مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره اول – شماره ۲– تابستان ۸۶

بررسی ارتباط آنتی بادی ضد اسپرم با ریسک فاکتورهای تشکیل دهنده آن در مردان نابارور

فرهاد شاهسوار * دکتر عبد الرضا خیرالهی** بهنام اسدی فر*** محمد جواد طراحی****

*عضو هیأت علمی دانشگاه علوم پزشکی لرستان، دانشجوی دکتری ایمو نولوژی، دانشگاه علوم پزشکی ایران
**استاد یار گروه ارولوژی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان
***کارشناس علوم آزمایشگاهی، دانشگاه علوم پزشکی ایران
****مربی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان

چکیده

زمینه و هدف

مطالعات نشان داده‌اند که آنتی‌بادی ضد اسپرم (ASA) (Antisperm Antibody) می‌تواند با باروری تداخل نماید . ASA می‌تواند در سرم یا مایع منی مردان از طریق آزمایشات متعددی مشخص‌گردد. در این مطالعه درصد ASA از کلاس IgG در مردان زوج‌های نا بارور شهر خرم آباد به‌وسیله تست واکنش آگلوتیناسیون مختلط (Mixed Antiglobulin Reaction) (MAR) مستقیم تعیین گردید. به‌علاوه ریسک فاکتورهای تشکیل دهنده ASA به‌منظور بررسی ارتباط آنها با ASA مورد ارزیابی قرار گرفتند.

روش بررسی

۲۰۰ مرد به‌عنوان بخشی از ارزیابی ناباروری جهت تعیین ASA مورد بررسی قرارگرفتند. بیماران بر اساس درصد ASA ۱۰٪>یا ۱۰٪≤ گروه بندی شدند. ریسک فاکتورهای تشکیل دهنده ASA شامل واریکوسل، فتق و عفونت‌های تناسلی ادراری برای هر گروه لحاظ گردید. آنالیز آماری با استفاده از آزمون Fisher's exact انجام گرفت.

یافته‌ها

نتایج نشان داد که ۱۸/۵٪ از جمعیت مورد مطالعه دارای آنتی‌بادی ضد اسپرم بودند. سابقه واریکوسل باوجود ASA به روش MAR مستقیم ارتباط معنی‌داری داشت. ولی سابقه فتق باوجود ASA به روش MAR مستقیم ارتباط نداشت. سابقه ابتلا به عفونت‌های تناسلی ادراری باوجود ASA به روش MAR مستقیم ارتباط معنی‌داری نشان داد.

نتیجه گیری

این یافته‌ها نشانگر آن است که دست‌کاری ساختمان‌های طنابی شامل وازدفران با تشکیل ASA ارتباط ندارد، گرچه واریکوسل وسابقه عفونت‌های تناسلی ادراری ریسک فاکتورهای مهمی برای تولید ASA می‌باشند.

کلید واژها : آنتی بادی ضد اسپرم، ناباروری مردان، ناباروری، واکنش آنتی گلوبولین مختلط

تاریخ دریافت: ۸۶/۵/۲۷ تاریخ پذیرش:۸۶/۶/۱۷

نویسنده مسئول: گروه ایمو نولوژی دانشگاه علوم پزشکی ایران

e-mail:shahsavarfarhad@yahoo.com

www.SID.ir

مقدمه

پژوهش‌های متعدد انجام گرفته بر روی مدل‌های حیوانی و انسانی نشان داده‌اند، وجود ASA[1] می‌تواند با باروری تداخل نماید [۱، ۲] . ASA موجود بر روی سطح اسپرم و ترشحات تناسلی در ایجاد ناباروری دخالت دارد، در حالی‌که اهمیت کلینیکی ASA سرم هنوز مورد بحث است [۳] . ASA متصل به آنتی‌ژنهای سر اسپرم بیشترین تأثیر را در ایجاد اختلال در روند عملکرد اسپرم دارند [۴-۶] .

