

آزمایشگاه پاتوبیولوژی و تشخیص مولکولی پارسه

دپارتمان باروری و ناباروری

نماب ۲۲

معرفی تستهای تخصصی و فوق تخصصی دپارتمان باروری و ناباروری

بررسی مورفولوژی اسپرمها:

یکی از پارامترهای مهم در ارزیابی آزمایشگاهی مایع منی، مورفولوژی یا ریخت شناسی اسپرم می باشد. مایع منی حاوی جمعیت هتروژنی از اسپرمها بوده که با تنوع مورفولوژی اسپرم ها در این جمعیت همراه است. این تنوع سبب شده است که ارزیابی مورفولوژی اسپرم از حساسیت ویژه ای برخوردار باشد. در مطالعات متعدد، اسپرم های طبیعی را پس از فعالیت جنسی از ناحیه ترشحات مخاط گردن رحم و یا از سطح زونا پلوسیدا جداسازی کرده و معیارهای دقیق مورفولوژی طبیعی اسپرم را براین اساس تعیین نموده اند که با استفاده از این معیارها می توان میزان موفقیت لقاح در هر فرد را پیش بینی نمود. بیشترین معیار که جهت بررسی مورفولوژی اسپرم بکار می رود، معیارهای WHO می باشد که بر اساس مشاهده لام رنگ شده بطریق پاپانیکولاو می باشد. روش های آزمایشگاهی مختلفی برای بررسی مورفولوژی اسپرم ها وجود داشته از جمله:



بررسی مورفولوژی اسپرم به روش رنگ آمیزی پاپانیکولاو

بررسی مورفولوژی اسپرم به روش رنگ آمیزی Shorr

بررسی مورفولوژی اسپرم به روش رنگ آمیزی Diff_Quick

با توجه به روتین بودن تست رنگ آمیزی پاپانیکولاو به توضیح آن خواهیم پرداخت.

رنگ آمیزی پاپانیکولاو در طی این روش اکروزوم و ناحیه پشت اکروزوم، بقایای سیتوپلاسمی، گردن و دم اسپرم رنگ آمیزی می شود. در نهایت کلاهک اکروزوم آبی و مواد هسته ای سر زرد رنگ خواهند شد. تفاوت این نوع رنگ آمیزی با روش معمول رنگ آمیزی در این است که از اتانول و گزین به ترتیب جهت تثبیت لام ها استفاده می شود.

بررسی اسپرم های حاوی پادتن :

بطور طبیعی در مایع منی که خوب یکنواخت شده باشد نباید clump مشاهده شود. اگر نمونه مایع منی دچار آگلوتیناسیون شده باشد بطوری که اسپرمهای متحرک از قطعه سر و یا دم و یا هردو باهم اتصال پیدا کرده باشند، ممکن است دلیل آن وجود پادتن در سطح اسپرم باشد، پادتن های ضداسپرمی ممکن است در نمونه های فاقد آگلوتیناسیون نیز مشاهده شوند. پادتن ها منجر به اختلال عملکرد اسپرم می شوند و میتوان با استفاده از آزمون نفوذ اسپرم به ترشحات مخاط گردن رحم این مورد را ارزیابی کرد. بعلاوه پادتن ها می توانند منجر به اختلال اتصال به زونا پلوسیدا و واکنش آکروزومی شوند. پادتن های بر علیه اسپرم (Anti Sperm Antibodies or ASAs) در مایع منی تقریباً شامل هردو نوع کلاس IgG و IgA بوده که هر دو را می توان مورد بررسی قرار داد. آزمون های بررسی پادتن های سطح اسپرم شامل ارزیابی مستقیم و غیر مستقیم ASAs می باشد که هردو وابسته به وجود اسپرم های متحرک در نمونه است. در صورت عدم وجود اسپرم های متحرک ، می توان از روشهای غیر مستقیم بر روی سرم خون و پلاسمای مایع منی استفاده نمود.

