



بِحکامه اللّٰه المرحوم الاربعة

وبینار زمینه شکست مکرر لانه گزینی

۱۴ آذر ۱۳۹۹

دبیر علمی: دکتر مهتری مشایخی

دبیر اجرایی: آرزو اعرابی پور

برگزار کننده:

مرکز تحقیقات پزشکی تولید مثل جهاد دانشگاهی

معاونت آموزشی پژوهشگاه روان

چالش های موجود در زمینه تعریف و اتیولوژی و تشخیص زوجین نابارور با مشکل شکست مکرر لانه گزینی

دکتر مهری مشایخی

فلوشیپ نازایی، استادیار عضو هیئت علمی پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست‌شناسی و علوم پزشکی تولید مثل جهاد دانشگاهی، مرکز تحقیقات پزشکی تولید مثل، گروه اندوکرینولوژی و ناباروری زنان، تهران، ایران.

در گذشته لانه گزینی (implantation) را یک واکنشی فقط بین جنین و آندومتر می دانستند ولی اخیراً عوامل زیادی را علاوه بر جنین و پذیرش آندومتر در لانه گزینی جنین دخیل می دانند. به همین دلیل تعریف شکست مکرر لانه گزینی (RIF) با گذشت زمان تغییر کرده و روز به روز کاملتر می شود. علیرغم مقالات و مطالعات زیاد هنوز تعریف قابل قبولی برای RIF وجود ندارد.

لانه گزینی یک واقعه ای است که جنین خودش را به سطح اپی تلیوم می چسباند و سپس به آن نفوذ کرده و در نهایت به لایه های عمقی آندوتلیوم تهاجم می کند. شکست در implantation ممکن است در مراحل تماس جنین و یا در هر مرحله از مهاجرت و نفوذ جنین باشد که منجر به عدم حاملگی می شود. تعریف میزان جایگزینی (implantation rate) : تعداد جنین هایی که در سونوگرافی به شکل ساک حاملگی نسبت به کل جنین های منتقل شده به رحم دیده می شود. در سیکل های انتقال جنین در IVF وقتی جنین های ۲-۳ روزه منقل شوند میزان implantation حدود ۲۵٪ است و زمانی که جنین های ۵-۶ روزه منتقل می شوند میزان implantation معمولاً بالاتر است و حدود ۴۰٪ است.

تعریف های زیادی برای شکست مکرر لانه گزینی شده ، که بر اساس فاکتورهای مختلف بوده است . بعضی محققان اعتقاد دارند که سیکل های جنین های فریز باید برای تعریف RIF خارج شود. در هر حال تعداد جنین های انتقال یافته باید شامل هم سیکل های جنین فریز و هم سیکل های تازه برای تعریف RIF باشد. در گذشته بعضی از محققان تعریف RIF را شکست در حاملگی کلینیکی بعد از گذاشتن ۱۰ جنین در کل و بیشتر در رحم تعریف کرده اند. یک بحثی که وجود دارد این است که تعریف RIF باید بر اساس تعداد جنین های انتقال یافته باشد یا بر اساس تعداد سیکل های جنین انتقال یافته باشد . در این مورد نیز هر دو فاکتور مهم است یعنی انتقال حداقل ۴ جنین در حداقل سه سیکل انتقال جنین. در تعریف RIF سن مادر هم باید مد نظر گرفته شود. بنابراین در مجموع تعریف RIF عبارت است از شکست در حاملگی کلینیکی بعد از انتقال حداقل ۴ جنین با کیفیت خوب در حداقل سه سیکل انتقال جنین تازه و فریز شده در خانم زیر ۴۰ سال.

علل زیادی در شکست مکرر لانه گزینی دخیل هستند که عبارتند از کیفیت گامتها (اسپرم و تخمک و اختلالات کروموزومی آنها) و جنین ، اختلالات کروموزومی والدین، فاکتور رحمی (آنومالی های مادرزادی رحمی، اختلالات اکتسابی داخل کاویته رحمی : فیبروم ها ، پولیپها، چسبندگی های داخل رحمی) ، هیدروسالپنکس (می تواند از طریق اثرات توکسیک مستقیم روی جنین یا جابجایی جنین به صورت مکانیکی یا اثرات مخرب بر پذیرش آندومتر در شکست لانه گزینی نقش بیافریند) ، عوامل ایمونولوژیک و ترومبوفیلی.

