Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol. 22, No. 4, Sep-Oct 2014
Pages: 1333-1340

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره ۲۲، شماره ۴، مهر و آبان ۱۳۹۳
صفحه: ۱۳۴۰-۱۳۳۳

اثر فاکتور رشد فیبروبلاستی بازی بر بلوغ آزمایشگاهی تخمک موش در مرحله وزیکول زایا

رمضان خان بابایی[۱]، نفیسه زابلی*[۲]، فرخنده نعمتی[۳]

۱،۳- استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائمشهر، قائمشهر، ایران
۲- کارشناسی ارشد زیست شناسی- سلولی تکوینی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائمشهر، قائمشهر، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۹/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۳/۱

چکیده

مقدمه: بلوغ آزمایشگاهی تخمک که بلوغ تخمک‌ها را در خارج از شرایط طبیعی فراهم می‌کند، یک روش مناسب در جهت درمان ناباروری می‌باشد که استفاده کلینیکی آن به واسطه موفقیت پایین با محدودیت مواجه می‌باشد. لذا این مطالعه با هدف بررسی تأثیر فاکتور رشد فیبروبلاستی بر بلوغ آزمایشگاهی تخمک‌های نابالغ طراحی شده است.

روش بررسی: تخمک‌های نابالغ از ۲۰ سر موش ماده ۱۰-۸ هفته‌ای نژاد NMRI، ۴۸-۴۶ ساعت به دنبال تزریق داخل صفاقی ۱۰ واحد از (PMSG :Pregnant Mare`s Serum Gonadotrophin) به دست آورده شد. تخمک‌ها در محیط (Modified Essential Medium- α :MEM-α) تیمار شده با دوزهای صفر، ۱۰ ng/ml، ۲۰ ng/ml و ۴۰ ng/ml از فاکتور رشد فیبروبلاست کشت داده شدند. بعد از ۲۴ ساعت، مرحله بلوغ تخمک با کمک میکروسکوپ اینورت بررسی شد. میزان بلوغ تخمک با استفاده از نرم افزار آماری SPSS و آزمون ANOVA تجزیه و تحلیل شد.

نتایج: میزان از سرگیری میوز در گروه کنترل (یک) و گروه‌های آزمایشی دو، سه و چهار به ترتیب ۲۳، ۲۵/۷، ۲۶/۲ و ۲۷/۳ درصد بود که تفاوت معنی‌داری در از سرگیری میوز بین گروه کنترل و گروه‌های آزمایش وجود نداشت. اختلاف معنی‌داری در بلوغ آزمایشگاهی بین گروه کنترل نسبت به گروه‌های آزمایشی دو و سه (p<۰/۰۱) مشاهده شد که میزان تخمک‌های بالغ شده آزمایشگاهی (متافاز II) در گروه کنترل و گروه‌های آزمایشی دو، سه و چهار به ترتیب ۴۵، ۶۰/۸، ۶۲/۶ و ۴۵/۲ درصد بود.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که فاکتور رشد فیبروبلاست در غلظت‌های ۱۰ ng/ml و ۲۰ng/ml در از سرگیری میوز، شکسته شدن هسته و آزاد شدن اولین جسم قطبی تأثیر دارد ولی غلظت ۴۰ng/ml تأثیر چندانی در بهبود بلوغ تخمک ندارد.

واژه‌های کلیدی: فاکتور رشد فیبروبلاستی، بلوغ آزمایشگاهی، لقاح آزمایشگاهی، وزیکول زایا

* (نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۹۱۱۲۲۰۲۸۷۳، پست الکترونیکی: Nafis_z67@yahoo.com

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]

