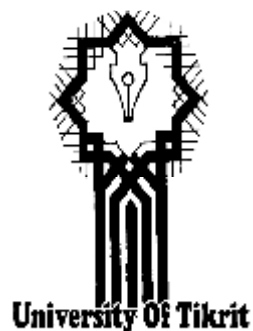


Ministry of Higher Education
And Scientific Research
Tikrit University
College of Education



**Study of some Biochemical and
Hormonal Parameters in Seminal
Plasma of Infertile Patients in
Diyala Governorate**

A Thesis

SUBMITTED TO THE COUNCIL OF THE
COLLEGE OF EDUCATION, UNIVERSITY OF TIKRIT IN
PARTIAL FULFILMENT OF THE REQUIREMENTS FOR THE
DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY
IN BIOCHEMISTRY

BY
EHSSAN NISSIAF JASIM AL-OBAIDY

Supervised by

Prof.

Dr. ABDUL-MONAIM HAMAD AL-SAMARRAI

Prof.

Dr. KHALID MUTNE AL-JANABI

2013 A.D

1434 A.H

Abstract

Over 70 million couples suffer from infertility worldwide and the majority of those couples can be found in developing countries. The current study includes the measurement of some biochemical variables in human seminal fluid and its relationship to the seminal fluid quality. Clinical and hormonal characteristics related to male infertility factor of the infertile patients (n=75) and representative proven fathers as a control (n=25) were studied and all samples (n=100) were analyzed and classified into five cases which are: typical (control), azoospermia, normospermia, oligospermia and asthenospermia. Hormonal imbalances are the most common cases of infertility in each country, and can be treated with assisted reproductive technologies (ART). The unavailability or the expensiveness of new reproductive technologies in developing countries is a severe problem.

This study aims to determine if there is any significant difference in the biochemical variables and hormonal profiles of fertile and infertile men. One hundred samples of seminal fluid were collected from men within the age range of (18) yrs to (40.3) yrs. Attending infertility at Baquba General Hospital and Fertility Unit, Diyala in Iraq. The study included the measurement of fertility hormones level using the enzyme linked immune-sorbent assay (ELISA) method was it also used in analyzing the inhibin B hormone. The VIDAS instruments were used for the enzyme immunoassay measurements Testosterone (T), Follicle stimulating hormone (FSH), Luteinizing hormone (LH).

Measurements in human seminal plasma were carried out using the (ELFA) technique (Enzyme linked fluorescent Assay). The samples were analyzed and classified according to WHO criteria depending on the medical information obtained on a prescribed proforma to estimate physical of seminal characteristic variables like sperm conc., percentage of the motility, sperm % morphologies, the percentage of dead sperms, pH, Volume, liquefaction time, BMI and others. The study included the measurement of the biochemical parameters such as malondialdehyde (MDA) Levels as a marker about ROS in human seminal plasma. Citric acid, Acid phosphatase Enzyme activity, fructose, Uric acid, Zinc, Selenium, Copper. All levels were measured in patients and control group by spectrophotometric method except Copper by atomic absorption spectrometry (AAS). The results of the study in hormonal profile showed that inhibin B hormone in the infertile men respectively, were significantly lower: (13.92±1.99, 240.2±17.4, 35.92±2.08, 76.9±8.99) pg/ml than the fertile subjects (278.8±12.9) pg/ml. follicle stimulating hormone in the infertile men was significantly higher: (1.148±0.0453, 0.469±0.0453, 0.5119±0.014, 0.495±0.0124,) mUI/ml, respectively, than the fertile subjects (0.329±0.0198) mUI/ml. luteinizing hormone in the azoospermia men lower: (0.663±0.0263) mUI/ml than the fertile subjects (0.9968±0.456) mUI/ml. while higher in normo, oligo, Astheno (1.639±0.103, 1.363±0.038, 1.4311±0.0332,) mUI/ml. and testosterone in the, azoospermia and oligospermia was lower: (0.4267±0.0192, 0.481±0.0124) ng/ml than in the fertile subjects : Testosterone (0.539±0.0293)

