

در مطالعات و مشاهدات انجام شده، امتیاز دهی مورفولوژی Spindle در جریان IVF، ارتباط مستقیم و محکمی با باروری موفق داشته است.

مطالعه ارائه شده در IFFC سال ۲۰۱۰ توسط Kilanis; Cookes & Chapman MG

#### \* خلاصه:

مطالعه ارائه شده توسط دانشمندان از مرکز IVF استرالیا (سیدنی) به بررسی تاثیر یا عدم تاثیر استفاده از روش امتیاز دهی Spindle تخمک ها در جریان سیکل IVF موفق، پرداخته است. مطالعه انجام شده در این رابطه وابسته به استفاده از سیستم تصویر برداری CRi Oosight برای امکان نمایان سازی رشته دوک تقسیم میوزی برای ارزیابی کیفیت درمان بوده است. روش امتیاز دهی به صورتی استفاده شده بود که مشخص کند هر تخمک دارای مورفولوژی Spindle نرمال یا غیر نرمال است. هر تخمک به صورت جداگانه برای میزان شکل گیری بلاستوسیست و میزان باروری کلینیکی دنبال شد. تمامی باروری های حاصل شده در این مطالعه حاصل تخمک های با Spindle سالم و نرمال بودند. در نتیجه این یافته ها، اثبات می کند ارزیابی و مشاهده Spindle توسط سیستم Oosight زود هنگام توان باروری هر تخمک را ایجاد می کند.

#### \* مقدمه:

- ساختار رشته دوک میوز برای جهت گیری و جداسازی کروموزوم ها در امتداد صفحه متافاز حیاتی هستند، بنابراین تقسیم صحیح و کامل جفت کروموزوم ها در جریان رشد و نمو تخمک و جنین وابسته به آن است. اختلالات در صحت Spindle منجر به ناهنجاری یا باروری غیر عادی، مرگ جنین، سقط مکرر و افزایش بیماری های ژنتیکی می شود [ ۲۰۱ ]

- در IVF کاربران و متخصصین با استفاده از بررسی مورفولوژیک جنین، میزان زنده ماندن جنین به دست آمده در آزمایشگاه برای انتقال را پیش بینی می کنند. توان مشخص کردن سلامت تخمک انسانی با استفاده از این گونه روش های سنتی صرفاً میکروسکوپی و بسیار محدود است. کلید راه حل این مشکل استفاده از تکنولوژی برای پیش بینی رشد و نمو تخمک که بسیار به سلامت دوک تقسیم میوز Spindle وابسته است و با بهره گیری از روش پیشرفته تصویر برداری Oosight، می باشد.

- بهره گیری از روش های متداول مشاهده Spindle همچون ایمونوهیستوشیمی و میکروسکوپ الکترونی محدود به نمونه های فیکس شده و بدون ارزش استفاده مجدد در درمان است و همین طور صرفاً جهت موارد تحقیقاتی و نه استفاده کلینیکی کاربرد دارد. استفاده از روش های افزایشی کنتراست سازگار با کارهای کلینیکی و استفاده در آزمایشگاه IVF همچون: کنتراست DIC، فاز کنتراست و Hoffman،



کنتراست مفیدی جهت بررسی و مشاهده بهتر ساختار تخمک را ایجاد می کند، ولی وضوح کافی برای مشاهده و بررسی Spindle را هرگز ندارد.

- مشاهدات و بررسی های انجام شده در دهه اخیر در مورد تکنولوژی CRi و PolScope که معمولاً به عنوان Oosight Imaging معروف می باشد به عنوان روش بررسی و اندازه گیری اجزای درون سلولی با خواص Birefringence همچون زونا پلوسیدا و رشته دوک تقسیم Spindle معرفی کرده است. این مطالعات تایید کرده اند که مشاهده و بررسی Spindle به عنوان یک روش ارزیابی بسیار مفید در آزمایشگاه IVF با فراهم کردن امکان اندازه گیری و بررسی ساختار آن می باشد [۳، ۴، ۵، ۶]

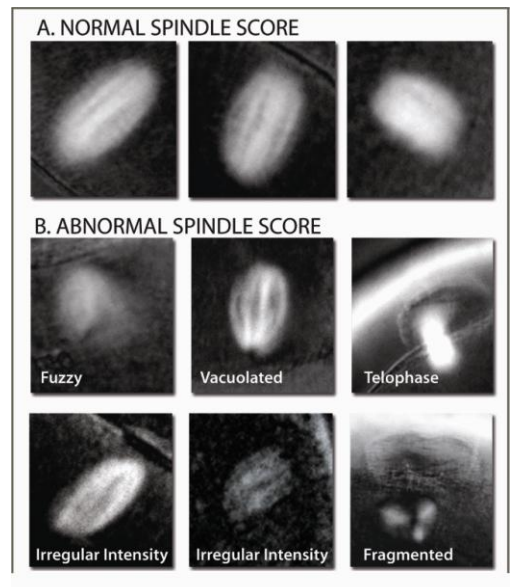
هدف این مطالعه به بررسی و تشخیص ارتباط نرمال بودن Spindle و شکل گیری بلاستوسیست و همین طور میزان موفقیت لانه گزینی جنین شکل گرفته است. از سیستم RI Oosight Imaging برای مشاهده و بررسی دوک تقسیم میوز Spindle با اهداف ارزیابی کیفیت تخمک ها استفاده شد. روشی برای امتیاز بندی به صورت جداگانه توسط دو متخصص هر کدام برای ۱۰۰ بیمار جهت بررسی حضور Spindle نرمال یا غیر نرمال از نظر مورفولوژی انجام شد. هر تخمک تا مرحله شکل گیری بلاستوسیست و میزان باروری موفق ارزیابی و دنبال شد.