امروزه تعیین ASA یکی از مهم‌ترین مراحل در ارزیابی ناباروری مردان است. ASA از طریق آزمایشات متعددی تعیین می‌شود. در بیشتر مطالعات بر استفاده از روش MAR برای ارزیابی وجود ASA وتعیین ایزوتیپ آن تأکید شده است .تست MAR ساده و ارزان بوده و به روش مستقیم یا غیر مستقیم انجام می‌گیرد. در روش مستقیم که آنتی‌بادی های متصل به اسپرم بیمار را ارزیابی می‌کند، بر روی نمونه‌های مایع منی تازه انجام می‌گیرد. از میان ایزوتیپ های ASA ، علاوه بر ایزوتیپ IgA، ایزوتیپ IgG نیزدر ایجاد ناباروری مردان دارای اهمیت کلینیکی می‌باشد[۷-۹] .

تخمین میزان شیوع واقعی ASA با توجه به گوناگونی آزمایش‌های تشخیصی وتفسیر آنها مشکل می‌باشد[۱۰] . Pattinson وهمکارش از IBT[2] برای آزمایش مایع منی ۳۰۰ مرد نابارور استفاده کردند وشیوع ASA را ۱۰/۷ درصد گزارش نمودند [۱۱] . Lynch وHowe شیوع ۲۶ درصدی از ASA متصل به اسپرم را با روش ELISA گزارش نمودند [۱۲] .

پارامترهای غیر طبیعی مایع منی از قبیل اتوآگلوتیناسیون، تحرک کم، عدم حرکت رو به جلو وکارایی ضعیف اسپرم در بارور نمودن تخمک شایع‌ترین اندیکاسیون های تست ASA می‌باشند [۱۳] . شکسته شدن مستقیم سد خونی بیضه‌ای به دلیل وازکتومی وبرگرداندن آن تنها فاکتور مردانه‌ای است که با تشکیل ASA ارتباط دارد. این آنتی‌بادی‌ها در ۷۴-۳۴ درصد موارد در سرم ظاهر می‌شوند ودر ۶۰ –۳۸ درصد موارد به اسپرم متصل می‌باشند [۱۴] . پیچ‌خوردگی بیضه، کارسینومای بیضه، نهان بیضگی، عفونت، واریکوسل، فتق وآسیب‌های طناب نخاعی نیز با تشکیل ASA ارتباط دارند[۱۵] . اطلاعات گوناگون و متضاد در مورد ریسک فاکتورهای تشکیل ASA سبب ایجاد بحث بر سر این موضوع شده است که در چه بیمارانی باید ASA ارزیابی شود.

هدف از این مطالعه تعیین ارتباط بین ASA از کلاس IgG اندازه‌گیری شده به روش MAR مستقیم و ریسک فاکتورهای اصلی تشکیل ASA شامل واریکوسل، فتق و عفونت‌های تناسلی ادراری در مردان زوج های نابارور شهر خرم آباد بود.

1-Antisperm Antibody
2-Immunobead Binding test

Archive of SID
www.SID.ir

روش بررسی

جامعه مورد مطالعه شامل۲۰۰ مرد نابارور در فاصله سنی۴۲-۱۹ سال مراجعه‌کننده به متخصصین ارولوژیست شهر خرم آباد طی سال‌های ۸۵-۸۲ بود که پس از تشخیص اولیه توسط پزشک برای بررسی ASA به مرکز تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی لرستان معرفی شدند. پس از بررسی نتایج آزمایش ASA از کلاس IgG با روش MAR مستقیم بیماران به دو گروه ASA مثبت و ASA منفی تقسیم شدند.

در پرسش‌نامه تاریخچه کامل پزشکی شامل اطلاعات مربوط به جراحی‌های قبلی، مصرف داروها، آلرژی، مصرف سیگار، مصرف الکل، وازکتومی، برگرداندن وازکتومی، انسداد وازدفران، پیچ خوردگی بیضه، کارسینوماهای بیضه، نهان بیضگی و عفونت‌های تناسلی ادراری بررسی گردید. اطلاعات موجود در پرسش‌نامه با مراجعه به پرونده پزشکی بیماران تأیید شد. هیچ یک از بیماران دو ریسک فاکتور را به طور هم زمان نداشتند. همسران این بیماران در بررسی‌های قبلی که توسط متخصصین زنان وزایمان صورت گرفته بود مشکلی از لحاظ باروری نداشتند.

