


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

### ARTICLE INFO

#### Article Type

Review article

#### Authors

Zohreh Khezripour<sup>1\*</sup>, M.Sc  
Seyedeh Fatemeh Vasegh  
Rahimparvar<sup>2\*</sup>, MD  
Azam Rahmani<sup>2</sup>, MD  
Mohammad Reza Nateghi<sup>3</sup>,  MD

<sup>1</sup> School of Nursing and Midwifery, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

<sup>2</sup> Nursing and Midwifery Care Research Center, School of Nursing and Midwifery, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

<sup>3</sup> 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](mailto: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 trophoctoderm 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).

## روند اجرا و جنبه‌های مختلف غربالگری ژنتیکی قبل از لانه‌گزینی: یک مقاله مروری

زهره خضری پور<sup>۱\*</sup>، سیده فاطمه واثق رحیم پرور<sup>۱</sup>، اعظم رحمانی<sup>۲</sup>، محمدرضا ناطقی<sup>۳</sup> 

<sup>۱</sup> دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.  
<sup>۲</sup> مرکز تحقیقات مراقبت‌های پرستاری و مامایی، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.  
<sup>۳</sup> مرکز تحقیقات باروری و ناباروری صارم، پژوهشکده سلولی و مولکولی و سلول‌های بنیادی صارم، بیمارستان فوق تخصصی صارم، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.

### چکیده

**مقدمه:** غربالگری ژنتیکی قبل از لانه‌گزینی (PGS) می‌تواند با افزایش میزان بارداری و کاهش آنپلوئیدی 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 از جسم قطبی، بلاستومر در مرحله کلیواژ و یا تروفوکتودرم در مرحله بلاستوسیت به دست آید. سه پروتکل اخیر برای تحریک کنترل شده تخمدان مورد استفاده قرار می‌گیرد: پروتکل آگونیسست بلند مدت GnRH، پروتکل آنتاگونیست GnRH و پروتکل تحریک اندک. تکنیک‌های مختلف جهت غربالگری ژنتیکی وجود دارد که اخیراً از تکنیک هیبریداسیون درجا فلورسنت (FISH) برای غربالگری آنپلوئیدی استفاده می‌شود و همچنین تکنیک‌های دیگر از جمله، هیبریداسیون ژنومیک مقایسه‌ای (aCGH)، پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNP)، واکنش زنجیره پلیمرز 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، Scopus، SID، Medline و Cochrane Library از سال ۲۰۱۰ تا ۲۰۲۱ برای یافتن مقالات مرتبط با کلمات کلیدی مناسب مانند، غربالگری ژنتیکی قبل از لانه‌گزینی، آنپلوئیدی و پروتکل تحریک تخمدان انجام گرفت. مقالات انگلیسی با موضوع تکنیک‌های غربالگری ژنتیکی قبل از لانه‌گزینی، آنپلوئیدی، پروتکل تحریک تخمدان وارد مطالعه شدند و در صورت عدم دسترسی به متن کامل مقاله و یا نتایج غیر مرتبط، از مطالعه خارج شدند. **یافته‌ها:** بر اساس نتایج مطالعات مختلف، آنپلوئیدی 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 آنپلوئیدی در بیماران با سقط راجعه با کاربوتایپ نرمال، غربالگری ژنتیکی قبل از لانه‌گزینی (PGS) برای بررسی آنپلوئیدی پیشنهاد می‌شود و تشخیص آنپلوئیدی 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 در صورتی 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.