ارزیابی مستقیم ASAs در مایع منی تازه:

دو آزمون جهت بررسی مستقیم ASAs پیشنهاد شده که می توان به MAR (Mixed Antiglobulin Reaction) و IB (Immunobead) اشاره کرد. اگر Ab ضد اسپرم بر روی اسپرماتوزوئید باشد، اسپرمهای متحرک به ذرات لاتکس می چسبند، ابتدا این چسبندگی به تعداد کم بوده و بعد آنقدر زیاد شده که جلو حرکت اسپرم را می گیرد.

ارزیابی غیر مستقیم ASAs:

برای بررسی ASAs به روش غیرمستقیم از پلاسمای مایع منی ، سرم خون و ترشحات مخاط گردن رحم استفاده می گردد. این پلاسماهای در مجاورت اسپرم هایی که فاقد پلازما و پادتن اسپرمی هستند، قرار داده شده که در صورت وجود ASAs در پلازما، ASAs به اسپرم ها متصل می گردند.

بررسی های بیوشیمیایی مایع سمینال:

ظرفیت ترشعی پروستات: میزان روی، اسیدسیتریک و اسیدفسفاتاز یک معیار قابل اطمینان برای ترشح غده پروستات محسوب می شود.

ظرفیت ترشعی کیسه منی : با اندازه گیری فروکتوز مشخص می گردد. بخصوص در نمونه های آرواسپرمی بطوریکه کاهش فروکتوز ممکن است دلالت بر نقض مادرزادی وزیکول سمینال و واژودفران داشته باشد.

ظرفیت ترشعی اپیدیدیم: L- کارنیتین آزاد بعنوان شاخص عمل ترشعی اپیدیدیم شناخته شده است.

بررسی حیات و زنده بودن اسپرم (Sperm Viability)

حیات اسپرم به سلامت غشای آن وابسته است. در صورت سالم بودن غشاء اسپرم هیچ رنگی به آن نفوذ نکرده و بالعکس. زمان ارزیابی دقیق حیات اسپرم تا ۳۰ دقیقه بعد از مایع شدن نمونه و یا ۱ ساعت پس از انزال می باشد. در صورتی که حرکت پیشرونده اسپرم کمتر از ۴۰ درصد باشد، آزمون حیات اسپرم پیشنهاد می شود. پس از ارزیابی، درصد اسپرمهای مرده نباید از درصد اسپرمهای فاقد حرکت تجاوز کند. حضور تعداد زیادی از سلول های زنده اما فاقد حرکت، نشان دهنده نقص در ساختار تاژک اسپرم است و وجود تعداد زیادی از سلول های فاقد حرکت و مرده می تواند بیانگر نقص های اپیدیدیمی باشد. جهت بررسی سلامت غشاء اسپرم از آزمون HOS (Hypo-Osmotic Swelling)، رنگ آمیزی ائوزین یا ائوزین_نکروزین استفاده می شود.

بررسی تحرک اسپرم (Sperm Mobility)

تحرک اسپرم یکی از عوامل مهم در تعیین پتانسیل باروری افراد به حساب می آید. بطوریکه در مراکز ناباروری با بررسی درصد تحرک پیشرونده نمونه فرد می توان میزان شانس باروری را تخمین زد. میزان تحرک به ۲ روش چشمی با میکروسکوپ، و یا نرم افزارهای کامپیوتری مانند (CASA یا Computer Aided Sperm Analysis) مورد ارزیابی قرار میگیرد. ارزیابی دقیق تحرک اسپرم حداقل ۳۰ دقیقه تا ۱ ساعت پس از انزال در صورت مایع شدگی نمونه باید صورت گیرد و با گذشت زمان به علت دهیدراته شدن، تغییرات PH و تغییرات دما، گزارش ارائه شده دقیق نمی باشد.