جهت انجام تست MAR مستقیم ازکیت SpermMar IgG test محصول Fertipro N.V. کشور بلژیک برای تعیین ASA کلاس IgG استفاده گردید. نمونه مایع منی به کمک همسر، بدون زناشویی و بدون استفاده از لوبریکانت در داخل ظروف استریل جمع‌آوری شد. جهت آزمایش ۱۰ µl از مایع منی تازه شسته نشده روی یک لام قرار داده شد و ۱۰ µl معرف لاتکس به آن اضافه گردید. پس از مخلوط‌کردن، ۱۰ µl آنتی‌سرم اختصاصی علیه قطعه IgG FC انسانی اضافه شد. سپس با قرار دادن لامل، بعد از ۳-۲ دقیقه توسط میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی × ۴۰۰ اسپرم های متحرک چسبیده به ذرات لاتکس در ۱۰۰ اسپرم شمارش شدند ونتایج به‌صورت درصد مشخص گردید. نتایج بزرگتر یا مساوی ۱۰ درصد مثبت تلقی شد [۱۰]. آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون Fisher's exact انجام گرفت.

یافته‌ها

از ۲۰۰ بیمار، ۳۷ بیمار(۱۸/۵٪) در گروه ASA مثبت و ۱۶۳ بیمار(۸۱/۵٪) در گروه ASA منفی قرار گرفتند. هم‌چنین از ۲۰۰ بیمار، ۵۷ بیمار دارای یکی از ریسک فاکتورهای اصلی تشکیل ASA شامل سابقه واریکوسل (۲۲ بیمار)، فتق (۱۷بیمار) وعفونت تناسلی ادراری (۱۸ بیمار) بودند و ۱۴۳ بیمار هیچ‌یک از این ریسک فاکتورها را نداشتند.

سابقه واریکوسل، در گروه ASA مثبت در ۱۷ بیمار (۴۶٪) مثبت و در۲۰ بیمار (۵۴٪) منفی بود؛ درحالی‌که در گروه ASA منفی در ۵ بیمار (۳٪) مثبت و در۱۵۸ بیمار (۹۷٪) منفی بود. آزمون آماری نشان داد که سابقه واریکوسل با تشکیل ASA از کلاس IgG که به روش

Archive of SID

www.SID.ir

MAR مستقیم ارزیابی گردیده، ارتباط دارد (Pvalue < 0.001)(جدول شماره ۱) .

جدول شماره ۱: مقایسه سابقه واریکوسل در گروه ASA منفی و گروه ASA مثبت در مردان زوج‌های نابارور شهر خرم‌آباد (Pvalue< 0.001)

سابقه واریکوسل / گروه تحت مطالعه	مثبت	منفی	کل
تعداد مردان نابارور ASA منفی	۵	۱۵۸	۱۶۳
تعداد مردان نابارورASA مثبت	۱۷	۲۰	۳۷
کل	۲۲	۱۷۸	۲۰۰

سابقه فتق، درگروه ASA مثبت در ۴ بیمار (۱۱٪) مثبت و در۳۳ بیمار (۸۹٪) منفی بود؛ در حالی‌که در گروه ASA منفی در ۱۳ بیمار (۸٪) مثبت و در۱۵۰ بیمار (۹۲٪) منفی بود. آزمون آماری نشان داد که سابقه فتق با ASA از کلاس IgG با روش MAR مستقیم ارتباط ندارد (Pvalue =0.52) (جدول شماره۲) .

جدول شماره ۲: مقایسه سابقه فتق در گروه ASA منفی و گروه ASA مثبت در مردان زوج‌های نابارور شهر خرم‌آباد (Pvalue = 0.52)

سابقه فتق / گروه تحت مطالعه	مثبت	منفی	کل
تعداد مردان نابارور ASA منفی	۱۳	۱۵۰	۱۶۳
تعداد مردان نابارور ASA مثبت	۴	۳۳	۳۷
کل	۱۷	۱۸۳	۲۰۰

سابقه عفونت‌های تناسلی ادراری، در گروه ASA مثبت در ۱۲ بیمار (۳۲/۵٪) مثبت و در۲۵ بیمار (۶۷/۵٪) منفی بود. در حالی‌که در گروه ASA منفی در ۶ بیمار (۴٪) مثبت و در۱۵۷ بیمار (۹۶٪) منفی بود. آزمون آماری نشان داد که سابقه عفونت‌های تناسلی ادراری با ASA از کلاس IgG با روش MAR مستقیم ارتباط دارد (Pvalue < **0.001**)(جدول شماره۳).

