Sarem Journal of Medical Research. Volume 5, Issue 4, Winter 2021: 187-204

Implementation and Different Aspects of Preimplantation Genetic Screening (PGS): A Narrative Review

ARTICLE INFO

Article Type
Review article

Authors

Zohreh Khezripour [1*], M.Sc
Seyedeh Fatemeh Vasegh Rahimparvar[2*], MD
Azam Rahmani[2], MD
Mohammad Reza Nateghi[3], MD

[1] School of Nursing and Midwifery, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
[2] Nursing and Midwifery Care Research Center, School of Nursing and Midwifery, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
[3] Sarem Fertility & Infertility Research Center (SAFIR) & Sarem Cell Research Center (SCRC), Sarem Women's Hospital, Iran University of Medical Sciences (IUMS), Tehran, Iran.

Corresponding Author

Address: School of Nursing and Midwifery, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
Phone: 02130254061
zkhsry@gmail.com

Article History
Received: February 13, 2021
Accepted: March 10, 2021
e Published: September 09, 2021

ABSTRACT

Aneuploidy is considered to be the most common chromosomal disorder and is the most common disorder during IVF treatment. In patients with recurrent abortion that present normal karyotype, preimplantation genetic screening (PGS) has been advised for exploring the presence of aneuploidy which decline abortion rate and result to a higher rate of a healthy pregnancy and live birth. There are various debatable indications for preimplantation genetic screening; the first indication of PGS is maternal age. The genetic material biopsy steps for performing PGS is one of these three techniques; biopsy of the polar body, blastomere in the cleavage stage, and trophectoderm in the blastocyst stage. Three types of protocols are used for controlled ovarian stimulation: the long-term GnRH agonist, the GnRH antagonist protocol, and the microsimulation protocol**.** There are various techniques for genetic screening, the most recent one is the "fluorescence in situ hybridization (FISH)" technique for aneuploidy screening; other techniques include "comparative genomic hybridization (aCGH), "single nucleotide polymorphism (SNP)", "quantitative polymerase chain reaction (qPCR)", and "next-generation sequencing technology (NGS)". The aim of this study is to investigate the implementation of PGS and different aspects of this technique to improve pregnancy outcomes. With the possibility of access to assisted reproductive technology and the possibility of oocyte screening and selection of normal oocytes, it is believed that the birth rate of a normal child in couples will increase. Infertility treatment is a costly process and many couples are affected by that. But its beneficial information can help make clinical decisions, and it can be recommended to couples if it improves the outcome of pregnancy, increases the number of live births, and reduces pregnancy loss.

Keywords: Preimplantation Genetic Screening (PGS), Aneuploidy, Pregnancy Outcome, Ovarian Stimulation, Assisted Reproductive Technology (ART).

Copyright© 2021, ASP Ins. This open-access article is published under the terms of the Creative Commons Attribution-Noncommercial 4.0 International License which permits Share (copy and distribute the material in any medium or format) and Adapt (remix, transform, and build upon the material) under the Attribution-Noncommercial terms.

روند اجرا و جنبه‌های مختلف غربالگری ژنتیکی قبل از لانه گزینی: یک مقاله مروری

زهره خضری پور [۱] *، سیده فاطمه واثق رحیم پرور [۱]، اعظم رحمانی [۲]، محمدرضا ناطقی [۳]

[۱] دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
[۲] مرکز تحقیقات مراقبت های پرستاری و مامایی، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
[۳] مرکز تحقیقات باروری و ناباروری صارم، پژوهشکده سلولی و مولکولی و سلول های بنیادی صارم، بیمارستان فوق تخصصی صارم، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.

چکیده

مقدمه: غربالگری ژنتیکی قبل از لانه گزینی (PGS) می‌تواند با افزایش میزان بارداری و کاهش آنوپلوئیدی همراه بوده و به عنوان یک تکنیک تشخیصی در حوزه روش‌های کمک باروری (ART) اولویت داشته باشد. PGS اندیکاسیون‌های مختلف و قابل بحث دارد که اولین اندیکاسیون آن، بالا بودن سن مادر است. مرحله بیوپسی ماده ژنتیکی برای انجام PGS می‌تواند از یکی از سه تکنیک؛ بیوپسی ازجسم قطبی، بلاستومر در مرحله کلیواژ و یا تروفواکتودرم در مرحله بلاستوسیت به دست آید. سه پروتکل اخیر برای تحریک کنترل شده تخمدان مورد استفاده قرار می‌گیرد: پروتکل آگونیست بلند مدت GnRH، پروتکل آنتاگونیست GnRH و پروتکل تحریک اندک. تکنیک‌های مختلف جهت غربالگری ژنتیکی وجود دارد که اخیرا از تکنیک هیبریداسیون درجا فلورسنت (FISH) برای غربالگری آنوپلوئیدی استفاده می‌شود و همچنین تکنیک‌های دیگر از جمله، هیبریداسیون ژنومیک مقایسه‌ای (aCGH) ، پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNP)، واکنش زنجیره پلیمراز ککی (PCR) و تکنولوژی توالی نسل بعدی (NGS) استفاده می‌شود. این مطالعه به مرور روند اجرای PGS و جنبه‌های مختلف این تکنیک برای بهبود پیامدهای بارداری می‌پردازد، همچنین این مطالعه می‌تواند با بیان مزایا و محدودیت‌های این روش، متخصصین این حوزه را در راستای تصمیم‌گیری درست بالینی در جهت پیشنهاد این تکنیک به بیمار، کمک نماید.

روش کار: این مطالعه مروری با جستجو در پایگاه اطلاعاتی PubMed، Medline، SID، Scopus و Cochrane Library از سال ۲۰۱۰ تا ۲۰۲۱ برای یافتن مقالات مرتبط با کلمات کلیدی مناسب مانند، غربالگری ژنتیکی قبل از لانه گزینی، آنوپلوئیدی و پروتکل تحریک تخمدان انجام گرفت. مقالات انگلیسی با موضوع تکنیک‌های غربالگری ژنتیکی قبل از لانه گزینی، آنوپلوئیدی، پروتکل تحریک تخمدان وارد مطالعه شدند و در صورت عدم دسترسی به متن کامل مقاله و یا نتایج غیر مرتبط، از مطالعه خارج شدند.