شکست مکرر لانه گزینی عبارت است از شکست در حاملگی کلینیکی بعد از انتقال حداقل ۴ جنین با کیفیت خوب در حداقل سه سیکل انتقال جنین اعم از تازه و فریز شده در خانم زیر ۴۰ سال. زوجین با RIF باید تحت بررسی های لازم برای پیدا کردن علل زمینه ای آن قرار بگیرند و درمان اصلی باید باری بهبود کیفیت جنین ها و پذیرش آندومتر باشد.

رویکردهای بالینی جهت افزایش میزان پذیرش آندومتر در بیماران با مشکل شکست مکرر لانه‌گزینی

دکتر مریم حافظی

فلوشیپ نازایی، استادیار عضو هیئت علمی پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست‌شناسی و علوم پزشکی تولید مثل جهاد دانشگاهی، مرکز تحقیقات پزشکی تولید مثل، گروه اندوکرینولوژی و ناباروری زنان، تهران، ایران.

نقش receptivity آندومتر در بیماران RIF علیرغم تلاش دانشمندان در این زمینه و بررسی دقیق مراحل لانه‌گزینی همچنان به صورت black box و ناشناخته باقی مانده است .

در زمینه لانه‌گزینی به نظر می‌رسد که نه تنها نیاز به یک تخمک با کیفیت بالا و جنین خوب دارد بلکه یک آندومتر receptive هم در مؤثر بودن و cross talk بین آندومتر و جنین نقش مهمی ایفا می‌کند. بنابراین خانم‌های مبتلا به RIF غالباً به دلایل متعددی دچار نقص و اختلال در receptivity آندومتر هستند .

آندومتر یک بافت کاملاً دینامیک بوده که تحت تأثیر ترشحات هورمونی قرار گرفته و بنابراین در طی سیکل قاعدگی در آن یک سری تغییرات مولکولی، هیستوپاتولوژی و ایمونولوژیک رخ می‌دهد و این تغییرات همگی آندومتر را آماده برای پذیرش جنین بلاستوسیست می‌کند. در بیماران مبتلا به RIF دیده شده است که میزان آنومالی‌های رحمی بیشتر از جمعیت نرمال است. تنها آنومالی رحم در پذیرش آندومتر تأثیر ندارد رحم‌های آرکوئیت می‌باشند، ولی سایر آنومالی‌های رحمی با کاهش ۱۵٪ در پیش‌آگهی حاملگی همراه می‌باشند. یکی از عوامل دیگری که با کاهش پذیرش آندومتر مرتبط است عفونتهای مزمن آندومتر می‌باشد که جهت بیماران مبتلا به RIF توصیه به انجام هیستروسکوپی جهت بررسی علل رحمی از جمله اندومتریوز می‌شود. در صورت رؤیت شواهدی از اندومتریوز مزمن در هیستروسکوپی حتی اگر با پاتولوژی اثبات نشود، تجویز آنتی‌بیوتیک خوراکی و تأیید رفع اندومتریوز مزمن ضرورت دارد.

به طور کلی پذیرفته شده است که در معرض پروژسترون قرار گرفتن آندومتر، نقش اساسی در تغییرات مورد نیاز برای پذیرش جنین فراهم می‌کند. و دیگر اینکه در یک دوره محدودی از زمان در طی اواسط فاز لوتئال این تغییرات حاصل شده و زمان مناسب برای لانه‌گزینی را فراهم می‌کند؛ که اصطلاحاً پنجره لانه‌گزینی گفته می‌شود. که مدت این دوره به نظر می‌رسد که بیشتر از ۴۸ ساعت باشد که البته در حین سیکل تحریک تخمدان این زمان ممکن است ۱-۲ روز زودتر هم رخ دهد.

غلظت پروژسترون سرمی در مرحله آخر فاز فولیکولار به عنوان یک predictor قوی، در تغییرات زودرس قابل مشاهده در آندومتریوم به کار می‌رود .

دانستن فیزیولوژی آندومتر و تغییرات آن نقش مهمی در پذیرش آندومتر دارد و می‌تواند در زنان مبتلا به RIF کمک کننده باشد.