**کلیدواژه‌ها:** غربالگری ژنتیکی قبل از لانه‌گزینی، آنپلوئیدی، 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<sup>۱</sup> اسپرم‌های غیرطبیعی نیز با اووسیت<sup>۲</sup> مجاور می‌شوند و در نتیجه چنین اسپرم‌هایی ممکن است توانایی بارورکردن اووسیت را پیدا نمایند<sup>۱</sup>. به دنبال انجام درمان ناباروری، ریسک بیماری‌های ژنتیکی تا حدودی افزایش

Oocyte<sup>۱</sup>

In Vitro Fertilization (IVF)<sup>۱</sup>

دانشنامه صارم در طب باروری

می یابد و باید میزان موفقیت درمان های ناباروری نیز افزایش یابد و در درمان هر بیمار خاص باید از کشفیات جدید بیومارکرها و روش های ژنتیکی جدید استفاده شود تا نتایج بهتری برای درمان ناباروری به وجود بیاید.<sup>[۲]</sup> آنوپلوئیدی<sup>۳</sup> به عنوان شایع ترین اختلال کروموزومی در نظر گرفته می شود و شایع ترین اختلال یافت شده در جنین های مونواسپرمیک<sup>۴</sup> در طی درمان IVF است. آنوپلوئیدی که منجر به ناهنجاری های کروموزومی در IVF شده است، بطور اولیه به علت خطای میوز و میتوز اتفاق می افتد. همچنین متخصصان دریافتند، غربالگری ژنتیکی قبل از لانه گزینی<sup>۵</sup> می تواند برای والدین بدون بیماری ژنتیکی شناخته شده و نیز در موارد جلوگیری از پیامدهای ضعیف قابل پیش بینی بعد از IVF به کار رود. این روش غربالگری برای تشخیص آنوپلوئیدی برای جنین هایی به کار می رود که والدین آنها از نظر کروموزومی نرمال هستند، در حالی که تست های ژنتیکی، برای تعیین وجود یا عدم وجود یک موتاسیون ژنتیکی<sup>۶</sup> یا بازآرایی کروموزومی<sup>۷</sup> به کار می رود.<sup>[۳]</sup> بیشتر از ۲۵ درصد سقطها به دنبال آنوپلوئیدی اتفاق می افتد و از این رو استراتژی غربالگری برای تشخیص آنوپلوئیدی و انتخاب جنین دیپلوئید<sup>۸</sup> مورد استقبال قرار گرفته است.<sup>[۵]</sup> در موارد افزایش متناوب آنوپلوئیدی در بیماران با سقط راجعه با کاربوتایپ نرمال، PGS برای بررسی آنوپلوئیدی پیشنهاد می شود و تشخیص آنوپلوئیدی قبل از انتقال، میزان سقط را کاهش می دهد و میزان بارداری کلینیکال و میزان تولد زنده را افزایش می دهد.<sup>[۶]</sup> همچنین ایجاد بارداری با تکنیک های IVF یا ICSI<sup>۹</sup> موجب افزایش ریسک زایمان پره ترم<sup>۱۰</sup>، پارگی زودرس پرده های آمنیون<sup>۱۱</sup>، پلاستنا پرویا<sup>۱۲</sup>، دکولمان جفت<sup>۱۳</sup>، فشارخون بارداری و کوچکی برای سن حاملگی<sup>۴</sup> می شود و مشکلات نوزادی از جمله چندقلویی و نیاز به مداخلات بدو تولد را افزایش می دهد.