یافته ها: بر اساس نتایج مطالعات مختلف، آنوپلوئیدی به عنوان شایع‌ترین اختلال کروموزومی در نظر گرفته می‌شود و شایع‌ترین اختلال یافت شده در جنین‌های مونواسپرمیک در طی درمان IVF است. در موارد افزایش متناوب آنوپلوئیدی در بیماران با سقط راجعه با کاریوتایپ نرمال، غربالگری ژنتیکی قبل از لانه گزینی (PGS) برای بررسی آنوپلوئیدی پیشنهاد می‌شود و تشخیص آنوپلوئیدی قبل از انتقال، میزان سقط را کاهش می‌دهد و میزان بارداری کلینیکال و تولد زنده را افزایش می‌دهد.

نتیجه‌گیری: با امکان دسترسی به تکنولوژی کمک باروری و امکان غربالگری اووسیت و انتخاب اووسیت نرمال، این عقیده وجود دارد که میزان تولد کودک نرمال در زوجین افزایش می‌یابد. درمان نازایی روندی هزینه‌بر است و بسیاری از زوجین تحت تاثیر قرار می‌گیرند. از طرفی PGS نیز فرآیندی پرهزینه است. اما اطلاعات سودبخش آن می‌تواند به تصمیم‌گیری‌های بالینی کمک کند و درصورتی که موجب بهبود افزایشی در پیامدهای بارداری و افزایش میزان تولد زنده و کاهش از دست دادن بارداری شود، می‌توان آن را به زوجین پیشنهاد کرد.

کلید واژه‌ها: غربالگری ژنتیکی قبل از لانه گزینی، آنوپلوئیدی، پروتکل تحریک تخمدان، تکنولوژی کمک باروری

تاریخ دریافت: ۹۹/۱۱/۲۵
تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۲/۲۰
*نویسنده مسئول: زهره خضری پور

مقدمه

طی لقاح طبیعی در بدن، احتمال رسیدن اسپرم غیرطبیعی به محل لقاح به حداقل ممکن می‌رسد؛ در حالیکه در لقاح داخل آزمایشگاهی [۱] اسپرم‌های غیرطبیعی نیز با اووسیت [۲] مجاور می‌شوند و در نتیجه چنین اسپرم‌هایی ممکن است توانایی بارورکردن اووسیت را پیدا نمایند[۱]. به دنبال انجام درمان ناباروری، ریسک بیماری‌های ژنتیکی تا حدودی افزایش

[۱] In Vitro Fertilization (IVF)

[۲] Oocyte

می‌یابد و باید میزان موفقیت درمان‌های ناباروری نیز افزایش یابد و در درمان هر بیمار خاص باید از کشفیات جدید بیومارکرها و روش‌های ژنتیکی جدید استفاده شود تا نتایج بهتری برای درمان ناباروری به وجود بیاید[۲].

آنوپلوئیدی [۳] به عنوان شایع‌ترین اختلال کروموزومی در نظر گرفته می‌شود و شایع‌ترین اختلال یافت شده در جنین‌های مونواسپرمیک [۴] در طی درمان IVF است. آنوپلوئیدی که منجر به ناهنجاری‌های کروموزومی در IVF شده است، بطور اولیه به علت خطای میوز و میتوز اتفاق می‌افتد. همچنین متخصصان دریافتند، غربالگری ژنتیکی قبل از لانه‌گزینی [۵] می‌تواند برای والدین بدون بیماری ژنتیکی شناخته شده و نیز در موارد جلوگیری از پیامدهای ضعیف قابل پیش‌بینی بعد از IVF به کار رود. این روش غربالگری برای تشخیص آنوپلوئیدی برای جنین‌هایی به کار می‌رود که والدین آنها از نظر کروموزومی نرمال هستند، در حالی که تست‌های ژنتیکی، برای تعیین وجود یا عدم وجود یک موتاسیون ژنتیکی [۶] یا بازآرایی کروموزومی [۷] به کار می‌رود[۳و۴]. بیشتر از ۲۵ درصد سقط‌ها به دنبال آنوپلوئیدی اتفاق می‌افتد و از این رو استراتژی غربالگری برای تشخیص آنوپلوئیدی و انتخاب جنین دیپلوید [۸] مورد استقبال قرار گرفته است [۵]. در موارد افزایش متناوب آنوپلوئیدی در بیماران با سقط راجعه با کاریوتایپ نرمال، PGS برای بررسی آنوپلوئیدی پیشنهاد می‌شود و تشخیص آنوپلوئیدی قبل از انتقال، میزان سقط را کاهش می‌دهد و میزان بارداری کلینیکال و میزان تولد زنده را افزایش می‌دهد [۶]. همچنین ایجاد بارداری با تکنیک‌های IVF یا ICSI [۹] موجب افزایش ریسک زایمان پره‌ترم [۱۰]، پارگی زودرس پرده‌های آمنیون [۱۱]، پلاسنتا پرویا [۱۲]، دکولمان جفت [۱۳]، فشارخون بارداری و کوچکی برای سن حاملگی [۱۴] می‌شود و مشکلات نوزادی از جمله چندقلویی و نیاز به مداخلات بدو تولد را افزایش می‌دهد.

PGS بر پایه درمان ART به کار می‌رود، که شامل تحریک تخمدان، بازیابی اووسیت و کاشت یک تخمک توسط روش ICSI یا IVF و استخراج DNA می‌باشد[۷]. PGS یک روش ژنتیکی زودهنگام برای تشخیص جنین‌های ناهنجار است و قسمتی از پروسه درمان ناباروری است و هدف آن انتقال جنین‌های طبیعی از نظر ژنتیکی است [۸]. مطالعات نشان داده است که PGS پروسه‌ای دقیق، ایمن و پیشرفته است که بسیاری از بیماری‌های با استعداد ژنتیکی و شروع دیرهنگام که در تشخیص‌های پری‌ناتال مرسوم غیرقابل بررسی بودند را کشف می‌کند [۹].

