Medical Science Journal of Islamic Azad University Vol. 32, No. 1, Spring 2022 **ORIGINAL ARTICLE**

Evaluation of different strain mice during in vitro fertilization and embryo development in response to superovulation

Jalleh Shakerzadeh [1], ***Mansoureh Movahedin*** [2], ***Akram Eidi*** [1], ***Nasim Hayati Roodbari*** [1], ***Kazem Parivar*** [1]
[1] *Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran*
[2] *Anatomical Sciences Department, Medical Science Faculty, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran*

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-11-07]

[DOR: 20.1001.1.10235922.1401.32.1.4.9]

[DOI: 10.52547/iau.32.1.53]

Abstract

Background: Mice are the most commonly used animal in reproductive research and following the urgent need for these type of studies and also due to the increased interest in the ethical principle of animal rights, four various inbred and outbred strains of the laboratory mouse were evaluated to select the more efficient one for reproductive research.
Materials and methods: 60 female and 16 male of strains (C57, CD1, NMRI, and Balb/c) weighing 25 to 30g and aged 6 to 8 weeks were evaluated under same conditions at different stages of mature oocyte collection, fertilization and *in vitro* embryo development up to the blastocyst stage. The data were analyzed using a chi-square test, and the selected significance level was $p<0.05$.
Results: Among the four strains, the highest to lowest fetal survival rates were for the CD1, NMRI, Balb /C and C57 mice, respectively and their values were 38.9, 14.4, 9.1 and 3.1%, individually.
Conclusion: Considering the results, we conclude that it is not possible to obtain optimal results for some strains due to using same instructions. The results showed that the highest rate of fertilization and embryo development up to the 8-cell stage was observed in the outbred CD1 mice. It seems that this strain is more applicable than others for reproductive research. In addition, we believe that using different medium during fertilization and embryo development as well as laboratory conditions, probably assist in improving the embryo production while minimized the required number of animals and allowed the achievement of the desired result.
Keywords: *Invitro fertilization, Superovulation, Inbred mice, Outbred mice, Infertility treatment.*

Cited as: Shakerzadeh J, Movahedin M, Eidi A, Hayati Roodbari N, Parivar K. Evaluation of different strain mice during in vitro fertilization and embryo development in response to superovulation. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2022; 32(1): **53-63.**

Correspondence to: Mansoureh Movahedin
Tel: *+98 02182884502*
E-mail: movahed.m@modares.ac.ir
ORCID ID: 0000-0002-0767-6519
Received: 3 Jul 2021; **Accepted:** 28 Sep 2021

مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۳۲، شماره ۱، بهار ۱۴۰۱، صفحات ۵۳ تا ۶۳

Original Article

بررسی تفاوت سویه‌های مختلف موش در میزان لقاح آزمایشگاهی و تکوین جنین در پاسخ به تحریک تخمک‌گذاری

ژاله شاکرزاده[۱]، منصوره موحدین[۲]، اکرم عیدی[۱]، نسیم حیاتی[۱]،کاظم پریور[۱]

[۱] گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی ، تهران، ایران
[۲]گروه آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: *موش رایج‌ترین مدل حیوانی در تحقیقات تولید مثلی است و به دنبال نیاز ضروری به این مطالعات و همچنین افزایش اهمیت اصول اخلاقی در حیوانات، ۴ سویهٔ مختلف درون‌زاد و برون‌زاد با هدف انتخاب موش آزمایشگاهی کارآمدتر برای تحقیقات تولید مثلی، مورد ارزیابی قرار گرفت.*

روش بررسی: *۶۰ سر موش ماده و ۱۶ سر موش نر به وزن ۲۵ تا ۳۰ گرم و سن ۶ تا ۸ هفته از سویه‌های Balb/C، NMRI، CD1 و C57 در مراحل مختلف جمع‌آوری تخمک و تکوین جنین تا مرحلهٔ بلاستوسیست، در شرایط یکسان، مورد ارزیابی قرار گرفتند وکلیهٔ داده‌ها توسط آزمون chi-square تحلیل شدند.*

یافته‌ها: *در بین ۴ سویه مختلف، به ترتیب بیشترین تا کمترین درصد زنده ماندن جنین مربوط به موشهای CD1، NMRI، BALB/c و C57 و مقادیر آنها به ترتیب برابر با ۳۸/۹، ۱۴/۴، ۹/۱ و ۳/۱ درصد بود.*

نتیجه‌گیری: *با درنظرگرفتن نتایج تحریک تخمک‌گذاری و لقاح آزمایشگاهی، چنین نتیجه میگیریم که با یک روش یکسان، امکان حصول نتیجهٔ بهینه وجود ندارد. نتایج نشان می‌دهد که بالاترین تعداد تکوین جنین تا مرحله ۸ سلولی در موش برون‌زاد CD1 مشاهده شد و به نظر می‌رسد که این سویه از موش، مدل مناسب‌تری برای مطالعات تولید مثلی است. همچنین استفاده از محیط‌های کشت متفاوت و درنظرگرفتن فواصل تزریق هورمون و میزان آن، احتمالا می‌تواند تولید جنین در شرایط آزمایشگاهی را بهبود بخشیده و گرفتن نتیجهٔ دلخواه با استفاده حداقل تعداد حیوان را امکان‌پذیر سازد.*

واژگان کلیدی: *لقاح آزمایشگاهی، تحریک تخمک گذاری، موش درون زاد و برون زاد، درمان ناباروری.*

مقدمه

استفاده از روش‌های کمک‌باروری با بازدهی بیشتر و عوارض کمتر، مهم‌ترین هدف درمانیِ کمکی برای زوج‌های نابارور است. با توجه به گذشت ۳۰ سال از شروع درمان ناباروری، علی‌رغم پیشرفت‌های بسیار در مسیر IVF (in vitro fertilization) طی دهه‌های گذشته، میزان موفقیت در حفظ باروری و تولد نوزاد به دنبال انتقال جنین در این روش، نسبتاً کم و در حدود ۳۰٪ باقی مانده‌است (۱). عوامل بسیاری، از جمله آناتومیِ رحم مادر، هورمون‌ها، فاکتورهای رشد، سایتوکاین‌ها و تنظیم‌کننده‌های مولکولی در موفقیت یک چرخهٔ IVF تأثیرگذار هستند (۲, ۳). تولید جنین به دنبال فناوری‌های کمک‌باروری به القای تخمک‌گذاری، لقاح آزمایشگاهی و همین‌طور، کشت آزمایشگاهیِ کارآمد بستگی دارد و کیفیت خوب تخمک نیز یکی از اساسی‌ترین فاکتورهای موفقیت در تکنیک‌های لقاح آزمایشگاهی است (۴).

آدرس نویسنده مسئول: تهران، گروه آناتومی دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس، منصوره موحدین
(**email**: movahed.m@modares.ac.ir)
ORCID ID: 0000-0002-0767-6519
تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۴/۱۲
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۷/۶

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-11-07]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1401.32.1.4.9]
[DOI: 10.52547/iau.32.1.53]

موش رایج‌ترین مدل حیوانی در تحقیقات تولید مثلی، به‌ویژه مطالعهٔ تخمک‌های بالغ و یا بررسی رشد جنین قبل از لانه گزینی است. همچنین برای تعیین اثرات فاکتورهای مختلف بر میزان تخمک‌گذاری و یا برای بررسی رشد جنین قبل از لانه‌گزینی به تعداد زیادی تخمک و جنین نیاز است (۵, ۶). بنابراین تعداد موش‌های مورد نیاز برای آزمایش‌های متعدد افزایش می‌یابد. با این حال، در سال‌های اخیر، به دلیل اهمیت اصول اخلاقی در مراقبت از حقوق حیوانات، با تعیین و معرفی سویهٔ موش مناسب برای هر مطالعه، می‌توان تعداد موش مورد استفاده در هر مطالعه را کاهش داد.