می یابد و باید میزان موفقیت درمان های ناباروری نیز افزایش یابد و در درمان هر بیمار خاص باید از کشفیات جدید بیومارکرها و روش های ژنتیکی جدید استفاده شود تا نتایج بهتری برای درمان ناباروری به وجود بیاید.<sup>[۲]</sup> آنوپلوئیدی<sup>۳</sup> به عنوان شایع ترین اختلال کروموزومی در نظر گرفته می شود و شایع ترین اختلال یافت شده در جنین های مونواسپرمیک<sup>۴</sup> در طی درمان IVF است. آنوپلوئیدی که منجر به ناهنجاری های کروموزومی در IVF شده است، بطور اولیه به علت خطای میوز و میتوز اتفاق می افتد. همچنین متخصصان دریافتند، غربالگری ژنتیکی قبل از لانه گزینی<sup>۵</sup> می تواند برای والدین بدون بیماری ژنتیکی شناخته شده و نیز در موارد جلوگیری از پیامدهای ضعیف قابل پیش بینی بعد از IVF به کار رود. این روش غربالگری برای تشخیص آنوپلوئیدی برای جنین هایی به کار می رود که والدین آنها از نظر کروموزومی نرمال هستند، در حالی که تست های ژنتیکی، برای تعیین وجود یا عدم وجود یک موتاسیون ژنتیکی<sup>۶</sup> یا بازآرایی کروموزومی<sup>۷</sup> به کار می رود.<sup>[۳]</sup> بیشتر از ۲۵ درصد سقطها به دنبال آنوپلوئیدی اتفاق می افتد و از این رو استراتژی غربالگری برای تشخیص آنوپلوئیدی و انتخاب جنین دیپلوئید<sup>۸</sup> مورد استقبال قرار گرفته است.<sup>[۵]</sup> در موارد افزایش متناوب آنوپلوئیدی در بیماران با سقط راجعه با کاربوتایپ نرمال، PGS برای بررسی آنوپلوئیدی پیشنهاد می شود و تشخیص آنوپلوئیدی قبل از انتقال، میزان سقط را کاهش می دهد و میزان بارداری کلینیکال و میزان تولد زنده را افزایش می دهد.<sup>[۶]</sup> همچنین ایجاد بارداری با تکنیک های IVF یا ICSI<sup>۹</sup> موجب افزایش ریسک زایمان پره ترم<sup>۱۰</sup>، پارگی زودرس پرده های آمنیون<sup>۱۱</sup>، پلاستنا پرویا<sup>۱۲</sup>، دکولمان جفت<sup>۱۳</sup>، فشارخون بارداری و کوچکی برای سن حاملگی<sup>۴</sup> می شود و مشکلات نوزادی از جمله چندقلویی و نیاز به مداخلات بدو تولد را افزایش می دهد.

PGS بر پایه درمان ART به کار می رود، که شامل تحریک تخمدان، بازایی اووسیت و کاشت یک تخمک توسط روش ICSI یا IVF و استخراج DNA می باشد.<sup>[۷]</sup> PGS یک روش ژنتیکی زود هنگام برای تشخیص جنین های ناهنجار است و قسمتی از پروسه درمان ناباروری است و هدف آن انتقال جنین های طبیعی از نظر ژنتیکی است.<sup>[۸]</sup> مطالعات نشان داده است که PGS پروسه ای دقیق، ایمن و پیشرفته است که بسیاری از بیماری های با استعداد ژنتیکی و شروع دیر هنگام که در تشخیص های پری ناتال مرسوم غیر قابل بررسی بودند را کشف می کند.<sup>[۹]</sup>

در تجارب اولیه، استفاده بالینی PGS برای تعیین جنسیت به منظور جلوگیری از انتقال بیماری های وابسته به کروموزوم X بود و یک انتخاب برای والدینی بود که سابقه فرزند مبتلا به این بیماری ها را داشتند. با پیشرفت تکنیک واکنش زنجیره پلیمرز<sup>۱۴</sup> انجام PGS جدا از تعیین جنسیت، در تشخیص بیماری های تک ژنی اتوزومال<sup>۱۵</sup> و حتی برای تشخیص

### اندیکاسیون های انجام PGS

PGS اندیکاسیون های مختلف قابل بحث دارد. در اینجا به مهمترین اندیکاسیون های آن اشاره می شود:

