



and.



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات
بهداشتی درمانی شهید بهشتی

دانشکده پزشکی

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی و درمانی شهید بهشتی
دانشکده پزشکی

پایان نامه

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد ایمونولوژی

عنوان:

بررسی مقایسه‌ای روشهای تشخیصی آنتی بادیهای ضد اسپرم

در

ناباروری ایمونولوژیک

استاد راهنما:

جناب آقای دکتر نوید اسفندیاری

۱۳۸۵ / ۱۰ / ۱۷

استاد مشاور:

جناب آقای دکتر پرویز پاکزاد

۱۳۸۵ / ۱۰ / ۱۷

تحقیق و نگارش:

عبدالرضا اسماعیل زاده آقچه

زمستان ۷۸

۹ ۵ ۵ ۵ ۵

کتابخانه تخصصی پزشکی
شهید بهشتی

چکیده:

تقریباً ۱۰ تا ۱۵ درصد زوجها با مشکل ناباروری مواجه هستند. ناباروری دلایل مختلف دارد. عامل مردانه مسئول ایجاد ناباروری در تقریباً ۵۰ درصد زوجهای نابارور است. ناباروری بدلیل دخالت فاکتورهای ایمنولوژیک بیشتر از ۲۰ درصد موارد ناباروری را شامل می‌شود. ناپاروریهای ایمنولوژیک عمدتاً از نظر بالینی به آنتی بادیهای ضد اسپرم معطوف می‌شود. میزان حضور آنتی بادیهای ضد اسپرم در زوجهای نابارور بین ۵ تا ۳۶ درصد است، نظر به اهمیت ASA روشهای مختلفی برای سنجش آن وجود دارد اما هیچ کدام از روشهای رایج بعنوان gold standard نیست.

از آنجائی که روش اگلوتیناسیون روش رایج و قدیمی برای رد یابی ASA است در این تحقیق دو روش ELISA و MAR با TSAT مقایسه میشوند. هدف از این مطالعه یافتن روشی است که در عین ساده و ارزان بودن از قدرت، حساسیت و ویژگی و توانائی تعیین محل اتصال ASA به سطح غشاء اسپرم برخوردار باشد. برای نیل به این هدف سرم ۲۰ زوج بارور (کنترل) و ۲۰ زوج نابارور (به دلایل ایمنولوژیک بعد از معاینه و مشاوره) با سه روش فوق مورد ارزیابی قرار گرفتند این افراد به مراکز ناباروری وابسته به دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی برای تشخیص و درمان مراجعه کرده بودند. نتایج حاصله از یافته‌های آماری نشان میدهد که حساسیت، ویژگی، PPV و NPV برای (IgG)IND MAR در مقایسه با TSAT بترتیب عبارت است از: ۱۶/۲٪، ۹۷/۶٪، ۸۵/۷٪، ۵۶/۹٪. حساسیت و ویژگی و PPV و NPV در مقایسه با TSAT بترتیب عبارت است از: ۱۳/۵٪، ۸۸/۱٪، ۵۰٪. و ۵۳/۶٪، نتیجه مثبت تست TSAT در افراد نابارور ۵/۲ برابر افراد بارور نشان داد و این اختلاف مطابق آزمون آماری کای دو معنی دار است ($P < 0/0005$). تست ASA با روش TSAT در افراد دارای بیماری عفونی ۲/۵ برابر افراد سالم است و این اختلاف از نظر آماری معنی دار است ($P < 0/0005$) همچنین در افراد با سابقه جراحی دستگاه ژنیتال و ادراری میزان ASA افزایش نشان میدهد ($P < 0/0005$) در مصرف کنندگان آنتی بیوتیک در مقایسه با افراد کنترل افزایش قابل ملاحظه‌ای مشاهده میشود ($P < 0/025$). مطالعات نشان داد که سن، مدت ازدواج، مدت ناباروری، ابتلا به

