مقدمه

برخی محققین بر شیوع آنتی‌بادی ضد اسپرم (ASA)[1] در بیماران نابارور تاکید داشته‌اند(۱). مطالعات مختلف وجود ASA را در مردان و زنان بارور گزارش کرده‌اند(۲). با این وجود تحقیقات در مدل‌های حیوانی و انسانی نشان داده‌اند که وجود ASA می‌تواند با قدرت باروری اسپرم تداخل نماید. ASA روی سطح اسپرم و در ترشحات دستگاه تناسلی در اتیولوژی ناباروری دخیل است، درصورتی که اهمیت کلینیکی ASA سرم مورد بحث است. شیوع ASA در زوج‌های نابارور ۳۶-۹٪ و در جمعیت مردان نابارور ۲۱-۸٪ گزارش شده است(۳). ASA اثرات متنوعی روی باروری انسان دارد که ازآن جمله می‌توان اختلال در حرکت پیش رونده اسپرم (۴،۵)،محبوس کردن و فاگوسیتوز اسپرم در موکوس سرویکس، کاهش اتصال و نفوذ اسپرم در زوناپلوسیدا، مهار ظرفیت‌پذیری و واکنش آکروزومی و همچنین مهار اتصال غشاء پلاسمایی اسپرم_ تخمک (۵،۶) و نهایتاً لقاح را نام برد. بنابراین وجودASA به عنوان یک فاکتور ایمونولوژیک و یکی از علل دخیل در ایجاد ناباروری مردان مطرح می‌باشد. در بیشتر زوج‌های دارای ASA استفاده از تکنیک‌های کمک باروری (ART)[2] توصیه می‌شود؛ زیرا این تکنیک‌ها مسیرهای اختلال ASA در اتصال و ادغام گامت‌ها را حذف می‌کند. به همین علت IVF[3] به عنوان ابزاری جهت درمان ناباروری ایمنولوژیک استفاده می‌شود(۷). با این وجود ASA می‌تواند در روش IVF در موارد ذیل شامل: الف) اتصال و نفوذ اسپرم به زوناپلوسیدا، ب) واکنش زونا، ج) ادغام اسپرم- تخمک، د) تسهیم و گسترش اولیه جنینی (۸) تداخل نماید.

امروزه تعیین ASA یکی از مهمترین مراحل در ارزیابی ناباروری مردان است که به ویژه در موارد وجود آگلوتیناسیون بالای اسپرم و نیز آستنواسپرمی با سایر پارامترهای طبیعی اسپرموگرام توصیه می‌شود. تعیین میزان ASA از طریق تست‌های متعددی انجام می‌شود. بیشتر مطالعات، استفاده ازروش واکنش آگلوتیناسیون مختلط (MAR)[4] را برای ارزیابی وجود ASA و ایزوتیپ آن تأیید می‌نمایند(۹). فلوسیتومتری (FCM)[5] نیز یکی از روش‌های دیگر جهت تعیین کمی ASA در سطح اسپرم می‌باشد. تعیین ASA به وسیله روش فلوسیتومتری اولین بار توسط Haas و Cunningham گزارش گردید(۱۰). در این روش اسپرم با آنتی‌بادی متصل به سطح آن با یک آنتی‌بادی ثانویه ضدآنتی‌بادی انسانی کونژوگه با فلورسئین انکوبه می‌گردد. سپس نسبت اسپرم‌های حاوی آنتی‌بادی متصل به فلورسئین ایزوتیوسیانات (FITC)[6] در سطح آن با عبور اسپرم‌ها از طریق یک جدا کننده سلولی مشخص می‌گردد. به علاوه تعداد مولکول‌های آنتی‌بادی متصل به سطح اسپرم می‌تواند با استفاده از نمونهٔ حاوی بیدهای فلورسنت و انجام کالیبراسیون محاسبه گردد (۱۱،۱۲).

Lahteenmaki درصد لقاح ۴۲٪، ۳۵٪ و۱۷٪ در IVF را بترتیب در بیماران با نتایج MAR مثبت ضعیف (۴۰٪-۱۰٪)، مثبت(۹۰٪-۴۰٪) و مثبت قوی (بیش از ۹۰٪) گزارش کرد(۱۳). در مطالعه‌ای دیگر توسط Rajah و همکاران به روش MAR مستقیم، بیماران با سطوح پایین ASA (۲۰٪-۰٪) میزان لقاحی از ۶۰٪-۴۳٪ داشتند، بیماران با سطوح متوسط ASA (۸۰٪-۲۱٪) میزان لقاح ۱۰۰٪-۰٪ و بیماران با سطوح بالای ASA (بیش از ۸۰٪) میزان لقاح ۸۳٪-۰٪ داشتند(۱۴).

