


فهرست مطالب

پیشگفتار.....	۷
فصل اول: تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم.....	۹
فصل دوم: روش‌های پیشرفته در ارزیابی‌های اسپرم.....	۲۹
فصل سوم: ارزیابی مرفولوژیک اندامک‌های اسپرم متحرک (MSOME).....	۶۷
فصل چهارم: جنبه‌های تکنیکی MSOME.....	۱۰۳
فصل پنجم: پیدایش واکوئل در اسپرم.....	۱۲۳
فصل ششم: واکوئل‌های اسپرم و وضعیت هسته در ارزیابی‌های MSOME.....	۱۵۱
فصل هفتم: ارزیابی آپوپتوز در اسپرم.....	۱۷۹
فصل هشتم: انتخاب اسپرم بر اساس ویژگی بار الکترواستاتیک.....	۱۹۹
فصل نهم: انتخاب اسپرم بر اساس اتصال به اسید هیالورونیک.....	۲۱۹
فصل دهم: ارزیابی عملکرد اسپرم با استفاده از سنجش Hemi-zona.....	۲۳۳
فصل یازدهم: ارزیابی‌های ژنتیکی در ناباروری مردانه.....	۲۴۷
واژه‌یاب.....	۲۷۱

پیشگفتار

در چند دهه‌ی اخیر، پیشرفت‌های علمی قابل توجهی در زمینه‌ی تکنیک‌های کمک‌باروری (ART) صورت گرفته است. این پیشرفت‌ها، گزینه‌های متعددی به افراد نابارور ارائه نموده و امید به داشتن فرزند را در آنها تقویت نموده است. همزمان با این پیشرفت‌ها، تقاضا برای استفاده از ART نیز بیشتر از قبل شده است. اخیراً، تأکید زیادی بر بررسی ویژگی‌های اسپرم مورد استفاده در تکنیک‌های کمک‌باروری شده است. شناسایی ناهنجاری‌های مورفولوژیکی اسپرم درک بهتری از عملکرد اسپرم را فراهم می‌کند و اهمیت روش انتخاب اسپرم که به موفقیت کلی تکنیک‌های خاص کمک‌باروری و افزایش شانس بارداری منجر شده را برجسته می‌سازد. اکنون مشخص شده است که اسپرم انسان نقش مهمی در رویدادهای کلیدی که پس از لقاح اتفاق افتاده دارد. کتاب حاضر اطلاعات مهمی در مورد تکنیک‌های انتخاب اسپرم در روش‌های مختلف ART شامل آماده‌سازی پایه اسپرم، تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم (ICSI)، روش اتصال به هیالورونیک و تزریق فیزیولوژیکی اسپرم به داخل سیتوپلاسم (PICS)، ارزیابی مورفولوژی اندامک‌های اسپرم متحرک (MSOME) و تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم انتخاب شده بر اساس مورفولوژی (IMSI) را فراهم می‌آورد. در این کتاب مفهوم وجود انکسار کامل، جزئی، نامنظم یا فقدان آن در سر اسپرم، وجود واکوئل‌ها در سر اسپرم، ارزیابی کروماتین اسپرم، ساختار کروموزومی و یکپارچگی DNA آن از طریق MSOME در اسپرم تازه و منجمد شده به طور کامل مورد بررسی قرار گرفته است. تست‌های نوین بررسی اسپرم، انتخاب اسپرم بر اساس بار سطحی و انتخاب اسپرم غیر آپوپتوتیک نیز بررسی می‌شود. در مجموع، این کتاب تکنیک‌های غیرتهاجمی انتخاب اسپرم که در حال حاضر در دسترس هستند و تکنیک‌هایی که برای کمک به انتخاب بهترین اسپرم ممکن برای لقاح و تکوین جنین طی کمک‌باروری توسعه یافته‌اند را ارائه می‌دهد. این کتاب همچنین تحولات مهم اخیر در حوزه انتخاب اسپرم برای ART از جمله پیشرفت‌های حوزه ژنومیک و پروتئومیکس را ارزیابی می‌کند و امکان ایمنی روش‌های نوین و تاثیرگذاری آن‌ها بر کیفیت اسپرم و نتیجه ART را مورد بحث قرار می‌دهد. علاوه بر این، این کتاب توصیه‌هایی در مورد کاربرد بالینی و تحقیقاتی تکنیک‌های غیرتهاجمی انتخاب اسپرم ارائه می‌دهد. شایان ذکر است که کتاب حاضر توسط شورای انتشارات معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شاهرود دآوری و تأیید شده است. بدیهی است که کتاب حاضر خالی از اشکال نبوده و مؤلفین از هرگونه پیشنهاد و انتقاد از سوی خوانندگان محترم کتاب با کمال میل استقبال می‌نمایند. در پایان، از مجموعه وزین انتشارات رویان پژوه جهت همکاری‌های بی‌دریغ در امر چاپ این کتاب تشکر و قدرانی می‌نماییم.

