پژوهنده (مجله پژوهشي دانشگاه علوم پزشكي شهيد بهشتي)
سال سيزدهم, شماره ۵ , پي در پي ۶۵ ، صفحات ۴۲۵ تا ۴۳۲
آذر و دی ۱۳۸۷

تاريخ دريافت مقاله ۸۷/۲/۱۴
تاريخ پذيرش مقاله ۸۷/۵/۱

بررسي تأثير مايع فوليكولار انساني حرارت ديده و محيط كشت MEM-α بر بلوغ و باروري اووسيت هاي نارس موش سوري

حجت اله عباس زاده[۱]، دكتر سيد غلامرضا فنائي[۲]، دكتر يوسف صادقي[۳]، دكتر فريبا الماسي[۴]، دكتر احمد حسيني[۵] *

چكيده

سابقه و هدف: *القاي رشد و تكامل اووسيت نارس در محيط آزمايشگاهي يكي از روش هايي است كه اخيراً در فن آوري هاي كمك باروري توجه بسياري از محققين را به خود جلب نموده است. اين روش براي زنان مبتلا به سرطان و تخمدان پلي كيستيک حايز اهميت است. علي رغم استفاده از محيط هاي كشت مختلف، تاكنون يک محيط مناسب ايده آل جهت كشت اووسيت هاي نارس گزارش نشده است. با توجه به گزارش مواردي از موفقيت و به منظور تعين تأثير مايع فوليكولي انساني (مشابه با محيطي كه اووسيت را در داخل بدن در بر گرفته است) بر بلوغ و قدرت باروري اووسيت هاي نارس موش سوري اين تحقيق انجام گرفت.*

مواد و روش ها: *تحقيق با طراحي تجربي انجام گرفت. تخمدان موش هاي ماده ٤ تا ٦ هفته اي از نژاد NMARI پس از قطع نخاع گردني در شرايط استريل خارج و پس از شستشو، اووسيت هاي نارس جدا شده از آن به سه گروه تقسيم گرديدند. در گروه اول تعداد ۲۰۹ تخمک نارس در محيط كشت حاوي MEM-α, hCG, rFSH, ۲۰% FCS، در گروه دوم، ۲۰۳ اووسيت نارس در محيط كشت حاوي hHFF ۱۰۰% و در گروه سوم، ۲۰۵عدد اووسيت نارس در محيط حاوي MEM-α، hCG، rFSH و۲۰% hHFF قرار داده شدند. اووسيت هاي نارس به مدت ۲٤ ساعت در داخل انكوباتور قرار داده شده و روز بعد، مراحل بلوغ اووسيت به وسيله ميكروسكوپ معكوس مورد بررسي قرار گرفت. اووسيت هاي بالغ در هر گروه به قطره هاي حاوي اسپرم انتقال پيداكردند و ميزان تشكيل جنين هاي ۲ سلولي پس از ۲٤ ساعت در زير ميكروسكوپ معكوس ثبت شد. سپس داده ها با آزمون آماري مجذور كاي آناليز شدند.*

يافته ها: *ميزان بلوغ اووسيت ها در گروه دوم (۸۳/۷%) نسبت به گروه اول (۵۹/۸%) وگروه سوم (۶۷/۳%) از لحاظ آماري به طور معني داري بالاتر بود (P< ۰/۰۰۰۵) و اختلاف بين گروه اول و سوم از نظر آماري معني دار نبود (P< ۰/۲). ميزان تشكيل جنين هاي دو سلولي در گروه دوم (۸۱/۸%) نسبت به گروه سوم (۵۴/۳%) و گروه اول (۴۷/۲%) از لحاظ آماري به طور معني داري (P< ۰/۰۱ و P< ۰/۰۰۲) بالاتر بود. اختلاف بين گروه اول و سوم از نظر آماري معني دار بود (P< ۰/۰۷).*

نتيجه گيري: *به نظر مي رسد كه مايع فوليكولي انساني، به صورت حرارت ديده مي تواند بر بلوغ اووسيت هاي نارس موش سوري و باروري آن ها و در نتيجه ميزان تشكيل جنين هاي دو سلولي در محيط آزمايشگاهي تأثير مثبتي داشته باشد.*

