

ارتباط بین آنتی اسپرم آنتی بادی ها و پارامترهای سمن

فرهاد شاهسوار^۱، عبد الرضا خیر الهی^۲، علی فرهادی^۱

یافته / سال ششم / شماره ۲۱

چکیده

مقدمه: مکانیسم دقیق ایجاد ناباروری با واسطه آنتی اسپرم آنتی بادی (ASA) نامشخص است. در دستگاه تناسلی مردان ASA ممکن است اثرات زیان آوری بر بلوغ و عملکرد اسپرم یا کیفیت سمن داشته باشد. در این مطالعه در صد ASA از کلاس IgA در مردان زوجهای نابارور شهر خرم آباد بوسیله تست واکنش آگلوتیناسیون مختلط (MAR) مستقیم تعیین گردید. به علاوه پارامترهای سمن به منظور بررسی ارتباط آنها با وجود ASA مورد ارزیابی قرار گرفتند.

مواد و روشها: ۸۵ مرد بعنوان بخشی از ارزیابی ناباروری جهت تعیین ASA تست شدند. بیماران بر اساس درصد ASA $< 10\%$ یا $\geq 10\%$ گروه بندی شدند. پارامترهای سمن (حجم کمتر از 2ml ، تعداد کمتر از $20 \times 10^6/\text{ml}$ و حرکت کمتر از 50%) برای هر گروه محاسبه گردید. آنالیز آماری با استفاده از آزمون دقیق فیشر انجام گرفت.

یافته ها: نتایج نشان داد که 20% جمعیت مورد مطالعه ASA مثبت بودند. حجم کمتر از 2ml با ASA به روش MAR مستقیم ارتباط معنی داری نداشت. تعداد کمتر از $20 \times 10^6/\text{ml}$ با ASA به روش MAR مستقیم ارتباط معنی داری نداشت. حرکت کمتر از 50% بطور معنی داری با ASA به روش MAR مستقیم ارتباط معنی دار داشت ($p=0.005$).
نتیجه گیری: آنتی اسپرم آنتی بادی ها می توانند با آسیب به حرکت اسپرم، عملکرد طبیعی اسپرم را مختل نمایند. بنابراین پیشنهاد می گردد که بیماران با حرکت اسپرم کمتر از 50% کاندید تست ASA شوند.

واژه های کلیدی: آنتی اسپرم آنتی بادی، پارامترهای سمن، واکنش آگلوتیناسیون مختلط

۱- مربی - عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی لرستان، دانشکده پزشکی
۲- استاد یار - عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی لرستان، دانشکده پزشکی

مقدمه

مطالعات تحقیقاتی در سیستم های حیوانی و انسانی نشان داده اند که وجود آنتی اسپرم آنتی بادی (ASA)^۱ می تواند با باروری تداخل نماید. ASA روی سطح اسپرم و در ترشحات تناسلی در پاتوژن ناباروری دخیل می باشد؛ در صورتیکه اهمیت کلینیکی ASA سرم بحث بر انگیز است. شیوع ASA در زوجهای نابارور ۳۶-۹ درصد و در جمعیت مردان نابارور ۲۱-۸ درصد می باشد (۱، ۲، ۳، ۴). بنابر این امروزه تعیین ASA یکی از مهمترین مراحل در ارزیابی ناباروری مردان است. بیشتر مطالعات استفاده از روش واکنش آگلوتیناسیون مختلط (MAR)^۲ را برای ارزیابی ASA و تعیین ایزوتیپ آن تأیید می نمایند. تست MAR ساده و ارزان می باشد و به روش مستقیم یا غیر مستقیم انجام می گیرد. روش مستقیم که آنتی بادیهای متصل به اسپرم بیمار را ارزیابی می کند، بر روی نمونه های سمن تازه انجام می گیرد. از میان ایزوتیپهای ASA ایزوتیپ IgA در ایجاد ناباروری مردان دارای اهمیت کلینیکی بیشتری است (۵، ۶، ۷، ۸).

مکانیسم دقیق ایجاد ناباروری با واسطه ASA نامشخص است. در دستگاه تناسلی مردان ASA ممکن است اثرات زیان آوری بر بلوغ و عملکرد اسپرم یا کیفیت سمن داشته باشد. ASA متصل به سر اسپرم بیشترین تأثیر را در معیوب کردن عملکرد اسپرم دارند (۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲).

