جراحی زیبایی جنین آزمایشگاهی منجر به بهبود میزان لانه گزینی و بارداری در بیماران با سابقه شکست لانه گزینی می‌شود

ایمان حلوایی: دکتری، مرکز تحقیقاتی درمانی ناباروری یزد، دانشگاه شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.
***محمد علی خلیلی:** دکتری، مرکز تحقیقاتی درمانی ناباروری یزد، دانشگاه شهید صدوقی یزد، یزد، ایران (*نویسنده مسئول). khalili59@hotmail.com

تاریخ دریافت: ۹۶/۴/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۶/۶/۴

چکیده

زمینه و هدف: .

روش کار: سی چرخه تزریق درون سیتوپلاسمی اسپرم با علت ناباروری مردانه با سابقه شکست لانه‌گزینی در این مطالعه تصادفی آینده نگر به سه گروه آزمون (۱۰ چرخه)، شم (۱۰ چرخه) وکنترل (۱۰ چرخه) با شیوه اعداد تصادفی توسط کامپیوتر تقسیم شدند. جنین‌هایی با بیش از ده درصد و کمتر از ۵۰ درصد فرگمنتاسیون وارد مطالعه شدند. درگروه آزمون، فرگمنت‌ها و گرانول‌های خشن قبل از انتقال به رحم مادر از جنین خارج شدند. درگروه شم، زونا پلوسیدا در جنین به کمک لیزر باز شد و در گروه کنترل هیچ مداخله‌ای انجام نشد. میزان لانه گزینی و حاملگی بین گروه‌های مختلف با هم مقایسه شد. آنالیز داده‌های کمی بین گروه‌های مختلف توسط آزمون آنالیز واریانس یک طرفه با آزمون تعقیبی توکی و یا کوریس-کالوالیس و آنالیز داده‌های کیفی توسط آزمون کای دو انجام شد. از نرم افزار SPSS جهت آنالیز آماری استفاده شد.

یافته‌ها: تفاوت معنی‌داری از نظر سن بیمار، مدت ناباروری، سطح سرمی استرادیول، LH، FSH، نوع پروتکل تحریک تخمک گذاری بین سه گروه وجود نداشت. همچنین، تعداد تخمک به دست آمده، تخمک بالغ، تخمک‌های لقاح یافته، جنین تشکیل شده و جنین منتقل شده بین گروها یکسان بود. اختلاف معنی‌داری بین الگوی فرگمنت‌ها (موضعی یا منتشر) و اندازه بلاستومرها بین گروه‌ها دیده نشد. همچنین میزان فرگمنتاسیون بین گروه‌های آزمون، شم و کنترل اختلافی نداشت (به ترتیب ۱۴/۵±۴/۹٪، ۲۴/۶±۵/۶٪ و ۲۱/۵±۴/۳٪). اما، میزان لانه گزینی و حاملگی بالینی در گروه آزمون (به ترتیب ۳۵٪ و ۷۰٪) در مقایسه با گروه شم (به ترتیب ۱۰٪ و ۳۰/۸٪) و کنترل (به ترتیب ۰٪ و ۰٪) به طور قابل توجهی بالاتر بود ($p<0/001$).

نتیجه‌گیری: دست ورزی زیبا سازی میکروسکوپی جنین در مرحله کلیواژی منجر به بهبود میزان لانه گزینی و بارداری در بیماران با سابقه قبلی شکست لانه گزینی می‌شود.

کلیدواژه‌ها: فرگمنتاسیون جنین، شکست لانه گزینی، حاملگی

مقدمه

یکی از عوامل بسیار مهم در موفقیت روش‌های کمک باروری (Assisted Reproductive Technology: ART) کیفیت جنین تولید شده در آزمایشگاه است (۲-۱). جنین‌ها به‌طورمعمول در یک بخش جنین‌شناسی موردبررسی قرار می‌گیرند و بهترین جنین‌ها با توجه به معیارهای مورفولوژی در روز انتقال جنین جهت انتقال به رحم مادر انتخاب می‌شوند (۴-۳). اگرچه ارزیابی مورفولوژی محدودیت‌های خاصی دارد، اما همچنان غیرتهاجمی و رایج‌ترین روش برای نمره دهی به جنین می‌باشد (۶-۵). حضور خرده‌های سیتوپلاسمی (فرگمنت‌ها) در جنین یک پارامتر مهم است که نمره مورفولوژی جنین را تحت تأثیر قرار داده و میزان آن در ارتباط با زنده بودن جنین می‌باشد. فرگمنت‌ها ساختارهای سیتوپلاسمی دارای غشاء و بدون هسته هستند که بین بلاستومرها و یا بین بلاستومر و لایه زونا پلوسیدا (ZP) دیده می‌شوند که از تقسیمات سلولی ناشی می‌شوند. تقریباً برآورد شده است که حدود ۴۰ درصد از جنین‌های تولید شده در آزمایشگاه درجاتی از فرگمنتاسیون را در نخستین تقسیم خود نشان می‌دهند (۷). ازآنجاکه جنین‌های فرگمنته با نشانه‌های مورفولوژیکی آپوپتوز مرتبطند، به نظر می‌رسد که فرگمنتاسیون ممکن است ناشی از فعال شدن مرگ برنامه‌ریزی سلولی در برخی بلاستومرها باشد (۸). میزان فرگمنتاسیون به‌طورکلی به سه دسته خفیف (<۱۰٪)، متوسط (۱۰-۲۵٪)، و شدید (زمانی که بیش از ۲۵ درصد از جنین را اشغال کرده باشد)