با توجه به اینکه اکثر مطالعات ارتباط ASA اندازه گیری شده به روش‌های مستقیم با میزان لقاح را بررسی کرده‌اند، ما در این مطالعه ما از روش FCM غیرمستقیم جهت تعیین ASA و بررسی ارتباط آن با درصد لقاح

1- Antisperm Antibody
2- Assisted Reproductive Technology
3- In Vitro Fertilitzation
4- Mixed Agglutination Reaction
5- Flow Cytometery
6- Fluorescein Isothiocyanate

Archive of SID
www.SID.ir

آزمایشگاهی استفاده کردیم. روش‌های غیرمستقیم برای بررسی ASA در سرم، موکوس سرویکس و پلاسمای سمینال ضروری هستند، بخصوص هنگامی‌که پارامترهای اسپرم خیلی پایین‌تر از معیارهای طبیعی باشند. این روش‌ها نیازی به آنالیز در همان روز جمع‌آوری نمونه ندارند، زیرا نمونه‌های پلاسمای سمینال پس از جدا کردن می‌توانند منجمد شده و در یک روز دیگر و با سایر نمونه‌ها آنالیز گردند.در ادامه اهمیت کلینیکی ایزوتیپ‌های IgA و IgG در پیشگویی درصد لقاح بررسی گردید.

مواد وروشها

افراد مورد مطالعه، ۸۰ زوج نابارور کاندید IVF مراجعه کننده به مرکز باروری و ناباروری اصفهان بین مهرماه ۱۳۸۰ تا فروردین ماه ۱۳۸۱ بودند که IVF به عنوان روش درمان ناباروری آنها انتخاب گردیده بود. مردان شرکت کننده در این مطالعه طیف سنی ۴۰-۲۴ سال داشتند و از نظر حرکت، تعداد و مرفولوژی اسپرم براساس معیارهای WHO (حجم بیشتر از ۲ *ml*، تعداد بیشتر از ۲۰میلیون در میلی‌لیتر، حرکت رو به جلو بیشتر از ۵۰٪ و مرفولوژی طبیعی بیشتر از ۳۰٪) طبیعی بودند. همسران مردان مورد مطالعه طیف سنی ۳۶-۱۹ سال داشتند، تمامی این خانم‌ها از نظر وجود آندومتریوز منفی بودند و پس از تحریک تخمک‌گذاری و دریافت تخمک درصورت عدم دریافت تخمک و یا داشتن تخمک‌های نامناسب از مطالعه حذف شدند. نمونه‌های مایع منی (براساس معیارهای WHO) از مردان این زوج‌ها بدست آمد و حداقل ۲۰۰ *µl* مایع منی در یک لوله اپندورف به‌مدت ۱۵ دقیقه در دور ۲۰۰۰*rpm* سانتریفوژ گردید. سپس مایع رویی برداشت و جهت غیرفعال نمودن سیستم کمپلمان در دمای ۵۶ $^{\circ}C$ به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه گردید. سپس پلاسمای سمینال عاری از سلول در دمای ۲۰ $^{\circ}C$- ذخیره شد تا برای تعیین ASA به روش فلوسیتومتری غیرمستقیم استفاده گردد(۱۵).

جهت انجام فلوسیتومتری غیرمستقیم از نمونه‌های مایع سمینال استفاده شد که دارای حداقل معیار WHO برای یک نمونه طبیعی باشند و از نظر ASA به روش MAR منفی باشند (نمونه‌ها با ASA کمتر یا مساوی ۱۰٪ منفی و ASA بیشتر از ۱۰٪ مثبت در نظر گرفته شدند). ۱ *ml* مایع سمینال با ۴*ml* محیط PVP[1] +Ham's F10 (Seromed ,Germany) شستشو و در دور *rpm* ۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. پس از آنکه مایع رویی حذف و به رسوب اسپرم‌ها ۱ *ml* محیط Ham's F10 +PVP اضافه شد، اسپرم‌ها در دمای ۳۷ $^{\circ}C$ بمدت ۶۰ دقیقه انکوبه گردیدند. پس از این مدت، اسپرم‌های متحرک از مایع رویی برای آنالیز استفاده شدند. از طرفی پلاسمای سیمن بیماران کاندید IVF که قبلاً در دمای ۲۰ $^{\circ}C$- منجمد شده بود در حرارت اتاق ذوب شد. سپس ۱۰۰*µl* از نمونهٔ حاوی اسپرم‌های متحرک آماده شده به روش فوق، به ۱۰۰*µl* پلاسمای سمینال ذوب شده اضافه گردید و در دمای ۳۷$^{\circ}C$ به مدت ۶۰ دقیقه انکوبه شد. سپس سوسپانسیون اسپرم با ۱۰*ml* محیط Ham's F10+PVP شسته شد. پس از سانتریفوژ رسوب اسپرمی مجدداً در ۲۰۰ *µl* محیط فوق سوسپانسیون گردید. در این مطالعه از قطعه $F(ab)'_2$ آنتی‌بادی‌های خرگوشی ضد IgA (۱۰۰*µg/ml*) یا IgG (۲۰۰*µg/ml*) انسانی کونژوگه با FITC مخصوص فلوسیتومتری (DAKO, Denmark) جهت تعیین ASA استفاده گردید. از این آنتی‌بادی ۱۰*µl* به یک میلیون اسپرم انکوبه شده با پلاسما اضافه شد. پس از انکوباسیون در دمای ۴ $^{\circ}C$ و فاقد نور نمونه‌ها با ۳*ml* محلول PBS[2] شسته شدند و در دور *rpm* ۲۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ گردیدند. رسوب اسپرمی مجدداً در ۰/۵*ml* محلول PBS سوسپانسیون گردید و

