پژوهش در پزشکی (مجله پژوهشی دانشکده پزشکی)
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید بهشتی
سال ۱۹، شماره‌های ۳ و ۴، صفحه ۶۱ (مهر-اسفند ۱۳۷۴)

اثر مایع فولیکولرانسان بر رشد و تکامل جنینهای اولیه موش در محیط آزمایشگاه

دکتر عباسعلی کریمپور*، دکتر احمد حسینی**، دکتر مجتبی رضازاده***

خلاصه

از آنجا که در جریان مکش (آسپیراسیون) اووسیت و گرفتن آن برای لقاح خارج رحمی (in vitro fertilization) همواره مقداری مایع فولیکولر(FF) محبوس در بین سلولهای کومولوس اطراف اووسیت با آن همراه می‌شود، بر آن شدیم که تاثیر این مایع را بر کلیواژ و رشد و تکامل جنینهای موش در محیط آزمایشگاه مورد بررسی قرار دهیم. بدین منظور طی ۷۲ ساعت کشت جنینهای دو سلولی موش در محیطهای زیر انجام شد و رشد و تکامل آنها تا مرحله بلاستوسیت و هچینگ (پاره شدن زونا) مورد مطالعه قرار گرفت :

مدیوم Ham, S F10 + ۱۰٪ سرم آلبومینارانسان(گروه شاهد)؛ مایع فولیکولر خالص حرارت دیده(Heat treatmented pure FF= HF100)؛ مدیوم هامز مخلوط شده‌با۱۰، ۲۵ و ۵۰ درصد مایع فولیکولرحرارت‌دیده(HF50,HF25,HF10) مایع فولیکولر خالص حرارت ندیده(Untreated or fresh FF=NF100)و هامز مخلوط شده با ۱۰ درصد مایع فولیکولر حرارت ندیده (NF10).

* فوق لیسانس بافت شناسی و رزیدنت ph.D جنین‌شناسی دانشگاه تربیت مدرس تهران

** عضو هیئت علمی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهیدبهشتی

*** عضو هیئت علمی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس

در ساعت چهل و هشتم کشت آزمایشگاهی، ۵۸/۶ درصد از جنینهای دو یاخته‌ای در HF100 به مرحله بلاستوسیست رسیدند. این نسبت برای HF50، HF25، HF10 و هامز + سرم به ترتیب ۴۸/۰، ۳۷/۶، ۴۰/۳ و ۲۸/۶ درصد بود که درصد بلاستوسیستهای HF100 و HF50 به طور معنی‌داری از هامز+ سرم بیشتر بود (P<۰/۰۵). ۲۴ ساعت بعد یعنی در ساعت ۷۲ کشت آزمایشگاهی، درصد بلاستوسیست درHF100, HF50, HF25، HF10 و هامز+ سرم به ترتیب ۸۶/۱، ۷۷/۲، ۷۵/۰، ۷۰/۳، ۷۱/۶ بود که در مقایسه، فقط اختلاف موجود بین درصد بلاستوسیست در HF100 با سایر محیطهای مورد آزمایش از جمله هامز+ سرم معنی‌دار بود(P<۰/۰۵).

در مقابل، تقریبا تمام جنینهایی که در NF100 کشت داده شده بودند پس از ۲۴ ساعت از بین رفتند. و از جنینهای کشت داده شده در NF10 حدود ۴۴/۱ درصد در ساعت ۷۲ بلاستوسیست رسیدند که به طور معنی‌داری کمتر از درصد آن در هامز + سرم و نیز سایر محیطهای مورد تجربه بود(P<۰/۰۵). این نتایج نشان می‌دهند که مایع فولیکولر انسان به صورت تازه بر رشد و تکامل جنینهای اولیه اثر نامطلوبی دارد اما اگر به روش متداول در آزمایشگاههای IVF حرارت داده شود، (Treatment heat) نه تنها می‌تواند امکان رشد و تکامل جنینهای اولیه را تا مرحله بلاستوسیست و هچینگ فراهم آورد که دارای اثرات امبریوتروفیک نیز می‌باشد.

