

## مروری بر روش‌های جداسازی اسپرم با استفاده از امواج صوتی در درمان

## ناباروری

ناصر ناصری‌فر\*

استادیار مهندسی مکانیک

دانشگاه صنعتی خواجه نصیرالدین طوسی

دانشکده مهندسی مکانیک

Naserifar@kntu.ac.ir

دنیا شاه‌حسینی

دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی مکانیک

دانشگاه صنعتی خواجه نصیرالدین طوسی

دانشکده مهندسی مکانیک

d.shahhoseini@email.kntu.ac.ir

## چکیده

انتخاب اسپرم با کیفیت یک فرایند حائز اهمیت در روش‌های کمک باروری است. افزایش درصد موفقیت روش‌های کمک باروری با استفاده از روش‌های مبتنی بر فناوری میکروسیال فعال و غیرفعال توجه محققان را به خود جلب کرده است. در این پژوهش به مرور کلی انواع روش‌های جداسازی اسپرم پرداخته شد. روش‌های جداسازی اسپرم براساس بارزترین ویژگی اسپرم‌ها یعنی تحرک، مورد توجه قرار گرفت و روش‌های کلینیکی و روش‌های مبتنی بر فناوری میکروسیال در این حوزه مورد ارزیابی قرار گرفت. در میان این روش‌ها، روش‌های مبتنی بر فناوری میکروسیال صوتی به دلیل مزایای منحصربه‌فردی که درخصوص کاربردهای بیولوژیکی دارد اعم از کنترل‌پذیری بالا، زیست‌سازگاری و ویژگی‌های غیرتهاجمی به‌طور خاص مورد بحث قرار گرفت. نیروهای وارد بر یک اسپرم درون میکروکانال تحت تأثیر امواج صوتی و سیال بیان گردید و به بررسی تأثیرات این نیروها بر روی سلول‌های اسپرم پرداخته شد. نتایج تحقیقات حاکی از آن است که عملگرهای امواج صوتی می‌توانند به‌صورت کارایی در طراحی و ساخت پلتفرم‌های جداسازی اسپرم و لقاح مصنوعی مورد استفاده قرار گیرند.

واژگان کلیدی: میکروسیال صوتی<sup>۱</sup>، جداسازی، ناباروری، امواج صوتی سطحی<sup>۲</sup>، امواج صوتی حجمی<sup>۳</sup>

## ۱. مقدمه

ناباروری یکی از مشکلات سلامت جوامع انسانی است که بیش از ۱۸۶ میلیون نفر در سراسر جهان را تحت تأثیر خود قرار داده است [۱] و نظام‌های سلامت بسیاری از کشورها را به چالش کشیده است. در راستای حل این مشکل روش‌هایی همچون تلقیح داخل رحمی<sup>۴</sup>، لقاح آزمایشگاهی<sup>۵</sup> و تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم<sup>۶</sup> بررسی و اجرا شده است [۲]، اما

با مشاهده ضعف‌هایی در نتایج روش‌های فوق، مهندسين و پزشکان برآن شدند که کارایی این روش‌ها را بهبود بخشند. از دو دهه اخیر، فناوری میکروسیال<sup>۷</sup> در روش‌های کمک باروری مورد استفاده قرار گرفت [۳]. این فناوری با هدف توانایی تجزیه، تحلیل و اعمال نفوذ به ذرات (اعم از سلول‌ها) در مقیاس میکرونی به‌کار گرفته شد که دارای مزایای منحصربه‌فرد بسیاری است از جمله کاهش قابل توجه حجم

نمونه (مقیاس‌پذیری)، کاهش هزینه، جداسازی و تشخیص سریع و دقیق در حداقل زمان ممکن و همچنین امکان ساده‌سازی و بهبود کاربردهای پزشکی و بیولوژیکی را فراهم می‌نماید [۴].

به همین سبب این فناوری به‌عنوان یک پلتفرم قدرتمند برای مرتب‌سازی اسپرم [۵] و درک اساسی حرکت آن توسعه یافته است. فناوری میکروسیال، سریع‌ترین زمینه‌ی درحال توسعه، در انتخاب اسپرم است. تحقیقات نشان می‌دهند که استفاده از دستگاه‌های میکروسیال رویکردی مناسب برای انتخاب اسپرم با کیفیت است [۶]. همچنین اعمال نیروهای خارجی در سیستم‌های میکرو و نانو از طریق روش‌های متعددی از جمله الکتریکی [۷، ۸]، مغناطیسی [۹]، اپتیک [۱۰]، پلاسمونیک [۱۱]، صوتی [۲] و هیدرودینامیک [۱۲] می‌تواند کارایی این سیستم‌ها را افزایش دهد. در میان صدها فناوری جداسازی که تاکنون ظهور کرده‌اند، در سال‌های اخیر، فناوری میکروسیال صوتی (ادغام امواج صوتی و فناوری میکروسیال) به‌طور فزاینده‌ای در تحقیقات زیست‌پزشکی، به‌ویژه در حوزه‌های تشخیص بالینی و درمان‌ها به‌کار گرفته شده است [۴]. روش‌های جداسازی میکروسیال صوتی دارای مزایای مختلفی اعم از سازگاری زیستی، غیرتهاجمی بودن، دقت بالا، انعطاف‌پذیری، ماهیت فشرده و مقرون‌به‌صرفه، ادغام راحت با سایر فناوری‌های میکروسیال و تطبیق‌پذیری است [۱۳].

عمده‌ترین نتایجی که از موفقیت روش‌های کمک باروری مرسوم گزارش شده است ۴۷/۲۵ درصد است [۱۴]. از آنجایی که برای یک لقاح موفق به یک اسپرم با کیفیت مناسب نیاز است می‌توان گفت که یکی از عوامل مهمی که موجب کاهش درصد موفقیت این روش‌ها شده است، عدم

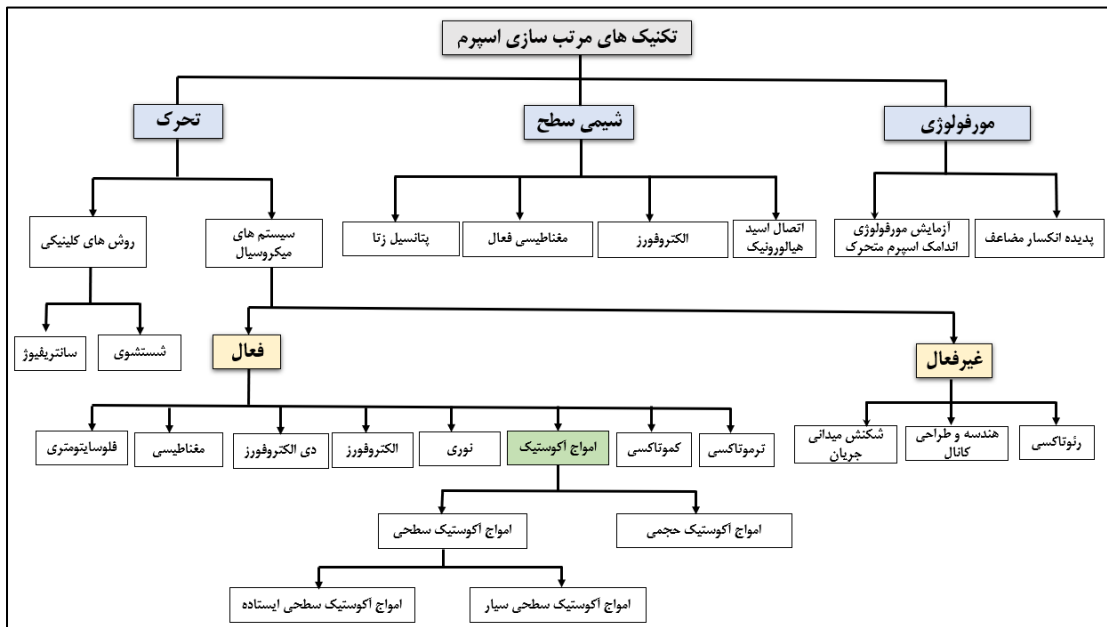
انتخاب اسپرم با کیفیت مناسب از لحاظ سرزندگی<sup>۸</sup>، تحرک<sup>۹</sup>، مورفولوژی<sup>۱۰</sup> و یکپارچگی دی ان ای<sup>۱۱</sup> است. در این راستا، ارزیابی و مرتب‌سازی اسپرم‌ها برای موفقیت فناوری کمک باروری ضروری است.

در این مقاله مروری قصد داریم روش‌های جداسازی اسپرم را مورد بحث قرار دهیم و به‌طور خاص به جداسازی با استفاده از تلفیقی از امواج صوتی و فناوری میکروسیال بپردازیم در ادامه به تأثیر امواج صوتی بر روی سلول‌های اسپرم خواهیم پرداخت و در انتها نیز انواع مکانیزم‌های جداسازی با استفاده از امواج صوتی و تفاوت آنها را بیان خواهیم کرد.

## ۲. انتخاب اسپرم مناسب و روش‌های جداسازی

### آن

حدود ۳۰ درصد از ناباروری در بین زوجها به عوامل مردانه نسبت داده می‌شود [۱۵]. برای بهبود میزان موفقیت روش‌های کمک باروری، انتخاب اسپرم با کیفیت مناسب برای بارورکردن تخمک حائز اهمیت است. در ۵۰ سال گذشته، پیشرفت‌های زیادی در بخش‌های مختلف لقاح آزمایشگاهی انجام شده است. با این حال، روش‌های پالایش اسپرم در مراحل اولیه خود باقی مانده است [۱۶]. به‌منظور ضرورت کشف روش‌های بهتر برای پالایش اسپرم، روش‌های مختلفی بر مبنای تحرک، شیمی سطح و مورفولوژی استفاده شده است که در شکل ۱ دسته‌بندی شده‌اند. فرایندهای مرتب‌سازی باید به‌گونه‌ای صورت گیرند که برای اسپرم‌ها ایمن باشند و مشخصات آنها مانند تحرک، مورفولوژی و یکپارچگی دی ان ای و آکروزوم را تغییر ندهند.



شکل ۱. نمودار کلی روش های مرتب سازی اسپرم.

