ASSESSMENT OF SUB-ENDOMETRIAL BLOOD FLOW AND ENDOMETRIAL GLAND VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR IN WOMEN WITH UNEXPLAINED INFERTILITY

THESIS

Submitted for Partial Fulfillment of the MD Degree in Obstetrics and Gynecology

By

Ayman Abdel-Kader Mohammed
M.B.B.Ch. 2004 – Ain Shams University
M.Sc. OB/GYN 2009 – Ain Shams University

Under Supervision Of

PROF. HAZEM AMIN EL-ZENNENI
Professor of Obstetrics and Gynecology
Ain Shams University

PROF. ROWAA ABDEL-AZEEM MOUSTAFA
Professor of Obstetrics and Gynecology
Ain Shams University

DR. MOHAMMED ABDEL-HAMEED ABDEL-HAFEEZ
Lecturer in Obstetrics and Gynecology
Ain Shams University

Faculty of Medicine
Ain Shams University
2013

Acknowledgment

first and foremost, I feel always indebted to ***Allah****, the Most Kind and Merciful.*

I'd like to express my respectful thanks and profound gratitude to ***Prof., Hazem El-Zenneni,*** *for giving me the honor and great advantage of working under his supervision.*

My sincere thanks and utmost appreciation are humbly presented to ***Prof., Rowaa Moustafa,*** *for his meticulous supervision, professional experience and support.*

My sincere thanks are due to ***Dr. Mohammed Abdel-Hafeez,*** *for his brotherly advice, support and constant motivation.*

Last, but certainly not least, my deepest gratitude goes to ***DR. Hala El-Salaly*** *fellow of clinical pathology and* ***DR Mohammed El-Sherbieny*** *fellow of ultrasound and fetal care unit, Ain shams maternity hospital for their tremendous assistance.*

Ayman Abdel Kader Mohammed

تقييم سريان الدم ببطانة الرحم لمرضي العقم الأولي الغير مفسر عن طريق قياس معامل التدفق الدموي ببطانة الرحم والقياس الكمي للعامل المحفز لبناء الأوعية الدموية ببطانة الرحم

بحث كجزء متمم للحصول على درجة الدكتوراة في أمراض النساء و التوليد
بواسطة

طبيب/ أيمن عبد القادر محمد
بكالوريوس الطب و الجراحة العامة
ماجستير أمراض النساء و التوليد

تحت إشراف
الأستاذ الدكتور/ حازم أمين الزنيني
أستاذ أمراض النساء و التوليد
جامعة عين شمس
الأستاذ الدكتور/ رواء عبد العظيم مصطفي
أستاذ أمراض النساء و التوليد
جامعة عين شمس
الدكتور/ محمد عبد الحميد عبد الحفيظ
مدرس أمراض النساء و التوليد
جامعة عين شمس

جامعة عين شمس – القاهرة
٢٠١٣

الملخص العربى

يعرف العقم الأولي بعدم القدرة علي الحمل علي الرغم من حدوث علاقة بصورة منتظمة لمدة لا تقل عن ١٢ شهر، تبدأ جميع الأبحاث الطبية اللازمة لمناظرة الحالة بعد هذه الفترة باستثناء تقدم سن السيدة عن ٣٥ عاماً حيث عادة تبدأ تلك الدراسات بعد ٦ شهور.

تعرف حالات العقم بإنه عقم أولي غير مفسر عندما لا يوجد سبب ظاهري لتفسيرة وبعد إجراء جميع الابحاث الطبيعة اللازمة وتقدر بنسبته بـ١٥% من حالات العقم.

وتتضمن تلك الابحاث الأولية (تحليل السائل المنوي الخاص بالزوج، تحليل الهرمونات الأنثوية الخاصبة بعملية التبويض بالإضافة إلي عمل موجات صوتية للحوض والأطمئنان علي حالة مجري قناتي فالوب عن طريق عمل أشعة بالصبغه للرحم والأنبوبتين أو عن طريق المنظار التشخيصي عن طريق البطن) .

ولذلك تعتبر خطوة استزراع الجنين هي الخطوة الأكثر دقة لتفسير معني الخصوبة في الجنس البشري. وهي تتضمن ظاهرة بيولوجية متفردة حيث تكون هناك لغة تخاطب خاصة بين الخلايا الجنينية وبطانة الرحم بالأم.

