ORIGINAL ARTICLE

Protective Effect of Evening Primrose Seed Oil on Viability and Expression of BMP15 and GDF9 Genes in Cultured Oocytes

Zahra Teimuri Alilehsar[1]
Hanieh Jalali[2]
Elaheh Amini[2]
Mohammad Nabiuni[3]

[1] MSc in Cell and Developmental Biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Karaj, Iran
[2] Assistant Professor, Department of Animal Biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Karaj, Iran
[3] Professor, Department of Cell and Molecular Biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Karaj, Iran

(Received December 28, 2024; Accepted March 15, 2025)

Abstract

Background and purpose: Oocyte culture conditions are critical determinants of the success of in vitro fertilization; therefore, the use of compounds that help preserve oocyte quality in the extracellular environment is essential. Evening primrose seed oil (EPO) is a rich source of potent antioxidants, and its role in modulating cytotoxic reactions has been well documented. The aim of the present study was to investigate the impact of EPO on the quality of oocytes cultured in vitro.

Materials and methods: In this experimental study, 35 female Naval Medical Research Institute (NMRI) mice, aged 5 to 6 weeks, were randomly assigned to five groups. To induce ovulation, the mice were injected with gonadotropin hormones, and 48 hours later, they were euthanized via cervical dislocation. Oocytes were extracted from the ovaries and categorized into the following groups: a control group (no treatment), an MO-treated group, an EPO-treated group, a group treated with a 50:50 (v/v) mixture of EPO and MO, and a group treated with a 25:75 (v/v) mixture of EPO and MO. Oocyte viability was assessed by counting under an inverted microscope. The expression levels of growth differentiation factor 9 (GDF9) and bone morphogenetic protein 15 (BMP15) genes were evaluated using quantitative real-time PCR (qRT-PCR). One-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's post-hoc test was used for statistical analysis.

Results: Under EPO treatment, the oocyte viability rate reached 92.3%, representing the highest value observed among all groups. In the EPO-treated group, BMP15 gene expression increased by 1.88 ± 0.06-fold, while GDF9 gene expression increased by 1.36 ± 0.08-fold compared to the control group. In contrast, in the MO-treated group, BMP15 gene expression decreased to 0.52 ± 0.04-fold, and GDF9 gene expression decreased to 0.60 ± 0.02-fold, relative to the control group.

Conclusion: Based on the results, evening primrose oil (EPO) may enhance oocyte viability and quality in the culture medium by preserving the expression of GDF9 and BMP15 genes.

Keywords: Evening primrose oil, oocyte, GDF9 gene, BMP15 gene

J Mazandaran Univ Med Sci 2025; 35 (244): 42-51 (Persian).

Corresponding Author: Hanieh Jalali - Department of Animal Biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Karaj, Iran. (E-mail: jalali@khu.ac.ir)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-27]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و پنجم شماره ۲۴۴ اردیبهشت سال ۱۴۰۴ (۵۱-۴۲)

اثر محافظتی روغن دانه گیاه گل مغربی بر زنده مانی و بیان ژن های *BMP15* و *GDF9* در تخمک های کشت شده

زهرا تیموری الیله‌سر [۱]
هانیه جلالی [۲]
الهه امینی [۲]
محمد نبیونی [۳]

چکیده

سابقه و هدف: شرایط کشت تخمک عاملی تعیین‌کننده در موفقیت لقاح آزمایشگاهی است؛ لذا استفاده از ترکیباتی که بتوانند کیفیت تخمک در محیط خارج از بدن را حفظ نمایند ضروری به نظر می‌رسد. گل مغربی جزء منابع آنتی‌اکسیدانی قوی است که اثر آن در تعدیل واکنش‌های آسیب‌رسان به سلول اثبات شده است. این مطالعه با هدف، تعیین کیفیت تخمک‌های کشت شده در حضور روغن دانهٔ گل مغربی (Evening primrose seed oil: EPO)، انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۳۵ سر موش سوری ماده نژاد (NMRI) The Naval Medical Research Institute ۵-۶ هفته‌ای به ۵ گروه تقسیم شدند. جهت القاء تخمک‌گذاری به موش‌ها هورمون فحلی تزریق شد و ۴۸ ساعت بعد حیوانات به روش نخاعی کشته شدند. تخمک‌ها از تخمدان استخراج شده و به گروه‌های کنترل (فاقد تیمار)، گروه تیمار با روغن مینرال (Mineral oil: MO)، گروه تیمار با EPO، گروه ۵۰-۵۰ v/v درصد EPO/MO و گروه ۲۵-۵۰ v/v درصد EPO/MO تقسیم شدند. زنده مانی تخمک‌ها با استفاده از شمارش در زیر میکروسکوپ محاسبه شد. جهت بررسی میزان بیان ژن‌های *GDF9* (Growth differentiation factor 9) و *BMP15* (Bone morphogenic factor 15)، از تکنیک real-time PCR استفاده شد. جهت تحلیل آماری داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و تست مکمل توکی استفاده شد.

یافته‌ها: درصد زنده مانی تخمک‌ها پس از تیمار با EPO ۹۲/۳ درصد بود که در مقایسه با تمامی گروه‌ها بالاترین مقدار بود. در گروه تحت تیمار با EPO، بیان ژن *BMP15* به میزان ۱/۸۸±۰/۰۶ و بیان ژن *GDF9* به میزان ۱/۳۶ ± ۰/۰۸ برابر در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت. در مقابل بیان ژن *BMP15* به میزان ۰/۵۲±۰/۰۴ و بیان ژن *GDF9* به میزان ۰/۶±۰/۰۲ در گروه تحت تیمار با MO نسبت به گروه کنترل کاهش یافت.