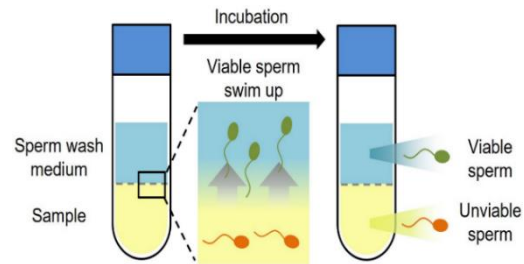
مورد نمونه‌هایی با غلظت‌های قابل توجه اسپرم) شوند. در روش شستشوی، اسپرم‌های متحرک از نمونه منی به لایه تازه‌ای از محیط شنا می‌کنند درحالی که سلول‌های مرده در آن ته‌نشین می‌شوند که در شکل ۲ نشان داده شده است [۱۷]. در روش گرادیان چگالی، اسپرم‌های متحرک به کمک سانتریفیوژ، پلاسمای منی را ترک می‌کنند و در واقع سلول‌های مرده و ته‌نشین شده‌ها را پشت سر می‌گذارند که در شکل ۳ آمده است [۱۷]. استفاده از روش‌های جداسازی کلینیکی همچون سانتریفیوژ و شست‌وشو موانع مربوطه انتخاب و جداسازی اسپرم را تا حد زیادی حذف می‌کنند اما از منظری دیگر به دلیل آسیب به دی ان ای و آپوپتوز شدن اسپرم در اثر تولید گونه‌های اکسیژن فعال [۱۸] و پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از سانتریفیوژ [۱۹]، توان عملیاتی پایینی (خصوصاً در مورد نمونه‌ها با غلظت اسپرم پایین) دارند. همچنین نسبت به فناوری میکروسیال به زمان بیشتری برای جداسازی نیاز دارند. تحقیقات نشان داده‌اند که مرحله آماده‌سازی اسپرم در یک تراشه میکروسیال قادر است ۴۰ تا ۷۰ درصد از اسپرم‌های متحرک را در ۱۵ دقیقه

از میان روش‌های جداسازی اسپرم بر روی روش‌هایی تمرکز می‌کنیم که برمبنای ویژگی تحرک اسپرم هستند زیرا تحرک اسپرم از اصلی‌ترین ویژگی‌های یک اسپرم مناسب برای لقاح است و این ویژگی کلیدی، اسپرم را قادر می‌سازد تا از موانع موجود در دستگاه تناسلی زنانه عبور کند و خود را به مقصد نهایی یعنی تخمک برساند. اسپرم‌ها در دو روش برمبنای تحرک‌شان جداسازی می‌شوند. دسته اول؛ روش‌های کلینیکی، و دسته دوم؛ روش‌های جداسازی مبتنی بر میکروسیالات.

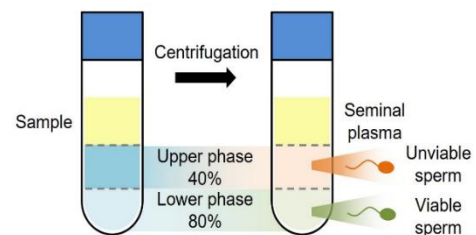
## ۱-۲. روش‌های کلینیکی

در حال حاضر دو روش در مراکز درمان ناباروری مورد استفاده قرار می‌گیرند. یک روش استفاده از روش شستشوی اسپرم و روش دیگر با استفاده از سانتریفیوژ با گرادیان چگالی است که هر دو روش، اسپرم را براساس ویژگی‌های شنا انتخاب می‌کنند. شواهد نشان داده است که این روش‌ها به‌طور بالقوه می‌توانند منجر به افزایش آسیب به دی ان ای، نرخ بازده پایین و زمان‌بر بودن، تولید گونه‌های اکسیژن فعال (به‌ویژه در روش سانتریفیوژ)، خروجی کم (به‌ویژه در

انتخاب کند اما در روش مورد استفاده کنونی نظیر سانتریفیوژ با گرادیان چگالی به ۳۰ الی ۶۰ دقیقه زمان نیاز است که در نتیجه آن نیز ۵۰ تا ۷۰ درصد از سلول‌های اسپرم زنده از دست می‌روند [۲۰].



شکل ۲. تکنیک شست‌وشوی اسپرم [۲۱]



شکل ۳. تکنیک سانتریفیوژ با گرادیان چگالی [۲۱]

## ۲-۲. روش‌های جداسازی مبتنی بر میکروسیالات

روش‌های جداسازی اسپرم مبتنی بر میکروسیال به دو دسته فعال و غیرفعال طبقه‌بندی می‌شوند. در روش‌های غیرفعال در غیاب نیروی محرک خارجی، جداسازی انجام می‌شود و دارای رویکردهای مبتنی بر هندسه و رئوتاکسی و جریان‌های سیال هستند. در مقابل آن، روش‌های فعال قرار دارند که اسپرم‌ها براساس توانایی عبور و شنا کردن برخلاف خطوط جریان آرام و در حضور نیروهای محرک خارجی انتخاب می‌شوند [۲]. استراتژی‌های مرتب‌سازی فعال انعطاف‌پذیری را در عملیات فراهم می‌کنند [۲۲].

در یک سری از روش‌های جداسازی فعال، از ویژگی‌های رفتاری اسپرم درون دستگاه تناسلی زنانه الهام گرفته شده است همچون مکانیزم کموتاکسی و ترموتاکسی که میکروکانال‌هایی مبتنی بر این مکانیزم‌ها ارائه شده است [۲۳-۲۵]. اسپرم توسط سیتوکین‌های آزاد شده توسط تخمک جذب آن می‌شود. اسپرم‌ها قابلیت حرکت از طریق

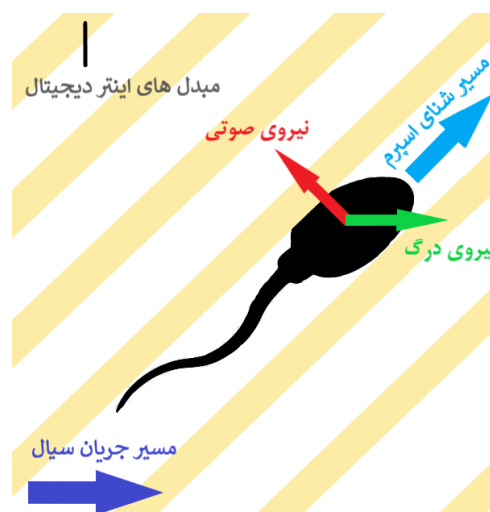
کموتاکسی را تنها در فاصله کوتاهی به سمت محل لقاح دارند و تنها ۱۰ درصد از اسپرم‌های متحرک می‌توانند از طریق کموتاکسی به سلول‌های کومولوس جذب شوند. علاوه بر کموتاکسی، ترموتاکسی نیز مکانیزمی است که اسپرم را به محل لقاح هدایت می‌کند. اسپرم به گرادیان دما پاسخ می‌دهد و تنها حدود ۵ درصد از اسپرم‌ها تمایل دارند به سمت دمای بالاتر شنا کنند. جداسازی بر مبنای این رفتارها به دلیل فراگیر نبودن میان اکثریت اسپرم‌ها، دارای بازده پایینی است. سری دیگر از روش‌های فعال شامل میدان نیروهای خارجی اعم از نوری [۲۶، ۲۷]، مغناطیسی [۲۸]، دی‌الکتروفورز [۲۹]، فلوسایتومتری [۳۰] و امواج صوتی [۳۱] است. هر یک از این روش‌ها دارای مزایایی هستند اما روش‌های مبتنی بر به‌کارگیری امواج صوتی به‌ویژه برای کاربردهای مرتب‌سازی بیولوژیکی مناسب هستند، زیرا می‌توانند کنترل فضایی دقیق ارگانیسم‌های زنده [۳۲] را بدون آسیب رساندن به غشای سلولی یا ساختار دی ان ای بین سلولی در هنگام کار با شدت کم فراهم کنند. به‌کارگیری امواج صوتی در پلتفرم‌های میکروسیال برای مرتب‌سازی با توان عملیاتی بالا ارائه شده است [۲].

## ۳. جداسازی فعال با استفاده از امواج صوتی

امواج صوتی ارتعاشات مکانیکی هستند که برای انتشار نیاز به محیط مادی دارند. یکی از روش‌های رایج برای تولید سیگنال صوتی بر اثر پیزوالکتریک تکپه دارد که انرژی سیگنال الکتریکی را به یک موج مکانیکی تبدیل می‌کند [۳۳].

برای درک مکانیزم جداسازی میکروسیال صوتی، ضروری است نیروهایی که در معرض میدان‌های صوتی در میکروکانال به اسپرم وارد می‌شود را تعریف کنیم. به اسپرم درون میکروکانال در مجاورت یک میدان صوتی دو نیروی پسا<sup>۱۲</sup> و نیروی تابش صوتی به‌ترتیب ناشی از جریان درون

میکروکانال و عملگر صوتی وارد می‌شود که در شکل ۴ قابل مشاهده است.



شکل ۴. نیروهای وارد بر اسپرم در یک میکروکانال در حضور

میدان صوتی [۲]

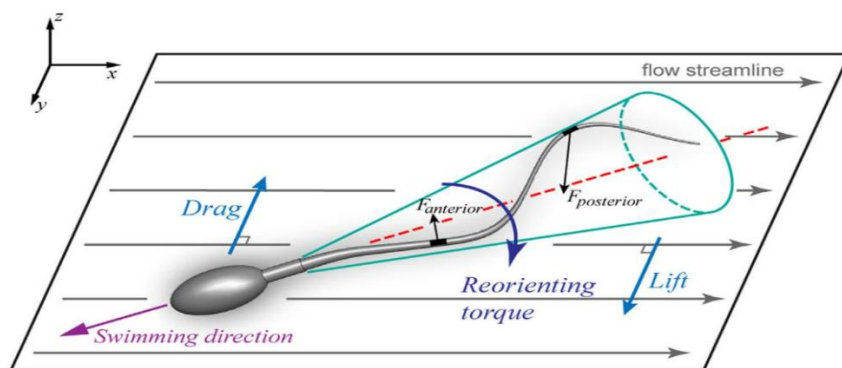
امواج صوتی به کار رفته در تراشه‌های میکروسیال را می‌توان به دو دسته امواج صوتی حجمی و امواج صوتی سطحی طبقه‌بندی کرد. امواج صوتی حجمی داخل یک ماده پیزوالکتریک واقع در نزدیکی میکروکانال به‌گونه‌ای تولید می‌شوند که با فرکانس تشدید سیال درون میکروکانال مطابقت داشته باشد و امواج صوتی را در حجم سیال تشکیل می‌دهد از سوی دیگر امواج صوتی سطحی، با استفاده از یک سری مبدل‌های جدا از هم روی یک سطح صاف تولید می‌شوند. به‌این ترتیب، امواج صوتی در داخل و روی سطح مبدل‌های پیزوالکتریک منتشر می‌شوند و در نتیجه از تحریک شدید سیال اجتناب می‌کنند [۳۴، ۳۵].

### ۳-۱. تئوری

در ابتدا درخصوص دینامیک حرکت یک اسپرم درون یک جریان سیال بحث می‌شود. رئوتاکسی اسپرم انسانی یک فرایند فیزیکی غیرفعال است که از برهم‌کنش‌های

هیدرودینامیکی بین تازک اسپرم<sup>۱۳</sup> و جریان سیال اطراف آن ناشی می‌شود [۳۶].