واژگان كليدي: *اووسيت نارس ، مايع فوليكولي ، بلوغ ، باروری*

۱ . دانشجوي دكتراي تخصصي علوم تشريح ، گروه آناتومي ، دانشكده پزشكي ، دانشگاه تربيت مدرس
۲ . دانشيار ، مركز تحقيقات بيولوژی سلولي و مولكولي ، دانشگاه علوم پزشكي شهيد بهشتي
۳ . استاد ، مركز تحقيقات بيولوژی سلولي و مولكولي ، دانشگاه علوم پزشكي شهيد بهشتي
٤ . مشاور آماری ، مركز تحقيقات بيولوژی سلولي و مولكولي ، دانشگاه علوم پزشكي شهيد بهشتي
۵ . * نويسنده مسؤول : استاد ، مركز تحقيقات بيولوژی سلولي و مولكولي ، دانشگاه علوم پزشكي شهيد بهشتي . آدرس براي مكاتبه : تهران ، اوين ، خيابان تابناك، جنب بيمارستان آيت ا... طالقاني ، دانشكده پزشكي دانشگاه علوم پزشكي شهيد بهشتي ، مركز تحقيقات بيولوژی سلولي و مولكولي .
پست الكترونيک : **prof_hosseini @ yahoo.com**

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-09-16]

مقدمه

فعال كـردن رونـد تقـسيم ميـوز در اووسـيت و بلـوغ آن از اهداف مهم درماني محققين علوم ناباروري بـوده اسـت. بلـوغ آزمايشگاهي اووسيت هـا (In Vitro Maturation IVM) براي اولين بـار در سـال ۱۹۳۵ توسـط Pincus و Enzman مطرح گرديد. آن ها توانستند بدون استفاده از هورمون، تقسيم ميـوز را در اووسـيت هـاي فوليكـول خرگـوش فعـال كننـد و اووسـيت هـاي نابـالغ (Germinal Vesicle GV) را به مرحله Germinal Vesicle Breakdown (GVBD) برسانند. پس از آن تلاش هاي بسياري جهت بهينه سازي ايـن روش انجام گرفته است. تا آن جا كه برخي از محققـين ضـمن بلوغ اووسيت در آزمايشگاه، جنين نيز به دست آوردنـد (۱و۲). امروزه القا رشـد و تكامـل اووسـيت در خـارج از بـدن يكـي از روش هـايي اسـت كـه در تكنولـوژي كمكـي توليـد مثـل (Assisted ART Reproductive Technology) به كار گرفته مي شود (۳). اين روش مخصوصاً براي بسياري از زناني كه قادر بـه بـالغ كـردن اووسـيت در داخـل بـدن خـود نيستند (مثلاً بيماران با تخمدان پلي كيستيک) و هـم چنـين زنان مبتلا به سرطان كه در معـرض دوزهـاي بـالاي اشعه يـا شيمي درماني قرار مي گيرند و قبل از درمان تخمدان خـود را جراحي مي كنند مفيد است (۶-۴).

در پـستانداران در طـي فـاز فوليكـولار چنـدين فوليكـول شروع به رشد كرده و فقط يكي از آن ها و يا تعداد محدودي از آن ها شانس تبديل شدن به اووسيت بالغ را پيدا مي كنند و بقيه چند روز قبل از تخمک گذاري دچار آترزي شده و در آن هـا آپوپتـوزيس صـورت مـي گيـرد. در روش IVM، اووسيت ها در مرحلـه ي GV از تخمدان برداشته شده و در محيط In vitro كشت داده مي شوند. سپس تخمـک هـاي بالغ مرحله متافاز II توسط اسپرم بارور مي شوند (۷).

بلوغ آزمايشگاهي اووسيت ضمن استفاده از اووسيت هـاي نارس پس از پانكچر به دليل عدم استفاده از هورمون درماني از پركاري غير طبيعي تخمدان به خصوص در بيماران مبـتلا بـه تخمـدان پلـي كيـستيک (PCOS) ممانعـت بـه عمـل مي آورد و امكان انجماد و ذخيره تخمک هاي نـارس فـراهم مي شود تا در مواقع مناسب از آن ها استفاده گردد (٦و٨).