هناك إطار زمني دقيق لحدوث تلك الظاهرة البيولويجية المعروفة بأسم استزراع الجنين وهي تقريباً ٧٢-٩٦ ساعة.

ولنجاح هذه الخطوة متطلبات كثيرة أهمها وجود تزامن دقيق بين سلسلة الأحداث البيولوجية التي تؤدي في النهاية لاستزراع الجنين.

تتسارع الأبحاث العلمية لتعريف ماهية الأسس البيولوجية والهرمونية التي تؤدي إلي نجاح استزراع الجنين لتدخل بنا إلي مفهوم أكبر وهو استقبالية بطانة الرحم.

في هذه الدراسة ركزنا علي تأثير للعامل المحفز لبناء الأوعية الدموية علي التدفق الدموي لبطانة الرحم وكيفية التحقق من ذلك بواسطة الموجات فوق الصوتية والدوبلر الملون عن طريق الاجهزة المتوفرة لدينا.

الدراسة

- هي دراسة من نوع دراسات الاستنتاج المقارن تضمنت ١٠٠ سيدة من المترددات علي مستشفي امراض النساء والتوليد جامعة عين شمس في الفترة من أغسطس ٢٠١٠ حتي يوليو ٢٠١٢ وتم اجراء الدراسه في الأقسام الأتية:-

١- عيادة العقم

٢- عيادة تنظيم الأسرة.

٣- وحدة الموجات فوق صوتية

٤- وحدة الباثولوجي والتشخيس المبكر للأورام.

<u>وتم تقسيم الدراسة إلي مجموعتين:</u>

١- مجموعة البحث (وتتضمن ٥٠ سيدة)

وهذه المجموعة ممن تم تشخيص حالة العقم الأولي غير المفسر لديهن وكانت متطلبات الانضمام لمجموعة البحث هي:

أ. السن من ١٨ إلي ٣٥ سنة.

ب. سلامة تحليل السائل المنوي للزوج وفقاً لمعايير السالمة الخاصبة بمنظمة الصحة العالمية لسنة ٢٠١٠.

ت. إثبات عملية التبويص هرمونياً.

ث. إثبات سلامة مجري قناة فالوب عن طريق المنظار التشخيصي أو عن طريق الأشعة الصيفية للرحم والأنبوبتين

٢- المجموعة المقارنة (وتتضمن ٥٠ سيدة)

وهذه المجموعة تتضمن السيدات في نفس الفترة العمرية وليس لديهم أي تاريخ مرضي لتأخر الحمل. انضمت هذه السيدات إلي دراسة من خلال عيادة تنظيم الأسرة بالمستشفي وتم إختيار السيدات اللاتي لم يستخدمن اي علاج هرموني خلال الثلاث شهور الاخيره.

أبعاد الدراسة:

١) تم تعريف المريضة بكافة ابعاد الدراسة وشرح جميع الخطوات وتم إقرار الموافقة المستنيرة علي المشاركة في الرسالة.

٢) تم أخذ التاريخ المرضي والجراحي وإجراء فحص طبي الكلينيكي شامل لجميع المشاركات في الرسالة.

٣) تحديد أيام التبويض تم باستخدام تأثير هرمون التبويض (LH) بالبول بدءأ من اليوم الحادي عشر يومياً حتي حدوث التبويض بظهور الأم.

٤) بعد مرور ٦ أيام علي يوم التبويض تأتي السيدة المشاركة في الدراسة لعمل كلاً من:-

- إجراء موجات فوق صوتية مهبلية باستخدام الدوبلر الملون في وحدة الموجات فوق الصوتية بالمستشفي ليتم مناظرة سمك بطانة الرحم ومعامل التدفق الدموي للشريان الرحمي ومعامل الدفق الدموي للدورة الدموية لبطانة الرحم.
- في نفس اليوم يتم أخذ عينة مكتبية من بطانة الرحم عن طريق أنبوبة بيبل ويتم إرسال العينة لمعمل الباثولوجي لإعدادها للدراسة المناعية الكيميائية للعامل البناء لنمو الأوعية الدموية ببطانة الرحم.