1- Polyvinyl Pyrrolidone
2- Phosphate Buffered Saline

Archive of SID
www.SID.ir

برای حذف اسپرم‌های مرده از آنالیز $5\mu l$ از محلول PI [1] (Sigma, USA) با غلظت $2mg/ml$ به آن اضافه گردید. ایمونوگلوبولین خرگوشی کونژوگه با FITC به عنوان کنترل منفی استفاده شد. این قطعه در صورت وجود ASA نیز توانایی اتصال به آن را ندارد.

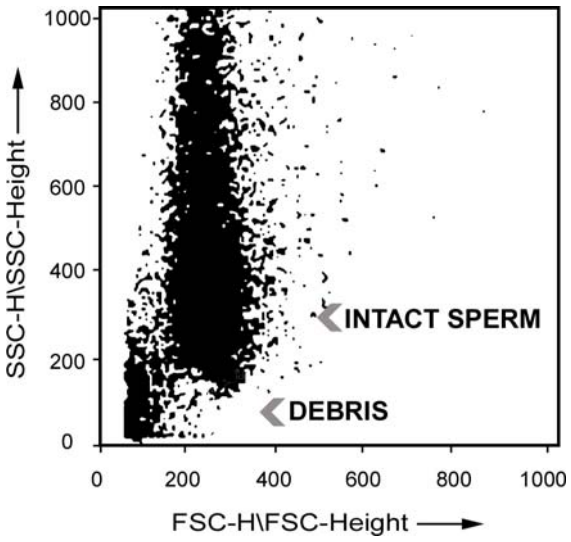
سپس اسپرم‌ها توسط فلوسیتومتر FACS-Star (Becton Dickinson, USA) با استفاده از لیزر یون آرگون با طول موج $488\ nm$ آنالیز شدند. اطلاعات حداقل ۱۰۰۰۰ سلول توسط FSC [2] جمع‌آوری گردید. با استفاده از ترکیب FSC و SSC [3] جمعیت اسپرم‌ها محدود سازی [4] شدند و میزان فلورسانس آنها تعیین گردید، درحالیکه بقایای سلولی و ذرات غیرسلولی و دیگر سلول‌ها از قبیل گلبول‌های سفید حذف گردیدند (شکل شمارهٔ ۱).

سیگنال‌های فلورسانس FITC با استفاده از فیلترهای استاندارد FITC (DF ۵۳۰/۳۰) [5] و فلورسانس PI با استفاده از فیلترهای استاندارد PE [6] (DF۵۸۵/۴۲) (Becton Dickinson, USA) مشخص گردید.

نتایج فلورسانس با استفاده ازتقویت کننده لگاریتمیک جمع‌آوری گردید. FL_1-H نشانگر فلورنس FITC اندازه‌گیری شده توسط دتکتوراول و FL_2-H نشانگر فلورسانس PI اندازه گیری شده توسط دتکتور دوم بود.

محدوده [7] کنترل با استفاده از کنترل منفی علامت‌گذاری شد به نحوی که کمتراز ۱٪ سلول‌های مثبت در محدوده‌های ۴،۲،۱ قرار گرفتند.

در آنالیز فلوسیتومتریک سلول‌های مرده (PIمثبت) در محدوده ۱دیده می‌شوند. سلول‌های مرده (PIمثبت) حاوی آنتی‌بادی‌های غیراختصاصی در محدوده ۲ دیده می‌شوند. سلول‌های زنده (PIمنفی) ASA منفی در



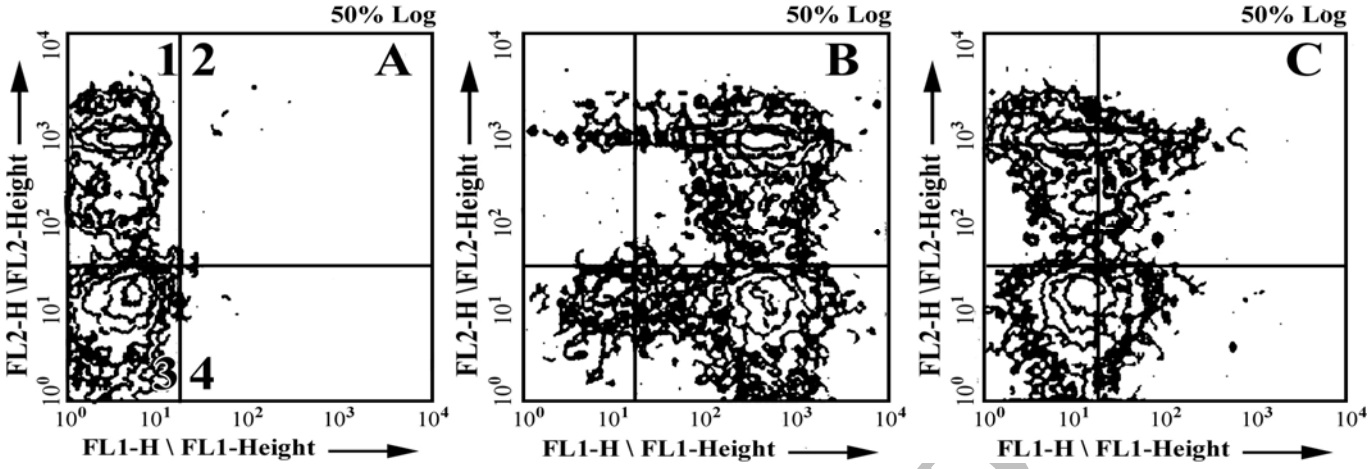
شکل ۱- آنالیز خطی FSC و SSC اسپرم‌های سالم و طبیعی