يكي از مشكلاتي كه بر سر راه موفقيت IVM وجود دارد عـدم تكامـل سيتوپلاسـم اووسـيت در طـي مراحـل رشـد مي باشد. بيش تر محققين علـت را نامناسـب بـودن شـرايط محيطي كه اووسيت در آن رشد مي كند مي داننـد. يكـي از اين عوامل محيط هاي كشت سلولي اسـت. ايـن محـيط هـا نتوانسته اند شـرايط لازم و مناسـبي رابـراي رشـد اووسـيت فراهم آورنـد. حتـي محـيط هـاي كـشت مـي تواننـد ايجـاد اختلالي به نام Large offspring syndrome كنند كـه اين اخـتلال در اثـر عوامـل اسـترس زاي موجـود در محـيط كشت ايجاد مي شود (۹و۱۰). بنابراين مطالعـه محـيط هـاي كشت مختلـف و اثـر آن بـر بلـوغ و تكامـل جنـين يكـي از اولويت هاي تحقيقاتي در IVM مي باشد. يكي از محيط هاي كشت مناسب طبيعي در IVM مايع فوليكولي است كـه در آزمايشگاه هاي لقاح مصنوعي مورد استفاده قـرار مـي گيـرد. مايع فوليكولي محلولي بـا رنـگ زرد كهربـايي و ويـسكوزيته پايين است (۱۱). تركيبات مايع فوليكولي شامل پروتئين ها، ويتـامين هـا، هورمـون هـاي اسـتروييدي، كلـسترول، ليپوپروتئين ها، هيدروكربن ها و استروييدها مي باشد (۱۲). در هنگام تخمـک گـذاري و در زمـان انتقـال اووسـيت ورود مقداري از اين مايع به آمپول رحم امري اجتناب ناپذير است. گزارش شده است مايع فوليكولي مي تواند به عنـوان محـيط كـشت بـراي رشـد جنـين، سـلول هـاي گرانولـوزا و شـايد سـلول هـاي سـوماتيک عمـل كنـد و بـا بـه كـار گيـري آن به همراه سلول هاي گرانولوزا مي توان بـر ايـست دو سـلولي غلبه كرد، به طوري كه احتمال دارد ماده يا مـوادي در مـايع فوليكولي وجود داشـته باشـد كـه بـه صـورت سـينرژيت بـا سلول هاي گرانولوزا عمل كند (۱۳). از سـوي ديگـر گـزارش شده است كه سلول هاي كومولوس و نيز مايـع فوليـكولي در

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-09-16]

محيط كشت زمينه ساز تسريع و افزايش اكروزين مي گردند (۱۴). با توجه به نقش مايع فوليكولي انسان در رشد و نمو جنين به عنوان يک محيط كشت طبيعي در مقايسه با برخي محيط كشت هاي متداول (MEM-α) اين تحقيق در آزمايشگاه مركز تحقيقات بيولوژي سلولي و مولكولي دانشگاه علوم پزشكي شهيد بهشتي درسال ۱۳۸٦ انجام گرفت.

مواد و روش ها

تحقيق با طراحي تجربي انجام گرفت. در اين تحقيق از موش هاي سوري نژاد NMRI تهيه شده از انستيتو رازي كرج (ايران) استفاده شد. موش هاي ماده سالم طبيعي ٤ تا ٦ هفته اي با قطع نخاع گردني كشته شده و تخمدان آن ها در شرايط استريل خارج و پس از انتقال به درون قطرات ۵۰۰ ميكروليتري محيط هاي كشت مورد نظر، چربي هاي اضافه اطراف تخمدان حذف و با سرنگ انسولين پاره شده و اووسيت هاي نارس و حاوي ژرمينال وزيكول همراه با سلول هاي گرانولوزا جدا شد. سپس با روش پيپت كردن سلول هاي گرانولوزاي اطراف آن برداشته شد. اووسيت هاي نارس هسته دار با سيتوپلاسم روشن قشر شفاف يكنواخت با فضاي پيش زرده اي مناسب براي سه گروه انتخاب شدند. سپس هر ۵ اووسيت نارس به مدت ۲٤ ساعت داخل قطرات ۲۰ ميكروليتري محيط كشت سه گانه زير قرار داده شد.

گروه ۱ : محيط كشت MEM-α(sigma) حاوي ۵ mg/ml از FCS(sigma) 20% ، ۱۰ mg/ml از rFSH (sigma) و HCG(sigma) ۱۰ mg/ml .

گروه ۲ : محيط كشت حاوي مايع فوليكولار انساني حرارت ديده ۱۰۰% (Heated Human Follicular Fluid 100%).

گروه۳ : محيط كشت MEM-α (sigma) حاوي hHFF20% ، ۱۰ mg/ml از rFSH(sigma) و نيز mg ۱۰ HCG(sigma) .