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-01-14]

طبقه‌بندی می‌شود. تلاش‌های زیادی به‌منظور بهبود کیفیت جنین تولید شده در آزمایشگاه با استفاده از فن‌های پیشرفته مانند خارج کردن فرگمنت‌ها از جنین صورت گرفته است (۹). ازآنجاکه بهترین جنین‌ها بر اساس ویژگی‌های مورفولوژیکی خود انتخاب می‌شوند، یک سؤال مطرح می‌شود که آیا اگر یک جنین با نمره مورفولوژی پایین تبدیل به یک جنین با نمره بالا شود، نتایج ART بهبود می‌یابد یا خیر؟ به‌عبارت‌دیگر آیا زیبا کردن ظاهر جنین می‌تواند میزان حاملگی را تحت تأثیر قرار دهد یا خیر؟

در کنار فرگمنتاسیون سیتوپلاسمی که سنگ بنای تمام سیستم‌های نمره دهی مورفولوژیک جنین می‌باشد، ناهنجاری شکلی دیگر حضورگرانول های خشن اطراف بلاستومرها بوده که عمدتاً نشأت گرفته از دبریز در فضای دور زرده‌ای (PVS) قبل از شکل گیری جنین می‌باشد. مطالعات نشان داده است که منبع دبریز در PVS ممکن است سیتوپلاسمی یا سلولهای تاج (کرونا) باشد (۱۱-۱۰). علی رغم پیشرفت های زیادی که در دهه های گذشته در درمان ناباروری صورت گرفته است، ولی همچنان میزان لانه گزینی در حد پایینی است (۶). شکست لانه گزینی زمانی اطلاق می‌شود که به دنبال انتقال جنین با کیفیت بالا، لانه گزینی اتفاق نمی افتد. شکست در لانه گزینی می‌تواند به دلایل مادری یا جنینی مربوط باشد. عوامل مادری شامل ناهنجاریهای آناتومیک رحم، ترومبوفیلی، آندومتر غیر پذیرا و عوامل ایمنولوژیک می‌باشد. شکست لانه گزینی با علل جنینی به اختلالات ژنتیکی یا عوامل دیگر ذاتی جنین که منجر به کاهش توانایی جنین برای ادامه رشد در رحم، باز شدن ZP (Hatching) و یا لانه گزینی باشد بر می گردد (۱۲). اخیراً در یک گزارش مورد گزارش شد که خروج فرگمنت‌ها و گرانول های خشن از اطراف بلاستومر های جنین در مرحله تقسیم و قبل از انتقال به رحم توانسته منجر به موفقیت لا نه گزینی شود (۲). هدف این مطالعه ارزیابی اثر حذف فرگمنت‌ها وگرانول‌های خشن از PVS (جراحی زیبایی میکروسکوپی) در جنین مرحله کلیواژی بر میزان لانه گزینی و حاملگی در بیماران با سابقه شکست لانه گزینی بود.