استراتژیهای انتخاب ژنتیک برای بهبود پتانسیل لانه‌گزینی جنین

دکتر حمید گورابی

استاد گروه ژنتیک تولید مثل پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست‌شناسی و علوم پزشکی تولید مثل جهاددانشگاهی، مرکز تحقیقات پزشکی تولید مثل، گروه ژنتیک، تهران، ایران

عوامل ژنتیکی از مهمترین دلایل شکست مکرر لانه‌گزینی جنین (RIF) قلمداد می‌شوند. اختلالات ژنتیکی تخمک و اسپرم ممکن است منشا اولیه تشکیل یک جنین با قدرت لانه‌گزینی پایین باشند، اگرچه پس از لقاح نیز ممکن است تکامل جنین به خودی خود به درستی پیش نرود. در بیماران RIF انجام کاریوتایپ توصیه می‌شود، اگرچه در برخی از موارد مانند کاهش ذخیره تخمدانی و یا اسپرموگرام با اختلالات شدید، بهتر است اینکار پیش‌دستانه صورت گیرد. بیره‌های ساختاری در کاریوتایپ زوج نابارور از شایعترین عوامل شکست در لانه‌گزینی و یا سقط در روزها و ماههای اولیه بارداری است. از مواردی که انجام آزمایش‌های ژنتیکی پیش از لانه‌گزینی (PGT-SR) در آن جای تردیدی نیست، بررسی ناهنجاری‌های ساختاری کروموزم‌ها مانند ترانس‌لوکیشن‌ها و اینورژن‌ها است.

از دیگر عوامل موثر در عدم لانه‌گزینی جنین، عدم صحت تعداد کروموزم‌های جنین (آنابلوییدی) است. منشا این مشکل، علیرغم کاریوتایپ طبیعی فرد می‌تواند اختلال در فرآیند تولید سلولهای اولیه جنسی (میتوز) و پس از آن در هنگام تقسیم با کاهش کروموزم (میزوز) باشد. در خانم‌ها، آنابلوییدی تخمک‌ها همراه با افزایش سن به اثبات رسیده است. به منظور بالا بردن نرخ لانه‌گزینی، بررسی وضعیت کروموزم‌های جنین به لحاظ صحت تعداد آنها می‌تواند مفید باشد. این آزمایش تحت عنوان PGT-A^۳ چنانچه با بیوپسی از تروفوکتودرم در مرحله بلاستوسیست و با بررسی جامع کروموزم‌ها با روشهایی مثل NGS^۴ یا aCGH^۵ همراه باشد، بهترین نتیجه را در بر خواهد داشت. اینکه PGT-A^۶ در مورد کدام دسته از بیماران RIF، سن بالای خانم، سقط، اختلالات شدید اسپرم... بهترین اثربخشی را دارد، همچنان مورد بحث و تحقیق است ولیکن حداقل اثر آن در انتقال تک بلاستومر یوپلوئید و جلوگیری از حاملگی چندقلویی به اثبات رسیده است. آزمایشات ژنتیکی به لحاظ هزینه بالا باید بعنوان آخرین اقدام، پس از بررسی کامل و جامع بیمار در نظر گرفته شوند.

اگرچه آمادگی رحم در پذیرش جنین از گذشته به لحاظ ضخامت اندومتر و خون‌رسانی مورد توجه بوده است، ولیکن در سالهای اخیر بررسی بیان ژنها در اندومتر نیز مورد تحقیق قرار گرفته است و حتی بصورت تجاری تست‌هایی همچون ERA^۶ در اغلب کشورها ارایه می‌گردد. این آزمایشات نشان داده است که در بیماران RIF اغلب با کاهش بیان ژنها و جایجایی زمان انتقال جنین‌ها به پیش از موعد مناسب برای لانه‌گزینی جنین (پنجره لانه‌گزینی) مواجه هستیم.

مواردی همچون شکست DNA اسپرم و تغییرات اپی‌ژنتیکی اسپرم و تخمک و تاثیر میتوکندری از سایر عوامل موثر در RIF محسوب می‌شوند که تحقیقات در مورد آنها ادامه و نظرات متفاوتی وجود دارد.