استفاده از CASA برای ارزیابی تحرک اسپرم:

CASA بهترین روش برای استفاده در تحلیل کینتیک تحرک اسپرم است و می تواند سلول های متحرک را تشخیص دهد. برآورد درصد تحرک ممکن است واقعی و دقیق نباشد، زیرا به تشخیص تعداد اسپرم های غیر متحرک وابسته است و ممکن است دبریس ها با اسپرم های غیرمتحرک اشتباه گرفته شوند. فاکتورهای متعددی از جمله آماده سازی نمونه، سرعت تنظیم غلظت اسپرم بر عملکرد CASA تأثیر میگذارند. در استفاده از CASA برای بدست آوردن پارامترهای حرکت، حداقل باید ۲۰۰ اسپرم در هر نمونه بررسی شوند. شایان ذکر است دستگاه CASA به رایانه مجهز به نرم افزار متصل است، تا بتواند داده ها را دسته بندی و پردازش نماید. در حال حاضر CASA می تواند تحرک، غلظت و مورفولوژی را نیز همزمان بررسی نماید.

انجام تست Sperm DNA Fragmentation(SDF)

قطعه قطعه شدن DNA اسپرم یا Sperm DNA Fragmentation(SDF) بخش مهمی از اطلاعات مربوط به کیفیت مایع سمینال است و در موارد زیر کاربرد دارد:

- ۱- تشخیص زوج مناسب برای درمان با IUI: در SDF های بالاتر از ۳۰٪ توصیه می شود که پزشکان از IUI های غیر ضروری جلوگیری کرده و به طور مستقیم از IVF و یا ICSI استفاده کنند.
 - ۲- برای ارزیابی نمونه منی: ممکن است نمونه منی از لحاظ تعداد، حرکت اسپرم و سایر خصوصیات مناسب باشد ولی از جهت ساختار DNA دچار مشکل شده و قادر به باروری نباشد، که این امر با تست Spermogram مشخص نمی شود و نیاز به تست SDF می باشد.
 - ۳- برای ارزیابی اثر بخشی مداخلات پزشکی: در مردان نابارور با واریکوسل درصد بالایی از اسپرم ها دارای آسیب شدید DNA می باشند که می توان قبل و بعد از انجام عمل اثر بخشی عمل را ردیابی نمود.
 - ۴- درمان بیماری عفونی: در عفونت های Chlamydia trachomatis و Mycoplasma همان طور که پارامترهای دیگر مایع منی از عفونت های دستگاه تناسلی تاثیر می پذیرد DNA اسپرم نیز تحت تاثیر قرار گرفته و ممکن است دچار شکستگی شود. اندازه گیری SDF به پزشک کمک می کند که پاسخ درمانی را در بیمار بررسی نماید.
 - ۵- برای ارائه پاسخ به موارد ناباروری با علت ناشناخته در هنگام سقط جنین های مکرر: سطح SDF بالا ممکن است بر کیفیت ماحصل لقاح اثر گذاشته و منجر به سقط های تکراری شود.
- در مجموع پزشک در روبرو شدن با SDF های بالای ۳۰٪ باید عواملی را که قطعه قطعه شدن DNA اسپرم را تحت تاثیر قرار می دهد مورد بررسی قرار دهد. که شامل موارد زیر است:
- داروها، ترکیبات سمی، تب، سیگار کشیدن، مواد مخدر، بیماری های عفونی، واریکوسل، افزایش سن و پرهیز طولانی مدت آمیزش جنسی.
- آزمایشگاه تشخیص طبی پارسه در ادامه راه اندازی تست ها و تکنیک های جدید آزمایشگاهی با انجام تست SDF فراگمانتاسیون DNA اسپرم را بررسی می کند. از دیگر فعالیتهای جدید آزمایشگاه پارسه راه اندازی فرآیند انجماد اسپرم می باشد که در شماره های بعدی نماپ جزئیات آن به اطلاع خواهد رسید.