همان‌طور که در شکل ۵ نشان داده شده است، ضربان تازک اسپرم را می‌توان به‌صورت یک ماریپیچ مخروطی [۳۷] تقریب زد که در مواجهه با جریان سیال، اسپرم ضربان تازک اصلی خود را حفظ می‌کند. با این حال، به دلیل شکل مخروطی تازک اسپرم و تازک‌های خلفی و قدامی که در شکل ۵ مشاهده می‌شود، تازک خلفی نیروی هیدرودینامیکی قوی‌تری نسبت به قدامی دریافت می‌کند و در نتیجه آن، یک نیروی بالابر عمود بر جهت جریان ایجاد می‌شود [۳۸، ۳۹]. این نیروی بالابر توسط نیروی پسا متعادل می‌شود و گشتاوری ایجاد می‌کند که اسپرم را به سمت بالا هدایت می‌کند. اسپرم در معرض گشتاور در جهت‌گیری مجدد قرار می‌گیرد و بنابراین، رفتار رئوتاکتیکی از خود نشان می‌دهد. شکل ماریپیچ تازک اسپرم نقش اصلی را در این مکانیزم ایفا می‌کند و همچنین مبنایی برای تعیین جهت چرخش رئوتاکتیک اسپرم پس از معکوس شدن جهت جریان است [۴۰]. اسپرم‌ها دارای ساختاری غیرکروی [۲] و در اکثر موارد متحرک هستند. تحقیقات با در نظر گرفتن ساختار اسپرم به‌صورت ذرات کروی نیروی تابش صوتی را ارائه داده‌اند [۲]. امواج صوتی که در سیال منتشر می‌شوند، یک گرادیان فشار ایجاد می‌کنند که منجر به ایجاد نیروی تابش صوتی<sup>۱۴</sup> می‌شود که در شکل ۵ دیده می‌شود. نیروهای تابش صوتی با فشردن یا متمرکز کردن، بر ذرات درون سیال تأثیر می‌گذارند [۱۳] و می‌توان آنها را در دو دسته نیروهای تابش اولیه<sup>۱۵</sup> و ثانویه<sup>۱۶</sup> تقسیم‌بندی نمود که به ترتیب بر ذرات منفرد یا میان ذرات عمل می‌کنند [۴۱]. در یک موج صوتی سطحی ایستاده<sup>۱۷</sup>، که از برهم‌نهی دو موج صوتی سیار به‌وجود می‌آید، نیروهای تابش صوتی اولیه به‌طور مستقیم ذرات را به گره‌های فشار یا پاگره‌ها حرکت می‌دهند [۴۲].



شکل ۵. شماتیک جهت گیری اسپرم در معرض جریان سیال. تازک اسپرم (دم اسپرم) وسط یک ماریچ کایرال با یک پوشش مخروطی تقریب زده شده است. در جریان سیال، اسپرم با زاویه‌ای نسبت به خط جریان شنا می‌کند. کایرالیته و عدم تعادل نیروی هیدرودینامیکی بر روی تازک خلفی و قدامی، یک نیروی بالابر خالص ایجاد می‌کند که با نیروی کشش روی اسپرم مخالفت می‌کند و منجر به تغییر جهت گیری گشتاور اسپرم در بالادست می‌شود [۴۳]

عرضی. نیروی تابش صوتی محوری  $F_a$ ، که بر روی یک جسم کروی تراکم‌پذیر در یک میدان صوتی ثابت و سیال غیرلزج عمل می‌کنند. در جداسازی مبتنی بر امواج صوتی سطحی ایستاده متناسب با جهت انتشار موج ایستاده صوتی ذرات را به سمت گره یا پادگره سوق می‌دهد که به صورت زیر ارائه شده است [۴۴، ۴۶]:

$$F_a = - \left[ \frac{\pi p_0^2 V_p \beta_l}{2\lambda} \right] \varphi(\beta, \rho) \sin(2kz) \quad (3)$$

$$\varphi(\beta, \rho) = \frac{5\rho_p - 2\rho_l}{2\rho_p + \rho_l} - \frac{\beta_p}{\beta_l} \quad (4)$$

در رابطه ۳،  $\varphi$  ضریب کنتراست صوتی،  $p_0$  دامنه فشار صوتی،  $z$  فاصله محور از یک گره صوتی،  $V_p$  و  $\rho_p$  حجم و تراکم‌پذیری ذره و  $\beta_l$  تراکم‌پذیری سیال اطراف است. اندازه ذرات به دلیل تناسب حجم ذرات با نیروی تابش صوتی محوری از رابطه ۳ تأثیر زیادی بر نیروی تابش محوری دارد. علاوه بر این، تراکم‌پذیری و چگالی ذره عوامل مهمی هستند که بر جهت مؤلفه محوری تسلط دارند [۴]. ثابت شده است که وقتی یک ذره به گره فشار نزدیک می‌شود، نیروی تابش آکوستیک محوری با مرتبه دو از نیروی تابش عرضی تغییر می‌کند [۴۸]. با این حال، هنگامی که ذره به موقعیت گره فشار

نیروهای تابش صوتی ثانویه از نیروهای بین ذره‌ای استفاده می‌کنند [۴۲]. نیروی تابش اولیه در یک موج در حال حرکت به صورت زیر ارائه می‌شود [۴۴]:

$$F = 2\pi\rho_l |A|^2 (kR_p)^6 \frac{9 + 2(1 - \lambda_p)^2}{9(2 + \lambda_p)^2} \quad (1)$$

$$\lambda_p = \frac{\rho_l}{\rho_p} \quad (2)$$

که در رابطه ۱،  $A$  دامنه مختلط پتانسیل سرعت است،  $k$  عدد موج تابش صوتی است که برابر با  $\frac{2\pi}{\lambda}$  است.  $\lambda$  طول موج،  $R_p$  شعاع ذره،  $\rho_l$  و  $\rho_p$  به ترتیب چگالی سیال و ذره هستند. با استفاده از رابطه ۱ نیروی تابش صوتی مبتنی بر امواج صوتی سطحی سیار برای ذرات با اندازه‌های مختلف توسط پژوهشگران به صورت کمی تخمین زده شد [۴۵]. آنها دریافتند که ذرات بزرگتر نسبت به ذرات کوچکتر در فرکانس کاری ثابت، نیروی تابش صوتی قوی‌تری را تجربه می‌کنند و جداسازی مؤثر را ممکن می‌سازد [۴]. مطالعه نظری عمیق نیروهای تابش صوتی برای موارد مختلف را می‌توان در آثار دوینیکوف [۴۶] و برووس [۴۷] یافت.

نیروی تابش صوتی اولیه تولید شده توسط یک موج ایستاده از دو جزء تشکیل شده است، یک جزء محوری و یک جزء

می‌رسد، جزء محوری ناپدید می‌شود و جزء عرضی مقدار قابل توجهی است [۴]. مؤلفه عرضی  $F_t$  می‌تواند ذرات را به یکدیگر نزدیک کند، که مستقیماً به گرادیان انرژی صوتی  $\nabla \langle E_{ac} \rangle$  بستگی دارد.

$$F_t = 3d_p^3 \frac{\rho_p - \rho_l}{2\rho_p + \rho_l} \nabla \langle E_{ac} \rangle \quad (5)$$

اما نیروی تابش ثانویه زمانی اهمیت پیدا می‌کند که چندین ذره یا حباب نزدیک یکدیگر باشند که می‌تواند نیروی بین آنها نیروی جاذبه یا دافعه باشد [۴۹].

اگر بخواهیم به تفاوت‌هایی که در اثر نیروی تابش صوتی برای اسپرم نسبت به ذره وجود دارد اشاره کنیم می‌توان گفت از آنجایی که ساختار یک سلول اسپرم را می‌توان در سه بخش سر، قسمت میانی و دم طبقه‌بندی نمود. قسمت‌های مختلف اسپرم دارای حجم و چگالی‌های متفاوتی هستند [۲]. بدین ترتیب زمانی که در معرض میدان صوتی قرار می‌گیرند این قدرت صوتی به هر یک از بخش‌های آنها متفاوت است. عاملی که در این معادلات گنجانده نشده، اما برای درک اثر توصیف شده بسیار مهم است، سرعت صوت است [۵۰]. تغییرات چگالی و تراکم‌پذیری یک سیال، همان‌طور که در رابطه ۷ نشان داده شده است، سرعت صوت در سیال را تغییر می‌دهد.

$$v = (K\rho)^{1/2} \quad (6)$$

$$\lambda = \frac{c}{f} \quad (7)$$

در رابطه ۶،  $v$  سرعت صوت،  $K$  تراکم‌پذیری و  $\rho$  چگالی است و در رابطه ۷ داریم،  $c$  سرعت صوت،  $\lambda$  طول موج و  $f$  فرکانس. همان‌طور که در رابطه ۶ و ۷ مشاهده می‌کنیم تغییر در سرعت صوت، طول موج تولید شده توسط فرکانس اعمالی را تغییر می‌دهد [۵۰].

بنابراین، تغییرات در چگالی یا تراکم‌پذیری سیال، که بر سرعت صوت تأثیر می‌گذارد، موجب تغییرات متناظر در فرکانس اعمالی برای تولید یک موج صوتی می‌گردد. از آنجایی که شرایط تشدید به سرعت، فرکانس و طول موج

صوت و همچنین ابعاد کانال بستگی دارد. تغییر در هر یک از این پارامترها بر شرایط تشدید تأثیر می‌گذارد، که به‌نوبه خود بر دامنه فشار موج ایستاده تأثیر می‌گذارد [۵۰]. درجه تغییر دامنه فشار به ضریبی از تشدیدکننده بستگی دارد، که معیاری از نوسان یک سیستم در مقایسه با پهنای باند آن را نشان می‌دهد [۵۱]. رابطه میان دامنه و فرکانس محدوده باریکی دارد، جایی که فرکانس از فرکانس تشدید بالاتر می‌رود منجر به افزایش شدید دامنه فشار صوتی می‌شود [۵۲] که در نتیجه آن فرایند به دام انداختن سلول‌های اسپرم و کنترل آنها به‌خوبی صورت نمی‌پذیرد. بنابراین، تغییرات در شرایط تشدید به دلیل تغییر در تراکم‌پذیری یا چگالی سیال باید با تغییر فرکانس اعمال شده برطرف شود.