- *تهيه مايع فوليكولي و آماده كردن آن؛*

نمونه هاي مايع فوليكولار از زناني كه به منظور درمان نازايي به روش IVF-ET در مركز IVF مورد آسپيراسيون فوليكول قرار گرفته بودند تهيه شد. بيماران در محدود سني ۲۸-۳۵ بودند تحريک رشد فوليكول ها در آن ها با استفاده از GnRH-a متعاقب تجويز HCG انجام پذيرفت. نمونه هاي مايع فوليكولر به دست آمده از فوليكول هاي با يک اووسيت سالم و بالغ مورد بررسي قرار گرفت و از نمونه هاي بدون اووسيت حاوي بيش از يک اووسيت يا داراي اووسيتي نابالغ و نيز نمونه هاي كه به طور محسوسي آغشته به خون بودند استفاده نشد. ابزار و ظروف مورد استفاده در گرفتن و آماده كردن مايع فوليكولر همگي استريل و پلاستيكي و يكبار مصرف بودند.

تمامي نمونه ها بلافاصله بعد از جدا كردن اووسيت به مدت ۲۰ دقيقه و با دور g × ۲۰۰۰ سانتريفوژ شدند سپس بخشي از مايع فوليكولي سانتريفوژ شده را در بن ماري با دماي ٥٦ درجه سانتي گراد و به مدت ۳۰ دقيقه حرارت داده و تا زمان استفاده از آن در يخچال (دماي ^{C} ° ٤) نگه داري شد. حرارت دادن يا متد ذكر شده روشي براي غير فعال كردن آنزيم ها و توكسين هاي موجود در يک راژين يا مايع طبيعي است كه در آزمايشگاه هاي بيوشيمي و IVF-ET معمول است (۱۷).

- *بررسي بلوغ؛*

اووسيت هاي نارس هسته دار با سيتوپلاسم روشن قشر شفاف يكنواخت با فضاي پيش زرده اي مناسب به مدت ۲٤ ساعت در داخل انكوباتور ۳۷ درجه سانتي گراد حاوي CO_2 قرار داده شده و روز بعد مراحل بلوغ اووسيت به وسيله ميكروسكوپ معكوس مورد بررسي قرار گرفت. اووسيت ها با هسته شكسته شده تحت عنوان GV و اووسيت هاي هسته شكسته شده و بدون جسمک قطبي تحت عنوان GVBD و اووسيت هاي كه اولين جسمک قطبي در آن ها پديدار گشته است در گروه اووسيت هاي بالغ MII دسته بندي شدند.

- *لقاح اووسيت به روش (**IVF (in vitro fertilization**)؛*

كه طي ۵ مرحله و به شرح زير انجام گرديد:

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-09-16]

I .جمع آوري اووسيت هاي بالغ شده در تمامي گروه هـاي آزمايشگاهي

II . كشتن موش سوري نر نـژاد NMARI بـه وسـيله قطع نخاع، جداسازي دم اپيديـديم آن هـا و انتقـال بـه محيط هاي كشت و انكوبه كردن اپيديدم به مـدت ۱/۵ ساعت در داخل انكوباتور ^{C} ° ۳۷.

III . انكوباسيون اسپرم هـاي فعـال و سـالم در قطـرات محيط كـشت كـه ايـن قطـرات كـه قـبلاً در انكوبـاتور به تعادل رسيده اند (ml در ^{٦}۱۰×۲-۱ اسپرم).

IV . انتقـال اووسيـــت هـاي بـالغ شـده در هـر گـروه به قطره هاي حاوي اسپرم.

V . انتقال اووسيت هـا پـس از ٦- ٤ سـاعت از محـيط كشت قبلي به قطره هاي IVF .

بررسي وضـعيت اووسـيت هـا پـس از ٢٤ سـاعت در زيـر ميكروسكوپ معكـوس و ثبـت ميـزان تـشكيل جنـين هـاي ۲ سلولي نيز مرحله پاياني كار بود (۱۳).

در ادامه داده ها با آزمون آماري مجذور كاي آناليز شدند.