محدوده ۳ قرار می گیرند. سلول‌های زنده (PIمنفی) و ASA مثبت در محدوده ۴ قرار می‌گیرند (شکل شمارهٔ ۲). برای بررسی اسپرم‌های دارای ASA هنگامی که بیشتر از ۱۰٪ اسپرم‌ها در محدوده ۴ قرار گرفتند، نتیجه مثبت در نظر گرفته شد(۱۱،۱۶،۱۷).

برای انجام IVF تحریک تخمک‌گذاری درهمسر بیماران بااستفاده ازآگونیست‌های GnRH، hMG انجام شد. سپس وضعیت رشد فولیکول‌ها توسط سونوگرافی واژینال ارزیابی شد و با تجویز IU ۱۰۰۰۰، hCG تخمک‌گذاری القاء گردید و پس از گذشت ۳۶-۳۲ ساعت از طریق تخلیه فولیکول‌ها، اووسیت‌ها جمع‌آوری شدند. اووسیت‌ها پس از شستشو در HSA [8] ۱۰٪+ Ham's F10، به محیط کشت IVF-20 (Vitrolife, Sweden) منتقل شدند. پس از ۲ ساعت انکوباسیون تعداد ۱۰۰۰۰۰ -۵۰۰۰۰ اسپرم متحرک که به روش سانتریفوژ با استفاده از گرادیانت Pure Sperm آماده شده بود، در مجاور هر اووسیت قرارگرفت. بعد از گذشت ۱۹-۱۷ ساعت انجام لقاح با توجه به تشکیل پرونوکلئوس‌ها(PN)، ارزیابی و درصد لقاح ثبت شد. زوج‌ها با میزان

1- Propidium Iodide
2- Forward Scather
3- Side Scather
4- Gating
5- Dichroic Filter
6- Phycoerytherin
7 - Qudrant
8- Human Serum Albumin

Archive of SID
www.SID.ir



شکل ۲- آنالیز فلوسیتومتریک دو رنگی یک نمونه اسپرم. A- (کنترل منفی) در محدوده ۱ اسپرم‌های مرده PI مثبت، در محدوده ۲ اسپرم‌های مرده (PIمثبت) حاوی آنتی‌بادی غیر اختصاصی، در محدوده ۳ اسپرم‌های زنده (PI منفی) و در محدوده ۴سلول‌های زنده ASA مثبت، B- اسپرم‌های IgG مثبت و C- اسپرم‌های IgA مثبت دیده می‌شوند.

لقاح ≥۵۰٪ در گروه با میزان لقاح پایین و زوج‌ها با میزان لقاح >۵۰٪ در گروه با میزان لقاح بالا قرار گرفتند. اطلاعات جمع‌آوری شده توسط نرم‌افزار آماری SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. جهت تعیین استقلال یا وابستگی دو متغیر از آزمون χ^2، جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون T و جهت تعیین ضریب همبستگی از آزمون همبستگی پیرسون استفاده گردید.

نتایج

با توجه به اینکه تقسیم بیماران به دو گروه با میزان لقاح بالا و با میزان لقاح پایین حائز اهمیت بود، پس از ثبت نتایج IVF بر اساس درصد لقاح، ۲۸ زوج (۳۵٪) در گروه با میزان لقاح پایین (درصد لقاح ≥۵۰٪) و ۵۲ زوج (۶۵٪) در گروه با میزان لقاح بالا (درصد لقاح >۵۰٪) قرار گرفتند. ASA از کلاس IgA به روش FCM غیرمستقیم، در گروه با میزان لقاح آزمایشگاهی پایین در ۱۰ زوج (۳۶٪) منفی و در ۱۸ زوج (٦٤ ٪) مثبت گردید. در حالیکه، در گروه با میزان لقاح آزمایشگاهی بالا در ٤٦ زوج (۸۸٪) منفی و در ٦ زوج (۱۲٪) مثبت شد. آزمون χ^2 نشان می‌دهد که میزان موارد ASA مثبت در گروه با میزان لقاح پایین نسبت به گروه با میزان لقاح بالا تفاوت معنی‌داری داشت (P<۰/۰۰۱) (جدول شمارهٔ۱).