در تجارب اولیه، استفاده بالینی PGS برای تعیین جنسیت به منظور جلوگیری از انتقال بیماری‌های وابسته به کروموزوم X بود و یک انتخاب برای والدینی بود که سابقه فرزند مبتلا به این بیماری‌ها را داشتند. با پیشرفت تکنیک واکنش زنجیره پلیمراز [۱۵] انجام PGS جدا از تعیین جنسیت، در تشخیص بیماری‌های تک‌ژنی اتوزومال [۱۶] و حتی برای تشخیص آنوپلوئیدی جنین به کار می‌رود [۱۰]. PGS می‌تواند با افزایش میزان بارداری و کاهش آنوپلوئیدی همراه باشد و به عنوان یک تکنیک تشخیصی در حوزه ART اولویت داشته باشد. از این رو این مطالعه به تحقیق روی روند اجرای PGS و جنبه‌های مختلف این تکنیک برای بهبود پیامدهای بارداری می‌پردازد، همچنین این مطالعه می‌تواند با بیان مزایا و محدودیت‌های این روش، متخصصین این حوزه را در راستای تصمیم گیری درست بالینی در جهت پیشنهاد این تکنیک به بیمار، کمک نماید.

اندیکاسیون‌های انجام PGS

PGS اندیکاسیون‌های مختلف قابل بحث دارد. در اینجا به مهمترین اندیکاسیون‌های آن اشاره می‌شود:

- اولین اندیکاسیون PGS بالا بودن سن مادر است، که موجب افزایش ناهنجاری‌های کروموزومی در اووسیت و جنین می‌شود، به طوریکه ناهنجاری‌های کروموزومی به سرعت در مادران سنین ۳۱ الی ۴۳ سال افزایش می‌یابد و ۸۵ درصد آنوپلوئیدی‌های مادر در این سن رخ میدهد. قدرت انتخاب جنین‌های دیپلویید با پتانسیل بالا با تکنیک PGS، باعث کاهش تعداد جنین‌های انتقالی درهر سیکل، کاهش چندقلویی و عواقب آن می‌شود و پیامدهای پری‌ناتال در زنان سن بالا، کاهش می‌یابد[۱۱].
- دومین اندیکاسیون PGS، سقط راجعه است، که به علل ژنتیکی، آناتومیکی، اندوکرینولوژیک و ناهنجاری‌های ایمونولوژیک ایجاد می‌شود. در یک مطالعه نشان داده شده است، ریسک آنوپلوئیدی در جنین زنان با ۱، ۲ و ۳ سقط راجعه، به ترتیب ۱/۶، ۱/۸ و ۲/۱ برابر است که انجام PGS از نظر آنوپلوئیدی، میزان سقط را کاهش داده بود [۱۱].
- سومین اندیکاسیون PGS، شکست مکرر تکنیک‌های باروری است. اکثر موارد شکست، به علت تکنیک‌های انتقال جنین هستند و سطح بالای ناهنجاری‌های کروموزومی در توقف این جنین‌ها نیز دیده شده است. رویکرد مناسب برای کاهش احتمال شکست در تکنیک‌های باروری، انتخاب جنین‌های مناسب برای انتقال است [۱۱].
- چهارمین اندیکاسیون PGS، ناباروری با فاکتورهای مردانه است. اگرچه آنوپلوئیدی جنینی عمدتاً از ژنوم مادری منشا می‌گیرد، بسیاری از آنوپلوئیدی‌ها نیز از اسپرماتوزوا نشأت می‌گیرند. مردان با کاریوتیپ غیرطبیعی و حذف شدن کروموزم Y اسپرماتوزوا، یک کروموزوم غیر متعادل ایجاد می‌کند. بنابراین در مردان با اختلال

[۳] Aneuploidy
[۴] Monospermic
[۵] Preimplantation Genetic Screening (PGS)
[۶] Mutation
[۷] Chromosomal rearrangement
[۸] Diploid Embryo
[۹] Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI)
[۱۰] Preterm Labor
[۱۱] Premature Rupture of Membranes (PROM)
[۱۲] Placenta Previa
[۱۳] Placental Abruption
[۱۴] Small for Gestational Age (SGA)
[۱۵] Polymerase Chain Reaction (PCR)
[۱۶] Monogenic Autosomal Diseases

شدید فاکتورهای مردانه مانند آزواسپرمی[۱۷]، الیگواستنوتراتوآزواسپرمی[۱۸]، سندرم کلاین فلتر[۱۹]، حذف‌شدگی‌های کوچک کروموز Y و حتی مردانی که آنالیز اسپرم آنها مشکل ندارد، PGS توصیه می‌شود [۱۱].

- پنجمین اندیکاسیون PGS استفاده از تخمک اهدایی است. از آنجا که میزان آنوپلوئیدی جنی‌های بدست آمده از تخمک اهدایی ۳/۵۳٪ است و ۸۸/۱٪ آنوپلوئیدی‌های جنین منشا مادری دارد، انجام PGS برای این سیکل‌ها ضروری به نظر می‌رسد [۱۱،۱۲].
- ششمین اندیکاسیون PGS برای بیماری‌های مونوژنیک یا زوجین با ریسک بیماری‌های ژنتیک قابل انتقال است [۱۱].
- همچنین زوج‌هایی که کاریوتیپ آنها آنومالی‌های کروموزمی مانند جابجایی‌های متعادل، حذف و موزاییسم و کروموزم حلقوی را نشان داده است، نیز کاندید مناسب برای PGS هستند [۱۱].

