اختلالات کروموزومی در جنینهای دو تا هشت سلولی حاصل از روشهای لقاح آزمایشگاهی

حسین مزدارانی Ph.D.☆♦، لیلی سماک M.Sc.*

☆ دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه رادیولوژی

* جهاد دانشگاهی علوم پزشکی ایران، پژوهشکده رویان

♦ آدرس مکاتبه: تهران، صندوق پستی ۴۶۴۴-۱۹۳۹۵، پژوهشکده رویان، گروه ژنتیک

چکیده

* **هدف:** تعیین فراوانی ناهنجاریهای کروموزومی در جنینهای دو تا هشت سلولی، بررسی ارتباط مورفولوژی جنین با نوع ناهنجاری کروموزومی و مقایسه فراوانی ناهنجاریهای کروموزومی در روشهای لقاح آزمایشگاهی در دو روش IVF (In vitro Fertilization) و ICSI (Intracytoplasmic Sperm Injection)

* **مواد و روشها:** ۲۳۷ جنین با مورفولوژیهای متفاوت بین مراحل مختلف تقسیم تا هشت سلولی که به دلیل مورفولوژی نا مناسب، قابل انجماد یا انتقال نبوده‌اند، در محیط کشت Ham's F10 همراه با ۱۰ درصد سرم انسانی نگهداری و تحت‌تأثیر ۰/۲ μg/mL کلشی‌سین قرار گرفتند. برای بررسی سیتوژنتیکی از روش Dyban استفاده شد.

* **یافته‌ها:** از ۲۳۷ جنین بررسی شده فقط ۱۳۸ جنین از نظر سیتوژنتیکی قابل بررسی بود. به‌طور کلی میزان ناهنجاریهای کروموزومی بین این جنینها ۸۹/۸۶ درصد مشاهده شده است. در مراحل ۴-۲ سلولی (تعداد ۹۰ مورد) ۹۱/۷ درصد و در مراحل ۸-۵ سلولی (تعداد ۶۵ مورد) ۸۵/۳ درصد ناهنجاری مشاهده شد. فراوانی جنینهای با اشکال بلاستومری غیرطبیعی و مورفولوژی بد ۸۴/۰۳ درصد و جنینهای با مورفولوژی خوب ۱۵/۹۷ درصد بوده است. در تمام گروههای مورد بررسی آنیوپلوییدی فراوانترین نوع ناهنجاری مشاهده شده بود (۴۳/۴۸ درصد). بررسی سیتوژنتیکی جنینهای حاصل از روشهای IVF و ICSI نشان می‌دهد که اگرچه فراوانی ناهنجاریها در روش ICSI بیشتر از روش IVF است اما این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نیست.

* **نتیجه‌گیری:** نتایج نشان می‌دهند که جنینهای با ناهنجاریهای کروموزومی در طول مراحل تکوین از بین می‌روند و رخداد اختلالات کروموزومی از علل عمدهٔ مرگ جنین به حساب می‌آید. همچنین افزایش سن مادر می‌تواند القاءکنندهٔ ناهنجاریها خصوصاً آنیوپلوئیدی در جنین باشد. این بررسی مشخص می‌کند که جنینهایی که ظاهر مناسب یا مورفولوژی بد دارند می‌توانند از نظر مجموعهٔ کروموزومی طبیعی یا غیرطبیعی باشند. بنابراین مورفولوژی جنین نشانگر وضعیت دقیق کروموزومهای آن نیست. لذا به‌کارگیری یک روش قابل اعتماد برای انتخاب جنینهایی که از نظر ژنتیکی طبیعی باشند ضروری بوده و باعث افزایش بازده درمانی روشهای لقاح آزمایشگاهی می‌شود.

گل واژگان: اختلالات کروموزومی، جنین قبل از لانه‌گزینی، لقاح آزمایشگاهی

مقدمه

علی‌رغم درصد بالای موفقیت لقاح آزمایشگاهی و تشکیل جنین در خارج رحم، میزان درصد بارداری بسیار کم است و حداکثر ۱۸-۱۵ درصد جنینهای انتقال یافته به مادر به تولد منتهی می‌شود (۱). بررسی سیتوژنتیکی سقطهای خودبه‌خود (۲) و گامتهای انسان (۳) نشان می‌دهند که ناهنجاریهای کروموزومی دلیل عمدهٔ سقط در انسان و یا عدم لانه‌گزینی جنینها هستند و اغلب این اختلالات از گامتهای انسانی منشاء می‌گیرند (۴). مطالعات سیتوژنتیکی نشان داده‌اند که میزان ناهنجاریهای کروموزومی در سقط سه ماهه اول بارداری ۱۵ درصد (۵، ۶)، در بدو تولد ۶ درصد (۷) و بین کودکانی که بعد از تولد زنده می‌مانند ۶/۰ درصد (۸) است. این الگوی سقط براساس ساختمان غیرطبیعی کروموزومها ممکن است در مراحل پیش از لانه‌گزینی جنین نیز اتفاق بیافتد، زیرا میزان بالای ناهنجاری کروموزومی در جنینهای انسانی (۹)، توقف رشد و نمو و تخریب کروموزومهای غیرطبیعی که باعث کاهش لانه‌گزینی می‌شود (۱۰) تا ۲۳ درصد گزارش شده است.

در روش IVF، قریب به ۸۵ درصد جنینهایی که منتقل می‌شوند در لانه‌گزینی شکست می‌خورند و از بقیهٔ آنها حدود ۳۰-۲۴ درصد سقط می‌شوند (۱۱، ۱۲). در محیط کشت هم تنها ۱۷-۱۶ درصد جنینها به مرحلهٔ بلاستوسیست می‌رسند (۱۳، ۱۴). میزان ناهنجاریهای کروموزومی در جنینهای حاصل از IVF بسیار بیشتر از مجموع اختلالات گزارش شده در اسپرم و اووسیت است (۱۰). این گزارشها اهمیت بررسی ناهنجاریهای کروموزومی جنینها را پس از IVF نشان می‌دهند.

کاهش میزان باروری و فراوانی سقط جنین بعد از روش ICSI نیز مانند سایر روشهای IVF گزارش شده است (۱۶). اگر روند تزریق داخل سیتوپلاسمی موجب اختلال در ساختمان دوک تقسیم شود، به تقسیم طبیعی کروموزومها آسیب وارد می‌کند که در اولین متافاز قابل مشاهده است (۱۷). همچنین گزارش شده است که مراحل ICSI ممکن است منجر به ناهنجاریهای کروموزومی جنسی شوند (۱۸، ۱۹). یک دلیل ممکن برای فراوانی بالای آنیوپلوییدی کروموزومهای جنسی می‌تواند ناشی از اسپرم افرادی با سندرم کلاین فلتر و یا موزائیسم ۴۶XY/۴۷XXY باشد. تمام افراد مبتلا به سندرم کلاین فلتر، آزواسپرم نیستند بلکه ۷ درصد این افراد دارای اسپرم هستند (۲۰). از طرفی موزائیسم سلولهای جنسی به فرم XY/XXY نیز امکان‌پذیر است (۲۱). پس ممکن است اسپرم ۲۴XX و یا ۲۴XY به یک اووست تزریق شود. میزان رخداد آنیوپلوئیدی کروموزومهای جنسی بعد از انجام ICSI یک درصد گزارش شده است که حدود ۱۰ برابر میزان رخداد طبیعی آن در جمعیت است (۱۰۰۰: ۱) (۲۲).

در این بررسی فراوانی ناهنجاریهای سیتوژنتیکی در جنینهای دو تا هشت سلولی پس از روشهای IVF و ICSI با تأکید بر عوامل مؤثر در ایجاد ناهنجاری مطالعه شده است.

مواد و روشها

در این بررسی ۲۳۷ جنین با مورفولوژی متفاوت بین مراحل مختلف تقسیم تا هشت سلولی که قابل انتقال به رحم یا انجماد نبوده‌اند مورد بررسی سیتوژنتیکی قرار گرفتند. ابتدا وضعیت و تعداد پیش هسته‌های تشکیل شده پس از لقاح تعیین و سپس تعداد سلولهای جنینی در زیر میکروسکوپ اینورت مشخص شد. جنینها براساس مورفولوژی سلولها از نظر اندازه، تقسیم یکسان، نداشتن گرانول و قطعه‌قطعه شدن، در دو گروه با مورفولوژی خوب یا بد تقسیم‌بندی شدند. سپس سلولها به محیط Ham's F10 (سیگما) همراه با ۱۰درصد سرم انسانی منتقل و در انکوباتور با دمای ۳۷° سانتی‌گراد و ۵ درصد گاز کربنیک نگهداری شد. به‌منظور توقف سلولها در مرحلهٔ متافاز ازکلشی‌سین (سیگما) با غلظت ۰/۲/µg/mL استفاده شد که جنینهای ۴-۲ سلولی به‌مدت ۲۴ ساعت و جنینهای ۸-۵ سلولی به‌مدت ۸-۴ ساعت در شرایط مناسب تحت تیمار با کلشی‌سین قرار گرفتند (۲۳).

* روش سیتوژنتیک

در این مطالعه از روش Dyban (۲۴، ۲۵) که یکی از مطلوبترین روشها برای مشاهدهٔ کروموزومهای سلولهای جنینی است استفاده شد. جنینها به شیشهٔ ساعت حاوی محلول سرد هیپوتونیک متشکل از تری‌سیترات سدیم ۱/۹۳ درصد و کلرید‌پتاسیم ۰/۵۶ درصد منتقل و بسته به مرحلهٔ رشد و تعداد سلولهای جنین به مدت ۶۰-۲۵ دقیقه در آن نگهداری شد. سپس جنینها به ظرف حاوی محلول کارنوی سرد متشکل از سه حجم متانول و یک حجم اسیداستیک خالص منتقل و به‌مدت ۵-۳ دقیقه نگهداری شدند تا علاوه بر از بین رفتن قشر شفاف، جنین نیز ثابت شود. جنینها بر روی لام تمیز منتقل شده و یک قطره از مخلوط هم حجم اسیداستیک ۷۵ درصد و متانول سرد بر روی آن قرار داده شد. این کار یک بار دیگر با استفاده از مخلوط هم حجم متانول و اسیداستیک خالص تکرار شد و با دمیدن بر روی لام، خشک شدن لام تسریع شد. در پایان مرحلهٔ فیکساسیون با محلول تثبیت کنندهٔ نهایی که شامل سه حجم متانول و یک حجم اسیداستیک خالص است روی لام انجام شد.

لامهای تهیه شده در گیمسای ۱۰ درصد به‌مدت ۱۰ دقیقه رنگ‌آمیزی شد. سلولها با استفاده از میکروسکوپ نوری با درشت‌نمایی ۱۰۰۰×مطالعه و انواع ناهنجاریهای کروموزومی تعدادی و ساختاری بررسی شد.

ناهنجاریهای کروموزومی مشاهده شده به‌گروههای زیر تقسیم‌بندی شدند:

هاپلوییدی[1]: جنینهای ناشی از بکرزایی[2] که مجموعهٔ کروموزومی آنها، همان ۲۳ عدد کروموزوم گامت است.

پلی‌پلوییدی[3]: جنینهایی که تعداد کروموزومها در حد تریپلوییدی (۶۹=۳n) از خود نشان دادند که غالباً دارای ناهنجاریهای ساختاری هم بوده‌اند.

آنیوپلوییدی[4]: این ناهنجاریها به تعداد کمتر یا بیشتر کروموزومهای

1. Haploidy
2. Parthenogenesis
3. Polyploidy
4. Aneuploidy

جنین از وضعیت دیپلوییدی اطلاق می‌شود. بنابراین جنینهای دارای کروموزومهای بیش از 2n هاپیردیپلوییدی[1] و کمتر از 2n، هاپودیپلوییدی[2] نامیده می‌شود. حداکثر تعداد در جنینهای هاپیردیپلوییدی ۵۴ کروموزوم و حداقل تعداد کروموزومها در جنینهای هاپیودیپلوییدی ۳۲ بوده است.

موزاییسم[3]: سلولهای جنینی موزائیک دارای کروموزومهای متفاوتی نسبت به یکدیگر بوده‌اند که به چهار گروه تقسیم‌بندی شدند:

الف) 2n/n: در جنینهای این گروه تعدادی از سلولها هاپلوییدی و تعدادی از نظر کروموزومی دیپلوییدی بوده‌اند.

ب) 2n/3n: این جنینها سلولهای دیپلوییدی و تریپلوییدی را به‌صورت مخلوط داشته‌اند.

ج) آنیوپلوییدی 2n: در این جنینها، سلولهای دیپلوییدی و سلولهای آنیوپلوییدی بررسی شده‌اند.

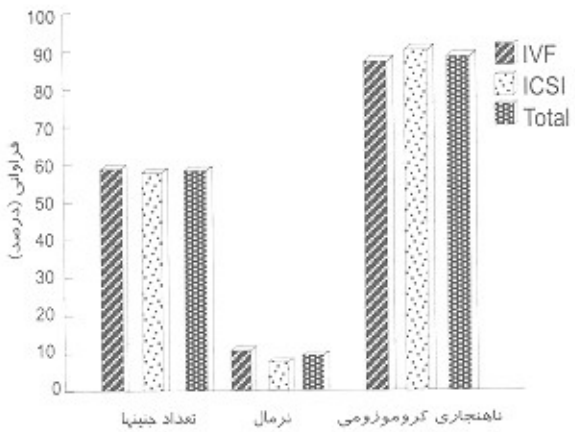
د) هاپیردیپلوییدی / هاپیودیپلوییدی: این دسته از سلولهای جنینی آنیوپلوییدی بوده و از نظر تعداد کروموزومها با یکدیگر تفاوت دارند.

اختلالات ساختاری کروموزوم: در این جنینها ناهنجاریهای ساختاری از جمله شکاف (Gap)، شکست کروموزومی[4] و حذف[5] مشاهده شده است.

نتایج به‌دست آمده با استفاده از آزمون χ^2 و تست فیشر با استفاده از نرم‌افزار SPSS تجزیه و تحلیل آماری شد.

یافته‌ها

از ۲۳۷ جنین دریافت شده، تعداد ۱۳۸ جنین مورد آنالیز سیتوژنتیکی قرار گرفتند. نتایج در جدول ۱ و نمودارهای ۱ و ۲ خلاصه شده است. همان‌طورکه در نمودار ۱ مشاهده می‌شود، فراوانی جنینهای با ناهنجاری کروموزومی بسیار بیشتر از جنینهای با مجموعه کروموزومی نرمال بوده است و این اختلاف از نظر آماری در سطح بالایی معنی‌دار است ($P \leq 0.001$). اما تعداد جنینهای سالم و جنینهای با ناهنجاری کروموزومی در روشهای IVF و ICSI با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارد.



نمودار ۱: مقایسه مجموع جنینهای قابل بررسی سیتوژنتیکی با ناهنجاریهای کروموزومی و جنینهای نرمال از نظر سیتوژنتیکی در روشهای IVF و ICSI

در گروه IVF، ۵۸/۶۲ درصد و در ICSI، ۵۷/۸۵ درصد از جنینها از نظر سیتوژنتیکی قابل بررسی بودند. در جنینهای حاصل از IVF، ۸ مورد طبیعی (۱۱/۷۶ درصد) و در گروه ICSI، ۶ مورد طبیعی (۸/۵۷ درصد) مشاهده شد. اگرچه این تعداد در گروه IVF بیشتر است اما از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نیست.

ناهنجاریهای مشاهده شده با فراوانی ۶۰ مورد (۸۸/۲۴ درصد) در گروه IVF و ۶۴ مورد (۹۱/۴۳ درصد) در گروه ICSI به شرح زیر بود:

آنیوپلوییدی با میزان ۴۲/۶۵ درصد در گروه IVF و ۴۴/۲۹ درصد در گروه ICSI دیده شد. آنیوپلوییدی شایعترین اختلال ژنتیکی در بین هر دو گروه بوده است (جدول ۱، نمودار ۲).

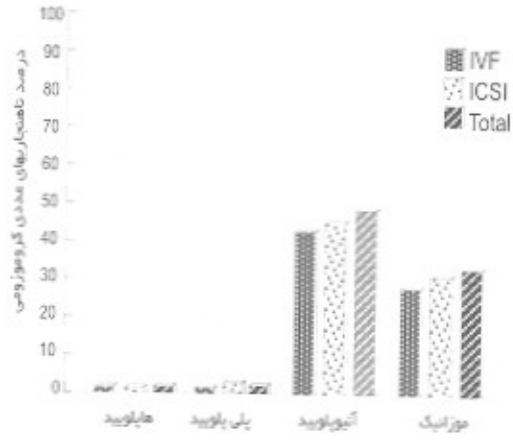
جدول ۱: یافته‌ها و فراوانی انواع ناهنجاریهای سیتوژنتیکی مشاهده شده در جنینهای حاصل از IVF و ICSI

یافته‌ها		IVF	ICSI	مجموع
تعداد بیماران		۳۸	۶۶	۱۰۴
میانگین سنی		۳۱/۷±۴/۸۲ (۲۳_۳۸ سال)	۳۰/۲۷±۵/۳۱ (۲۱_۴۸ سال)	۳۰/۱۵±۴/۹ (۲۱_۴۸ سال)
تعداد جنینهای بررسی شده		۱۱۶	۱۲۱	۲۳۷
تعداد جنینهای قابل بررسی سیتوژنتیکی		۶۸(۵۸/۶۲)	۷۰(۵۷/۸۵)	۱۳۸(۵۸/۲۳)
تعداد جنینهای نرمال		۸(۱۱/۷۶)	۶(۸/۵۷)	۱۴(۱۰/۱۴)
تعداد جنینهای غیرطبیعی از نظر کروموزومی		۶۰(۸۸/۲۴)	۶۴(۹۱/۴۳)	۱۲۴(۸۹/۸۶)
ناهنجاریهای سیتوژنتیکی عددی:				
هاپلوییدی		۱(۱/۴۷)	۲(۱/۴۳)	۲(۱/۴۵)
پلی‌پلوییدی		۱(۱/۴۷)	۲(۲/۸۶)	۳(۲/۱۷)
آنیوپلوییدی		۲۹(۴۲/۶۴)	۳۱(۴۴/۲۸)	۶۰(۴۳/۴۸)
	هایپردیپلوییدی	۱۴(۲۰/۵۸)	۲۰(۲۸/۵۷)	۳۴(۲۴/۶۳)
	هایپودیپلوییدی	۱۵(۲۲/۰۶)	۱۱(۱۵/۷۱)	۲۶(۱۸/۸۴)
موزاییک		۱۹(۲۷/۹۴)	۲۲(۳۱/۴۳)	۴۱(۲۹/۷۱)
	2n/n	۱(۱/۴۷)	۲(۲/۸۶)	۳(۲/۱۷)
	آنیوپلوییدی 2n	۷(۱۰/۲۹)	۱۰(۱۴/۲۸)	۱۷(۱۲/۳۲)
	2n/3n	۱(۱/۴۷)	-(۰)	۱(۰/۷۲)
	هیپودیپلوییدی/هایپردیپلوییدی	۱۰(۱۴/۷۱)	۱۰(۱۴/۲۸)	۲۰(۱۴/۴۹)
ناهنجاریهای سیتوژنتیکی ساختمانی		۱۰(۱۴/۷۱)	۸(۱۱/۴۳)	۱۸(۱۳/۰۴)

اعداد داخل پرانتز نشان‌دهنده درصد فراوانی است.

پس از آنیوپلوییدی، موزاییسم، بیشترین فراوانی ناهنجاریها را به‌خود اختصاص داده است که در مجموع ۲۹/۷ درصد جنینها دارای این ناهنجاری بوده‌اند. از این تعداد ۱۹ مورد در IVF و ۲۲ مورد در ICSI دیده شد و تفاوتی از نظر آماری بین دو گروه، مشاهده نمی‌شود. در جنینهای حاصل از روش ICSI، موزاییسم 2n/3n دیده نشد. تعداد کمی هاپلوییدی و پلی‌پلوییدی در هر دو گروه مورد بررسی دیده شد (نمودار ۲).

1. Hyperdiploidy
2. Hypodiploidy
3. Mosaicism
4. Chromosome break
5. Deletion



نمودار ۲: مقایسه انواع ناهنجاریهای عددی کروموزومها در جنینهای مورد بررسی حاصل از روشهای IVF و ICSI

ناهنجاریهای ساختاری بررسی شده اغلب از نوع آسیبهای ناپایدار مانند حذف و شکست کروموزومی بود. همانگونه که در جدول آمده است، به‌طورکلی، این نوع از ناهنجاریها با تفاوت بسیار کم در جنینهای حاصل از IVF شایعتر از ICSI است؛ اما تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نیست. در بعضی موارد هم در جنینهای ICSI تعدادی از کروموزومهای یک سلول در مرحلهٔ متافاز و برخی دیگر در مرحلهٔ پرومتافاز قرار داشتند. مورد مهم دیگری که در جنینهای ICSI مشاهده شد، مواردی از آتافاز نامتوازن در سلولهای دیپلوئید و یا آنیوپلوئید است.

بحث

در مراحل لقاح مصنوعی و انتقال جنین بر خلاف میزان بالای لقاح موفق (۹۰ درصد) که منجر به تقسیم سلولی می‌شود (۲۶، ۲۷)؛ میزان لانه‌گزینی جنین بسیار کم است، و از طرف دیگر حدود ۲۰ درصد جنینهایی که لانه‌گزینی انجام داده و به تشخیص بالینی بارداری می‌رسند بعداً سقط می‌شوند (۲۸، ۲۹). گامتهای مورد استفاده در لقاح آزمایشگاهی می‌توانند حامل ناهنجاریهای کروموزومی باشند. بررسیهای سیتوژنتیکی نشان داده‌اند که ۱۰ درصد اسپرمها و ۲۴ درصد اووسیتهای بالغ می‌توانند دارای اختلالات کروموزومی باشند (۳، ۱۵). در اووسیتها آنیوپلوییدی بیش از ۹۰ درصد اختلالات را تشکیل می‌دهد، در صورتی که در اسپرم انسان ۷۰ درصد اختلالات به‌علت ناهنجاریهای ساختمانی کروموزوم ایجاد می‌شود. در نمونه‌های مطالعه شده مشخص گردید که آنیوپلوییدی اغلب به علت جدانشدن کروموزومها و به‌دنبال آن عدم لانه‌گزینی و از بین رفتن جنین است (۱۰).

در اووسیتها محصولات ژنی نقش مهمی را در لانه‌گزینی ایفا می‌کنند و حضور اختلالات شدید کروموزومی در مراحل و با زمان تبدیل اووسیت به جنین در برنامهٔ ژنتیکی تکامل لانه‌گزینی تأثیر مستقیم می‌گذارد و بسیاری از این ژنها در پیش از لانه‌گزینی و بعد از مرحلهٔ دو سلولی بیان می‌شوند (۳۰، ۳۱). ناهنجاریهای مورفولوژیکی و عدم بقای جنین می‌تواند منشاء سیتولوژیکی و متابولیکی مختلفی داشته باشد و احتمال دارد اختلالات کروموزومی در جداشدن نامناسب و به هم خوردن ترتیب ساختار ژنوم نقش داشته و باعث مرگ سلول شود (۳۲). جنینهایی با ساختار کروموزومی غیرطبیعی قادر به رشد و تقسیم خواهند بود زیرا تا زمان انتقال هنوز بیان ژن در جنین به‌طور اساسی صورت نمی‌پذیرد و انتخاب لانه‌گزینی احتمالاً پس از فعالیت ژنها رخ می‌دهد. جنینهایی که در رحم مادر لانه‌گزینی می‌کنند، احتمالاً هاپلوییدی، موتوزومی یا دارای ناهنجاریهای کروموزومی از قبیل حذف هستند. در صورتی که جنینهای با ناهنجاری تریزومی، تریپلوییدی احتمالاً بلافاصله پس از لانه‌گزینی سقط می‌شوند. دلایل مختلفی مانند اختلالات اسکلت سلولی، جهشهای DNA میتوکندری و یا ناهنجاریهای متابولیکی بیانگر میزان رشد کم و مشاهده بسیار کم تقسیم سلولی در جنینها هستند. ناهنجاریهای کروموزومی می‌توانند باعث مرگ سلول شوند.

مقایسه میزان بروز ناهنجاریها در IVF و ICSI

به‌طور کلی انواع اختلالات کروموزومی مشاهده شده در هر دو روش شامل آنیوپلوییدی، هاپلوییدی، موزاییسم، پلی‌پلوییدی و اختلالات ساختاری است (جدول ۱).

در بررسیهای مختلف، وقوع میزان ناهنجاری کروموزومی از ۲۳ درصد (۳۳) تا ۹۰ درصد (۱۰) گزارش شده است. نتایج بررسی حاضر با گزارش Pellestor و همکارانش (۱۰) مطابقت بیشتری دارد زیرا در هر دو بررسی جنینهای مورد مطالعه از مورفولوژی مناسبی برخوردار نبوده‌اند. در بررسیهای انجام شده با جنینهای با مورفولوژی خوب، فراوانی ناهنجاری، کمتر مشاهده شده است (۲۳، ۳۴، ۳۵، ۳۶، ۳۷). همانگونه که در جدول ۱ و نمودارهای ۱ و ۲ مشاهده می‌شود، فراوانی ناهنجاریهای کروموزومی در جنینهای حاصل از IVF و ICSI با یکدیگر اختلاف بسیار کمی دارند. با این حال تصور می‌شود که تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم روی تقسیم میکروتوبول تأثیر گذاشته و باعث اختلال در توزیع صحیح کروموزومها بین دو سلول می‌شود. یکی دیگر از دلایل احتمالی تخریب میکروتوبولها و در نهایت بروز ناهنجاری کروموزومی در ICSI ورود یون کلسیم موجود در محیط به درون سیتوپلاسم سلول در هنگام تزریق است (۱۷، ۳۸). ICSI می‌تواند در انتقال اختلالات کروموزومی خصوصاً کروموزومهای جنسی به‌عنوان آنیوپلوییدی این کروموزومها در اسپرم افرادی که اختلال تولیدمثلی دارند مطرح باشد (۳۹). اگرچه Bachat و همکارانش (۴۰) عقیده دارند که آماده‌سازی اسپرمها با مواد شیمیایی و دستکاری گامتها در روش ICSI منجر به افزایش خطر اختلالات ژنتیکی جنینها نمی‌شود.

با مراجعه به جدول ۱ مشاهده می‌شود که تفاوتی از نظر فراوانی بروز جنینهای هاپلوئید در روش IVF و ICSI وجود ندارد. هاپلوییدی در اثر عدم موفقیت لقاح روی می‌دهد، جنینهایی که سنجرهٔ کروموزومی هاپلوئید دارند در اثر پارتنوژنز[1]، ژنوژنز[2] و یا آندروژنز[3]

1. Partenogenesis
2. Gynogenesis
3. Androgenesis

ایجاد می‌شوند. این نتیجه با گزارشهای متعددی همخوانی (۲۳، ۳۶، ۳۱) و با بعضی دیگر که فراوانی بیشتری را گزارش کرده‌اند مغایرت دارد (۱۰، ۳۲). ممکن است عوامل محیطی دیگری چون نور، تغییر pH و شوک حرارتی القاکنندهٔ فعالیت بکرزایی و تولید جنین هاپلوید باشند.

در مطالعهٔ حاضر، میزان بروز پلی‌پلوییدی ۲/۲ درصد مشاهده شد که فراوانی آن در روش ICSI دو برابر IVF بوده است. پلی‌پلوییدی از اختلالات مهمی است که در لقاح مصنوعی تا ۱۱ درصد هم گزارش شده است در صورتی که میزان آن در لقاح طبیعی ۱/۸ درصد است (۴۱). از علتهای بروز پلی‌پلوییدی می‌توان به دوبرابر شدن کروموزومها با مکانیزمهای Endomitosis و Endoreduplication اشاره کرد. این تغییرات میتوزی در اثر اختلال رشته‌های دوک به‌وجود می‌آیند و عامل پلی‌پلوییدی هرچه باشد، غالباً به‌علت حضور بیش از دو پیش هستهٔ همگامی (Syngamy)، بین هسته‌ها از بین می‌رود و در پایان به موزاییسم منجر می‌شود.

شایعترین نوع ناهنجاری مشاهده شده در این بررسی آنیوپلوییدی بود که میزان آن به ۴۳/۴۸ درصد بالغ می‌شود (جدول ۱، نمودار ۲) که با گزارشهای اخیر ۵۶/۵ درصد (۱۰) و ۳۶/۳ درصد (۲۳) مطابقت دارد. آنیوپلوییدی در اغلب مطالعات رایج‌ترین اختلال مشاهده شده و علت سقط بسیاری از جنینها گزارش شده است که در نتیجهٔ تقسیم نامناسب کروموزومها در میوز گامتها ایجاد می‌شود (۱۰، ۲۳، ۲۸، ۳۱، ۳۳، ۳۶، ۴۲، ۴۳). مطالعات بسیاری نشان داده‌اند که جدانشدن صحیح کروموزومها در میوز اووسیت علت اصلی نامتوازن بودن دسته‌های کروموزومی در جنین انسان است. میزان آنیوپلوییدی در اووسیتها ۱۳ درصد و در اسپرم ۸ درصد است که احتمال رخداد آنیوپلوییدی در لقاح حدود ۴۰ درصد خواهد بود (۳۶). مشاهده جنینها در قبل از لانه‌گزینی و کاریوتیپ جنینهای تریزومی و یا مونوزومی نشان می‌دهد که اختلالات کروموزومی اسپرم و یا اووسیت از لقاح و یا تشکیل تخم جلوگیری نمی‌کند (۳۶).

موزاییسم نیز از ناهنجاریهای شایع بررسی حاضر بوده است (۲۹/۷ درصد)؛ که گرچه فراوانی آن در جنینهای حاصل از ICSI بیشتر از IVF بود اما این تفاوت معنی‌دار نیست. این ناهنجاری ابتدا در سال ۱۹۸۶ توسط Angell (۳۴) فقط در حد ۲ درصد گزارش شد که در مطالعات بعدی ۲۷ درصد (۳)، ۳۶ درصد (۳۶)، ۳۸ درصد (۱۷)، ۳۰/۲ درصد (۱۰) و ۴۰/۲ درصد (۲۳) گزارش گردید. موزاییسم در اثر تخریب سازمان میکروتوبولها و رشته‌های دوک ایجاد می‌شود و یا به عنوان یک مکانیزم برای بقای سلول و بازگشت آن به حالت دیپلوییدی از فرم پلی‌پلوید و یا هاپلوید است. به‌هرحال علت ایجاد موزاییسم هرچه باشد؛ عامل بسیار مهم تخریب جنین در مراحل اولیه است که در زمانهای مختلف چرخه سلولی مشاهده می‌شود و در میزان تقسیم بلاستومرها اثر می‌گذارد.

از بررسی حاضر چنین برمی‌آید که درصد بالایی از جنینهای با مورفولوژی نامناسب دارای ناهنجاریهای کروموزومی هستند. فراوانی ناهنجاری کروموزومی در جنینهای حاصل از روش IVF و ICSI تا حد بسیار زیادی مشابه هم بود و آنیوپلوییدی که مهمترین نوع ناهنجاری و با فراوانی بسیار زیاد است در هر دو گروه مورد بررسی مشاهده گردید.

تقدیر و تشکر

این مطالعه بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب شماره ۱۱-۴۶۴ دفتر مرکزی جهاددانشگاهی است و محل اجرای آن بخش تحقیقات پژوهشکدهٔ رویان بوده است. نویسندگان مراتب تقدیر خود را از آقایان دکتر مجتبی رضازاده، دکترمحمدمهدی آخوندی و خانم لیلی کریمیان برای در اختیار قرار دادن نمونه‌ها و آقای باغستانی در امور آماری ابراز می‌دارند.

References

1. Van Steritegham A, Lio J, Van den Abbeel, Liebares I, Devroey P: IVF and Preimplantaion diagnosis. Preimplantation Genetics, New York, Plenum Press, 1991, pp 155-164

2. Andrews T, Dunlop W, Roberts D: Cytogenetic studies in spontaneous abortuses. Hum Genet 1984; 66:77-84

3. Pellestor F: Differential distribution of aneuploidy in human gamets according to their sex. Hum Reprod 1991; 6: 1552-1258

4. Martin R, Rademaker A, Hilebrand K: Variation in the frequency and type of sperm chromosomal abnormalities among normal men. Hum Genet 1997; abnormalities among normal men. Hum Genet 1997; 77: 108-114

5. Boue J, Bove A, Lazer P: Retrospective and prospective epidemiological studies of 1500 karyotyped spontaneous human abortions. Teratology 1975; 12: 11-26

6. Hassol T, Chen N, Funkhouser J, Joss T, Manuel B, Matsura J, Matsuyama A, Wilson C, Yamane A, Jacobs PA: A cytogenetic study of 1000 spontaneous abortions. Ann Hum Genet 1980; 46: 285-294

7. Sutherland G, Carter F, Bauld R, Smith I, Bain DF: Chromosome studies at the pediatric necorpsy. Ann Hum Genet 1978; 42: 173-181

8. Evans H: Chromosome anomalies among live birth. J Med Genet 1977; 14: 707-710

9. Angell R, Hillier S, West D, Glasier F, Rodger M, Baird DT: Chromosome anomalies in early human embryos. J Reprod Fertil 1988; Suppl 36: 73-81

10. Pellestor F, Dufour MC, Arral F, Human C: Direct

assessement of the rate of chromosomal abnormalities in grade IV human embryos produced by IVF procedure. Hum Reprod 1994; 9: 243-302
11. Seppala M: The world collaborative reprot on IVF and embryo replacement: Current state of the art in January 1984. Ann NY Acad Sci 1985; 442: 558-563
12. Rogers P, Milne B, Trouson A: A model to show human uterine receptivity and embryo viability following ovarian stimulation for IVF. J IVF/ET 1986; 2: 93-98
13. Bolton V, Hawes S, Taylor C, Parson J: Development of sperm human preimplantation embryo In vitro: Analysis of the correlation among gross morphology cleavage rates and development to the blastocyst. J IVF ET 1989; 6: 30-35
14. Dokras A, Sargent I, Barlow D: Human blastocyst grading: an indicator of developmental potential. Hum Reprod 1993; 8: 2119-2127
15. Pellestor F: Frequency and distribution of aneuplodiy in human female gametes. Hum Genet 1991; 86: 283-288
16. Chandley A, Hargreaue T: Genetic anomaly and ICSI. Hum Reprod 1996; 11: 930-932
17. Macas E, Imthurn B, Rossellin M, Keler P: The chromosomal complements of multipronuclear human zygote resulting from ICSI. Hum Reprod 1996; 11: 2496-2501
18. Bonduelle M, Liebaers I, Legein J: Malformation rates from IVF and/or assisted fertilization (ICSI of ICSI after MESA/TESA). ESHRE 1994; Brussels, 92-94
19. Liebars I, Bonduelle M, Van Assche E, Devroey P, Van Steirteghem A: Sex chromosome abnormalities after ICSI. Lancet 1995; 346: 1095
20. Gordon D, Krmpotic E, Thomas W: Pathologic testicular finding in Klinefelter's syndrome. Arch Int Med 197; 724-726
21. Cozzi L, Cherret S, Rosseaux S: Achievement of meiosis in XXY germ cells: study of 543 sperm karyotypes from an XY/XXY mosaic patient. Hum Genet 1994; 93; 32-34
22. Martin R: The risk of chromosomal abnormalities following ICSI. Hum Reprod 1996; 11: 924-925
23. Almeida P, Boition V: The relationship between chromosomal abnormality in the human preimplantation embryo and development In vitro. Reprod Fertil Dev 1996; 8: 235-241
24. Dyban AP: An improved method for chromosome preparation from preimplantation mammalian embryos, oocytes or isolated blastomers. Stain Technology 1983; 58: 69-72
25. Dyban AP: Reliable technique for chromosomal preparations from mammalian ooyctes and preimplantation embryos. Preimplantation genetics, Plenum Press, 1991, pp 293-298
26. Edwards RG: Causes of early embryonic loss in human pregnancy. Hum Reprod 1986; 1: 185-198
27. Edwards RG: Cell cycle factors in human oocyte and the ICSI. Reprod Fertil Dev 1995; 7: 143-153
28. Plachot M: Chromosome analysis of spontaneous abortions after IVF: A European survey. Hum Reprod 1989; 4: 425-429
29. Rossler M, Wise L, Katayama K: Karyotype analysis of blighted ova in pregnancies achieved by IVF. Fertil Steril 1989; 51: 1065-1066
30. Plachot M, Mandelbaum J: Oocyte maturation, fertilization and embryonic growth In vitro. Br Med Biol 1990; 46: 675-694
31. Plachot M, Grounch JDE, Junca AM, Mandelbaum J, Turleav C, Couillin P, Cohen J, Salat-Bardoux J: From oocyte to embryo, a model deduced from IVF for natural selection against chromosome abnormalities. Ann Genet 1987; 30: 22-32
32. Pellestor F: The cytogenetic analysis of human zygotes and preimplantaion embryos. Hum Reprod 1995; 1: 581-585
33. Plachot M, de Grouchy J, Junca A: Chromosomal analysis of human oocytes and embryos in an IVF program. Am Acad Sci 1988; 541: 381-397
34. Angell R, Templeton A, Aitken R: Chromosome studies in human IVF. Hum Genet 1986; 72: 333-339
35. Wimmers M, Vad der Merwe J: Chromomose studies on early human embryos fertilized In vitro. Hum Reprod 1988; 3: 894-900
36. Zenzes MT, Wang P, Casper R: Chromosome statues of untransferred (spare) embryos and probability of pregnancys after IVF. Lancet 1992; 340: 341-349
37. Jameison M, Coutts R, Corner M: The chromosome constitution of human preimplantation embryos fertilized in vitro. Hum Reprod 1994; 9: 709-715
38. Edwards RG, Van Steirteghem A: Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) and human fertilization: does calcium hold the key to success? Hum Reprod 1993; 8: 988-989
39. Rosenbusch B, Strehler E, Sterzik K: Microassisted fertilization and sperm chromosome abnormalities.

Hum Reprod 1996; 11: 928-930
40. Baschat A, Schwinger E, Diedrich K: Assisted reproductive techniques-are we avoiding the genetic issues? Hum Reprod 1996; 11: 926-328
41. Michelamnn H, Benhoff A, Mettler L: Chromosome analysis in polyploid human embryos. Hum Reprod 1986; 1: 243-246
42. Papadopoulos G, Templeton A, Nirandell FJ: The frequency of chromosome anomalies in human preimplantation embryos after IVF. Hum Reprod 1989; 4: 91-98
43. Tesarik J: Maternal or paternal meiotic errors. Lancet 1995; 346: 1096