بیماریهای عفونی و مصرف سیگار تأثیر معنی دار بر نتایج در دو گروه ندارد.
استفاده توأم از دو روش بجای تک تک آنها قدرت تشخیص افراد نابارور را افزایش میدهد.
با مطالعات انجام شده مشخص شد که: IGA در سرم ارزش تشخیصی ندارد. و روش ELISA بدلیل
نتایج مثبت کاذب برای سنجش ASA قابل اعتماد نیست و توصیه نمی شود. برای تعیین ایزوتیپ
آنتی بادیهای ضد اسپرم در سرم فقط IND MAR (IgG) دارای ارزش است.
روش TSAT علی رغم اینکه توانائی تعیین ایزوتیپ را ندارد ولی بدلیل سادگی انجام آن، عدم نیاز به
کیت‌های وارداتی و توانائی تعیین محل اتصال آنتی بادی ضد اسپرم و شناسائی تمام کلاسهای
ایمونوگلوبولین (از جمله IgM) نسبت به دیگر روشها ارجح است.

Abstracts:

It is estimated that about 15% of couples have infertility. Several factors can cause infertility among them, the 50% resulted from the male factor since the immunologic factor for infertility is responsible for 20%. From the clinical point of view, the immunologic infertility mainly referred as antisperm antibodies. Antisperm antibodies can be detected with several different tests but all have their advantages and contraindications itself.

For gaining the novel or gold standard diagnostic approach for detecting these antibodies, three different tests including TSAT, MAR and ELISA compared with each other. Serum sample from 20 infertile couples(as case group) and 20 healthy and normal couples who had at least one child underwent the study. The data collected were analysed for sensitivity, specificity, PPV and NPV. Some another parameters such as age, history of infectious disease, previous urogenital trauma, or surgery, Antibiotic consumption, diuration of infertility and marriage also analysed and all obtained results were shown in tables and diagrams in the text.

Briefly, the study showed that a serum IgA has no diagnostic value for these antibody b) The Elisa test because of high false positive results could not be diagnostic predictive and) Isotype for antibody is easily could determined with indirect MAR test.

تقدیم به آنان که دستم را گرفتند و پا به پا بردند
تا

شیوه راه رفتن پیاموزم
«پدر و مادرم»

تقدیم به: همسر خوب و شادکار
و

دختر نازم

هدیه سبز خدا «کیمیا»

که در نهایت گذشت و ایثار بزرگوارانه، وقت
خودشان را در اختیارم نهادند تا بتوانم این دوره
از تحصیل را با موفقیت به پایان برسانم.

تقدیم به: برادران و خواهرانم

و

همه افرادی که مایه پشت گرمی اینجانب بودند.

تقدیم به:

جناب آقای دکتر نوید اسفندیاری

که طی این طریق بدون حضور ایشان میسر نمیشد.
همونی که در کسوت استادی، رفتار و کردار دوستانه‌اش،
نکته‌ها و پندهایشان برایم ایده و مایه آرامش بود.

تقدیم به:

جناب آقای دکتر پرویز پاکزاد

مرد نیک اندیشی که در کنار راهنمایی‌های ارزنده ایشان در
مراحل مختلف پایان‌نامه و دوران تحصیل
اخلاق، رفتار و کردارشان خود کلاس درسی بود برای اینجانب
و بعد از عنایت حق تعالی، گذراندن این دوره را مدیون
مساعده‌ها و محبت‌های بی دریغ ایشان میدانم.

تقدیم به:

همه کسانی که رنج خویش را براحتی دیگران ترجیح

میدهند

تا شکوفه‌های تندرستی و شادابی در گلزار

بشریت شکوفا شود

تقدیم به:

همه سپید پوشان

سبزیاور

و

نواندیش

تقدیم به همه کسانی که به من آموختند و

میآموزند و خواهند آموخت.



* با تقدیر و تشکر از زحمات اساتید محترم گروه که بزرگوارانه در راه تعلیم و تربیت اینجانب در طول تحصیل تلاش نمودند:

**سرکار خانم دکتر رضائی پور، سرکار خانم دکتر مصفا،
سرکار خانم دکتر ستاری و سرکار خانم مفخم**

که در جنبه‌های علمی و عملی از تجربیات و تخصص ارزنده شما نهایت استفاده را بردم.

* با تقدیر و سپاس از همکاریهای بی شائبه همکاران محترم بخش ایمنولوژی، که محبت‌های شما را فراموش نخواهم کرد:

جناب آقای دربندی، سرکار خانم ویرابی، سرکار خانم فتح الله زاده، جناب آقای موسوی و سرکار خانم رضائی.