ng/ml while in the normo, astheno was higher ($0.6253 \pm 0.0353, 0.5483 \pm 0.0307$) ng/ml than the fertile subjects. Results of biochemical parameters showed a decrease in the citric acid conc. in groups: Azospermia, normospermia, oligospermia, Asthenospermia: ($11.303 \pm 0.224, 16.924 \pm 0.169, 15.522 \pm 0.167, 2.812 \pm 0.123$) mg/ejaculate comparison to (the concentration of control (22.140 ± 0.383) mg/ejaculate. MDA Results of the study showed an increase in the MDA concentration in seminal plasma for the studied cases ($13.602 \pm 0.198, 8.079 \pm 0.175, 11.528 \pm 0.334, 11.641 \pm 0.334$) $\mu\text{mol/l}$, respectively, in comparison to the concentration of control (8.040 ± 0.164) $\mu\text{mol/l}$. Results of the study showed an increase in the fructose concentration in seminal plasma for the studied cases; Azospermia, normospermia, oligospermia, Asthenospermia: ($11.5234 \pm 0.162, 4.0999 \pm 11.0, 10.636 \pm 0.177, 10.226 \pm 0.254$) mmol/l, respectively, in comparison to the concentration of control (4.857 ± 0.225 mmol/l). Results of the study showed uric acid concentration decreased in seminal plasma for the studied cases Azospermia, normo, Astheno ($1.97 \pm 0.0818, 5.728 \pm 0.153, 1.919 \pm 0.0740$) mg/dl, respectively: except oligospermea was (1.5340 ± 0.258) mg/dl, comparison to the concentration of control (6.572 ± 0.19) mg/dl. Results of the study showed an increase in the Acid phosphatase Enzyme activity in seminal plasma for the studied cases Azospermia, normo, oligo, Astheno: ($80.04 \pm 1.41, 89.93 \pm 3.22, 92.26 \pm 2.71, 85.52 \pm 2.43$) IU/L respectively. In comparison to the concentration of control (79.27 ± 1.39) IU/L. Results of the study showed a decrease in the zinc concentration in seminal plasma for the studied cases above: ($181.0 \pm 13.9, 250.4 \pm 13.4, 235.81 \pm 9.36, 226.27 \pm 7.71$) $\mu\text{g/dl}$. in comparison to the concentration of control (320.3 ± 17.4) $\mu\text{g/dl}$. Results of the study showed a decrease in the Selenium concentration in seminal plasma for the studied cases ($0.169 \pm 0.0102, 0.239 \pm 0.0170, 0.146 \pm 0.0123, 0.167 \pm 0.0233$) $\mu\text{g/ml}$. in comparison to the concentration of control (0.310 ± 0.0101) $\mu\text{g/ml}$; respectively. Results of the study showed an increase in the Copper concentration in seminal plasma for the studied cases ($0.144 \pm 0.0068, 0.108 \pm 0.00317, 0.158 \pm 0.00519, 0.139 \pm 0.00349$) $\mu\text{g/ml}$. in comparison to the concentration of control (0.104 ± 0.00485) $\mu\text{g/ml}$. The correlation coefficient (r) between Inhibin B and other parameters calculated with regression plot showed a positive correlation between Inhibin B with (LH, Liquefaction time, pH, Pus cells, fructose, MDA, BMI), and a negative correlation with (FSH, T, WBC, ACP, Citric acid, Zn, Cu and Uric acid) in patients of Azoospermia group; There was a positive correlation between Inhibin B with (PH, A%, S%, Normal morphology, fructose) but a negative correlation with (T, FSH, Liquefaction time, Sperm conc., Volume, D%, WBC, Pus cells, ACP, MDA, Zn, Cu and Uic acid) in patients of Noromospermia group; There was a positive correlation between Inhibin B with (D%, Normal morphology, WBC, MDA, Zn and BMI), while a negative correlation with (LH, FSH, T, Liquefaction time, Sper Con., Volume, pH, A%, S%, Pus cells, fructose, Citric acid, Cu and Uric acid) in male patients of Asthenospermia group; There was a positive correlation between Inhibin B with (Sperm concentration, pH, S%, normal morphology, WBC, ACP, fructose, Zn a Se), but a negative correlation with (FSH, LH, T, Liquefaction time, Volume, D%, pus cells, Citric acid, MDA, Cu and Uric acid) in patients of Oligospermia group.