استنتاج: EPO با حفظ بیان ژن‌های *GDF9* و *BMP15* می‌تواند موجب افزایش زنده مانی و کیفیت تخمک‌ها در محیط کشت شود.

واژه های کلیدی: روغن گل مغربی، تخمک، ژن *GDF9*، ژن *BMP15*

مولف مسئول: هانیه جلالی - کرج، انتهای خیابان شهید بهشتی، دانشگاه خوارزمی **E-mail:** jalali@khu.ac.ir
۱. کارشناسی ارشد، گروه علوم جانوری، دانشکدهٔ علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، کرج، ایران
۲. استادیار، گروه علوم جانوری، دانشکدهٔ علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، کرج، ایران
۳. استاد، گروه علوم سلول و مولکولی، دانشکدهٔ علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، کرج، ایران
تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۰/۸ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۳/۱۰/۱۶ تاریخ تصویب: ۱۴۰۳/۱۲/۲۵

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-27]

مقدمه

لقاح آزمایشگاهی روشی است که برای درمان ناباروری یا مشکلات ژنتیکی و کمک به فرزندآوری استفاده می‌شود(۱). کیفیت تخمک، به عنوان یک عامل محدود کننده کلیدی در باروری زنان، بر لقاح تک اسپرمی، بقای جنین و لانه گزینی اولیه، حفظ بارداری، رشد جنین و حتی بروز بیماری تأثیر می گذارد(۲). تجمع بیش از حد رادیکال‌های آزاد در زمان‌های مختلف زندگی جنین قبل از لانه گزینی، رشد را به خطر می‌اندازد، و مشکلات زیادی در شرایط آزمایشگاهی شناسایی شده‌اند که به این امر کمک می کنند. از جمله این موارد عبارتند از غنی نبودن محیط های کشت، به ویژه خواص آنتی اکسیدانی ضعیف آن ها، مواجهه کوتاه مدت با غلظت بالای اکسیژن، که منجر به تولید رادیکال‌های آزاد اضافی می‌شود و نور، که تولید رادیکال‌های آزاد را تحریک می کند(۳).

سیستم قطره‌گذاری روغن به طور گسترده برای کشت گامت‌ها و جنین های پستانداران استفاده می‌شود. اووسیت‌ها و جنین های پستانداران، معمولا در میکرودراپ زیر پوشش روغنی کاشته می شوند که به حفظ پایداری pH و اسمولاریته در محیط کشت کمک می‌کند. تاثیرات سودمند پوشش روغن شامل حذف مواد چربی دوست جمع‌آوری شده از محیط کشت، به طور مشابه برخی استروئیدها (پروژسترون و استرادیول) در طی بلوغ تخمک، توسط روغن است(۴). در مقابل، استفاده از پوشش روغن، ممکن است تاثیرات نامطلوبی نیز اعمال کند و برای گامت ها و جنین ها به عنوان منبع آلودگی عمل کند. ترکیبات سمی موجود در روغن، ممکن است به محیط کشت منتقل شده و رشد جنین را تحت تاثیر قرار دهد(۵). علاوه بر این، روغن ها از نظر وجود آلدئیدها (پنتانال) و هیدروکربن‌های آروماتیک به وضوح متفاوت هستند. این یافته‌ها نشان می‌دهند که پوشش‌های روغن می‌توانند با انتقال انواع خاصی از ترکیبات، ترکیبات محیط کشت را تغییر دهند(۴).

روغن گل مغربی (*Evening primrose oil*) با نام تجاری EPO، از دانه‌های *Oenothera biennis* استخراج می‌شود و عمدتاً دارای ۲ نوع اسیدچرب امگا۶ شامل، اسیدلینولئیک (۶۰-۸۰درصد) و گاما لینولنیک اسید (۸-۱۴ درصد) است که به عنوان اسیدهای چرب ضروری در نظر گرفته می‌شود و در بدن سنتز نمی‌شوند. اسیدهای چرب ضروری به عنوان ترکیبات ضروری برای سلامت بدن به خصوص در زنان محسوب می‌شوند(۶). اثر بخشی EPO در مدیریت بیماری‌های مختلف نظیر اگزمای آتوپیک، ماستالژی، سندروم پیش از قاعدگی، نوروپاتی دیابتی، مالتیپل اسکلروزیس و آرتریت روماتوئید اثبات شده است. هم‌چنین در طب سنتی روغن گل مغربی جایگاه ویژه ای برای زنان در مدیریت بیماری‌های زنانه در طول زندگی داشته است(۷). علاوه بر موارد ذکر شده، EPO حاوی چندین ترکیب گیاهی با فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی قوی است. دریک مطالعه اثر آنتی‌اکسیدانی روغن گل مغربی تایید شد و با انجام تجزیه و تحلیل GC-MS (Gas Chromatography- Mass Spectrometry)، ۳-سیتوسترول جزء اصلی نمونه گزارش گردید که دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و ضد دیابتی می‌باشد و ممکن است تا حدی مسئول اثرات مشاهده شده برای EPO باشد(۸).