تحریک تخمدان و برداشت اووسیت

تکنیک‌های کمک باروری، شامل دستکاری مراحل متعدد لقاح، از تحریک تولید گامت تا کشت آزمایشگاهی جنین، شامل استفاده از هورمون‌ها برای تخمک‌گذاری، برداشت اووسیت، بالغ شدن اووسیت در محیط آزمایشگاه، استفاده از اسپرم‌های نابالغ، تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم، کاشت آزمایشگاهی جنین قبل از لانه‌گزینی و انتقال به رحم و یا فریز گامت‌ها و جنین، می‌باشد [۸]. در مرحله تحریک تخمدان و برداشت اووسیت سه پروتکل اخیر برای تحریک کنترل شده تخمدان مورد استفاده قرار می‌گیرد: استفاده از هورمون آزاد کننده گنادوتروپین[۲۰] کوتاه اثر در میانه فاز لوتئال[۲۱] (پروتکل آگونیست بلندمدت GnRH)[۲۲]، پروتکل آنتاگونیست GnRH[۲۳] و پروتکل تحریک اندک[۲۴].

مطالعات اخیر نشان داده است که پروتکل آنتاگونیست GnRH در مقایسه با پروتکل آگونیست GnRH منجر به افزایش تعداد جنین‌های دیپلوئید شده است در حالیکه پروتکل آگونیست بلند مدت GnRH در برخی کشورها از جمله کشور چین محبوب‌تر است، زیرا موجب افزایش لانه‌گزینی اندومتر، افزایش بارداری کلینیکال و کاهش میزان سقط خود به خودی شده است. اگرچه یافته‌های ضد و نقیض در این ارتباط وجود دارد. تعداد جنین‌های آنوپلوئیدی به دست آمده در میان دو روش بلند مدت (آگونیست) و آنتاگونیست قابل مقایسه هستند [۱۳]. در بیمارانی که تحت درمان با پروتکل آگونیست قرار می‌گیرند، یکی از داروهای GnRH بلنداثر در روز ۴-۲ سیکل قاعدگی داده می‌شود. بیماران با سونوگرافی پایش می‌شوند و سطح سرمی هورمون‌های LH، FSH، Estradiol و Progesterone اندازه‌گیری می‌شود. دوز اولیه گنادوتروپین براساس تعداد فولیکول آنترال[۲۵]، تخمدان، وزن، شاخص توده بدنی و پاسخ قبلی به تحریک تعیین می‌شود و دوز بعدی بر اساس پاسخ بیمار تجویز می‌گردد. زمانی که اندازه ۶۰٪ فولیکول‌های غالب به بالای ۱۶ mm می‌رسد و یا قطر یک فولیکول به ۲۰mm می‌رسد، هورمون کوریونیک گنادوتروپین انسانی نوترکیب[۲۶] به بیمار داده می‌شود، ۳۷ ساعت بعد اووسیت زیر سونوگرافی واژینال برداشته می‌شود. برای درمان با پروتکل کوتاه مدت یک دوز انتاگوسیت GnRH کوتاه مدت در میانه فاز لوتئال داده می‌شود، بعد از سه روز بیماران برای اطمینان با تست HCG مانیتور می‌شوند، دارو درمانی تا سه روز ادامه می‌یابد و بعد از آن دوز دارو به مدت چهار روز تعدیل می‌شود. تکنیک ICSI در ۶-۴ ساعت بعد از بازیابی تخمک انجام می‌شود و یا IVF انجام شده، جنین‌ها کشت می‌شوند و سپس بیوپسی می‌شود [۱۳].

بیوپسی جنین و تکنیک‌های انجام PGS

در مرحله بیوپسی، ماده ژنتیکی برای انجام **PGS** می‌تواند از یکی از سه تکنیک ذیل بدست آید. ۱) بیوپسی از جسم قطبی[۲۷]، ۲) بلاستومر[۲۸] در مرحله کلیواژ[۲۹] و ۳) تروفواکتودرم[۳۰] در مرحله بلاستوسیت. بیوپسی جسم قطبی با کاشت و رشد بعدی جنین تداخلی ندارد، برخلاف این مزیت این نوع بیوپسی ماده ژنتیکی پدر را ارزیابی نمی‌کند و ناهنجاری‌های پست زیگوت[۳۱] را کشف نمی‌کند. در بیوپسی در مرحله کلیواژ، از ۲-۱ بلاستومر در روز سوم جنینی نمونه‌برداری انجام می‌شود و در مرحله بلاستوسیت (دو روز بعد) به رحم منتقل می‌شود. بیوپسی در مرحله بلاستومر با میزان لانه‌گزینی و میزان رشد کمتر نسبت به موارد عدم بیوپسی و یا بیوپسی مرحله بلاستوسیت همراه است و این می‌تواند ناشی از آسیب زیگوت به دنبال بیوپسی باشد. از طرفی این احتمال وجود دارد که، جنین‌های موزائیک[۳۲] بین مراحل کلیواژ و بلاستوسیت خود اصلاحی کنند. در سال‌های اخیر روش ترجیحی برای PGS، بیوپسی تروفواکتودرم در مرحله بلاستوسیت است. در بیوپسی مرحله بلاستوسیت ۱۰-۵ تروفواکتودرم در روز ۵ جنینی برداشته می‌شود. بیشتر بلاستوسیت‌ها نیاز به فریز کردن با سرعت بالا دارند و بلاستوسیت با نتیجه نرمال باید از طریق جنین فریز شده درسیکل بعد به رحم منتقل شود[۳۳]، زیرا پتانسیل لانه‌گزینی جنین را حفظ می‌کند و نیز ماده ژنتیکی کافی برای آنالیز فراهم می‌آورد. به دلیل آنالیز ۱۰-۵ سلول در مقایسه با ۲-۱ سلول، نتایج غیر دقیق به خصوص در ارتباط با موزائیسم کاهش می‌یابد و علاوه بر این، پروسه انتخاب جنین‌های طبیعی که بین مراحل کلیواژ و بلاستوسیت رخ می‌دهد، منجر به افزایش کارایی این روش می‌شود. در نتیجه‌ی انجام این روش، تنها جنین‌هایی که قابلیت ذاتی رسیدن به مرحله بلاستوسیت دارند، بیوپسی می‌شوند [۱۴]. تکنیک‌های مختلفی جهت غربالگری ژنتیکی وجود دارد که