- اولین اندیکاسیون PGS بالا بودن سن مادر است، که موجب افزایش ناهنجاری های کروموزومی در اووسیت و جنین می شود، به طوریکه ناهنجاری های کروموزومی به سرعت در مادران سنین ۳۱ الی ۴۳ سال افزایش می یابد و ۸۵ درصد آنوپلوئیدی های مادر در این سن رخ میدهد. قدرت انتخاب جنین های دیپلوئید با پتانسیل بالا با تکنیک PGS، باعث کاهش تعداد جنین های انتقالی در هر سیکل، کاهش چندقلویی و عواقب آن می شود و پیامدهای پری ناتال در زنان سن بالا، کاهش می یابد.<sup>[۱۱]</sup>
- دومین اندیکاسیون PGS، سقط راجعه است، که به علل ژنتیکی، آناتومیک، اندوکرینولوژیک و ناهنجاری های ایمونولوژیک ایجاد می شود. 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.<sup>[۱۱]</sup>
- سومین اندیکاسیون PGS، شکست مکرر تکنیک های باروری است. اکثر موارد شکست، به علت تکنیک های انتقال جنین هستند و سطح بالای ناهنجاری های کروموزومی در توقف این جنین ها نیز دیده شده است. رویکرد مناسب برای کاهش احتمال شکست در تکنیک های باروری، انتخاب جنین های مناسب برای انتقال است.<sup>[۱۱]</sup>
- چهارمین اندیکاسیون PGS، ناباروری با فاکتورهای مردانه است. اگرچه آنوپلوئیدی جنینی عمدتاً از ژنوم مادری منشا می گیرد، بسیاری از آنوپلوئیدی ها نیز از اسپرماتوزوا نشأت می گیرند. مردان با کاربوتایپ غیرطبیعی و حذف شدن کروموزوم Y اسپرماتوزوا، یک کروموزوم غیر متعادل ایجاد می کند. بنابراین در مردان با اختلال

Preterm Labor<sup>۱۰</sup>  
Premature Rupture of Membranes (PROM)<sup>۱۱</sup>  
Placenta Previa<sup>۱۲</sup>  
Placental Abruption<sup>۱۳</sup>  
Small for Gestational Age (SGA)<sup>۱۴</sup>  
Polymerase Chain Reaction (PCR)<sup>۱۵</sup>  
Monogenic Autosomal Diseases<sup>۱۶</sup>

Aneuploidy<sup>۳</sup>  
Monospermic<sup>۴</sup>  
Preimplantation Genetic Screening (PGS)<sup>۵</sup>  
Mutation<sup>۶</sup>  
Chromosomal rearrangement<sup>۷</sup>  
Diploid Embryo<sup>۸</sup>  
Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI)<sup>۹</sup>

فولیکول آنترال 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 ۲۰ mm می‌رسد، هورمون کوریونیک گنادوتروپین انسانی نوترکیب<sup>۲۶</sup> به بیمار داده می‌شود، ۳۷ ساعت بعد اووسیت زیر سونوگرافی واژینال برداشته می‌شود. برای درمان با پروتکل کوتاه مدت یک دوز انتاگونیست 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 ۴-۶ ساعت بعد از بازبایی تخمک انجام می‌شود و یا IVF انجام شده، جنین‌ها کشت می‌شوند و سپس بیوپسی می‌شود<sup>[۱۳]</sup>.

### 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) بلاستومر<sup>۸</sup> در مرحله کلیواژ<sup>۲۹</sup> و (۳) تروفواکتودرم<sup>۳۰</sup> 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<sup>۳۱</sup> را کشف نمی‌کند. در بیوپسی در مرحله کلیواژ، از ۱-۲ 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<sup>۳۲</sup> 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<sup>۳۳</sup>. 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 موزائیسیم 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<sup>[۱۴]</sup>. تکنیک‌های مختلفی جهت غربالگری ژنتیکی وجود دارد که

شدید فاکتورهای مردانه مانند آزواسپرمی<sup>۱۷</sup> الیگوستنوتراتوآزواسپرمی<sup>۱۸</sup> سندرم کلاین فلتر<sup>۱۹</sup> حذف‌شدگی‌های کوچک کروموزوم Y و حتی مردانی که آنالیز اسپرم آنها مشکل ندارد، PGS توصیه می‌شود<sup>[۱۱]</sup>.

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

### 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<sup>[۸]</sup>. 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<sup>۲۶</sup> کوتاه اثر در میانه فاز لوتئال<sup>۱</sup> (پروتکل آگونیست بلندمدت (GnRH)، پروتکل آنتاگونیست GnRH<sup>۲۶</sup> و پروتکل تحریک اندک<sup>۲۴</sup>.

