

طراحی یک روش الیزا با استفاده از آنتی‌ژن‌های سطحی اسپرم جهت اندازه‌گیری

آنتی‌بادی ضد اسپرم و مقایسه آن با تست SpermMar

اصغر طالبیان (M.Sc.)^۱، امیرحسین زرنانی (Ph.D.)^۲، محمود جدی‌تهرانی (Ph.D.)^۳، محمد مهدی آخوندی (Ph.D.)^۴، محمود جلالی (Ph.D.)^۵، محمدرضا صادقی (Ph.D.)^۶

- ۱- مربی، گروه غدد تولیدمثل و جنین‌شناسی، پژوهشکده ابن‌سینا، تهران، ایران.
- ۲- استادیار، گروه ایمنی‌شناسی، مرکز تحقیقات آنتی‌بادی منوکلونال، تهران، ایران.
- ۳- استادیار، گروه غدد تولیدمثل و جنین‌شناسی، پژوهشکده ابن‌سینا، تهران، ایران.
- ۴- دانشیار، گروه تغذیه و بیوشیمی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران، تهران، ایران.

چکیده

مقدمه: تاثیر آنتی‌بادی ضد اسپرم با میزان شیوع ۲۶-۶٪ در ایجاد ناباروری به خوبی شناخته شده است. لذا اندازه‌گیری آن در سرم و یا مایعات بیولوژیک مردان و زنان از اهمیت بالایی برخوردار است. امروزه یکی از مهمترین موضوعات مورد بحث در ناباروری ایمونولوژیک، طراحی روشی استاندارد جهت اندازه‌گیری ASA می‌باشد. مطالعات انجام شده نشان می‌دهند که روش الیزا در بین روش‌های تشخیصی ASA، در صورتی‌که از آنتی‌ژن‌های سطحی اسپرم با حداقل آلودگی به آنتی‌ژن‌های غیراسپرمی و آنتی‌ژن‌های داخلی اسپرم استفاده گردد، روشی بسیار حساس و قابل اعتماد بوده و بهتر از سایر روش‌های تشخیص و اندازه‌گیری ASA می‌باشد. بنابراین هدف از مطالعه حاضر طراحی یک روش الیزا با روش قابل قبول استخراج آنتی‌ژن‌های سطح اسپرم و با حداقل آلودگی به سایر پروتئین‌های اسپرم جهت تعیین میزان ASA می‌باشد.

مواد و روشها: در این مطالعه، تکنیک الیزای غیرمستقیم با استفاده از سه روش مختلف استخراج آنتی‌ژن‌های سطح اسپرم شامل روش سونیکاسیون، استفاده از دترجنت سدیم دودسیل سولفات و نیز استفاده از دترجنت لیتیم دی‌دوسالیسیلات، طراحی گردید. در نهایت پس از طراحی روش، الیزای طراحی شده با آنتی‌ژن حاصل از سه روش مختلف استخراج آنتی‌ژن‌های سطح اسپرم، به همراه دو کیت الیزای تجاری مشابه با تست روتین مراکز درمان ناباروری (SpermMar) مورد مقایسه قرار گرفته است.

نتایج: در تجربه عملی از ۲۸ سرم مشکوک به ASA که توسط تست SpermMar، ۱۶ مورد جواب مثبت داشتند، به روش الیزای طراحی شده با آنتی‌ژن‌های حاصل از دترجنت LIS، ۱۴ سرم، جواب مثبت حقیقی نشان داد و تنها ۲ مورد جواب منفی کاذب وجود داشت و جواب مثبت کاذب نیز مشاهده نگردید؛ در حالیکه در روش سونیکاسیون فقط ۵ مورد مثبت حقیقی داشت و ۱۱ مورد جواب منفی کاذب نشان داد. روش استفاده از دترجنت SDS نیز ۱۳ مورد مثبت حقیقی، ۳ مورد جواب منفی کاذب و ۴ مورد جواب مثبت کاذب نشان داد. به علاوه، دو کیت تجاری به ترتیب ۷ و ۴ مورد جواب مثبت حقیقی نشان داد. در هر دو کیت‌های تجاری ۱ مورد جواب مثبت کاذب و نیز به ترتیب با ۹ و ۱۲ مورد جواب منفی کاذب همراه بودند. براساس نتایج حاصل روش الیزا با استفاده از دترجنت LIS، حساسیت (۸۷/۵٪) مناسبی داشته و از ویژگی و کارایی بسیار بالایی در مقایسه با سایر روش‌ها برخوردار است (به ترتیب ۱۰۰٪ و ۹۲/۸٪). از طرف دیگر همبستگی معنی‌داری نیز بین روش طراحی شده و SpermMar وجود دارد ($r=0/572$). نتیجه‌گیری: براساس نتایج این مطالعه روش الیزای طراحی شده با استفاده از آنتی‌ژن‌های استخراج شده از سطح اسپرم به کمک دترجنت LIS دارای حداقل نتایج کاذب است و بهتر از سایر روش‌های استخراج آنتی‌ژن‌های سطحی اسپرم و کیت‌های مشابه خارجی جهت تشخیص و تعیین میزان ASA می‌باشد.

کل واژگان: ناباروری، اسپرم، آنتی‌بادی ضد اسپرم، الیزا، SpermMar، لیتیم دی‌دوسالیسیلات، و آنتی‌ژن‌های سطح اسپرم.

آدرس مکاتبه: دکتر محمدرضا صادقی، گروه غدد تولیدمثل و جنین‌شناسی، پژوهشکده ابن‌سینا، صندوق پستی ۱۷۷-۱۹۸۳۵، اوین، تهران، ایران.

پست الکترونیک: Sadeghi@avesina.ir