يافته ها

در اين مطالعـه ۶۱۸ اووسـيت نـارس و سـالم از تخمـدان موش هاي سوري جدا شد و به طـور تـصادفي در سـه گـروه مورد نظر تقـسيم بنـدي شـد. در محـيط كـشت MEM-α تعداد ۲۰۹ نمونه و در محيط كـشت hHFF 100% تعـداد ۲۰۳ نمونـه و در محـيط كـشت hHFF 20% تعـداد ۲۰۶ نمونه مورد مطالعه قرار گرفتنـد. توزيـع نمونـه هـا برحـسب شاخص هاي بلوغ و باروري اووسـيت هـا در جـدول ۱ ارايـه شده است و نشان مي دهد كه شاخص GV در محيط كشت MEM-α بـه ميـزان ۱۷/۲% و در گـروه hHFF 100% به ميزان ۳/۹% و در گـروه hHFF 20% بـه ميـزان ۱۵/۱% بود (P<۰/۰۱). اختلاف بين گروه ۱و۲ و نيز ۲ و ۳ معني دار بـــود ولـــي بـــين گـــروه ۱و۳ معنـــي دار نبـــود (P<۰/۹). از نظر شاخص GVBD سـه محـيط كـشت تقريبـاً مـشابه بودند و اختلافي ديده نشد (P<۰/۸). از نظـر شـاخص MII ميـزان موفقيـت بـه ترتيـب ۵۸/۹% و ۸۳/۷% و ۶۷% بـود (P<۰/۰۰۰۱).

بهترين بلوغ در محيط كشت hHFF 100% بود كه با دو محيط كشت ديگر اخـتلاف معنـي دار داشـت (P<۰/۰۰۱). اخـتلاف بـين گـروه ۱و۳ معنـي دار نبـود (P<۰/۲). از نظـر شاخص Two Cell كه درصـد آن هـا نـسبت بـه MII در جدول آمده است، بيش ترين باروري مربوط به محيط كـشت hHFF 100% و بـه ميـزان ۸۱/۸% و در محـيط كـشت hHFF 20% بـه ميـزان ٥٤% و كـم تـرين ميـزان آن در محيط كشت MEM-α به ميزان ٤٧/٢% بود. اخـتلاف بـين سه گروه معني دار بود و هم چنين اختلاف بين گروه ۲ بـا ۱ و۳ معنا دار بود (P<۰/۰۰۰۱). اختلاف بين گروه ۱ و ۳ نيـز معني دار بود (P<۰/۰۷).

جدول ۱- توزيع نمونه ها بر حسب شاخص هاي بلوغ و باروري اووسيت ها به تفكيك محيط كشت

محيط كشت / بلوغ	GV تعداد (%)	GVBD تعداد (%)	MII تعداد (%)	Two cell تعداد (%)
FCS 20% ،MEM-α (N۱ =۲۰۹)	۳۶[a] (۱۷/۲)	۳۷ (۱۷/۱۷)	۱۲۵ [a] (۵۹/۸)	۵۹ [c] (۴۷/۲)
hHFF%100 (N۲ =۲۰۳)	۸ (۳/۹)	۲۵ (۱۲/۳)	۱۷۰ (۸۳/۷)	۱۳۹ (۸۱/۸)
MEM-α,hHFF20% (N ۳ =۲۰٦)	۳۱ [b] (۱۵/۱)	۳۶ (۱۷/۵)	۱۳۸ [b] (۶۷)	۷۵ [d] (۵۴/۳)
نتيجه آزمون بين ۳ گروه	P< ۰/۰۱	P< ۰/۴	P< ۰/۰۰۱	P< ۰/۰۰۱

GV:Germinal vesicle
GVBD: Germinal vesicle break down
MII:Metaphase 2
hHFF :Heated Human Follicular Fluid
a: مقايسه محيط كشت ۱ و ۲ **(P<۰/۰۰۰۵)**
b: مقايسه محيط هاي كشت ۲ و۳ **(P<۰/۰۰۰۵)**
c: مقايسه محيط هاي ۱ و۲ **(P<۰/۰۰۲)**
d: مقايسه محيط كشت ۲ و۳ **(P<۰/۰۱)**

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-09-16]

بحث

تحقيق نشان داد كه مـايع فوليكـولي حـرارت ديـده داراي آثار مثبت در بلوغ و قدرت لقاح اووسيت هـاي نـارس مـوش سوري است. اين افزايش حتـي در مقايـسه بـا مـديوم هـاي مركـب قابـل توجـه مـي باشـد. مـايع فوليكـولي يكـي از اصلي ترين ترشـحات سيـستم تناسـلي زنانـه اسـت و داراي تركيبي مشابه با سرم و پلاسما مي باشد كه تـضمين رشـد و تكامل تخمک ها و جنين در آن پس از حـذف عوامـل مـضر امري معقول به نظر مي رسد (۱۸). شرايط مورد نيـاز جهـت رشـد و تكامـل اووسـيت هـا در محـيط كـشت تـا حـدودي شناخته شده اند كه با توجه به اين كه هر چقدر اين شـرايط به شرايط داخل بدن نزديک تر باشند نتايج بـه دسـت آمـده مطلوب تر خواهد بود. حداقل شرايط لازم بـراي ايـن فرآينـد شامل يون هاي ضروري مانند سديم و پتاسيم وكلر مي باشد كه در مايع فوليكولي يافت مي شوند (۱۹).