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<sup>[۱۳]</sup>. در بیماران که تحت درمان با پروتکل آگونیست قرار می‌گیرند، یکی از داروهای GnRH بلندناثر در روز ۲-۴ 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

Recombinant Human Chorionic Gonadotropin (r-HCG)<sup>۲۶</sup>  
Polar Body<sup>۲۷</sup>  
Blastomere<sup>۲۸</sup>  
Cleavage Phase<sup>۲۹</sup>  
Trophectoderm<sup>۳۰</sup>  
Postzygotic<sup>۳۱</sup>  
Mosaic<sup>۳۲</sup>  
Frozen Embryo Transfer (FET)<sup>۳۳</sup>

Azoospermia<sup>۱۷</sup>  
Oligoasthenoteratospermia<sup>۱۸</sup>  
Klinefelter Syndrome<sup>۱۹</sup>  
Gonadotropin-releasing hormone (GnRH)<sup>۲۰</sup>  
Luteal Phase<sup>۲۱</sup>  
Gonadotropin Releasing Hormone Agonist<sup>۲۲</sup>  
Gonadotropin Releasing Hormone Antagonist<sup>۲۳</sup>  
Microsimulation Model<sup>۲۴</sup>  
Antral Follicle<sup>۲۵</sup>

دان‌شنامه صرم در طب باروری

### 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<sup>۱۱</sup> 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<sup>۱۲</sup> قرار داده شدند. نمونه‌های بافت فرآوری شده با دستگاه آماده سازی بافت<sup>۱۳</sup> برای آماده سازی بلوک‌های پارافینی استفاده گردید. برش‌های ۵ میکرومتری توسط میکروتوم تهیه شد و سپس لام‌ها با هماتوکسیلین-ئوزین<sup>۱۴</sup> رنگ‌آمیزی شدند و با میکروسکوپ نوری تحت بررسی کیفی و کمی قرار گرفتند.

### تکنیک‌های IVF<sup>۱۵</sup> و ICSI<sup>۱۶</sup>

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 بسیار کم، باروری امکان پذیر است. به طور کلی این روش در مواردی استفاده می‌شود 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 می‌کنند. 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

اخیراً از تکنیک هیبریداسیون درجا فلوروسنس (FISH) برای غربالگری آنپلوئیدی استفاده می‌شود. FISH یک تکنیک استفاده از پروب فلوروسنت رنگی چندگانه است که با توالی DNA هر کروموزوم باند می‌شود و روندهای مختلف آن انجام شده و تعداد کروموزوم‌های 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 کروموزوم از ۲۳ جفت کروموزوم انسانی را تست می‌کنند. از این رو تکنیک‌های جدیدتر ابداع شد که تمام کروموزوم‌ها برای آنپلوئیدی تست شوند، که در این راستا تکنیک هیبریداسیون ژنومیک مقایسه‌ای (aCGH) پیشنهاد شد. در مطالعات اولیه از این تکنیک برای نمونه‌های بلاستومر و بعد از آن برای نمونه‌های تروفوکتودرم استفاده شد. در این روش بررسی ۲۳ جفت کروموزوم جهت کشف آنپلوئیدی و جایجایی‌های نامتعادل انجام می‌شود. برخلاف تکنیک FISH، این تکنیک در تشخیص پلی‌پلوئیدی<sup>۱۷</sup>، دیزومی تک والدی<sup>۱۸</sup>، تانوان است و همچنین نیاز به فریز کردن جنین‌ها برای چند روز وجود دارد، از این رو FISH همچنان تکنیک محبوب برای کشف آنپلوئیدی طی ۲۴-۷۲ ساعت می‌باشد<sup>۱۷-۱۵</sup>. پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNP)<sup>۱۸</sup> تکنیکی است که برای تشخیص آنپلوئیدی و جایجایی‌های 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 آنپلوئیدی از روش واکنش زنجیره پلیمرز کمی (qPCR)<sup>۱۹</sup> نیز استفاده می‌شود. این روش نمی‌تواند تنها روی یک بلاستومر انجام شود و به نمونه تروفوکتودرم 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) برای انجام PGS استفاده می‌شود. این تکنیک استاندارد که برای تقویت توالی کوتاه DNA به کار می‌رود، موتاسیون تک‌ژنی و همچنین پلی‌پلوئیدی و دیزومی تک والدی را تشخیص می‌دهد، هرچند در حال حاضر مقرون به صرفه نمی‌باشد<sup>۱۸،۲۰</sup>.