مقدمه

مایع فولیکولر یکی از اجزای مهم فولیکولهای پری‌اوولاتوری است که با ایجاد محیط میکرو (microenvironment) برای اووسیت در رشد و بلوغ سیتوپلاسمی و هسته‌ای آن نقش مهمی دارد (۱۱، ۱۸، ۲۶ و ۲۸). طی فرایند تخمک‌گذاری (اوولاسیون) حجم قابل توجهی از مایع فولیکولر از فولیکول به سطح تخمدان تراوش می‌کند که در نهایت بخشی از این مایع به هنگام آسپیراسیون اووسیت توسط فیمبریا، همراه با آن و نیز به صورت محبوس در بین یاخته‌های کومولوس وارد آمپولای لوله رحمی می‌شود (۱). به این ترتیب این تصور که مایع فولیکولر با شرکت در ایجاد میکرو محیط فیزیولوژیک در آمپولا، در فرایند لقاح و نیز کلیواژ اولیه سلول تخم تاثیر می‌گذارد، دور از ذهن و غیرمنطقی نخواهد بود. گر چه تاثیرات مایع فولیکولر گونه‌هایی از پستانداران بر جنبه‌های متفاوت لقاح از جمله کاپاسیتاسیون (capacitation) اسپرم‌ها، تشدید فعالیت آنها، قدرت نفوذ اسپرم‌ها و واکنش آکروزومی در آنها مورد تحقیقات گسترده‌ای قرار گرفته است(۱-۹)، لیکن از تاثیرات این مایع بر کلیواژ جنین اولیه و رشد و تکامل آن اطلاعات اندکی وجود دارد. در مطالعه حاضر، اثرات مایع فولیکولر انسان بر رشد و تکامل جنینهای دو سلولی موش در محیط آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به متداول شدن روش ET - IVF برای درمان نازایی در کشور، اهمیت این موضوع بیشتر روشن می‌شود.

مواد و روشها

تهیه مایع فولیکولر و آماده کردن آن. از ۲۵ بانویی که به منظور درمان نازایی به روش IVF-ET در موسسه رویان مورد آسپیراسیون فولیکولر قرار گرفته بودند، نمونه‌های FF تهیه شد. تحریک رشد فولیکولها درتخمدان با استفاده از HMG (Human menopausal gonadotropins)، پیامد تجویز GnRH - a (gonadotropin-releasing hormone agonist) انجام پذیرفت. فقط نمونه‌هایی مورد استفاده قرار می‌گرفتند که حاوی یک اووسیت بالغ و سالم بودند، و از نمونه‌های بدون اووسیت، حاوی بیش از یک اووسیت یا دارای اووسیت نابالغ و نیز نمونه‌هایی که به طور محسوسی آغشته به خون بودند، استفاده نشد. تمامی نمونه‌ها بلافاصله بعد از جدا کردن اووسیت، به مدت ۲۰ دقیقه و با دور g × ۲۰۰۰ سانتریفیوژ می‌شدند؛ سپس بخشی از مایع فولیکولر سانتریفیوژ شده را در بن‌ماری با دمای ۵۶ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه حرارت داده و تا زمان استفاده از آن حداکثر دو هفته در دمای ۴ درجه یخچال نگهداری می‌شد. قسمت دوم نمونه سانتریفیوژ شده، بدون حرارت دیدن، به فریزر، با دمای ۲۰- درجه سانتیگراد انتقال یافته و تا زمان استفاده (حداکثر دو هفته) در آن شرایط نگهداری می‌شد.

مدیوم

مدیوم Ham's F10 به شکل پودر تهیه شده و با استفاده از آب آنالار، محلول استوك آن تهیه می‌گردید. لاکتات کلسیم، پنی‌سیلین G (سدیم دار)، استرپتومایسین (سولفات دار) و بیکربنات سدیم ترکیبات اضافی بودند که به محلول هامز افزوده می‌شدند. پس از تهیه محلول کاری (working solution) و اندازه‌گیری و تنظیم فشار اسمزی آن در محدوده ۲۸۰الی ۲۸۵ mosm به کمک یک اسمومتر، به منظور استریل کردن، آن را از فیلتر میلی پر ۰/۲۲ میکرومتری عبور داده، سپس در فلاسک های پلاستیکی فالکون یک بار مصرف، تا زمان استفاده (حداکثر یک ماه) در یخچال نگهداری می‌شد. فلاش کردن اویداکت ها و گردآوری جنین‌های دو سلولی با استفاده از محلول PBS (phosphate-buffered saline) انجام می گرفت.