تحریک تخمک گذاری، یک تیمار هورمونی است که باعث رشد فولیکول و تخمک‌گذاریِ تخمک‌های بالغِ مرحلهٔ MII (متافاز۲) می‌شود. عوامل زیادی در ایجاد این تحریک تخمک‌گذاری و در ادامه، در کشت جنین مؤثر هستند که می‌توان به سن (۷)، سویه (۸)، دوز هورمون (۹) و فاصلهٔ تزریق(۸) اشاره کرد. به نظر می‌رسد که ساختار ژنتیکی، یکی از پارامترهای مؤثر در پاسخ به تحریک تخمک‌گذاری است (۱۰). گزارش شده‌است که تحریک تخمک‌گذاری موش‌ها با سویه و با فاصلهٔ مناسبِ تزریق گنادوتروپین ارتباط زیادی دارد (۱۱). گزارشاتی در مورد استفاده از سویه‌های مختلف حیوانات آزمایشگاهی در پروتکل‌های تحریک تخمک‌گذاری (۱۲, ۱۳)، IVF (۱۴, ۱۵) و IVD (in vitro development) (۱۶, ۱۷) وجود دارد. برای به‌دست‌آوردن نتایج رضایت‌بخش در چنین آزمایش‌هایی، با بهترین نتیجه در تولید تخمک و جنین و استفادهٔ کمتر از حیوانات آزمایشگاهی، نیازمندِ تعیین سویهٔ مناسب‌تر برای تحقیقات تولید مثلی هستیم.

چندین دهه است که سویه‌های موش درون‌زاد یا خالص، به موش‌های برون‌زاد ترجیح داده‌شده‌اند، و سویه‌هایی مانند C57 و Balb/C به شکل وسیعی در کاربردهای زیست‌پزشکی استفاده می‌شوند. مزیت استفاده از موش‌های درون‌زاد (Inbred) (خالص) نسبت به موش‌های برون‌زاد (outbred) بر این است که صفات آن‌ها تنوع و تغییرپذیری کمتری دارد(۱۸).

موش‌های درون‌زاد، ترجیحاً برای مطالعات ایمونولوژیک، نقشه‌برداری ژنتیکی جمعیت و مطالعات ژنتیکی-مولکولی (برای جلوگیری از اثرات زمینه‌ای در جهش‌زایی و تراریخته‌ها) انتخاب می‌شوند. ترجیح اکثریت برای سویه‌های درون‌زاد در تحقیقات زیست پزشکی از باورهای متعارف ناشی می‌شود که این حیوانات باید تنوع فنوتیپی درون،سویه ای کمتری نسبت به حیوانات برون‌زاد نشان دهند؛ زیرا هر گونه تنوع فنوتیپی سویهٔ درون‌زاد به دلیل تنوع محیطی است؛ در حالی که در حیوانات برون‌زاد، علاوه بر تنوع محیطی و برهم‌کنش ژن با محیط، تنوع ژنتیکی نیز وجود دارد (۱۹). اگر این فرض معتبر باشد، باید بتوان داده‌های آماری قوی‌تری را با تعداد موش‌های درون‌زادکمتری در مقایسه با تعداد مورد نیاز درآزمایش‌های مبتنی بر سویه‌های برون‌زاد، به دست آورد که مزایای عملی و اخلاقی نیز دارد. با این حال، شواهد مربوط به تنوع فنوتیپیِ کمتر بین موش‌های درون‌زاد متفاوت است، به‌طوری که برخی از مطالعات (۲۰) صریحاً چیزی غیر از این را نشان می‌دهند. با این وجود، این ایده که ناهمسانی ژنتیکی منجر به بیشتر شدن تنوع فنوتیپی می‌شود، قانع‌کننده است و طرفداران آن مخالف استفاده از سویه‌های برون‌زاد در تحقیقات زیست‌پزشکی هستند (۲۱, ۲۲).

سویه‌های موش برون‌زاد،که اغلب در تحقیقات ژنتیک، سم‌شناسی و داروسازی استفاده می‌شوند، با روش‌های کاملا اتفاقی تولید شده‌اند. شناخت ویژگی‌های این سویه‌ها و مزایا و معایب‌شان برای انجام طرح‌های آزمایشی مهم است. در بسیاری از مطالعات، استفاده‌نکردن از سویهٔ موش مناسب، باعث ازبین‌رفتن تعداد زیادی از منابع حیوانی درتحقیقات می‌شود (۱۹).

به دلیل طیف گستردهٔ کاربردهای سویه‌های مختلف در زمینه‌های متنوع علمی و همچنین در مطالعاتِ تعداد وکیفیت تخمک در زمان تخمک‌گذاری، انجام لقاح آزمایشگاهی و توانایی زنده‌ماندن و حفظ جنین در آزمایشگاه و همچنین حفظ باروری در سویه‌های مختلف نیز در مطالعات بالینیِ ناباروری جهت تعیین موش آزمایشگاهی مناسب و موفق بسیار ضروری به نظر می‌رسد. در بین مدل‌های مختلف موش، تفاوت وجود دارد وآگاهی از این تنوع، حائز اهمیت است. موش‌هایی که بیشترین استفاده را در تحقیقات آزمایشگاهی دارند، عبارتند ازموشC57، Balb/C، Sprague-Dawley و موش Wistar. از سویه‌های دیگر مانند موش NMRI، موش CD1 وموش ICR نیز استفادهٔ بسیاری شده‌است. اکثر این حیوانات توسط چهار ارائه‌دهندهٔ اصلی (آزمایشگاه جکسون، آزمایشگاه‌های رودخانهٔ چارلز، آزمایشگاه‌های علوم تاکونیک و آزمایشگاه‌های هارلان) تهیه می‌شوند. مدل‌های حیوانی فوق‌الذکر برای تحقیق در ایمونولوژی ، انکولوژی، فیزیولوژی، آسیب شناسی و به‌صورت انبوه در علوم اعصاب استفاده می‌شوند (۲۳).

Balb/C: یکی از معمولی‌ترین موش‌های درون‌زاد است ویک سویهٔ آلبینو است که دارای ویژگی‌های تولید مثلِ آسان و تغییراتِ حداقلی وزنی بین ماده و نر است. در حالی که موش‌های Balb/C به عنوان یک مدل حیوانیِ عمومی استفاده می‌شوند، به‌طور گسترده‌ای برای تولید آنتی‌بادی مونوکلونال و به‌ویژه برای تحقیقات در سرطان‌درمانی و ایمونولوژی مفید هستند (۲۴).

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-11-07]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1401.32.1.4.9]
[DOI: 10.52547/iau.32.1.53]

C57: همان موش‌های C57BL/ 6 یا C57 black 6 هستند که به سادگی؛ Black 6 یا به اختصار C57 یا B6 نیز نامیده می‌شوند. این موش‌ها، درون‌زاد بوده و اغلب به‌عنوان مدل‌های فیزیولوژیکی یا پاتولوژیک برای مطالعات in vivo خدمت می‌کنند و همچنین برای ساخت مدل‌های موش تراریخته استفاده می‌شوند(۲۵).

CD1: در حالی که هر دو موش C57BL/6 و Balb/C سویه‌هایی درون‌زاد هستند، موش‌های CD1، برون‌زاد هستند. (توجه: موش‌های درون‌زاد به عنوان «سویه» شناخته می‌شوند؛ در حالی که موش‌های برون‌زاد معمولا «ذخیره» یا «استوک» نیز نامیده می‌شوند). این موش آزمایشگاهی در اهداف بسیار متنوع و چندگانه، از جمله در مطالعات آنکولوژی، پیری، ایمنی، سمیت و سرطان، مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۲۸-۲۶).

NMRI: به عنوان سویهٔ برون‌زاد به طور انبوه، تولید، ارزیابی و مورد مطالعه قرار می‌گیرد. مطالعات بسیاری روی این نوع موش انجام گرفته است؛ اما عمده ترینِ این مطالعات روی سم‌شناسی، تراتولوژی، فارماکولوژی (به ویژه در روان‌درمانی برای مطالعات رفتاری) ، فیزیولوژی و تولید مثلی است (۱۸).