* از دوستان خوبم و هم دوره‌های گرامی سرکار خانم ایرانژاد، سرکار خانم شاکر و سرکار خانم غیائی

که در غم و شادی هم شریک بودیم و از همفکری. مشاوره با شما بسیار تجربه آموختم بی نهایت تشکر می‌کنم.

* از همکاری و همفکری دانشجویان دوره اول و شور و نشاط دوستان دوره‌های سوم و چهارم ایمنولوژی دانشکده پزشکی شهید بهشتی بی نهایت متشکرم.

* در پایان از تمام عزیزانی که در طی این دوره و در مراحل مختلف انجام پایان نامه در بخش‌های مختلف دانشکده و واحدهای تابعه و مراکز دانشگاهی و تحقیقاتی خارج از

دانشگاه مرا یاری نمودند و نام آنها از قلم افتاده است تشکر و سپاسگذاری میشود.

«فهرست مطالب»

صفحه

عنوان

چکیده

* فصل اول Introduction

۱	مقدمه و بیان مسئله
۳	مروری بر فیزیولوژی تولید مثل در مرد
۶	اسپرم و اسپرماتوژنیزس
۱۰	فاکتورهای لازم برای تولید مثل:
۱۱	لقاح و باروری
۱۴	پذیرنده‌های اسپرم
۱۶	واکنش آکروزومی
۱۷	نفوذ اسپرم به تخمک
۱۸	لقاح اسپرم و تخمک
۱۹	مکانیسم عمل لقاح
۲۱	ممانعت سریع از پلی اسپرمی
۲۱	واکنش کورتیکال
۲۴	ناباروری
۲۴	اختلال در اسپرماتوژنز و قدرت باروری اسپرم
۲۸	ارزیابی زوج نابارور
۲۹	نکات مهم شرح حال در مردان:

۳۰	نکات مهم شرح حال در زنان
۳۱	علل ناباروری:
۳۲	علل ناباروری مرد:
۳۴	علل ایمنولوژیک
۳۸	سلولهای مؤثر در ایمنولوژی تولید مثل مرد و زن:
۴۲	سیتوکاین‌های مؤثر بر باروری مردان
۴۸	آنتی ژنهای اسپرم
۵۹	آنتی بادیهای ضد اسپرم
۶۱	اتیولوژی ASA
۶۴	علل ایجاد ASA در مردان
۶۹	اتیولوژی ASA در زنان
۷۰	مکانیسم‌های احتمالی القاء ناباروری ایمنولوژیک توسط ASA
۷۷	استراتژی درمان ناباروریهای ایمنولوژیک با اتیولوژی ASA