[۱۷] Azoospermia
[۱۸] Oligoasthenoteratospermia
[۱۹] Klinefelter Syndrome
[۲۰] Gonadotropin-releasing hormone (GnRH)
[۲۱] Luteal Phase
[۲۲] Gonadotropin Releasing Hormone Agonist
[۲۳] Gonadotropin Releasing Hormone Antagonist
[۲۴] Microsimulation Model
[۲۵] Antral Follicle
[۲۶] Recombinant Human Chorionic Gonadotropin (r-HCG)
[۲۷] Polar Body
[۲۸] Blastomere
[۲۹] Cleavage Phase
[۳۰] Trophectoderm
[۳۱] Postzygotic
[۳۲] Mosaic
[۳۳] Frozen Embryo Transfer (FET)

اخیراً از تکنیک هیبریداسیون درجا فلوئورسنس (FISH[۳۴]) برای غربالگری آنوپلوئیدی استفاده می‌شود. FISH یک تکنیک استفاده از پروب فلوئورسنت رنگی چندگانه است که با توالی DNA هر کروموزم باند می‌شود و روندهای مختلف آن انجام شده و تعداد کروموزم‌های غربال شده و حساسیت تست تعیین می‌شود. در اوایل سال ۱۹۹۰ از بیوپسی جسم قطبی با تکنیک FISH برای بررسی کروموزوم‌های اتوزومال و کروموزوم جنسی استفاده شد. از محدودیت تکنیک FISH این است که ۵-۱۲ جفت کروموزم از ۲۳ جفت کروموزم انسانی را تست می‌کنند. از این رو تکنیک‌های جدیدتر ابداع شد که تمام کروموزم‌ها برای آنوپلوئیدی تست شوند، که در این راستا تکنیک هیبریداسیون ژنومیک مقایسه‌ای[۳۵] (aCGH) پیشنهاد شد. در مطالعات اولیه از این تکنیک برای نمونه‌های بلاستومر و بعد از آن برای نمونه‌های تروفواکتودرم استفاده شد. در این روش بررسی ۲۳ جفت کروموزم جهت کشف آنوپلوئیدی و جابجایی‌های نامتعادل انجام می‌شود. برخلاف تکنیک FISH، این تکنیک در تشخیص پلی‌پلوئیدی[۳۶]، دیزومی تک والدی[۳۷]، تاتوان است و همچنین نیاز به فریز کردن جنین‌ها برای چند روز وجود دارد، از این رو FISH همچنان تکنیک محبوب برای کشف آنوپلوئیدی طی ۲۴-۷۲ ساعت می‌باشد [۱۵-۱۷]. پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNP)[۳۸] تکنیکی است که برای تشخیص آنوپلوئیدی و جابجایی‌های غیر متعادل و ناهنجاری‌های تک‌ژنی به کار می‌رود. این روش نمی‌تواند پلی‌پلوئیدی را تشخیص دهد، اما برخلاف aCGH دیزومی تک والدی را تشخیص می‌دهد. برای غربالگری آنوپلوئیدی از روش واکنش زنجیره پلیمراز کمی (qPCR)[۳۹] نیز استفاده می‌شود. این روش نمی‌تواند تنها روی یک بلاستومر انجام شود و به نمونه تروفواکتودرم نیاز دارد، اما نتیجه آن در مدت زمان کوتاهی مشخص می‌شود. با استفاده از این تکنیک می‌توان پلی‌پلوئیدی را تشخیص داد، اما ناهنجاری‌های کروموزومی ساختاری و دیزومی تک والدی قابل تشخیص نیستند، از سوی دیگر استفاده از این تکنیک، کاری سخت و هزینه‌بر و به چندین نمونه بیوپسی نیاز دارد. اخیراً از تکنولوژی توالی‌یابی نسل بعدی (NGS)[۴۰] برای انجام PGS استفاده می‌شود. این تکنیک استاندارد که برای تقویت توالی کوتاه DNA به کار می رود، موتاسیون تک‌ژنی و همچنین پلی‌پلوئیدی و دیزومی تک والدی را تشخیص می‌دهد، هرچند در حال حاضر مقرون به صرفه نمی‌باشد [۳و۱۸].

بعد از به کار بردن یکی از این تکنیک‌ها، یک یا بیشتر از یک جنین حاصل از این فرآیند، بسته به وضعیت مادر از جمله سن مادر، ذخیره تخمدانی و سیکل‌های IVF قبلی، انتقال صورت می‌پذیرد و جنین‌های مازاد منجمد می‌شوند تا در صورت نیاز در سیکل بعد انتقال یابند [۷].

مطالعات بافت‌شناسی

پس از چهار هفته و ۲۴ ساعت پس از اعمال آخرین دوز درمان، حیوانات وزن شده و توسط اتر بیهوش شدند. نمونه خون برای اندازه گیری سطح قند خون ناشتا[۴۱] از بطن قلب جمع آوری شد. غدد پروستات با دقت جدا شدند و بعد از جداسازی بافت‌های همراه، با دقت در یک ترازوی دیجیتال وزن شده و در محلول فیکساتور بوئن[۴۲] قرار داده شدند. نمونه‌های بافت فرآوری شده با دستگاه آماده سازی بافت[۴۳] برای آماده سازی بلوک‌های پارافینی استفاده گردید. برش‌های ۵ میکرومتری توسط میکروتوم تهیه شد و سپس لام‌ها با هماتوکسیلین-ائوزین[۴۴] رنگ‌آمیزی شدند و با میکروسکوپ نوری تحت بررسی کیفی و کمی قرار گرفتند.