در این تحقیق، با هدف انتخاب نوع مناسب‌تر و کارآمدتر موش آزمایشگاهی برای مطالعات تولیدمثلی و ناباروری، ما اثر سویه‌های مختلف موش‌های درون‌زاد و برون‌زاد را بر میزان تحریک تخمک‌گذاری، لقاح آزمایشگاهی و همچنین در ادامه، تکوین جنین به مرحلهٔ بلاستوسیست در آزمایشگاه (IVD) در موش‌های C57،Balb/C، CD1 و NMRI مورد ارزیابی قرار دادیم.

مواد و روشها

حیوانات

۶۰ سر موش ماده و ۱۶ سرموش نر با وزن ۲۵ تا ۳۰ گرم و سن ۶ تا ۸ هفته از سویه‌های Balb/C و NMRI ،CD1 و C57، از پژوهشگاه رویان (تهران، ایران) خریداری شدند. آزمایشات حیوانی طبق «اصول راهنمای مراقبت و استفاده از حیوانات» انجام شدند. حیوانات در یک دورهٔ نوری ۱۲ ساعت نور / ۱۲ ساعت تاریکی در دمای کنترل شده (۲ ± ۲۲ درجه سانتیگراد) و رطوبت ۵۰ درصد با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. همچنین، تمامی حقوق حیوانی مطابق با دستور العمل دانشگاه «علوم تحقیقات» برای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد و با شناسهٔ اخلاق IR.IAU.SRB.REC.1398.123 مصوب شد. نمونه‌های موشی بر اساس اصول دامپزشکی به‌روش قطع نخاع گردنی کشته شدند.

مراحل آزمایش

این آزمایش شامل ۴ مرحله است:

مرحلهٔ اول: تحریک تخمک‌گذاری و جمع‌آوری تخمک بالغ MII (متافاز۲)، مرحلهٔ دوم: تهیه وآماده‌سازی اسپرم، مرحلهٔ سوم: لقاح آزمایشگاهی (IVF) و مرحلهٔ چهارم: تکوین جنین در آزمایشگاه (IVD).

مرحله اول: تحریک تخمک گذاری و جمع آوری تخمک بالغ

از هر کدام از سویه های درون‌زاد و برون‌زاد، تعداد ۱۵ سرموش ماده و ۴ سرموش نر استفاده شد. تمامی موش‌های ماده به منظور تحریک تخمک گذاری، با پروتکل یکسان به صورت تزریق داخل صفاقی ابتدا به وسیله ۷/۵ IU هورمون گنادوتروپین (PMSG) (Pregnant mare's serum gonadotropin) از شرکت (Folligon, Intervet) در روز پنج‌شنبه و سپس ۷/۵ IU هورمون گنادوتروپین جفتی انسان (hCG) human chorionic gonadotropinاز شرکت (تولید دارو،ایران)، با فاصلهٔ ۴۸ساعته، در روز شنبه تیمار شدند.

گنادوتروپین‌ها بدون توجه به چرخهٔ فحلی، تزریق شدند. تخمک‌گذاری در موش‌های ماده بر اساس پروتکل استاندارد (۷/۵ IU گنادوتروپین با فاصلهٔ ۴۸ساعته بین دو هورمون)تحریک شده و میزان تحریک تخمک‌گذاری بین موش‌های مختلف مقایسه شد. برای برداشتن تخمک بالغ MII، پس از گذشت ۱۴ ساعت از تزریق هورمون دوم یا hCG در روز یکشنبه، موش‌های ماده با روش نخاعی کشته شدند. درصد موش‌هایی که دچار تحریک تخمک‌گذاری شده و تعداد تخمک‌های تخمک‌گذاری‌شده، بلافاصله پس از بازیابی تخمک‌ها ثبت شد. پس از پیپت‌کردن ملایم، تخمک‌ها برای حضور اولین جسم قطبی (تخمک بالغ درمرحلهٔ متافاز ۲ به نام MII) توسط میکروسکوپ معکوس ارزیابی شدند و تعداد آن‌ها ثبت شد (۲۹).

مرحله دوم: آماده سازی اسپرم

اسپرم از موش نری با باروریِ ثابت‌شده و ۶ تا ۸ هفته سن، تهیه شد. به‌این‌ترتیب که در ابتدای روز لقاح آزمایشگاهی (روز یک‌شنبه)، موش با روش نخاع گردنی کشته شد. پس از جداسازی اپیدیدیم، هر ناحیه به یک پلیت انتقال داده‌شد و با کمک سوزنِ انسولین، روی بافت، چندین برش به‌منظور رهاشدن اسپرم‌ها ایجاد شد. پلیت محتوی نمونه در انکوباتور قرار داده‌شد و به مدت یک ساعت برای ظرفیت‌پذیری انکوبه شد. پس از یک ساعت، اسپرم‌های متحرک و سالم که خود را به اطراف قطرات حاوی محیط کشت HTF (ژنوسل، ایران) رسانده‌بودند، برای انجام IVF جمع‌آوری شدند (۲۹).

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-11-07]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1401.32.1.4.9]
[DOI: 10.52547/iau.32.1.53]

مرحله سوم: لقاح آزمایشگاهی

گروه‌های مورد مطالعه برای لقاح آزمایشگاهی به این ترتیب آماده شدند:

گروه A : اسپرم ظرفیت‌یابی‌شدهٔ NMRI به قطره محیط HTF (human tubal fluid) حاوی تخمک‌های NMRI اضافه شد. گروه B: اسپرم ظرفیت‌یابی‌شدهٔ CD1 به قطره محیط HTF حاوی تخمک CD1 منتقل شد. گروه C: اسپرم ظرفیت‌یابی‌شدهٔ Balb/C به قطره محیط HTF حاوی تخمک‌های Balb/C منتقل شد.گروه D: اسپرم ظرفیت یابی‌شدهٔ C57 به قطره محیط HTF حاوی تخمک C57 منتقل شد.

به هر قطره IVF حدود 2×10^6 اسپرم در میلی‌لیتر اضافه شد. برای IVF، محیط mHTF با ۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر آلبومین سرمِ گاو (BSA) (Sigma-Aldrich, Germany) غنی‌سازی گردید. سپس این مخلوط به مدت ۶ ساعت در انکوبار CO2 ٪۶ انکوبه شد. ظرفیت‌یابی اسپرم و انکوباسیون IVF در CO2 ٪۶، دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انجام‌گرفت. به‌منظور ارزیابی میزان لقاح، سلول‌های اسپرم و کومولوس به آرامی با پیپت از پلیت خارج شدند و تعداد تخم‌های حاوی پیش‌هستهٔ نر و ماده (2PNs) شمارش شد. پس از گذشت این زمان، تخمک‌های لقاح‌یافته را یک بار دیگر شست‌وشو داده و به پلیت جدید حاوی قطرات ۳۰ میکرولیتری HTF انتقال داده‌شد. در هر قطره، ۵ تا ۱۰ تخمک لقاح‌یافته انتقال داده‌شد. (۲۹).

مرحله چهارم: رشد جنین در شرایط آزمایشگاهی

۲۲ -۲۵ ساعت پس از لقاح، جنین دو و چهار سلولی مشاهده شد و پس از شست‌وشو و انتقال به محیط جدید HTF، جنین ۸ سلولی ۴۸ ساعت بعد ایجاد شد. قطرات IVD، ۲۵ میکرولیتری بود و توسط روغن معدنی پوشانیده شد. رشد و نمو رویان با شمارش ۲سلول ، ۴ سلول، ۸ سلول ، بلاستوسیست ، به‌ترتیب، ۲۴، ۴۸، ۷۲و ۹۶ ساعت پس از لقاح به وسیلهٔ استریومیکروسکوپ مشاهده‌شد و تعداد آن‌ها به‌صورت مشاهدهٔ تجربی و ارزیابی مورفولوژیکی چشمی ثبت شد. سرانجام، نرخ IVD در همهٔ گروه‌ها با یک‌دیگر مقایسه شد؛ در حالی که در تمام مراحل آزمایشگاهی از محیط HTF استفاده شد.

تحلیل داده ها

کلیه داده ها در جداول ۲*۲ جمع آوری شده و آنالیز نتایج لقاح و تکوین جنین ها توسط آزمون chi-square مورد بررسی قرار گرفت. $P<0.05$ معنی‌دار در نظرگرفته شد. پس از جمع آوری و کد گذاری داده ها از نرم افزار spss نسخه۲۵ به منظور تجزیه و تحلیل داده ها استفاده شد.

