

بررسی مورفومتریک اثرات داروهای محرک تخمک‌گذاری در پروتکل طولانی مدت بر فراساختمان سلول‌های اپی‌تلیال اندومتر انسان در زمان پنجره لانه‌گزینی

پرویز بزّی (M.Sc.)^۱، معرفت غفاری نوین (M.D., Ph.D.)^۲، جعفر سلیمانی‌راد (Ph.D.)^۳، شیراحمد سارانی (Ph.D.)^۴،
لعیا فرزّی (M.D.)^۵، عالیه قاسم زاده (M.D.)^۶، رحیم طهماسبی (M.Sc.)^۷.

- ۱- دانشجوی دکترا، گروه بافت‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تبریز، تبریز، ایران.
- ۲- استادیار، گروه غدد تولیدمثل و جنین‌شناسی، مرکز تحقیقات بیولوژی و بیوتکنولوژی تولید مثل و نازایی، پژوهشکده ابن‌سینا، تهران، ایران.
- ۳- استاد، گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تبریز، تبریز، ایران.
- ۴- استادیار، گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی زاهدان، زاهدان، ایران.
- ۵- استادیار، گروه زنان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تبریز، تبریز، ایران.
- ۶- مربی، گروه آمار، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی بوشهر، بوشهر، ایران.

چکیده

مقدمه: داروهای محرک تخمک‌گذاری همچون GnRHa, HMG, HCG به صورت پروتکل طولانی مدت به طور شایعی برای تحریک تخمک‌گذاری و به دست آوردن تعداد بیشتر تخمک در سیکل‌های ART استفاده می‌شود. مطالعات و تجربیات اخیر نشان داده است که میزان لانه‌گزینی موفق در سیکل‌های تحریکی، کمتر از سیکل‌های طبیعی می‌باشد. با توجه به نقش مهمی که اندومتر در پذیرش و لانه‌گزینی جنین دارد، در بررسی حاضر اثرات احتمالی استفاده از پروتکل استاندارد طولانی مدت تحریک تخمک‌گذاری بر فراساختمان اپی‌تلیوم لومینال و غددی در روز بیستم سیکل قاعدگی (LH+6) (زمان پنجره لانه‌گزینی) بررسی شده است.

مواد و روشها: بافت اندومتر از دو گروه کنترل و تحت مطالعه مراجعه کننده به مرکز ناباروری بیمارستان الزهراء دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تبریز در طی سال‌های ۸۰-۸۲ در روز LH+6 با استفاده از کاتتر پاییل از فوندوس رحم دریافت شد. گروه کنترل (n=5) زنان بارور طبیعی بودند که داروی محرک تخمک‌گذاری دریافت نکرده بودند و گروه مطالعه (n=10) زنانی نابارور بودند که به دلیل مشکل همسر تحت درمان با پروتکل استاندارد طولانی مدت تحریک تخمک‌گذاری بودند که جنین در این زوجین تشکیل نشده بود. پس از آماده سازی نمونه برای میکروسکوپ نوری و الکترونی، عکسبرداری از نمونه‌ها انجام شد و مطالعات کمی و کیفی (مورفولوژیک و مورفومتریک) انجام شد و نتایج حاصله با استفاده از روش آماری Unpaired Student T test مقایسه گردید.

نتایج: نتایج به دست آمده وجود سیستم کانال‌های هسته‌ای (NCS)، میتوکندری‌های غول پیکر و واکوئل‌های کلیگوژن را در هر دو گروه نشان داد. آنالیزها نشان داد که نسبت‌های حجمی ارگان‌ها در اپی‌تلیوم لومینال و غددی از جمله یوکروماتین به هسته، RER به سلول و میتوکندری به سلول در گروه مطالعه نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری افزایش داشت ($P < 0.05$) که نشانه فعال بودن این سلول‌ها نسبت به سلول‌های گروه کنترل می‌باشد.

نتیجه‌گیری: از نتایج فوق می‌توان استنباط کرد که داروهای فوق تکامل طبیعی اندومتر را در فاز میانی لوتئال که مقارن با زمان کاشته شدن جنین می‌باشد به هم زده و باعث کاهش میزان لانه‌گزینی خواهند شد. لذا انجام ART بدون استفاده از داروهای محرک تخمک‌گذاری می‌تواند میزان لانه‌گزینی موفق را افزایش دهد.

کل واژگان: ناباروری، اندومتر، مورفومتري، داروهای محرک تخمک‌گذاری، لانه‌گزینی، پروتکل طولانی مدت، و اپی‌تلیال اندومتر.

آدرس مکاتبه: دکتر معرفت غفاری نوین، گروه غدد تولید مثل و جنین‌شناسی، مرکز تحقیقات بیولوژی و بیوتکنولوژی تولید مثل و نازایی، پژوهشکده ابن‌سینا، اوین، صندوق پستی: ۱۷۷-۱۹۸۳۵، تهران، ایران.