در میان اعضای خانواده BMP (Bone morphogenic factor) فعالیت‌های بیولوژیکی و فیزیولوژیکی *GDF9* (Gowth differentiation factor 9) و *BMP15* (Bone morphogenic factor 15) به طور گسترده مورد تحقیق قرار گرفته است و نقش اساسی هر دو فاکتور، در باروری جنس ماده، در چندین گونه پستاندار شناسایی شده است(۹). مطالعات نشان داده است که سیستم *GDF9* و *BMP15*، از طریق مکانیسم‌های اتوکراین و پاراکراین، رشد، تمایز و عملکرد سلول‌های گرانولوزا و تکا را در طول رشد فولیکولی تنظیم می‌کند و نقش مهمی در رشد تخمک، تخمک گذاری، لقاح و شایستگی جنینی ایفا

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-27]

می‌کند(۱۰). اهمیت *BMP15* و *GDF9*، به‌عنوان نشانگرهای باروری در انسان، مورد توجه گسترده قرار گرفته است؛ چرا که این فاکتورها، در تمایز سلول‌های گرانولوزا و ساختمان تخمدان نقش اساسی ایفا می کنند و بر فولیکولوژنز، مراحل رشد تخمک و کیفیت جنین، نقش قابل توجهی دارند(۱۱).

استفاده از روغن‌های گیاهی اثرات قابل توجهی بر بلوغ تخمک و رشد جنین داشته است؛ برای مثال تجویز روغن دانه ی کتان در زنان متقاضی لقاح آزمایشگاهی موجب بهبود کیفیت تخمک، افزایش نرخ تقسیمات کلیواژ و سرعت تشکیل بلاستوسیست شد(۱۲). هم‌چنین، استفاده از روغن به دست آمده از پوست پرتقال نیز موجب افزایش بلوغ تخمک و بهبود کیفیت جنین در تخمک‌های برگرفته از گاو شد(۱۳). در نتیجه روغن‌های مشتق شده از گیاهان می توانند منابع مناسبی برای بهبود کیفیت تخمک و افزایش راندمان لقاح در آن ها باشند. هرچند در سال‌های اخیر از EPO استفاده‌های درمانی متعددی به‌ویژه در زنان مبتلا به سندرم پیش قاعدگی و یا سندرم تخمدان پلی کیستیک شده است، اما اثر دقیق این روغن بر حیات و عملکرد تخمک مشخص نیست(۱۴). از طرفی با توجه به اثرات آنتی‌اکسیدانی فاحش گزارش شده از این روغن، به نظر می‌رسد این روغن بتواند در کشت تخمک‌ها در شرایط آزمایشگاهی مورد توجه قرار گیرد و از اثرات سوء ناشی از رادیکال‌های آزاد محیط بر تخمک ها بکاهد. لذا در مطالعه‌ی حاضر برای اولین بار، اثر EPO بر زنده مانی و کیفیت تخمک‌های برگرفته از موش سوری نژاد NMRI مورد مطالعه قرار گرفت و بیان ژن‌های *GDF9* و *BMP15* به عنوان دو ژن مهم در تعیین کیفیت تخمک، در تخمک‌های تحت تیمار با EPO تعیین شد و با اثرات روغن MO به عنوان یک روغن متداول در کشت آزمایشگاهی تخمک مورد مقایسه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

طراحی مطالعه

در این مطالعهٔ تجربی، از ۲۵ سر موش سوری ماده نژاد NMRI با محدوده سنی ۵ الی ۶ هفته استفاده شد. حیوانات از مرکز سرم سازی رازی تهیه شده و در شرایط استاندارد محیطی (دمای ۲۲±۲ °C، دورهٔ ۱۲ ساعت روشنایی/تاریکی و آب و خوراک بدون محدودیت)، در محل نگهداری حیوانات در مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه خوارزمی نگهداری شدند. در تمامی مراحل تحقیق اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد (کداخلاق: IR.KHU.REC1401.008) و تمامی ملاحظات اخلاقی از جمله حذف از مطالعه در صورت بروز بد حالی و عوارض در مورد آن ها صورت گرفت. تعداد کل حیوانات مورد نیاز در مطالعه براساس فرمول شماره ی ۱ تعیین شد و حیوانات مورد آزمایش به روش اتفاقی (راندم) به ۵ گروه ۵ تایی تقسیم شدند. جهت تحریک تخمک گذاری بیش از حد، به هر حیوان ۱۰۰ میکرولیتر معادل IU 10 هورمون گنادوتروپین سرم اسب (PMSG) (GONASER، اسپانیا) تزریق شد. به دلیل عدم مشاهده هر گونه مشکل و بی حالی حیوانات تا انتهای مطالعه نگهداری شدند و هیچ حیوانی از گروه حذف نشد. و پس از تحریک تخمک گذاری، تخمدان حیوانات خارج و به محیط کشت منتقل شد.

فرمول شماره ۱: $N = K(\frac{10}{K} + 1)$

N= تعداد کل حیوانات و K= تعداد گروه‌ها

کشت و تیمار تخمک‌ها

بعد از گذشت ۴۸-۴۴ ساعت از تزریق، حیوانات به روش نخاعی کردن کشته شدند. سپس تخمدان‌ها جدا گردید و درون پلیت‌های محتوی محیط کشت DMEM دارای ۱۰درصد سرم جنین گاوی (FBS: سیگما، آمریکا/ DMEM: ایده زیست، ایران) قرار گرفت و سپس به منظور آزادسازی توده سلول‌های کومولوس حاوی تخمک، دایسکت شدند. روغن گل مغربی از شرکت داروسازی گیاه اسانس دکتر سلیمانی (ایران، ۱۱۷۳) تهیه شد. براساس

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-27]

گروه بندی تیمارها شامل، گروه کنترل، گروه تحت تیمار با غلظت ۱۰۰ درصد MO، گروه تحت تیمار با غلظت ۱۰۰ درصد EPO، گروه تحت تیمار ۵۰–۵۰ v/v٪ EPO/MO و گروه تحت تیمار با ۵۰–۲۵ v/v٪ EPO/MO بود و هر گروه شامل تخمک‌های جمع آوری شده از ۵ حیوان بود. تخمک‌های تیمار شده با MO و EPO، به مدت ۱۶ ساعت درون انکوباتور (BINDER، آلمان) قرار داده شدند و سپس تحت بررسی مورفولوژیکی و بیان ژن قرار گرفتند.