### \* معیار امتیاز دهی Spindle:

تقسیم بندی مشخصات Spindle میوز به دو دسته نرمال و غیر نرمال تقسیم شد. یک Spindle نرمال باید دارای شکل دوکی با مرزها و ساختار و حتی توزیع مولکولی آن بر اساس Birefringence، مشخص باشد. مثالی از شکل ظاهری نرمال Spindle در تصویر 1A نشان داده شده است. متعاقباً و بالعکس در تصویر 1b شکل ظاهر غیر نرمال Spindle نشان داده شده است.

تصویر ۱: تصاویر انواع مورفولوژی های مرتبط با Spindle نرمال (A) و غیر نرمال (B) را از نظر امتیاز بندی به تصویر کشیده است.

شکل یک Spindle نرمال به صورت کاملاً دوکی شکل با ساختار واضح و منظم از نظر Retardance برای ساختار Spindle می باشد. گروه غیر نرمال شامل هر کدام از سایر مورفولوژی ها از جمله Spindle با شکل تیره و ریش ریش، Spindle های واکوئلی شده، Spindle های در مرحله توفازا، ساختار با توزیع نامنظم و Spindle های فرگمنته یا قطعه قطعه شده، می باشند.



### \* طراحی، مطالعه و تست:

این مطالعه در ۲ گروه مجزا با هدف بررسی در ارتباط نرمال بودن Spindle و میزان باروری کلینیکی و شکل گیری بلاستوسیست حاصل شده انجام شد.

برای هر مطالعه جداگانه ۱۰۰ بیمار دارای خصوصیات زیر انتخاب شده بودند:

- سن بیشتر از ۴۰ سال
- دارای تخمک های MII به دست آمده حداقل ۵ و حداکثر ۱۵ عدد برای هر بیمار.
- تزریق تخمک ها بین ۳۹ تا ۴۱ ساعت بعد از hCG.
- روش انتخاب تک جنین انتخابی (eSET)

تخمک ها در جریان ICSI توسط دو متخصص به صورت جداگانه امتیاز بندی شده بودند. بلاستوسیست های به دست آمده انتخاب شده برای انتقال با تکیه به خصوصیت مورفولوژیک و با استفاده از میکروسکوپ نوری معمولی برای ارزیابی Spindle انجام پذیرفت. تصویر برداری تا مرحله لانه گزینی و یا میزان باروری انجام پذیرفت. میزان لانه گزینی به صورت تعداد کیسه های تشخیص داده شده به واسطه انتقال جنین ها انجام پذیرفت.

### \* نتایج:

از ۹۲۰ تخمک جمع آوری شده از بیماران، ۸۰۸ عدد از آن ها متافاز MII بودند، یعنی حدود ۸۸٪ دارای ساختار Spindle بودند و همین طور ۹۷ عدد از تخمک ها یعنی ۱۲٪ بدون Spindle بودند. تخمک های بدون رشته دوکی (Spindle Negative) ۴۲ جنین بارور را ایجاد کردند (حدود ۴۳٪) که تنها یک جنین به مرحله بلاستوسیست رشد و نمو کرد. از تخمک های حاوی رشته دوکی، ۲۰۵ مورد به عنوان تخمک دارای Spindle نرمال یعنی ۲۹٪، تشخیص داده شدند در صورتی که مابقی ۵۰۶ تخمک یعنی ۷۱٪ به عنوان تخمک های با Spindle غیر نرمال تشخیص داده شدند. نتایج دو متخصص برای امتیاز بندی تخمک ها حدود ۹۸٪ با هم مطابقت داشتند. رشد و نمو جنین ها و میزان موفقیت باروری این دو گروه در جدول شماره ۱ به صورت خلاصه نشان داده شده است. به صورت خلاصه، از هر گروه ۱۰۰ نفری، ۴۲٪ از تخمک های با ساختار Spindle نرمال به سمت بارداری کلینیکی موفق رفتند در صورتی که از گروه تخمک های با Spindle غیر نرمال، هیچ بارداری حاصل نشد.