مقادیر میانگین و انحراف معیار (M±SD) سطح ASA از کلاس IgA به روش FCM غیر مستقیم، در گروه با میزان لقاح پایین۱۲٪±۱۵٪ و در گروه با میزان لقاح آزمایشگاهی بالا ٦٪±٤/٥٪ می‌باشد.آزمون t نشان

جدول ۱- مقایسهٔ سطح ASA از کلاس IgA به روش FCM غیر مستقیم در گروه با درصد لقاح پایین و گروه با درصد لقاح بالا در افرادنابارور کاندید IVF مراجعه کننده به مرکز باروری و ناباروری اصفهان(P<۰/۰۰۱)

گروهها بر حسب میزان ASA / گروه‌ها بر حسب میزان لقاح	Indirect-FCM-IgA		کل
	>۱۰٪	≤ ۱۰٪	
زوج‌های نابارور با درصد لقاح پائین	۱۸	۱۰	۲۸
زوج‌های نابارور با درصد لقاح بالا	٦	٤٦	٥۲
کل زوج‌های نابارور	۲٤	٥٦	۸۰

Cut off = 10% ، ۱۰٪ ≤ منفی و ۱۰٪ < مثبت

Archive of SID
www.SID.ir

می‌دهد که، میانگین سطح ASA از کلاس IgA به روش FCM غیر مستقیم در گروه با میزان لقاح آزمایشگاهی پایین، بیشتر از گروه با میزان لقاح آزمایشگاهی بالا می‌باشد (P<۰/۰۰۱). آزمون همبستگی پیرسون نیز نشان می‌دهد که، بین میزان لقاح با سطح ASA از کلاس IgA به روش FCM غیرمستقیم رابطه خطی معکوس وجود دارد (P<۰/۰۰۱ و r=−۰/٤۷) (نمودارشمارهٔ ۱). ASA از کلاس IgG به روشFCM غیر مستقیم، در گروه با میزان لقاح آزمایشگاهی پایین در ۲۱ زوج (۷۵٪) منفی و در ۷ زوج (۲۵٪) مثبت گردید. در حالیکه، در گروه با میزان لقاح آزمایشگاهی بالا در ۵۰ زوج (۹٦ ٪) منفی و در ۲ زوج (٤٪) مثبت شد. آزمون χ^2 (Fisher's Exact Test) نشان می‌دهد که میزان موارد مثبت در گروه دارای میزان لقاح پایین نسبت به گروه با میزان لقاح بالا تفاوت معنی‌داری دارد (P =۰/۰۰۷)(جدول شمارهٔ ۲).

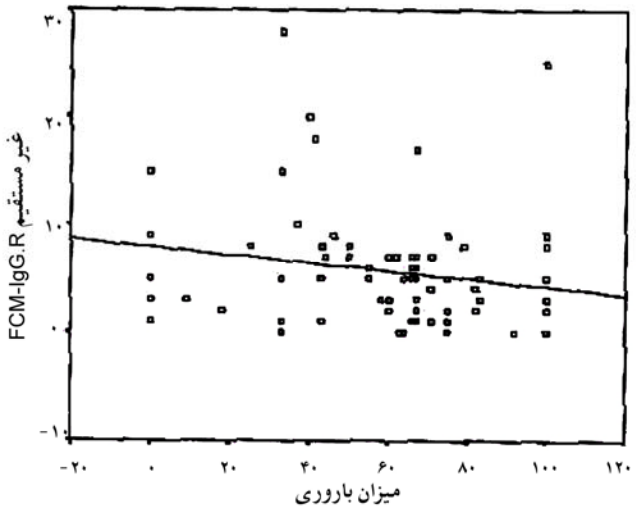
میانگین سطح ASA از کلاس IgG به روش FCM غیرمستقیم، در گروه دارای میزان لقاح آزمایشگاهی پایین ٦٪±۸/۱٪ و در گروه با میزان لقاح آزمایشگاهی بالا ٤٪±٤/٥٪ بود. آزمون T نشان می‌دهد که میانگین سطح ASA از کلاس IgG به روش FCM غیرمستقیم، در گروه با میزان لقاح آزمایشگاهی پایین بیشتر از گروه با درصد لقاح آزمایشگاهی بالا می‌باشد و اختلاف بین میانگین در دو گروه معنی‌دار است (P=۰/۰۰٤).

آزمون همبستگی پیرسون نیز نشان می‌دهد که، بین

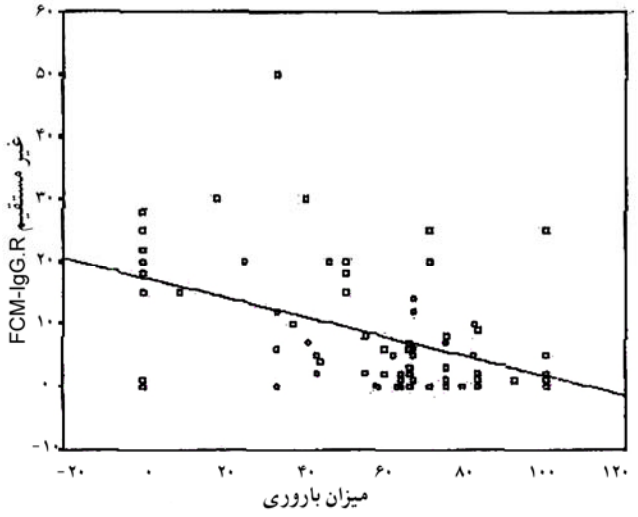
جدول ۲- سطح ASA از کلاس IgG به روش FCM غیر مستقیم در گروه با درصد لقاح پایین و گروه با درصد لقاح بالا در افرادنابارور کاندید IVF مراجعه کننده به مرکز باروری و ناباروری اصفهان (P=۰/۰۰۷)

گروهها بر حسب میزانASA / گروهها بر حسب میزان لقاح	Indirect-FCM-IgG		کل
	>٪۱۰	≤٪۱۰	
تعداد زوجهای نابارور با درصد لقاح پایین	۱۸	۱۰	۲۸
تعداد زوجهای نابارور با درصد لقاح بالا	٦	٤٦	٥۲
تعداد کل زوجهای نابارور	۲٤	٥٦	۸۰

Cut off = 10% ، ۱۰٪ ≤ منفی و ۱۰٪ < مثبت



نمودار۱- پراکنش درصد ASA از کلاس IgA به روش FCM غیرمستقیم با درصد لقاح در افراد نابارور کاندید IVF مراجعه کننده به مرکز باروری و ناباروری اصفهان (P<۰/۰۰۱، r=−۰/۴۷).



نمودار۲- پراکنش درصد ASA از کلاس IgA به روش FCM غیرمستقیم با درصد لقاح در افراد نابارور کاندید IVF مراجعه کننده به مرکز باروری و ناباروری اصفهان (p=۰/۰۸، r=−۰/۲).

Archive of SID
www.SID.ir

میزان لقاح و سطح ASA از کلاس IgG به روش FCM غیرمستقیم، رابطه خطی معکوس اما غیر معنی‌داری وجود دارد (P=۰/۰۸ و r=-۰/۲) (نمودار شمارهٔ ۲).

بحث

مطالعات متعددی نشان داده‌اند که غلظت‌های بالای ASA، توانایی باروری اسپرم‌ها را کاهش می‌دهد. به عبارت دیگر سطوح بالای ASA روی سطح اسپرم و در پلاسمای سمینال با کاهش معنی‌داری در توانایی اسپرم جهت باروری تخمک مرتبط می‌باشد (۱۸،۱۹).

مطالعه Vazquez– Levin و همکاران به روش MAR مستقیم در زوجهای کاندید IVF نشان داد که میزان باروری به طور معنی‌داری در بیماران با درصد بالای ASA متصل به سطح اسپرم کاهش می‌یابد(۱۸). Ford و همکاران بین میزان ASA به روش IBT غیرمستقیم و درصد لقاح در روش IVF، یک ارتباط معکوس را گزارش کردند. آنها دریافتند که میزان لقاح در روشIVF با افزایش سطح ASA کاهش می‌یابد(۲۰). نتایج این مطالعه نیز نشان داد که بین سطح ASA اندازه‌گیری شده به‌روش FCM غیرمستقیم با میزان لقاح در روش IVF یک ارتباط معکوس وجود دارد. البته سطح ASA از کلاس IgG با میزان لقاح ارتباط معکوس ضعیف و غیر معنی‌داری را نشان داد. همچنین نتایج این مطالعه نشان داد که میانگین سطح ASA از کلاس IgA و IgG به روش FCM غیرمستقیم در گروه با میزان لقاح آزمایشگاهی پایین بیش از گروه با میزان لقاح آزمایشگاهی بالا بود.

یکی از فاکتورهای موثر در میزان باروری IVF، جایگاه اتصال ASA به سطح اسپرم (۲۱،۲۲) و توانایی آن برای پوشاندن اپی‌توپ‌های درگیر در واکنش متقابل اسپرم و تخمک می‌باشد(۸). به عبارت دیگر حضور ASA در سر اسپرم باعث اختلال در قدرت باروری آن می‌شود. از طرف دیگر معمولاً ASA در یک فرد علیه طیفی از آنتی‌ژن‌ها می‌باشد. بنابراین تاثیرASA، احتمالاً به ملکول‌های اختصاصی آنها در سطح اسپرم بستگی دارد. در این مطالعه تعدادی از بیماران با میزان لقاح بالا، ASA مثبت بودند، در صورتی که این نتیجه بر خلاف تئوری فوق می‌باشد و این امر ناشی از اتصال ASA به محلی غیراز سر اسپرم و یا آنتی‌ژن‌های فاقد نقش موثر در قدرت باروری اسپرم و در نتیجه عدم تواناییASA برای مهار کردن اپی‌توپ‌های درگیر در واکنش متقابل اسپرم و تخمک است (۲۰). در ضمن وجود میزان لقاح پایین در بیماران فاقدASA نیز می‌تواند ناشی از علل غیرایمونولوژیک مربوط باشد.