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<sup>۱۷</sup>.

Fasting Blood Sugar (FBS)<sup>۱۱</sup>  
Bouin Solution (Fixative)<sup>۱۲</sup>  
Shandon Eliot Model<sup>۱۳</sup>  
Hematoxylin and Eosin (H&E)<sup>۱۴</sup>  
In Vitro Fertilization (IVF)<sup>۱۵</sup>  
Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI)<sup>۱۶</sup>

Fluorescence In Situ Hybridization (FISH)<sup>۲۱</sup>  
Array Comparative Genomic Hybridization (aCGH)<sup>۲۰</sup>  
Polyploidy<sup>۲۱</sup>  
Uniparental Disomy (UPD)<sup>۲۲</sup>  
Single Nucleotide Polymorphism (SNP)<sup>۲۳</sup>  
Real-Time Quantitative PCR (qPCR)<sup>۲۴</sup>  
Next Generation Sequencing (NGS)<sup>۲۵</sup>

به میزان ۲mg استرادیول خوراکی<sup>۱۷</sup> دوبار در روز به مدت ۶-۷ 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)<sup>۱۸</sup>، برای بیماران دارو منوگون<sup>۱۹</sup> با دوز ۷۵IU و به مدت ۶-۷ روز استفاده می‌شود. سپس بیماران تحت ارزیابی سونوگرافی قرار می‌گیرند و وقتی ضخامت اندومتر به بالای ۷ میلی‌متر رسید، دارو پروگنیل<sup>۲۰</sup> 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<sup>۲۱</sup>.

### 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<sup>۲۱</sup>. 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 پره‌اکلامیسی، جفت سرراهی، سزارین، زایمان زودرس، وزن کم هنگام تولد، بدشکلی‌های مادرزادی، وزن کم هنگام تولد می‌باشد<sup>۲۲</sup>. 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<sup>۲۱</sup>. 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<sup>۲۳</sup>. در مواقعی که در مورد بیماران با اندیکاسیون PGS بحث می‌شود، متخصص بایستی مزایا و معایب آن را بداند<sup>۱۸</sup>. متخصصین بهداشت باروری به ارزیابی ریسک مشکلات باروری و نیاز به پیگیری می‌پردازند و مشاوره موثر در ارتباط با

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<sup>۱۹</sup>. امروزه آنالیز اسپرم بر طبق استانداردهای آزمایشگاهی WHO انجام می‌شود. معیارهای IVF به این شرح است؛ اسپرماتوزوا متحرک به مقدار  $1.0^5 \times 1/5$  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<sup>۱۹</sup>.

### انتقال جنین منجمد و جنین تازه

روند انجماد 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<sup>۱۸</sup> 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) 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 اندومتريال، 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<sup>۲۴</sup>.

### 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 می‌شود: در روش اول هورمون درمانی جایگزین (HRT)<sup>۲۵</sup>؛

<sup>۱۷</sup> Decapeptyl (Triptorelin)  
<sup>۱۸</sup> Minimal Stimulation Protocol (MSP)  
<sup>۱۹</sup> Menogon (Menotropin)  
<sup>۲۰</sup> Pregnyl (Human Chorionic Gonadotrophin, HCG)

<sup>۲۷</sup> Cryopreservation  
<sup>۲۸</sup> Fresh Embryo Transfer  
<sup>۲۹</sup> Frozen Embryo Transfer (FET)  
<sup>۳۰</sup> Hormonal Replacement Therapy

- 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.

استرس ناباروری و عوامل مرتبط با سن باروری انجام می‌دهند<sup>[۲۴]</sup>. 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.<sup>[۲۵]</sup>

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، در صورتی 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.<sup>[۲۶]</sup>

#### 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

- 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. Bushaquer 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