گروه مؤلفین



فصل اول
تزریق داخل
سیتوپلازمے اسپرم

مقدمه

ناباروری حدود ۱۵-۱۲٪ زوجین در سن باروری را تحت تأثیر قرار می‌دهد^[۱] و هر ساله حدود نیمی از زوجین، یعنی حدود ۱/۲ میلیون زوج در دنیا از روش‌های کمک‌باروری بهره‌مند می‌شوند^[۲]. از سال ۱۹۷۸ که اولین تولد نوزاد انسان به دنبال استفاده از لقاح آزمایشگاهی (IVF)^۱ اتفاق افتاد این روش بطور گسترده برای غلبه بر مشکلاتی همچون ناباروری لوله‌ای بکار برده شده است اما از همان ابتدا چالش اصلی، لقاح گامت‌ها در فرایند IVF برای دستیابی به یک میزان قابل پیش‌بینی باروری بخصوص در موارد سیمن غیربهینه^۲ بود. در حقیقت چنانچه از موارد ناباروری غیرقابل توجیه^۳ و ناباروری هم‌زمان^۴ چشم‌پوشی کنیم علل اصلی ناباروری تقریباً بطور مساوی به فاکتورهای مردانه و فاکتورهای زنانه قابل تقسیم هستند. در غالب موارد، ناباروری مردانه به دلیل ناتوانی اسپرم در بارور کردن تخمک می‌باشد. در گذشته، دلیل عدم باروری تخمک بوسیله اسپرم در طی IVF را به مشکلات زوناپلوسیداربط می‌دادند^[۲]. بنابراین روش‌هایی برای غلبه بر این مشکلات ابداع گردید. استفاده از میکرومانیپولیشن^۵ از میانه‌ی دهه ۸۰ با تکنیک‌های سوراخ کردن زونا (ZD)^۶ و برش نسبی زونا (PZD)^۷ آغاز گردید^[۲]. در PZD تخریب مکانیکی زونا پلوسیدا باعث می‌شود تا اسپرم‌ها به راحتی وارد فضای پری‌ویتلین اووسیت شوند. اولین بار Gordon و Talansky سوراخ کردن زونا را بوسیله یک سوزن ظریف و با استفاده از محلول اسید تایرو^۸ گزارش کردند^[۲]. اما مشکل این روش ورود بیش از یک اسپرم از طریق زونای سوراخ شده بود که منجر به پلی‌اسپرمی^۹ می‌گردید. علاوه بر این استفاده از محیط اسیدی برای ایجاد سوراخ اثر سوء بر تخمک داشت (استفاده از محلول اسیدی برای hatching، اثر سوئی روی امبریوی مرحله کلیواژ ندارد). حتی استفاده از لیزر برای باز کردن زونا باعث افزایش در ریت بارداری نشد^[۵،۴]. برای غلبه بر مشکلات ناشی از ZD و PZD، تکنیک تزریق اسپرم زیر زونا (SUZI)^{۱۰} ابداع گردید که اثر بخشی آن بخصوص وقتی بطور هم‌زمان از القای واکنش آکروزومال استفاده می‌گردید بیش از تکنیک‌های قبلی بود^[۷،۶]. در SUZI چندین اسپرم متحرک (۲۰-۳ عدد) بوسیله‌ی پیپت تزریق مستقیماً وارد فضای پری‌ویتلین می‌شوند. با این حال استفاده از SUZI نیز به دلیل ناتوانی در غلبه بر ابنورمالیتی‌های کروموزومی، اختلال در اتصال اسپرم و اوولما و همچنین میزان باروری کم محدود گردید^[۸].