گرفتن جنینها

برای گرفتن جنین از موش‌های راندم برد (random - bred) سفید سوئیسی (Swiss white mice) که ۴ الی ۸ هفته از عمرشان می‌گذشت، استفاده شد. به منظور تحریک تخمدان‌ها، جهت رشد فولیکولها و تخمک‌گذاری ۵ واحد بین‌المللی(IU) هورمون PMSG (Serum gonadotropins pregnant mare) و ۴۸ ساعت بعد ۵ واحد HCG (Human chorionic gonadotropins) به روش درون صفاقی به حیوانات تزریق می شد. پس از تزریق HCG حیوان ماده با یک موش نر بالغ در قفس گذاشته شد. صبح روز بعد به منظور اطمینان از جفت گیری، موش ماده مورد معاینه پلاك واژنی قرارگرفت و از حیوان نر جدا شد. ۴۸ الی ۵۰ ساعت بعداز تزریق HCG، حیوانات ماده ای که پلاك واژنی مثبت داشتند را با قطع نخاع گردن کشتند و اویداکت های آنها به قطرات PBS پوشیده شده از روغن پارافین، که از شب قبل در ظروف کشت پلاستیکی فالکون یک بار مصرف گذاشته شده بودند، انتقال می‌یافتند. با استفاده از سوزن فلاشینگ g-۳۰ متصل شده به یک سرنگ انسولین محتوی PBS استریل و متعادل شده در انکوباتور (equiliberated PBS) و در زیر استریومیکروسکوپ اویداکتها فلاش می‌شدند تا جنینها خارج شدند. جنینهای

دو سلولی سالم بااستفاده از یک میکروپیپت دهانی در یک قطره تمیز PBS جمع شده و سپس به طور تصادفی به گروههای مساوی (۱۵ الی ۲۰ جنین) تقسیم می شدند. هر گروه از جنین ها پس از شستشو در دو قطره تمیز از محیطهای مورد آزمایش (هامز+ سرم و گروههای FF)، جهت کشت به قطره نهایی مربوطه انتقال داده می‌شدند.

کشت جنینها و گروههای مورد آزمایش

جنینها در قطرانی از محیطهای مورد آزمایش به حجم تقریبی ۵۰ میکرولیتر و در انکوباتوری با هوای مرطوب و دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و فشار CO2 معادل ۵ درصد کشت داده می شدند. قطرات مزبور با استفاده از یک سرنگ متصل به فیلتر میلی پر ۰/۲۲ میکرومتر- یک بارمصرف- در ظروف کشت پلاستیکی یک بار مصرف (disposible falcon petri dishes) گذاشته شده و روی آنها با روغن پارافین استریل پوشیده می شد. شایان گفتن است که این روغن ضمن کاهش احتمال آلودگی محیطهای کشت با جلوگیری از تبخیر، به ثبات فشار اسمزی قطرات نیز کمک می کند. ظروف محتوی محیطها حدود ۲۴ ساعت قبل از استفاده، در انکوباتور قرار می گرفتند تا محیط ها کاملا متناسب با شرایط داخل انکوباتور متعادل شوند. در این پژوهش از مدیوم Ham,s F10 + ۱۰٪ سرم آلبومینار انسان به عنوان گروه کنترل استفاده شد و مایع فولیکولر به دو صورت حرارت ندیده (Non heat inactivated FF=NF) و یا حرارت دیده (Heat inactivated FF= HF) و هریک به شکل خالص و یا به صورت مخلوط باهامز، به نسبتهای مختلف، مورد استفاده قرار گرفت . به این ترتیب محیطهای درست شده با مایع فولیکولر به منظور تحقیق اثر آن بر رشد و تکامل جنینها عبارت بودند از: مایع فولیکولر حرارت دیده خالص (HF100)؛ مایع فولیکولر حرارت دیده مخلوط با هامز به نسبتهای ۵۰، ۲۵ و ۱۰ درصد؛ مایع فولیکولر حرارت ندیده خالص (NF100) و مایع فولیکولر حرارت ندیده مخلوط با هامز به نسبت ۱۰ درصد(NF10) . بین ۱۵۰ الی ۵۰۰ جنین دوسلولی طی ۱۷ سری تجربه مکرر در هریک از محیط های یاد شده به مدت ۷۲ ساعت کشت داده، رشد و تکامل آنها دنبال شد. مراحل رشد جنینها طی هر ۲۴ ساعت و با استفاده از یک استریومیکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفت و نتایج ثبت می شد(embryo scoring).