یافته‌ها

تحریک تخمک گذاری

مقایسه تحریک تخمک‌گذاری و تعداد تخمک‌های بالغ (MII) که دارای اولین جسم قطبی بودند، در بین موش‌های Balb/C، NMRI ، CD1 و C57 در جدول ۱ نشان داده شده‌است.

با توجه به جدول ۱، ۶/۹ درصد از ازتخمک‌های به‌دست‌آمده از موش NMRI غیر بالغ MI (متافاز ۱ فاقد جسم قطبی) بودند و۹۳/۱ درصد در گروه MII بالغ

جدول ۱. آمار تجربی مقایسهٔ دوبه‌دو در چهار سویهٔ موش نسبت به یک‌دیگر بر اساس تعداد تخمک پس از تحریک تخمک‌گذاری و همچنین تعداد تخمک مرحلهٔ MII (متافاز۲)

Balb/NMRI				C57/NMRI				CD1/NMRI			
P value	کل	MII	غیرفعال	P value	کل	MII	غیرفعال	P value	کل	MII	غیرفعال
۰/۲۵۷	۱۳۲/۱۶۰	۱۱۸/۱۴۹	۱۴/۱۱	۰/۰۰۱	۱۲۸/۱۶۰	۸۶/۱۴۹	۴۲/۱۱	۰/۰۵۴	۱۹۳/۱۶۰	۱۸۸/۱۴۹	۵/۱۱
Balb/C57				CD1/Balb				CD1/C57			
P value	کل	MII	غیرفعال	P value	کل	MII	غیرفعال	P value	کل	MII	غیرفعال
۰/۰۰۱	۱۳۲/۱۲۸	۱۱۸/۸۶	۱۴/۴۲	۰/۰۰۱	۱۹۳/۱۳۲	۱۸۸/۱۱۸	۵/۱۴	۰/۰۰۱	۱۹۳/۱۲۸	۱۸۸/۸۶	۵/۴۲

جدول ۲. آمار تجربی مقایسهٔ دوبه‌دودر چهار سویهٔ موش نسبت به یکدیگر بر اساس نرخ تبدیل‌شدن از مرحله MII به 2PN

Balb /NMRI				C57/NMRI				CD1/NMRI			
P value	کل	2PN	غیرفعال	P value	کل	2PN	غیرفعال	P value	کل	2PN	غیرفعال
۰/۳۰۳	۱۱۸/۱۴۹	۸۶/۱۱۳	۳۲/۳۶	۰/۰۰۱	۸۶/۱۴۹	۳۲/۱۱۳	۵۴/۳۶	۰/۰۰۱	۱۸۸/۱۴۹	۱۷۷/۱۱۳	۱۱/۳۶
Balb /C57				CD1/ Balb				CD1/C57			
P value	کل	2PN	غیرفعال	P value	کل	2PN	غیرفعال	P value	کل	2PN	غیرفعال
۰/۰۰۱	۱۱۸/۸۶	۸۶/۳۲	۳۲/۵۴	۰/۰۰۱	۱۸۸/۱۱۸	۱۷۷/۸۶	۱۱/۳۲	۰/۰۰۱	۱۸۸/۸۶	۱۷۷/۳۲	۱۱/۵۴

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-11-07]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1401.32.1.4.9]
[DOI: 10.52547/iau.32.1.53]

(متافاز۲ دارای اولین جسم قطبی) بودند. همچنین، ۲/۶ درصد از CD1 در گروه غیر بالغ، ۹۷/۴ درصد در گروه MII ، ۱۰/۶ درصد از Balb/C در گروه غیر بالغ، ۸۹/۴ درصد درگروه MII و ۳۲/۸ درصد از C57 در گروه غیر بالغ و ۶۷/۲ درصد در گروه MII بودند.

از بین ۴ سویه موش، مقدار آماره Chi-squared برابر با ۷۴/۲۳۵ و سطح معنی‌داری آن ۰/۰۰۷ بود که کمتر از ۰/۰۵ و نشان‌دهنده معنی داربودن آن است. بیشترین و کمترین درصد مشاهده‌شدهٔ بلوغ تخمک‌ها که دارای جسم قطبی بودند (متافاز۲) به‌ترتیب مربوط به سویهٔ‌های CD1 و C57 بود و مقادیر آن‌ها به‌ترتیب برابر ۹۷/۴ و ۶۷/۲ درصد بود. تعداد کل تخمک‌های به‌دست‌آمدهٔ پس از تحریک تخمک‌گذاری در موش‌های CD1 در مقایسه با سایر گروه‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش داشت (p<۰/۰۵). علاوه بر این، در مقایسه دوبه‌دو بین موش‌های NMRI و C57، میزان تخمک MII در NMRI بیشتر بود و بین موش‌های Balb/C و C57، میزان MII در Balb/C بیشتر بود و سایر سویه‌ها نسبت به هم تفاوت معنی‌داری نداشتند.

لقاح آزمایشگاهی IVF

میزان لقاح و تعداد تشکیل 2PN (2pronucleus - ترکیب پیش‌هستهٔ نر و ماده که نشان دهنده لقاح موفق است) در سویه‌های مختلف، طبق جدول ۲ مشاهده شد.

از بین ۴ سویه موش، مقدار آمار Chi-square برابر با ۱۰۳/۷۱۸ و سطح معنی‌داری آن ۰/۰۰۳ بود که کمتر از ۰/۰۵ است و نشان‌دهندهٔ معنی‌داربودن آن است. بیشترین وکمترین درصد فعال‌ماندن و انجام لقاح موفق و تشکیل 2PN به‌ترتیب مربوط به سویه‌های موش CD1 وC57 و مقادیر آن‌ها به‌ترتیب برابر با ۹۴/۱ و ۳۷/۲ درصد بود.

میزان لقاح موفق و تبدیل شدن تخمک مرحله متافاز ۲ (MII) به 2PN در سویه CD1 بیشتر بود و تفاوت معنی‌داری با دیگر سویه‌ها مشاهده شد (p<۰/۰۵). همچنین در مقایسهٔ دوبه‌دو در سایر سویه‌ها مشاهده شد که بین دو موش NMRI وC57 میزان تشکیل 2PN در NMRI بیشتر بود. همچنین بین دو موش C57 و Balb/C میزان تشکیل 2PN در Balb/C بیشتر بود و بین NMRI و Balb/C، از این لحاظ، تفاوت معنی‌داری وجود نداشت.

تکوین جنین در آزمایشگاه IVD

درصد تشکیل جنین به ترتیب درمرحله ۲ و ۴ و ۸ سلولی و سپس مرحله بلاستوسیست در نمونه‌های مختلف به ترتیب در جدول زیر آورده شده و مورد بررسی قرار گرفته است.

میزان تبدیل شدن از مرحله ترکیب پیش هسته ی نر و ماده(2PN) به مرحله۲ سلولی:

میزان لقاح و تعداد تشکیل 2PN (2pronucleus - ترکیب پیش‌هستهٔ نر و ماده) در سویه‌های مختلف، طبق جدول ۲ مشاهده شد.