بررسی مورفولوژیکی تخمک‌ها و محاسبه درصد زنده‌مانی

پس از گذشت تیمار ۱۶ ساعته نمونه‌ها با EPO و MO، نمونه‌ها از انکوباتور برداشته شده و توسط میکروسکوپ نوری معکوس (محصول مشترک، چین) در بزرگنمایی‌های 100x و x 400 بررسی شدند. با استفاده از دوربین دیجیتالی مخصوص میکروسکوپ، تصویر تخمک‌ها در میدان‌های مختلف هر نمونه ثبت شد. سپس با در اختیار داشتن تصاویر ثبت شده حداقل ۲۵ تخمک شمارش شد. تعداد کل تخمک های هر نمونه و همین‌طور تعداد تخمک‌های زنده و مرده در میدان‌های مختلف شمارش شد و درصد زنده مانی تخمک‌ها در هریک از نمونه‌ها با تقسیم تعداد تخمک های زنده بر تعداد کل تخمک‌های شمارش شده محاسبه شد. هسته‌ی قطعه قطعه شده و غشاء چروکیده از علائم تخمک‌های مرده بود.

تعیین بیان ژن های GDF9 و BMP15 در تخمک‌ها

جهت تعیین بیان ژن‌ها، از تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلیمراز بی درنگ (Real time- PCR) استفاده شد. ابتدا RNA کل تخمک‌ها با استفاده از ترایزول استخراج شد. پس از استخراج و تخلیص RNA، از دستگاه نانودراپ (Thermoscientific، آمریکا) برای سنجش کمیت و کیفیت RNA استخراج شده استفاده شد. با استفاده از آنزیم ترانس کریپتاز معکوس، و طی واکنش رونویسی معکوس، از روی RNA استخراج شده، DNA مکمل یا cDNA سنتز شد. جهت سنتز cDNA از کیت Thermo Scientific RevertAid RT استفاده شد. در این پژوهش، طراحی پرایمرها توسط نرم‌افزار Oligo7 و سنتز پرایمرها توسط شرکت سیناکلون صورت گرفت. پس از سنتز cDNA، این مولکول وارد سیکل‌های real time PCR شد. نتایج Real time-PCR به صورت CT گزارش شد. محاسبه تغییرات نسبی بیان ژن با تعیین ΔΔ CT انجام شد. ژن Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (*GAPDH*) به‌عنوان ژن کنترل داخلی استفاده شد. توالی پرایمرها در جدول شماره ۱ مشاهده می‌شود.

جدول شماره ۱: توالی پرایمر ژن های مورد مطالعه

نام	توالی	اندازه محصول	Tm
BMP15	F: 5'- TCCTTGCTGACGACCCTACAT-3' R: 5'-TACCTCAGGGGATAGCCTTGG-3'	۱۰۰	۶۰
GDF9	F: 5'- TCCCAAACCCAGCAGAAGTC -3' R: 5'- CACCCGGTCCAGGTTAAACA-3'	۱۳۶	۵۹
GAPDH	F: 5'- CTCCCACTCTTCCACCTTCG-3' R: 5'- GCCTCTCTTGCTCAGTGTCG-3'	۱۸۹	۶۰

روش تجزیه و تحلیل آماری داده ها

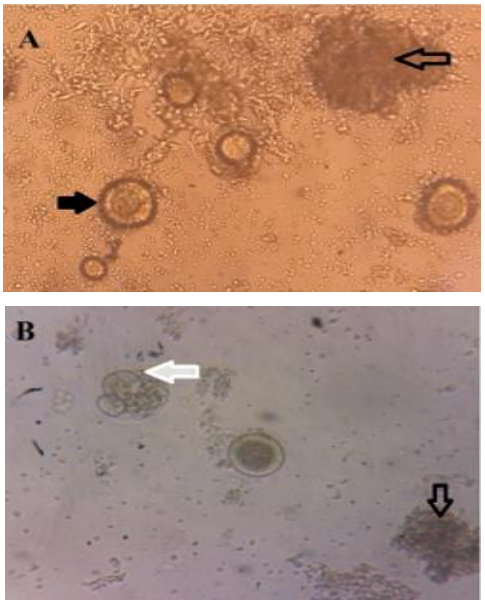
تمامی تست‌ها حداقل سه بار تکرار شد و جهت تحلیل آماری داده‌ها از نرم‌افزار GraphPad Prism 10 استفاده شد. جهت بررسی نرمال بودن داده‌ها (گوسین) از این نرم‌افزار استفاده شد. سطح معنی‌دار بودن اختلافات p کم‌تر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد و داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شد.