^۱Recurrent Implantation Failure

^۲Preimplantation Genetic Test-Structural Rearrangement

^۳Preimplantation Genetic Test-Aneuploidy

^۴Next Generation Sequencing

^۵Array Comparative Genomic Hybridization

^۶Endometrium Receptivity Array

^۷Implantation Window

علل اندرولوژیک در مشکل شکست مکرر لانه‌گزینی

دکتر حسام‌الدین سجادی

عضو هیئت علمی پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست‌شناسی و علوم پزشکی تولید مثل جهاددانشگاهی، مرکز تحقیقات پزشکی تولید مثل، گروه اندرولوژی، تهران، ایران

بسیاری از زوجین که با شکایت ناباروری مراجعه می‌کنند علی‌رغم چندین نوبت سیکل IVF و انتقال جنین متاسفانه موفق نبوده‌اند. پرسش این زوجین از همکاران اندرولوژیست این است که آیا این مسأله مربوط به فاکتور مردانه و اسپرم می‌باشد یا خیر؟ این پرسش بسیار چالش‌برانگیز چه برای پزشکان و چه برای بیماران می‌باشد. در این سخنرانی سعی شده است که به صورت خلاصه به این پرسش پاسخ داده شود. همانطور که می‌دانیم نقص لانه‌گزینی می‌تواند مربوط به علل رحمی، فاکتورهای جنینی و علل مردانه باشد. در سیکلهای ART پارامترهای غیر طبیعی اسپرم با کاهش تشکیل بلاستوسیت همراه بوده و همچنین می‌تواند بر روی Pre-implantation embryo development اثر بگذارد.

عواملی که بر روی کیفیت و DNA اسپرم و بر نتیجه لانه‌گزینی می‌تواند تأثیر داشته باشد شامل: سبک زندگی (life style)، مورفولوژی اسپرم، شاخص فراگمنتاسیون DNA اسپرم (DFI)، کاریوتایپ بیمار و کاریوتایپ اسپرم. عواملی مانند مصرف آنتی‌اکسیدانها، درمان جراحی واریکوسل و کاهش وزن ممکن است در بهبود DFI مؤثر باشد.

نقش عوامل ایمنولوژیک در شکست مکرر لانه گزینی (مکانیسم و رویکردهای درمانی)

دکتر الهام امیر چقماقی MD , PhD

عضو هیئت علمی پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست‌شناسی و علوم پزشکی تولید مثل جهاد دانشگاهی، مرکز تحقیقات پزشکی تولید مثل، گروه اندوکرینولوژی و ناباروری زنان، تهران، ایران.

از آنجا که نقش سیستم ایمنی مادر در موفقیت بارداری ثابت شده است، از دیرباز، عوامل ایمنولوژیک در موفقیت سیکلهای کمک باروری (ART) و درمان خانمهای مبتلا به شکست مکرر لانه گزینی (RIF) مورد توجه بوده اند. سلولها و اجزای مختلف سیستم ایمنی در بارداری موثرند و تغییرات آنها در خانمهای مبتلا به شکست مکرر لانه گزینی به طرق مختلف مطالعه شده است. از سلولهای سیستم ایمنی که در بارداری نقش مهمی دارند می توان به انواع لنفوسیتها، سلولهای دندریتیک (DC) و سلولهای کشنده ذاتی (NK) اشاره کرد. از اجزای دیگر سیستم ایمنی که در بارداری موثرند می توان به انواع سیتوکینها، کموکینها و مولکولهای چسبان اشاره کرد. تستهای تشخیصی مختلف نظیر سنجش انواع سلولهای ایمنی نظیر سلولهای کشنده ذاتی در خون محیطی و بافت رحم و سنجش سیتوکینها و اتو آنتی بادیها (نظیر آنتی بادی ضد هسته ای ANA و آنتی بادی علیه DNA دو رشته ای anti dsDNA Ab) در این خانمها مطالعه شده اند. از سوی دیگر، در مطالعات مختلف عوامل درمانی مختلف نظیر آسپرین، داروهای ایمنوساپرسیو (Immunosuppressive agents)، هیدروکسی کلروکین، پردنیزولون، تزریق داخل وریدی ایمنوگلوبینها (IVIg) و تزریق داخل رحمی عوامل مختلف نظیر پلاسمای غنی از پلاکت (PRP)، فاکتور محرک کلونی گرانولوسیتها (G-CSF) و سلولهای تک هسته ای خون محیطی (PBMC) در درمان خانمهای مبتلا به شکست مکرر لانه گزینی بررسی شده اند. با وجود مطالعات متفاوت، هنوز در خصوص روش استاندارد تشخیص و درمان علل ایمنولوژیک در خانمهای مبتلا به شکست مکرر لانه گزینی، گایدلاین جهانی و اتفاق نظر وجود ندارد.