تجزیه و تحلیل آماری

تحلیل آماری اطلاعات حاصله از کشت جنینها با استفاده از آزمون تی استیودنت (Student t) و در نرم افزار آماری statistical graphics system به وسیله کامپیوتر انجام پذیرفت .

نتایج

جدول ۱ نتایج حاصل از کشت جنینها در محیطهای مورد آزمایش را نشان می دهد . نسبت جنینهایی که پس از ۴۸ و ۷۲ ساعت کشت، در HF100 به مرحله بلاستوسیت و هچینگ رسیدند، در مقایسه با هامز + سرم (شاهد) و سایر گروههای مورد آزمایش به طور معنی داری بالاتر است (P<۰/۰۵ الی P<۰/۰۰۰۱).

همچنین در ساعت ۴۸ کشت نسبت بیشتری از جنینها در HF50 در مقایسه با هامز + سرم به مرحله بلاستوسیست رسیدند (P<۰/۰۵).

در ساعت ۷۲ کشت، درصد جنینهایی که در HF50، HF25، HF10 و هامز + سرم به مرحله بلاستوسیست رسیدند، همگی بالاتر از ۷۰ و بدون تفاوت معنی دار با یکدیگر می‌باشند (P<۰/۰۵)؛ و برعکس ، تقریبا تمامی جنینهایی که در NF100 کشت

داده شده بودند، پس از ۲۴ ساعت از بین رفتند. اما وقتی محیط NF100 -به جای ۲۴ ساعت معمول - جهت تعادل، ۴۸ ساعت در انکوباتور گذاشته شد، تا حدودی از اثرات مضر آن بر رشد و نمو جنینها کاسته شد و ۴۸ درصد آنها پس از ۷۲ ساعت کشت به مرحله بلاستوسیست رسیدند. همچنین ۴۴/۱٪ از جنینهایی که در NF10 کشت داده شده بودند پس از ۷۲ ساعت به مرحله بلاستوسیست رسیدند که در هردو حالت به طور چشمگیری کمتر از درصد بلاستوسیست‌های هامز + سرم (۷۱/۶ درصد) می‌باشند (P<۰/۰۵).

جدول ۱) اثر مایع فولیکولر حرارت دیده (HF) و تازه بر رشد ونمو جنینهای دو سلولی موش در محیط آزمایشگاه

محیط کشت	تعداد جنینها	بلاستوسیست ساعت ۴۸ (درصد)	بلاستوسیست ساعت ۷۲ (درصد)	هچینگ ساعت ۷۲ (درصد)
Ham's	۲۶۷	۲۸/۶ ± ۵/۶	۷۱/۶ ± ۳/۰	۱۷/۱ ± ۲/۵
HF100	۳۷۰	۵۸/۶ ± ۳/۵a	۸۶/۱ ± ۲/۸c	۴۷/۵ ± ۴/۴e
HF50	۱۶۳	۴۸/۰ ± ۴/۸a	۷۷/۲ ± ۱/۰	۳۷/۷ ± ۴/۳
HF25	۲۰۲	۳۷/۶ ± ۵/۱	۷۵/۰ ± ۴/۰	۲۹/۴ ± ۵/۷
HF10	۵۱۲	۴۰/۳ ± ۳/۲	۷۰/۳ ± ۲/۱	۲۲/۱ ± ۱/۸
NF100**	۱۵۷	۲۱/۳ ± ۲/۴b	۴۸/۰ ± ۳/۳d	۱۳/۲ ± ۱/۷f
NF10	۲۰۱	۲۱/۳ ± ۲/۵b	۴۴/۱ ± ۳/۶d	۱۴/۰ ± ۲/۵f

* اطلاعات همگی به صورت میانگین خطای استاندارد هستند.