یافته‌ها

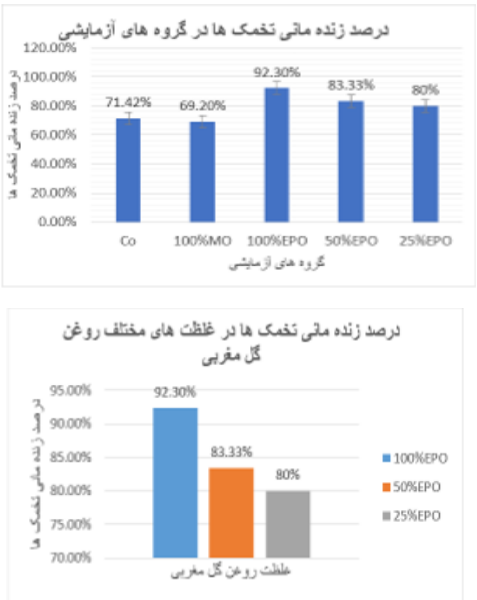
درصد زنده مانی تخمک‌ها

درصد زنده مانی تخمک‌ها در گروه کنترل، ۷۱/۴۲ درصد و درصد زنده مانی تخمک‌ها در گروه MO، ۶۹/۲۰ درصد بود و تفاوت معنی‌دار آماری ما بین آن‌ها مشاهده نشد (P> ۰/۰۵). درصد زنده مانی تخمک‌ها در گروه EPO، ۹۲/۳ درصد در گروه ۵۰ درصد EPO، ۸۳/۳۳ درصد و در گروه ۲۵ درصد EPO، ۸۰ درصد بود. در تمام گروه‌های حاوی EPO میزان زنده مانی تخمک‌ها به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه‌های کنترل و تیمار با MO بالاتر بود (P< ۰/۰۵) (تصاویر شماره ۱ و ۲).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-27]



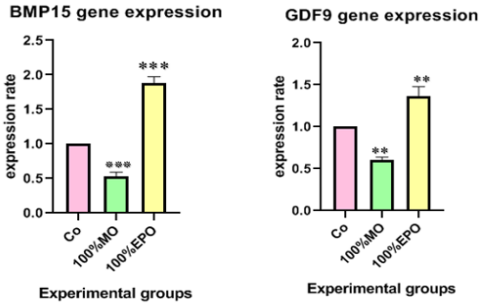
تصویر شماره ۱: مورفولوژی تخمک های جدا شده از تخمدان موش تحت ۱۶ ساعت کشت در شرایط آزمایشگاهی. A: پیکان مشکی توخالی: اجسام گرانولوزا، پیکان مشکی توپر: یک تخمک زنده با هستهٔ مرکزی و ناحیه شفاف در اطراف آن قابل مشاهده است. B: یک تخمک دچار مرگ که با پیکان سفید مشخص شده است و هسته در آن قطعه قطعه شده است. مشاهده در زیر میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ×۱۰۰.



تصویر شماره ۲: مقایسه درصد زنده مانی تخمک‌ها در گروه‌های آزمایشی پس از تیمار ۱۶ ساعته با روغن‌های گل مغربی (EPO) و مینرال اویل (MO) و کنترل (Co). مقدار P-value کم‌تر از ۰/۰۵، از لحاظ آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است.

اثر روغن‌های MO و EPO بر بیان نسبی ژن‌های GDF9 و BMP15

بیان ژن *GDF9* در گروه MO به میزان ۰/۶±۰/۰۲ نسبت به گروه کنترل کاهش یافت که تفاوت معنی‌دار بود (P< ۰/۰۵). هم‌چنین در این گروه، بیان ژن *BMP15* به میزان ۰/۵۲±۰/۰۴ نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشت. در گروه EPO، بیان ژن *GDF9*، در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری افزایش نشان داد (p<۰/۰۵) و ۱/۳۶±۰/۰۸ برابر گروه کنترل بود که تفاوت معنی‌داری بود (P<۰/۰۵). بیان ژن *BMP15* نیز در این گروه با گروه کنترل به طور معنی‌داری تفاوت داشت و به میزان ۰/۰۶ ± ۱/۸۸ افزایش داشت (P<۰/۰۵) (تصویر شماره ۳).



تصویر شماره ۳: میزان بیان ژن *BMP15* و *GDF9* در گروه‌های تخمک تحت تیمار ۱۶ ساعته ۱۰۰ درصد روغن مینرال (EPO)،100 درصد روغن گل مغربی (EPO) و کنترل (Co). مقدار P-value کم‌تر از ۰/۰۵، از لحاظ آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است، ***: p≤ ۰/۰۰۱ ،**: p≤ ۰/۰۱

بحث

در مطالعهٔ حاضر از EPO که طبق گزارش‌های پیشین حاوی ترکیبات گیاهی با فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی قوی است و سرشار از اسید لینولئیک، اسید پالمیتیک، اسید اولئیک و اسید لینولنیک و بسیاری دیگر از اسیدهای چرب غیر اشباع است که جهت بهبود شرایط کشت آزمایشگاهی تخمک استفاده شد(۸، ۱۵). نتایج نشان داد تیمار ۱۶ ساعته تخمک‌های موش سوری

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-27]

نـژاد NMRI بـا ۱۰۰درصـد EPO، در شـرایط کشـت آزمایشگاهی، باعث افزایش قابل توجهی در درصد زنده مـانی تخمـک‌هـا و بهبـود مورفولـوژی تخمـک شـد و هم‌چنین بیان ژن‌های *GDF9* و *BMP15* که نشـانگرهای کیفیت تخمک هستند، افزایش یافت.