یکی دیگر از فاکتورهای موثر در میزان باروری اسپرم در روشIVF، ایزوتیپ ASA است. مطالعات زیادی نشان داده‌اند که سطوح بالای یکی از دو ایزوتیپ IgG و IgA جهت مهار اتصال اسپرم به زوناپلوسیدا کافی است. با این وجود پیشنهاد شده است که حضور هر دو ایزوتیپ IgGوIgA با هم اثر مهاری سینرژیک بر روی اتصال اسپرم به زوناپلوسیدا و باروری IVF دارد(۲۳). مطالعه Ford و همکاران نشان داد که ASA از کلاس IgA و IgG اثرات مشابهی بر میزان باروری دارند زیرا به نواحی مشابهی در اسپرم تمایل دارند که پیشنهاد می‌کند آنها علیه آنتی‌ژن‌های مشابهی باشند(۲۰). بر خلاف این گزارش، مطالعات زیادی نشان می‌دهند که اهمیت بالینی ایزوتیپ IgA از ایزوتیپ IgG بیشتر می‌باشد. به نحوی که ایزوتیپ IgA در ایجاد ناباروری مردان مهمتر از IgG می‌باشد (۲٤). در این مطالعه از میان ایزوتیپ‌های IgG وIgA، ایزوتیپ IgA ارتباط بیشتری با میزان لقاح به روش IVF داشت. از این رو تعیین ASA ازکلاس IgA بیشترین اهمیت را برای پیش آگهی از موفقیت روش IVF دارد. مطالعه Bronson و همکارانش نشان می‌دهد که آنتی‌اسپرم آنتی‌بادی در مایع سمینال بیماران به اسپرم‌ها متصل می‌گردند. در نتیجه تنها آنتی‌بادی‌های غیرمتصل که توانایی اتصال به اسپرم‌های خود بیمار را نداشته‌اند بوسیله روش‌های غیرمستقیم تعیین می‌گردند.

Archive of SID
www.SID.ir

به عبارت دیگر آنتی‌بادی‌های باقی مانده در پلاسمای سمینال، در تمامی موارد بازتابی از آنتی‌بادی‌های متصل به سطح اسپرم نمی‌باشند(۲۵). از طرفی این موضوع با توجه به خصوصیات ایزوتیپ‌های ASA قابل بررسی است. ایزوتیپ IgA روی سطح اسپرم و اغلب در پلاسمای سمینال یافت می‌شود و معمولاً در سرم یافت نمی‌شود. برخلاف IgA، ایزوتیپ IgG اغلب روی اسپرم و یا در سرم تعیین می‌گردد (۲٤). Rasanen و همکاران نیز با مقایسه روش‌های مستقیم و غیرمستقیم تعیین ASA نشان دادند که تقریباً تمامی آنتی‌بادی ضد اسپرم از کلاس IgG و مقداری از ASA از کلاس IgA در مایع سمینال به اسپرم‌ها متصل می‌گردند. در نتیجه احتمالاً تست‌های غیرمستقیم، اندازه‌گیری آنتی‌اسپرم آنتی‌بادی‌های پلاسمای سمینال از کلاس IgG را از دست می‌دهند و تنها مقداری از IgA را مشخص می‌نمایند(۱۷). از دیگر فاکتورهای موثر در میزان باروری در روش IVF می‌توان به حرکت و مرفولوژی(٤) اسپرم اشاره کرد. در این مطالعه زوج‌هایی که پارامترهای اسپرم آنها غیرطبیعی بود (بخصوص از نظر حرکت و مرفولوژی) به جای استفاده از روش IVF تحت عمل تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم (ICSI)[1] قرار گرفتند و از مطالعه حذف گردیدند. بنابراین، در این مطالعه کلیه نمونه‌ها دارای پارامترهای طبیعی بر اساس معیارهای WHO بودند و اثر پارامترهایی از قبیل حرکت، تعداد و مرفولوژی اسپرم بر میزان لقاح IVF حذف گردیده بود. بنابراین روش FCM غیر مستقیم می‌تواند روش مناسبی برای اندازه گیری ASA بخصوص ایزوتیپ IgA باشد.

در پایان انجام تست ASA پیش از انجام IVF توصیه می‌گردد و در صورتی که سطح ASA بالا باشد می‌توان از انجام درمان IVF و در نتیجه اتلاف هزینه و وقت بیماران جلوگیری کردو ICSI را بجای آن پیشنهاد کرد که در رسیدن به باروری با وجود اسپرمهای پوشیده شده با آنتی بادی بسیار موفق است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات پرسنل آزمایشگاه مرکز باروری و ناباروری اصفهان قدردانی می‌گردد.