تکنیک‌های IVF[۴۵] و ICSI[۴۶]

میکرواینجکشن (ICSI) تکنیکی است که با استفاده از روش‌های پیشرفته، یک اسپرم را به طور مستقیم داخل تخمک تزریق می‌نمایند و برای مدت معینی در دستگاه انکوباتور کشت داده تا به دنبال آن لقاح، تقسیم سلولی و تشکیل جنین صورت گیرد. تزریق اسپرم درون سیتوپلاسم بر این نکته تأکید دارد که تا زمانی که اسپرم وجود داشته باشد، حتی به تعداد بسیارکم، باروری امکان پذیر است. به طور کلی این روش در مواردی استفاده می شود که اسپرم مرد از نظر تعداد، تحرک و یا شکل، کیفیت لازم را نداشته باشد و یا چندین مورد عمل IVF انجام شده باشد و به نتیجه نرسیده باشد، البته این فرآیند بدان معنی نیست که میکرواینجکشن تضمینی برای بارداری ایجاد میکند اما این روش، شروع فرآیند پیچیده باروری را آسان‌تر خواهد کرد. یکی دیگر از شیوه‌های غلبه بر مشکل ناباروری زوجین، IVF است. در این روش تخمک آماده باروری را به کمک روش‌های جراحی از بدن زن و اسپرم‌های دارای قدرت باروری را از مرد گرفته و در شرایط کنترل شده در لوله آزمایش قرار می‌دهند. سپس تخمک بارور شده را بدست آورده و در مرحله بعد به منظور انجام تقسیمات سلولی، آن را در محیط کشت مناسب قرار می‌دهند. بعد از آن جنین را به بدن مادر منتقل می کنند. میزان موفقیت در این روش به عوامل مختلفی وابسته است، از جمله سن زوجین و نیز درجه سلامت تولیدمثلی در آنها. با وجود این، شانس موفقیت از بیماری به بیمار دیگر متفاوت است و به منظور تخمین این شانس لازم است فاکتورهای تاثیر گذار بر آن به صورت جامع در همه کسانی که تحت این عمل قرار گرفته‌اند بررسی شود. برخی از دلایل ناباروری که باعث می‌شوند این روش در دستور کار قرار گیرد به شرح ذیل است؛ ۱) وجود مشکل در لوله رحم زن که در این شرایط ممکن است لوله

[۳۴] Fluorescence In Situ Hybridization (FISH)
[۳۵] Array Comparative Genomic Hybridization (aCGH)
[۳۶] Polyploidy
[۳۷] Uniparental Disomy (UPD)
[۳۸] Single Nucleotide Polymorphism (SNP)
[۳۹] Real-Time Quantitative PCR (qPCR)
[۴۰] Next Generation Sequencing (NGS)

[۴۱] Fasting Blood Sugar (FBS)
[۴۲] Bouin Solution (Fixative)
[۴۳] Shandon Eliot Model
[۴۴] Hematoxylin and Eosin (H&E)
[۴۵] In Vitro Fertilization (IVF)
[۴۶] Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI)

فالوپ مسدود باشد و یا آسیب دیده باشد. این امر باعث می‌شود که اسپرم در رسیدن به تخمک دچار مشکل شود و زیگوت قادر به عبور از لوله و رسیدن به حفره شکمی نشود. ۲) وجود مشکل در اسپرم مرد به این معنا که تعداد اسپرم‌های مرد کمتر از حد طبیعی باشد و یا حرکت آنها کم باشد و یا اینکه قدرت بارورسازی تخمک را علیرغم رسیدن به آن نداشته باشد [۱و۱۹]. امروزه آنالیز اسپرم بر طبق استانداردهای آزمایشگاهی WHO انجام می‌شود. معیارهای IVF به این شرح است؛ اسپرماتوزوا متحرک به مقدار $۱۰^{۵} \times ۱/۵-۱$ در هر میلی لیتر وجود داشته باشد و بیشتر از ۴٪ آنها مورفولوژی نرمال داشته باشند. در صورت عدم وجود این ویژگی‌ها ICSI ضرورت می‌یابد [۱۹].

انتقال جنین منجمد و جنین تازه

روند انجماد[۴۷] جنین‌های کاشته نشده حاصل از IVF و ICSI در مراحل مختلفی از جمله؛ پیش هسته‌ای، کلیواژ یا بلاستوسیت انجام می‌شود. انجماد در افرادی که کاندید مناسبی برای انتقال جنین‌های تازه[۴۸] نیستند، نقش محوری دارد. در زمانی که اندومتر به حد کافی آماده نیست، جنین‌های مد نظر منجمد می‌شوند. پروسه انجماد شانس نگهداری و استفاده از جنین‌های فریز شده را در آینده افزایش می‌دهد، همچنین میزان استفاده از پروسه PGS را نیز افزایش می‌دهد.

سیکل‌های همراه با انتقال جنین فریز شده (FET)[۴۹] با لانه‌گزینی و بارداری کمتری نسبت به سیکل جنین تازه همراه هستند که دو علت اساسی دارد: اولین علت؛ انتقال جنین تازه بر پایه انتخاب بهترین جنین‌ها است در حالی که جنین‌های با کیفیت کمتر برای فریز کردن ذخیره می‌شوند. دومین علت؛ کریستال‌های یخ ایجاد شده در طی فریز شدن و ذوب شدن، تاثیر منفی روی جنین‌ها دارد. اگر چه بسیاری از محققان میزان بالای بارداری به دنبال FET در مقایسه با جنین تازه را گزارش کرده‌اند. پیامدهای بارداری به دنبال FET به چندین فاکتور بستگی دارد این فاکتورها شامل؛ سن زنان در زمان انجماد، طول مدت و علت ناباروری (اولیه یا ثانویه)، ضخامت اندومتر روز انتقال جنین، پروتکل آمادگی اندومتریال، موفقیت سیکل قبلی، سطح هورمون FSH، دلیل انجام انجماد، فاکتورهای بالینی و جنین‌شناسی (روش باروری اووسیت)، فاصله فریز و ذوب شدن و پیشرفت جنین بعد از ذوب شدن است. جنین‌های مرحله کلیواژ و بلاستوسیت داخل سیستم انجماد باز در روزهای ۵-۲ بعد از بازیابی اووسیت فریز می‌شوند[۲۰].