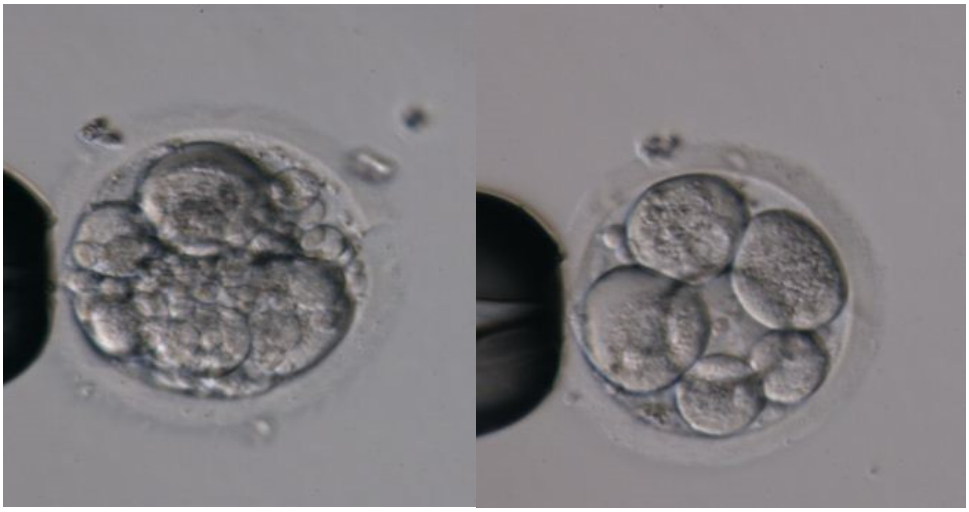
روش کار

انتخاب بیماران: سی چرخه تزریق درون سیتوپلاسمی اسپرم (ICSI) با علت ناباروری مردانه با سابقه قبلی شکست لانه گزینی در این مطالعه تصادفی آینده نگر به سه گروه آزمون (۱۰ چرخه)، شم (۱۰ چرخه) وکنترل (۱۰ چرخه) تقسیم شدند. جنین‌هایی با بیش از ده درصد و کمتر از ۵۰ درصد فرگمنتاسیون وارد مطالعه شدند. این مطالعه به تأییدکمیته اخلاق رسیده و رضایت کتبی آگاهانه از بیماران گرفته شد. حجم نمونه در این مطالعه بر اساس فرمول دو نسبت محاسبه شد. با توجه به قدرت مطالعه ۸۰٪ و افزایش ۳۰٪ در میزان حاملگی، حجم نمونه ۱۰ چرخه برای هر گروه انتخاب شد.

تحریک تخمک گذاری: تحریک بیش از حد تخمدان کنترل شده توسط تجویز Karma/Gonal F 150 IU که از روز دوم چرخه قاعدگی شروع شده بود، انجام شد. زمانی که حداقل یک فولیکول به قطر ≤ ۱۴میلی مترمی رسید، ۰/۲۵ mg آنتاگونیست GnRH (Cetrotide, Merck Serono, Germany) آغاز شد و تا زمان تزریق hCG ادامه یافت. پاسخ تخمدان توسط سونوگرافی از طریق واژن و سطح سرمی استرادیول بررسی شد. هنگامی که بیمار حداقل دو فولیکول ۱۷ میلی متر داشت، ۱۰۰۰۰ واحد HCG (Pregnyl, Organon, Netherlands) تزریق و بعد از ۳۴-۳۶ ساعت تخمک کشی تحت نظارت سونوگرافی انجام شد.

ICSI، بررسی لقاح و جنین‌ها: تزریق درون سیتوپلاسمی اسپرم طبق روشی که قبلا توضیح داده شده است، انجام شد (۱۳). ارزیابی لقاح ۱۸-۱۹ ساعت پس از تزریق تخمک ها به واسطه دیدن تخمک در زیر میکروسکوپ و تأیید حضور دو پیش هسته و دو گویچه قطبی انجام شد. در گروه آزمون پس از جراحی زیبایی، در گروه شم پس از باز کردن ZP توسط لیزر، و در گروه کنترل، مورفولوژی جنین بر اساس مطالعات قبلی

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-01-14]



شکل ۱- زیبا سازی در جنین کلیواژی. چپ: جنین روز دو با حدود ۵۰٪ فرگمنتاسیون (گرید C) قبل از انجام زیبایی میکروسکوپی، سمت راست: جنین بعد از انجام زیبایی میکروسکوپی (گرید B) (بزرگنمایی: × ۲۵۰).

(۶) با استفاده از میکروسکوپ اینورت (Nikon TE 300, Japan) موردبررسی قرار گرفت. همچنین، تعداد سلول جنین، الگوی فرگمنتاسیون، درصد فرگمنتاسیون، وضعیت هسته بلاستومر و هم اندازه بودن بلاستومرها ثبت شد. الگوی فرگمنت‌ها به دو دسته موضعی و منتشر تقسیم شد. به گونه ای که اگر فرگمنت‌ها در مجاورت یک بلاستومر بودند به صورت موضعی و اگر در مجاورت چندین بلاستومر بوده و در فضای بین بلاستومر ها پخش بودند به صورت منتشر در نظر گرفته می شدند. فرگمنتاسیون به صورت درصدی که حجم داخل ZP را اشغال کرده گزارش شد. جنین‌ها بر اساس معیار مورفولوژیک به چهارگروه تقسیم شدند: A: بلاستومرها دارای اندازه برابر و دارای کمتر از ۱۰ درصد فرگمنتاسیون. B: بلاستومرهاکمی نابرابر، دارای تا ۲۰٪ فرگمنتاسیون. C: بلاستومرها اندازه نابرابر، دارای تا ۵۰٪ فرگمنتاسیون و گرانول بزرگ. D: بلاستومرها اندازه نا برابر با فرگمنتاسیون بالا (بیش از ۵۰٪) و گرانول بزرگ سیاه.