در نمونه‌هایی که از چند نوع ذره استفاده می‌شود و غلظت بسیار بالایی از ذرات وجود دارد همانند پژوهشی که درخصوص نمونه‌های تجاوز جنسی که در یک آزمایشگاه پزشکی قانونی خارجی انجام گردید [۵۳] فرایند به دام انداز را دچار چالش می‌کند و بر عملکرد آن تأثیر می‌گذارد. این غلظت بالای ذرات بر تراکم‌پذیری و چگالی نمونه تغییر ایجاد می‌کند در نتیجه بر شرایط تشدید تأثیر می‌گذارد، یعنی طول موج لازم و فرکانس موج تغییر می‌کند. محتوای سلولی به مایع اطراف نفوذ می‌کند و باعث افزایش لزجت می‌شود [۵۴-۵۶]. یک وابستگی تجربی بین ویسکوزیته، چگالی و تراکم‌پذیری یک مایع وجود دارد [۵۷، ۵۸] و به‌طور خاص برای کاربردهای به دام انداختن صوتی، تحقیقات نشان داده‌اند که تغییرات در لزجت سیال اطراف بر نیروی تابش صوتی اعمالی به ذرات در یک سیال تأثیر می‌گذارد [۵۹، ۶۰]. فرض می‌کنیم که تغییرات قابل توجه در چگالی و تراکم‌پذیری به دلیل ویژگی‌های نمونه بر توانایی به دام انداختن سلول‌های اسپرم تأثیر منفی می‌گذارد. اگر فرکانس صوتی اعمال شده برای هر نمونه دقیقاً تنظیم نشود منجر به از دست رفتن کارایی به دام انداختن می‌گردد و اکثر سلول‌های اسپرم ممکن است از بین بروند. یک راه حل ارائه شده این

است که پارامترهای به دام انداختن صوتی را باید با ویژگی هر نمونه تنظیم نمود. به همین منظور دستگاهی جهت ردیابی فرکانس سیستم ارائه گردید که می‌تواند به‌طور خودکار فرکانس صوتی اعمال شده را از طریق اندازه‌گیری‌های الکترونیکی، به‌سرعت تنظیم کند [۵۰].

نیروی دیگری که از طرف میکروکانال به ذراتی همچون اسپرم وارد می‌شود نیروی پسا است. از نقطه‌نظر فیزیک، جابه‌جایی اسپرم در یک محیط سیال توسط امواج صوتی از طریق تأثیر نیروهای تابش صوتی و جریان صوتی، که نیروهای پسا را القا می‌کنند، به‌دست می‌آید [۱۳]. نیروهای تابش و جریان صوتی توسط گرادیان در میدان صوتی ایجاد می‌شوند. این تغییرات به‌دلیل پدیده‌هایی مانند پراکندگی، جذب، انعکاس و میرایی ایجاد می‌شوند و هنگامی رخ می‌دهد که امواج، تداخل سیالات، ساختارهای کانال یا ذرات و سلول‌ها را تجربه کنند. نیروی پسا وارد بر یک ذره به‌صورت زیر ارائه شده است [۴]:

$$F_D = 6\pi\mu R_p v \quad (8)$$

که در رابطه  $\mu$ ،  $\lambda$  لزجت سیال،  $v$  سرعت نسبی بین سیال و ذرات و  $R_p$  شعاع ذره است.

بنابراین نتیجه می‌گیریم نیروی پسا متناسب با لزجت و سرعت نسبی بین سیال و ذرات است، درحالی‌که نیروی تابش صوتی عمدتاً به تفاوت در تراکم‌پذیری و چگالی بین ذره و محیط بستگی دارد [۶۱].

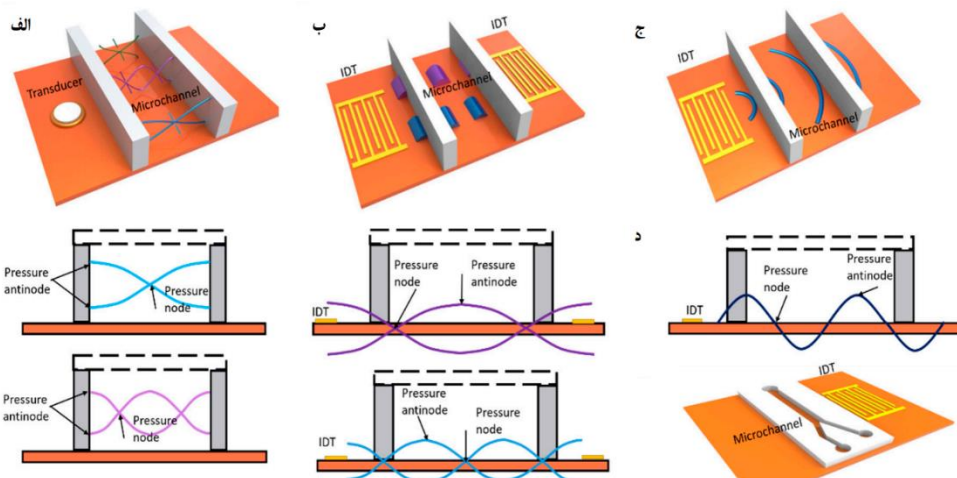
### ۲-۳. مکانیزم‌های مختلف میکروسیال صوتی

انتشار و تعامل امواج صوتی در یک دستگاه میکروسیال را می‌توان به شیوه‌ای بسیار قابل کنترل توسط برهم‌نهی موج مکانی/زمانی اعمال کرد. از این‌رو امواج صوتی را می‌توان به دو دسته تقسیم‌بندی نمود: امواج صوتی سطحی [۳۴، ۶۲] و امواج صوتی حجمی که در شکل ۶-الف آورده شده است. [۳۵]، هر دو به‌طور گسترده به‌منظور اعمال نیروی خارجی به سلول‌ها در زمینه میکروسیالات استفاده شده‌اند [۶۳].

#### ۳-۲-۱. امواج صوتی سطحی

امواج صوتی سطحی برای اولین بار توسط لرد ریلی در سال ۱۸۸۵ مورد کاوش قرار گرفتند که به امواج صوتی سطحی رینولدز نیز معروف است و به‌طور گسترده در میکروسیالات استفاده می‌شود [۶۴]. امواج صوتی سطحی، با استفاده از یک سری مبدل‌های جدا از هم روی یک سطح صاف تولید می‌شود که در شکل ۶-ب و ج آورده شده است. دو نوع امواج صوتی سطحی در میکروسیال وجود دارد: امواج صوتی سطحی ایستاده و امواج صوتی سطحی سیار. امواج صوتی سطحی سیار به‌عنوان امواج‌های صوتی تعریف می‌شوند که در یک جهت منتشر و از منابع صوتی دور می‌شوند که در شکل ۶-ج آورده شده است [۶۲].

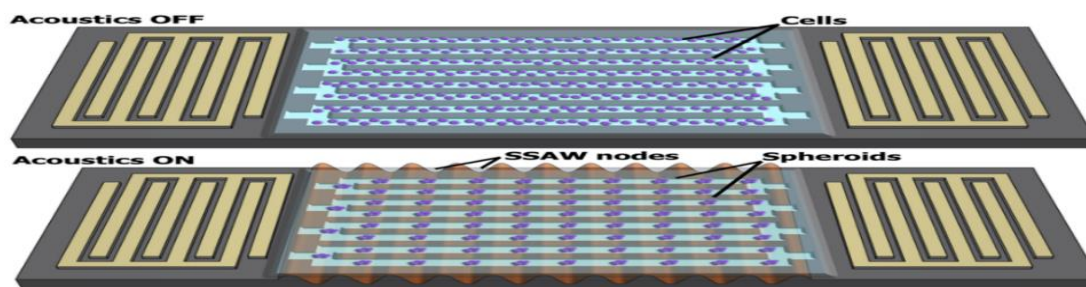




شکل ۶. الف) نمای شماتیک از انتشار امواج صوتی حجیم در یک میکرو کانال. ب) نمای شماتیک از انتشار امواج صوتی سطحی در یک میکرو کانال. ج) تصویر شماتیک از انتشار امواج صوتی سطحی سیار در یک میکرو کانال. د) نمای شماتیک یک دستگاه میکرو سیال صوتی با مدل‌های اینتردیجیتال [۴]

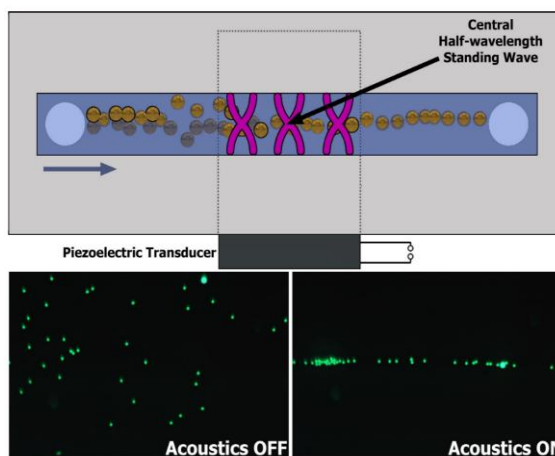
ذره با فاکتور کنتراست صوتی تعریف می‌شود. این مقدار به خواص هر دو محیط (چگالی، لزجت، سرعت صوت) و ذره (اندازه، تراکم‌پذیری) بستگی دارد. مقدار مثبت/منفی ذره (اندازه، تراکم‌پذیری) بستگی دارد. ذرات در میدان صوتی سطحی ایستاده متناسب با علامت فاکتورهای کنتراست صوتی به سمت گره‌ها یا پادگره‌ها سوق داده می‌شوند که در شکل ۷ مشاهده می‌شود [۶۵].

در اثر انتشار این امواج در محیط میکرو کانال گرادیان فشار ایجاد می‌شود. به دلیل تفاوت بین سرعت صوت در بستر جامد و سیال، امواج طولی به داخل سیال وارد می‌شوند. از تداخل امواج صوتی سطحی سیار، امواج صوتی سطحی ایستاده تشکیل می‌شود. در اثر تداخل امواج یک سری گره و پادگره تشکیل می‌شود. پادگره‌ها نقاطی روی موج ثابت با حداکثر جابه‌جایی و حداکثر فشار هستند. ذرات در گره‌ها دارای جابه‌جایی صفر و حداقل فشار هستند. خواص آکوستوفیزیکی



شکل ۷. تجمع سلولی در گره‌های فشار ناشی از امواج صوتی ایستاده [۶۱]

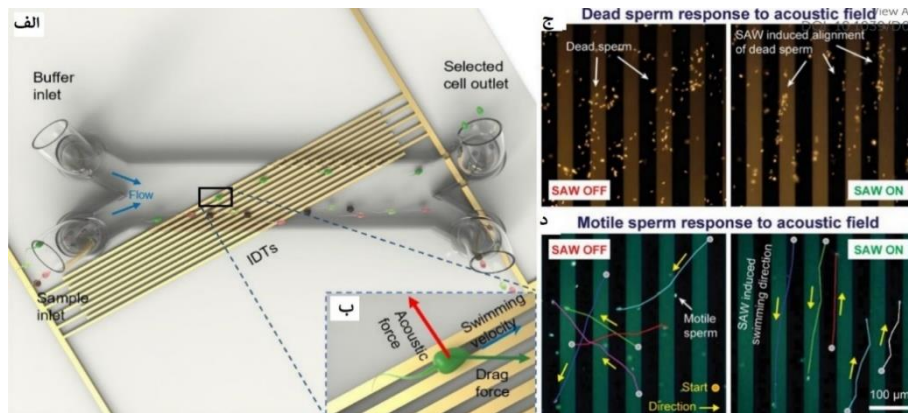
مقدار مثبت/منفی فاکتور به ترتیب نشان می‌دهد که آیا ذره به سمت گره فشار صوتی حرکت می‌کند یا از آن دور می‌شود که در شکل ۸ آورده شده است. نیروی تابش صوتی اولیه تولید شده توسط فشار مستقیم یا توسط حرکت دادن موقعیت‌های گره از طریق تغییر فاز موقعیت‌های گره از طریق تغییر فاز یا مدولاسیون فرکانس در یک میدان صوتی سطحی ایستاده استفاده می‌شود.