آمادگی اندومتر و انتقال جنین

در صورتی که ضخامت اندومتر بیشتر از ۵ میلی‌متر باشد، در روزهای ۲-۵ سیکل قاعدگی، بیماران تحت پروتکل آمادگی اندومتر قرار می‌گیرند که به شرح زیر است:

- در طی سیکل انتقال FET، از یکی از دو پروتکل آمادگی رحم استفاده می شود: در روش اول هورمون درمانی جایگزین (HRT)[۵۰]، به میزان ۲mg استرادیول خوراکی[۵۱] دوبار در روز به مدت ۷-۶ روز تجویز می‌شود. به دنبال آن بیماران تحت سونوگرافی برای ارزیابی ضخامت اندومتر و فولیکول‌های تخمدان قرار می‌گیرند. وقتی ضخامت اندومتر به بیشتر از ۷mm رسید، دارو قطع می‌شود و از ۴۰۰mg پروژسترون دو بار در روز استفاده می‌شود. در روش دوم، پروتکل تحریک اندک (MSP)[۵۲]، برای بیماران دارو منوگون[۵۳] با دوز ۷۵IU و به مدت ۷-۶ روز استفاده می‌شود. سپس بیماران تحت ارزیابی سونوگرافی قرار می‌گیرند و وقتی ضخامت اندومتر به بالای ۷ میلی‌متر رسید، دارو پرگنیل[۵۴] تزریق می‌شود. متعاقب آن پس از گذشت ۳۶ ساعت پروژسترون واژینال روزی دو عدد تجویز می‌گردد. جنین‌های FET در مرحله کلیواژ، روز قبل از انتقال ذوب می‌شوند و روز بعد انتقال می‌یابند. در حالی که بلاستوسیت در صبح روز انتقال ذوب و همان روز انتقال می‌یابد.
- انتقال جنین‌های تازه به این صورت است که انتقال جنین‌ها اغلب روز چهارم انجام می‌شود و تلاش می‌شود که سن جنین و روز انتقال یکی باشد و در نهایت روز شروع پروژسترون، روز صفر جنینی است. مصرف پروژسترون تا هفته ۱۲ و یا تا زمان مثبت شدن تست حاملگی ادامه می‌یابد. دو هفته بعد، سونوگرافی واژینال انجام می‌شود تا وجود بارداری داخل رحمی تأیید گردد [۲۰].

نتیجه گیری

با امکان دسترسی به تکنولوژی کمک باروری و امکان غربالگری اووسیت و انتخاب اووسیت نرمال، این عقیده وجود دارد که میزان تولد کودک نرمال در زوجین افزایش می‌یابد[۲۱]. پیشرفت در درمان ناباروری به بسیاری از زوجین برای باردار شدن کمک می‌کند. بسیاری از این بارداری‌ها ممکن است ریسک بالا برای پیامدهای منفی مادری و نوزادی داشته باشد. این پیامدها شامل پره‌اکلامپسی، جفت سرراهی، سزارین، زایمان زودرس، وزن کم هنگام تولد، بدشکلی‌های مادرزادی، وزن کم هنگام تولد می‌باشد [۷،۲۲]. در بعضی از مطالعات اثرات مفید PGS شامل افزایش میزان باروری، کاهش میزان سقط و کاهش میزان ناهنجاری‌های نوزادی و کاهش میزان درمان غیرضروری با تکنیک‌های کمک باروری نشان داده شده است [۲۱]. بدون شک در زنان نابارور، وظایف تیم بهداشتی درمانی در زمینه مراقبت‌های پیش از بارداری، بسیار بیشتر از زنان بدون درمان ناباروری است. زنان تحت تکنیک‌های کمک باروری باید دقیقاً بدانند چه مداخله‌ای نیاز و چگونه روی نتیجه باروری آنها اثر می‌گذارد از این رو ایجاد ظرفیت مشاوره درمان ناباروری در شاخه بهداشت باروری ضروری است[۲۳]. در مواقعی که در مورد بیماران با اندیکاسیون PGS بحث می‌شود، متخصص بایستی مزایا و معایب آن را بداند [۱۸]. متخصصین بهداشت باروری به ارزیابی ریسک مشکلات باروری و نیاز به پیگیری می‌پردازند و مشاوره موثر در ارتباط با

[۴۷] Cryopreservation
[۴۸] Fresh Embryo Transfer
[۴۹] Frozen Embryo Transfer (FET)
[۵۰] Hormonal Replacement Therapy
[۵۱] Decapeptyl (Triptorelin)
[۵۲] Minimal Stimulation Protocol (MSP)
[۵۳] Menogon (Menotropin)
[۵۴] Pregnyl (Human Chorionic Gonadotrophin, HCG)

استرس ناباروری و عوامل مرتبط با سن باروری انجام می‌دهند [۲۴]. در افراد با سابقه اختلالات ژنتیکی، مشاوره در ارتباط با غربالگری ژنتیکی باعث می‌شود بیمار یا خانواده او واقعیت بیماری خود یا خانواده خود را درک کند و نحوه وراثت بیماری و تعیین احتمال وقوع مجدد آن در خانواده مطرح می‌شود. سپس سعی خواهد شد تا راه‌حل‌های موجود برای جلوگیری از وقوع مجدد بیماری مطرح شود و راه‌هایی که آنها می‌توانند انتخاب کنند، برای آنها بیان شود. این در حالی است که به فرد مشاوره شونده کمک می‌شود تا بهترین راه حل را با توجه به شرایط خود و خانواده‌اش انتخاب کند. [۲۵].

درمان نازایی روندی هزینه‌بر است و بسیاری از زوجین تحت تاثیر آن قرار می‌گیرند. از آنجایی که PGS نیز فرآیندی پرهزینه است، با ارزیابی شرایط بیمار و وجود اندیکاسون‌های لازم، درصورتی که انجام این تکنیک موجب بهبود افزایشی در پیامدهای بارداری و افزایش میزان تولد زنده و کاهش از دست دادن بارداری شود، می‌توان آن را به زوجین پیشنهاد کرد و در صورت عدم وجود اندیکاسون، حذف آن از تحمیل هزینه مازاد به بیمار جلوگیری می‌نماید [۲۶].

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاران محترم انستیتو تحقیقات صارم تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

تعارض منافع

در این مطالعه تعارض منافع وجود نداشت.

منابع مالی

این مطالعه هزینه مالی در بر نداشت.