1. In vitro fertilization
2. Suboptimal semen
3. Unexplained infertility
4. Concurrent infertility
5. Micromanipulation
6. Zona drilling
7. Partial zona dissection
8. Tyrode acid
9. Poly spermia
10. Subzonal sperm injection

بجز مردان آزواسپرمیا^۱ (که نه اسپرم و نه اسپرماتید قابل استخراج دارند)، تمام موارد ناباروری مردانه با ICSI قابل درمان هستند. هیچ یک از تکنیک‌های کمک‌باروری (ART)^۲ به اندازه ICSI در زمینه باروری موفقیت‌آمیز نبودند^۹. تعداد بسیار کم اسپرم، اختلال در تحرک و مورفولوژی ضعیف اسپرم‌ها، دلایل اصلی شکست باروری به دنبال استفاده از IVF می‌باشند در حالیکه ICSI قادر به بهبود باروری در شرایط فوق می‌باشد^{۱۰}. ICSI تکنیکی بسیار تهاجمی‌تر می‌باشد زیرا در این روش یک اسپرم مستقیماً به داخل اووپلاسم تزریق می‌شود. بنابراین در این روش، اسپرم علاوه بر زونا پلوسیدا از اوولما هم عبور داده می‌شود^{۱۱}. تکنیک ICSI در سال ۱۹۹۶ ابداع شد و در روی گامت‌های غیرپستانداران مورد آزمایش قرار گرفت. پیش از استفاده در انسان، ICSI بطور موفقیت‌آمیزی در گربه و خرگوش استفاده شده بود^{۱۲}. این تکنیک در ابتدا با هدف باروری انجام نگرفت بلکه برای اثبات این موضوع بکار رفت که از بین رفتن تراکم هسته اسپرم^۳ و تشکیل پیش هسته مذکر^۴ پیش از تماس بین اسپرم و غشای اووسیت ضروری نیستند^{۱۳}. ICSI با استفاده از اسپرم خرگوش نه تنها منجر به تشکیل پیش هسته مذکر شد بلکه منجر به کلیواژ امبریونیک بیشتر و تولد زنده نرمال نیز گردید^{۱۴، ۱۵}. اولین ICSI بر روی اووسیت انسانی توسط Lanzendorf و همکاران در سال ۱۹۸۸ انجام شد^{۱۶}. آن‌ها نشان دادند که اووسیت انسانی پس از میکروانجکشن زنده می‌ماند و قادر به تشکیل پیش هسته‌های مؤنث و مذکر می‌باشد و نهایتاً در سال ۱۹۹۹ اولین بارداری موفقیت‌آمیز به دنبال ICSI در انسان گزارش گردید^{۱۷}. ICSI بطور وسیعی برای هر نوعی از ناباروری مردانه مورد استفاده قرار گرفته است^{۱۸-۲۰}. با این تکنیک در اولیگوآستنواسپرمیای^۵ شدید به همان میزان باروری در موارد اولیگواسپرمیای خفیف می‌توان دست یافت و این میزان تفاوتی با میزان بارداری به دنبال IVF در مردان نرمال ندارد^{۱۸}.