ارتباط بین ASA و پارامترهای سمن بحث بر انگیز است (۱۳). گیلبرت^۳ و همکاران نشان دادند که مردان با ایمونوگلوبولین های متصل به اسپرم، کاهش معنی داری در تعداد و حرکت اسپرم و یک افزایش در مورفولوژی غیر طبیعی داشتند (۱۴). مانس^۴ و همکاران نشان دادند که بین حضور ASA و حرکت اسپرم ارتباطی وجود ندارد (۱۵). در مطالعه گابین^۵ و همکاران نیز ارتباطی بین ASA و حرکت اسپرم یافت نشد (۳). اطلاعات غیر منطقی موجود در مورد

ارتباط بین ASA و پارامترهای سمن سبب ایجاد بر سر این موضوع شده است که کدامیک از پارامترهای غیر طبیعی سمن اندیکاسیون تست ASA می باشند.

در این مطالعه در صد ASA از کلاس IgA در مردان زوجهای نابارور شهر خرم آباد به روش MAR مستقیم تعیین گردید. بعلاوه پارامترهای سمن به منظور بررسی ارتباط آنها با وجود ASA مورد ارزیابی قرار گرفتند.

مواد و روشها

جامعه مورد مطالعه ۸۵ مرد نابارور مراجعه کننده به ارولوژیستهای شهر خرم آباد بودند. این مردان پس از تشخیص اولیه توسط پزشک برای بررسی ASA به مرکز تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی لرستان معرفی شدند. همسران این بیماران در بررسی های قبلی که توسط متخصصان زنان و زایمان صورت گرفته بود، مشکلی از لحاظ باروری نداشتند. از کیت SpermMar IgA Test (محصول Fertipro N. بلژیک) جهت تعیین ASA از کلاس IgA به روش مستقیم استفاده گردید. نمونه سمن به کمک همسر، بدون زناشویی و بدون استفاده از لوبریکانت در داخل ظروف استریل جمع آوری گردید. جهت آزمایش μl از سمن تازه شسته نشده روی یک لام ریخته شد و μl معرف لاتکس (ذرات لاتکس که آنتی بادی علیه IgA انسانی پوشیده شده اند) به آن اضافه گردید. پس از مخلوط کردن و قرار دادن لامل، پس از ۳-۲ دقیقه زیر میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی $400\times$ اسپرمهای متحرک چسبیده به ذرات لاتکس در ۱۰۰ اسپرم شمارش شدند و نتیجه بصورت درصد مشخص گردید. نتیجه $\geq 10\%$ مثبت در نظر گرفته شد (۸).

این مردان پس از انجام تست ASA به دو گروه ASA مثبت ($\geq 10\%$) و ASA منفی ($< 10\%$) تقسیم شدند. سپس

1. Antisperm Antibody
2. Mixed Agglutination Reaction
3. Gilbert
4. Muncue
5. Gubin

جدول شماره ۳- مقایسه حرکت اسپرم در گروه ASA منفی و گروه ASA

مثبت		گروه	حرکت اسپرم
برحسب درصد	کل		
≥ ۵۰	< ۵۰		
۵۶	۱۲	تعداد مردان نابارور ASA منفی	۶۸
۸	۹	تعداد مردان نابارور ASA مثبت	۱۷
۶۴	۲۱	کل	۸۵

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که حجم سمن و تعداد اسپرم در مردان نابارور ASA مثبت در مقایسه با مردان نابارور ASA منفی اختلاف معنی داری نداشت. این مطالعه نتایج مطالعه گابین و همکاران را تأیید می کند. آنها نشان دادند که ASA از کلاس IgG به روش MAR مستقیم با حجم سمن و تعداد اسپرم ارتباط ندارد (۳).

همچنین نتایج این مطالعه نشان داد که حرکت اسپرم در مردان نابارور ASA مثبت در مقایسه با مردان نابارور ASA منفی اختلاف معنی داری داشت. ارتباط بین وجود ASA و حرکت غیر طبیعی اسپرم پیش از این توسط چک^۱ و همکاران نشان داده شده بود. آنها با استفاده از تست اتصال ایمنونوبید (IBT)^۲ مستقیم نشان دادند که همه مردان دارای ASA کاهش معنی داری در حرکت اسپرم داشتند (۱۳).