	Whole Group		
Oocyte Cycles Included	100		
Oocytes Retrieved	920		
Initial MII Oocyte Maturity	808 (88%)		
Spindle Presence	711 (88%)		
	Spindle Positive		Spindle Negative
	Normal	Abnormal	Abnormal
Spindle Grade	205 (29%)	506 (71%)	97
Fertilized	185 (90%)	366 (72%)	42 (43%)
Blastulation	140 (76%)	115 (31%)	1 (2%)
Utilization	100 (71%)	52 (45%)	1 (2%)
Number of Transfers	68	32	0
Implantation Rate	60%	0%	0%



## \* نتیجه گیری:

یکی از اهداف مشترک در IVF نشان دادن ارتباط مورفولوژیک و نتایج بالینی می باشد. روش های امتیاز بندی جهت شناسایی اسپرم و جنین های با قابلیت زنده ماندن تخمک ها استفاده نمی شوند. سلول منحصر به فرد و ثابت تخمک ساختارهای کم یا پروفایل های متابولیک کمی برای تشخیص در متدهای معمول آزمایشگاه دارند. سودمندی منحصر به فرد امتیاز دهی Spindle آن است که ساختار Spindle ارتباط مستقیم با رشد و نمو و لقاح موفق جنین دارد. امروزه این مطلب به خوبی بررسی و گزارش شده که هرگونه تخریب در ساختار فیزیکی و بیوشیمیایی Spindle می تواند باعث نقص در مراحل تشکیل جنین و رشد و نمو می شود و متعاقباً جنین شکل نخواهد گرفت.

داشتن امکان مشاهده ساختار Spindle به صورت زنده و غیر تهاجمی در آزمایشگاه IVF اطلاعات ارزشمندی را در مورد رشد و نمو تخمک و مراحل بالغ شدن آن در اختیار قرار داده است. روش استفاده شده در این مطالعه نشان داد تخمک های با Spindle نرمال، میزان موفقیت باروری بیشتر، میزان رشد تا بلاستوسیست بیشتر و جنین های مفید قابل استفاده بیشتری را ایجاد می کنند. مضافاً این که، این مطالعه نشان داد گروه تخمک های با Spindle نرمال تا ۶۰٪ به بارداری موفق تبدیل شدند و این در حالی است که از گروه تخمک های با Spindle غیر نرمال صفر٪ به جنین و بارداری موفق تبدیل شدند!

سر گروه متخصصین، دکتر سوبا کیلانی، ذکر کردند که " ناهنجاری های Spindle تخمک ها از لقاح جلوگیری می کنند و متعاقباً رشد و نمو نرمال بسیار ضعیف خواهد بود".

## منابع:

1. Battaglia DG, Goodwin P, Klein A et al. Influence of maternal age on meiotic spindle in oocytes from naturally cycling woman. Hum Reprod, 1996;11:2217-22..
2. Wang WH, Meng L, Hackett R, et al. The spindle observation and its relationship with fertilization after intracytoplasmic sperm injection in living human oocytes. Fertil and Steril, 2001;75:348-53.
3. Kilani S, Cooke S, Kan A, Chapman M. Are there non-invasive markers in human oocytes that can predict pregnancy outcome? RBM Online. May 2009 (18)5:674-680.
4. Rama Raju GA, GJ Prakash, KM Krishna, K Madan. Meiotic spindle and zona pellucida characteristics as predictors of embryonic development: a preliminary study using PolScope imaging. RBM Online. 2007 (14)2:166-174.
5. Shen Y, Stalf T, Mehnert C, De Santis L, Cino I, Tinneberg HR, Eichenlaub-Ritter U. Light retardance by human oocyte spindle is positively related to pronuclear score after ICSI. Reprod Biomed Online. 2006 Jun;12(6):737-51.
6. Moon JH et al. Visualization of the metaphase II meiotic spindle in living human oocytes using the PolScope enables the prediction of embryonic developmental competence after ICSI. Human Reproduction 2003 Apr;18(4):817-820.

شرکت ایران پنم با بیش از دو دهه سابقه درخشان، آمادگی خود را در زمینه ارائه خدمات مشاوره، آموزش و تجهیز اکثر مراکز درمان ناباروری و معتبر و صاحب نام کشور و با بهره گیری از کادری متخصص و با تحصیلات عالی در زمینه های جنینی شناسی، زیست سلولی تکوینی، سیستم ژنتیک و مهندسی ژنتیک و ... به عنوان نماینده انحصاری کمپانی Research Instruments انگلیس، کلیه دستگاه ها، تجهیزات، قطعات جانبی و ملزومات با کیفیت بالا و قیمت مناسب را جهت راه اندازی و یا ارتقاء و بروز رسانی مراکز درمان ناباروری اعلام می دارد.

( تهیه شده در بخش علمی شرکت ایران پنم )

[www.Research-Instruments.com](http://www.Research-Instruments.com)  
[Science@Iran-Panam.com](mailto:Science@Iran-Panam.com)

**RI**

