (15) كذلك اوضحت النتائج عند التنشيط باستخدام FertiCult Flushing Medium 60 دقيقة تأثير كبير

حيث ادت الى زيادة معنوية ($P > 0.05$) في كل من النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف مقارنة بقيمتها قبل التنشيط والتنشيط باستخدام المستنبت FertiCult Flushing Medium (75, 45,30) وتتفق نتائج الدراسة مع ما توصلت اليه (16) 60 دقيقة تأثير واضح على تحسن النسبة المئوية للنطف المتحركة ودرجة نشاط النطف والافضل عند استخدام المستنبتات الزراعية لغرض التنشيط وقد يعود السبب في ذلك الى زيادة نسبة النطف المتكيفة وانخفاض نسبة النطف غير المتكيفة بازدياد فترة الحضان (17). كذلك اوضحت النتائج حصول زيادة معنوية ($P > 0.05$) في النسبة المئوية للنطف

المتحركة ودرجة نشاط النطف بالنسبة للعينات التي نشطت باستخدام المستنبت FertiCult Flushing Medium المجهر بفيتامين C مقارنة بالعينات المنشطة باستخدام المستنبت FertiCult Flushing Medium الغير مجهز بفيتامين C (60 دقيقة الافضل بالتنشيط) وتتفق هذه النتائج مع ماتوصل اليه⁽¹⁸⁾ من فيتامين E وفيتامين C والكلوتاثيون لمدة شهرين من العلاج يسبب تحسنا في معالم النطف وانخفاض في تركيز المالوداي الديهايد حيث يمتلك فيتامين C دورا وقائيا لحماية النطف من تأثير زيادة فعالية اكسدة الدهون اذ بينت احدى الدراسات ان فيتامين C يقلل من مستوى الانواع الاوكسجينية الفعالة ويحافظ على حركة النطف من خلال كسينية الفعالة وحماية النطف من الاجهاد التأكسدي⁽¹⁸⁾.

المصادر

1. Cooper, T.G.; Noonan, E. and Von Eckandstein, S. (2010). World Health organization reference values for human semen characteristics. Hum.Reprod.Uptake 16(3):231-45.
2. Visser, L. and Repping, S. (2010). Unraveling the genetics of spermatogenetic failure Reproduction; 139:303-307.
3. World, Health Organization (2010). Laboratory Manual for the semen and sperm cervical Mucus Interaction, 1th ed, Cambridge University press, Cambridge.
4. Agarwal, A.; Saleh, R..A. and Bedaiwy, M..A. (2003). Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of Human Reproduction. Fertil. Steril; 79 : 829-843.
5. Pasqualotto, F.F.; Sharma, R.K.; Nelson, D.R.; thomas, A.J. and Agarwal, A. (2000). Relationship between oxidative stress, semen characteristics, and Clinical diagnosis in men undergoing infertility investigation. Fertil. Steril; 73 : 459-464.
6. Al-Morshidy, S.Y.; Al-Morshidy, M.K. and Jassim, H. (2008). A treatment of asthinospermic patients with oral administration of vitamin E and C combination. Kufa. Med; 11(1):177-183.
7. Balercia, G.; Armenit, T.; Mantero, F.; Principato, G. and Regoli, F. (2003). Total oxradical scavenger capacity toward different reaction oxygen species in seminal plasma and sperm cells. clin. Chem. Lab. Med; 41:13-19.
8. Chiamchanya, C. and Su-angkawatin, W. (2008). Study of the causes and the Results of the treatment in infertile couples at Thammasat Hospital between 1999-2004. J. Med. Assoc. Thai; 91(6):805-812.
9. Kaewnooual, N.; Chiamchanya, C.; Visutakul, P.; Mauochantr, S.; Chaiya, J. and Totudom, P. (2008). Comparative study of semen quality between per-washed with 3 sperm preparation media. Thammasat Medical Journal; 8(3):292-300.
10. الراوي، خاشع محمود (2000). مدخل الى الأحصاء، الطبعة الثانية. كلية الزراعة والغابات، جامعة
11. العبيدي، سماح عامر حمود (2010). تأثير استخدام الوسط الزرع في FertiCult Flushing Medium في تنشيط معالم النطف في الزجاج لمرضى العقم المصابين بوهن النطف. أطروحة ماجستير، كلية العلوم،
12. (2008). تأثير فيتامين E في تنشيط معالم النطف في الزجاج لمرضى العقم المصابين بقلّة النطف ووهنها. أطروحة ماجستير، كلية العلوم، جامعة بغداد.
13. الخزرجي، انعام مهدي داود (2007). تنشيط النطف خارج الجسم لمرضى العقم المصابين بقلّة النطف ووهنها باستخدام تقنيات مختلفة. أطروحة ماجستير، كلية التربية للبنات، جامعة الكوفة.
14. Petyim, S.; Choavaratana, R.; Suksompong, S.; Laokirkkiat, P. and Makemaharn, O. (2009). Outcome of sperm preparation using double-gradients technique study in siriraj hospital. J. Med. Assoc. Thai; 92(7): 878-884.
15. Kasai, T.J.; Ogawa, K.; Mizuno, K.; Nagea, S.; Uchida, Y.; Ohta, S.; Fujie, M.; Suzuki, K.; Hirata, S. and Hoshi, K. (2002). Relationship between sperm

mitochondrial membrane Potential, Sperm motility and fertility Potential. Asian J Androl; 4 : 97-103.

16. (2002) . دراسة تأثير استخدام بعض الهرمونات في تنشيط النطف في الزجاج للمرضى المصابين بوهن النطف . أطروحة ماجستير ، كلية العلوم ، جامعة بابل.

17.Yao,Y.Q.;Ho.P.C.and Yeung,W.S.B.(2000).Effect of human follicular fluid on the capacitation and motility of human spermatozoa.fertile.Steril;73:680-686.

18. المرشدي ، صاحب يحيى حسن (2006) . تأثير بيروكسيد الهيدروجين وبعض مضادات الأكسدة في معايير النطف البشرية خارج الجسم الحي . وراه ، كلية العلوم ، جامعة بابل .