* فصل دوم Review Litreture

۸۲	بازنگری منابع و اطلاعات موجود
۱۰۰	اهداف فرضیات و متغیرهای تحقیق

* فصل سوم Material & Method

۱۰۵	الف) مواد و وسایل
-----	-------------------

ب - روش، تکنیک و نحوه اجزاء تحقیق، پرسشنامه ۱۰۷

* فصل چهارم Results

یافته‌ها ۱۳۶

* فصل پنجم Discusion

بحث ۱۶۰

نتیجه‌گیری ۱۶۴

مشکلات و محدودیت‌های پایان‌نامه تحقیقاتی ۱۶۵

پیشنهادات ۱۶۶

فصل اول

مقدمه و بیان مسئله

ناباروری یکی از معضلات جوامع بشری است و بعنوان یک مشکل فردی و اجتماعی مهم برای زوجهای نابارور به شمار می آید بطوریکه ۱۵-۱۰ درصد زوجها از این مسئله رنج می برند. (۱) ناباروری ایمونولوژیک یکی از شایعترین و مهمترین اختلالات دستگاه تناسلی محسوب می شود حدود ۲۰ درصد ناباروریها بدلائل ایمونولوژیک است. (۱) ناباروری دلایل مختلف دارد از مهمترین علل ناباروری در مردان می توان اختلال در اسپرماتوژنز و قدرت باروری اسپرم و در زنان اختلال در تخمک گذاری، انسداد لوله فالوپ، ناهنجاریهای ساختمان، یا عملکرد سرویکس و رحم را نام برد. در این میان حضور آنتیبادیهای ضد اسپرم در سرم و ترشحات دستگاه تناسلی هر دو جنس از علل اصلی ناباروری ایمونولوژیک به حساب می آید. (۶) بطوریکه بسیاری از محققین معتقدند که ۳۶-۵ درصد ناباروریها بدلیل وجود آنتیبادیهای ضد اسپرم است. (۱ و ۳ و ۴ و ۵) در حال حاضر برای شناسایی و ردیابی آنتیبادیهای ضد اسپرم از روشهای *Elisa*، *MAR*⁽¹⁾، آگلوتیناسیون، بیحرکت سازی، ایمونوبید، ایمونوفلورسانس، *RIA* و *spermcheck* استفاده می شود که هر یک به نوبه خود دارای معایب و مزایایی است و ارجحیت هیچکدام بر سایرین ثابت نشده است.

با توجه به اینکه تست *gold standard* مشخص وجود ندارد. (۶) و روش آگلوتیناسیون از روشهای رایج و قدیمی موجود برای بررسی وجود آنتیبادیهای ضد اسپرم بوده و هست دو روش، *Elisa* و *MAR* را از نظر حساسیت و ویژگی با آگلوتیناسیون مقایسه می کنیم.

sperm MAR (آگلوتیناسیون مختلط) روش حساس و راحتی بوده و در زمان کمی قابل انجام است (حدود ۱۵ دقیقه) و ابزار تشخیصی مفیدی است و حساسیت و اختصاصیت زیادی نسبت به ایمونوبید

(IBT) دارد. (۷) و کلاس IgA, IgG را میتوان تعیین نمود (۸) در این روش (MAR) که بخوبی آنتیبادیهای ضد اسپرم را در سطح اسپرم ردیابی می‌کند ویژگی بالاست (۳). ولی در کنار اینکه سریع قابل انجام بوده و نیازی به آماده کردن اسپرم بر خلاف روش IBT ندارد اختصاصیت آن مورد سؤال است (۴). روش آگلوتیناسیون (آزمایش بطریقه Tube-slide) روش مناسبی است که از مزایای آن مشخص بودن ناحیه دخیل اسپرم در واکنش (سربه سر، دم به دم و یا به صورت توأم) و حساسیت زیاد آن است (۲ و ۱۰) و مهارت و تجربه جهت آزمایش را می‌طلبد ولی از سایر جهات منجمله نیاز به مواد و وسایل، ساده و ارزان بودن و زمان کوتاهتر و در دسترس بودن امکانات انجام آن به سایر روشها ارجح است. (۳) و این در حالیکه با این روش ایزوتیپ آنتیبادیهای ضد اسپرم قابل ردیابی نبوده (۱) و ویژگی آن کم (۳) و نتایج مثبت کاذب از معایب آن محسوب می‌شود. (۴)

روش Elisa یک تست کمی خوب (۴) بوده که از ویژگیهای بالا و حساسیت ضعیفی برخوردار است. (۳) از طرف دیگر این تست با قابلیت انجام راحت و آسان و تعیین تیتراژ آنتیبادیهای ضد اسپرم برای غربال کردن تعداد زیاد نمونه‌های سرم برای تشخیص ناباروری ایمنولوژیک از حساسیت و ویژگی بالائی برخوردار است. (۱۱ و ۱۲ و ۱۳ و ۱۴ و ۱۵) و این در حالیکه موارد مثبت کاذب در غربال کردن با این روش مشاهده شده است که در تفسیر نتایج حتماً باید در نظر باشد (۱۶) عدم رعایت این نکته به جای حل مشکل زوجین به مشکلات آنها می‌افزاید.

از زمان مشخص شدن علل ایمنولوژیک به عنوان علل ناباروری مدت زیادی نمی‌گذرد و از اینرو بسیاری از دست اندرکاران با نحوه تشخیص و مزایا و معایب متدهای آزمایش آشنائی کافی ندارند لذا با توجه به ارزش تشخیص سه روش Elisa^(۱) و MAR^(۲) و Agglutination در این مطالعه در نظر است این سه روش بر روی سرم زوجهای نابارور و بارور (کنترل) مراجعه کننده به مراکز آموزشی و درمانی