الخلاصة

أكثر من 70 مليون من الأزواج يعانون من العقم في جميع أنحاء العالم ويمكن العثور على معظم هذه الأزواج في البلدان النامية. الدراسة الحالية شملت قياس بعض المتغيرات البايوكيميائية في السائل المنوي للإنسان وعلاقته بنوعية السائل المنوي. وتمت دراسة الخصائص السريرية والهرمونية المتعلقة بعقم الرجال من المرضى (عدد = 75). والذين أثبتوا آباء ممثلة كمجموعة سيطرة (عدد = 25). وجميع العينات تم تحليلها وتصنيفها إلى خمسة مجاميع هي: السيطرة، فاقدى النطاف، طبيعي النطاف، قليلى النطاف ومجموعة وهن النطف. ومقارنتها مع مجموعة السيطرة. ان الاختلالات الهرمونية هي الحالات الأكثر شيوعا للعقم، ويمكن علاج هذا بواسطة تكنولوجيا التناسل المساعدة (ART) وان عدم توفرها والغلاء لتلك التكنولوجيات الإيجابية الجديدة يعتبر مشكلة حتى في البلدان المتطورة.

هذه الدراسة تهدف إلى تحديد ما إذا كان هناك أي اختلاف في المتغيرات البايوكيميائية والهرمونية في الرجال اللذين يعانون من العقم وقلة الخصوبة. تم جمع عينات السائل المنوي من مائة من الرجال العقيمين والاصحاء داخل الفئة العمرية من (18) إلى (40.3) سنة. حضروا في مستشفى بعقوبة العام ووحدة الخصوبة في ديالى في العراق. وشملت الدراسة قياس هرمونات الخصوبة باستخدام الطريقة الانزيمية المناعية (ELISA) في تحليل هرمون إنهيبيين B. وباستخدام أجهزة VIDAS. هرمون التستوستيرون (T)، هرمون المنبه للجريب (FSH) وهرمون اللوتيني (LH) في البلازما المنوية البشرية باستخدام تقنية (ELFA) (الفلورسنت المناعية).

تم تحليل العينات وتصنيفها وفقا لمعايير منظمة الصحة العالمية وتم تحديد المعلومات الطبية الأولية المحددة مثل تركيز الحيوانات المنوية ونسبة الحركة، والأشكال المورفولوجية للحيوانات المنوية. تم قياس نسبة الحيوانات المنوية الميتة. درجة الحموضة، الحجم، وقت التسييل، مؤشر كتلة الجسم وغيرها. وشملت الدراسة تقدير المعلمات البايوكيميائية مثل مستويات المالوندايالديهيد بطريقة طيفية. ويتوقف ذلك على أنه علامة حول اجزاء الاوكسجين الفعال في البلازما المنوية البشرية. تم قياس حامض الستريك، ونشاط أنزيم الفوسفاتيز الحامضي وسكر الفركتوز وحامض اليوريك، والزنك، والسيلينيوم، في المجاميع المرضية ومجموعة السيطرة بطريقة طيفية لونية، اما قياس النحاس تم بواسطة جهاز طيف الامتصاص الذري اللهبى (AAS).

