

اثر تحریک تخمک گذاری بر روی لانه گزینی و رشد جنین های موش

محمود هاشمی تبار (Ph.D.)**

سام زربخش (M.Sc.)*

مسلم محمدی (M.Sc.)***

فاطمه جوادنیا (Ph.D.)**

چکیده

سابقه و هدف: هدف از انجام این تحقیق ارزیابی تاثیر تحریک تخمک گذاری با گنادوتروپین ها بر میزان لانه گزینی و رشد جنین پس از انتقال بلاستوسیست ها به رحم موش و مقایسه میزان پذیرندگی آندومتر پس از منتقل کردن تعداد متفاوتی بلاستوسیست به هر کدام از شاخ های رحم موش سوری می باشد.

مواد و روش ها: موش های ماده NMRI با سن ۳-۲ ماه به طور تصادفی به دو گروه کنترل و تجربی تقسیم شدند. در هر گروه نیز موش ها به دو گروه دهنده و گیرنده تقسیم بندی شدند. موش های دهنده هر دو گروه و موش های گیرنده گروه تجربی با PMSG/hCG تحریک تخمک گذاری شدند. بلاستوسیست های به دست آمده به صورت ۵ و ۱۰ عدد به طور جداگانه به ترتیب به شاخ های چپ و راست رحم موش های گیرنده حاملگی کاذب تحریک تخمک گذاری شده (گروه تجربی) و تحریک تخمک گذاری نشده (گروه کنترل) منتقل شدند. موش های گیرنده هر دو گروه در روز ۱۴ حاملگی کشته شده و از نظر میزان لانه گزینی و رشد و وزن جنین ها مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته ها: تغییر معنی داری در میزان جنین های رشد یافته در موش های تحریک تخمک گذاری شده (۶/۱ درصد) در مقایسه با موش های گروه کنترل (۷/۳ درصد) مشاهده نشد. میزان جنین های رشد یافته در شاخ چپ رحم (۱۳ درصد) در گروه کنترل و ۱۱/۴ درصد در گروه تجربی) به طور معنی داری بیشتر از شاخ راست (۴/۵ درصد در گروه کنترل و ۳/۵ درصد در گروه تجربی) بود ($P < 0.05$). تعداد جنین های رشد نیافته در گروه تجربی (۱۰/۴ درصد) نسبت به گروه کنترل (۱۲/۳ درصد) و تعداد جنین های رشد نیافته در شاخ راست (۱۴ درصد در گروه کنترل و ۱۱/۴ درصد در گروه تجربی) نسبت به شاخ چپ (۹ درصد در گروه کنترل و ۸/۵ درصد در گروه تجربی) تغییر معنی داری نداشت. هم چنین تغییر معنی داری در میانگین وزن جنین های به دست آمده در گروه تجربی و کنترل دیده نشد.

استنتاج: احتمالاً تحریک تخمک گذاری نمی تواند باعث کاهش میزان لانه گزینی و رشد جنین شود. همچنین در صورت انتقال تعداد زیادی جنین به شاخ رحم، پذیرندگی آندومتر کم شده، میزان لانه گزینی کاهش می یابد.

واژه های کلیدی: لانه گزینی، تحریک تخمک گذاری، انتقال جنین

* کارشناس ارشد علوم تشریحی دانشگاه علوم پزشکی ایران

✉ مؤلف مسئول: تهران- جنت آباد لاله شرقی بین مجاهد و شاهین پلاک ۱۰

E-mail: szarbaksh@yahoo.com

** Ph.D. علوم تشریحی و عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز

*** کارشناس ارشد فیزیولوژی گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...

تاریخ دریافت: ۸۵/۶/۱۲ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۸۵/۱۱/۲۴ تاریخ تصویب: ۸۶/۴/۶