References

1-Bronson R.Detection of antisperm antibodies: an argument against therapeutic nihilism. Hum Reprod.1999;14:1671-3.

2- Collins J.A., Burrows E.A.,Yeo J. Frequency and predictive value of antisperm antibodies among infertile couples.Hum Reprod.1993;8:592-8.

3- Gubin D.A., Dmochowski R., Kutteh W.H. Multivariant analysis of men from infertile couples with and without antisperm antibodies. Am J Reprod Immunol.1998;39:157-60.

4- Munuce M.J., Berta C.L., Pauluzzi F., Caille A.M. Relationship between antisperm antibodies, Sperm movement, and semen quality. Url Int.2000; 65:200-3.

5-Taneichi A., Shibahara H., Hirano Y., Suzuki T., Obara H., Fujiwara H., Takamiza S., Sato I. Sperm immobilizing antibodies in the sera of infertile women cause low fertilization rates and poor embryo quality in vitro. Am J Reprod Immunol. 2002;47:46-51.

6- Fann C.H., Lee C.Y.G. Monoclonal antibodies affecting sperm-zona binding and/ or zona-induced acrosom reaction. J Reprod Immunol.1992;21: 175-87.

7- Hjort T. Antisperm and infertility: an unsolvable question? Hum Reprod.1999;14:2423-6.

8- Mardesic T., Ulcova- Gallova Z., Huttelova R., Muller P., Voboril J., Mikova M., Hulvert J. The influence of different types of antibodies on in vitro fertilization results. Am J Reprod Immunol.2000; 43:1-5.

1- Intra Cytoplasmic Sperm Injection

Archive of SID
www.SID.ir

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- Haas G.C Jr., Cunningham M.E. Identification of antibody-laden sperm by cytofluorometry. Fertil Steril.1984;42:606-13.
11- Rasanen M., Hovata O.L., Penttila I.M. Detection and quantitation of sperm-bound antibodies by flow cytometry of human semen. J Androl.1992; 13:55-64.
12- KeR W., Dockter M.E., Majumdar G. Flow-cytometry provides rapid and highly accurate detection of antisperm antibodies. Fertil Steril.1995;63: 902-6.
13- Lahteenmaki A.In vitro fertilization in the presence of antisperm antibodies detected by the Mixed Antiglobulin Reaction(MAR) and the tray agglutination test(TAT). Hum Reprod.1993;8:84-8.
14- Rajah S.V., Parslow J.M., Howell R.J., Hendry W.F. The effects on in vitro fertilization of auto-antibodies to spermatozoa in subfertile men. Hum Reprod.1993;8:1079-82.
15- Nicholson S.C., Robinson J.N., Sargent I.L, Barlow D.H. Detection of antisperm antibodies in seminal plasma by flow cytometry: comparison with the indirect immunobead binding test. Fertil Steril.1997;68:1114-9.
16- Nikolaeva M.A., Kulakov V.I., Korotkova I.V., Golubeva E.L., Kuyavskaya D.V., Sukhikh G.T. Antisperm antibodies detection by flowcytometry is affected by aggregation of antigen-antibody complex on the surface of spermatozoa. Hum Reprod.2000;15:2545-53.
17- Rasanen M., Agrawal Y.P., Saarikoski S. Seminal fluid antispirm antibodies measured by direct flow cytometry donot correlate with those measured by indirect flow cytometry,the indirect immunobead test, and the indirect mixed anti-globulin reaction. Fertil Steril.1996;65:170-5.
18- Vazquez – Levin M.H., Notrica J.A., De Fried E.P. Male immunologic infertility: sperm performance on in vitro fertilization. Fertil Steril. 1997; 68:675-81.
19- Bohring G., Krause W. Immune infertility: towards a better understanding of sperm (auto)-immunity. Hum Reprod.2003;18:915-24.
20- Ford W.C.L., Williams K.M., McLaughlin E.A., Harrison S,, Ray B., Hull M.G.R. The indirect immunbead test for seminal antisperm antibodies and fertilization rates at in-vitro fertilization. Hum Reprod.1996;11:1718-22.
21- 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 human sperm.Hum Reprod.2003;18:1469-73.
22- Shibahara H., Tsunoda T., Taneichi A., Hirano Y., Ohno A., Takamizawa S., Yamaguchi C., Tsunoda H., Sato I . Diversity of antisperm antibodies bound to sperm surface in male immunological infertility. Am J Reprod Immunol.2002;47: 146-50.
23- Zouari R., De Almedia M. Effect of sperm associated antibodies on human sperm ability to bind to zona pellucida and penetrate zona-free hamster oocytes. J Reprod Immunol.1993;24: 175-86.
24- Kremer J., Jager S.The significance of antisperm antibodies for sperm-cervical mucus interaction.Hum Reprod.1992;7:781-4.
25- Bronson R.A., Cooper G.W., Rosenfeld D.L. Seminal fluid antisperm antibodies do not reflect those present on the sperm surface. Fertil.1987; 48:505-6.

Archive of SID

www.SID.ir