کلارک^۳ نیز جهت بررسی ارتباط بین ایزوتیپ ASA و حرکت اسپرم از IBT استفاده کرد. او یافت که در حضور ASA از کلاس IgA حرکت اسپرم مختل می گردد (۱۷). مطالعه گیلبرت و همکاران نیز با روش ELISA^۴ بر روی ۸۴ مرد نابارور نشان داد که مردان با ASA متصل به اسپرم، کاهش معنی داری در حرکت اسپرم داشتند (۱۴).

آنالیز سمن از نظر حجم، تعداد و حرکت برای بیماران صورت گرفت (۱۶) و در صد پارامترهای غیر طبیعی سمن (حجم کمتر از ۲ml، تعداد کمتر از ۲۰×۱۰۶ ml و حرکت کمتر از ۵۰٪) برای هر گروه از بیماران محاسبه گردید. آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون Fisher's exact test انجام گرفت.

یافته ها

دامنه سنی بیماران ۲۵-۴۵ سال بود. از ۸۵ بیمار، ۱۷ بیمار (۲۰٪) در گروه ASA مثبت و ۶۸ بیمار (۸۰٪) در گروه ASA منفی قرار گرفتند. از ۸۵ بیمار، ۱۴ بیمار (۱۶/۵٪) حجم غیر طبیعی، ۲۸ بیمار (۳۲/۹٪) تعداد غیر طبیعی و ۲۱ بیمار (۲۴/۷٪) حرکت غیر طبیعی داشتند.

حجم کمتر از ۲ml با وجود ASA از کلاس IgA به روش MAR مستقیم ارتباط معنی داری نداشت (جدول ۱).

جدول شماره ۱- مقایسه حجم سمن در گروه ASA منفی و گروه

مثبت		گروه	حجم سمن برحسب میلی لیتر
کل	≥ ۲		
تعداد مردان نابارور ASA منفی	۱۱	۵۷	۶۸
تعداد مردان نابارور ASA مثبت	۳	۱۴	۱۷
کل	۱۴	۷۱	۸۵

تعداد کمتر از ۲۰×۱۰۶ ml با وجود ASA از کلاس IgA به روش MAR مستقیم ارتباط معنی داری نداشت (جدول ۲). حرکت کمتر از ۵۰٪ با وجود ASA از کلاس IgA به روش MAR مستقیم بطور معنی داری ارتباط داشت (p=۰/۰۰۵) (جدول ۳).

جدول شماره ۲- مقایسه تعداد اسپرم در گروه ASA منفی و گروه ASA مثبت

مثبت		گروه	حجم سمن برحسب میلی لیتر
کل	≥ ۲۰×۱۰۶		
تعداد مردان نابارور ASA منفی	۲۲	۴۶	۶۸
تعداد مردان نابارور ASA مثبت	۶	۱۱	۱۷
کل	۲۸	۵۷	۸۵

1. Check
2. Immunobead Binding test
3. Clarke
4. Enzym Linked Immunosorbent Assay

بنابر این آنتی اسپرم آنتی بادی ها می توانند با کاهش را مختل نمایند. این اختلال ممکن است بعد از برخورد با ASA در حضور کمپلمان اتفاق افتد. اگر چه مایع سمن تحت شرایط فیزیولوژیک حاوی کمپلمان نمی باشد؛ ولی کمپلمان ممکن است بعد از یک آسیب در سیستم انزالی نشت نماید (۱۲).

علاوه بر ASA، کاهش حرکت اسپرم ممکن است ناشی از عفونت یا اتیولوژی نامشخص باشد. ASA بوسیله شستشوی اسپرم، کورتیکواستروئیدها، لقاح آزمایشگاهی (IVF)^۱ و تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم (ICSI)^۲ درمان می شود. عفونتها ممکن است بوسیله آنتی بیوتیک ها درمان شوند. اگر عفونتها با تشکیل آنتی بادی همراه باشند، درمان اختصاصی برای آنتی بادی ها نیاز خواهد بود. اگر کاهش در حرکت اتیولوژی اختصاصی نداشته باشد، احتمالاً ثانویه به

بقاء اسپرم و آسیب به حرکت اسپرم، عملکرد طبیعی اسپرم نقص عملکردی اسپرم می باشد و بنابر این ممکن است به دستکاری کوچکی جهت حصول باروری نیاز باشد (۱۸).