از بین ۴ سویه موش ، مقدار آمار Chi-squared برابر با

جدول ۳. آمار تجربی مقایسهٔ دوبه‌دو در چهار سویهٔ موش نسبت به یک‌دیگر بر اساس نرخ تبدیل‌شدن از مرحلهٔ 2PN به ۲سلولی

Balb/c /NMRI				C57/NMRI				CD1/NMRI			
P value	کل	۲ سلولی	غیرفعال	P value	کل	۲ سلولی	غیرفعال	P value	کل	۲ سلولی	غیرفعال
۰/۰۰۱	۸۶/۱۱۳	۵۸/۱۰۶	۲۸/۷	۰/۰۰۱	۳۲/۱۱۳	۲۴/۱۰۶	۸/۷	۰/۳۸۲	۱۷۷/۱۱۳	۱۶۱/۱۰۶	۱۶/۷
Balb/c /C57				CD1/ Balb/c				CD1/C57			
P value	کل	۲ سلولی	غیرفعال	P value	کل	۲ سلولی	غیرفعال	P value	کل	۲ سلولی	غیرفعال
۰/۴۲۸	۸۶/۳۲	۵۸/۲۴	۲۸/۸	۰/۰۰۱	۱۷۷/۸۶	۱۶۱/۵۸	۱۶/۲۸	۰/۰۰۹	۱۷۷/۳۲	۱۶۱/۲۴	۱۶/۸

جدول ۴. آمار تجربی مقایسهٔ دوبه‌دو در چهار سویهٔ موش نسبت به یکدیگر بر اساس نرخ تبدیل‌شدن از مرحلهٔ ۲ سلولی به ۴ سلولی

Balb /NMRI				C57/NMRI				CD1/NMRI			
P value	کل	۴ سلولی	غیرفعال	P value	کل	۴ سلولی	غیرفعال	P value	کل	۴ سلولی	غیرفعال
۰/۲۱۲	۵۸/۱۰۶	۳۲/۶۹	۲۶/۳۷	۰/۵۳۴	۲۴/۱۰۶	۱۴/۶۹	۱۰/۳۷	۰/۰۰۱	۱۶۱/۱۰۶	۱۴۷/۶۹	۱۴/۳۷
Balb /C57				CD1/ Balb				CD1/C57			
P value	کل	۴ سلولی	غیرفعال	P value	کل	۴ سلولی	غیرفعال	P value	کل	۴ سلولی	غیرفعال
۰/۷۹۳	۵۸/۲۴	۳۲/۱۴	۲۶/۱۰	۰/۰۰۱	۱۶۱/۵۸	۱۴۷/۳۲	۱۴/۲۶	۰/۰۰۱	۱۶۱/۲۴	۱۴۷/۱۴	۱۴/۱۰

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-11-07]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1401.32.1.4.9]
[DOI: 10.52547/iau.32.1.53]

۱۰۳/۷۱۸ و سطح معنی‌داری آن ۰/۰۰۳ بوده که کمتر از ۰/۰۵ است و نشان‌دهندهٔ معنی‌داربودن آن است. بیشترین وکمترین درصد فعال‌ماندن و انجام لقاح موفق و تشکیل 2PN به‌ترتیب مربوط به سویه‌های موش CD1 وC57 است و مقادیر آن‌ها به‌ترتیب برابر با ۹۴/۱ و ۳۷/۲ درصد است.

میزان لقاح موفق و تبدیل شدن تخمک مرحله ی متافاز ۲ MII به 2PN در سویه CD1 بیشتربوده وتفاوت معنی‌داری با دیگر سویه ها مشاهده شد (p<۰/۰۵). همچنین در مقایسهٔ دوبه‌دو در سایر سویه‌ها مشاهده شد که بین دو موش NMRI وC57 میزان تشکیل 2PN در NMRI بیشتر است. همچنین بین دو موش C57 و Balb/C میزان تشکیل 2PN در Balb/C بیشتر است و بین NMRI و Balb/C ، از این لحاظ، تفاوت معنی‌داری وجود ندارد.

تکوین جنین در آزمایشگاه IVD

درصد تشکیل جنین به‌ترتیب در مراحل ۲، ۴ و ۸ سلولی و سپس مرحلهٔ بلاستوسیست در نمونه‌های مختلف، به‌ترتیب در جدول‌های ۳ تا ۶ زیر آورده‌شده و مورد بررسی قرار گرفته‌است.

میزان تبدیل‌شدن از مرحلهٔ (2PN) ترکیب پیش هسته نر و ماده به مرحله ۲سلولی

میزان تکوین جنین از مرحله 2PN به مرحله ۲سلولی در نمونه‌های مختلف، طبق جدول ۳ مشاهده شد.

از بین ۴ سویه موش، مقدار آماره Chi-square برابر با ۳۶/۰۹۱ و سطح معنی‌داری آن ۰/۰۰۵ بود که کمتر از ۰/۰۵ است و نشان‌دهنده معنی‌داربودن آن است. بیشترین و کمترین درصد زنده‌ماندن جنین و تکوین به مرحلهٔ دوسلولی، به‌ترتیب مربوط به سویهٔ موش NMRI و Balb/C بود که مقادیر آن‌ها به‌ترتیب برابر با ۹۳/۸ و ۶۷/۴ درصد بود. تکوین جنین به مرحلهٔ ۲سلولی به‌طور معنی‌داری در NMRI نسبت به سایر سویه‌ها بیشتر بود (p<۰/۰۵). البته، در مقایسهٔ دوبه‌دو بین تعداد جنینِ رسیده به مرحلهٔ ۲سلولی، بین دو موش NMRI و CD1، تفاوت معنی‌داری میان نرخ تکوین در این مرحله وجود نداشت. در مقایسهٔ بین سایر سویه‌ها در مرحلهٔ تکوین ۲سلولی، بین دو موش Balb/C وCD1، میزان تشکیل و رسیدن جنین به مرحلهٔ ۲ سلولی درCD1 بیشتر بود. همچنین، بین دو موش C57 و CD1 میزان تشکیل 2PN در CD1 بیشتر بود و سایر سویه‌ها نسبت به هم، تفاوت معنی‌داری نداشتند.

میزان تبدیل شدن از مرحله ۲ سلولی به ۴ مرحله سلولی

با توجه به جدول ۴، در مورد تعداد تکوین رسیده به مرحلهٔ ۴سلولی، ۳۴/۹ درصد از موش‌های NMRI در گروه غیرفعال (متوقف‌شده در مرحلهٔ ۲سلولی) و ۶۵/۱ درصد در گروه فعال (رسیده به مرحله ی ۴ سلولی)، ۸/۷ درصد از CD1 در گروه غیر فعال و ۹۱/۳ درصد در گروه فعال، ۴۴/۸ درصد از Balb/C در گروه غیرفعال و ۵۵/۲ درصد در گروه فعال و ۴۱/۷ درصد از C57 در گروه غیر فعال و ۵۸/۳ درصد در گروه فعال بودند.

از بین ۴ سویه موش، مقدار آماره Chi-square برابر با ۴۴/۱۷۳ و سطح معنی‌داری آن ۰/۰۰۳ بود که کمتر از ۰/۰۵ است و نشان‌دهندهٔ معنی‌داربودن آن است. بیشترین

جدول ۵. آمار تجربی مقایسه دوبه‌دو در چهار سویهٔ موش نسبت به یکدیگر بر اساس نرخ تبدیل‌شدن از مرحلهٔ ۴سلولی به ۸سلولی

Balb /NMRI				C57/NMRI				CD1/NMRI			
P value	کل	۸ سلولی	غیرفعال	P value	کل	۸ سلولی	غیرفعال	P value	کل	۸ سلولی	غیرفعال
۰/۱۲۵	۱۴/۶۹	۲۱/۳۴	۱۱/۳۵	۰/۳۰۵	۱۴/۶۹	۹/۳۴	۵/۳۵	۰/۰۰۱ ***	۱۴۷/۶۹	۱۱۳/۳۴	۳۴/۳۵
Balb /C57				CD1/ Balb				CD1/C57			
P value	کل	۸ سلولی	غیرفعال	P value	کل	۸ سلولی	غیرفعال	P value	کل	۸ سلولی	غیرفعال
۰/۹۳	۳۲/۱۴	۲۱/۹	۱۱/۵	۰/۱۸۴	۱۴۷/۳۲	۱۱۳/۲۱	۳۴/۱۱	۰/۲۹۴	۱۴۷/۱۴	۱۱۳/۹	۳۴/۵

جدول ۶. آمار تجربی مقایسهٔدوبه‌دوی چهار سویهٔ موش نسبت به یکدیگر بر اساس نرخ تبدیل شدن از ۸سلولی به بلاستوسیست