مقدمه

لانه گزینی بلاستوسیت و ایجاد حاملگی موفق نیازمند واکنش متقابل بین جنین و رحم مادر تحت تاثیر گنادوتروپین ها می باشد. گنادوتروپین ها به طور معمول برای تحریک تخمک گذاری در حیوانات و انسان ها جهت افزایش تعداد اووسیت ها و شانس حاملگی بکار می روند. اما با وجود پیشرفت های قابل ملاحظه در تکنیک های باروری، هنوز میزان حاملگی نسبت به جنین هایی که انتقال می یابند، پایین است. به علاوه عوارضی همچون افزایش فشارخون و خونریزی و کاهش وزن نوزادان نیز گزارش شده است (۲،۱). تزریق گنادوتروپین ها باعث افزایش استروئیدها می شود که ممکن است روی کیفیت جنین، لوله رحمی و یا محیط رحم، هم چنین هماهنگی که به طور طبیعی بین جنین و آندومتر در زمان لانه گزینی وجود دارد، تاثیر بگذارد. بنابراین ممکن است ارتباطی بین تحریک تخمدانی به وسیله گنادوتروپین ها و کاهش میزان لانه گزینی وجود داشته باشد (۳). در تحقیقی که آراین منش و همکاران انجام دادند نشان دادند که تجویز روزانه پروژسترون پس از تحریک تخمک گذاری موجب تغییرات مورفولوژیک و فرا ساختاری آندومتر رحم موش در زمان قبل از لانه گزینی می شود که احتمالاً این تغییرات می تواند بر پذیرندگی آندومتر پیش از پروتکل های انتقال جنین تاثیر نامطلوبی داشته باشد (۴). اگر چه نمی توان مطالعاتی که روی حیوانات آزمایشگاهی انجام می شود را به انسان ها تعمیم داد، اما به دلیل شباهت هایی که بین گونه های پستانداران در مراحل اولیه تکامل از نظر مورفولوژی و متابولیسم وجود دارد، ممکن است نتایج این آزمایشات در مورد انسان ها هم کاربرد داشته باشد (۵).

Auwers و همکاران در سال ۲۰۰۱ عوارض جانبی ناشی از تحریک تخمدانی را گزارش کردند. آنها عنوان

کردند تکامل جنین در مرحله پیش از لانه گزینی در اثر تحریک تخمک گذاری باعث می شود کیفیت بلاستوسیت ها و رشد جنین در مراحل بعد از لانه گزینی مختل شود. بررسی تکامل جنین هایی که با تحریک به دست آمده اند، در مراحل بعد از لانه گزینی در موش های ماده با حاملگی کاذب گیرنده ای که تحریک تخمک گذاری نشده بودند، نشان می دهد که پذیرندگی آندومتر کم شده یا دچار کمبود تغذیه در اثر تراکم جنین در رحم شده اند. هم چنین تاخیر رشد شدیدی در مقایسه با جنین هایی که از راه سیکل طبیعی به دست آمده بودند، مشاهده شد (۶).

در سال ۱۹۹۹ نیز auwers و همکاران نشان دادند، تحریک تخمک گذاری اثر منفی روی لانه گزینی جنین ها حتی بعد از انتقال به موش با حاملگی کاذب که هورمون درمانی نشده است، دارد (۷).

Ertzeid و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند که تحریک تخمک گذاری موجب کاهش لانه گزینی جنین ها و نیز کاهش وزن جنین ها می شود (۳). در حالی که Levi و همکاران در همان سال اعلام کردند که تحریک تخمک گذاری اثر زیان آوری بر روی پذیرندگی آندومتر و میزان لانه گزینی ندارد (۸).

بنابراین با توجه به مطالعات انجام شده ضروری به نظر می رسد که تاثیر هورمون های محرک تخمدانی بر روی میزان لانه گزینی مورد ارزیابی بیشتر قرار گیرد. بدین منظور در این تحقیق تاثیر محرک های تخمدانی بر روی میزان لانه گزینی و جنین های جذب شده و وزن جنین ها پس از انتقال بلاستوسیت ها از موش های ماده دهنده تحریک تخمک گذاری شده به موش های با حاملگی کاذب گیرنده تحریک تخمک گذاری نشده و تحریک تخمک گذاری شده مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

نمونه های مورد مطالعه

در این تحقیق از موش های سوری نژاد NMRI (موش های ماده ۲-۳ ماه و نرهای بارور و وازکتومی شده ۱۰-۳ ماه) استفاده شد. حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری شدند و محدودیتی از نظر دسترسی به آب و غذا نداشتند.

تحریک تخمک گذاری در موش های دهنده و گیرنده

برای تحریک تخمگذاری از Pregnant Mare's Serum Gonadotrophin (PMSG) و human Chronic Gonadotrophin (hCG) (هر دو تهیه شده از Sigma) استفاده شد.

موش های ماده به طور تصادفی به دو گروه کنترل و تجربی تقسیم شدند. در هر گروه نیز موش ها به دو گروه دهنده و گیرنده تقسیم بندی شدند. به موش های دهنده هر دو گروه و موش های گیرنده گروه تجربی در ساعت ۱۶، ۱۰ واحد PMSG و پس از ۴۸ ساعت، ۱۰ واحد hCG به صورت داخل صفاقی تزریق شد. موش های دهنده پس از تزریق hCG توسط نرهای بارور، حامله شدند و موش های گیرنده توسط نرهای وازکتومی شده، حامله کاذب گشتند. بامشاهده واژینال پلاگ در صبح روز بعد از جفت گیری، روز اول حاملگی برای موش های دهنده و روز اول حاملگی کاذب برای موش های گیرنده در نظر گرفته شد.

تهیه بلاستوسیست ها

موش های دهنده در روز چهارم به طریقه جابجایی مهره های گردنی کشته شده و پس از در آوردن رحم و جدا کردن سرویکس، با تزریق محلول M2 به داخل شاخ های رحم، آنها را شستشو داده و بلاستوسیست ها

جمع آوری شدند. سپس بلاستوسیست ها به محیط M16 با روغن پارافین منتقل شده و در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفتند.

انتقال جنین

بلاستوسیست های به دست آمده به شاخ های رحم موش های با حاملگی کاذب گیرنده ۴ روزه هر دو گروه کنترل و تجربی انتقال یافتند. به طور خلاصه موش های گیرنده با تزریق داخل صفاقی 0.05 mg/g تیوپنتال سدیم بیهوش شدند. پس از کوتاه کردن موهای ناحیه برآمدگی کمر، در خط پشتی میانی یک شکاف طولی حدود ۱ سانتی متر در پوست ایجاد کرده، سپس یک شکاف عرضی پارالومبار حدود ۵ میلی متر در هر طرف جدار بدن ایجاد شد. بعد از بیرون آوردن شاخ رحم، به وسیله سرننگ انسولین شاخ رحم را سوراخ کرده و از طریق سوراخ ایجاد شده بلاستوسیست ها به وسیله پیپت شیشه ای وارد مجرای رحم شدند سپس شاخ رحم به حفره شکمی برگردانده شد و جدارها و پوست بخیه شدند.

در شاخ راست رحم تمام موش های گیرنده ۱۰ بلاستوسیست و در شاخ چپ ۵ بلاستوسیست منتقل شدند. عمل انتقال ۲۰ مرتبه در گروه کنترل و ۱۴ مرتبه در گروه تجربی انجام گرفت و در مجموع ۳۰۰ بلاستوسیست در گروه کنترل و ۲۱۰ بلاستوسیست در گروه تجربی انتقال یافتند. موش های گیرنده در روز ۱۴ حاملگی کشته شده و پس از سزارین از نظر میزان لانه گزینی و رشد جنین ها در شاخ های رحم و وزن جنین ها مورد بررسی قرار گرفتند.

آنالیز آماری

برای بررسی درصد جنین های لانه گزینی شده رشد

یافته و رشد نیافته (کل و در شاخ‌های راست و چپ) بین و داخل گروه‌ها از آنالیز آماری آزمون نسبت‌ها استفاده شد. از آزمون آماری Independent Sample T-Test برای مقایسه وزن جنین‌ها بین گروه‌ها استفاده شد. اختلاف آماری در سطح $p < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

تمام موش‌های ماده بکار رفته به عنوان دهنده و گیرنده در دو گروه کنترل و تجربی ۲۵-۲۰ گرم وزن داشتند. جنین‌های انتقالی در مرحله بلاستوسیستی برای ارزیابی اثر تحریک تخمدانی روی پذیرندگی رحم و وزن جنین‌ها به کار رفتند و نتایج به دست آمده در دو گروه گیرنده هورمون درمانی نشده و هورمون درمانی شده با هم مقایسه شدند. هم چنین ظرفیت پذیرندگی هر شاخ رحم (با توجه به نامساوی بودن تعداد جنین‌های منتقل شده در هر شاخ) با هم در یک گروه و در دو گروه مقایسه شدند.

بررسی مورفولوژیکی جنین‌های منتقل شده پس از سزارین در روز ۱۴ حاملگی نشان داد که میزان جنین‌های رشد یافته در گروه تجربی (۶/۱ درصد) نسبت به گروه کنترل (۷/۳ درصد) تفاوت معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$) (جدول شماره ۱).

درصد جنین‌های رشد یافته در شاخ راست گروه تجربی (۳/۵ درصد) نسبت به گروه کنترل (۴/۵ درصد) و در شاخ چپ گروه تجربی (۱۱/۴ درصد) نسبت به گروه کنترل (۱۳ درصد) تفاوت معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$) (جدول شماره ۱).

درصد جنین‌های رشد یافته در شاخ راست گروه‌های کنترل و تجربی نسبت به شاخ چپ گروه‌های

کنترل و تجربی تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($P < 0.05$) (جدول شماره ۱).

تعداد کل جنین‌های جذب شده رشد نیافته در گروه تجربی (۱۰/۴ درصد) نسبت به گروه کنترل (۱۲/۳ درصد) تفاوت معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$). جنین‌های جذب شده رشد نیافته در شاخ راست گروه تجربی (۱۱/۴ درصد) نسبت به گروه کنترل (۱۴ درصد) و در شاخ چپ گروه تجربی (۸/۵ درصد) نسبت به گروه کنترل (۹ درصد) نیز تفاوت معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$). همچنین جنین‌های جذب شده رشد نیافته در شاخ راست گروه‌های تجربی و کنترل نسبت به شاخ چپ گروه‌های تجربی و کنترل هم تفاوت معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$) (جدول شماره ۱).

ضمناً تفاوت معنی‌داری در میانگین وزن جنین‌های گروه تجربی (0.39 ± 0.09) نسبت به گروه کنترل (0.45 ± 0.11) دیده نشد ($P > 0.05$) (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۱: مقایسه درصد جنین‌های لانه گزینی شده رشد یافته و رشد نیافته در گروه‌های مورد مطالعه

جنین‌های مورد بزرگنمایی	گروه کنترل n = ۲۰	تجربی n = ۱۴	P مقدار
کل جنین‌های لانه گزینی شده رشد یافته	۲۲ (۷۳)	۱۳ (۶۱)	N.S
کل جنین‌های لانه گزینی شده رشد نیافته	۳۷ (۱۲۳)	۲۲ (۱۰۴)	N.S
جنین‌های رشد یافته در شاخ راست	۹ (۴۵)	۵ (۳۵)	N.S
جنین‌های رشد یافته در شاخ چپ	۱۳ (۱۳)	۸ (۱۱/۴)	N.S
جنین‌های رشد نیافته در شاخ راست*	۲۸ (۱۴)	۱۶ (۱۱/۴)	
جنین‌های رشد نیافته در شاخ چپ*	۹ (۹)	۶ (۸/۵)	

* $p < 0.05$

برای بررسی درصد جنین‌های لانه گزینی شده رشد یافته و رشد نیافته (کل و در شاخ‌های راست و چپ) بین و داخل گروه‌ها از آنالیز آماری آزمون نسبت‌ها استفاده شد. بجز در مورد درصد جنین‌های رشد یافته در شاخ راست و چپ داخل هر گروه، در مورد هیچکدام از نتایج به دست آمده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح $p < 0.05$ مشاهده نشد.

جدول شماره ۲: مقایسه میانگین وزن جنین در گروه های مورد مطالعه

متغیر	گیرنده تحریک تخمک گذاری نشده	گیرنده تحریک تخمک گذاری شده	P Value
میانگین وزن جنین (گرم)	۰/۴۵ ± ۰/۱۱	۰/۳۹ ± ۰/۰۹	NS

بحث

هدف از انجام این مطالعه، ارزیابی اثرات گنادوتروپین ها بر تخریب رشد جنین و یا تغییرات در محیط رحم موش بود.

در این تحقیق، تفاوت معنی داری در اثر تحریک تخمدانی روی رشد جنین یا محیط رحم و کاهش میزان لانه گزینی در گروه تجربی نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد. نتایج به دست آمده در این تحقیق مشابه نتایج Levi و همکاران در سال ۲۰۰۱ مبنی بر بی تاثیر بودن تحریک تخمک گذاری روی پذیرندگی آندومتر و میزان لانه گزینی بود (۸) در حالی که در مطالعات دیگر عنوان شده است تکامل جنین در مرحله پیش از لانه گزینی در اثر تحریک تخمک گذاری باعث می شود کیفیت بلاستوسیت ها و رشد جنین در مراحل بعد از لانه گزینی مختل گردد (۶). این اثرات منفی شامل تخریب کیفیت اووسیت، اثرات نامطلوب محیط رحم (۲۴، ۲۰، ۷)، تخریب پذیرندگی آندومتر رحم (۹) و کمبود تغذیه در اثر تراکم زیاد جنین ها در محیط رحم می باشد (۱۰).

در موش های تحریک شده، ارزیابی تکامل جنین در دوره پیش از لانه گزینی در محیط *in vitro* نشان می دهد که تشکیل بلاستوسیت با تاخیر صورت می گیرد (۱۲، ۶) و بلاستوسیت ها در مقایسه با جنین هایی که در چرخه طبیعی تکامل می یابند، کلاپس می شوند (۶).

تحریک تخمدان باعث می شود بلوغ اووسیت ها به صورت غیر طبیعی رخ دهد و در نتیجه ممکن است تنوع در زمان تخمک گذاری اتفاق بیفتد. تفاوت در تکامل جنین بین موش های ماده تحریک تخمدانی شده

و نشده ممکن است بخاطر اختلاف در زمان تخمک گذاری باشد. اگر چه هر دو گروه همزمان با موش های نر هم قفس می شوند، اما تا ۵ ساعت اختلاف در تخمک گذاری گزارش شده است (۱۱).

تکامل جنین هایی که به صورت تحریک تخمدانی به دست آمده اند به مدت بیش از ۴۶ ساعت در محیط *in vitro* خیلی بهتر از تکامل جنین ها در محیط لوله رحمی تحریک شده می باشد (۱۳، ۷). بنابراین اثر منفی فاکتورهای موجود در محیط لوله رحمی موشی که تحریک تخمک گذاری شده است، مانند غلظت بالای استروئیدها، حتی خیلی بدتر از اثر منفی محیط کشت می باشد. بنابراین تحریک تخمدان، اثر منفی روی لانه گزینی جنین ها دارد حتی بعد از انتقال جنین به موش حامله کاذبی که هورمون درمائی نشده است (۷).

علت عدم تکامل جنین هایی که در اثر تحریک تخمک گذاری به دست آمده اند، ناشناخته است. ناهنجاری های کروموزومی ممکن است به عنوان یکی از علل کاهش زنده ماندن جنین ها در اثر تحریک تخمدانی باشد زیرا مشاهده شده است که ناهنجاری های کروموزومی در جنین ها و اووسیت های رت افزایش یافته است (۱۴). مطالعات بیولوژی مولکولی مدارک تازه ای را از نقش گنادوتروپین ها در کنترل میوز اووسیت در فرآیند اووژنر پستانداران نشان می دهد (۱۵). هم چنین در انسان و موش مدارکی وجود دارد که نشان می دهد، استروئیدها در تنظیم بیان ژنی نقش دارند، حال آن که مورفولوژی و میزان تکامل جنین ها نیز بر یک اساس ژنتیکی استوار می باشد (۱۶، ۲۱، ۲۳).

رابطه بین کیفیت آندومتر با میزان لانه گزینی مؤفق ناشناخته است و مقیاس قابل پذیرشی جهت ارزیابی پذیرندگی آندومتر وجود ندارد. آمادگی آندومتر تحت کنترل هورمون‌های استروئیدی تخمدان است و شواهد نشان می‌دهد که اثرات آنها به واسطه تولید موضعی سیتوکین‌ها است که آنها نیز به نوبه خود باعث فعال شدن هورمون‌ها می‌شوند (۱۷، ۲۰، ۲۲).

به غیر از اثر گنادوتروپین‌ها روی میزان لانه گزینی هم چنین در این تحقیق ظرفیت پذیرندگی رحم با توجه به تعداد بلاستوسیست‌های انتقالی نیز بررسی شد. به این شکل که در شاخ راست تمام موش‌های گیرنده هر دو گروه ۱۰ جنین و در شاخ چپ تمام موش‌های گیرنده ۵ جنین منتقل شد و در شاخ چپ به طور معنی‌داری تعداد لانه گزینی بیشتر از شاخ راست بود در حالی که تعداد جنین‌های منتقل شده در شاخ چپ از شاخ راست کمتر بود. اما تعداد جنین‌های جذب شده در شاخ راست هر دو گروه نسبت به شاخ چپ هر دو گروه تغییر معنی‌داری نشان نداد که این نتایج نشان می‌دهد با افزایش تعداد جنین‌های منتقل شده، رحم افزایش پذیرندگی پیدا نمی‌کند.

Ertzeid و همکاران در سال ۲۰۰۱، بین ۲ تا ۶ جنین را به هر شاخ رحم منتقل کردند و در مجموع در موش‌های با حاملگی کاذب گیرنده گروه هورمون درمانی نشده ۲۵ درصد لانه گزینی و در موش‌های با حاملگی کاذب گیرنده هورمون درمانی شده ۷ درصد لانه گزینی را ذکر کردند. موش‌های گیرنده هر دو گروه کنترل و تحریک تخمدانی شده با حاملگی کاذب ۳ روزه بودند

و جنین‌ها از روز دوم تا چهارم در محیط کشت نگهداری شده بودند (۳).

Auweru و همکاران در همان سال به هر شاخ رحم موش‌های حامله کاذب، ۵ بلاستوسیست منتقل کردند و در گروه تحریک تخمدانی نشده ۳۱ درصد و در گروه تحریک تخمدانی شده ۲۱ درصد لانه گزینی به دست آوردند (۶). Auweru و همکاران همچنین در سال ۱۹۹۹ بین ۷ تا ۱۰ جنین به هر شاخ رحم موش‌های با حاملگی کاذب انتقال دادند و تا ۴۱ درصد لانه گزینی موفق را به دست آوردند (۷). در مطالعه دیگری که توسط Paria و Dye (۱۹۹۳) انجام گرفت بین ۵ تا ۷ بلاستوسیست را به هر شاخ رحم موش‌های حامله کاذب انتقال دادند و ۴۰ درصد لانه گزینی موفق را به دست آوردند (۱۸).

نتیجه گیری

بنابراین با توجه به نتایج به دست آمده در این تحقیق احتمالاً تحریک تخمک گذاری نمی‌تواند باعث کاهش میزان لانه گزینی و نیز تاخیر در رشد جنین شود. همچنین در صورت انتقال تعداد زیادی جنین به شاخ رحم، پذیرندگی آندومتر کم شده و در نتیجه میزان لانه گزینی کاهش می‌یابد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از کلیه اساتید، همکاران، دانشجویان و پرسنل گروه علوم تشریحی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز تشکر و قدردانی می‌شود.

فهرست منابع

1. Mamman E, Lunenfeld E, Levy A. Obstetric outcome of singleton pregnancies conceived by in vitro fertilization and

ovulation induction compared with those conceived spontaneously. *Fertil Steril* 1998; 70: 240- 245.

2. Tanbo T, Dale PO, Lunde O. Obstetric outcome in singleton pregnancies after assisted reproduction. *Obstet Gynecol* 1995; 86: 188-192.
3. Ertzeid G, Storeng R. The impact of ovarian stimulation on implantation and fetal development in mice. *Hum Reprod* 2001; 16(2): 221-25.
4. آراین منش م. صالح نیا م. نیک نفس ب. تاثیر تجویز پروژسترون پس از تحریک تخمک گذاری بر فرا ساختمان آندومتر رحم موش در زمان پیش از لانه گزینی، *یاخته: سال چهارم (شماره ۱۴)*، تابستان ۸۱، ۶۵-۶۱.
5. Brinster RL. Teratogen testing using preimplantation mammalian embryos. In: Shepard TH, Miller JR, Marrois M. *Methods for Detection of Environmental Agents that Produce Congenital Defects*. North Holland Publishing Co., Amsterdam Elsevier Publishing Co. Inc., New York. 1975; 113-123.
6. Auwera V, D'Hooghe T. Superovulation of female mice delays embryonic and fetal development. *Hum Reprod* 2001; 16(6): 1237-1243.
7. Auwera V, Pijnenborg R, Koninckx PR. The influence of invitro culture versus stimulated and untreated oviductal environment on mouse embryo development and implantation. *Hum Reprod* 1999; 14(10): 2570-2574.
8. Levi AJ, Drews MR, Bergh PA, Bradley TM, Scott RT. Controlled ovarian hyperstimulation dose not adversely affect endometrial receptivity in in vitro fertilization cycle. *Fertil Steril* 2001; 76: 670-74.
9. Check JH, O'Shaghnassy A, Lurie D. Evaluation of the mechanism for higher pregnancy rates in donor oocyte recipients by comparison of fresh with frozen embryo transfer pregnancy rates in a shared oocyte program. *Hum Reprod* 1995; 10: 3022-27.
10. Evans MI, Schulman JD, Golden L. Superovulation induction intrauterine growth retardation in mice. *Am J Obstet Gynecol* 1981; 141: 433-35.
11. Allen J, McLaren A. Cleavage rate of mouse eggs from induced and spontaneous ovulation. *J Reprod Fertil* 1971; 27: 137-40.
12. Esmailnejad Moghadam A, Karimpour AA. Effect of Pyruvate, Lactate and Glucose on the pre implantation development of mouse embryos in vitro. *J Mazand Uni Med Sci* 2002; 31: 40-45 (Persian).
13. Aliabadi E, Esmailnejad Moghaddam A, Karimpour A.A Effect of galactose and fructose as replacement of glucose in culture medium on the development of 2-cell mouse embryos in vitro. *J Mazand Uni Med Sci* 2003; 36: 1-8 (Persian).
14. Aliabadi E, Moghaddam A.E, Karimpour A.A. Effect of galactose and fructose as replacement of glucose in culture medium on the development of 2- cell mouse

- embryos in vitro. *J Mazand Uni Med Sci* 2002; 12(36): 1-8.
15. Tain CF, Goh VH, Ng SC. Effect of hyperstimulation with gonadotrophins and age of females on oocyte and their metaphase II status in rats. *Mol Reprod Dev* 2000; 55: 104-108.
16. Picton H, Briggs D, Gosden R. The molecular basis of oocyte growth and development. *Mol Cell Endocrinol* 1998; 145: 27-37.
17. Warner CM, Cao W, Exley GE. Genetic regulation of egg and embryo survival. *Hum Repro* 1998; 13: 178-190.
18. Giudice LC. Potential biochemical markers of uterine receptivity. *Hum Repro* 1999; 14: 3-16.
19. Paria BC, Huet-Hudson YM, Dey SK. Blastocyst's state of activity determines the window of implantation in the receptive mouse uterus. *Development Biol* 1993; 90: 10159-10162.
20. Mehmet Kanter, Cengiz Yildiz, Ismail Meral, Ahmet Koc, Ibrahim Tasal. Effects of a GnRH agonist on oocyte number and maturation in mice superovulated with eCG and hCG. *Theriogenology* 2004; 61: 393-398.
21. Dagmar Zudova, Andrew J. Wyrobek, Jack Bishop and Francesco Marchetti. Impaired fertility in T- stock female mice after superovulation. *Reproduction* 2004; 128: 573-581.
22. Sato A, Otsu E, Ngishi H, Utsunomiya T, Arima T. Aberrant DNA methylation of imprinted loci in superovulated oocytes. *Hum Reprod* 2007; 22(1): 26-35.
23. Pei Su, Joyce C. Wu, Jeffrey R. Sommer, A. Jesse Gore, Robert M. Petters and William L. Miller. Conditional Induction of Ovulation in Mice. 2005; 73: 681-687.
24. Chao HT, Lee SY, Lee HM, Liao TL, Wei YH, Kao SH. Repeated ovarian stimulations induce oxidative damage and mitochondrial DNA mutations in mouse ovaries. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1042: 148-156.