جدول شماره۳: مقایسه سابقه عفونت‌های تناسلی ادراری در گروه ASA منفی و گروه ASA مثبت در مردان زوج‌های نابارور شهر خرم‌آباد (Pvalue< 0.001) .

سابقه عفونتهای تناسلی ادراری / گروه تحت مطالعه	مثبت	منفی	کل
تعداد مردان نابارور ASA منفی	۶	۱۵۷	۱۶۳
تعداد مردان نابارور ASA مثبت	۱۲	۲۵	۳۷
کل	۱۸	۱۸۲	۲۰۰

بحث

در برخی از پژوهش‌های انجام گرفته شیوع ASA در مردان زوج‌های نابارور را ۲۱- ۸ درصد گزارش کرده اند [۱۵] در این مطالعه میزان شیوع ASA در مردان زوج‌های نابارور شهر خرم آباد به روش MAR مستقیم ۱۸/۵٪ بود. البته در مطالعه قبلی نیز میزان شیوع ASA از کلاس IgA در مردان زوج‌های نابارور شهر خرم آباد با روش MAR مستقیم ۲۰٪ گزارش شده بود[۱۶]. رضایی و همکارانش با استفاده از فلوسیتومتری [۱۷] و MAR [۱۸] میزان شیوع ASA را در مردان زوج‌های نابارور کاندید IVF، ۳۳٪ گزارش کرده‌اند که بالابودن این شیوع می‌تواند به تعداد ناکافی نمونه و به تعداد بالای نمونه‌های دارای ریسک فاکتور مربوط باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

وازکتومی شایع‌ترین علت قابل تشخیص در تشکیل ASA است. نتایج مطالعات مختلف نشان می‌دهند که وازکتومی ریسک تشکیل ASA را افزایش می‌دهد و علت آن شکسته شدن سد خونی بیضه‌ای می‌باشد[۱۵] . البته در این مطالعه به‌دلیل کم بودن تعداد بیماران با سابقه وازکتومی نتایج معنی‌داری به دست نیامد.

گرچه واریکوسل و فتق عوامل با اهمیتی جهت تشکیل ASA نمی‌باشند ولی در برخی مطالعات، واریکوسل دلیلی برای تشکیل ASA نشان داده شده است [۱۹] . در این مطالعه نیز واریکوسل به‌عنوان ریسک فاکتوری برای تشکیل ASA بود . واریکوسل به‌طور کلاسیک با تعداد، مرفولوژی وحرکت کم اسپرم مرتبط است، نتایج برخی مطالعات نشان می‌دهدکه این تغییرات ممکن است ناشی از تغییرات دمای بیضه باشد[۲۰] .

در زمینه ارتباط عفونت‌های تناسلی ادراری با تشکیل ASA، Micic وهمکارانش نشان داده‌اند که عفونت‌های ادراری می‌توانند سبب تشکیل ASA شوند (۲۱) . مکانیسم این مسئله به‌صورت شکسته شدن سد خونی بیضه‌ای ثانویه به عفونت می باشد [۲۲] . نتایج مشابهی توسط Shahmanesh وهمکارانش گزارش گردیده است. آنها دریافتند که در ۱۶/۲ ٪ بیماران مبتلا به اورتریت ASA وجود داشت [۲۳] . این مطالعه نیز نشان داد که همه انواع عفونت‌های تناسلی ادراری می‌توانند به عنوان ریسک فاکتور برای تشکیل ASA حایز اهمیت باشند.