گزارشاتي از تأثير مايع فوليكولي در رشـد جنـين هـاي دو سلولي موش سوري تا مرحله بلاستوسيت در مايع فوليكـولي حرارت ديـده گـزارش شـده كـه نكتـه قابـل توجـه در ايـن پژوهش ها استفاده از درصد هـاي متفـاوت مـايع فوليكـولي وحصول بهترين شرايط تكوين در مايع فوليكولي صد درصـد مـي باشـد. كـه ايـن امـر مؤيـد شـرايط مناسـب و مكفـي مـايع فوليكـولي جهـت رشـد جنـين هاسـت (۲۰). مـايع فوليكولي حرارت ديده در باروري تخمک هاي مـوش سـوري در محـيط آزمايـشگاه نـسبت بـه مـديوم هـاي معمـول و هم چنـين حفـظ و نگـه داري تخمـک هـاي بـارور نـشده و ممانعت از دژنراسيون آن ها داراي آثـار مثبتـي اسـت (۲۱). استفاده از مايع فوليكولي انساني به عنوان مكمل در مقايـسه با مديوم هاي كه فاقد آن هستند نيـز مـي توانـد در بلـوغ و تكامل اووسيت ها مؤثر باشد (۲۲). استفاده از مايع فوليكولي به صورت مكمل بـا نـسبت بـالاتر بـه همـراه هورمـون هـاي مختلف سبب رسيدن به ميزان مناسب بلوغ و تكامـل بهتـر تخمک هاي نارس خواهد شد (۲۳).

در مايع فوليكولي به صورت تازه يک سري از عوامل مـضر وجود دارنـد كـه داراي آثـار منفـي بـر رونـد رشـد و تكامـل هستند. به نظر مي رسد سميت مايع فوليكولي بـه تركيبـات سيستم كمپلمان مربوط مي شـود كـه ايـن عوامـل مـضر در جريان حـرارت دادن بـه روش معمـول در آزمايـشگاه هـاي IVF كه به روش (Heat treatment) انجام مـي شـود از ميان مي روند (۲۴).

در پژوهش هاي قبلي ثابت شده بود كه وجود هورمون‌هاي گنادوتروپيني در محيط‌هاي كشت براي بلوغ اووسسيت هاي نارس لازم است و در صورت نبود آن ها در محيط كشت بلوغ اووسيت به شدت دچار اختلال مي گردد (۲۵و۲۶). اسـتفاده از هورمـون هـاي گنـادوتروپين بـا تغيـر در محـيط كـشت به صورت روزانه، مكمل مناسبي را در بلوغ تخمک هـا پديـد مي آورد (۲۷). مايع فوليكولي واجد تمـام شـرايط لازم بـراي رشد و تكامل تخمک هاي نارس در محيط كشت است (۲۸).

در مطالعه حاضر بلوغ آزمايشگاهي اووسيت هاي نارس در تمام گروه هاي آزمايشي حاصل گرديد. به نظر مي‌رسد كه با توجه به حضور مايع فوليكولي انساني در محيط كشت وجـود هورمون هـاي گنـادوتروپيني در ايـن مـايع بـه دليـل زمـان جمع‌آوري آن از فوليكول هاي تخمدان انسان (آخرين مرحله رشد فوليكول ها) و دريافـت هـر دو هورمـون گنـادوتروپيني به صورت تزريقي و وجود تمام فاكتورهاي موجـود در آن هـا تخمك‌هاي نـارس در آزمايـشگاه بـالغ گرديدنـد. بنـابر نظـر بعضي محققين مايع فوليكولي در اين مرحله از تكوين قابليت بهتري در بالا بردن ميزان بلوغ اووسيت هاي نارس نسبت بـه محيط‌هاي كشت ساخته شده دارد (۲۹). بنابراين استفاده از مايع فوليكولي انـساني در بلـوغ اووسـيت هـاي نـارس مـؤثر مي‌باشد و نتايج حاصل از ايـن تحقيـق ايـن فرضـيه را ثابـت مي كند، به طوري كه بالا بودن اووسـيت هـاي بـالغ شـده و نتايج بهتر و درصد جنين‌هاي به دست آمـده در گـروه هـاي آزمايشي كه حاوي مايع فوليكولي نسبت بـه سـاير گـروه هـا مؤيد همين مطلب است. در اين مطالعه به دنبـال استـفاده از