شکل ۸. ذرات متمرکز شده توسط یک موج ایستاده میکروسیال صوتی ذرات با مقدار ضریب کنتراست مثبت در گره فشاری که در وسط کانال تشکیل شده است متمرکز می‌شوند [۶۱]

امواج صوتی سطحی می‌تواند برای جداسازی، مرتب‌سازی، تمرکز و جابه‌جایی ذرات، سلول‌ها و اسپرم به کار رود با یک اثر در این راستا، از امواج صوتی سطحی برای جداسازی اسپرم‌های گاو نر با یکپارچگی دی ان ای بالا و مورفولوژی طبیعی براساس اندازه و میزان تحرک آنها در شرایط جریان

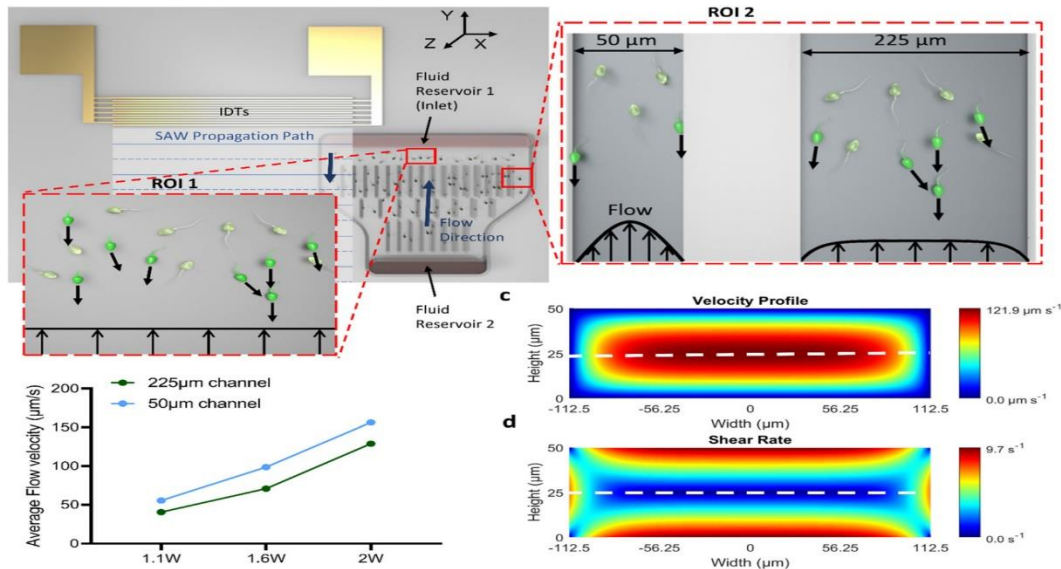
پیوسته استفاده شد [۲]. به منظور درک بهتر فرایند جداسازی اسپرم همان‌طور که در شکل ۹ مشاهده می‌شود، میدان صوتی به صورت مورب با زاویه ۳۰ درجه اعمال شده است تا سلول‌های اسپرم را از خطوط جریان منحرف نماید. در اینجا برهم‌کنش میان نیروهای ناشی از میدان صوتی و نیروی پسا منجر به دو نتیجه متفاوت شده است در حالت اول نیروی پسا بر نیروهای صوتی غلبه می‌کند و سلول‌های اسپرم در امتداد خطوط جریان به حرکت ادامه می‌دهند. در حالت دوم نیروهای صوتی به اندازه‌ای بزرگ هستند که بر نیروی پسا غلبه کرده است و سلول‌های اسپرم وارد میدان صوتی می‌شوند. از آنجایی که نیروهای صوتی در یک زاویه نسبت به جریان جهت‌گیری می‌کند، سلول‌های اسپرم در گره صوتی یا پادگره صوتی به دام می‌افتند و به سمت عرض کانال مهاجرت می‌کنند با انجام این کار، سلول وارد قسمت‌های سریع‌تر میدان جریان آرام می‌شود و نیروهای پسا را افزایش می‌دهد، تا زمانی که نیروی پسا بر نیروی صوتی غلبه کند و سلول را از میدان صوتی بیرون کشاند. زمان جداسازی با خروجی کارآمد بالینی بیش از ۶۰۰۰۰ اسپرم منتخب در هر چرخه پردازش به حدود ۵۰ دقیقه کاهش یافت. اسپرم‌های جدا شده دارای سرزندگی بالای ۵۰ درصد و تحرک پیشرونده<sup>۱۸</sup> بالای ۶۰ درصد بودند علاوه بر این، آنها یکپارچگی دی ان ای بالاتر (بیش از ۳۸ درصد) و همچنین ۶۴ درصد افزایش در سرعت شنا خود داشتند.



شکل ۹. الف) نمای شماتیک دستگاه که در آن اسپرم‌های متحرک و با مورفولوژیکی طبیعی به صورت جانبی جابه‌جا شده و از سایر سلول‌ها و باقیمانده‌ها جدا می‌شوند. ب) نیروهای صوتی بر نیروی پسا غلبه می‌کنند تا اسپرم را به صورت جانبی در عرض میکروکانال منتقل کنند. ج) توزیع تصادفی اسپرم مرده بر روی مبدل‌های دیجیتالی بدون استفاده از امواج صوتی سطحی و هم‌ترازی سلول‌ها در امتداد گره‌های فشار با استفاده از امواج صوتی سطحی د) مسیرهای شنای تصادفی و اسپرم هدایت شده به ترتیب در غیاب امواج صوتی سطحی و در حضور آن [۲]

میکرومتر بر ثانیه در میکروکانال ایجاد شد. علی‌رغم انتظار، همه اسپرم‌های متحرک در مرحله قبل (غیاب جریان) قادر به انجام حرکت پیشرونده در یک محیط جریان نبودند. و در نتیجه برخی از اسپرم‌های متحرک به واسطه نیروی پسا به پایین دست جریان حرکت کردند، این سلول‌های اسپرم به عنوان اسپرم‌هایی با تحرک ناکافی نامیده می‌شوند، درحالی که برخی از اسپرم‌های متحرک قادر بودند در حضور جریان صوتی رفتار رئوتاکتیک داشته باشند. و همچنین این پژوهش نشان داد در یک کانال ۵۰ میکرومتری، اسپرم‌های با تحرک ناکافی به میزان ۲۸ درصد بیشتر از اسپرم‌های متحرک پارامتر جابه‌جایی جانبی سر را داشتند. این نتایج بینش‌هایی را برای درک استراتژی حرکت اسپرم در رحم زن ارائه می‌دهد. جایی که اسپرم‌های رئوتاکتیک در نزدیکی مرزها شنا می‌کنند تا بر جریان در رحم غلبه کنند و به محل لقاح برسند.

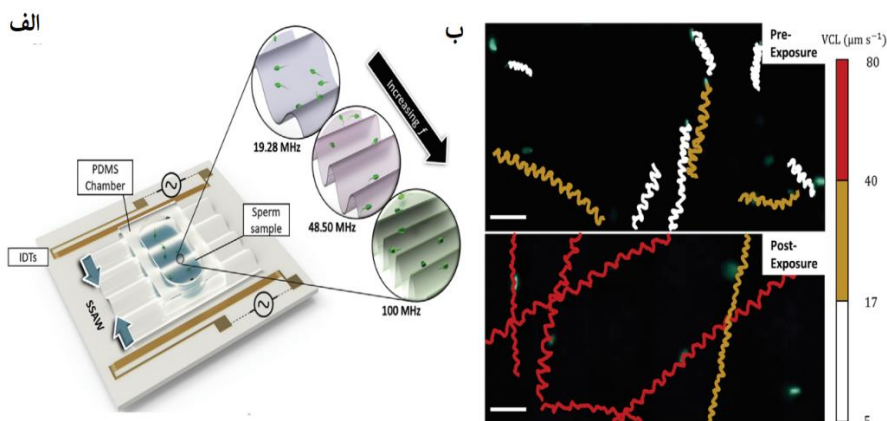
در پژوهشی دیگر میکروسیال صوتی جدیدی ارائه شد که امکان تنظیم جریان براساس تقاضا و به صورت سریع و با قابلیت کنترل و تنظیم بالا را در سرعت‌های مختلف، بدون استفاده از پمپ‌های خارجی برای کاوش رئوتاکسی اسپرم فراهم کرد که در شکل ۱۰ مشاهده می‌شود [۶۶]. برای بررسی رفتار رئوتاکسی اسپرم از میکروکانال‌های طولی با عرض‌های ۵۰ و ۲۲۵ میکرومتر (عرض‌ها از دستگاه تناسلی زن الهام گرفته شده است) استفاده شده است. با تنظیم توان صوتی و تغییر سرعت جریان از ۴۰ میکرومتر بر ثانیه به ۱۳۰ میکرومتر بر ثانیه، میانگین سرعت حرکت سر اسپرم در یک مسیر منحنی تا ۵۲ درصد افزایش یافت. در کانال با عرض ۵۰ میکرومتر در غیاب جریان، اکثر اسپرم‌ها به دلیل برهم‌کنش‌های هیدرودینامیکی با سطح، رفتار رئوتاکتیک از خود نشان دادند. اما با فعال کردن مبدل‌های اینتردیجیتال با ولتاژ ۱/۱ وات، یک میدان جریان با سرعت متوسط ۵۵



شکل ۱۰. دستگاه میکروسیال بدون پمپ صوتی برای کاوش رئوتاکسی اسپرم [۶۶]

روی ۱۹/۲۸ مگاهرتز و میزان ولتاژ ۲ وات، حداکثر مسافت طی شده توسط یک اسپرم منفرد در واحد زمان پیموده شد و سرعت حرکت سر اسپرم در یک مسیر منحنی ۳۴٪ افزایش یافت. این افزایش سرعت حرکت سر اسپرم منجر به افزایش جابه‌جایی جانبی سر و تعداد دفعاتی که منحنی مسیر میانگین، منحنی مسیر اصلی را قطع می‌کند، مرتبط است، که این قرار گرفتن در معرض صوت بر ویژگی‌های اساسی رفتار ضربان اسپرم تأثیر می‌گذارد. قابل توجه است که اگر قرارگیری در معرض امواج صوتی بیش از حد طولانی باشد ممکن است به دلیل تنش‌های مکانیکی ناشی از آن ماهیتی مضر پیدا کند. تنش‌های بیش از حد باعث افزایش نفوذپذیری غشای میتوکندری شده و تولید آدنوزین تری فسفات را مختل می‌کند و در نتیجه تحرک اسپرم را به خطر می‌اندازد. این رویکرد تغییر قابل توجه‌ای در زنده ماندن سلول یا شاخص آسیب به دی ان ای ایجاد نکرده است.