اندیکاسیون‌های ICSI

تاکنون استاندارد مشخصی برای انتخاب بیماران برای ICSI تعریف نشده است. توافق عمومی بر این است که وقتی بیماری پارامترهای اسپرم ضعیفی دارد و یا بیمار سابقه‌ای از شکست باروری^۶ به دنبال IVF دارد کاندید ICSI می‌باشد^{۲۱، ۲۲}. گرچه اووسیتی که تحت IVF قرار گرفته و بارور نشده است را می‌توان تحت ICSI قرار داد اما در این صورت خطر بارورسازی اووسیت مسن^۷ وجود دارد^{۲۳}. غالب اووسیت‌های

1. Azoospermia
2. Assisted reproductive technology
3. Sperm nuclear decondensation
4. Male pronuclear
5. Oligoasthenozoospermia
6. Fertilization failure
7. Aged egg

بارور شده با این روش از بین می‌روند و مطالعات سیتوژنتیک حاکی از افزایش اختلالات کروموزومی در محصولات بارداری در چنین مواردی است [۲۵، ۲۴]. به همین دلیل تلقیح چنین اووسیت‌هایی با استفاده از ICSI توصیه نمی‌شود. وقتی غلظت اسپرم کمتر از ۵ میلیون در میلی‌لیتر باشد احتمال باروری با روش IVF استاندارد به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد [۲۶]. در چنین زوج‌هایی بخصوص وقتی کمتر از ۱٪ اسپرم‌ها مورفولوژی طبیعی دارند IVF روش مناسبی نیست. به دنبال IVF، باروری اووسیت‌های ماچور حتی در حضور اسپرم نرمال [۲۷] به دلیل سختی^۱ زونا پلوسیدا [۲۸] یا به دلیل انکلوزیون‌های اووپلاسمیک^۲ [۲۹، ۳۰] با شکست مواجه می‌شود. اینورمالیتی‌های زونا پلوسیدا مانع از اتصال اسپرم با اوولما می‌شود [۳۱]. شکست در باروری به دنبال IVF معمولاً با اینورمالیتی‌های اسپرم همراه است که در این صورت، ICSI تنها روش پیشنهادی به این بیماران می‌باشد [۱۵].

اندیکاسیون‌های ICSI به شرح زیرند:

- اولیگواستنواسپرمیا شدید [۳۲]
- پارامترهای سیمن مرزی^۳، در چنین بیمارانی میزان باروری با استفاده از ICSI بیش از IVF می‌باشد [۳۳]
- ناباروری با دلیل ناشناخته^۴، در این بیماران نیز میزان باروری با استفاده از ICSI بیش از IVF می‌باشد [۳۴]
- شکست باروری به دنبال IVF
- ناباروری ایمونولوژیک یا اسپرم فاقد آکروزوم [۳۵]
- آستنواسپرمیای کامل^۵، در چنین بیمارانی میزان باروری کم می‌باشد مگر اینکه از HOS test^۶ و یا از اسپرم‌های استخراجی از بیضه‌ها استفاده شود [۳۸-۳۶]
- آزنواسپرمیای انسدادی، استفاده از اسپرماتوزوئیدهای استخراجی از اپیدیدیم یا بیضه [۳۹-۴۲]

در صورت در دسترس نبودن شوهر، اختلالات انزال مانند انزال رتروگرید^۷ و غلظت خیلی کم اسپرم می‌تواند از اسپرم فریز شده که از بیوپسی بیضه بدست آمده است استفاده کرد. همچنین در مردانی که به دلیل کانسر تحت شیمی درمانی یا پرتودرمانی قرار می‌گیرند، یکبار انزال قبل از شروع درمان کانسر می‌تواند

1. Hardening
2. Ooplasmic inclusions
3. Borderline
4. Unexplained infertility
5. Total asthenozoospermia
6. Hypo-osmotic swelling test
7. Retrograde ejaculation