روش بهینه سازی کشت جنین در شکست مکرر لانه گزینی

دکتر بهار موقر

جنین شناس و عضو هیئت علمی پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست شناسی و علوم پزشکی تولید مثل جهاددانشگاهی، مرکز تحقیقات پزشکی تولید مثل، گروه جنین شناسی، تهران، ایران

شکست مکرر لانه گزینی به گونه های مختلفی تعریف شده است که از آن میان میتوان به عدم بروز بارداری پس از دستکم انتقال پنج جنین با کیفیت مناسب در مرحله کلیواژتی سه پروسه انتقال جنین در خانمهای کمتر از ۴۰ سال اشاره نمود. هرچند در این تعریف تاکید بر انتقال جنینهای با کیفیت مطلوب است و با اینکه طبق بسیاری از مطالعات، دلیل شکستها در دو سوم موارد به اختلالات رحمی برمی گردد، تلاش برای ارتقا کیفیت جنینها نه تنها برای افزایش شانس لانه گزینی بلکه با هدف به حداقل رساندن اختلالات پس از تولد، همواره مورد توجه بوده است. در این میان، بهینه سازی محیط های کشت از طریق افزودن فاکتورهایی مانند فاکتور رشد اپیدرمی و یا افزودن Q10 به محیط کشت بوسیله تاثیر بر عملکرد میتوکندریها از جمله اقدامات موثر میباشد. تفاوت های موجود در ترکیبات مغذی لوله فالوپ و رحم نیز در طراحی محیطهای کشت همواره مورد توجه بوده است. بدین ترتیب که غلظت لاکتات و پیرووات در لوله فالوپ بالا و گلوکز پایین است اما در رحم میزان گلوکز بالا و لاکتات و پیرووات پایین می باشد. از سوی دیگر برای بهبود کشت جنینها از روشهایی مانند هم کشتی با سلولهای مادر، بخصوص سلولهای پوششی اندومتر میتوان بهره برد. گذشته از تغییر در محیط کشت، تغییر در مدت زمان کشت جنینها نیز میتواند سودمند باشد. بنابراین کشت جنینها به مدت پنج روز و انتقال جنین پنج روزه یا بلاستوسیست در برخی آزمایشگاه های جنین شناسی متداول است. از مزایای این روش، انتخاب جنینهای بهتر و انتقال تعداد کمتر جنین و در نتیجه کاهش ریسک چندقلو زایی میباشد. از آنجا که در افراد با شکست مکرر لانه گزینی، یکی از مشکلات مربوط به عدم تخمین زمان دقیق زمان پنجره لانه گزینی در مقایسه با افراد بارور میباشد، انتقال همزمان دو جنین در مرحله بلاستوسیست و تسهیم ممکن است بتواند به حل این مشکل کمک نماید. در کنار روشهای فوق استفاده از تکنیک هایی همچون انتخاب اسپرم با بزرگنمایی بالا برای تزریق به سیتوپلاسم تخمک، سود بردن از لیزر برای نازک کردن و یا ایجاد شکاف در لایه زونا پلوسیدا و نیز انتقال جنین در سیکلهای انجمادی، مفید بنظر میرسد.

نقش اندومتريت مزمن و ترومبوفیلی در شکست مکرر لانه‌گزینی و نحوه درمان آنها

دکتر پریسا مصطفائی

فلوشیپ نازایی، عضو تیم تخصصی درمان ناباروری پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست‌شناسی و علوم پزشکی تولید مثل جهاد دانشگاهی، مرکز تحقیقات پزشکی تولید مثل، گروه اندوکرینولوژی و ناباروری زنان، تهران، ایران.