پست الکترونیک: mghaffarin@yahoo.com

مقدمه

در حال حاضر علی‌رغم پیشرفت‌های زیادی که در زمینه درمان ناباروری حاصل شده است هنوز ناباروری معضل مهم جوامع محسوب می‌شود؛ چرا که حدود ۱۵-۱۲٪ زوجین دچار مشکل ناباروری می‌باشند (۱). یکی از علل اصلی ناباروری، عدم لانه‌گزینی جنین است (۲،۳). در لانه‌گزینی دو عامل بسیار مهم تأثیر دارند. یکی جنین و دیگری بافت اندومتر است. اخیراً پیشرفت‌های قابل ملاحظه‌ای در زمینه شناسائی وقایع سلولی و مولکولی روند لانه‌گزینی حاصل شده است. براساس این پیشرفته‌ها محققین دریافته‌اند که لانه‌گزینی شامل مراحل بسیار پیچیده و حساسی است که به هماهنگی دقیق آبشار هورمونی محور هیپوتالاموس، هیپوفیز و تخمدان (۴) و نیز رشد و تکامل هماهنگ و موزون بافت اندومتر از نظر قدرت پذیرندگی^۱ جنین به خصوص در محدوده زمانی پذیرندگی اندومتر^۲ نیاز دارد (۵). طبیعی است که تکامل ناهماهنگ اندومتر و جنین یا هرگونه اختلال در این روند منجر به عدم لانه‌گزینی و سقط خودبه‌خودی جنین خواهد شد. از طرفی برای توانائی اتصال جنین به دیواره اندومتر، باید تغییرات مولکولی و سلولی خاص در اندومتر به خصوص اپیتلیوم لومینال و غددی آن صورت پذیرد که القاء این تغییرات به واسطه هورمون‌های استروئیدی (استروژن و پروژسترون) صورت می‌گیرد. هرگونه اختلال در این هورمون‌ها می‌تواند سبب اختلال در پذیرندگی رحم و در نهایت عدم لانه‌گزینی موفق جنین شود.

امروزه در اکثر مراکز درمان ناباروری به صورت معمول از داروهای محرک تخمک‌گذاری جهت افزایش تعداد تخمک‌های قابل استحصال در هر سیکل استفاده می‌شود. استفاده از این داروها سبب تغییر در میزان

هورمون‌های استروئیدی استروژن و پروژسترون شده که این تغییرات می‌تواند سبب تغییر در مورفولوژی اندومتر شود. دوز بالای فیزیولوژیک استرادیول در طی سیکل‌های ART سبب تغییر در پذیرندگی اندومتر می‌شود (۱۰-۶). نتایج مطالعات مختلف دلالت بر آن دارد که سطح بالای استرادیول ممکن است در تکامل اندومتر (۱۶-۱۰) و لانه‌گزینی جنین (۱۳) اختلال ایجاد نماید. در صورتیکه نتایج برخی مطالعات دیگر مخالف نظرات فوق می‌باشد (۱۷).

تحقیقات انجام شده در مورد اثرات داروهای محرک تخمک‌گذاری بر روی بافت اندومتر اکثراً توسط میکروسکوپ نوری انجام شده و زمان انجام بیوپسی اندومتر متناسب با زمان تخمک‌گذاری^۲ نبوده است. لذا در این مطالعه با استفاده از میکروسکوپ الکترونی و تکنیک مورفومتری اثرات داروهای محرک تخمک‌گذاری بر فرا ساختمان اندومتر مورد بررسی قرار گرفت. لازم به ذکر است که زمان انجام بیوپسی براساس LH Surge روز شماری شده است.

مواد و روشها

در بررسی حاضر از مراجعین به بخش درمان ناباروری بیمارستان الزهراء (س) وابسته به دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تبریز پس از دریافت مجوز از کمیته اخلاق در پژوهش‌های پزشکی و رضایتنامه کتبی از بیمار، بافت اندومتر دو گروه کنترل و تحت مطالعه نمونه‌برداری شد. گروه کنترل خانم‌های بارور و طبیعی بودند که حداقل یک فرزند داشته و هیچگونه عامل پاتولوژیک اندومتر نداشتند. سن آنها کمتر از ۳۵ سال بوده و به دلیل بستن لوله رحمی مراجعه کرده و داروی محرک تخمک‌گذاری دریافت نکرده بودند (n=۵). گروه مطالعه زنانی بودند که برای درمان ناباروری به مرکز فوق مراجعه کرده بودند. سن

1-Receptivity
2-Implantation Window

3-LH Surge

این گروه از خانم‌ها نیز کمتر از ۳۵ سال بود و هیچگونه مشکل خاصی از نظر هورمونی و آناتومی و نیز وضعیت تخمک‌گذاری نداشتند و مشکل اصلی ناباروری ناشی از عامل مردانه بود، به طوریکه آزمایشات و آنالیزهای سیمین هم تأییدکننده این موضوع بود (n=۱۰). گروه مورد مطالعه قبلاً داروهای محرک تخمک‌گذاری براساس پروتکل طولانی مدت GnRHa, HMG, HCG (Organon, Holland) دریافت کرده بودند و به علت عدم تشکیل جنین به دنبال ICSI/ IVF، انتقال جنین در آنها صورت نگرفته بود. لذا با کسب اجازه کتبی از بیماران، بیوپسی اندومتر شش روز پس از LH Surge به وسیله کاتتر پایپل نوع II^۲ (Rocket International, Holland) از فوندوس رحم انجام شد. زمان LH Surge (یعنی LH0) با ارزیابی میزان LH روزانه در نمونه‌های ادرار صبحگاهی (Biotechnostic Inc, U.S.A) یا پلاسمای بیمار (Raidim, Italy) توسط روش رادیوایمنواسی (RIA) تعیین شد. تهیه و تدارک نمونه برای مطالعه با میکروسکوپ الکترونی و نوری مشابه روش غفاری و همکاران (۱۸) انجام شد. نمونه‌های بیوپسی با محلول بافر شستشو و برای ثبوت به مدت ۶ ساعت در گلو تار آلدئید ۳٪ و حرارت ۴°C قرار داده شدند. سپس مراحل آماده سازی برای میکروسکوپ الکترونی ترانزمیشن (TEM)^۳ شامل ثبوت، آب‌گیری، آغشتن با رزین، قالب‌گیری، اصلاح قالب‌ها، تهیه برش‌های نیمه نازک و فوق نازک، رنگ‌آمیزی، انجام و در نهایت از مقاطع آماده شده به وسیله میکروسکوپ الکترونی عکسبرداری شد. عکس‌ها با روش‌های مورفومتریکی ارزیابی گردید. تعدادی از برش‌های نیمه نازک برای مطالعه با میکروسکوپ نوری و به منظور تأیید گلیکوژن در