منابع

1. Baktash E, aref. Survey and comparison of gender percentage of boys and girls born following IVF, IUI and ICSI assisted reproductive methods in Al-Zahra Hospital in Tabriz from 2007 to 2016: Tabriz University of Medical Sciences, School of Medicine
2. Szamatowicz M, Szamatowicz J. Proven and unproven methods for diagnosis and treatment of infertility. Advances in medical sciences. 2020;65(1):93-6.
3. Zwingerman RG. A Cost-Effectiveness Analysis of Preimplantation Genetic Screening with In Vitro Fertilization In Ontario: University of Toronto (Canada); 2017.
4. Fesahat F, Montazeri F, Hoseini SM. Preimplantation genetic testing in assisted reproduction technology. Journal of gynecology obstetrics and human reproduction. 2020;49(5):101723.
5. Won SY, Kim H, Lee WS, Kim JW, Shim SH. Pre-implantation genetic diagnosis and pre-implantation genetic screening: two years experience at a single center. Obstetrics & gynecology science. 2018;61(1):95-101.
6. Lei C-X, Ye J-F, Sui Y-L, Zhang Y-P, Sun X-X. Retrospective cohort study of preimplantation genetic testing for aneuploidy with comprehensive chromosome screening versus nonpreimplantation genetic testing in normal karyotype, secondary infertility patients with recurrent pregnancy loss. Reproductive and Developmental Medicine. 2019;3(4):205.
7. Feldman B, Orvieto R, Weisel M, Aizer A, Meyer R, Haas J, et al. Obstetric and perinatal outcomes in pregnancies conceived after preimplantation genetic testing for monogenetic diseases. Obstetrics & Gynecology. 2020.91-782:(4)136;
8. Adamson GD, de Mouzon J, Chambers GM, Zegers-Hochschild F, Mansour R, Ishihara O, et al. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology: world report on assisted reproductive technology, 2011. Fertility and sterility. 2018;110(6):1067-80.
9. Kuliev A, Rechitsky S, Simpson JL. Clinical Outcome of Preimplantation Genetic Testing. Practical Preimplantation Genetic Testing: Springer; 2020. p. 253-73.
10. Sueoka K. Preimplantation genetic diagnosis: an update on current technologies and ethical considerations. Reproductive medicine and biology. 2016;15(2):69-75.
11. Greco E, Litwicka K, Minasi MG, Cursio E, Greco PF, Barillari P. Preimplantation Genetic Testing: Where We Are Today. International Journal of Molecular Sciences. 2020;21(12):4381.
12. Coates A, Bankowski BJ, Kung A, Griffin DK, Munne S. Differences in pregnancy outcomes in donor egg frozen embryo transfer (FET) cycles following preimplantation genetic screening (PGS): a single center retrospective study . Journal of assisted reproduction and genetics. 2017;34(1):71-8.

attending the University of Benin Teaching Hospital ,Benin City, Nigeria, 2018. Journal of Nursing and Midwifery Sciences. 2019;6(3):125.
24. Foroudi P, Melewar T, Gupta S. Middlesex University Research Repository. Computers in Human Behavior. 2018;80:271e82.
25. Taybi DNGDJADN. Investigating the effect of genetics unit on students' attitudes toward proportion
26. To genetic counseling for abortion therapy. (Ethics Quarterly in Technology, Winter Issue 85).
27. Collins SC, Xu X, Mak W. Cost-effectiveness of preimplantation genetic screening for women older than 37 undergoing in vitro fertilization. Journal of assisted reproduction and genetics. 2017;34(11):1515-22.
13. Li G, Wu Y, Niu W, Xu J, Hu L, Shi H, et al. Analysis of the Number of Euploid Embryos in Preimplantation Genetic Testing Cycles With Early-Follicular Phase Long-Acting Gonadotropin-Releasing Hormone Agonist Long Protocol. Frontiers in Endocrinology. 2020;11:424.
14. Jing S, Luo K, He H, Lu C, Zhang S, Tan Y, et al. Obstetric and neonatal outcomes in blastocyst-stage biopsy with frozen embryo transfer and cleavage-stage biopsy with fresh embryo transfer after preimplantation genetic diagnosis/screening. Fertility and sterility. 2016;106(1):105-12. e4.
15. Zwingerman R. A Cost-Effectiveness Analysis of Preimplantation Genetic Screening with In Vitro Fertilization In Ontario 2017.
16. Parikh FR, Athalye AS, Naik NJ, Naik DJ, Sanap RR, Madon PF. Preimplantation genetic testing: Its evolution, where are we today? Journal of human reproductive sciences. 2018;11(4):306.
17. Totonchi M, Babaabasi B, Najafi H, Valojerdi MR, Eftekhari-Yazdi P, Karimian L, et al. Preimplantation Genetic Screening and The Success Rate of In Vitro Fertilization: A Three-Years Study on Iranian Population. Cell Journal (Yakhteh). 2021;22.(4)
18. Harper JC. Preimplantation genetic screening. Journal of medical screening. 2018;25(1):1-5.
19. Larbuisson A, Raick D, Demelenne S, Delvigne A. ICSI diagnostic: a way to prevent total fertilization failure after 4 unsuccessful IUI. Basic and clinical andrology. 2017;27(1):1-5.
20. Bushaqer NJ, Alkhudhairy NN, Alturaigi ZM, Alhamad RM, Mohawesh WA, Alraka FE, et al. The effect of fresh IVF cycle characteristics on frozen embryo transfer (FET) outcomes. JBRA assisted reproduction. 2020;24(2):135.
21. Schmutzler AG. Theory and practice of preimplantation genetic screening (PGS) . European Journal of Medical Genetics. 2019;62(8):103670.
22. Huang C, Jiang W, Zhu Y, Li H, Lu J, Yan J, et al. Pregnancy outcomes of reciprocal translocation carriers with two or more unfavorable pregnancy histories: before and after preimplantation genetic testing. Journal of Assisted Reproduction and Genetics. 2019;36(11):2325-31.
23. Osian EA, Afemikhe JA, Olorunfemi O, Eweka A. Knowledge and perception of assisted reproductive technology among women