هرچند در مطالعـه حاضـر فعالیـت آنتـی‌اکسـیدانی روغن گل مغربی مورد بررسی قرار نگرفت اما مطالعات متعددی روغن گل مغربی را به عنوان یک منبع ارزشمند ترکیات آنتی‌اکسیدان گزارش کرده‌اند. در یک مطالعـه Dina M. khodeer و همکاران نشان دادند که به روشی وابسته به دوز، پیش درمانی با EPO با پیشرفت‌هـای قابـل توجهی در همه پارامترهای بیوشیمیایی و بهبود قابل توجه تغییرات هیستوپاتولوژیک و قطعه قطعـه شـدن DNA در موش‌های مسموم با CP (*Cyclophosphamide*) همراه بود و پیش درمانی با EPO اثـرات آنتـی‌اکسـیدانی، ضـد التهابی و حفاظت ژنی قابل توجهی در برابر اثرات سـمی CP در بافت های کبدی و پانکراس مـوش نشـان داد(۸). در مطالعه‌ای دیگر که با هدف بررسی تـاثیر روغـن گـل مغربی در کـاهش عـوارض دیابـت نـوع۲ انجـام شـد، Safaahussainو همکاران نشان دادند افزودن روغن گل مغربی به متفورمین در بیماران مبتلا بـه دیابـت نـوع دوم کاهش قابل توجهی در غلظت مالون دی آلدهید و TNF-α سرم در مقایسه با بیمارانی که تنها با متفـورمین درمـان می شوند ایجاد کرده است، به این معنی که روغـن گـل مغربی ممکن است اثـر آنتـی اکسـیدانی و ضـد التهـابی امیدوار کننده در این بیمـاران داشـته باشـد(۱۶). Asima Azam و همکاران تاثیر اسید چرب اشـباع نشـده امگـا ۳ (*PUFA: Polyunsaturated fatty acid*) و آلفـا-لینولنیک اسـید (*ALA: Alpha Linolenic Acid*) را بـر بلوغ آزمایشگاهی تخمک های گاومیش و رشد جنینـی بررسی کردند و نشان دادند که ۱۰۰ میکرومولار مکمـل آلفا-لینولنیک اسید به محیط بلوغ آزمایشگاهی، سرعت بلوغ هسته‌ای تخمک‌های گاومیش و رشد جنینی اولیه را بهبود می‌بخشد(۱۷). با توجه به چنین گزارش‌ها می‌تـوان اثرات محافظتی روغن گل مغربی بر تخمک‌های کشـت شده در مطالعه ی حاضر را به ترکیبات آنتی‌اکسـیدانی و هم‌چنین حضور اسیدهای چربی نظیر لینولنیک اسید کـه جزو ترکیبات غالـب ایـن روغـن اسـت مـرتبط دانسـت. مطالعات مختلفی، بهبود شرایط کشت و کیفیت تخمک را تحت تاثیر افزودن مـواد مختلـف آنتـی‌اکسـیدانی بـه محیط کشت تخمک، تایید کرده‌انـد. در یـک مطالعـه، Won-Jae Kim و همکاران او نشان دادنـد کـه افـزودن هسپرتین که یک فلاونوئید با خـواص آنتـی‌اکسـیدانی و ضد التهابی است به محیط کشت تخمک‌هـای خـوک، کیفیت تخمک‌ها را با کاهش سطح رادیکال‌های آزاد و محافظت از آن‌ها در برابـر اسـترس اکسـیداتیو در طـول پیری در شرایط آزمایشـگاهی بهبـود مـی‌بخشـد(۱۸). در مطالعه‌ای دیگر، Hui-Yan Xu و همکاران او نشان دادند کـه افـزودن اسـتیل-ال-کـارنیتین (*ALC: Acetyl L Carnitine*) به محیط کشت تخمک‌های گـاومیش، بـر عملکرد میتوکندری تاثیر می‌گـذارد، عوامـل پـاراکرین مشتق از تخمک را تنظیم می‌کند و تولید هورمـون‌هـای استروئیدی را افزایش می‌دهد که منجر به افزایش کیفیت تخمک‌های بالغ و بهبود رشد جنین در شرایط آزمایشگاه می شود(۱۹). هم‌چنین Yang و همکاران او نشـان دادنـد که تیمـار تخمـک‌هـای خـوک بـا ملاتـونین، کیفیـت و تکوین آزمایشگاهی تخمک‌ها را بهبـود مـی‌بخشـد کـه ممکن است به مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد آپوپتوز مـرتبط باشـد(۲۰). Izadi و همکـاران نیـز بـا بررسـی اثـر متابولیت‌های مشتق از جلبک کلـرولا نشـان دادنـد ایـن متابولیت‌ها به دلیل اثرات آنتی‌اکسـیدانی موجـب حفـظ کیفیـت تخمـک‌هـا در شـرایط کشـت آمایشـگاهی می‌شوند(۲۱). مطالعه حاضر بـا مطالعـات قبلـی در مـورد اهمیـت مکمـل‌سـازی محـیط کشـت تخمـک‌هـا بـا آنتی‌اکسیدان‌ها برای بهبود کیفیت تخمک مطابقت داشته و بیانگر اهمیت آنتی‌اکسیدان‌ها در پیشبرد بلوغ تخمـک در شـرایط آزمایشـگاهی اسـت. نتـایج مطالعـه حاضـر هم‌چنین بـا نتیجـه مطالعـه Sohrabi و همکـاران کـه اثـر

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-27]