BALBc /NMRI				C57/NMRI				CD1/NMRI			
P value	کل	بلاستوسیست	غیرفعال	P value	کل	بلاستوسیست	غیرفعال	P value	کل	بلاستوسیست	غیرفعال
۰/۴۳۱	۹/۳۴	۱۲/۲۳	۹/۱۱	۰/۲	۹/۳۴	۴/۲۳	۵/۱۱	۰/۸۹	۱۱۳/۳۴	۷۵/۲۳	۳۸/۱۱
BALBc /C57				CD1/ BALBc				CD1/C57			
P value	کل	بلاستوسیست	غیرفعال	P value	کل	بلاستوسیست	غیرفعال	P value	کل	بلاستوسیست	غیرفعال
۰/۵۲۳	۲۱/۹	۱۲/۴	۹/۵	۰/۴۱۶	۱۱۳/۲۱	۷۵/۱۲	۳۸/۹	۰/۱۸۵	۱۱۳/۹	۷۵/۴	۳۸/۵

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-11-07]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1401.32.1.4.9]
[DOI: 10.52547/iau.32.1.53]

و کمترین درصد فعال‌ماندن و رسیدن به مرحلهٔ ۴ سلولی به‌ترتیب مربوط به سویه‌های CD1 و Balb/C بود که مقادیر آن‌ها به‌ترتیب برابر با ۹۱/۳ و ۵۵/۲ درصد بود. تعداد جنین‌هایی که به مرحلهٔ ۴سلولی رسیدند، در موش‌های CD1 نسبت به دیگرگروه‌ها مقایسه شد و به طور معنی داری افزایش داشت (p<۰/۰۵). در مقایسهٔ بین سایر سویه‌ها، در میزان تکوین جنین به مرحلهٔ ۴سلولی، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

میزان تبدیل شدن از مرحله ۴ سلولی به مرحله ۸ سلولی

با توجه به جدول ۵، در مورد تعداد تکوین جنین از مرحلهٔ ۴ سلولی به مرحلهٔ ۸ سلولی، ۵۰/۷ درصد از جنین‌های موش NMRI در گروه غیر فعال (متوقف‌شده در مرحلهٔ ۴سلولی) و ۴۹/۳ درصد در گروه فعال (رسیده به تکوین ۸ سلولی)، ۲۳/۱ درصد از CD1 در گروه غیر فعال و ۷۶/۹ درصد در گروه فعال، ۳۴/۴ درصد از Balb/C در گروه غیر فعال و ۶۵/۶ درصد در گروه فعال و ۳۵/۷ درصد از C57 در گروه غیرفعال و ۶۴/۳ درصد در گروه فعال بودند.

از بین ۴ سویه موش، مقدار آماره Chi-square برابر با ۱۶/۴۶۳ و سطح معنی‌داری آن ۰/۰۰۱ بود که کمتر از ۰/۰۵ و نشان‌دهنده معنی‌داربودن آن است. بیشترین و کمترین درصد فعال‌ماندن و رسیدن به مرحلهٔ ۸سلولی به‌ترتیب مربوط به سویه‌های‌موش CD1 و NMRI و مقادیر آن‌ها به‌ترتیب برابر با ۷۶/۹ و ۴۹/۳ درصد بود. درصد تعداد جنینهای مرحلهٔ ۸سلولی در موش‌های CD1 نسبت به دیگر گروه‌ها به طور معنی‌داری افزایش نشان داد (p<۰/۰۵). در مقایسه بین سایر سویه‌ها در میزان تکوین جنین به مرحله ۸سلولی، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

میزان تبدیل شدن از مرحله ۸ سلولی به مرحلهٔ بلاستوسیست

با توجه به جدول ۶، در مورد تعداد تکوین جنین از مرحلهٔ ۸سلولی به مرحلهٔ بلاستوسیست، ۳۲/۴ درصد از جنین‌های موش NMRI در گروهِ غیر فعال (متوقف در مرحلهٔ ۸سلولی) و ۶۷/۶ درصد در گروه فعال (تکوین تا مرحلهٔبلاستوسیست)، ۳۳/۶ درصد از CD1 در گروه غیر فعال و ۶۶/۴ درصد در گروه فعال، ۴۲/۹ درصد از Balb/C در گروه غیر فعال و ۵۷/۱ درصد در گروه فعال و ۵۵/۶ درصد از C57 در گروه غیر فعال و ۴۴/۴ درصد در گروه فعال بودند.

از بین ۴ سویه موش، مقدار آماره Chi-square برابر با ۲/۳۹۴ و سطح معنی‌داری آن ۰/۴۹۵ بود که بیشتر از ۰/۰۵ است؛ بنابراین تفاوت معنی‌داری میان چهار سویهٔ موش در زنده و فعال‌ماندن در رسیدن به مرحلهٔ بلاستوسیست وجود نداشت. بیشترین و کمترین درصد فعال‌ماندن و تکوین به بلاستوسیست به‌ترتیب مربوط به موش‌های نوعِ NMRI و C57 بود که مقادیر آن‌ها به‌ترتیب برابر با ۶۷/۶ و ۴۴/۴ درصد بود. البته، در میزان تکوین جنین ۸ سلولی به بلاستوسیست، بین دو موش NMRI و CD1،تفاوت معنی‌داری دیده نشد. همچنین، در مقایسهٔ بین سایر سویه‌ها نسبت به یکدیگر در مرحلهٔ تکوین به مرحلهٔبلاستوسیست، تفاوت معنی‌داری وجود نداشت.

نرخ تبدیل‌شدن از مرحلهٔگرفتن تخمک تا رسیدن به مرحلهٔبلاستوسیست بین چهار سویه موش مختلف

با توجه به جدول ۷، ۸۵/۶ درصد از جنین‌های سویهٔ NMRI در گروه غیر فعال (عدم موفقیت در تکوین جنین از زمان لقاح تا مرحلهٔ بلاستوسیست) و ۱۴/۴درصد در گروه فعال (موفق در تکوین از زمان لقاح تا مرحلهٔ بلاستوسیست) بودند. همچنین، ۶۱/۱ درصد از سویهٔ CD1 در گروه غیر فعال و ۳۸/۹ درصد در گروه فعال بودند. ۹۰/۹ درصد از Balb/C در گروه غیر فعال، ۹/۱ درصد در گروه فعال و ۹۶/۹ درصد از C57 در گروه غیر فعال و ۳/۱ درصد در گروه فعال بودند.

از بین ۴ سویه موش، مقدار آماره Chi-square برابر با ۸۲/۳۵۰ و سطح معنی داری آن ۰/۰۰۱ بود که کمتر از ۰/۰۵ و نشان‌دهندهٔ معنی‌داربودن آن است. بیشترین و کمترین درصد فعال‌ماندن (تکوین به مرحلهٔ بلاستوسیست)، به‌ترتیب مربوط به سویهٔ CD1 و C57 و مقادیر آن‌ها به‌ترتیب برابر با ۳۸/۹ و ۳/۱ درصد بود. سویهٔ CD1، نسبت به سه گروه دیگر، در مراحل آزمایش از گرفتن تخمک تا رسیدن به مرحلهٔ ۸سلولی با دیگر سویه‌ها تفاوت معنی‌داری داشت (p<۰/۰۵). در مقایسهٔ دوبه‌دو، میزان تبدیل‌شدن از مرحلهٔ گرفتن تخمک تا رسیدن به مرحلهٔ بلاستوسیست بین دو موش NMRI و CD1 تفاوت معنی‌داری وجود داشت و میزان فعال‌ماندن و تکوین جنین در سویه CD1 بیشتر بود. همچنین در مقایسهٔ بین دو موشِ NMRI و C57، میزان فعال‌ماندن NMRI بیشتر بود. در مقایسهٔ بین دو موش Balb/C و C57 در میزان تخمکِ مرحلهٔ MII ، لقاح و تکوین به مرحلهٔ بلاستوسیست، میزان فعال‌ماندن Balb/C بیشتر بود.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-11-07]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1401.32.1.4.9]
[DOI: 10.52547/iau.32.1.53]

جدول ۷. آمار تجربی چهار سویه موش بر اساس نرخ تبدیل شدن از مرحله دریافت تخمک تا بلاستوسیست