اندومتريت مزمن (chronic endometritis) نوعی بیماری با التهاب مختصر است که با حضور پلازما سل ها در ناحیه ی استرومای اندومتر مشخص می شود. مراحل مختلف لانه‌گزینی بطرز ظریفی توسط سلولهای ایمنی و سیتوکین ها تنظیم می شود و مطالعات In Vitro نشان داده است که اندومتريت مزمن از طریق اختلال در دسیدوالیزه شدن و تغییر بروز پروتئین های درگیر در پذیرش اندومتر و پروتئین های آپوپتوتیک باعث کاهش لانه‌گزینی می شود. اندومتريت مزمن علائم ناچیزی مانند AUB، لکوره، درد لگن و دیس پارونی ایجتد می کند. در اکثر موارد بدون علامت است ولی در هیستروسکوپی نماهایی چون میکروپولیپ، ادم استروما و هایپرمی فوکال یا منتشر در افراد مبتلا به اندومتريت مزمن قابل مشاهده است. تشخیص قطعی و گلداستاندارد اندومتريت مزمن فقط از طریق بافت شناسی و رویت پلازما سل ها در استرومای اندومتر است که به وسیله روشهای رنگ آمیزی هماتوکسیلین ائوزین (H&E) یا ایمونوهیستوکمیستری (IHC) برای یافتن مارکر CD138 پلازما سل ها است که روش IHC، reliable تر از روش H&E در تشخیص پلازما سل ها است. براساس مطالعات مختلف، اندومتريت مزمن تا ۶۰ درصد در زنان مبتلا RIF و recurrent implantation failure گزارش شده است. براساس مطالعات، درمان اندومتريت مزمن را می توان بر اساس کشت انجام داد و درمان پیه‌شهادی در موارد باکتری های گرم منفی؛ سیپروفلوکسولون ۵۰۰ میلی گرم دوبار در روز به مدت ۱۰ روز و در موارد باکتریهای گرم مثبت، آموکسی سیلین + کلاوونات ۱ گرم، دوبار در روز به مدت ۸ روز و در موارد میکوپلازما، اورئوپلازما اورئالیتیکوم، Josamycin یک گرم دوبار در روز و در زنان مبتلا با کشت های منفی براساس گایدلاین CDC سفتریاکسون ۲۵۰ میلی گرم، عضلانی (تک دوز) به همراه مترونیدازول ۵۰۰ میلی گرم دوبار در روز خوراکی می باشد. در اکثر مطالعات و نیز متآنالیز درمان اندومتريت مزمن باعث بهبود میزان لانه‌گزینی و افزایش میزان تولد زنده در افراد بهبود یافته می شود. نتایج مطالعات قویاً نشان می دهد که اندومتريت مزمن یک فاکتور برگشت پذیر نازایی است و تشخیص و درمان آن ممکن شانس موفقیت سیکل بعدی در بیماران RIF را افزایش دهد. این افزایش زمانی رخ می دهد که تشخیص بهبود بیماری با بیوپسی قبل از ورود سیکل IVF بعدی ثابت شده باشد.

ترومبوفیلی وضعیتی است که در آن انعقادپذیری خون افزایش می یابد. لانه‌گزینی جنین وابسته به خونرسانی مناسب بسته میکروواسکولر است و ایجاد لخته در این عروق دسیدوا در طی لانه‌گزینی به علت افزایش انعقادپذیری خون به عنوان یکی از فاکتورهای دخیل در شکست مکرر لانه‌گزینی مطرح شده است. در مجموع ثابت نشده که ترومبوفیلیا علت RIF در بیماران IVF باشد با این حال مطالعات مشاهده ای case-control، شیوع بالاتر فاکتورهای ترومبوفیلی را در بیماران RIF در مقایسه با بیماران بارور نشان داده اند. Routine Screening برای ترومبوفیلی در بیماران RIF هنوز اجباری نشده است. استفاده از LMWH (Low Molecular Weight Heparin) به منظور افزایش تولد زنده در بیماران RIF هنوز اثبات نشده است، اگرچه ریسک ترومبوز در دوران تحریک تخمدان و حاملگی ممکن است نیاز به داروهای آنتی کوآگولانت را در بیماران با ریسک ترومبوز (مثلاً بیماران با موتاسیون FVL از نوع هموزیگوت) را لازم سازد.