استفاده از این روغن در زنان نابارور متقاضی استفاده از روش لقاح آزمایشگاهی بودند مطابقت دارد. مطالعه آن‌ها نشان داد استفاده از این روغن موجب افزایش نرخ حاملگی در این زنان شد(۲۲). *BMP15* و *GDF9*، دو پروتئین از خانواده‌ی TGF-β هستند که به عنوان عوامل پاراکرین ترشح شده توسط تخمک در نظر گرفته می‌شوند و در داخل تخمدان در عملکرد سلول‌های گرانولوزا و کومولوس هم جوار تخمک برای تنظیم فولیکولوژنز و باروری نقش دارند(۲۳). هیچ یک از مطالعاتی که تا به امروز بر روی اثرات روغن گل مغربی انجام شده بر اثر این ماده بر بیان این دو ژن در تخمک‌ها اشاره‌ای نداشتند و نتایج مطالعه حاضر برای اولین بار نشان داد که تیمار تخمک‌های موش سوری نژاد NMRI، با ۱۰۰درصد EPO، باعث افزایش قابل توجهی در بیان *GDF9* و *BMP15* شد. در حالی که تیمار تخمک‌ها با ۱۰۰درصد MO که به طور عمده به محیط کشت تخمک‌ها افزوده می‌شود، باعث کاهش قابل توجه بیان ژن‌های مذکور گردید. این نتیجه در راستای نتیجه‌ی حاصل از بررسی زنده مانی بر اثر حفاتی این روغن بر تخمک‌های کشت شده در شرایط آزمایشگاهی تأکید می‌کند؛ زیرا مطالعات متعددی نشان دهنده نقش اساسی این ژن‌ها در رشد تخمک و باروری آن می‌باشند. در یک مطالعه، Yi Li و همکاران او نشان دادند که سطح بیان mRNA های *GDF9* و *BMP15* با بلوغ تخمک، لقاح، کیفیت جنین و نتیجه بارداری ارتباط نزدیکی دارد، بنابراین mRNA های *GDF9* و *BMP15* در سلول‌های کومولوس و گرانولوزا ممکن است به عنوان نشانگرهای مولکولی جدید برای پیش بینی پتانسیل رشد تخمک در نظر گرفته شوند(۲۴). در مطالعه‌ای، Funda Gode و همکاران او نشان دادند که افزایش سطح فرم بالغ *GDF9* در مایع فولیکولی، به طور قابل توجهی با بلوغ هسته ای تخمک ها و کیفیت جنین ارتباط دارد(۲۵). هم‌چنین، Yan Gong و همکاران او نشان دادند که بیان ژن های *GDF9* و *BMP15* در پاسخ‌دهندگان ضعیف تخمدان، بویژه افراد بالای ۴۰ سال، به موازات افزایش سن و همراه با کیفیت پایین‌تر تخمک و نتیجه IVF، کاهش می‌یابد؛ در حالی که نسبت سطوح mRNAی *GDF9/BMP15* نسبتا ثابت باقی می‌ماند(۲۶). Desislava Abadjieva و همکاران، به منظور بررسی تاثیر عوامل خارجی بر بیان ژن‌های *GDF9* و *BMP15*، اثر گیاه آفرودیزیاک *Tribulus terrestris* را بر بیان این ژن‌ها در تخمک‌ها و سلول‌های کومولوس در سطوح mRNA و پروتئین در طول فولیکولوژنز در دو نسل از خرگوش‌های ماده ارزیابی کردند و نشان دادند که T. terrestris، بیان *GDF9* و *BMP15* را در تخمدان خرگوش‌های مادر و فرزندان ماده F1 (first filial generation) تغییر می‌دهد(۲۷). نتایج مطالعات هم راستا با نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که سطوح بیان ژن‌های *BMP15* و *GDF9*، با کیفیت تخمک و زنده مانی آن ارتباط مستقیم دارد و تحت تاثیر عوامل خارجی می‌تواند تغییر کند.

با توجه به داده‌های پژوهش حاضر، استفاده از روغن گل مغربی موجب کاهش مرگ سلولی در تخمک های کشت شده در شرایط آزمایشگاهی شده و همچنین موجب حفظ بیان ژن‌های *GDF9* و *BMP15* در تخمک‌های جداسازی شده از تخمدان موش سوری نژاد NMRI، شد. این یافته ها نقش محافظتی روغن دانه‌ی گل مغربی بر تخمک‌ها را برجسته می کند. اگر چه این پژوهش در سطح آزمایشگاهی و بر روی نمونه تخمک موش صورت گرفته است، یافته‌های آن جهت تایید به‌کارگیری روغن گل مغربی یا ترکیبات موثره موجود در آن نیاز به بررسی میزان بلوغ تخمک های انسانی در شرایط آزمایشگاهی و تایید بیش‌تر در شرایط درون تنی دارد.

سپاسگزاری

از معاونت پژوهشی دانشگاه خوارزمی جهت حمایت‌های لازم نهایت تشکر را داریم.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-27]

References

1. Sujata PN, Madiwalar SM, Aparanji VM. Machine Learning Techniques to Improve the Success Rate in In-Vitro Fertilization (IVF) Procedure. IOP Conf Ser Mater Sci Eng 2020;925(1):012039.
2. Homer HA. The role of oocyte quality in explaining "unexplained" infertility. Semin Reprod Med 2020;38(1):21-28 PMID: 33232987.
3. Hardy MLM, Day ML, Morris MB. Redox regulation and oxidative stress in mammalian oocytes and embryos developed in vivo and in vitro. Int J Environ Res Public Health 2021;18(21):11374 PMID: 34769890.
4. Scarica C, Monaco A, Borini A, Pontemezzo E, Bonanni V, De Santis L, etal. Use of mineral oil in IVF culture systems: physico-chemical aspects, management, and safety. J Assist Reprod Genet 2022;39(4):883-892.
5. Louanjli N, Al-ibraheemi A, Zarqaoui M, Ennaji M, Senhaji WR, Santwani RS. Mineral Oil Covering on Early Human Embryo Culture: Comparative Analysis of Oil Embryo Culture Incubation. J Fertil Vitr IVF Worldw Reprod Med Genet Stem Cell Biol 2021;9(2).
6. Farag MA, Reda A, Nabil M, Elimam DM, Zayed A. Evening primrose oil: a comprehensive review of its bioactives, extraction, analysis, oil quality, therapeutic merits, and safety. Food Funct 2023;14(18):8049-8070 PMID: 37614101 .
7. Sharifi M, Nourani N, Sanaie S, Hamedeyazdan S. The effect of Oenothera biennis (Evening primrose) oil on inflammatory diseases: a systematic review of clinical trials. BMC Complement Med Ther 2024;24(1):89 PMID: 38360611 .
8. Khodeer DM, Mehanna ET, Abushouk AI, Abdel-Daim MM. Protective effects of evening primrose oil against cyclophosphamide-induced biochemical, histopathological, and genotoxic alterations in mice. Pathogens 2020;9(2):98 PMID: 32033362.
9. Swinerd GW, Alhussini AA, Sczelecki S, Heath D, Mueller TD, McNatty KP, etal. Molecular forms of BMP15 and GDF9 in mammalian species that differ in litter size. Sci Rep 2023;13(1):22428 PMID: 38104237 .
10. Liu M, Zhang K, Xu T. The role of BMP15 and GDF9 in the pathogenesis of primary ovarian insufficiency. Hum Fertil 2021;24(5):325-332 PMID: 31607184 .
11. Hassan MF, Abdulhameed WA. Serum Follicular Fluid Growth Differentiation Factor 9 (GDF-9) and Bone Morphogenic Protein 15 (BMP-15) as Markers of Ovarian Reserve. Al-Anbar Med J 2024;20(1):25-30.
12. Chu Q, Yu Y, Zhang J, Zhang Y, Yu J. Effects of flaxseed oil supplementation on metaphase II oocyte rates in IVF cycles with decreased ovarian reserve: a randomized controlled trial. Front Endocrinol 2024;15:1280760 PMID: 38469148.
13. DE Aquino LVC, De Oliveira Santos MV, De Oliveira LRM, Moura YBF, do Nascimento TL, Bertini LM, etal. Antioxidant effects of Citrus sinensis peel essential oil in a bovine oocyte model. Livest Sci 2023;276:105324.
14. Budani MC, Tiboni GM. Nutrition, female fertility and in vitro fertilization outcomes. Reprod Toxicol. 2023;118:108370.
15. Xu J, Zhang Y, Li S, Yang C, Lu Y. Analysis of Physicochemical Properties and

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-27]

Antioxidant Capacity of Evening Primrose Oil during Refining. Front Soc, Sci Technol. 2021;3(4):46-51.

16. SafaaHussain M, Abdulridha MK, Khudhair MS. Anti-inflammatory, anti-oxidant, and vasodilating effect of evening primrose oil in type 2 diabetic patients. Int J Pharm Sci Rev Res 2016;39(2):173-178.
17. Azam A, Shahzad Q, Qadeer S, Ejaz R, Fouladi-Nashta AA, Khalid M, etal. Supplementing α-Linolenic acid in the in vitro maturation media improves nuclear maturation rate of oocytes and early embryonic development in the Nili Ravi buffalo. Anim Reprod 2017;14(4):1161-1169.
18. Kim W, Lee S, Park Y, Jeong S, Kim E, Park S. Antioxidant hesperetin improves the quality of porcine oocytes during aging in vitro. Mol Reprod Dev 2019;86(1):32-41.
19. Xu HY, Yang XG, Lu SS, Liang XW, Lu YQ, Zhang M, etal. Treatment with acetyl-l-carnitine during in vitro maturation of buffalo oocytes improves oocyte quality and subsequent embryonic development. Theriogenology 2018;118:80-89 PMID: 29885644 .
20. Yang L, Wang Q, Cui M, Li Q, Mu S, Zhao Z. Effect of melatonin on the in vitro maturation of porcine oocytes, development of parthenogenetically activated embryos, and expression of genes related to the oocyte developmental capability. Animals 2020;10(2):209 PMID: 32012669 .
21. Izadi Z, Jalali H, Safavi M. Protective activity of Chlorella vulgaris microalgae extract on the in vitro cultured oocytes. Iran J Fish Sci 2024;23(4):589-602.
22. Sohrabi N, Fattahi A, Oghbaei F, Hamdi K, Farshbaf-Khalili A, Shahnazi M. The efficacy of evening primrose seed oil supplements on ART outcomes: A triple-blinded randomized placebo-controlled clinical trial. Adv Integr Med 2024;11(3):175-180.
23. Liu M na, Zhang K, Xu T min. The role of BMP15 and GDF9 in the pathogenesis of primary ovarian insufficiency. Hum Fertil 2021;24(5):325-332 PMID: 31607184.
24. Li Y, Li RQ, Ou SB, Zhang NF, Ren L, Wei LN, etal. Increased GDF9 and BMP15 mRNA levels in cumulus granulosa cells correlate with oocyte maturation, fertilization, and embryo quality in humans. Reprod Biol Endocrinol 2014;12:81 PMID: 25139161 .
25. Gode F, Gulekli B, Dogan E, Korhan P, Dogan S, Bige O, etal. Influence of follicular fluid GDF9 and BMP15 on embryo quality. Fertil Steril 2011;95(7):2274-2278.
26. Gong Y, Li-Ling J, Xiong D, Wei J, Zhong T, Tan H. Age-related decline in the expression of GDF9 and BMP15 genes in follicle fluid and granulosa cells derived from poor ovarian responders. J Ovarian Res 2021;14(1):1 PMID: 33397408.
27. Abadjieva D, Kistanova E. Tribulus terrestris alters the expression of growth differentiation factor 9 and bone morphogenetic protein 15 in rabbit ovaries of mothers and F1 female offspring. PLoS One 2016;11(2):e0150400 PMID: 26928288 .

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-27]