جراحی زیبایی: این عمل بر روی جنین‌های دو روزه و در محیط کشت بدون کلسیم و منیزیم انجام شد. خارج کردن فرگمنت‌ها توسط میکروپیپت (۱۲-۱۰ میکرومتر قطر داخلی) و میکروپیپت نگهدارنده (قطرداخلی: ۱۲۰- ۱۵۰ میکرومتر) انجام شد. میکروپیپت خارج کننده فرگمنت با PVP ٪۳۰ و پس از آن روغن معدنی پر شده بود. نوک میکروپیپت پس از آن در قطره بدون کلسیم و منیزیوم شسته شد. پس از آن، جنین با پیپت نگهدارنده، نگه داشته شد و در ZP در موقعیت ساعت ۳ یک سوراخ ۱۰-۱۲ میکرومتری توسط لیزر دیود مادون قرمز با طول موج ۱۴۸۰ نانومتر به مدت دو میلی ثانیه ایجاد شد. میکروپیپت جراحی از سوراخ ZP وارد و فرگمنت‌ها به آرامی از جنین خارج شد. برای خارج کردن گرانول های خشن، میکروپیپت به آرامی به دبریز و گرانول در اطراف بلاستومرها نزدیک و آن ها به داخل پیپت آسپیره شد (شکل ۱). جنین‌ها با دقت در محیط کشت G 1-V5 شسته و در انکوباتورگاز سه گانه ۶٪ CO_2، ۵٪ O_2 و ۳۷ درجه سلسیوس تا زمان انتقال به رحم مادر بازگردانده شدند. درگروه آزمون، فرگمنت‌ها و گرانول های خشن قبل از انتقال به رحم از جنین خارج شدند. درگروه شم، لایه زونا در مجاورت فرگمنت‌ها به کمک لیزر باز شد و در گروه کنترل هیچ مداخله ای انجام نشد. لانه گزینی به عنوان حضور یک ساک حاملگی تعریف شد و به صورت درصد ساک دیده شده بر جنین منتقل شده محاسبه شد. حاملگی بالینی هفت هفته پس از انتقال جنین با تشخیص ضربان قلب جنین تعریف شد.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-01-14]

روش آماری

داده‌ها توسط (انحراف معیار±میانگین) ارایه شد. آزمون نرمالیتی برای داده ها انجام شد. آنالیز داده‌های کمی که توزیع نرمال داشتند بین گروه‌های مختلف توسط آزمون آنالیز واریانس یک طرفه با آزمون تعقیبی توکی و برای داده هایی که توزیع نرمال نداشتند از آزمون ناپارامتری کروسکال-والیس استفاده شد. آنالیز داده های کیفی نیز توسط آزمون کای دو انجام شد. از نرم افزار SPSS جهت آنالیز آماری استفاده شد. سطح معنی داری P کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

اطلاعات دموگرافیک بیماران در جدول ۱ نشان داده شده است. تفاوت معنی داری بین میانگین سن مردان، سن زنان و طول مدت ناباروری بین گروه کنترل، شم وآزمون وجود نداشت (جدول ۱). جدول ۲ مقایسه داده های بالینی بین سه گروه کنترل، شم وآزمون را نشان می دهد. داده های مطالعه نشان داد که برای اکثر بیماران از پروتکل آنتاگونیست برای تحریک کنترل شده بیش از حد تخمدان استفاده شده است. تعداد آمپول مورد استفاده برای هر بیمار تفاوت معنی داری بین سه گروه نشان نداد (p=۰/۴۷) سطح استرادیول، FSH و LH غلظت سرم زن نیز مشابه بود.

میزان اختلال اسپرم تفاوت معنی داری بین گروه های مختلف نشان نداد. همچنین تعداد تخمک آسپیره شده، تخمک بالغ، تخمک بارور شده، جنین تشکیل شده و جنین منتقل شده بین گروههای مختلف یکسان بود (p=۰/۶۷۸) (جدول ۳). اختلاف معنی داری بین میزان فرگمنتاسیون بین گروه های آزمون، شم و کنترل دیده نشد (به ترتیب ۱۴/۵±۴/۹٪، ۲۴/۶±۵/۶٪، ۲۱/۵±۴/۳٪). همچنین بین الگوی فرگمنتاسیون و اندازه بلاستومر ها نیز تفاوت معنی داری دیده نشد.

میزان لانه گزینی در گروه آزمون (۳۵٪) افزایش معنی داری در مقایسه با گروه شم (۱۰٪) و کنترل (۰٪) نشان داد (p<۰/۰۰۱). همچنین میزان حاملگی نیز در گروه آزمون (۷۰٪) نسبت به گروه شم (۳۰٪/۸) و کنترل (۰٪) به‌طور معنی داری بیشتر بود (p<۰/۰۰۱).

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به دانش ما، این اولین مطالعه در مورد

جدول ۱- مقایسه میانگین متغیرهای دموگرافیک در گروه های مختلف در بیماران با سابقه شکست لانه گزینی

متغیر	گروه ها			مقدار احتمال
	کنترل	شم	آزمون	
سن مرد	۳۵/۶±۸/۵	۳۷/۷±۶/۵	۶±۳۷/۶	۰/۸۲۴
سن زن	۲۹/۲±۵/۳	۴±۳۳/۸	۵±۳۳/۱	۰/۱۲۴
مدت ناباروری	۶/۳±۳	۷/۳±۳/۳	۷/۴±۹/۱	۰/۵۸۷

اطلاعات به عنوان انحراف معیار±میانگین ارائه شده است.