در پایان توصیه می شود که کلیه مردان نابارور که در طی آنالیز سمن حرکت غیر طبیعی اسپرم را نشان می دهند، برای ASA نیز تست شوند. اگر سطح ASA بالا باشد با زوج نابارور ممکن است در مورد انجام تکنیک های کمک باروری (ART)^۳ مشورت گردد.

تشکر و قدردانی

بدیونسیله از جناب آقای دکتر محمد حسین نصر اصفهانی عضو تیم تخصصی گروه جنین شناسی و آندروولوژی پژوهشکده رویان که ما را در این مطالعه یاری فرمودند، کمال تشکر و سپاس را داریم.

1. In vitro Fertilization
2. Intra Cytoplasmic Sperm Injection
3. Assisted Reproductive Technology

References

1. Bohring G, Krause W. Immune infertility : towards a better understanding of perm (auto) – immunity. *Hum Reprod* 2003; 18: 915-24
2. Collins JA, Burrows EA, Yeo J. Frequency and predictive Value of antisperm antibodies among infertile couples. *Hum Reprod* 1993 ; 8:592-598
3. Gubin DA, Dmochowski R, Kutteh WH. Multivariant analysis of men from infertile couples with and without antisperm antibodies. *Am J Reprod Immunol* 1998; 39:157-60
4. Vazquez –Levin MH, Notrica JA, De Fried EP. Male immunologic infertility: Sperm performance on in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1997; 68: 675-681
5. Bronson R. Detection of antisperm antibodies : an argument against therapeutic nihilism. *Hum Reprod* 1999; 14:1671-1673
6. Helmerhorst FM, Finken MJ J, Erwich JJ. Detection assays for antisperm antibodies: what do they test ? *Hum Reprod* 1999; 14: 1669-71
7. Hjort T. Antisperm antibodies and infertility : an unsolvable question ? *Hum Reprod* 1999; 14:2423-6
8. Mahmoud A, Comhaire F. Antisperm antibodies : use of the mixed agglutination reaction (MAR) test using latex beads. *Hum Reprod* 2000; 15: 231-233
9. Shibahara H, Shigeta M, Inoue M, Hasegawa A, koyama k, Alexander MJ, Isojima S. Diversity of the blocking effects of antisperm antibodies on fertilization in human and mouse. *Hum Reprod* 1996; 11: 2595-2599
10. 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: 1469-1473
11. Shibahara H, Tsunoda T, Taneichi A, Hirano Y, Ohno A, Takamizawa S, and et al. Diversity of antisperm antibodies bound to sperm surface in male immunological infertility. *Am J Reprod Immunol* , 2002a ; 47: 146-50
12. Shibahara H, Hirano Y, Takamizawa S , Sato I. Effect of sperm – immobilizing antibodies bound to the surface of ejaculated human spermatozoa on sperm motility in immunologically infertile men. *Fertil Steril* 2003; 79: 641-642
13. Check JH, Adelson G , Bollendorf A. Effect of antisperm antibodies on computerized semen analysis. *Arch Androl* 1991; 27: 61-63
14. Gilbert BR, Witkin SS, Goldstein M. Correlation of sperm – bound immunoglobulins with impaired semen analysis in infertile men with Varicoceles. *Fertil Steril* , 1989 ; 52:469-73.
15. Munuce MJ , Berta CL , Pauluzzi F , Caille AM. Relationship between antisperm antibodies , sperm movement , and semen quality. *Urol Int* 2000; 65: 200-203
16. World Health Organization. Laboratory manual for the examination of human semen and sperm – cervical mucus interaction. Cambridge: Cambridge University Press, 1999
17. Clarke GN. Immunoglobulin class and regional specificity of antispermatozoal auto antibodies blocking cervical mucus

- penetration by human spermatozoa. Am J
Reprod Immunol Microbiol, 1988; 16:135-8
18. Nagy ZP, Arayona C, Greco E. Results of
ICSI in the treatment of male
immunological infertiliy. Andrologia,
1999; 31: 316-7