آنتی‌بادی ضد اسپرم می‌تواند با ایجاد اختلال در روند عملکرد اسپرم با باروری تداخل نماید [۲] . در این مطالعه نشان داده شد که سابقه واریکوسل وعفونت‌های تناسلی ادراری از قبیل بیماری‌های منتقله از راه جنسی، اورتریت، اپیدیدیمیت و ارکیت ریسک فاکتورهای تشکیل ASA می‌باشند. ارزیابی پارامترهای مایع منی در ۶۳٪ بیماران کاهش حرکت اسپرم را نشان می‌دهدکه این کاهش ممکن است به‌وسیله ASA ، عفونت یا اتیولوژی نامشخص ایجاد گردد[۱۶] . ASA به‌وسیله شستشوی اسپرم، استروئیدها، لقاح آزمایشگاهی و تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم درمان می‌شود. عفونت ایجاد شده ممکن است به‌وسیله آنتی‌بیوتیک ها درمان شوند ولی اگر عفونت با تشکیل آنتی‌بادی همراه باشد، درمان اختصاصی برای آنتی‌بادی‌ها تولید شده مورد نیاز خواهد بود. اگر کاهش درحرکت اتیولوژی اختصاصی نداشته باشد احتمالاً نسبت به نقص عملکردی اسپرم ثانویه می‌باشد، بنابراین ممکن است به دستکاری کوچکی جهت حصول باروری نیاز باشد [۲۴] .

نتیجه‌گیری

بر اساس یافته‌های این مطالعه توصیه می‌شود که همه مردان نابارور با سابقه واریکوسل یا عفونت‌های ادراری تناسلی علاوه بر آزمایش مایع منی برای وجود و میزان تشکیل ASA نیزآزمایش شوند. اگر سطح ASA بالا باشد لازم است با زوج نابارور در خصوص انجام تکنیک‌های کمک باروری مشاوره صورت گیرد.

Archive of SID

www.SID.ir

References:

1. Bohring G, Krause W. Immune Infertility : Towards a Better Understanding of Sperm (auto)-Immunity .Hum Reprod 2003; 18 :915-24.

2. Bohring G, Krause W. The Role of Antisperm Antibodies during Fertilization and for Immunological Infertility. Chem Immunol Allergy 2005;88:15-26.

3. Chiu WWC , Chamley EW. Clinical Associations and Mechanisms of Action of Antisperm Antibodies . Fertil Steril 2004;83: 529-35.

4. Shibahara H, Shigeta M, Inoue M, Hasegawa A, koyama k , Aelxander MJ, Isojime S. Diversity of the Blocking Effects of Antisperm Antibodies on Fertilization in Human and Mouse. Hum Reprod 1996 ; 11 : 2595-9.

5. Shibahara H, Shiraishi Y, Hirano Y, Suzuki T, Takamizawa S, Suzuki M. Diversity of the Inhibitory Effects on Fertilization by Antisperm Antibodies Bound to the Surface of Ejaculated Sperm .Hum Reprod 2003 ; 18:1469-73 .

6. Shibahara H, Tsunoda T, Taneichi A, Hirano Y, Ohno A, Takamizawa S, Yamaguchi C, Tsundoa H, Sato I. Diversity of Antisperm Antibodies Bound to Sperm Surface in Male Immunological Infertility .Am J Reprod Immunol 2002 a ;47: 146-50 .

7. Bronson R. Detection of Antisperm Antibodies : an Argument Against Therapeutic Nihilism . Hum Reprod 1999 ; 14:1671-3.

8. Helmerhorst FM , Finken MJ , Erwich JJ . Detection Assays for Antisperm Antibodies : what do they test ? Hum Reprod 1999; 14: 1669-71.

9. Mahmoud A, Comhaire F. Antisperm Antibodies : Use of the Mixed Agglutination Reaction (MAR) Test Using Latex Beads .Hum Reprod 2000 ; 15: 231-3.

10. Kipersztok S, Kim BD, Morris L et al.Validity of a Rapid Assay for Antisperm Antibodies in Semen. Fertil Steril 2003;79:522-8.

11. Pattinson HA, Mortimer D. Prevalence of Sperm Surface Antibodies in the Male Partners of Infertile Couples as Determined by Immunobead Screening .Fertil steril 1987 ; 48: 466-9.

12. Lynch DM, Howe SE. Comparison of a Direct and Indirect ELISA for Quantitating Antisperm Antibody in Semen .J Androl 1987 ;8:215-20.

13. Ohl DA, Naz RK . Infertility due to Antisperm Antibodies.Urology 1995 ; 46: 591-602.

14. Jarow JP, Goluboff ET, chang TS ,Marshall FF. Relationship between Antisperm Antibodies and Testicular Histologic Changes in Humans after Vasectomy .Urology 1994; 43: 521- 4.