جدول ۲- مقایسه داده های بالینی بین سه گروه در بیماران با سابقه شکست لانه گزینی.

متغیر	گروه ها			مقدار احتمال
	کنترل	شم	آزمون	
پروتوکل تحریک تخمک گذاری (٪)				۰/۳۵۱
-آگونیست	۱۰	۲۰	۱۰	
-آنتاگونیست	۹۰	۸۰	۹۰	
استرادیول (pg/ml)*	۶۹۸±۱۶۰۰/۲	۲۰۶۹/۸۰۴±۱۴	۲۳۳۶/۱۰۰۲±۲/۲	۰/۱۸۸
¶*FSH(mIU/ml)	۵±۳/۶	۶/۳±۹/۳	۷/۳±۶/۶	۰/۲۴۳
¶* LH (mIU/ml	۴/۲±۴/۵	۴/۲±۷/۵	۴/۲±۵/۱	۰/۹۴۴
آمپول*	۲۷/۵±۹/۸	۳۱/۱۱±۳/۷	۷±۲۷/۳	۰/۴۷

*اطلاعات به عنوان انحراف معیار±میانگین ارائه شده است.

¶ با استفاده از آزمون Kruskal-Wallis

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-01-14]

جدول ۳- مقایسه داده های آزمایشگاهی بین گروه های مختلف در بیماران با سابقه شکست لانه گزینی.

متغیر	گروه ها			مقدار احتمال
	کنترل	شم	آزمون	
نقص اسپرمی (٪)				۰/۲۹
-تک: الیگو/آستنو/تراتو	۳۰	۳۳/۳	۱۰	
-دوتایی: الیگوآستنو/الیگوتراتو/آستنوتراتو	۲۰	۴۱/۷	۲۰	
-سه تایی: الیگوآستنوتراتو	۵۰	۲۵	۷۰	
تخمک آسپیره شده*	۸/۲±۳/۶	۹/۴±۱/۵	۱۲/۶±۷/۳	۰/۱۰۱
تخمک بالغ*¶	۷/۲±۷/۵	۷/۴±۵/۱	۱۰/۶±۷/۲	۰/۵۰۵
تخمک بارور شده*	۴/۱±۱/۶	۲±۴/۴	۵/۴±۷/۵	۰/۴
جنین تشکیل شده*	۳/۱±۶/۹	۳/۲±۴/۱	۵/۴±۲/۵	۰/۳۵۱
جنین منتقل شده*¶	۰±۲/۴	۱/۰±۸/۶	۱/۰±۸/۴	۰/۶۷۸

*اطلاعات به عنوان انحراف معیار±میانگین ارائه شده است.

¶ با استفاده از آزمون Kruskal-Wallis

تأثیر جراحی زیبایی جنینی بر روی موارد شکست لانه گزینی می‌باشد. مطالعات نشان داده که شدت و الگوی فرگمنتاسیون می‌تواند احتمال لانه گزینی جنین انسان را تحت تأثیر قرار دهد (۹). فرگمنتها می توانند به صورت پراکنده و در تماس با چند بلاستومر، یا موضعی و در تماس با یکی از بلاستومرها باشند (۱۴). مطالعات قبلی نشان داده است که جنین با فرگمنت‌های پراکنده پیش آگهی بهتری در مقایسه با جنین با فرگمنت‌های موضعی دارد (۹). اکنون روشن شده است که لانه گزینی و میزان حاملگی به دنبال انتقال جنین با میزان فرگمنتاسیون بالا (بیش از ۲۵٪) بسیار پایین است (۱, ۱۵). همچنین، تعداد کل سلول های بلاستوسیستی که از جنین‌های فرگمنته ایجاد شده بسیار پایین تر گزارش شده است (۱۶). یکی از دلایل ایجاد اختلال توسط فرگمنت‌ها حضور آنها در محور کلیواژ یا انسداد ارتباط بین سلول هاست که این ارتباط جهت ایجاد مرحله فشردگی (Compaction) ضروری می‌باشد. فرگمنت‌ها از لحاظ نظری می توانند در محل اتصال بلاستومرها تداخل ایجاد کرده و در نتیجه فرآیند فشردگی جنین را تحت تأثیر قرار دهند. خروج فرگمنت‌ها می‌تواند منجر به افزایش زنده ماندن جنین به واسطه افزایش تعداد تماس بین سلول ها و بازگرداندن ارتباط آنها شود. همچنین فرگمنت‌ها احتمال دارد منجر به از بین رفتن بلاستومر همسایه به واسطه خارج کردن سموم احتمالی شود که این کار نیز توسط خارج کردن فرگمنت‌ها جلوگیری می‌شود. تورم و از بین رفتن فرگمنت‌ها می‌تواند محیط سمی را در داخل ZP تولید کند که برای بلاستومر های همسایه مضر خواهد بود (۱۸-۱۷). مطالعه ما نیز نشان داد که خروج فرگمنت‌ها و گرانول های خشن می‌تواند در مواردی که نقص لانه گزینی اتفاق افتاده است منجر به بهبود لانه گزینی و حاملگی شود.