وأظهرت نتائج الدراسة للأوجة الهرمونية حيث كانت الهرمون إنهيبيين بي في الرجال العقيمين فاقدى النطاف، طبيعي النطاف، قليلى النطاف، وهن النطاف كالآتي: $(17.4 \pm 240.2, 1.99 \pm 13.92, 2.08 \pm 35.92)$ ، (8.99 ± 76.9) بيكوغرام/مل على التوالي من أقل مجموعة السيطرة (12.9 ± 278.8) بيكوغرام/مل. نتائج الهرمون المحفز الجريبي في مجموعة فاقدى النطاف كانت: (0.0453 ± 1.48) ملي. وحدة دولية/مل أقل من مجموعة السيطرة (0.0198 ± 0.329) ملي. وحدة دولية/مل في حين أعلى في المجموعات الأخرى طبيعي النطاف، قليلى النطاف، وهن النطاف: $(0.012 \pm 0.495, 0.014 \pm 0.5119, 0.0453 \pm 0.469)$ ملي. وحدة دولية /مل من مجموعة السيطرة. الهرمون اللوتيني في الرجال العقيمين كانت النتائج كالآتي: $(0.026 \pm 0.663, 0.103 \pm 1.639, 0.038 \pm 1.36, 0.033 \pm 1.43)$ ملي. وحدة دولية/مل. على التوالي، أعلى من مجموعة السيطرة (0.045 ± 0.996) ملي وحدة دولية/مل. نتائج هرمون تستوستيرون في مجموعة فاقدى النطاف وقليلى النطاف (0.0192 ± 0.4267) و (0.0124 ± 0.481) نانوغرام/مل على التوالي ادنى من مجموعة السيطرة: (0.0293 ± 0.539) نانوغرام/مل، بينما في الطبيعي النطاف، وهن النطاف (0.0353 ± 0.625) و (0.0307 ± 0.548) نانوغرام / مل أعلى من مجموعة السيطرة على التوالي.

وأظهرت نتائج الدراسة في القياسات البايوكيميائية انخفاض في تركيز حامض الستريك في البلازما المنوية في المجاميع المرضية فاقدى النطاف، طبيعي النطاف، قليلى النطاف، وهن النطاف عن مجموعة السيطرة: $(0.167 \pm 15.522, 0.132 \pm 2.81, 0.169 \pm 0.224, 16.924 \pm 11.303)$ ملغ/للقذفة على التوالي بالمقارنة مع

بمجموعة السيطرة (0.383 ± 22.140) ملغ/للقذفة. وأظهرت نتائج الدراسة زيادة في تركيز MDA البلازما المنوية في الحالات التي تمت دراستها اعلاه ($11.641, 0.208 \pm 11.528, 0.175 \pm 8.079, 0.198 \pm 13.602$) ميكرومول/لتر على التوالي بالمقارنة مع تركيز مجموعة السيطرة (0.164 ± 8.040) ميكرومول/لتر. وأظهرت الدراسة زيادة في تركيز سكر الفركتوز في البلازما المنوية في الحالات المدروسة فاقدى النطاف، قليلي النطاف ووهن النطاف كالاتي: ($0.126 \pm 11.523, 0.177, \pm 10.636, 0.254 \pm 10.226$) ما عدا طبيعيي النطاف (0.11 ± 4.09) ملغ/دس لتر على التوالي بالمقارنة مع تركيزه في مجموعة السيطرة (4.857 ± 0.225) ملي مول/ لتر. وأظهرت نتائج الدراسة حمض اليوريك في البلازما المنوي انخفاض تركيز الحمض المنوي في الحالات التي تمت دراستها فاقدى النطاف، طبيعيي النطاف، قليلي النطاف، وهن النطاف ($1.97 \pm 0.0818, 0.053 \pm 5.728, 0.258 \pm 1.53, 0.074 \pm 1.91$) ملغ/دس لتر على التوالي بالمقارنة مع تركيزه في مجموعة التحكم (0.191 ± 6.572) ملغ / دس لتر. وأظهرت نتائج الدراسة وجود زيادة في نشاط وفعالية انزيم الفوسفاتيز الحامضي في البلازما المنوية في الحالات المدروسة اعلاه ($80.04 \pm 1.14, 89.93 \pm 3.22, 92.26 \pm 2.71, 85.52 \pm 2.43$) وحدة دولية / لتر على التوالي بالمقارنة مع تركيزه في مجموعة السيطرة (79.27 ± 1.39) وحدة دولية/ لتر. وأظهرت نتائج الدراسة انخفاض في تراكيز الزنك في البلازما المنوية في الحالات المدروسة اعلاه ($13.4 \pm 13.9, 250.4 \pm 181.0, 7.71 \pm 235.81, 7.17 \pm 226.27$) ميكروغرام / ديسيلتر على التوالي بالمقارنة مع تركيزه في مجموعة السيطرة (17.4 ± 320.3) ميكروغرام / ديسيلتر. وأظهرت نتائج الدراسة انخفاض في تركيز السيلينيوم في بلازما المنوية في الحالات المدروسة اعلاه ($0.169 \pm 0.0102, 0.0170 \pm 0.239, 0.0123 \pm 0.146, 0.0233 \pm 0.167$) ميكروغرام/ مل على التوالي بالمقارنة مع تركيزه في مجموعة السيطرة (0.0101 ± 0.310) ميكروغرام / مل. وأظهرت نتائج الدراسة زيادة في تراكيز النحاس بالبلازما المنوية للحالات المرضيه اعلاه: ($0.0068 \pm 0.144, 0.0037 \pm 0.108, 0.00349 \pm 0.139, 0.0051 \pm 0.158$) ميكروغرام/مل على التوالي بالمقارنة مع تركيزه في مجموعة السيطرة (0.104 ± 0.00485) ميكروغرام/مل.

وأظهرت معامل الارتباط بين هورمون إنهيبيين B وغيره من المعلمات والمؤشرات المحسوبة والانحدار وجود علاقة إيجابية بين B إنهيبيين مع (LH، وقت التسييل، الحجم، ودرجة الحموضة، وخلايا الالتهاب وسكر الفركتوز، ومعامل كتلة الجسم والمولونداي الديهيد)، بينما وجود علاقة سلبية مع (WBC، T، FSH، ACP، حمض الستريك، الزنك، النحاس وحمض اليوريك) في المرضى من مجموعة فقد النطاف، كان هناك ارتباط إيجابي بين B إنهيبيين مع (pH، A، S، %، مورفولوجيا العادي وسكر الفركتوز وحمض الستريك)، ولكن وجود علاقة سلبية مع (T، FSH، LH، وقت التسييل، وتركيز الحيوانات المنوية، الحجم، %D، WBC، وخلايا الالتهاب، ACP، MDA، حمض الزنك، النحاس معامل كتلة الجسم) في المرضى من مجموعة طبيعيي النطاف؛ كان هناك علاقة إيجابية بين إنهيبيين B مع (%D، مورفولوجيا عادي، WBC، MDA، الزنك وBMI)، بينما وجود علاقة سلبية مع (LH، FSH، T، وقت التسييل، وتركيز الحيوانات المنوية، الحجم، ودرجة الحموضة، A، S، %، خلايا الالتهاب الفركتوز، وحمض الستريك، وحمض اليوريك والنحاس) في المرضى من المجموعة وهن النطاف، وكان هناك وجود علاقة إيجابية بين B إنهيبيين مع (تركيز الحيوانات المنوية، ودرجة الحموضة، S، %، مورفولوجيا العادي، WBC، ACP، الفركتوز، الزنك والسيلينيوم)، ولكن مع وجود علاقة سلبية (FSH، LH، T، وقت التسييل، المحجم، %D، خلايا الالتهاب وحمض الستريك، MDA، النحاس وحمض اليوريك) في المرضى مجموعة قلة النطاف.