** NF100 ، با زمان انکوباسیون ۴۸ ساعت یا بیشتر.

a P<۰/۰۱ (حداقل)، در مقایسه با تمام گروههای دیگر

b به طور معنی داری کوچکتر از گروههای HF، P<۰/۰۵ (حداقل)، ولی بدون تفاوت معنی دار در مقایسه با هامز می باشد

c P<۰/۰۵ (حداقل)، در مقایسه با تمام گروهها، ولی بین سایر گروههای HF، در مقایسه با هامز تفاوت معنی داری وجود ندارد.

d به طور معنی داری از تمام گروههای دیگر کوچکتراست P<۰/۰۰۰۱

e P<۰/۰۵ (حداقل)، در مقایسه با تمام گروههای دیگر بجز HF50

f به طور معنی داری از مقادیر گروههای HF، P<۰/۰۵ (حداقل)، کمتراست ولی با هامز تفاوت معنی دار ندارد .

بحث

تاآنجاکه نگارندگان آگاهی دارنداین اولین مطالعه‌ای است که به بررسی اثر مایع فولیکولر انسان بر رشد و تکامل جنینهای اولیه موش می پردازد. نتایج به دست آمده نشان می دهد که مایع فولیکولر انسان بر جنینهای مرحله قبل از لانه گزینی (preimplantation) اثر نامطلوب و مضری داشته، حتی با غلظت کم (۱۰ درصد) رشد و تکامل جنینها و رسیدنشان به سیتوسیست رابه

طور چشمگیری کاهش می دهد. برعکس، مایع فولیکولر حرارت دیده نه تنها می‌تواند رشد و تکامل جنینهای دو سلولی را تا مرحله بلاستوسیست و هچینگ باعث شود، بلکه با افزایش معنی‌دار درصد بلاستوسیست در مقایسه با مدیوم مرکبی (complex medium) مانند هامز + سرم، به نظر می‌رسد که دارای اثرات امبریوتروفیک نیز می باشد.

در تحلیل این نتایج به تصور ما مایع فولیکولر تمامی شرایط لازم برای تضمین رشد جنینهای اولیه در محیط آزمایشگاه را دارا می‌باشد و علاوه برآن، حاوی عامل یا عاملهایی نیز می‌باشد که اثر امبریوتروفیکی دارد. اما باوجود این در مایع فولیکولر تازه عامل یا عوامل مضری وجود دارد که این اثر را تحت الشعاع خود قرار داده، بر رشد و تکامل جنین تاثیر نامطلوبی برجای می گذارد. این عامل مضر به حرارت حساس بوده و با گرما دادن مایع فولیکولر به شیوه متداول در کلینیک های IVF، (heat treatment) می توان آنرا خنثی کرد. نتایجی که ما به دست آوردیم همچنین نشان داد که با انکوباسیون طولانی تر مایع فولیکولر در انکوباتور (۴۸ ساعت یا بیشتر) عامل مزبور تاحدود زیادی ضعیف می شود. سمیت مایع فولیکولر حرارت ندیده در گزارشهای بسیاری از محققانی که اقدام به بررسی اثر مایع فولیکولر بر کاپاسیتاسیون و واکنش آکروزومی در اسپرم‌ها نموده‌اند مورد تاکید قرار گرفت. (۲، ۳، ۹ و۳۲). یاناگیماچی (Yanagimachi، ۱۹۶۹) که اثر مایع فولیکولر گاو را بر اسپرم‌های هامستر مورد مطالعه قرار داد، گزارش کرد که این سم در بخش غیرقابل دیالیز (non dializable fraction) آن قرار دارد و با حرارت دادن تخریب می شود. وی همچنین اثر سمی مایع فولیکولر را به ترکیبات مکمل که در آن یافت می‌شود، نسبت می‌دهد(۱). شایان ذکر است که کمپلمان در مایع فولیکولر انسان نیز وجود دارد (۳۰).