همان‌طور که در قسمت‌های قبل اشاره شد استفاده از روش لقاح آزمایشگاهی نیازمند به اسپرم متحرک است. درخصوص بیمارانی که دارای آستنوزواسپرمی هستند و اسپرم‌های آنها کم تحرک یا بی‌تحرک هستند، میکروسیال صوتی به میان آمده است، در همین راستا یک پلتفرم میکروسیال صوتی [۶۷] برای بررسی اثرات موج صوتی بر سلول‌های اسپرم ارائه شده است که در شکل ۱۱ مشاهده می‌شود که در نتیجه آن سرعت حرکت سر اسپرم در یک مسیر منحنی، که یکی از پارامترهای آنالیز اسپرم است، ۳۴٪ افزایش یافت، میزان خطی بودن مسیر حرکت اسپرم ۱۰٪ افزایش و ۳۲٪ به تعداد سلول‌های اسپرم متحرک پس از ۲۰ ثانیه در معرض امواج فراصوتی افزوده شد. این دستگاه از یک محفظه میکروسیال پی دی ام اس<sup>۱۹</sup> در مجاورت امواج صوتی سطحی ایستاده تشکیل شده است که دارای یک جفت مبدل اینتردیجیتال تحت اثر یک میدان الکتریکی متناوب است و برای تولید امواج در امتداد یک بستر استفاده شد و با تنظیم فرکانس بر

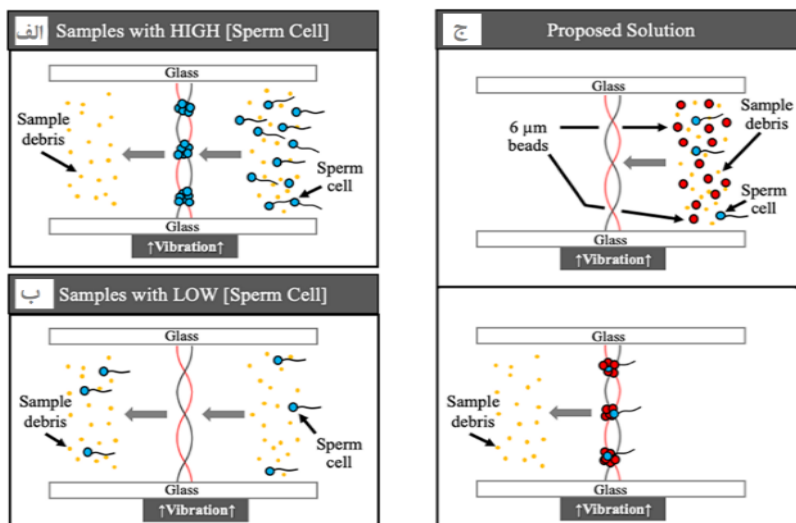


شکل ۱۱. افزایش تحرک اسپرم در مجاورت امواج فراصوتی الف) مبدل‌های اینتردیجیتال برای تولید امواج صوتی سطحی ایستاده در محفظه حاوی نمونه اسپرم ب) مسافت طی شده توسط یک اسپرم منفرد قبل و بعد از قرار گرفتن در معرض امواج فراصوتی در مدت زمان ۴ ثانیه فلش‌های قرمز رنگ، سلول اسپرم ردیابی شده را مشخص می‌کند [۶۷]

شکل ۱۲-الف نشان داده شده است، هنگامی که غلظت سلول‌های اسپرم به اندازه کافی باشد، اسپرم‌ها در گره‌های صوتی به دام می‌افتند اما زمانی که غلظت اسپرم‌های موجود در نمونه کم باشد سلول‌های اسپرم در گره‌های صوتی به دام نمی‌افتند که در شکل ۱۲-ب نشان داده شده است. به همین سبب با افزودن دانه‌های پلی استایرن هم‌اندازه با اسپرم‌ها به تجمع مؤثر دانه‌ها و اسپرم‌ها جهت به دام انداختن اسپرم در نمونه‌هایی با غلظت پایین اسپرم کمک می‌کند که در شکل ۱۲-ج مشاهده می‌شود. این روش همچنین کارایی جداسازی اسپرم را از ۱۸ به ۸۵ درصد افزایش داد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که استراتژی جداسازی صوتی در یک دستگاه میکروسیال مزایای متعددی را ارائه می‌دهد، مانند جداسازی مقادیر کمی از اسپرم از مخلوطی از دی ان ای و سلول‌های اپیتلیال در یک بازه زمانی بسیار کوتاه. علاوه بر این، حذف چندین مرحله شستشو و ساترفیوژ، همراه با جداسازی فیزیکی اسپرم از سواب واژینال، این استراتژی را به روشی امیدوارکننده و دقیق در تحقیقات تجاوز جنسی تبدیل کرده است [۵۳].

### ۳-۲-۲. امواج صوتی حجمی

امواج صوتی حجمی به صورت امواج فشاری از یک ماده پیزوالکتریک واقع در نزدیکی میکروکانال به گونه‌ای تولید می‌شوند که با فرکانس تشدید سیال درون میکروکانال مطابقت داشته باشد و امواج صوتی را در حجم سیال تشکیل دهد در شکل ۱۲-الف نشان داده شده است. امواج صوتی حجمی در محدوده فرکانس‌های از ۰/۱ تا ۱۰ مگاهرتز عمل می‌کنند که باعث انتقال انرژی کمتری به نمونه‌های بیولوژیکی می‌شود. بنابراین توجه بسیاری از محققین را برای اهدافی مانند جداسازی سلول‌های اسپرم از نمونه‌های دی ان ای زنانه، به ویژه برای تحقیقات پزشکی قانونی در خصوص تجاوز جنسی به خود جلب کرده است [۵۳]. به کمک یک استراتژی جدید با اضافه کردن دانه‌های پلیمری جمع‌آور اسپرم در ۱۵ دقیقه با استفاده از یک پلتفرم میکروسیال صوتی انجام شد. در این روش، به دلیل توزیع فشار ایجاد شده توسط تشدید موج صوتی ورودی و بازتابی، یک گره صوتی تشکیل می‌شود. گره صوتی ناحیه‌ای با فشار صفر را نشان می‌دهد. از این رو، ذرات بیولوژیکی یا سلول‌های به دام افتاده در این حفره آسیب نمی‌بینند. همان‌طور که در



شکل ۱۲. نمای شماتیک دستگاه مرتب‌سازی اسپرم میکروسیالی مبتنی بر امواج صوتی حجمی: (الف) اسپرم‌های متحرک از یک نمونه اسپرم با غلظت بالا در گره صوتی به دام افتاده‌اند، (ب) در یک نمونه اسپرم با غلظت کم هیچ به دام انداختن رخ نمی‌دهد، (ج) محلول پیشنهادی دانه‌های پلیمری (با اندازه مشابه با اسپرم‌های مورفولوژیکی طبیعی) کارایی به دام انداختن اسپرم را در یک نمونه اسپرم با غلظت پایین افزایش می‌دهد [۵۳]

### ۳-۲-۳. مقایسه امواج صوتی سطحی و حجمی

برخلاف امواج صوتی سطحی که در امتداد سطح پخش می‌شوند، امواج صوتی حجمی در حجم میکروکانال منتشر می‌شوند. به همین علت، دستگاه‌های میکروسیالی مبتنی بر امواج صوتی حجمی به‌طور کلی به انرژی بیشتری نسبت به دستگاه‌های میکروسیالی مبتنی بر امواج صوتی سطحی برای دستیابی به اثرات صوتی مشابه نیاز دارند [۲۳، ۲۵]. امواج صوتی حجمی در مقایسه با امواج صوتی سطحی در محدوده باریک‌تری از فرکانس‌ها (از ۰/۱ تا ۱۰ مگاهرتز) عمل می‌کنند و در آخر نیز از آنجایی که امواج صوتی حجمی در مقایسه با امواج صوتی سطحی دارای طول موج بیشتری هستند، می‌توان از آنها برای جابه‌جایی ذرات بزرگتر استفاده کرد.

### ۴. نتیجه‌گیری و چشم‌انداز آینده

در این مقاله روش‌های جداسازی کلینیکی اسپرم ارائه و لزوم جستجوی روش‌های بهتر جهت جداسازی اسپرم بیان شد. بدین ترتیب به انواع روش‌های جداسازی برمبنای اصلی‌ترین

ویژگی اسپرم‌ها در طول لقاح یعنی تحرک آنها پرداخته شده است. روش میکروسیالی صوتی به دلیل کنترل فضایی دقیق، زیست‌سازگاری بالای میکروسیالی‌های صوتی، غیرتهاجمی بودن در هنگام کار با شدت پایین و در نتیجه عدم آسیب رساندن به غشای سلولی یا ساختار دی‌ان‌ای ارگانسیم‌های زنده، حائز اهمیت است. این درحالی است که در ابتدا اشاره می‌شد که نیروهای صوتی می‌توانند برای سلول‌ها، مضر باشند و بر قابلیت حیات، تکثیر یا عملکرد سلول از طریق تغییرات فونوتیبی یا حتی ژنوتیبی تأثیر بگذارند اما مطالعات بیشتر این ادعاها را رد کرد [۶۱] و در ادامه انواع مکانیزم‌های جداسازی میکروسیالی‌های صوتی اعم از سطحی و حجمی، و تفاوت میان آنها بیان شد. با مروری بر نحوه تغییرات نیروی تابش صوتی و نیروی پسا بر روی سلول‌های اسپرم، جداسازی برمبنای خواص فیزیکی مختلف (اندازه، چگالی و تراکم‌پذیری) برای سلول اسپرم بیان شده است. مقایسه روش جداسازی به روش امواج صوتی سطحی و حجمی به همراه مزایا و معایب آن در جدول ۱ آورده شده است. میکروسیالی صوتی را می‌توان به راحتی با سایر طرح‌های