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-09-16]

مايع فوليكولي انساني حرارت ديـده در گـروه دوم آزمايـشي با نسبت صد در صد، ميزان بلوغ آزمايشگاهي اووسـيت هـاي نارس و درصد جنين‌هاي حاصله از اين اووسيت هـا افـزايش پيدا كرد. در اين گروه به دليـل اسـتفاده از مـايع فوليكـولي انساني حـرارت ديـده بـه صـورت صـد در صـد ميـزان بلـوغ اووسيت ها و ميزان تشكيل جنين هاي دو سلولي نـسبت بـه ساير گروه ها بالاتر بود.در گروه سوم به دليل مـايع فوليكـول انساني حرارت ديده ۲۰% بهبودي مـضاعف گرديـد و نـسبت به گروه اول اخـتلاف داشـت. بـا مقايـسه نتـايج گـروه هـاي آزمايش با يك ديگر به تأثيرگـذاري مـايع فوليكـولي انـساني حرارت ديده بيش تر پي مي‌بريم.

آن چه از نظر گذشت، مبني بـر غنـاي مـايع فوليكـولي از جهت يون هاي ضروري عوامـل رشـد و فاكتورهـاي فزاينـده قدرت لقاح اسپرم، اعتقاد به قابليت مايع فوليكولي به عنـوان يک محيط مناسب جهت رشـد و تكـوين اووسـيت نـارس را آشكار مي سازد. گزارشات و مطالعات زيادي در جهت تثبيت اين نظريه وجود دارد كه اشاره اجمالي به آن هـا مؤيـد لـزوم توجه بيش تر به مايع فوليكولي است اين در حالي اسـت كـه اطلاعات قابل توجهي در جهت رد يـا تـضعيف توانـايي مـايع فوليكولي در بلوغ و باروري و رشد جنين وجود ندارد.

نتيجه گيري

نتايج اين تحقيق نشان مي دهدكه مايع فوليكولي انـساني، به صورت حرارت ديده مي تواند بر بلوغ اووسيت هاي نـارس موش سـوري و بـاروري آن هـا و در نتيجـه ميـزان تـشكيل جنين هاي دو سلولي در محيط آزمايـشگاهي تـأثير مثبتـي داشته باشد.

تشكر و قدرداني

نويسندگان مقاله مراتب تشكر وتقـدير خـود را از زحمـات فراوان مدير مركـز تحقيقـات بيـولوژي سلـولي و مولكـولي خانم رهبريان و جناب آقاي دكتر بيـات عـضو هيـأت علمـي مركز و خانم دكتر كبير به دليل همكاري در جريان اين طرح اعلام مي دارد. قابل ذكر است هزينه اين مطالعه طبـق طـرح شـماره ۱۰۸۳ توسـط مركـز بيولـوژي سـلولي و مولكـولي پرداخت گرديد.

REFERENCES

1. Leibfried ML, Bavister BD. Fertilizability of in vitro matured oocytes from goldenhamsters. J Exp Zool 1983; 226: 481-5.
2. Shalgi R, Phillips DM. Mechanics of in vitro fertilization in the hamster. Biol Reprod 1980; 23: 433-44.
3. Wani A. In vitro maturation and in vitro fertilization of sheep oocytes. small ruminant research. Biol Reprod 2002; 44: 89- 95.
4. Smith GD. In vitro maturation of oocyte. Curr Womens Health Rep. 2001; 1(2): 143-51.
5. Trounson A, Anderiesz C, Jones G. Maturation of human oocytes in vitro and their developmental competence. Reproduction 2001; 121: 51-75.
6. McGovern PG, Legro RS, Myers ER, Barnhart HX, Carson SA, Diamond MP, et al. Utility of screening for other causes of infertility in women with "known" polycystic ovary syndrome. Fertil Steril 2007; 87: 442-4.
7. Ruth R, Franks S, Hardy K. Culture environment modulates maturation and metabolism of human oocytes. Hum Reprod 2002; 17: 2950-6.

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-09-16]

8. Van Steirteghem AC, Nagy Z, Joris H, Liu J, Staessen C, Smitz J, et al. High fertilization and implantation rates after intracytoplasmic sperm injection. Hum Reprod 1993; 8: 1061-6.