ماخرجی (Mukherjee، ۱۹۷۲) ضمن تایید نظریات یاناگیماچی اظهار می دارد که این سم در درون بدن توسط اپی تلیوم فالوپ جذب و یا بوسیله ترشحاتی از آن خنثی می شود. به عنوان یک نظریه، گمان ما این است که آنزیم‌های هیدرولیز کننده مختلفی که در مایع فولیکولر وجود دارند (۱۵، ۲۲) می‌توانند به صورت عاملی نامطلوب بر رشد و نمو جنینهای اولیه در محیط کشت عمل کنند. این آنزیم‌ها در جریان حرارت دادن مایع فولیکولر، دناتوره و خنثی می شوند. از آنجا که مایع فولیکولر یکی از مهمترین ترشحات طبیعی سیستم تناسلی ماده بوده، دارای ترکیبی مشابه با مایعات مرکبی همانند پلاسما و سرم است (۱۵)، تضمین رشد جنینهای اولیه توسط آن پس از حذف عامل یا عوامل مضر بوسیله حرارت، امری غیر عادی نمی‌باشد. شرایط لازم برای رشد جنینهای اولیه موش - که از این لحاظ به جنینهای انسان بسیار نزدیک هستند- به خوبی شناخته شده است (۱۳). یک محیط محتوی یونهای سدیم، کلر، پتاسیم، منبع انرژی و نیز بافر بیکربنات برای تنظیم و تثبیت PH در فشار ۵٪ CO2، حداقل شرایط لازم برای رشد و تکامل این جنینهاست (۱۳). برای تامین انرژی مورد نیاز سلول تخم و انجام کلیواژ اول، وجود پیرووات به عنوان یک منبع انرژی الزامی می‌باشد (۱۶ و ۲۸). لاکتات، کلیواژ دوم جنین را حمایت می کند و دارای اثرات همکوشی (سینرژیکی) باپیرووات است(۱۲و۲۸). پیرووات و لاکتات، به تنهایی می توانند جنین اولیه را تا مرحله بلاستوسیست پیش ببرند (۲۸). از اواخر مرحله ۴ سلولی یا ابتدای مرحله ۸ سلولی، جنینهای اولیه موش قادرند که از منابع قندی متنوع تری استفاده کنند. از همین زمان است که گلوکز به عنوان یک منبع انرژی مورد استفاده آنها قرار می‌گیرد (۱۶، ۲۰ و ۲۸) . در مایع فولیکولر تمام یونهای ضروری برای رشد جنین اولیه همانند Na^+ ، K^+، Cl^- ، Ca^{++} وجود دارد (۱۰، ۱۵

و ۱۷). همچنین برخی کربوهیدراتهای مهم شامل پیرووات(۱۱)، لاکتات (۱۰ و ۱۵) ، گلوکز (۱۰ و ۱۵) و فروکتوز (۱۵) در مایع فولیکولر وجود دارند که غلظت آنها نیز غالبا درحد چشمگیری می باشد. به طور مثال غلظت گلوکز در مایع فولیکولر گاو ۴۰۰ میلیگرم در لیتر گزارش شده است (۱۵) که تقریبا مشابه غلظت گلوکز در مدیوم سنتتیکی مانند HTF (Human tubal fluid) ۵۰۰ میلیگرم در لیتر می باشد (۲۹).

در مایع فولیکولر بیشتر پروتئینهای پلاسما همانند آلبومین بهمراه برخی مولکولهای پروتئینی ویژه وجود دارند (۱۵) که می‌توانند همانند ساپلمنتی (supplement) ماکرومولکولی برای یک مدیوم عمل کند؛ همچون نقشی که در آزمایشگاههای IVF با اضافه کردن سرم آلبومیناز به مدیوم انتظار دارند. و در صورت نیاز جنین ، منبع نیتروژنی لازم برای آنرا فراهم آورند. علاوه بر اینها، براساس نتایج به دست آمده تصور می‌کنیم‌که مایع فولیکولر حاوی یک ماده امبریوتروفیک (Embryotrophic) نیز می باشد.

بریانت (Bryant) و همکارانش ، که در سال ۱۹۸۸ اثرات مایع فولیکولر انسان بر سلولهای اندوتلیال جنین جوجه را در محیط آزمایشگاه مورد بررسی قرار دادند ، گزارش کردند که این مایع بر سلولهای اندوتلیال اثر میتوژنیک قوی برجای می‌گذارد. احتمال می‌رود که اثرات امبریوتروفیک مایع فولیکولر با ویژگی میتوژنیک آن مرتبط باشد. بعلاوه، در مایع فولیکولر عوامل رشد مختلفی همانند عامل رشد اپیدرمی (EGF) و عامل رشد شبه انسولین (IGF)شناسایی شده‌اند (۲۳ و۲۵). شاید این عوامل بر رشد و تکامل جنینهای اولیه تاثیرات مثبتی بر جای گذارد.