میکروسیال برای بهبود عملکرد و کنترل پذیری ادغام کرد. بنابراین با استفاده از مکانیزم‌های حرکت اسپرم درون رحم زن همچون رئوتاکی، کموتاکی و ترموتاکی می‌توان کنترل پذیری سلول اسپرم را افزایش داد زیرا استفاده از این مکانیزم‌ها درک مناسبی از روند حرکت اسپرم‌های متحرک درون میکروکانال را می‌دهند و کنترل آنها درون میکروکانال دقیق‌تر و راحت‌تر خواهد شد. کنترل دقیق‌تر اسپرم، محققین را قادر می‌سازد تا با ورود به مراحل دیگری از فرایند لقاح مصنوعی، منجر به ایجاد طرح‌های آزمایشگاه بر روی یک تراشه شوند و با امکان کنترل ذرات در شش درجه آزادی، تا رساندن اسپرم به مقصد نهایی خود آن را هدایت کنند. این ادغام علاوه بر کنترل پذیری بالا در مواردی که با مکانیزم رئوتاکی ادغام شده است خالص‌سازی خوبی نیز داشته است به دلیل آنکه تنها اسپرم‌هایی بسیار متحرک هستند که در مجاورت جریان صوتی همچنان از خود رفتار رئوتاکیک

نشان می‌دهند. و این‌گونه تفاوت میان اسپرم‌های بسیار متحرک و متحرک با تحرک ناکافی نیز مشخص می‌شود. لازم به ذکر است فناوری میکروسیال صوتی علی‌رغم مزایایی که دارد اما با یک سری چالش‌ها روبه‌رو است که برخی از این چالش‌ها عبارتند از نیازمند بودن به اجزای خارجی همچون منبع تغذیه، تقویت‌کننده‌های ولتاژ، پمپ‌های سرنگ و همچنین مراحل بسیار حساس ساخت (همچون عملیات لیتوگرافی)، فراهم کردن اتاق تمیز، پایین بودن توان عملیاتی دستگاه‌های جداسازی میکروسیال صوتی تک کاناله، همچنین اگرچه روش‌های فعلی ممکن است کنترل عالی جابه‌جایی ذره را ارائه دهند، اما در کنترل ذره در راستای محور Z با چالش مواجه هستند. در نهایت یکی دیگر از محدودیت‌های احتمالی، چالش هزینه‌ای در تولید انبوه مواد مورد نیاز برای ساخت میکروسیال‌های صوتی است.

جدول ۱. مروری بر نتایج تحقیقات انجام شده در زمینه جداسازی با استفاده از امواج صوتی و فواید و معایب آنها.

منابع	فواید	معایب	نتایج	آماده‌سازی اسپرم با میکروسیال صوتی
[۲]	- کنترل دقیق اسپرم	- تهاجمی بودن - نیازمند بودن به اجزای خارجی	- توان عملیاتی برابر با ۶۰,۰۰۰ اسپرم در هر سیکل بود. - میزان حرکت پیشرونده اسپرم ۶۰٪ بهبود یافت. - یکپارچگی دی ان ای، بیش از ۳۸٪ افزایش یافت. - سرعت شنای اسپرم‌ها ۶۴٪ افزوده شد. - سرزندگی اسپرم‌ها ۵۰٪ بهبود بخشید. - مدت زمان فرایند ۵۰ دقیقه اعلام شد.	
[۶۷]	- ثابت ماندن یکپارچگی دی ان ای در طول فرایند - مناسب برای باروری بیماران آستروزواسپرمی	- نیازمند بودن به اجزای خارجی	- سرعت حرکت سر اسپرم در یک مسیر منحنی ۳۴٪ افزایش یافت. - میزان خطی بودن مسیر حرکت اسپرم ۱۰٪ افزایش یافت. - تعداد سلول‌های اسپرم متحرک پس از ۲۰ ثانیه، ۳۲٪ افزوده شد.	امواج صوتی سطحی
[۶۶]	- قابلیت کنترل و تنظیم بالا در سرعت‌های مختلف - عدم استفاده از پمپ‌های خارجی - عدم تماس مستقیم اسپرم‌ها با امواج صوتی	- نیازمند بودن به اجزای خارجی	- با تغییر سرعت جریان از ۴۰ میکرومتر بر ثانیه به ۱۳۰ میکرومتر بر ثانیه، میانگین سرعت حرکت سر اسپرم در یک مسیر منحنی تا ۵۲ درصد افزایش یافت. - در یک کانال ۵۰ میکرومتری، اسپرم‌های با تحرک ناکافی به میزان ۲۸ درصد بیشتر از اسپرم‌های با تحرک کافی جابه‌جایی جانبی سر داشتند.	
[۵۳]	- جداسازی تعدادی سلول اسپرم از دی ان ای زن	- تهاجمی بودن	- جداسازی با بازده ۸۵٪ انجام شده است. - مدت زمان جداسازی ۱۰ دقیقه اعلام شد.	امواج صوتی حجمی

- [1] Vander Borcht, Mélodie, and Christine Wyns, "Fertility and infertility: Definition and epidemiology", *Clinical biochemistry*, 2018, Vol.62, pp.2-10.
- [2] Gai, Junyang, Reza Nosrati, and Adrian Neild, "High DNA integrity sperm selection using surface acoustic waves", *Lab on a Chip*, 2020, Vol.20, no.22, pp.4262-4272.
- [3] Swain, J. E., D. Lai, S. Takayama, and G. D. Smith, "Thinking big by thinking small: application of microfluidic technology to improve ART", *Lab on a Chip*, 2013, Vol.13, no.7, pp.1213-1224.
- [4] Gao, Yuan, Mengren Wu, Yang Lin, and Jie Xu, "Acoustic microfluidic separation techniques and bioapplications: A review", *Micromachines*, 2020, Vol.11, no.10, p.921.
- [5] Huang, Junjie, Hanxu Chen, Ning Li, and Yuanjin Zhao, "Emerging microfluidic technologies for sperm sorting", *Engineered Regeneration*, 2023.
- [6] Vaughan, Denis A., and Denny Sakkas, "Sperm selection methods in the 21st century", *Biology of reproduction*, 2019, Vol.101, no.6, pp.1076-1082.
- [7] Sidelman, Noam, Moshik Cohen, Anke Kolbe, Zeev Zalevsky, Andreas Herrman, and Shachar Richter, "Rapid particle patterning in surface deposited micro-droplets of low ionic content via low-voltage electrochemistry and electrokinetics", *Scientific Reports*, 2015, Vol.5, no.1, p.13095.
- [8] Lewpiriyawong, Nuttawut, Chun Yang, and Yee Cheong Lam, "Continuous sorting and separation of microparticles by size using AC dielectrophoresis in a PDMS microfluidic device with 3-D conducting PDMS composite electrodes", *Electrophoresis*, 2010, Vol.31, no.15, pp.2622-2631.
- [9] Lebel, Paul, Aakash Basu, Florian C. Oberstrass, Elsa M. Tretter, and Zev Bryant, "Gold rotor bead tracking for high-speed measurements of DNA twist, torque and extension", *Nature methods*, 2014, Vol.11, no.4, pp.456-462.
- [10] Fan, Xudong, and Ian M. White, "Optofluidic microsystems for chemical and biological analysis", *Nature photonics*, 2011, Vol.5, no.10, pp.591-597.
- [11] Wang, Kai, Ethan Schonbrun, Paul Steinvurzel, and Kenneth B. Crozier, "Trapping and rotating nanoparticles using a plasmonic nano-tweezer with an integrated heat sink", *Nature communications*, 2011, Vol.2, no.1, p.469.
- [12] Kessler, John O., "Hydrodynamic focusing of motile algal cells". *Nature*, 1985, Vol.313, no.5999, pp.218-220.
- [13] Zhang, Peiran, Hunter Bachman, Adem Ozcelik, and Tony Jun Huang, "Acoustic microfluidics", *Annual Review of Analytical Chemistry*, 2020, Vol.13, pp.17-43.
- [14] Agarwal, Ashok, Manesh Kumar Panner Selvam, Saradha Baskaran, Renata Finelli, Kristian Leisegang, Cătălina Barbăroșie, Peter Natesan Pushparaj et al., "A scientometric analysis of research publications on male infertility and assisted reproductive technology", *Andrologia*, 2021, Vol.53, no.1, p.e13842.
- [15] Schultz, Richard M., and Carmen J. Williams, "The science of ART", *Science*, 2002, Vol.296, no.5576, pp.188-2190.
- [16] Fang, Yu, Ruige Wu, Joo Mong Lee, Ling Hou Melinda Chan, and Kok Yen Jerry Chan, "Microfluidic in-vitro fertilization technologies: Transforming the future of human reproduction", *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2023, p.116959.
- [17] Henkel, Ralf R., and Wolf-Bernhard Schill, "Sperm preparation for ART", *Reproductive biology and endocrinology*, 2003, Vol.1, no.1, pp.1-22.
- [18] Aitken, R. John, and Jane S. Clarkson, "Significance of reactive oxygen species and antioxidants in defining the efficacy of sperm preparation techniques", *Journal of andrology*, 1988, Vol.9, no.6, pp.367-376.