سلول‌ها، با تولوئیدن بلو و PSA^۴ رنگ‌آمیزی شدند. نسبت‌های حجمی (Vv)^۵: جهت تشخیص تغییرات پدیدآمده در سلول‌های اپی‌تلیالی غدد ولومینال Vv یوکروماتین به هسته، Vv هسته به سلول، Vv گلیکوژن به سلول و Vv میتوکندری به سلول و Vv رتیکیلوم آندوپلاسمیک خشن (RER)^۶ به سلول محاسبه شد.

محاسبه ابعاد هسته سلول‌های اپی‌تلیالی غده‌ای: برای بررسی تغییرات اندازه و شکل هسته سلول‌های اپی‌تلیالی غده‌ای ولومینال اندومتر، قطر بزرگ هسته (a) و قطر کوچک هسته (b) در هر لام میکروسکوپی که حاوی برش‌های نیمه نازک رنگ شده با تولوئیدن بلو بود، با گذاشتن قطره‌ای از ایمرسیون^۷ روی لام و با بزرگنمایی ۱۰۰۰ با استفاده از آنالایزر تصویری^۸ مدل Leica DMLB مورفومتری شد. میانگین قطر هسته^۹ از فرمول $d = a \times b$ و نیز axial ratio هسته از طریق تقسیم a بر b محاسبه شد.

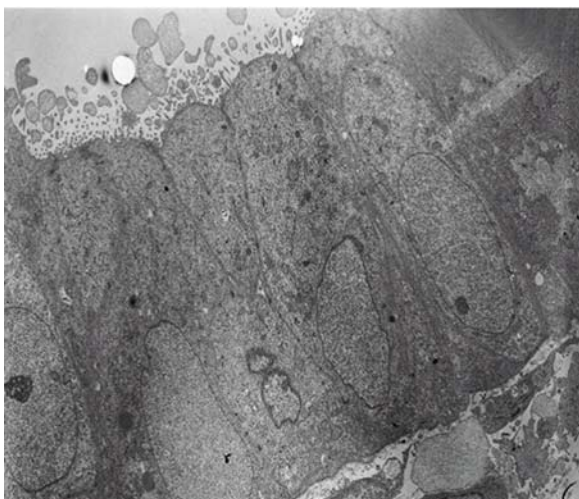
آنالیزهای آماری: پس از به دست آوردن نتایج مورفومتریکی از تصاویر میکروسکوپی، میانگین Vv هر یک از اجزاء سلولی سلول‌های اپی‌تلیالی برای هر فرد محاسبه و سپس میانگین Vv هر یک از اجزاء بین افراد مورد بررسی محاسبه گردید. اطلاعات مربوط به Vv و axial ratio تحت محاسبات لگاریتمی قرار گرفت؛ در حالی که اطلاعات مربوط به میانگین قطر هسته مستقیماً تحت آزمون قرار گرفت. گروه‌های مورد مطالعه و کنترل با استفاده از روش‌های آماری Unpaired Student T test و ANOVA مقایسه گردید.

نتایج

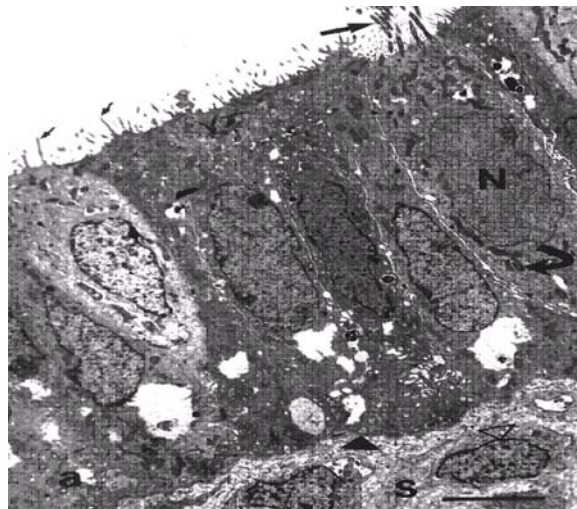
نتایج حاصل از دو جنبه مورفولوژیکی و مورفومتریکی مورد بررسی قرار گرفتند:

4-Periodic Acid Schiff
5- Volume Fraction
6- Rough Endoplasmic Reticulum
7-Immersion
8- Image Analyzer
9-Mean diameter

1- Gonadotropin Releasing Hormone Analogue
2- Endometrial Pipelle Suction Curette Mark II
3-Transmission Electron Microscopy



شکل ۲- فتومیکروگراف الکترونی از سلول‌های اپی‌تلیوم لومینال بافت اندومتر انسان از گروه تحت مطالعه در روز LH+6. هسته‌ها کاملاً یوکروماتین و سلول‌ها کاملاً قطبیت یافته است. به ترشحات جذب نشده سطح سلول‌ها توجه کنید (NCS) (X۲۰۰۰).



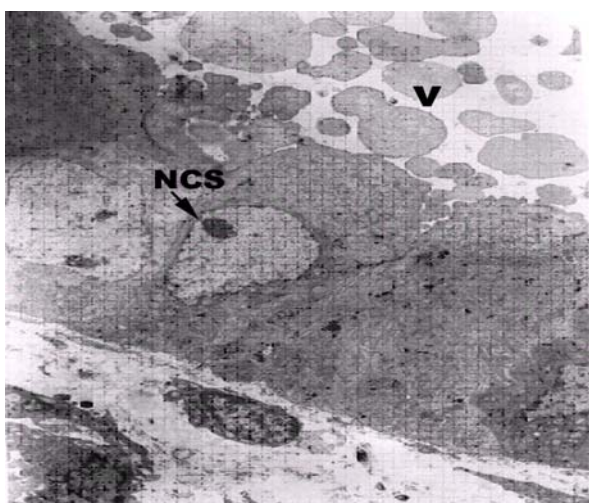
شکل ۱- فتواولتراگراف الکترونی از مقطع اپی‌تلیوم لومینال اندومتر گروه کنترل در روز LH+6. این سلول‌ها دارای حلقه هتروکروماتین می‌باشد. به عدم وجود ترشحات در سطح اپی‌تلیوم و سیستم پینوپودها (ویلی‌ها) دقت کنید و اکوئل‌های گلیکوژن در موقعیت تحت هسته‌ای بوده و هسته‌ها در وسط سلول قرار گرفته‌اند (X۳۰۰۰).

نتایج بررسی بافت اندومتر (اپی‌تلیوم غدی) گروه کنترل در روز LH+6 نشان می‌دهد که این سلول‌ها کاملاً قطبیت نیافته و هسته‌ها حاوی نقاط هتروکروماتین بیشتری می‌باشند و به علت دارا بودن واکوئل‌های گلیکوژن هسته‌ها موقعیت مرکزی دارند (که با انجام رنگ آمیزی سلول‌ها با تولوئیدن بلو و PAS وجود کلیگوژن‌ها مورد تأیید قرار گرفت). در این گروه سلول‌های اپی‌تلیال غدی بافت اندومتر فاقد واکوئل‌های درشت در داخل لومن می‌باشد (شکل شماره ۲). همانطور که ملاحظه می‌شود فعالیت ترشحاتی غدد در گروه مطالعه به شدت افزایش یافته به طوریکه واکوئل‌های درشت از سطح آپیکال غدد جوانه زده و وارد لومن غدد می‌شود که این وضعیت را در مقاطع نیمه نازک به طور بارزی می‌توان مشاهده نمود. همچنین سلول‌های غدی بافت پوششی به طور فشرده‌ای اکثر حجم استروما را اشغال نموده است. وجود میتوکندری‌های بزرگ و غول پیکر، سیستم کانال هسته‌ای (NCS) که با هستک در ارتباط است، هسته

الف- جنبه‌های مورفولوژیکی (کیفی): سلول پوششی اندومتر (اپی‌تلیوم لومینال) در گروه کنترل روز LH+6 نشان داد که این سلول‌ها کاملاً قطبی نشده‌اند و هسته‌ها حاوی حلقه هتروکروماتین، سطوح رأسی سلول‌ها حاوی سیستم پینوپود بیشتر و بلندتر و واکوئل‌های گلیکوژنی در موقعیت تحت هسته‌ای هستند. همچنین سلول‌ها فاقد ترشحات مشخص در سطح اپی‌تلیوم می‌باشد (شکل شماره ۱). در حالیکه در گروه تحت مطالعه بافت پوششی اندومتر (اپی‌تلیوم لومینال) در روز LH+6 وجود سلول‌های دارای هسته‌ای کاملاً یوکروماتیک و همچنین سیستم کانال‌های هسته‌ای (NCS)^۱ در هسته بعضی از سلول‌ها و حضور میتوکندری‌های بزرگ غول پیکر (GM)^۲ نشان دهنده فعالیت بسیار شدید این سلول‌ها است و نیز وجود ترشحات جذب نشده در سطح رأسی اکثر سلول‌های اپی‌تلیوم دیده می‌شود (شکل شماره ۲).

1- Nuclear Channel System

2- Giant Mitochondria

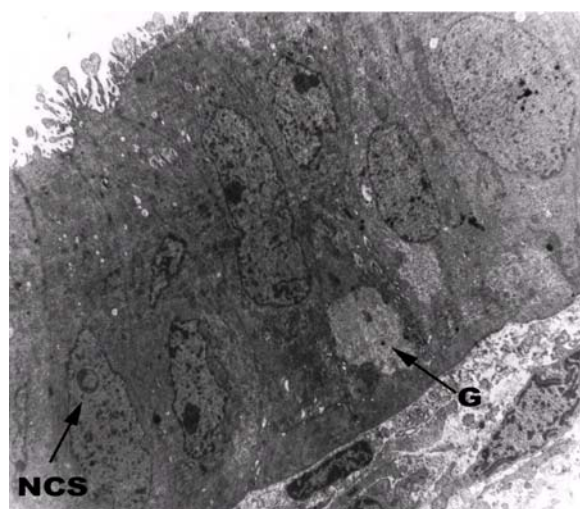


شکل ۴- فتومیکروگراف الکترونی از سلول‌های اپی‌تلیال غددی بافت آندومتر انسان از گروه تحت مطالعه در روز LH+6. به طوریکه ملاحظه می‌شود تعداد فراوانی واکوئل‌های ترشچی (V) از سطح رأسی سلولها جوانه زده و لومن را پر کرده است. همچنین به یوکروماتیک بودن کامل هسته و وجود سیستم کانال هسته‌ای (NCS) همراه با هستک توجه نمایند (X2000).

بحث

فاز لوتئال حدود ۱۴ روز طول می‌کشد. این دوره مربوط به نیمه دوم سیکل قاعدگی بوده و مدت آن تقریباً ثابت است (۱۹). جنین (بلاستوسیست) به طور معمول در زمان پنجره لانه‌گزینی (LH+6 - LH+10) شروع به قرارگیری و نفوذ به داخل بافت اندومتر می‌کند. این مرحله با چسبیدن جنین به دیواره پوششی اندومتر آغاز می‌شود. با توجه به اینکه حدود ۷۵٪ موارد عدم لانه‌گزینی به نچسبیدن جنین به دیواره پوششی اندومتر مربوط می‌شود و نیز علت عمده عدم اتصال مربوط به قدرت پذیرندگی اندومتر است (۳)، لذا بررسی اثرات داروهای محرک تخمک‌گذاری بر روی اندومتر در این زمان از اهمیت فوق‌العاده برخوردار است.

در این مطالعه برای اینکه زمان دقیق پنجره لانه‌گزینی تعیین شود از روش LH dating استفاده شد. در این



شکل ۳- میکروگراف الکترونی از سلول‌های اپی‌تلیال غددی بافت آندومتر انسان در گروه کنترل در روز LH+6. واکوئل‌های گلیکوژن (G) در قسمت تحتانی هسته و سیستم کانال هسته‌ای (NCS) مشاهده می‌شود.

بزرگ، کشیده و کاملاً یوکروماتین و نیز فراوانی و گستردگی RER نسبت به گروه کنترل دال بر فعالیت ترشچی گسترده‌تر گروه تحت مطالعه نسبت به گروه کنترل می‌باشد (شکل شماره ۴).

ب- جنبه‌های مورفومتریک (کمی): همانطور که در جداول شماره ۱ و ۲ ملاحظه می‌شود نسبت‌های حجمی ارگانل‌ها در اپی‌تلیوم لومینال و غددی از جمله یوکروماتین به هسته، RER به سلول و میتوکندری به سلول در گروه مورد مطالعه نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری افزایش یافته است که نشانه فعال بودن این سلول‌ها نسبت به سلول‌های گروه کنترل می‌باشد. کوچک بودن axial ratio هسته در سلول‌های گروه مورد مطالعه نسبت به گروه کنترل تأیید دیگری بر فعال بودن سلول‌های تحت مطالعه است. افزایش نسبت هسته به سلول در گروه مورد مطالعه نسبت به گروه کنترل نیز موید آن می‌باشد که سلول‌های لومینال در گروه مورد مطالعه ترشحات خود را انجام داده و محتویات سیتوپلاسمی کمتری دارد.

جدول ۱- نسبت‌های حجمی (۷۷) اجزا سلول‌های اپی‌تلیوم لومینال اندومتر رحم در افراد مورد مطالعه و کنترل در روز LH +6 در مراجعه کنندگان به مرکز درمان ناباروری بیمارستان الزهراء دانشگاه علوم

پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تبریز

گروه کنترل M±SEM (n= ۵)	گروه مورد مطالعه M±SEM (n= ۱۰)	میانگین و انحراف معیار نسبت‌های حجمی اجزاء سلولی
۰/۲۴۴±۰/۰۳۷	۰/۳۱۵±۰/۰۲۳	هسته به سلول *
۰/۷۸۳±۰/۰۱۶	۰/۸۸۹±۰/۰۱۵	یوکروماتین به هسته *
۰/۰۱۷±۰/۰۰۳	۰/۰۲۶±۰/۰۰۲	RER به سلول *
۰/۰۷۶±۰/۰۰۱	۰/۰۹۷±۰/۰۰۷	میتوکندری به سلول *
۵/۵۴±۰/۱۸	۶/۵۲±۰/۰۲۳	قطر متوسط هسته *
۲/۶۵±۰/۲۹۰	۱/۹۷±۰/۱۰۳	Axial ratio هسته *

*P- value < ۰/۰۵

از داروهای مختلف برای القا تخمک‌گذاری در سیکل‌های درمان ناباروری می‌باشد. در مطالعه حاضر سعی شده اثرات احتمالی داروهای محرک تخمک‌گذاری GnRHa, HMG, HCG بر فراساختمان سلول‌های اپی‌تلیوم لومینال و غدد اندومتر با استفاده از میکروسکوپ الکترونی و تکنیک مورفومتری در زمان شروع پنجره لانه‌گزینی براساس LH dating بررسی شود؛ چرا که امروزه در اکثر مراکز درمان ناباروری از داروهای فوق به صورت پروتکل طولانی مدت استفاده می‌شود و نیز اکثر مطالعات انجام شده با استفاده از میکروسکوپ نوری، روش LH dating را برای تعیین زمان دقیق لانه‌گزینی استفاده نکرده‌اند.

نتایج این مطالعه از نظر کیفی نشان داد که در تمام افراد تحت درمان با داروهای محرک تخمک‌گذاری مانند گروه کنترل، تریاد سیستم کانال هسته‌ای، میتوکندری‌های بزرگ و واکوئل‌های گلیکوژنی در سلول‌های اپی‌تلیالی لومینال و غدد دیده می‌شود که نشان از وجود گیرنده‌های پروژسترونی و تحت تاثیر قرار گرفتن این سلولها با هورمون پروژسترون دارد؛ زیرا ظهور این تریاد در اثر تاثیر هورمون پروژسترون

روش LH surge به عنوان مبدأ زمانی فاز لوتئال (LH=0) محسوب می‌شود (۲۰). روش‌های دیگر که مبدأ شمارش را از روز اول پریود محاسبه می‌کنند همچون شمارش از روز اول پریود قبلی (LMP) و یا شمارش معکوس از روز اول پریود بعدی (NMP)^۱، در این مطالعه استفاده نشد؛ زیرا مطالعات نشان داده است که روش LH dating نسبت به روش‌های دیگر دقیق‌تر بوده و با یافته‌های هیستولوژیک بیشتر مطابقت دارد (۲۱).

تاکنون مطالعات محدودی با استفاده از LH dating بر فراساختمان سلول‌های اپی‌تلیوم لومینال و غددی اندومتر در زنان بارور طبیعی در طی پنجره لانه‌گزینی انجام شده است که نتایج آن با این مطالعه مطابقت دارد (۲۲، ۲۳). در مطالعه حاضر مانند سایر مطالعات تریاد سیستم کانال‌های هسته‌ای، میتوکندری‌های غول‌پیکر و واکوئل‌های تحت هسته‌ای کلیکوژن در اندومتر زنان طبیعی دیده می‌شود.

عوامل مختلفی بر روی پذیرندگی اندومتر تأثیر می‌گذارد (۲۵، ۲۴، ۱۸). یکی از مهمترین عوامل، استفاده

1-Last Menstrual Period

2- Next Menstrual Period

جدول ۲- نسبت های حجمی (v_v) اجزاء سلول‌های اپی تلیوم غده ای اندومتر رحم در افراد مورد مطالعه و کنترل در روز LH+6 در مراجعه کنندگان به مرکز درمان ناباروری بیمارستان الزهراء دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تبریز

گروه M±SEM (n= ۵)	گروه مورد مطالعه M±SEM (n= ۱۰)	گروه نسبت‌های حجمی اجزاء سلولی
۰/۲۸۲±۰/۰۱۸	۰/۳۵۵±۰/۰۳۳	هسته به سلول *
۰/۷۷۰±۰/۰۰۸	۰/۸۷۵±۰/۰۲۵	یوکروماتین به هسته *
۰/۰۱۵±۰/۰۰۳	۰/۰۵۶±۰/۰۰۷۴	گلیکوژن به سلول *
۰/۰۳۲±۰/۰۰۹	۰/۰۴۸±۰/۰۰۰۸	RFR به سلول *
۰/۰۳۷±۰/۰۰۳	۰/۰۸۲±۰/۰۰۶۵	میتوکندری به سلول *
۵/۵±۰/۰۱۸	۶/۲۵±۰/۲۳۱	قطر متوسط هسته *
۱/۸±۰/۲	۱/۲۶±۰/۳۱۶	Axial ratio هسته *

* P- value < ۰/۰۵

داروهای محرک تخمک‌گذاری سبب فعال شدن بیش از حد سلول‌های اپی‌تلیالی اندومتر می‌شود؛ که این فعالیت بیش از حد معمول ممکن است مسئول کاهش میزان حاملگی در سیکل‌های با تحریک تخمک‌گذاری در مقایسه با سیکل‌های بدون تحریک تخمک‌گذاری باشد. نتایج کمی در پارامترهای هسته‌ای به دست آمده از مقاطع نیمه‌نازک هم در بین دو گروه تفاوت معنی‌داری داشت که نشان‌دهنده فعالیت بالای هسته در مقایسه با گروه کنترل می‌باشد.

نتایج این مطالعه همچنین نشان داد که سلول‌های اپی‌تلیوم غده‌ای ترشحات فراوان به داخل لومن غدد داشته و سبب اشغال حداقل بیش از یک‌دوم استروما توسط غدد در مقایسه با اشغال یک چهارم غدد در گروه کنترل شده است. یافته‌های فوق مؤید این مطلب است که این داروها باعث ادامه تکامل ارگان‌های دخیل در سنتز ترشحات می‌شود و باعث ادامه فعالیت سلول‌های اپی‌تلیال غددی می‌شود. به همین جهت در گروه تحت مطالعه، غدد فضای زیادی را اشغال نموده و لومن داخل آنها از ترشحات پر شده است. این یافته‌ها با یافته‌های سایر محققین مطابقت دارد. بر همین اساس

بر سلول‌های اندومتر ایجاد می‌شود (۲۲). فقدان این تریاد با نارسایی فاز لوتئال ارتباط دارد (۲۶). وجود واکوئول‌های کمتر، گلیکوژن در سلول‌های اپی‌تلیوم لومینال و ترشحات فراوان در لومن نسبت به گروه کنترل نشان از ترشح بیشتر و زود هنگام تر داشته که ترشحات زیاد در سطح لومینال گروه تحت درمان می‌تواند اختلال در روند قرارگیری^۱ و اتصال^۲ و در نهایت موجب کاهش پذیرش رحمی و لانه‌گزینی جنین شود.

نتایج کمی حاصل از مورفومتری نشان داد که سلول‌های اپی‌تلیوم لومینال و غددی در گروه تحت مطالعه دارای هسته یوکروماتین تر، میتوکندری بیشتر و RER فراوان‌تر در مقایسه با گروه کنترل می‌باشند. هسته‌های یوکروماتین نشان‌دهنده فعال‌تر بودن هسته هستند و نسخه‌برداری بیشتر، میتوکندری فراوان حاکی از تولید و تأمین زیاد انرژی برای فعالیت بیشتر سلول و RER بیشتر نشان از فعالیت و پیشرفت تکاملی سنتزی سلول داشته و در مجموع حاکی از آن است که

1- Oposition
2- Attachment

به نظر می‌رسد که تحریک طولانی مدت تخمدان علاوه بر عوارض شناخته شده‌ای چون تومورهای تخمدانی، رحم و لوله رحم، پستان و سندرم تحریک بیش از حد تخمدان (OHSS) منجر به اختلال در پذیرندگی اندومتر شده و میزان لانه‌گزینی موفق را کاهش می‌دهد (۳۱). بر همین اساس اخیراً در بعضی از مراکز درمان ناباروری استفاده از سیکل‌های طبیعی^۱ (۳۲) بدون تحریک تخمک‌گذاری را به سیکل‌های تحریکی ترجیح می‌دهد.

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تبریز به دلیل تأمین اعتبار و پرسنل مرکز درمان ناباروری دبیرستان الزهراء دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تبریز به دلیل همکاری صمیمانه در اجرای این طرح تشکر و قدردانی می‌گردد.

Nikolettos و همکاران (۲۷) در سال ۲۰۰۲ تحقیقات مشابهی را بر روی ۱۲۴ بیمار تحت درمان با سیکل‌های IVF انجام دادند. آنها به کمک اولتراسوند واژینال تجمعات مایع را در فاز لوتئال در اندومتر ثبت کردند. همچنین Marcia و همکاران (۲۸) تحقیقات مشابهی را با میکروسکوپ نوری انجام دادند. براساس نتایج آنها اندومتر تکامل پیشرفته‌ای داشته است. Nikas و همکاران (۲۹) با ارزیابی سیستم پینوپود، نشان دادند که در سیکل‌های تحریکی ظهور پینوپودها ۱-۲ روز زودتر یعنی روزهای ۱۸-۱۹ صورت می‌گیرد؛ در حالیکه در سیکل‌های طبیعی این ظهور در روزهای ۲۰-۲۳ اتفاق می‌افتد. علت این است که در روز LH+6 سیستم پینوپود در اثر این داروها کاهش نشان نمی‌دهد. Tavaniotou و همکاران (۳۰) نیز با ارزیابی توأم هورمونی - هیستولوژیکی نشان دادند که سیکل‌های تحریکی باعث شیفیت رو به جلو یعنی در Implantation Window می‌شود. در مجموع با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق و سایر مطالعات

References

- 1- Dunson D.B., Baird D.D., Colombo B. Increased infertility with age in men and women. *Obstet Gynecol.* 2004;103(1):51-6.
- 2- Wilcox A.J., Baird D.D., Weinberg C.R. Time of implantation of the conceptus and loss of pregnancy. *N Engl J Med.* 1999;10;340(23):1796-9.
- 3- Sharkey A.M., Smith S.K. The endometrium as a cause of implantation failure. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2003;17(2): 289-307. Review.
- 4- Bagchi I.C., Kumar S. Steroid-regulated molecular markers of implantation. *Semin Reprod Endocrinol.* 1999;17(3):235-40 (Review.)
- 5- Oehler M.K., Rees M.C., Bicknell R. Steroids and the endometrium. *Curr Med Chem.* 2000;7(5): 543-60 (Review).
- 6- Paulson R.J., Sauer M.V., Lobo R.A. Factors affecting embryo implantation after human invitro fertilization: a hypothesis. *Am J Obstet Gynecol.* 1990;163:2020-3.
- 7- Paulson R.J., Sauer M.V., Lobo R.A. Embryo implantation after human in vitro fertilization: importance of endometrial receptivity. *Fertil Steril.* 1990;53:870-4.
- 8- Check J.H., Nowroozi K., Chase J., Nazari A., Braithwaite C. Comparison of pregnancy rates following in vitro fertilization-embryo transfer between the donors and the recipients in a donor oocyte program. *J Assist Reprod Genet.* 1992;9: 248-50.
- 9- Gidley-Baird A.A., O'Neill C., Sinosich M.J., Porter R.N., Pike I.L., Saunders D.M. Failure of implantation in human in vitro fertilization and embryo transfer patients: the effects of altered progesterone/estrogen ratios in humans and mice.

1- Natural Cycle

- Fertil Steril.1986;45:69-74.
- 10- Ben-Nun I., Jaffe R., Fejgin M.D., Beyth Y. Therapeutic maturation of endometrium in in vitro fertilization and embryo transfer. Fertil Steril. 1992;57:953-62.
- 11- Forman R., Fries N., Testart J., Belaisch-Allan J., Hazout A., Frydman R. Evidence for an adverse effect of elevated serum estradiol concentrations on embryo implantation. Fertil Steril.1988; 49:118-22.
- 12- O' Neill C., Ferrier A.J., Vaughan J., Sinosich M.J. Saunders D.M. Causes of implantation failure after in-vitro fertilisation and embryo transfer. Lancet.1985;2:615.
- 13- Simon C., Cano F., Valbuena D., Remohi J., Pellicer A. Clinical evidence for a detrimental effect on uterine receptivity of high estradiol concentrations in high and normal responder patients. Hum Reprod.1995;10:2432-7.
- 14- Check J.H., Choe J.K., Katsoff D., Summers-Chase D., Wilson C. Controlled ovarian hyperstimulation adversely impacts implantation following in vitro fertilization-embryo transfer. J Assist Reprod Genet.1999;16:416-20.
- 15- Ng E.H.Y., Yeung W.S.B., Lau E.Y.L., SO W.W.K., Ho P.C. High serum oestradiol concentrations in fresh IVF cycles do not impair implantation and pregnancy rates in subsequent frozen-thawed embryo transfer cases. Hum Reprod.2000; 15:250-5.
- 16- Garcia J.E., Acosta A.A., Hsiu J.G., Jones H.W Jr. Advanced endometrial maturation after ovulation induction with human menopausal gonadotropin/human chorionic gonadotropin for in vitro fertilization. Fertil Steril.1984;41:31-5.
- 17- Levi A.J., Drews M.R., Bergh P.A., Miller B.T., Scott R.T., Jr. Controlled ovarian hyperstimulation does not adversely affect endometrial receptivity in in vitro fertilization cycles. Fertil Steril.2001;76(4):670-4.
- ۱۸- غفاری نوین معرفت، سارانی احمد، صادقی محمدرضا، وارن ام. ای. کشت پولارایز سلول‌های اندومتر و کاربرد آن در مطالعه لانه‌گزینی *In vitro*. مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی شهید صدوقی یزد، سال ۸ (۱۳۷۹)، شماره ۳، صفحات ۱۱-۳.
- 19- Lenton E.A., Landgren B.M., Sexton L. Normal variation in the length of the luteal phase of the menstrual cycle: identification of the short luteal phase. Br J Obstet Gynaecol.1984;91(7): 685-9.
- 20- Li T.C., Rogers A.W., Dockery P., Lenton E. A., Cooke I.D. A new method of histologic dating of human endometrium in the luteal phase. Fertil Steril.1988;50(1):52-60.
- 21- Li T.C., Rogers A.W., Lenton E.A., Dockery P., Cooke I. A comparison between two methods of chronological dating of human endometrial biopsies during the luteal phase, and their correlation with histologic dating. Fertil Steril.1987;48 (6):928-32.
- 22- Dockery P., Rogers A. The effects of steroid on the fine structure of the endometrium. Baillieres Clin Obstet Gynecol.1998,3(2):227-247.
- 23- Sarani S.A., Ghaffari-Novin M., Warren M.A., Dockery P., Cooke I.D. Morphological evidence for the 'Implantation Windows' in Human Luminal Endometrium. Human Reprod. 1999;14(12):3101-3106.
- 24- Ghaffari Novin M., Sarani S.A., Warren M. A., Cooke I.D. Leukemia Inhibitory Factor in fertile and infertile human reproductive tract in vivo. Iranian J Allergy, Asthma Immun.2000;1 (1):21-27.
- 25- Cavagna M., Mantese J.C. Biomarkers of endometrial receptivity. a review. Placenta.2003; 24 Suppl B:S39-47.
- 26- Dockery P., Pritchard K., Taylor A., Li T.C., Warren M.A., Cooke I.D. The fine structure of the human endometrial glandular epithelium in cases of unexplained infertility: a morphometric study. Hum Reprod.1993;8(5):667-73.
- 27- Nikolettos N., Asimakopoulos B., Vakalopoulos I., Simopoulou M. Endometrial fluid accumulation during controlled ovarian stimulation for ICSI treatment. A report of three cases. Clin Exp Obstet Gynecol.2002;29(4):290-2.
- 28- Marci R., Senn A., Dessole S., Chanson A., Loumaye E., De Grandi P., Germond M. A low-dose stimulation protocol using highly purified follicle-stimulating hormone can lead to high pregnancy rates in in vitro fertilization patients with polycystic ovaries who are at risk of a high ovarian response to gonadotropins. Fertil Steril. 2001;75(6):1131-5.
- 29- Nikas G., Makrigiannakis A. Endometrial pinopodes and uterine receptivity. Ann N Y Acad Sci. 2003;997:120-3.
- 30- Tavaniotou A., Smitz J., Bourgain C., Devroey P. Ovulation induction disrupts luteal phase function. Ann N Y Acad Sci.2001;943:55-63. (Review.)

31- Klip H., Burger C.W., Kene mans P., Van Leeuwen F.E. Cancer risk associated with subfertility and ovulation induction:a review. *Cancer Causes Control*.2000;11(4):319-44(Review).

32- Norman R.J., Payne D., Matthews C.D. Pregnancy following intracytoplasmic sperm injection (ICSI) of a single oocyte in a natural cycle. *Hum Reprod*.1995;10(7):1626-7.