مقدمه

ناباروری یکی از قدیمی‌ترین مشکلات بشری می‌باشد. تقریباً در ۱۰ درصد از زوج‌هایی که در سن باروری هستند، ناباروری مشاهده می‌شود. فرایند رشد فولیکول در بیماران سرطانی تحت درمان با رادیوتراپی و شیمی درمانی متوقف شده و این امر منجر به ناباروری آنها پس از طی دوره‌ی درمان می‌شود. از طرفی یائسگی زودرس، بیماری‌های لگنی و برداشتن تخمدان‌ها در هنگام ضرورت نیز به ناباروری می‌انجامد. در چنین وضعیتی، یکی از مهم‌ترین موضوعات قابل بحث، فن‌آوری کمک باروری (ART: Assisted Reproductive Technology) است(۱). ازدیاد تخمک گذاری، القای تخمک گذاری، بلوغ آزمایشگاهی تخمک نارس، لقاح آزمایشگاهی و انتقال جنین از روش‌های مهم تولید مثلی است که با استفاده از این روش‌ها می‌توان گام‌های بسیار مهمی در جهت تولید آزمایشگاهی جنین برداشت. هم چنین می‌توان از این راهکارها در درمان ناباروری‌های انسانی و دامی و حفظ حیوانات در معرض انقراض استفاده کرد(۲). از زمان گزارش اولین تولد پس از لقاح آزمایشگاهی (IVF: In Vitro Fertilization)، تحقیقات زیادی در جهت پیشرفت تکنیک‌های کمک باروری صورت گرفته است. هر چند اولین IVF موفق در یک سیکل طبیعی قاعدگی و بدون تحریک هورمونی صورت گرفت(۳). اما در پروتکل‌های IVF مدرن از تزریق گنادوتروپین روزانه استفاده می‌شود. داروهای استفاده شده در IVF منجر به تحریک تخمدان و متعاقبا تولید و رشد چند فولیکول به طور همزمان می‌شود. بعضی از زنان نسبت به این داروها حساس هستند که از آن جمله می توان به زنانی با تخمدان‌های پلی‌کیستیک اشاره کرد که در معرض خطر سندرم تخمدان تحریک‌پذیر هستند. افزایش پلی‌اسپرمی به دنبال لقاح آزمایشگاهی و پتانسیل پایین تکوین، مانع از تولید عمده آزمایشگاهی جنین‌های زنده با کیفیت بالا می‌شود. میزان بالای لقاح پلی‌اسپرمی و میزان پایین تشکیل پیش هسته نر بعد از لقاح آزمایشگاهی ممکن است به دلیل بلوغ ناقص تخمک در شرایط آزمایشگاهی باشد. چندین مطالعه برای غلبه بر این مسایل در راستای بهبود تخمک به دنبال تغییرات سیستم بلوغ آزمایشگاهی صورت گرفته است(۴). بلوغ آزمایشگاهی تخمک یک تکنیک کمک باروری می‌باشد که بلوغ اووسیت‌ها را در خارج از شرایط طبیعی فراهم می‌کند. بلوغ تخمک در شرایط آزمایشگاهی به عنوان تکنیکی موثر در جهت کاهش قیمت و تقلیل اثرات جانبی تحریکات گنادوتروپین‌ها در لقاح آزمایشگاهی شناخته شده است. مطالعات زیادی نشان داده‌اند که بلوغ آزمایشگاهی تخمک‌های مرحله وزیکول زاینده (GV: Germinal Vesicle) به مرحله متافاز II به طور تکنیکی در گونه‌های بسیار متفاوتی از پستانداران امکانپذیر می‌باشد. در مقایسه بلوغ آزمایشگاهی، تخمک‌های GV انسان در روش‌های کمک باروری با موفقیت کمتری همراه است(۵). در فولیکول قبل از تخمک‌گذاری، تخمک‌های نابالغ توسط توده‌ی کوچکی از سلول‌های فولیکولی به نام کومولوس اووفروس احاطه می‌گردد که به داخل آنتروم در حال گسترش برجسته می‌شود(۶).