قدردانی

این پروژه در آزمایشگاه تحقیقاتی موسسه IVF رویان تهران و با حمایت دانشگاه تربیت مدرس انجام پذیرفت. از کمکهای بی شائبه آقای دکتر کاظمی، رئیس و آقای علیزاده مدیر اجرایی آن موسسه سپاسگزاری می‌شود. همچنین از کادر تخصصی بخش زنان آزمایشگاه IVF-ET موسسه رویان که در تهیه نمونه های مایع فولیکولر همکاری صمیمانه داشتند قدردانی می‌شود.

مراجع

1) Yanagimachi R:Invitro capacitation of Hamster spermatozoa by follicular fluid. J Reprod Fert 18:275-81,1969
2) Yanagimachi R:Invitro acrosome reaction and capacitation of golden hamster spermatozoa by bovine follicular fluid and its fractions. J EXP ZOO1 170:269-80, 1969
3) Mukherjee AB and Lippes J: Effect of human follicular and tubal fluids on human, mouse and rat spermatozoa invitro can. J Genet 14:167-74, 1972
4) Tesarik J:. Comparison of acrosome reaction-inducing activities of human cumulus oophorus, follicular fluid and ionophore A23187 in human sperm population of proven fertilizing ability invitro. J Reprod Fert 74: 383-8, 1985
5) Blumenfeld Z and Nahhas F: Pretreatment of sperm with human follicular fluid for borderline male infertility. Fertil Steril 51(5): 863-8, 1989
6) Mendozac and Tesarik J: Effect of follicular fluid on sperm movement characteristics. Fertil Steril 54 (6):1135-39, 1990
7) Siegel MS and Graczykowski J: Influence of porcine follicular fluid on the fertilizing capacity of human spermatozoa. Fertil Steril 55 (6): 1204-6, 1991
8) Falcone L, Marchini M, Gianni S, Eppenberger U, et al: Follicular fluid enhances sperm motility and velocity invitro. Fertil Steril 55(3): 619-23, 1991
9) Suarez SS, Wolf DF and Meizel S: Induction of the acrosome reaction in human spermatozoa by a fraction of human follicular fluid. Gamete Res 14:107, 1986
10) Lutwak - Mann G: Note on the chemical composition of bovine follicular fluid. J Agric Sci Camb II: 177, 1954
11) Donahue RP and Sterns: Follicular cell support of oocyte maturation: production of pyruvate invitro. J Reprod Fert 17: 395-8,1968
12) Wales RG and Whittsngham DG: The metabolism of specifically labelled lactate and pyruvate by two-cell mouse embryos. J Reprod Fert 33:207-22, 1973
13) Wales RG: Maturation of the mammalian embryo: biochemical aspects. Biol Reprod 12: 66-81, 1975
14) Wales RG: Effects of Ions on the development of the preimplantation mouse embryo in vitro Aust. J Biol Sci 23:421-9, 1970
15) Edwards RG: Follicular fluid. J Reprod Fert 37: 189-219, 1974
16) Biggers JD, Whittingham and Donahue RP: The pattern of energy metabolism in the mouse oocyte and zygote. Proc Natn Acad Sci USA 57: 560-7, 1967
17) Shalgi R, Kraicer PF and Soferman N: Gases and electrolytes of human follicular fluid. J Reprod Fert 28:335-40, 1972
18) Wastergaard L, Byskov AG, et al: Is resumption of meiosis in the human preovulatory oocyte triggered by a meiosis-inducing substance (MIS) in the follicular fluid? Fertil Steril 41(30): 377-84, 1984
19) Herriot DM, Warnes GM and Kerin JF: Pregnancy -related chemotactic activity of human follicular fluid. Fertil Steril 45(2): 196-201, 1986
20) Gardner Dik, and Leese HJ: The role of glucose and pyruvate transport in regulating nutrient utilization by preimplantation mouse embryos 1986
21) Bryant SM, Gale JA,Yanagihara DL, Campeau J D and Dizerega GS: Angiogenic, mitogenic, and chemotactic activity of human follicular fluid. Am J Obstet Gynecol 158: 1207-14, 1988
22) Milwidsky A, Laufer N, Kaneti H, Tsafriri A, Finci Z and Mayer Mayer M: Human follicular fluid protease and antiprotease activities: a suggested correlation with ability of oocytes to undergo invitro fertilization. Fertil Steril 52(2):274-80, 1989