برخی بر این باورندکه ممکن است فرگمنت‌های بزرگ حاوی اندامک میتوکندری باشند و خروج این فرگمنت‌ها در مراحل اولیه تکوین می‌تواند جنین را از حضور چنین اندامک های مهمی در مراحل بعدی رشد محروم سازد (۹). اندازه فرگمنت‌ها در این مورد که آیا آنها دارای محتویات مهم سلولی هستند یا این که فاقد اندامک بوده و هیچ اثر بیولوژیکی ندارند، مهم به نظر می‌رسد. از سوی دیگر، حذف فرگمنت‌ها در جنین با صفر تا ۱۵٪ یا بیش از ۳۵٪ فرگمنتاسیون همراه با بهبود در نتایج بالینی بوده است (۱۸). به نظر می‌رسد در موارد فرگمنتاسیون شدید، حذف فرگمنت‌ها تنها منجر به بهبود ظاهرجنین شده وهیچ اثر سودمند دیگر در بهبود کیفیت جنین و نتایج بالینی ندارد زیرا این جنین معمولا دارای ناهنجاری های دیگری است که زنده بودن جنین را به خطر انداخته است. در یک مطالعه آینده نگر نشان داده شد که میزان تولید بلاستوسیست پس از حذف فرگمنت‌ها نسبت به گروه کنترل افزایش داشته در

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-01-14]

حالی که شاخص آپوپتوزی کاهش را نشان می داد (۱۹). گرانول های خشن در فضای دور زرده ای، یکی از ناهنجاری های مورفولوژیکی خارج سیتوپلاسمی در تخمک پستانداران است (۱۳). مطالعات فراساختاری نشان داده اندکه این ساختارها مربوط به ماتریکس خارج سلولی هستندکه شامل دانه ها و رشته های بین غشای تخمک و لایه زونا هستند، یا از بقایای زواید سلول های کرونا هستند که از طریق ZP عبور و به فضای دور زرده ای رسیده اند (۱۱-۱۰). یکی دیگر از علل پیشنهادی برای آن ها بیرون ریختن گرانولهای قشری است. ۱۵٪ تخمک های انسانی علایمی از بیرون ریختن نسبی گرانول های قشری را نشان می‌دهند (۲۰). همچنین، Miao وهمکاران نشان دادندکه تخمک های پیر نیز دچار بیرون ریختن گرانول های قشری می‌شوند (۲۱). مطالعات حیوانی نیز نشان داده اندکه گرانول های خشن همان سلول های کومولوس هستند که به دلیل غیرطبیعی بودن ساختار ZP به داخل فضای دور زرده ای آمده اند (۲۲). هنگامی که تخمک بارور می‌شود و تبدیل به جنین می‌شود، این گرانول ها در منطقه زیر زونا در کنار بلاستومرها یافت می‌شوند. کاهش میزان لانه گزینی و حاملگی به دنبال حضور این گرانول ها گزارش شده است (۲۳). یکی از هدفهای خاص در این مطالعه حذف گرانول های خشن در زیر زونا به عنوان بخشی از جراحی زیبایی میکروسکوپی جنین بود. یکی از مهم ترین دلایل شکست لانه گزینی به عوامل جنینی بر می گردد. عواملی از جمله ناهنجاری های کروموزومی جنین، اختلال در لایه زونا، اختلاف در کشت جنین می توانند در لانه گزینی موثر باشند (۱۲). مطالعات نشان داده است که در صورت انتقال جنین با کیفیت پایین، میزان لانه گزینی به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد (۲۴). استفاده از این تکنیک برای بیمارانی که جوان بوده و پیش آگهی خوبی دارند نمی‌تواند موثر باشد. اخیراً این روش برای بیماران نابارور با علت مردانه مورد استفاده قرار گرفت و نشان داده شد که اختلاف معنی داری بین گروه آزمون، شم و کنترل در نتایج روشهای کمک باروری از جمله حاملگی وجود ندارد (۲۵). اما این مطالعه نشان داد که در بیمارانی که سابقه شکست لانه گزینی دارند می‌تواند موثر باشد. استفاده از لیزر برای باز کردن ZP، کشت هم زمانی جنین با سلول های دیگر از جمله سلول های گرانولوزا و انتقال جنین در مرحله زایگوت از دیگر راه کارهای درمانی برای این بیماران است (۱۲). یکی از راه های پیشنهادی در مورد دلایل جنینی انتخاب بلاستوسیست برای انتقال در این بیماران می‌باشد. با توجه به این که در اکثر مراکز انتقال جنین در روز دو یا سه انجام می‌شود و وجود فرگمنت‌ها و گرانول های خشن می توانند منجر به جلوگیری از تشکیل ارتباطات محکم سلولی شوند که جهت فشردگی و مراحل بعدی تکوین ضروری است (۱۸). لذا خروج فرگمنت‌ها و گرانول های خشن منجر به افزایش شانس لانه گزینی می‌شود. این نکته را باید در نظر داشت که روش جراحی زیبایی جنین یک روش تهاجمی بوده و اگر درست انجام نشود می‌تواند منجر به ایجاد آسیب به جنین شود. از جمله آسیبهایی که می‌تواند به جنین وارد کند این است که می‌تواند با برخورد به بلاستومرهای سالم و مجاور فرگمنت‌ها یا مکش آنها، منجر به آسیب بلاستومرها شود. موفقیت این روش بسیار به مهارت دست وابسته است و جنین شناسان با تجربه قادر به انجام صحیح و کمتر خطر این روش هستند. همچنین صبر و حوصله در حین انجام این روش، از دیگر ویژگی‌های انجام این تکنیک می‌باشد. در راه کارهایی که برای بیماران با سابقه شکست لانه گزینی مطرح شد، این گزینه باید در آخر مطرح شود. استفاده از خصوصیات مورفوکینتیک (Time-lapse)، متابولومیکس و پروتئومیکس از این نظر که می توانند جنین با کیفیت بهتری را انتخاب نمایند می توانند از راه کارهای آینده در درمان این بیماران باشند.

جراحی زیبایی میکروسکوپی جنین منجر به بهبود میزان لانه گزینی و حاملگی در بیماران با شکست قبلی لانه گزینی می‌شود. مطالعات بیشتری نیاز هست که تأیید کند که آیا زیبا کردن جنین می‌تواند منجر به بهبود نتایج بالینی در چرخه های کمک باروری شود یا خیر. همچنین

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-01-14]

پیشنهاد می‌شود که این تکنیک در موارد دیگر از جمله چرخه های برگشت از فریز نیز انجام شود.

تقدیر و تشکر

این مقاله منتج از پایان نامه دکتری بوده است (ایمان حلوایی). از ریاست، مدیریت و پرسنل محترم پژوهشکده علوم تولید مثل و مرکز ناباروری یزد و همچنین از تمام بیمارانی که در این مطالعه شرکت کردند کمال قدردانی انجام می‌شود.

منابع

1. Khalili MA, Razavi V, Mardanian F, Esfandiari N. The predictive value of pronuclear morphology screening on embryo development and pregnancy outcome in ART cycles. Mid East Fertil Soc J. 2008;13(1):44-51.

2. Halvaei I, Khalili MA, Safari S, Esfandiari N. Ongoing Pregnancies following Cosmetic Micromanipulation of Preimplantation Embryos in Patients with Implantation Failure. Case Rep Med. 2015;2015.

3. Cummins J, Breen T, Harrison K, Shaw J, Wilson L, Hennessey J. A formula for scoring human embryo growth rates in in vitro fertilization: its value in predicting pregnancy and in comparison with visual estimates of embryo quality. J Assist Reprod Genet. 1986;3(5):284-95.

4. Mizobe Y, Oya N, Iwakiri R, Yoshida N, Sato Y, Miyoshi K, et al. Effects of early cleavage patterns of human embryos on subsequent in vitro development and implantation. Fertil Steril. 2016;106(2):348-353.

5. Racowsky C, Ohno-Machado L, Kim J, Biggers JD. Is there an advantage in scoring early embryos on more than one day? Hum Reprod. 2009;24(9):2104-13.

6. Halvaei I, Khalili MA, Razi MH, Agha-Rahimi A, Nottola SA. Impact of different embryo loading techniques on pregnancy rates in in vitro fertlization/embryo transfer cycles. J Hum Reprod Sci. 2013;6(1):65.

7. Antczak M, Van Blerkom J. Temporal and spatial aspects of fragmentation in early human embryos: possible effects on developmental competence and association with the differential elimination of regulatory proteins from polarized domains. Hum Reprod. 1999;14(2):429-47.

8. Jurisicova A, Varmuza S, Casper R. Programmed cell death and human embryo fragmentation. Mol Hum Reprod. 1996;2(2):93-8.

9. Alikani M, Cohen J, Tomkin G ,Garrisi GJ, Mack C, Scott RT. Human embryo fragmentation in vitro and its implications for pregnancy and implantation. Fertil Steril. 1999;71(5):836-42.

10. Dandekar P, Aggeler J, Talbot P. Structure, distribution and composition of the extracellular matrix of human oocytes and cumulus masses. Hum Reprod. 1992;7(3):391-8.

11. Sathananthan A. Ultrastructure of the human egg. Human Cell. 1997;10(1):21-38.

12. Simon A, Laufer N. Assessment and treatment of repeated implantation failure (RIF). J Assist Reprod Genet. 2012;29(11):1227-39.

13. Halvaei I, Khalili MA, Razi MH, Nottola SA. The effect of immature oocytes quantity on the rates of oocytes maturity and morphology, fertilization, and embryo development in ICSI cycles. J Assist Reprod Genet. 2012;29(8):803-10.

14. Alikani M, Cohen J. Patterns of cell fragmentation in the human embryo in vitro. J Assist Reprod Genet. 1995;12 (Suppl.):28s.

15. Racowsky C, Stern JE, Gibbons WE, Behr B, Pomeroy KO, Biggers JD. National collection of embryo morphology data into Society for Assisted Reproductive Technology Clinic Outcomes Reporting System: associations among day 3 cell number, fragmentation and blastomere asymmetry, and live birth rate. Fertil Steril. 2011;95(6):1985-9.

16. Hardy K, Stark J, Winston RML. Maintenance of the inner cell mass in human blastocysts from fragmented embryos. Biol Reprod. 2003;68(4):1165-9.

17. Sathananthan H, Bongso A, Ng SC, Ho J, Mok H, Ratnam S. Ultrastructure of preimplantation human embryos co-cultured with human ampullary cells. Hum Reprod. 1990;5(3):309-18.

18. Alikani M. The origins and consequences of fragmentation in mammalian eggs and embryos. In: Elder K, Cohen J, editors. Human preimplantation embryo selection. London: Informa Healthcare; 2007. p. 51–78.

19. Eftekhari-Yazdi P, Valojerdi MR, Ashtiani SK, Eslaminejad MB, Karimian L. Effect of fragment removal on blastocyst formation and quality of human embryos .Reprod BioMed Online. 2006;13(6):823-32.

20. Van Blerkom J. Occurrence and developmental consequences of aberrant cellular organization in meiotically mature human oocytes after exogenous ovarian hyperstimulation. J Electron Microsc Tech. 1990; 16(4):324-46.

21. Miao Y, Kikuchi K, Sun Q, Schatten H. Oocyte aging: cellular and molecular changes, developmental potential and reversal possibility. Hum Reprod Update. 2009;15(5):573–85.

22. Rankin T, Talbot P, Lee E, Dean J. Abnormal zonae pellucidae in mice lacking ZP1 result in early embryonic loss. Development. 1999;126(17):3847-55.

23. Farhi J, Nahum H, Weissman A, Zahalka N, Glezerman M, Levran D. Coarse granulation in the

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-01-14]

perivitelline space and IVF-ICSI outcome. J Assist Reprod Genet. 2002;19(12):545-9.

24. Coughlan C, Ledger W, Wang Q, Liu F, Demirol A, Gurgan T, et al. Recurrent implantation failure: definition and management. Reprod BioMedi Online. 2014;28(1):14-38.

25. Halvaei I, Khalili MA, Esfandiari N, Safari S, Talebi AR, Miglietta S, Nottola SA. Ultrastructure of cytoplasmic fragments in human cleavage stage embryos. J Assist Reprod Genet. 2016;33(12):1677-1684.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-01-14]

Cosmetic microsurgery improves implantation and pregnancy rates in patients with history of implantation failure

Iman Halvaei, PhD, Research and Clinical Center for Infertility, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.
***Mohammad Ali Khalili,** PhD, Research and Clinical Center for Infertility, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran (*Corresponding author). khalili59@hotmail.com

Abstract

Background: To evaluate the effect of fragment removal and coarse granulation removal from the perivitelline space (cosmetic microsurgery) on rates of implantation and pregnancy in patients with a history of implantation failure.

Methods: Thirty intracytoplasmic sperm injection cycles with etiology of male factor and history of implantation failure were included in this prospective randomized study. The patients were divided into three groups of experiment (n=10), sham (n=10) and control (n=10). Embryos with ≥10% and ≤50% were entered the study. In the experiment group, fragments and coarse granules were removed from embryos before transfer into the uterus. In the sham group, laser assisted zona hatching was performed and in the control group no intervention was done. Implantation and pregnancy rates were compared between different groups. SPSS was used for data analysis. One-way ANOVA and Kruskal-Wallis tests were used for evaluating numerical data and categorical data were compared between the groups using chi-square test.

Results: No significant differences were seen in terms of age, duration of infertility, serum estradiol, LH, FSH, ovulation induction protocol between the three groups. Also, the number of retrieved oocytes, metaphase II oocytes, fertilized oocytes, embryo formation rate and transferred embryos were similar between groups. Fragments pattern (localized or diffused), size and degree of embryo fragmentation (14.5±4.9%, 24.6±5.6% and 21.5±4.3%, in experiment, sham and control groups respectively) were similar between groups. However, the rates of implantation and clinical pregnancy in the experiment group (35% and 70%, respectively) were significantly higher compared with the sham (10% and 30.8%, respectively) and control (0% and 0%, respectively) groups ($p<0.0001$).

Conclusion: The cosmetic micromanipulation of human embryos at the cleavage stage improves rates of implantation and pregnancy in patients with previous history of failed implantation.

Keywords: Embryo fragmentation, Implantation failure, Pregnancy

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2025-01-14]