حضور سلول‌های کومولوس، نقش حیاتی در طول بلوغ میوز در محیط In Vitro دارد و هم چنین میزان لقاح و نمو جنین را در شرایط آزمایشگاهی در مقایسه با اووسیت‌هایی که فاقد لایه‌ی کومولوس می‌باشند، افزایش می‌دهد(۷). محیط فولیکولی، تخمک را در حالت توقف در مرحله دیپلوتن میوز I حفظ می‌کند که تخمک در این مرحله GV نام دارد. در فاز آخر بلوغ تخمک در محیط In Vivo با ترشح گنادوتروپین‌ها میوز I کامل شده و تکامل تخمک از حالت GV به (GVBD: Germinal Vesicle Breakdown) و سپس به مرحله متافاز II القا می‌شود. رها کردن تخمک از محیط مهاری فولیکول منجر به بلوغ میوز در شرایط In Vitro می‌شود(۸). فاکتور رشد فیبروبلاستی برای اولین بار در سال ۱۹۷۰ میلادی از هیپوفیز گاو جداسازی شد(۹). یکی از پروتئین‌های مهم این گروه فاکتور رشد فیبروبلاستی بازی یا (BFGF: Basic Fibroblast Growth Factor) می‌باشد. این فاکتور توسط سلول‌های استخوانی سنتز و در ماتریکس خارج سلولی ذخیره می‌شود(۱۰). مطالعات ایمنوهیستوشیمی، مکان‌یابی سلولی پروتئین فاکتور رشد فیبروبلاستی را گزارش داده‌اند(۱۱). مکان یابی bFGF mRNA درون بافت تخمدان موش صحرایی توسط Pandey و همکاران مطالعه شده است و

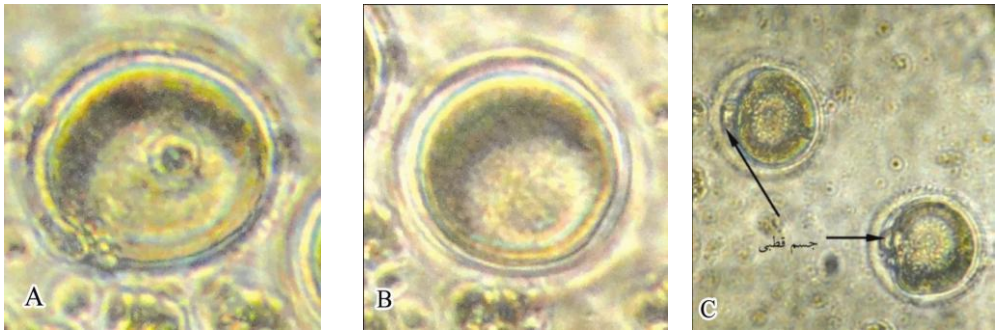
[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]

گزارش دادند که سلول‌های گرانولوزا و سلول‌های تکای فولیکول‌های آنترال بزرگ bFGF mRNA را تولید می‌کنند(۱۲). bFGF، پروتئینی است که در تقسیم سلولی، تکوین جنین، رگ‌زایی، تکوین سیستم حرکتی و عصبی، تکوین شش، تمایز سلول‌های گلیال، تمایز سلول‌های اپی‌تلیال غدد پستان، فعالیت کانال کلسیم، ترمیم زخم‌ها و رشد تومورها نقش دارد. این پروتئین به عنوان یک مکمل به محیط کشت سلول‌های بنیادی جنینی اضافه می‌شود تا بتواند سلول‌ها را در حالت بنیادی و عدم تمایز، حفظ و نگهداری کند(۱۳). بقای تخمک تحت تأثیر شرایط محیطی قرار می‌گیرد از این رو در این تحقیق سعی شده است که بازدهی سیستم کشت استفاده شده برای تکوین آزمایشگاهی تخمک‌های موش، با تغییر غلظت‌های فاکتور رشد فیبروبلاستی اضافه شده به محیط کشت بهبود یابد.

روش بررسی

این مطالعه با استفاده از ۲۰ سر موش نژاد NMRI با سن ۱۰-۸ هفته انجام شد. حیوانات تحت شرایط کنترل شده (۱۲ ساعت نور/تاریکی) و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری و تیمار شدند. bFGF از پژوهشکده رویان تهیه شد و سایر مواد از شرکت GIBCO خریداری شد. موش‌ها با تزریق داخل صفاقی ۱۰ واحد (PMSG: Pregnant Mare`s Serum Gonadotrophin) جهت تخمک‌گذاری بیشتر تحریک شدند. ۴۸ ساعت بعد، تخمدان‌ها خارج و بلافاصله در محیط کشت Modified Essential Medium – α (MEM- α) تیمار شده با ۱۰ درصد (FBS: Fetal Bovine Serum) که از قبل گرم شده بود، کشت داده شدند. در زیر استریومیکروسکوپ تخمک‌های مرحله وزیکول زاینده در داخل محیط کشت توسط دو سرنگ انسولینی یکی به عنوان نگه دارنده و دیگری به عنوان عمل‌کننده از فولیکول‌های آنترال بافت تخمدان به داخل محیط کشت آزاد شدند. با تکرار پیپت کردن توسط پیپت دهانی سلول‌های کومولوس اطراف برداشته شدند.

تخمک‌های نابالغ در مرحله GV جمع‌آوری شدند و به دنبال شستشو در محیط تازه MEM-α از قبل انکوبه شده شامل FBS ۱۰ درصد که با روغن معدنی پوشیده شده بودند، جهت بلوغ آزمایشگاهی کشت داده شدند. محیط بلوغ MEM-α به عنوان محیط کنترل (گروه ۱) و محیط‌های تیمار به دنبال اضافه کردن مقدار مورد نیاز از فاکتور رشد فیبروبلاستی: ng/ml ۱۰ (گروه ۲)، ng/ml ۲۰ (گروه ۳)، ng/ml ۴۰ (گروه ۴) به دست آمد. این محیط‌ها در دمای۳۷ درجه سانتی‌گراد، در هوای مرطوب با ۵ درصد CO2 کشت داده شدند. بعد از ۲۴ ساعت مرحله بلوغ با کمک میکروسکوپ اینورت بررسی شد و تغییرات مورفولوژیک در هسته با آزاد شدن اولین جسم قطبی که به عنوان معیاری برای بلوغ هسته‌ای تخمک‌های نابالغ محسوب می‌شود، مورد توجه قرار گرفت. تخمک‌های بدون تغییر شکل در هسته را با عنوان تخمک‌های نابالغ (GV)، تخمک‌های با هسته شکسته شده به عنوان تخمک‌های مرحله GVBD با نشانه شروع تقسیم میوز و تخمک‌های دارای جسم قطبی به عنوان تخمک‌های بالغ شده یا مرحله متافاز II شناسایی شدند (شکل ۱). درصد تخمک‌های باقی‌مانده در مرحله GV، تخمک‌های مرحله GVBD و تخمک‌های مرحله متافاز II، پس از ۲۴ ساعت کشت آزمایشگاهی در گروه‌های مختلف در هر بار تکرار به دست آمد. سپس میانگین درصدهای گروه‌های مختلف در هر آزمایش با استفاده از آزمون آماری One Way ANOVA و نرم‌افزار SPSS تجزیه و تحلیل شد.

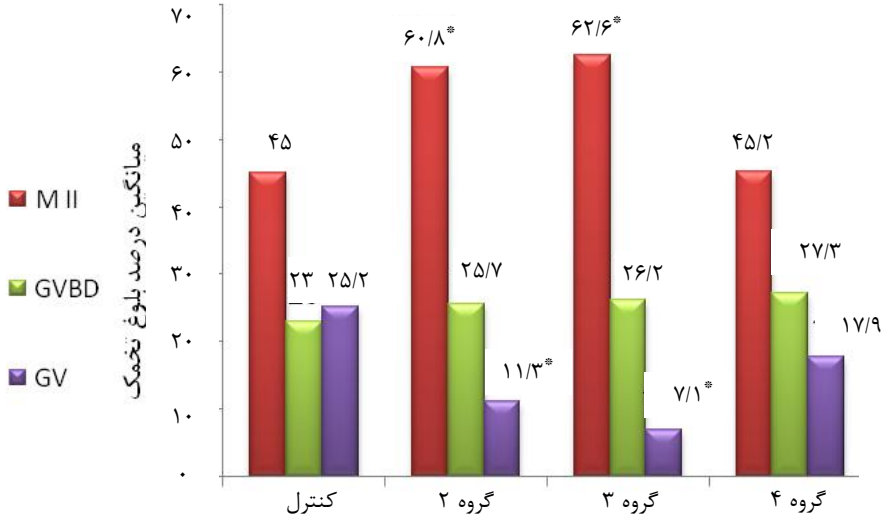


شکل ۱: تخمک موش در مراحل مختلف بلوغ
تخمک مرحله GV (A)، تخمک مرحله GVBD (B) با بزرگنمایی ۱۰۰۰× و تخمک مرحله متافاز II (C). با بزرگنمایی ۴۰۰×

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]

نتایج

همان طور که در نمودار ۱ نشان داده شده است نسبت تخمک‌هایی که به مرحله متافاز II رسیدند، در گروه‌های آزمایشی دو و سه (با غلظت‌های ۱۰ ng/ml و ۲۰ ng/ml از فاکتور رشد فیبروبلاستی) به طور معنی داری نسبت به گروه کنترل افزایش یافت (p<۰/۰۱). میانگین درصد بلوغ تخمک‌های بالغ شده آزمایشگاهی (متافاز II) در گروه کنترل و گروه‌های آزمایشی دو، سه و چهار (با غلظت‌های ۱۰، ۲۰ و ۴۰ ng/ml از فاکتور رشد فیبروبلاستی) به ترتیب ۴۵، ۶۰/۸، ۶۲/۶ و ۴۵/۲ درصد بود. میزان از سرگیری میوز یا بلوغ تخمک به مرحله GVBD در گروه کنترل و گروه‌های آزمایشی دو، سه و چهار به ترتیب ۲۳، ۲۵/۷، ۲۶/۲ و ۲۷/۳ درصد بود که بین گروه کنترل و گروه‌های آزمایش اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. همچنین نسبت تخمک‌هایی که در مرحله GV باقی مانده‌اند، در گروه کنترل ۲۳ درصد و در گروه‌های آزمایشی دو، سه و چهار (با غلظت‌های ۱۰، ۲۰ و ۴۰ ng/ml از فاکتور رشد فیبروبلاستی) به ترتیب ۱۱/۳، ۷/۰۷ و ۱۷/۹ درصد بود. این نتیجه نشان می‌دهد که درصد تخمک‌هایی که در مرحله GV باقی مانده‌اند در گروه کنترل بالاتر از دیگر گروه‌های آزمایش می‌باشد و میانگین درصد تخمک‌هایی باقی مانده در مرحله GV در گروه‌های آزمایشی دو و سه (با غلظت‌های ۱۰ ng/ml و ۲۰ ng/ml از فاکتور رشد فیبروبلاستی) به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کاهش یافت (p<۰/۰۱). نتایج این مطالعه نشان داد که حضور فاکتور رشد فیبروبلاستی با غلظت‌های(۱۰ ng/ml و ۲۰ ng/ml) در محیط بلوغ، توانایی بلوغ تخمک‌های موش و تشکیل متافاز II را بالا می‌برد.



نمودار ۱: میزان بلوغ آزمایشگاهی تخمک در گروه کنترل و گروه‌های آزمایشی

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که حضور فاکتور رشد فیبروبلاست در غلظت‌های ۱۰ ng/ml و ۲۰ ng/ml در محیط IVM، میزان بلوغ تخمک را به مرحله متافاز II افزایش می‌دهد. در حالی که فاکتور رشد فیبروبلاستی در غلظت ۴۰ ng/ml تأثیر چندانی در بهبود بلوغ تخمک به متافاز II ندارد. بنابراین به نظر می‌رسد که اضافه کردن bFGF در طول بلوغ تخمک بر برنامه‌ریزی تخمک اثر دارد. یافته‌ها نشان می‌دهد که تأمین محیط بلوغ با bFGF، میزان تشکیل تخمک‌های متافاز II و در نتیجه بلوغ هسته‌ای را بهبود می‌بخشد(۱۴). فاکتور رشد فیبروبلاستی یک گروه از زنجیره پلی‌پپتیدی منفرد اتصال یابنده به هپارین هستند و به واسطه سولفات هپارین، با سطح سلول میان کنش می‌دهد که نشان‌دهنده ضرورت این فاکتور برای انتقال سیگنال است و نقش

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]

اساسی در فرآیند تکثیر و تمایز تخمک بر عهده دارد(۱۵). گیرنده‌های این فاکتور که به صورت عرض غشایی در داخل غشای سلولی قرار دارند، در همه مراحل بلوغ در اووسیت‌ها حضور دارند(۱۶). فاکتور رشد فیبروبلاستی تمایز سلول‌های گرانولوزا تخمدان، بیان گیرنده هورمون لوتئینزه کننده (LH) توسط سلول‌های گرانولوزا و تکثیر سلول‌های زاینده تخمدان را تحریک می‌کند. هورمون‌های استروئیدی و گنادوتروپین‌ها تنها بخشی از گروه پیچیده فاکتورهایی هستند که در بلوغ تخمک نقش دارند(۱۷). Rhys در سال ۱۹۹۹ میلادی نقش فاکتور رشد فیبروبلاستی را در فولیکول‌های پیش از تخمک‌گذاری در جوجه‌ها بررسی کرد و گزارش داد که این فاکتور در رشد فولیکول‌ها تأثیر مثبت دارد. در مطالعه Quennell و همکاران امکان ارتباط بین bFGF و بیان mRNA و رشد و نمو فولیکول‌ها مورد مطالعه قرار گرفت و به نتایج مثبتی از اثر فاکتور رشد فیبروبلاستی بر رشد فولیکول رسیدند(۹). Lee و همکاران طی آزمایشی بر روی تخمدان‌های انسان گزارش کردند که bFGF، اووسیت‌ها را وادار به وارد شدن به مرحله GVBD می‌کند که از مراحل بلوغ هسته است و همچنین bFGF تولید پروستاگلاندین را در فولیکول‌ها تحریک می‌کند(۱۸). گزارش شده است که فاکتورهای رشد متنوعی بر بلوغ تخمک گاو اثر می‌گذارند که اثر آنها به واسطه سلول‌های کومولوس احاطه‌کننده تخمک میانجی‌گری می‌شود، به طوری که Gupta و همکاران گزارش کردند که حضور ۲۰ ng/ml از فاکتور رشد اپیدرمی در محیط کشت، تأثیر مثبتی بر میزان پخش شدن کومولوس، بلوغ هسته‌ای و میزان کلیواژ جنین بوفالو دارد و ۲۰ ng/ml از فاکتور رشد فیبروبلاست، پخش شدن سلول‌های کومولوس و بلوغ هسته‌ای تخمک‌های بوفالو را در شرایط کشت افزایش می‌دهد(۱۹). Bieser و همکاران نیز گزارش دادند که پروتئولیز خارج سلولی در طول بلوغ آزمایشگاهی اووسیت‌ها اتفاق می‌افتد که برای عمل آن فاکتور رشد تعدیل کننده شبیه FGF ضروری است(۲۰). اگرچه مطالعات در این زمینه نتایجی ضد و نقیض را نشان داده‌اند، Nilson و همکاران در تحقیقی با افزودن bFGF به سیستم کشت کامل تخمدان درصد رشد فولیکول‌ها را افزایش دادند و گزارش نمودند که تیمار تخمدان موش صحرایی با فاکتور رشد فیبروبلاست در شرایط آزمایشگاهی، منجر به کاهش تعداد فولیکول‌های بدوی و در عین حال افزایش تعداد فولیکول‌های در حال تکوین می‌شود(۲۱). در مقابل Tesarik و همکارش گزارش نمود که bFGF تغییری در نسبت فولیکول‌های در حال رشد در سیستم کشت تکه‌های کرتکس تخمدان ندارند، توافقات زیادی مبنی بر حضور bFGF در اووسیت‌ها و سلول‌های گرانولوزا در بیشتر مراحل فولیکولی وجود دارد(۲۲).

نتیجه‌گیری

نتایج مربوط به این تحقیق نشان داد که فاکتور رشد فیبروبلاست در غلظت‌های ۱۰ ng/ml و ۲۰ ng/ml بلوغ تخمک را به مرحله متافاز II به طور معنی‌داری افزایش می‌دهد. در حالی که غلظت ۴۰ ng/ml از فاکتور رشد فیبروبلاستی تأثیر چندانی در بهبود بلوغ تخمک‌های نابالغ ندارد. همچنین جهت کاربردی کردن بیشتر این تحقیق در مراکز درمانی و کلینیکی می‌توان تأثیر این فاکتور رشد بر بلوغ و تکوین تخمک‌های انسانی مورد مطالعه واقع شود.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل پایان نامه دوره کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائمشهر در سال ۱۳۹۲ می‌باشد. نویسندگان این تحقیق از همکاری مسئولین انستیتو پاستور ایران، پژوهشکده شمال کشور (آمل) تشکر و قدردانی می‌نمایند.

References:

1- Bahadori MH, Azarnia M, Ghasemian F, Ghasemi F, Ghaderjani S, Khojasteh N, et al. ***Relevance of hepatocyte growth factor and fibroblast growth factor on mouse preimplantation embryo development.*** J Reproduction

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]

Contraception 2009; 20(4): 195-204.

2- Bahadori MH, Ramezani M, Asghari Nehadani Z. ***Melatonin dose-dependent effects on oocyte maturation capacity, in vitro fertilization and blastocyst development in mouse.*** Trauma Monthly 2011; 16(2): 67-71.

3- Steptoe PC, Edwards RG. ***Birth after the preimplantation of a human embryo.*** Lancet 1978; 2: 366.

4- Beerendonk CC, van Dop PA, Braat DD, Merkus JM. ***Ovarian hyperstimulation syndrome: facts and fallacies.*** Obstet Gynecol Surv 1998; 53(7): 439-49.

5- Heikinheimo O, Gibbons WE. ***The molecular mechanisms of oocyte maturation and early embryonic development are unveiling new insights into reproductive medicine.*** Mol Hum Reprod. 1998; 4(8): 745-56.

6- Gilula NB, Epstein ML, Beers WH. ***Cell-to-cell communication and ovulation: a study of the cumulus cell–oocyte complex.*** J Cell Biol 1978; 78(1): 58-75.

7- Salustri A, Yanagishita M, Hascall VC. ***Synthesis and accumulation of hyaluronic acid and proteoglycans in the mouse cumulus cell-oocyte complex during follicle stimulating hormone induced mucification.*** J Biol Chem 1989; 264(23): 13840-47.

8- Pincus G, Enzmann EV. ***The comparative behaviour of mammalian eggs in-vivo and in vitro in the activation of ovarian eggs.*** J Exp Med 1935; 62(5): 665-75.

9- Quennell JH, Stanton JA, Hurst PR. ***Basic fibroblast growth factor expression in isolated small human ovarian follicles.*** Mol Hum Reprod 2004; 10(9): 623-8.

10- Mirzahoseini H, Mehraein F, Omidinia E, Razaei MR. ***Differential expression of human basic fibroblast growth factor in Escherichia coli: potential role of promoter.*** World J Microbiol Biotechnol 2004; 20(2): 161-65.

11- Berisha B, Schams D, Kosmann M, Amselgruber W, Einspanier R. ***Expression and localization of vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor during the final growth of bovine ovarian follicles.*** Endocrinol 2000; 167(3): 371-82.

12- Pandey A, Gupta N, Gupta SC. ***Improvement of in vitro oocyte maturation with lectin supplementation and expression analysis of Cx43, GDF-9, FGF-4 and fibronectin mRNA transcripts in buffalo (Bubalus bubalis).*** J Assist Reprod Genet 2009; 26(6): 365-71.

13- Paknejad M, Ranjbar R. ***Growth factors and new periodontology.*** J Dentistry 1999; 12(1): 47-54.

14- Skovby F, Byskov Anne Grethe, Tsafriri A. ***Oocyte maturation.*** Dan Med Bull 2008; 55: 1-16.

15- Amaya E, Musci TJ, Kirschner MW. ***Expression of a dominant negative mutant of the FGF receptor disrupts mesoderm formation in xenopus embryos.*** Cell 1991; 66(2): 257-70.

16- Gilbert SF. ***Developmental biology.*** Trans Baharvand H. Tehran: Khane Zist Shenasi; 2008. [Persian]

17- Gospodarowicz D, Plouet J, Fujii DK. ***Ovarian germinal epithelial cells respond to basic fibroblast growth factor and express its gene: implications for early folliculogenesis.*** Endocrinol 1989; 125(3): 1266-76.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]

18- Lee ES, Fuki Y. ***Synergistic effect embryo cultured in a chemically defined medium and amino acid uptake by in vitro-produced bovine morulae and blastocysts***. Biology of Reproduction 1996; 55(6): 1383-89.

19- Gupta PSP, Ravindranatha BM, Nandi S, Sarma PV. ***In vitro maturation of buffalo oocytes with epidermal growth factor and fibroblast growth factor***. Ind J Anim Sci 2002; 72(1): 23-26.

20- Bieser B, Stojkovic M, Wolf E, Meyer H, Einspanier R. ***Growth factors and components for extracellular proteolysis are differentially expressed during in vitro maturation of bovine cumulus-oocyte complexes***. Biol Reprod 1998; 59(4): 801-6.

21- Nilsson E, Parrott JA, Skinner MK. ***Basic fibroblast growth factor induces primordial follicle development and initiates folliculogenesis***. Mol Cell Endocrinol 2001; 175(1-2): 123-30.

22- Tesarik J, Mendoza C. ***Nongenomic effect of 17 beta-estradiol on maturing human oocytes: relationship to oocyte developmental potential.*** Journal of Endocrinol Metabolism 1995; 80: 1443-83.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]

Effect of Basic Fibroblast Growth Factor on in Vitro Maturation of Oocytes of Mouse at the Stage of Germinal Vesicle

Khanbabaee R(PhD)[1], Zaboli N(MSc)[*2], Nemati F(PhD)[3]

[1]*Department of Biology, Islamic Azad University – Qaemshahr Branch, Mazandaran, Iran*
[2,3]*Department of Biology, Islamic Azad University-Qaemshahr, Branch, Mazandaran Iran*

Received: 13 Dec 2013 ***Accepted:*** 22 May 2014

Abstract

Introduction: In vitro maturation (IVM) of oocytes, providing oocytes maturation out of normal conditions, is an appropriate infertility treatment system, though the clinical use of IVM is limited due to low rate of success. Accordingly, this study aimed to analyze the effect of fibroblast growth factor on in vitro maturation of immature oocytes.

Methods: Immature oocytes of 20 female mice of NMRI strain aged 8-10 weeks were obtained 46-48 hours after intraperitoneal injection of 10 units of Pregnant Mare`s Serum Gonadotrophin (PMSG). The oocytes were treated within Modified Essential Medium (MEM-α) supplemented with 0 ng/ml, 10 ng/ml, 20 ng/ml and 40 ng/ml doses of fibroblast growth factor respectively. After 24 hours, Oocyte maturation stage was scrutinized by an invert microscope and its growth rate was analyzed via SPSS software utilizing ANOVA test.

Results: The resumption percentage of meiosis was reported as 23 in the first control group, while it was 25.7, 26.2, 27.3 % respectively for the second, third and fourth experimental groups; thus, no significant differences was observed among control groups and experimental groups. Yet in vitro maturation of the control group, a significant difference was observed compared to those of the second and third experimental groups ($p<0.01$). In fact, the rate of vitro metaphase matured oocytes were reported as 45, 60.8, 62.6 and 45.2 % respectively in the control group and the second, third, and fourth experimental groups.

Conclusion: The obtained results of study illustrated that 10 ng/ml and 20 ng/ml concentrations of fibroblast growth factor have a major impact on resumption of meiosis, nucleus break down and extrusion of the first polar body, whereas the effect of 40 mg/ml concentration on improvement of oocyte maturation was trivial.

Keywords: Fibroblast Growth Factor; In Vitro Fertilization; In Vitro Maturation, Germinal Vesicle

This paper should be cited as:
Khanbabaee R, Zaboli N, Nemati F. ***Effect of basic fibroblast growth factor on in vitro maturation of oocytes of mouse at the stage of germinal vesicle***. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2014; 22(4): 1333-40.

****Corresponding author: Tel: +98 9112202873, Email: Nafis_z67@yahoo.com***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2024-10-12]