23) Hofmann GE, Scott RT, Brzyski RG and Jones HW: Immunoreactive epidermal growth factor concentrations in follicular fluid obtained from invitro fertilization. Fertil Steril 54(2): 303-307, 1990

24) Villanueva Diaz C, Diaz Perez M, Vadillo Ortega F, et al: Evidence that human follicular fluid contains a chemoattractant for spermatozoa. Fertil Steril 54(3): 1180-82, 1990

25) Rabinovici J, Rosenthal S, Dandekar P, Martin M C, and Angle MG: Insulin-like growth factor I(1GF-I) levels in follicular fluid from human preovulatory follicles: correlation with serum IGF-I levels. Fertil Steril 54(3): 428-33, 1990

26) Dandekar PV, Martin MC and Glass RH: Maturation of immature oocytes by coculture with granulosa cells. Fertil Steril 55(1): 95-99, 1991

27) Kobayashi T, Takehara Y, Odat Natori M, Yoshimura Y, Nazova S: Androstenidione and progesterone concentrations in preovulatory follicular fluid correlate with successful fertilization and cleavage of human oocytes invitro. Fertil Steril 56(2): 301-5, 1991

28) Brown JJG and Whitingham DG: The roles of pyruvate, lactate and glucose during preimplantation development of embryos from f^1 hybrid mice invitro. Development 112: 99-105, 1991

29) Yovich J and Grudzinskas G: The management of infertility, Heineman medical books, Halley court, jordan hill, Oxford ox28 FI, 1990

30) Perricone R, Pasetto N, Decaroi TSC, Vaquere F, Piccione F, Bascheri I, and Fontanai: Functionally active complement is present in human ovarian follicular fluid and can be activated by seminal plasma. Clin Exp Immunol 89(1): 154-7, 1992

31) Brinster RL: Carbon dioxide production from glucose by the preimplantation mouse embryo. Exp Cell Research 47: 271-7, 1967

32) Mortimer D, Camensind AR: The role of follicular fluid in inducing the acrosome reaction of human spermatozoa incubated invitro. Hum Reprod 4: 170, 1989

Congenital esophageal stenosis associated with esophageal atresia and gasless abdomen

Ahadi MM, Fakhraei H

Shaheed Beheshti University of Medical Sciences and Health Services

SUMMARY

A radiologically gasless abdomen in a neonate with EA is usually regarded as being pathognomonic of an absence of distal T.E.F. It has been estimated that up to 1.5% of patient with a distal fistula may have a radiologically gasless abdomens as a manifestation of a very small fistula plugged with mucus. In this case a contrast study via the gastrostomy demonstrated a fistula between the distal esophagus with trachea and stenotic area in esophagus. In this patient with congenital esophageal stenosis associated with esophageal atresia (EA), distal tracheoesophageal fistula in presented.

The diagnosis of C.E.S associated with EA begins with a high index of suspicion. It is important to verify patency of the distal esophagus at the time of primary anastomosis by passage of a tube to the stomach intraoperatively.

The site of stenosis often suggests of etiology. Etiology are classified as: 1) Tracheobroncheal rests most require resection, whereas fibromuscular stenosis and membranous diaphragms usually respond to dilatation alone, hence, are not examined histologically.

It is important to exclude anastomotic stricture and stenosis associated with gastroesophageal reflux. This requires barium esophagram, esophagoscopy with biopsy and pH monitoring. That patient is now 2 year old is asymptomatic with a normal esophagram and eating a normal diet.

Acase of retroperitoneal Castlema's Disease with Perforated Peptic Ulcer

Pskhshan M, Mohammadi F, Vessal P, Saleh M, Mofrad A

Shaheed Beheshti University of Medical Sciences and Health Services

SUMMARY

Castleman's disease is a rare condition. In its classic form Castlema's is a solitary lesion, two third of patients have tumour like mass in the mediastinum. Extrathoracic sites also could be affected including those where lymph nodes normaly occur and rarely tissues where lymph nodes are not found. More recently there have been several reports of patients with multi centeric involvement. We present a case of retroperitoneal Castleman's disease in a 31 year old man with perforated peptic ulcer.