15. Gubin DA, Dmochoweski R, Kutteh WH. Multivariant Analysis of Men form Infertile Couples with and without Antisperm Antibodies. Am J Reprod Immunol 1998; 39: 157-60.

۱۶). شاهسوار ف ،خیرالهی ع ،ر فرهادی ع.ارتباط بین آنتی‌اسپرم آنتی‌بادی ها و پارامترهای سمن . فصلنامه دانشگاه علوم پزشکی لرستان تابستان ۸۳ :۳۷-۴۲.

۱۷). رضایی ع ،نصر اصفهانی م ح ،ادیب م، شاهسوار ف ، عریضی ف. ارتباط بین درصد لقاح آزمایشگاهی و سطح آنتی‌بادی ضد اسپرم در پلاسمای سمن اندازه‌گیری شده به روش فلوسیتومتری . فصلنامه باروری و ناباروری زمستان ۸۲ :۳۵-۴۳.

۱۸). شاهسوار ف ،رضایی ع ،نصر اصفهانی م ح ، خیرالهی ع ر ،فرهادی ع. تأثیرآنتی اسپرم آنتی بادی های اندازه گیری شده به روش واکنش آگلوتیناسیون مختلط مستقیم بر درصد لقاح آزمایشگاهی. فصلنامه دانشگاه علوم پزشکی لرستان زمستان ۸۲ :۵۱-۵۷.

19. Ozen H, Asar G, Gungor S, Peker AF.Varicocele and Antisperm Antibodies. Int Urol Nephrol 1985 ; 17: 97-101.

20. Dohle GR, Colpi GM, Hargreave TB et al. EAU Guidelines on Male Infertility. European Urology2005; 48:703-11.

21. Micic S, Petrovic S, Dotic R . Seminal Antisperm Antibodies and Genitourinary Infections. Urology 1990; 35: 54-6.

22. Manavi K .A Review on Infection with Chlamydia Trachomatis. Best Practice & Research Clinical Obsterics and Gynaecology 2006; Article in press.

23. Shahmanesh M, Stedronska J ,Hendry WF. Antispermatozoal Antibodies in Men with Urethriths. Fertil Steril 1986; 46:308-11.

24. Naz RK . Modalities for Treatment of Antisperm Antibody Mediated Infertility: Novel Perspectives. Am J Reprod Immunol 2004; 51(5):39

www.SID.ir

Antisperm Antibody and the Risk Factors of Its Formation in Infertile Men

F. Shahsavar MSc ⁎A. R. Kheirollahi MD⁎⁎ B. Assadifar BSc⁎⁎⁎ M. J. Tarrahi MSc⁎⁎⁎⁎

⁎ PhD Student of Immunology, Iran University of Medical Sciences

⁎⁎ Assistant Professor of Urology, Lorestan University of Medical Sciences

⁎⁎⁎ MLT, Iran University of Medical Sciences

⁎⁎⁎⁎ Instructor, Lorestan University of Medical Sciences

Background and objectives

Several studies have demonstrated that antisperm antibody (ASA) can interfere with fertilization. ASA can be detected in the serum or semen by different tests. In this study, the percentage of ASA-IgG was determined by the direct mixed antiglobulin reaction (MAR) test in men from infertile couples in Khorramabad city. Furthermore, the risk factors of formation of ASA were evaluated to determine the correlation between these factors and presence of ASA.

Methods

200 men were tested for ASA as a part of the infertility evaluation. Patients were grouped according to percentage of ASA of < 10% or ≥ 10%. Risk factors for ASA (varicocele, hernia, and genitourinary infections) were considered for each group. Statistical analysis was performed using Fisher's exact test.

Results

ASA was detected in 18.5% of the studied cases. Prior varicocele was significantly associated with presence of ASA detected by direct MAR. Prior hernia was not associated with presence of ASA detected by direct MAR. Prior genitourinary infections were significantly associated with presence of ASA detected by direct MAR.

Conclusion

These findings suggest that manipulation of cord structures including vas deferens is not associated with formation of ASA; however, varicocele and prior genitourinary infections are significant risk factors for the development of ASA.

Keywords: Antisperm Antibody, Infertility, Mixed Antiglobulin Reaction.

Corresponding Author: Department of Immunology, Iran University of Medical Sciences

email: shahsavarfarhad@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir