

بررسی عوامل موثر بر میزان حاملگی و سقط ناشی از تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم از مردان مبتلا به عقمی انسدادی و غیرانسدادی

الهام السادات هاشمیان نایینی¹، فیروزه اکبری اسبق²، محمد زارع نیستانک³، عبدالرسول مهرسای⁴،
الهام فروزنده⁵، مصطفی شکوهی⁶، کتایون برجیس⁷

¹متخصص زنان و زایمان، بیمارستان میرزا کوچک خان تهران

²استاد، متخصص زنان و زایمان، دانشگاه علوم پزشکی تهران

³مربی، دانشجوی دکترای روانشناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد نایین

⁴دانشیار، ارولوژیست، دانشگاه علوم پزشکی تهران

⁵استادیار، دکترای روانشناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد نایین

⁶مربی، کارشناس ارشد اپیدمیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

⁷متخصص زنان و زایمان، فلوشیپ نازایی، بیمارستان بوعلی تهران

چکیده

سابقه و هدف: تزریق اسپرم مردان عقیم به داخل تخمک همسرانشان (ICSI)، تحولی شگرف در درمان این بیماران ایجاد نموده است. در مطالعه ما، عوامل موثر بر پیامد ICSI شامل نحوه برداشت اسپرم، بافت شناسی بیضه، سن و آزمایشات هورمونی مرد و زن، تعداد تخمک‌های برداشت شده، و تعداد جنین‌های منتقل شده بررسی شد.

روش بررسی: در این مطالعه کوهورت گذشته نگر، 246 بیمار عقیم شامل 52 بیمار مبتلا به عقمی انسدادی (OA) و 194 بیمار مبتلا به عقمی غیر انسدادی (NOA) بررسی شدند. برداشت اسپرم به روش TESE یا PESA همراه با ICSI و القاء تخمک گذاری به روش Long protocol صورت گرفت. 48 ساعت پس از انجام ICSI، جنین‌های تقسیم شده به حفره رحمی انتقال داده شدند.

یافته‌ها: میزان حاملگی کلینیکال در بیماران مبتلا به OA بیشتر از بیماران مبتلا به NOA بود (21/1 درصد در مقابل 10/8 درصد، $p < 0/05$). سن و FSH سرمی زن در هر دو گروه بیماران با میزان حاملگی رابطه داشت ($p < 0/001$). در بیماران مبتلا به NOA تعداد تخمک‌های برداشت شده و تعداد جنین‌های منتقل شده با وقوع حاملگی مرتبط بود ($p < 0/05$).

نتیجه‌گیری: ICSI می‌تواند شانس قابل قبولی برای باروری در مردان عقیم ایجاد کند. بالاتر بودن میزان موفقیت در بیماران OA می‌تواند نشان دهنده کیفیت بهتر اسپرم در این افراد باشد. بررسی هورمون‌ها و نمونه‌گیری بافتی مردان در پیش آگهی حاملگی موثر نیستند.

واژگان کلیدی: عقمی انسدادی، عقمی غیر انسدادی، ICSI، میزان حاملگی کلینیکال.

مقدمه

در سال‌های اخیر تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم (ICSI) به ویژه در درمان ناباروری مردان عقیم کاربرد زیادی یافته است

(1-3). نخستین تحقیقاتی که در مورد پیامد ICSI انجام شد

نشان داد که این روش می‌تواند در درمان ناباروری افراد مبتلا به عقمی موثر باشد (2-4). عقمی (آزواسپرمی) در ده درصد موارد ناباروری مردان دیده می‌شود که به دو دسته

غیرانسدادی (NOA) و انسدادی (OA) طبقه‌بندی می‌شود. برداشت اسپرم از بیضه (TESE) همراه با انجام ICSI روش

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پزشکی، دکتر کتایون برجیس

(email: katayon.berjis@yahoo.com)

تاریخ دریافت مقاله: 1390/3/5

تاریخ پذیرش مقاله: 1390/9/22

درمان انتخابی جهت باروری در بیماران NOA می‌باشد (5)، در حالی که در عقیمی انسدادی آسپیراسیون اسپرم از اپیدیدیم (PESA) انجام می‌شود (6).

متأسفانه علی‌رغم هزینه بالای انجام ICSI، میزان موفقیت آن چشم‌گیر نیست و شکست در ایجاد حاملگی استرس‌سنگینی را به زوجین تحمیل می‌کند.

در مطالعات مختلف عوامل متعددی به عنوان فاکتورهای پیش‌بینی‌کننده جهت موفقیت ICSI در افراد عقیم شناخته شده‌اند (7-11). در تحقیق Friedler و همکارانش (2002) وقوع حاملگی در این افراد به طور معنی‌داری با سن زن و تعداد تخمک‌های برداشت شده مرتبط بود. منشاء اسپرم، سن و FSH سرمی مرد تأثیری بر موفقیت ICSI در بیماران مبتلا به OA و NOA نداشت (12).

در مطالعه Sibling و همکارانش (1997)، سن زن و تعداد تخمک‌های برداشت شده ارتباط قابل ملاحظه‌ای را با میزان باروری و تولد زنده در بیماران مبتلا به عقیمی نشان داد (13). در چندین مطالعه جدید، میزان سقط بالاتری به دنبال ICSI با استفاده از اسپرم بیضوی در مقابل اسپرم اپیدیدیمال گزارش شده است (14، 15، 18-20). این مسئله نشان می‌دهد که کیفیت گامت افراد مبتلا به عقیمی می‌تواند بر قابلیت تکاملی جنین حاصل شده موثر باشد. هدف از انجام مطالعه حاضر، تشخیص عواملی است که می‌توانند بر میزان حاملگی و سقط متعاقب ICSI در بیماران مبتلا به آرواسپرمی موثر باشند.

مواد و روشها

در این مطالعه کوهورت گذشته‌نگر، که طرح تحقیق و حجم نمونه آن با در نظر گرفتن ملاحظات اخلاقی و محرمانه ماندن اطلاعات شخصی بیماران به تصویب معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران رسیده است، 246 بیمار مبتلا به عقیمی که در فاصله زمانی فروردین 1384 تا خرداد ماه 1388 در بخش IVF بیمارستان میرزا کوچک خان برای نخستین بار تحت انجام ICSI قرار گرفته بودند، بررسی شدند. روش نمونه‌گیری به صورت نمونه‌های دردسترس بود.

زنانی که بیش از 37 سال داشتند، از مطالعه حذف گردیدند. بر مبنای نوع عقیمی مطابق شرح حال و بررسی‌های انجام شده، بیماران در دو گروه عقیمی انسدادی (OA) و عقیمی غیر انسدادی (NOA) قرار گرفتند. نمونه‌های بیوپسی بیضه از نظر بافت‌شناسی در چهار گروه 1- سرتولی سل تنها، 2- توقف

بلوغ اسپرم، 3- تحلیل ژرم سل و 4- مجموعه سرتولی سل تنها و توقف بلوغ اسپرم قرار گرفتند. برداشت اسپرم در گروه OA به روش PESA و در گروه NOA به روش TESE انجام شد. الفاء تخمک‌گذاری برای همسران بیماران به روش Long Protocol با استفاده از Buserelin (Superfact, Avantis, UK)، 5/0 میلی‌گرم به صورت زیرجلدی همراه با hMG (Menogan, Ferring, Italy) صورت گرفت. 36 ساعت پس از تزریق 10000 واحد HCG، تخمک‌ها از طریق پانکچر تخمدان با هدایت سونوگرافی ترانس واژینال گرفته شده و برای تلقیح داخل سلولی اسپرم (ICSI) به بخش جنین‌شناسی انتقال داده شدند. پس از 16 تا 18 ساعت بررسی از لحاظ باروری تخمک‌ها و 48 ساعت پس از تزریق داخل سلولی، با مشاهده دو عدد پروونکلثی (2PN)، جنین‌های 8-4 سلولی به حفره رحمی انتقال داده شدند. حاملگی میکال به صورت مثبت شدن β HCG سرمی 14 روز پس از انتقال جنین‌ها و حاملگی کلینیکال از طریق مشاهده ساک حاملگی در سونوگرافی ترانس واژینال 6 هفته پس از انتقال جنین‌ها ارزیابی شدند. از دست رفتن حاملگی قبل از هفته بیستم بارداری به عنوان سقط تلقی شد. تفاوت تعداد موارد حاملگی میکال و کلینیکال در هریک از گروه‌ها محاسبه شد که حاکی از سقط زیر 6 هفته بود.

تحلیل آماری با کمک نرم‌افزار آماری SPSS ویراست 14 صورت گرفت. تعیین ارتباط بین میانگین سن و FSH سرمی مرد و زن، تعداد تخمک‌های برداشت شده و تعداد جنین‌های منتقل شده با میزان حاملگی کلینیکال با روش Student T test صورت گرفت. بررسی رابطه بین نوع عقیمی و بافت‌شناسی بیضه با میزان حاملگی و همچنین تعیین رابطه بین سقط زیر 20 هفته و سقط زیر 6 هفته با نوع آرواسپرمی از طریق کای‌دو و در صورت نیاز توسط آزمون دقیق فیشر انجام شد. مقادیر $p < 0/05$ معنی‌دار تلقی گردید.

یافته‌ها

میانگین سنی بیماران در گروه NOA $35/8 \pm 5/8$ و در گروه OA $36/7 \pm 5/7$ سال بود. میانگین سنی همسران این افراد در گروه NOA $32/7 \pm 5/1$ سال و در گروه OA $31/9 \pm 4/6$ سال بود و از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. میانگین مدت نازایی در گروه NOA $9/5 \pm 1$ سال و در گروه OA $8/5 \pm 4/8$ سال بود.

6 هفته نیز درصد موارد در گروه NOA بیشتر بود (33 درصد در مقابل 9 درصد) و این اختلاف نیز از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($p=0/26$). در گروه عقیمی غیرانسدادی، بیشترین درصد حاملگی در گروه توقف بلوغ اسپرم و کمترین درصد حاملگی در گروه تحلیل ژرم سل دیده شد و تفاوت بین گروه‌ها از نظر آماری معنی‌دار نبود ($p=0/33$) (جدول 2).

بحث

در تحقیق ما، میزان موفقیت در بیماران گروه OA با منشاء اسپرم اپیدیدیمال بیشتر از بیماران NOA با منشاء اسپرم بیضوی بود ($p<0/05$). این یافته با نتیجه مطالعه Mansour و همکارانش همخوانی داشت که در آن میزان حاملگی کلینیکال در بیماران NOA با منشاء اسپرم بیضوی کمتر از بیماران OA با منشاء اسپرم اپیدیدیمال گزارش شده بود (27/3 درصد در مقابل 11/3 درصد) (10).

همچنین نتایج تحقیق ما با یافته‌های مطالعه Palermo و همکارانش (1999) مطابقت داشت که میزان حاملگی کلینیکال بیشتری را در بیماران NOA در مقابل بیماران OA گزارش کرده بودند (56 درصد در بیماران OA در مقابل 49/1 درصد در بیماران NOA) (11).

این تحقیق نشان داد که سن، FSH سرمی و علت پاتولوژیک عقیمی بیماران در نتیجه ICSI انجام شده و میزان حاملگی بی-تاثیر است. این یافته با نتیجه مطالعه Friedler و همکارانش (2002) که بر روی 175 بیمار مبتلا به عقیمی انجام شده بود همخوانی داشت (12).

از دهه‌های قبل به خوبی اثبات شده است که میزان باروری در هر جمعیتی با افزایش سن به نحو پیشرونده‌ای کاهش می‌یابد، اما اخیراً چندین مطالعه انجام شده که پیشنهاد می‌کند در شدیدترین وضعیت ناباروری مردان یعنی عقیمی نیز عوامل مربوط به همسران بیماران ممکن است نقش مهمی در موفقیت ICSI و ایجاد حاملگی ایفا کنند (12، 13).

در مطالعه Friedler و همکارانش (2002) که بر روی 52 بیمار مبتلا به عقیمی انسدادی (OA) و 123 بیمار مبتلا به عقیمی غیرانسدادی (NOA) انجام شد، وقوع حاملگی کلینیکال رابطه معنی‌داری با سن زن (کوانتایل 90=38 سال) و تعداد تخمک‌های برداشت شده (کوانتایل 10=4 تخمک) داشت (12). نتیجه مطالعه ما نیز حاکی از تاثیر عوامل مربوط به زن در موفقیت ICSI در بیماران می‌باشد. در تحقیق ما

مقایسه میانگین سن و FSH سرمی بیماران در هیچ یک از گروه‌ها (OA و NOA) رابطه معنی‌داری با میزان حاملگی کلینیکال را نشان نداد. میانگین سن و FSH سرمی همسران افراد در هر دو گروه NOA و OA رابطه معنی‌داری با وقوع حاملگی نشان داد ($p<0/001$). در گروه NOA تعداد تخمک‌های برداشت شده و تعداد جنین‌های منتقل شده با وقوع حاملگی رابطه داشت ($p<0/05$). در گروه OA هیچ یک از دو پارامتر فوق ارتباطی با وقوع حاملگی نداشت (جدول 1).

جدول 1- مقایسه FSH سرمی مرد و زن، تعداد تخمک‌های برداشت شده و تعداد جنین‌های منتقل شده در بیماران NOA (آزواسپرمی غیرانسدادی) و OA (آزواسپرمی انسدادی)

P value	OA	NOA
<0/001	5/2± 1/7	21/2±5* (MIU/ml) سرم مرد FSH
NS†	6/5± 2	7± 2 (MIU/ml) سرم زن FSH
NS	6/8 ± 3	7/5± 2/9 تعداد تخمک‌های برداشت شده
NS	3/2± 1/4	5± 1/5 تعداد جنین‌های منتقل شده

* مقادیر شامل میانگین ± انحراف معیار می‌باشد. † Not significant

تعداد موارد حاملگی کمیکال در گروه NOA و OA تفاوت معنی‌داری را از نظر آماری نشان نداد (14/4 درصد در گروه NOA در مقابل 23 درصد در گروه OA، $p=0/14$). در حالی که در مورد حاملگی کلینیکال اختلاف دو گروه معنی‌دار بود (10/8 درصد در گروه NOA در مقابل 21/1 درصد در گروه OA، $p<0/05$).

جدول 2. توزیع بافت شناسی بیضه و میزان بروز حاملگی کلینیکال در بیماران مبتلا به آزواسپرمی غیر انسدادی (NOA)

بافت شناسی بیضه	تعداد	موارد حاملگی کلینیکال
سرتولی سل تنها	91	9(9/8)
توقف بلوغ اسپرم	25	5(20)
تحلیل ژرم سل	46	3(6/5)
مجموعه سرتولی سل تنها و توقف بلوغ اسپرم	32	4(12/5)
کل موارد	194	21(10/8)

مقادیر داخل پرانتز، اشاره به درصد موفقیت در بیماران دارای هر یک از موارد بافت‌شناسی بیضه دارند.

درصد موارد سقط زیر 20 هفته در گروه NOA بیشتر از گروه OA بود (19 درصد در مقابل 9 درصد) و این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود ($p=0/14$). در مورد سقط زیر

اسپرم دارد که با انجام PCR برای تعیین ژن‌های باروری کروموزوم Y اسپرم امکان‌پذیر است. نتایج بافت‌شناسی بیوپسی بیضه در بیماران تأثیری در پیش آگهی میزان باروری آنها نداشت. این یافته با نتایج مطالعه دکتر سلسبیلی و همکارانش (2001) هم‌خوانی داشت (21). بنابراین بهتر است نمونه‌برداری از بیضه فقط در زمان انجام پروتکل ICSI صورت گیرد. با وجود آنکه تفسیر بافت‌شناسی نمونه بیوپسی بیضه بیماران گروه NOA در مطالعه ما پیش آگهی نامطلوبی از نظراحتمال برداشت اسپرم داشت، برداشت موفقیت‌آمیز اسپرم همراه با ICSI در این بیماران امکان‌پذیر شده بود. بنابراین پیشنهاد می‌شود صرف نظر از نتیجه بافت شناسی بیوپسی بیضه، برای کلیه بیماران مبتلا به عقمی غیرانسدادی اقدام به انجام TESE (برداشت اسپرم از طریق بیضه) شود و وجود اسپرم تنها از طریق بررسی بافت بیضه در آزمایشگاه جنین‌شناسی ارزیابی گردد.

تشکر و قدردانی

از کلیه پرسنل محترم بخش IVF بیمارستان میرزا کوچک خان و همچنین کارکنان عزیز بخش بایگانی بیمارستان میرزا کوچک خان که همکاری صمیمانه‌ای با محققین داشتند، تقدیر و تشکر می‌نماییم.

REFERENCES

1. Speroff L, Fritz M. Assisted reproductive technologies. In: Weinberg RW, Editor. Clinical gynecologic endocrinology and infertility. 7th ed. Philadelphia: Lippincot Williams and Wilkins; 2005. p.1215-38.
2. Mangoli V, Dandekar S, Desai S, Mangoli R. The outcome of ART in males with impaired spermatogenesis. J Hum Reprod Sci 2008; 1: 73-76.
3. Hollingsworth B, Harris A, Mortimer D. The cost effectiveness of intracytoplasmic sperm injection (ICSI). J Assist Reprod Genet 2007; 24: 571-77.
4. van Steirteghem AC, Nagy Z, Joris H, Liu J, Strssen C, Smitz J, et al. High fertilization and implantation rates after ICSI. Hum Reprod 1993; 8: 1061-66.
5. Schoysman R, Vanderzwalmen P, Nijs M, Segal L, Segal-Bertin C, Geerts L, et al. Pregnancy after fertilization with human testicular spermatozoa. Lancet 1993; 342: 1237.
6. Tournaye H, Devroey P, Liu J, Nagy Z, Lissens W, van Steirteghem A. Microsurgical epididymal sperm aspiration and intracytoplasmic sperm injection: a new effective approach to infertility as a result of congenital bilateral absence of the vas deferens. Fertil Steril 1994; 61: 1045-51.
7. Friedler S, Raziel A, Strassburger D, Schachter M, Soffer Y, Ron-El R. Factors influencing the outcome of ICSI in patients with obstructive and non-obstructive azoospermia: a comparative study. Hum Reprod 2002; 17: 3114-21.
8. De Croo I, Van der Elst J, Everaert K, De Sutter P, Dhont M. Fertilization, pregnancy and embryo implantation rates after ICSI in cases of obstructive and non-obstructive azoospermia. Hum Reprod 2000; 15: 1383-88.
9. Gil Salom M, Romero J, Minguez Y, Molero MD, Remohi J, Pellicer A. Testicular sperm extraction and ICSI: A chance of fertility in non-obstructive azoospermia. J Urol 1998; 160: 2063.
10. Mansour RT, Kamal A, Fahmy I, Tawab N, Serour GI, Aboulghar MA. Intracytoplasmic sperm injection in obstructive and non-obstructive azoospermia. Hum Reprod 1997; 12: 1974-79.

ذخیره تخمدانی با دو معیار FSH سرمی (به طور غیرمستقیم) و تعداد تخمک‌های برداشت شده (به صورت مستقیم) اندازه‌گیری شد. سن و FSH سرمی پارتنر زن در هر دو گروه بیماران ارتباط معنی‌داری را با میزان حاملگی نشان داد ($p < 0/001$). در گروه NOA تعداد تخمک‌های برداشت شده با میزان موفقیت ICSI ارتباط داشت ($p < 0/05$). در این گروه، تعداد جنین‌های منتقل شده عامل دیگری بود که تأثیر آن در میزان حاملگی اثبات شد. این عامل نیز می‌تواند به طور غیرمستقیم با تعداد تخمک‌ها در ارتباط باشد. در هر حال نقش هر دوی این عوامل در بیماران مبتلا به NOA آشکار است.

در مطالعه ما درصد موارد سقط زیر 20 هفته در بیماران NOA بیشتر از OA بود (19 درصد در مقابل 9 درصد). همچنین درصد موارد سقط زیر 6 هفته نیز در گروه NOA بیشتر بود (33 درصد در مقابل 9 درصد). این تفاوت از لحاظ آماری معنی‌دار نبود که احتمالاً ناشی از کم بودن تعداد موارد حاملگی و سقط در دو گروه می‌باشد.

تفاوت میزان حاملگی کلینیکال و اختلاف درصد موارد سقط در گروه NOA و OA می‌تواند ناشی از تفاوت عوامل داخلی اسپرم از جمله کروماتین در دو گروه باشد. اثبات این امر نیاز به تحقیقات سلولی و مولکولی بیشتری بر روی کروماتین

11. Palermo GD, Schlegel PN, Hariprashad JJ, Ergün B, Mielnik A, Zaninovic N, et al. Fertilization and pregnancy outcome with intracytoplasmic sperm injection for azoospermic men. *Hum Reprod* 1999; 14: 741-48.
12. Palermo G, Joris H, Devroey P, van Steirteghem AC. Pregnancy after ICSI of a single spermatozoon in to an oocyte. *Lancet* 1992; 304: 17-18.
13. Silber SJ, Nagy Z, Devroey P, Camus M, van Steirteghem AC. The effect of female age and ovarian reserve on pregnancy rate in male infertility: treatment of azoospermia with sperm retrieval and intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1997; 12: 2693-700.
14. Tournaye H, Liu J, Nagy PZ, Camus M, Goossens A, Silber S, et al. Correlation between testicular histology and outcome after intracytoplasmic sperm injection using testicular spermatozoa. *Hum Reprod* 1996; 11: 127-32.
15. Buffat C, Patrat C. ICSI outcomes in obstructive azoospermia influence of the organ of surgically retrieved spermatozoa and the cause of obstruction. *Hum Reprod* 2006; 21: 1018-24.
16. Nicopoullos JD, Gilling-Smith C, Almeida PA, Ramsay JW. The results of 154 ICSI cycles using surgically retrieved sperm from azoospermic men. *Hum Reprod* 2004; 19: 579-85.
17. Schwartz D, Mayaux NJ. The measurement of fecundity of the couples' contribution by age of partners. *Contracept Fertil Sexual* 1983; 11: 897-900.
18. Greenball E, Vessey M. The prevalence of subfertility: a review of the current confusion and a report of two new studies. *Fertil Steril* 1990; 54: 978.
19. Lansec J. Is delayed parenting a good thing? *Hum Reprod* 1995; 10: 1033-36.
20. Pasqualotto FF, Rossi-Ferragut LM. Outcome of in vitro fertilization and testicular sperm obtained from patients with obstructive and non-obstructive azoospermia. *J Urol* 2002; 167: 1753-56.
21. Salsabili N, Sadri M, Akbariasbagh F, Pourmand GH, Asadi MH. The evaluation of efficacy of testicular biopsy and intracytoplasmic sperm injection on male with non-obstructive azoospermia. *Kowsar Medical Journal* 2001; 6: 103-107.