	NMRI	CD1	Balb/C	C57	کل
غیرفعال	۱۳۷	۱۱۸	۱۲۰	۱۲۴	۴۹۹
	۸۵/۶ درصد	۶۱/۱ درصد	۹۰/۹ درصد	۹۶/۹ درصد	۸۱/۴ درصد
بلاستوسیست	۲۳	۷۵	۱۲	۴	۱۱۴
	۱۴/۴ درصد	۳۸/۹ درصد	۹/۱ درصد	۳/۱ درصد	۱۸/۶ درصد
کل	۱۶۰	۱۹۳	۱۳۲	۱۲۸	۶۱۳
	۱۰۰ درصد	۱۰۰ درصد	۱۰۰ درصد	۱۰۰ درصد	۱۰۰ درصد

نتایج به‌دست‌آمده از نرخ تبدیل‌شدن در مراحل مختلف بین ۴ سویهٔ مختلف موش

از بین ۴ سویه موش، مقدار آماره Chi-square برابر با ۲۷۳/۸۸۶ و سطح معنی‌داری آن ۰/۰۰۲ بود که کمتر از ۰/۰۵ و نشان‌دهندهٔ معنی‌داربودن آن است. به‌ترتیب، بیشترین تا کمترین درصد فعال‌ماندن و تکوین، مربوط به موش‌های CD1، NMRI، Balb/C وC57 بود که مقادیر آن‌ها به‌ترتیب برابر با ۳۸/۹، ۱۴/۴، ۹/۱ و ۳/۱ درصد بود و بیشترین میزان در سویهٔ CD1 دیده شد (p<۰/۰۵).

بحث

در این تحقیق، اثر یک پروتکل یکسان تحریک تخمک‌گذاری متعارف (۲۹) (G-interval ۴۸ساعته یا تزریق گونادوتروپین‌ها با فاصلهٔ ۴۸ ساعت) بر تحریک تخمک‌گذاری چهار سویهٔ موش برون‌زاد NMRI وCD1 و همچنین درون‌زاد Balb/C و C57، مورد ارزیابی قرار گرفت. این مقایسه نشان داد که تحریک تخمک‌گذاری با پروتکل یکسان، نتایج متفاوتی از خود نشان می‌دهد و میزان تخمک‌گذاری به دنبال تحریک هورمونی به‌طور معنی‌داری در موش C57 در مقایسه با سه سویهٔ دیگرِ موش‌ها پایین‌تر بود. همچنین، تعداد تخمک گرفته‌شده در سویهٔ Balb/C نیز به‌طور معنی‌داری نسبت به دو سویهٔ NMRI وCD1 پایین‌تر بود و این مشاهدات، عدم کارآمدیِ پروتکل متعارف (از لحاظ نوع و دوز و فاصلهٔ تزریق هورمون) را در تحقیقات تولید مثلیِ مربوط به این دو سویه نشان می‌دهند.

گزارشات اندکی در مورد تعیین سویهٔ مناسب موش آزمایشگاهی برای تحریک تخمک‌گذاری، لقاح آزمایشگاهی و کشت جنین وجود دارد (۱۴, ۱۵, ۳۰). جمع‌آوری تعداد زیادی تخمک MII (متافاز۲) یا جنینِ پیش از لانه‌گزینی، برای تکنیک‌های کمک‌باروری و تحقیقات تولید مثل، ضروری است (۱۲). مطالعات مختلف نشان داده‌اند که پاسخ به تیمارِ تحریک تخمک‌گذاری در سویه‌های مختلف درون‌زاد متفاوت است (۴, ۶). گزارش‌ها نشان می‌دهند که فاصله G (فاصلهٔ‌تزریق هورمون‌های گونادوتروپین PMSG و hCG) بهینه برای بلوغ کامل تخمک و تحریک تخمک‌گذاریِ متعاقب آن در موش‌ها ۴۰ تا ۵۰ ساعت است (۶, ۳۱). نتایج ضعیف‌تر در سویهٔ C57 و همچنین Balb/C نشان می‌دهند که باید فاصله G مناسب‌تری تعیین شود. اثرات فیزیولوژیک LH بر بلوغ تخمک و اثرات آن در ازسرگیری میوز، پیش از این معرفی شده‌اند (۳۲). پاسخ‌های متفاوت در تعداد تخمک‌ها در بین سویه‌های مختلف، پس از تحریک هورمونی، ممکن است به دلیل اثرات فیزیولوژیکی مقادیر مختلف گنادوتروپین‌های در گردش خون مانند LH باشد که در پاسخ به هورمون Pregnant mare's serum gonadotropin (PMSG) در سویه‌های مختلف، متفاوت عمل می‌کند. همچنین ممکن است لازم باشد چرخهٔ فحلی در موش‌های با سویه‌های مختلف مورد توجه قرار گیرد. نتایج این تحقیق بر روی سویه‌های مختلف نشان می‌دهند که بالاترین میزان تشکیل 2PN در موش‌های CD1 مشاهده شده و نشان می‌دهد که در شرایط آزمایشگاهی یکسان، به نظر می‌رسد که این سویه موش مناسب‌تری برای مطالعات لقاح آزمایشگاهی است؛ اما ممکن است در شرایط آزمایشگاهی متفاوت، به طور مثال تغییر در محیط کشت، نرخ لقاح در بین سویه‌های مختلف تغییر کند. در مورد میزان زنده‌ماندن جنین در شرایط کشت آزمایشگاهی، بین مراحل مختلف کشت ازمرحلهٔ ۲سلولی تا بلاستوسیست، موش‌های مختلف مشاهدات متفاوتی نشان دادند. در مورد میزان تکوین تا مرحلهٔ ۲ سلولی جنین‌های NMRI و CD1 بیشترین تعداد زنده‌ماندن را نشان دادند و این موضوع نشان داد که در شرایط یکسان موش‌های برون‌زاد تا مرحلهٔ ۲ سلولی بهتر عمل کرده و بین دو موش برون‌زاد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. اما در مورد تکوین تا مرحلهٔ ۴سلولی و ۸سلولی و میزان زنده‌ماندن جنین، موش CD1 بهترین و کارآمدترین جنین را داشته و

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-11-07]
[DOR: 20.1001.1.10235922.1401.32.1.4.9]
[DOI: 10.52547/iau.32.1.53]

به‌طور معنی‌داری از سایر گروه‌ها موفق‌تر بود. البته، میزان زنده‌ماندن جنین از ۸ سلولی به بلاستوسیست در بین سویه‌های مختلف تفاوت معنی‌داری نشان نداد. این موضوع نشان داد که نرخ زنده‌ماندن و تکوین در مراحل مختلف، نتایج متفاوتی دارد. در شرایط آزمایشگاهی، متناسب با مرحله جنینی مورد نیاز در تحقیقات، ضروری است که سویهٔ مناسب برای نتیجهٔ کارآمدتر و بهینه انتخاب شود تا میزان نیاز به حیوانات، همزمان با نتیجهٔ بهتر، کاهش یابد. در این مطالعه نشان داده‌شد که علی‌رغم باور بر نتایج بهترِ موش‌های درون‌زاد، در مطالعات تولید مثلی در صورت نیاز به مرحلهٔ لقاح و تکوین تا مرحلهٔ ۸سلولی، بهترین موش در این مطالعه، موش برون‌زاد CD1 بوده که در شرایط معمول آزمایشگاهی بیشترین نرخ لقاح و زنده‌ماندن جنین را نشان داد. البته، در صورت نیاز به جنین ۸سلولی و مطالعه و دست‌ورزی برروی جنین ۸ سلولی و تکوین به مرحلهٔ بلاستوسیست، بین موش‌های برون‌زاد و درون‌زاد تفاوتی مشاهده نشد. همچنین، ترتیبِ موش‌ها از لحاظ نرخ زنده‌ماندن در شرایط یکسان آزمایشگاه، از بیشترین به کمترین،به‌صورت CD1، NMRI، Balb/C وC57 است. این نکته نشان می‌دهد که با توجه به مشاهدات و در صورت اجرای دستورالعمل مشابه و معمولی که در اکثر آزمایشگاه‌های تحقیقاتی تولید مثلی انجام می‌شود، سویهٔ مناسب برای تحقیقات کمک باروری در آزمایشگاه، سویهٔ CD1 است.