9. Mc Evoy, Robinson TG, Sinclair KD. Developmental consequence of embryo and cell manipulation in mice and farm animals. Reproduction 2001; 122: 507-18.

10. Young LE, Sinclair KD, Wilmut I. Large offspring syndrome in cattle and sheep. Reproduction 1998; 3: 155-63.

11. Bongso A, Ng SC, Ratnam S. Co-cultures: their relevance to assisted reproduction. Hum Reprod 1990; 5: 893-900.

12. Caravaglios R, Cilotti R. A study of the proteins in the follicular fluid of the cow. J Endocrinol 1957; 15(3): 273-8.

۱۳. كريمپور عباسعلي ، حسيني احمد، رضا زاده مجتبي، نصر اصفهاني حسين. اثر مايع فوليكولر انسان بر رشد و نمو جنين هاي مرحله قبل از جايگزيني در محيط آزمايشگاه. پايان نامه دكتري تخصصي. دانشكده پزشكي دانشگاه تربيت مدرس, ۱۳۷۳.

14. Derahorad J, Cechva D, Tesarik J. Activation of proacrosin by a locally produced component of human follicular fluid. J Reprod Fertil 1988; 83: 599-603.

15. Feichtinger W, Kemeter P. Organization and computerized analysis of in vitro fertilization and embryo transfer programs. J In Vitro Fert Embryo Transf 1984; 1: 34-41.

16. Wales RG, Edirisinghe WR. Volume of fluid and concentration of cations and energy substrates in the uteri of mice during early pseudopregnancy. Reprod Fertil Dev 1989; 1: 171-8.

۱۷. كاظمي سعيد، حسيني احمد. بررسي قدرت مايع فوليكولر انسان و Co Culture سلول هاي گرانولزا در لقاح و رشد جنين هاي موش سوري. پايان نامه . پايان نامه دكتري تخصصي. دانشكده پزشكي دانشگاه تربيت مدرس، ۱۳۷۵.

18. Liu HC, He Z, Rosenwaks Z. In vitro culture and in vitro maturation of mouse preantral follicles with recombinant gonadotropins. Fertil Steril 2002; 77: 373-83.

19. Marques MG, Nicacio AC, de Oliveira VP, Nascimento AB, Caetano HV, Mendes CM, et al. In vitro maturation of pig oocytes with different media, hormone and meiosis inhibitors. Anim Reprod Sci 2007; 97: 375-81.

20. Yanagimachi R. In vitro capacitation of hamster spermatozoa by follicular fluid. J Reprod Fert 1969; 18: 275-81.

21. Faerge I, Strejcek F, Laurincik J, Rath D, Niemann H, Schellander K, et al. The effect of FF-MAS on porcine cumulus-oocyte complex maturation, fertilization and pronucleus formation in vitro. Zygote 2006; 14: 189-99.

22. Laurineik J, Pivko J, Kroslak P. Cumulus oophorus expansion of bovine oocytes cultured in vitro: a SEM and TEM study. Reprod dom Anim 1992; 27: 217-28.

23. Bøgh IB, Bézard J, Duchamp G, Baltsen M, Gérard N, Daels P, et al. Pure preovulatory follicular fluid promotes in vitro maturation of in vivo aspirated equine oocytes. Theriogenology 2002; 57(7): 1765-79.

24. Armstrong DT, Zhang X, Vanderhyden BC, Khamsi F. Hormonal actions during oocyte maturation influence fertilization and early embryonic development. Ann N Y Acad Sci 1991; 626: 137-58.

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-09-16]

25. Lobo RA, Dizerega GS, Marrs RP. Follicular fluid steroid levels in dysmature and mature follicles from spontaneous and hyperstimulated cycles in normal and anovulatory women. J Clin Endocrinol Metabol 1985; 60: 81-7.

26. Okolski A, Bezard J, Magistrini M, Palmer E. Maturation of oocytes from normal and atretic equine ovarianfollicles as affected by steriod concentration. J Reprod Fertil Supp 1991; l: 385-92.

27. Gerer N, Duchamp G, Goudet G, Bezard J, Magistrini M, Palmer E. A high-molecular-weight preovulatory-stage related protein in equine follicular fluid and granulasa cells. Biol Reprod 1998; 58(2): 551-7.

28. Romero A, Nauta W, Seidel GE. A meiotic stimulator in bovin follicular fluid is retained in a fraction larger than 100 KD. Theriogenology 1992; 37(1): 286.

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-09-16]