وخرجت النتائج الاحصائية المقارنة للدراسة بدلائل واضحة لوجود فارق احصائي بين مجموعتي البحث لكل من:-

١- نسبة وجود العامل البناء للأوعية الدموية ببطانة الرحم حيث وجدت نسبته اقل انخفاضا في حالات العقم الأولي غير المفسر.

٢- سمك بطانة الرحم عن ٩ مم يقلل من احتماله العقم الأولي غير المفسر.

٣- نقص معامل التدفق الدموي للأوعية الدموية لبطانة الرحم في حالات العقم الأولي غير المفسر.

قَالُواْ سُبْحَانَكَ لاَ عِلْمَ لَنَا إِلاّ مَا
عَلَّمْتَنَا إِنَّكَ أَنتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ

سورة البقرة
(٣٢)

LIST OF CONTENTS

	Page
Introduction	1-3
Aim of the work	4
Review of Literature	5-61
1. Unexplained Infertility	5-27
2. Endometrial Receptivity	28-45
3. Ultrasound in Infertility	46-55
4. Angiogenesis and VEGF	56-62
Patients and Methods	62-79
Results	80-111
Discussion	112-118
Summary	119-123
References	124-169
Arabic summary	-

LIST OF TABLES

Table no.	Title	Page no.
1	World Health Organization Criteria for a Normal Semen Analysis	10
2	Univariate analysis: quantitative data	83
3	Univariate analysis: qualitative data (parity and VEGF)	88
4A	Analysis of the ROC curve for prediction of unexplained infertility using the VEGF level	91
4B	Criterion values and coordinates of the ROC curve for prediction of unexplained infertility using VEGF level	91
5A	Analysis of the ROC curve for prediction of unexplained infertility using endometrial thickness	93
5B	Criterion values and coordinates of the ROC curve for prediction of unexplained infertility using endometrial thickness	93
6B	Criterion values and coordinates of the ROC curve for prediction of unexplained infertility using subendometrial flow RI	95
7A	Analysis of the ROC curve for prediction of unexplained infertility using subendometrial flow PI	97
7B	Criterion values and coordinates of the ROC curve for prediction of unexplained infertility using subendometrial flow PI	97
8A	Analysis of the ROC curve for prediction of unexplained infertility using uterine artery RI	99
8B	Criterion values and coordinates of the ROC curve for prediction of unexplained infertility using uterine artery RI	99
9A	Analysis of the ROC curve for prediction of unexplained infertility using uterine artery PI	101
9B	Criterion values and coordinates of the ROC curve for prediction of unexplained infertility using uterine artery PI	101
10A	Multiple logistic regression model for prediction of	102

	unexplained infertility	
10B	**Overall model fit**	**102**
10C	**Hosmer & Lemeshow test**.....	**103**
10D	**Classification table for the regression model at a predicted probability of 0.5**	**103**
11A	**Analysis of the ROC curve derived from logistic regression model for prediction of unexplained infertility**	**105**
11B	**Criterion values and coordinates of the ROC curve derived from logistic regression model for prediction of unexplained infertility**	**105**
12A	**Alternative logistic regression model (model 2)**	**107**
12B	**Overall model fit (model 2)**	**107**
12C	**Hosmer & Lemeshow test. (model 2)**	**108**
12D	**Classification table for the alternative model (2) at a predicted probability of 0.5**	**108**
13	**Analysis of the ROC curve derived from logistic regression model for prediction of unexplained infertility (model 2)**	**110**
14	**Comparison of ROC curves derived from model 1 and model 2.**	**110**

LIST OF FIGURES

Fig. no.	Title	Page no.
1	Age in the two study groups. Boxes represent interquartile range, horizontal lines across boxes represent medians, and error bars represent 5th and 95th percentiles	84
2	Duration of marriage in the two study groups. Boxes represent interquartile range, horizontal lines across boxes represent medians, and error bars represent 5th and 95th percentiles	84
3	VEGF score in the two study groups. Boxes represent interquartile range, horizontal lines across boxes represent medians, and error bars represent 5th and 95th percentiles	85
4	Endometrial thickness in the two study groups. Boxes represent interquartile range, horizontal lines across boxes represent medians, error bars represent 5th and 95th percentiles, and marker lying outside these limits represents an outlier	85
5	Subendometrial flow RI in the two study groups. Boxes represent interquartile range, horizontal lines across boxes represent medians, and error bars represent 5th and 95th percentiles	86
6	Subendometrial flow PI in the two study groups. Boxes represent interquartile range, horizontal lines across boxes represent medians, error bars represent 5th and 95th percentiles, and markers lying outside these limits represent outliers	86
7	Uterine artery RI in the two study groups. Boxes represent interquartile range, horizontal lines across boxes represent medians, error bars represent 5th and 95th percentiles, and markers lying outside these limits represent outliers	87
8	Uterine artery PI in the two study groups. Boxes represent interquartile range, horizontal lines across boxes represent medians, and error bars represent 5th and 95th percentiles	87

9	**Parity in the two study groups**	**89**
10	**Distribution of patients among the VEGF score categories in the two study groups**	**89**
11	**Receiver-operating characteristic (ROC) curve for prediction of unexplained infertility using VEGF level**	**90**
12	**Receiver-operating characteristic (ROC) curve for prediction of unexplained infertility using endometrial thickness**	**92**
13	**Receiver-operating characteristic (ROC) curve for prediction of unexplained infertility using subendometrial flow RI**	**94**
14	**Receiver-operating characteristic (ROC) curve for prediction of unexplained infertility using subendometrial flow PI**	**96**
15	**Receiver-operating characteristic (ROC) curve for prediction of unexplained infertility using uterine artery RI**	**98**
16	**Receiver-operating characteristic (ROC) curve for prediction of unexplained infertility using uterine artery PI**	**100**
17	**ROC curve derived from logistic regression model for prediction of unexplained infertility**	**104**
18	**ROC curve derived from model 2. AUC = 0.842 (95% CI, 0.756 to 0.908; P < 0.001)**	**109**
19	**Comparison of ROC curves derived from model 1 and model 2.**	**111**

LIST OF PICTURES

pict no.	Title	Page no.
1	**LH Kits**	65
2	**LH Kits**	66
3	**Negative test**	66
4	**Positive test**	67
5	**Sub-endometrial flow by color Doppler with good vascularity**	69
6	**Sub-endometrial flow by color Doppler with good vascularity**	70
7	**Sub-endometrial flow by color Doppler with poor vascularity**	71
8	**Uterine artery Doppler**	72
9	**Endocell**	73
10	**endometrial specimen from *one of the infertile group* shows endometrial glands and stroma in the early secretory phase stained with (*VEGF IHC)*, magnification x400, score 0**	75
11	**endometrial specimen *one of the infertile group* shows endometrial glands and stroma in the early secretory phase stained with (*VEGF IHC)*, magnification x100, score 1**	76
12	**endometrial specimen *one of the fertile group* shows endometrial glands and stroma in the mid secretory phase stained with (*VEGF IHC)*, magnification x400, score 3**	77

LIST OF ABBREVIATIONS

2-D	Two Dimensional
3D	Three-Dimensional
3D US-PDA	Three-Dimensional Ultrasound and Power Doppler Angiography
4D	Four Dimensional
AH	Assisted Hatching
AR	Androgen receptors
ART	Assisted Reproductive Technology
ASRM	American society of reproductive medicine
cAMP	Cyclic Adenosine Monophosphate
CAMs	Cell adhesion molecules
CG	Chorionic Gonadotrophin
CL	Corpus luteum
CNTF	ciliary neurotrophic factor
COH	Controlled Ovarian Hyperstimulation
CT	Cytotrophoblast
DNA	Deoxyribonucleic Acid
ECM	Extracellular Matrix
EDTA	Ethylene Diamine Tetraacetic Acid
EFT	Endometrial Function Test
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
EPDA	intra-endometrial power Doppler area
ER	Estrogen receptors
ESC	Endometrial Stromal Cell
ESC	Endometrial stromal cells
ESHRE	Europian society of human reproduction and endocrinology
ET	Endometrial Thickness
EV	Endometrial Volume
EVT	Extravillous Trophoblast
FI	Flow Index