با در نظرگرفتن نتایج تحریک تخمک‌گذاری و لقاح آزمایشگاهی در چهار نمونهٔ درون‌زاد و برون‌زاد، نتیجه می‌گیریم که در تکنیک‌های کمک باروری، بهینه‌سازی تحریک تخمک‌گذاری، لقاح و کشت در مراحل مختلف جنینی برای هر سویه مهم است و در صورت استفاده از یک دستورالعمل یکسان، امکان نتیجه‌گیری‌مناسب و بهینه برای برخی سویه‌ها امکان‌پذیر نبوده و نیاز به استفادهٔ بیشتری از حیوان آزمایشگاهی خواهد بود. احتمال می‌رود که در صورت نیاز به استفاده از سویه‌های C57 و یا Balb/C، یک پروتکل کمک‌باروری که فاصلهٔ تزریق G ۵۰-۴۴ ساعته را مورد ارزیابی قرار داده و استفاده از محیط‌های کشت متفاوت در حین لقاح و محیط‌های کشت دیگری برای تکوین جنین، بتواند تولید رویان در شرایط آزمایشگاهی را بهبود بخشیده و امکان گرفتن نتیجهٔ دلخواه با استفاده از حداقلْ تعداد حیوان آزمایشگاهی را فراهم کند.

REFERENCES

1. Kupka MS, Ferraretti AP, De Mouzon J, Erb K, D'Hooghe T, Castilla JA, et al. Assisted reproductive technology in Europe, 2010: results generated from European registers by ESHRE. Hum Reprod 2014;29:2099-113.

2. Lane M, Gardner DK. Ammonium induces aberrant blastocyst differentiation, metabolism, pH regulation, gene expression and subsequently alters fetal development in the mouse. Biol Reprod 2003;69:1109-17.

3. Wale PL, Gardner DK. The effects of chemical and physical factors on mammalian embryo culture and their importance for the practice of assisted human reproduction. Hum Reprod Update 2016;22:2-22.

4. Byers SL, Payson SJ, Taft RA. Performance of ten inbred mouse strains following assisted reproductive technologies (ARTs). Theriogenology 2006;65:1716-26 .

5. Gates AH, Bozarth JL. Ovulation in the PMSG-treated immature mouse: effect of dose, age, weight, puberty, season and strain (BALB/c, 129 and C129F1 hybrid). Biol Reprod 1978;18:497-505.

6. Nagy A, Gertsenstein M, Vintersten K, Behringer R, Editors. Manipulating the mouse embryo: a laboratory manual. New York: Press Cold Spring Harbor: 2003.

7. Wilson ED, Zarrow M. Comparison of superovulation in the immature mouse and rat. Reproduction 1962;3:148-58.

8. Zarrow M, LEE CALDWELL A, Hafez E, Pincus G. Superovulation in the immature rat as a possible assay for LH and HCG. Endocrinology 1958;63:748-58.

9. Ozgunen K, Erdogan S, Mazmanoglu N, Pamuk I, Logoglu G, Ozgunen T. Effect of gonadotrophin dose on oocyte retrieval in superovulated BALB/c mice. Theriogenology 2001;56:435-45.

10. Spearow JL, Barkley M. Genetic control of hormone-induced ovulation rate in mice. Biol Reprod 1999;61:851-6.

11. Hashlamoun L, Killian G. Effects of timing of ovum recovery, cumulus cells, sperm pre incubation time, and pH on in vitro fertilization in C57BL/6 mice. Arch Androl 1985;15:159-71.

12. Martin-Coello J, Gonzalez R, Crespo C, Gomendio M, Roldan E. Superovulation and in vitro oocyte maturation in three species of mice (Mus musculus, Mus spretus and Mus spicilegus). Theriogenology 2008;70:1004-13.

13. Kameyama Y, Arai K, Ishijima Y. Interval between PMSG priming and hCG injection in superovulation of the mongolian Gerbil. J Mamm Ova Res 2004;21:105-9.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-11-07]

[DOR: 20.1001.1.10235922.1401.32.1.4.9]

[DOI: 10.52547/iau.32.1.53]

14. Wu H, Chou C, Lin C-S, Huang M. Effects of glucose concentration on in vitro fertilization in BALB/c mice. Reprod Domest Anim 2003;38:470-4.

15. Kito S, Ohta Y. In vitro fertilization in inbred BALB/c mice I: isotonic osmolarity and increased calcium-enhanced sperm penetration through the zona pellucida and male pronuclear formation. Zygote 2008;16:249.

16. Uranga J, Arechaga J. Comparative analysis of in vitro development of outbred mouse embryos cultured in Krebs-Ringer or tyrode-derived media. Reprod Nutr Dev 1997;37:41-9.

17. Nakazawa T, Ohashi K, Yamada M, Shinoda S, Saji F, Murata Y, et al. Effect of different concentrations of amino acids in human serum and follicular fluid on the development of one-cell mouse embryos in vitro. J Reprod Fertil 1997;111:327-32.

18. Golkar-Narenji A, Gourabi H, Eimani H, Barekati Z, Akhlaghi A. Superovulation, in vitro fertilization (IVF) and in vitro development (IVD) protocols for inbred BALB/cJ mice in comparison with outbred NMRI mice. Reprod Med Biol 2012;11:185-92.

19. Tuttle AH, Philip VM, Chesler EJ, Mogil JS. Comparing phenotypic variation between inbred and outbred mice. Nat Methods 2018;15:994-6.

20. Jensen VS, Porsgaard T, Lykkesfeldt J, Hvid H. Rodent model choice has major impact on variability of standard preclinical readouts associated with diabetes and obesity research. Am J Transl Res 2016;8:3574.

21. Dekel Y, Glucksam Y, Margalit R. Novel fibrillar insulin formulations for oral administration: Formulation and in vivo studies in diabetic mice. J Control Release 2010;143:128-35.

22. Chia R, Achilli F, Festing MF, Fisher EM. The origins and uses of mouse outbred stocks. Nat genet 2005;37:1181-6.

23. Johnson M. Laboratory mice and rats. Mater Methods 2012;2: 113.

24. Kabayama H, Takeuchi M, Tokushige N, Muramatsu S-i, Kabayama M, Fukuda M, et al. An ultra-stable cytoplasmic antibody engineered for in vivo applications. Nat Commun 2020;11:1-20.

25. Lu Y, Brommer B, Tian X, Krishnan A, Meer M, Wang C, et al. Reprogramming to recover youthful epigenetic information and restore vision. Nature 2020;588:124-9.

26.Luther A, Urfer M, Zahn M, Müller M, Wang S-Y, Mondal M, et al. Chimeric peptidomimetic antibiotics against Gram-negative bacteria. Nature 2019;576:452-8.

27.Labonté B, Abdallah K, Maussion G, Yerko V, Yang J, Bittar T, et al. Regulation of impulsive and aggressive behaviours by a novel lncRNA. Mol Psychiatry 2020:1-14.

28.Patzke C, Brockmann MM, Dai J, Gan KJ, Grauel MK, Fenske P, et al. Neuromodulator signaling bidirectionally controls vesicle numbers in human synapses. Cell 2019;179:498-513.

29.Kidder BL. In vitro maturation and in vitro fertilization of mouse oocytes and preimplantation embryo culture. Methods Mol Biol 2014;1150:191-9.

30.Kito S, Hayao T, Noguchi-Kawasaki Y, Ohta Y, Hideki U, Tateno S. Improved in vitro fertilization and development by use of modified human tubal fluid and applicability of pronucleate embryos for cryopreservation by rapid freezing in inbred mice. Comp Med 2004;54:564-70.

31.Khalili MA, Anvari M. The effect of in vitro culture on cleavage rates and morphology of the in vivo-developed embryos in mice. IJRM 2007; 5: 17-22.

32.Sapienza C, Peterson AC, Rossant J, Balling R. Degree of methylation of transgenes is dependent on gamete of origin. Nature 1987;328:251-4.

[Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2025-11-07]

[DOR: 20.1001.1.10235922.1401.32.1.4.9]

[DOI: 10.52547/iau.32.1.53]