- [19] Centola, Grace M., Rita Herko, Evelyn Andolina, and Stephen Weisensel, "Comparison of sperm separation methods: effect on recovery, motility, motion parameters, and hyperactivation", *Fertility and sterility*, 1998, Vol.70, no.6, pp.1173-1175.
- [20] Jafek, Alex, Haidong Feng, Dallin Broberg, Bruce Gale, Raheel Samuel, Kenneth Aston, and Timothy Jenkins, "Optimization of Dean flow microfluidic chip for sperm preparation for intrauterine insemination", *Microfluidics and Nanofluidics*, 2020, Vol.24, pp.1-9.
- [21] Xiao, Sa, "Sperm motion in viscous environments with applications in microfluidics-based selection", PhD diss., University of Toronto (Canada), 2023.
- [22] Nosrati, Reza, Max M. Gong, Maria C. San Gabriel, Armand Zini, and David Sinton, "based sperm DNA integrity analysis", 2016.
- [23] Zaferani, Meisam, Soon Hon Cheong, and Alireza Abbaspourrad, "Rheotaxis-based separation of sperm with progressive motility using a microfluidic corral system", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2018, Vol.115, no.33, pp.8272-8277.
- [24] Pérez-Cerezales, Serafín, Ricardo Laguna-Barraza, Alejandro Chacón de Castro, María Jesús Sánchez-Calabuig, Esther Cano-Oliva, Francisco Javier de Castro-Pita, Luis Montoro-Buils, Eva Pericuesta, Raúl Fernández-González, and Alfonso Gutiérrez-Adán, "Sperm selection by thermotaxis improves ICSI outcome in mice", *Scientific Reports*, 2018, Vol.8, no.1, p.2902.
- [25] Paredes Osorio, Bruno Joaquin, "Evaluation of Current Methods of Sperm Processing for In-Vitro Production of Embryos in Horses", PhD diss., University of Guelph, 2023.
- [26] Landenberger, Benjamin, Henning Höfemann, Simon Wadle, and Alexander Rohrbach, "Microfluidic sorting of arbitrary cells with dynamic optical tweezers", *Lab on a Chip*, 2012, Vol.12, no.17, pp.3177-3183.
- [27] MacDonald, Michael P., Gabriel C. Spalding, and Kishan Dholakia, "Microfluidic sorting in an optical lattice", *Nature*, 2003, Vol.426, no.6965, pp.421-424.
- [28] Xia, Nan, Tom P. Hunt, Brian T. Mayers, Eben Alsberg, George M. Whitesides, Robert M. Westervelt, and Donald E. Ingber, "Combined microfluidic-micromagnetic separation of living cells in continuous flow", *Biomedical microdevices*, 2008, Vol.8, pp.299-308.
- [29] Gascoyne, Peter RC, and Jody Vykoukal, "Particle separation by dielectrophoresis", *Electrophoresis*, 2002, Vol.23, no.13, p.1973.
- [30] Huh, Dongeun, Wei Gu, Yoko Kamotani, James B. Grotberg, and Shuichi Takayama, "Microfluidics for flow cytometric analysis of cells and particles", *Physiological measurement*, 2005, Vol.26, no.3, p.R73.
- [31] Haake, Albrecht, Adrian Neild, Deok-Ho Kim, Jong-Eun Ihm, Yu Sun, Jürg Dual, and Byeong-Kwon Ju, "Manipulation of cells using an ultrasonic pressure field", *Ultrasound in medicine & biology*, 2005, Vol.31, no.6, pp.857-864.
- [32] Devendran, Citsabehsan, James Carthew, Jessica E. Frith, and Adrian Neild, "Cell adhesion, morphology, and metabolism variation via acoustic exposure within microfluidic cell handling systems", *Advanced Science*, 2019, Vol.6, no.24, p.1902326.
- [33] Friend, James, and Leslie Y. Yeo, "Microscale acoustofluidics: Microfluidics driven via acoustics and ultrasonics", *Reviews of Modern Physics*, 2011, Vol.83, no.2, p.647.
- [34] Lin, Sz-Chin Steven, Xiaole Mao, and Tony Jun Huang, "Surface acoustic wave (SAW) acoustophoresis: now and beyond", *Lab on a Chip*, 2012, Vol.12, no.16, p.2766-2770.
- [35] Neild, Adrian, Stefano Oberti, and Jürg Dual, "Design, modeling and characterization of microfluidic devices for ultrasonic manipulation", *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2007, Vol.121, no.2, pp.452-461.

- [36] Zhang, Zhuoran, Jun Liu, Jim Meriano, Changhai Ru, Shaorong Xie, Jun Luo, and Yu Sun, "Human sperm rheotaxis: a passive physical process", *Scientific reports*, 2016, Vol.6, no.1, p.23553.
- [37] Kantsler, Vasily, Jörn Dunkel, Martyn Blayney, and Raymond E. Goldstein, "Rheotaxis facilitates upstream navigation of mammalian sperm cells", *Elife*, 2014, Vol.3, p.e02403.
- [38] Miki, Kiyoshi, and David E. Clapham, "Rheotaxis guides mammalian sperm", *Current Biology*, 2013, Vol.23, no.6, pp.443-452.
- [39] Marcos, Henry C. Fu, Thomas R. Powers, and Roman Stocker, "Bacterial rheotaxis", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2012, Vol.109, no.13, pp.4780-4785.
- [40] Bukatin, Anton, Igor Kukhtevich, Norbert Stoop, Jörn Dunkel, and Vasily Kantsler, "Bimodal rheotactic behavior reflects flagellar beat asymmetry in human sperm cells", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2015, Vol.112, no.52, pp.15904-15909.
- [41] Hahn, Philipp, Ivo Leibacher, Thierry Baasch, and Jurg Dual, "Numerical simulation of acoustofluidic manipulation by radiation forces and acoustic streaming for complex particles", *Lab on a Chip*, 2015, Vol.15, no.22, pp.4302-4313.
- [42] Shi, Jinjie, Hua Huang, Zak Stratton, Yiping Huang, and Tony Jun Huang, "Continuous particle separation in a microfluidic channel via standing surface acoustic waves (SSAW)", *Lab on a Chip*, 2009, Vol.9, no.23, pp.3354-3359.
- [43] Zhang, Zhuoran, Jun Liu, Jim Meriano, Changhai Ru, Shaorong Xie, Jun Luo, and Yu Sun, "Human sperm rheotaxis: a passive physical process", *Scientific reports*, 2016, Vol.6, no.1, p.23553.
- [44] King, Louis Vessot, "On the acoustic radiation pressure on spheres", *Proceedings of the Royal Society of London. Series A-Mathematical and Physical Sciences*, 1934, Vol.147, no.861, pp.212-240.
- [45] Tan, Ming K., Ricky Tjeung, Hannah Ervin, Leslie Y. Yeo, and James Friend, "Double aperture focusing transducer for controlling microparticle motions in trapezoidal microchannels with surface acoustic waves", *Applied Physics Letters*, 2009, Vol.95, no.13.
- [46] Doinikov, Alexander A., "Theory of acoustic radiation pressure for actual fluids", *Physical Review E*, 1996, Vol.54, no.6, p.6297.
- [47] Bruus, Henrik, "Acoustofluidics 7: The acoustic radiation force on small particles", *Lab on a Chip*, 2012, Vol.12, no.6, pp.1014-1021.
- [48] Woodside, Steven M., Bruce D. Bowen, and James M. Piret, "Measurement of ultrasonic forces for particle-liquid separations", *AIChE journal*, 1997, Vol.43, no.7, pp.1727-1736.
- [49] Saeidi, Davood, Mohsen Saghafian, Shaghayegh Haghjooy Javanmard, and Martin Wiklund, "A quantitative study of the secondary acoustic radiation force on biological cells during acoustophoresis", *Micromachines*, 2020, Vol.11, no.2, p.152.
- [50] Clark, Charles P., Vahid Farmehini, Liam Spiers, M. Shane Woolf, Nathan S. Swami, and James P. Landers, "Real time electronic feedback for improved acoustic trapping of micron-scale particles", *Micromachines*, 2019, Vol.10, no.7, p.489.
- [51] Bruus, Henrik, "Acoustofluidics 2: Perturbation theory and ultrasound resonance modes", *Lab on a Chip*, 2012, Vol.12, no.1, pp.20-28.
- [52] Kupriyanov, L. Yu, ed., *Semiconductor Sensors in Physico-Chemical Studies: Translated from Russian by V. Yu. Vetrov*. Elsevier, 1996.
- [53] Xu, Kerui, Charles P. Clark, Brian L. Poe, Jenny A. Lounsbury, Johan Nilsson, Thomas Laurell, and James P. Landers, "Isolation of a low number of sperm cells from female DNA in a glass-PDMS-glass microchip via bead-assisted acoustic differential extraction", *Analytical chemistry*, 2019, Vol.91, no.3, pp.2186-2191.

- [54] Newton, Joseph M., Desmond Schofield, Joanna Vlahopoulou, and Yuhong Zhou, "Detecting cell lysis using viscosity monitoring in E. coli fermentation to prevent product loss", *Biotechnology progress*, 2016, Vol.32, no.4, pp.1069-1076.
- [55] Dhillon, Gurpreet Singh, Satinder Kaur Brar, Surinder Kaur, and Mausam Verma, "Rheological studies during submerged citric acid fermentation by *Aspergillus niger* in stirred fermentor using apple pomace ultrafiltration sludge", *Food and Bioprocess Technology*, 2013, Vol.6, pp.1240-1250.
- [56] Shimmons, Brian William, W. Y. Svrcek, and J. E. Zajic, "Cell concentration control by viscosity", *Biotechnology and Bioengineering*, 1976, Vol.18, no.12, pp.1793-1805.
- [57] Atanov, Yu A., and A. I. Berdenikov, "Relation between fluid viscosity and compressibility", *Journal of engineering physics*, 1982, Vol.43, no.2, pp.878-883.
- [58] Elert, Glenn, "The physics hypertextbook", *Found July*, 1998, 2008.
- [59] Doinikov, Alexander A., "Acoustic radiation forces: Classical theory and recent advances", *Recent Res. Dev. Acoust* 1, 2003 pp.39-67.
- [60] Sepehriahnama, Shahrokh, Fook Siong Chau, and Kian-Meng Lim, "Effects of viscosity and acoustic streaming on the interparticle radiation force between rigid spheres in a standing wave", *Physical Review E*, 2016, Vol.93, no.2, p.023307.
- [61] Novotny, Jakub, Andreas Lenshof, and Thomas Laurell, "Acoustofluidic platforms for particle manipulation", *Electrophoresis*, 2022, Vol.43, no.7-8, pp.804-818.
- [62] Destgeer, Ghulam, Kyung Heon Lee, Jin Ho Jung, Anas Alazzam, and Hyung Jin Sung, "Continuous separation of particles in a PDMS microfluidic channel via travelling surface acoustic waves (TSAW)". *Lab on a Chip*. 2013, Vol.13, no.21, pp.4210-4216.
- [63] Eisenbach, Michael, "Mammalian sperm chemotaxis and its association with capacitation", *Developmental genetics*, 1999, Vol.25, no.2, pp.87-94.
- [64] Rayleigh, Lord, "On waves propagated along the plane surface of an elastic solid", *Proceedings of the London mathematical Society*, 1885, Vol.1, no.1, pp.4-11.
- [65] Augustsson, Per, Jonas T. Karlsen, Hao-Wei Su, Henrik Bruus, and Joel Voldman, "Iso-acoustic focusing of cells for size-insensitive acousto-mechanical phenotyping", *Nature communications*, 2016, Vol.7, no.1, p.11556.
- [66] Gai, Junyang, Citsabehsan Devendran, Adrian Neild, and Reza Nosrati, "Surface acoustic wave-driven pumpless flow for sperm rheotaxis analysis", *Lab on a Chip*, 2022, Vol.22, no.22, pp.4409-4417.
- [67] Gai, Junyang, Esma Dervisevic, Citsabehsan Devendran, Victor J. Cadarso, Moira K. O'Bryan, Reza Nosrati, and Adrian Neild, "High-Frequency Ultrasound Boosts Bull and Human Sperm Motility", *Advanced Science*, 2022, Vol.9, no.11, p.2104362.

پی نوشت

- 
1. Acoustofluidic
  2. Surface Acoustic Wave
  3. Bulk Acoustic Wave
  4. IUI
  5. IVF
  6. ICSI
  7. Microfluidic
  8. Vitality
  9. Motility
  10. Morphology
  11. DNA
  12. Drag

- 
13. Sperm Flagellum
  14. Acoustic Radiation Force
  15. Primary Radiation Force
  16. Secondary Radiation Force
  17. Standing Surface Acoustic Waves
  18. Progressive Motility
  19. PDMS