جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله پزشکی کوثر
دوره ۱۶، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۰
صفحات: ۷۱-۶۷

Kowsar Medical Journal
Vol. 16, No. 2, Summer 2011
Pages: 67-71

اثرات وابسته به دوز ملاتونین بر ظرفیت بلوغ آزمایشگاهی تخمک، لقاح آزمایشگاهی و تکوین بلاستوسیست در موش

محمدهادی بهادری[۱] *PhD*، مینا رمضانی[*] *PhD*، زکیه عسگری نوحدانی[۲] *MSc*

[*]گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، واحد آشتیان، دانشگاه آزاد اسلامی، آشتیان، ایران
[۱]مرکز تحقیقات علوم سلولی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران
[۲]گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، واحد مرکز، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

چکیده

اهداف: با توجه به این‌که ملاتونین به‌عنوان پاک‌کننده قوی رادیکال‌های آزاد شناخته شده است، این امکان وجود دارد که میزان بلوغ آزمایشگاهی تخمک و کیفیت جنین را نیز بهبود بخشد. این مطالعه به‌منظور بررسی اثر ملاتونین بر بلوغ و لقاح تخمک‌ها و میزان کلیواژ و تکوین بلاستوسیت‌های موش در شرایط آزمایشگاهی طراحی شد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه تجربی در مرکز تحقیقات سلولی- ملکولی دانشگاه علوم‌پزشکی گیلان در سال ۱۳۸۹ انجام شد. مجموعه تخمک- کومولوس (COCs) و وزیکول زاینده (GV) از تخمدان موش‌های ماده جمع‌آوری شد. تخمک‌ها به مدت ۱۸ ساعت در محیط بلوغ تامین شده با دوزهای مختلف ملاتونین (۱۰،۱۰۰، ۱ میکرومولار و ۱۰۰، ۱۰ نانومولار) و گروه کنترل، کشت داده شدند و میزان بلوغ آنها مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین جنین‌های دو پیش هسته‌ای حاصل از لقاح آزمایشگاهی در محیط T6 تامین شده با دوزهای مختلف ملاتونین کشت داده شدند و میزان تکوین جنین‌ها تا مرحله بلاستوسیست با استفاده از میکروسکوپ معکوس مورد بررسی قرار گرفت. نتایج با استفاده از آزمون مجذور کای به‌کمک نرم‌افزار SPSS 13 تحلیل شد.

یافته‌ها: غلظت‌های ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار ملاتونین اثرات مثبتی بر میزان بلوغ و لقاح آزمایشگاهی تخمک‌ها در مقایسه با گروه کنترل نشان‌داد (p<۰/۰۱). همچنین میزان کلیواژ و تکوین بلاستوسیست در گروه‌های تیمار شده با دوز نانومولار (۱۰۰ و ۱۰) افزایش یافت (p<۰/۰۱).

نتیجه‌گیری: به‌نظر می‌رسد ملاتونین به‌عنوان پاک‌کننده قوی نمونه‌های فعال اکسیژن، تاثیر مثبتی در بهبود بلوغ، لقاح و تکوین آزمایشگاهی تخمک‌ها و جنین‌های موش دارد.

کلیدواژه‌ها: ملاتونین، بلوغ آزمایشگاهی، لقاح آزمایشگاهی، بلاستوسیست

Melatonin dose-dependent effects on oocyte maturation capacity, *in vitro* fertilization and blastocyst development in mouse

Bahadori M. H.[1] *PhD*, Ramezani M.* *PhD*, Asghari Nohadani Z.[2] *MSc*

*Department of Biology, Faculty of Sciences, Ashtian Branch, Islamic Azad University, Ashtian, Iran
[1]Cellular Sciences Research Center, Gilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran
[2]Department of Biology, Faculty of Sciences, Markaz Branch, Payam-e-Noor University, Tehran, Iran

Abstract

Aims: Considering that melatonin is known as an effective ROS scavenger, it may be able to improve the in-vitro oocyte maturation and the fetal quality. This study was designed to determine the effect of melatonin on in-vitro oocyte maturation and fertilization and cleavage and blastocyst development rate in mice.

Materials & Methods: This experimental study was carried out in the cellular-molecular center of Gilan Medical University in 2010. The cumulus-oocyte complex (COC) and germinal vesicle were obtained from mice. COCs were cultured for 18 hours in maturation medium (supplemented with different doses of melatonin (100, 10, 1 µM, 100, 10µM) and control group and their maturation rate was assessed. Then two pre-nucleus embryos were cultured in T6 medium supplemented with different doses of melatonin and embryos' developmental rate was recorded until blastocyst stage by inverted microscope. Data were analyzed using Chi-square test by SPSS 13 software.

Results: 1, 10 and 100 µM concentrations of melatonin had positive effect on in-vitro oocyte maturation and fertilization in mice compared to the control group (p<0.01). In addition, the cleavage and blastocyst development rate increased in presence of 10and 100 nM of melatonin (p<0.01).

Conclusion: Melatonin as an effective ROS scavenger has positive influence on in-vitro oocytes maturation and embryos' development promotion in mice.

Keywords: Melatonin, In-vitro Maturation, In-Vitro Fertilization, Blastocyst

نویسنده مسئول: مینا رمضانی. تمام درخواست‌ها باید به نشانی ramezani@mail.aiau.ac.ir فرستاده شوند.

دریافت مقاله: ۸۹/۱۱/۲ پذیرش مقاله: ۹۰/۲/۲۱

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

ازدیاد تخمک‌گذاری، القای تخمک‌گذاری، بلوغ آزمایشگاهی تخمک نارس، لقاح آزمایشگاهی و انتقال جنین، از روش‌های مهم تولیدمثلی است که با استفاده از این روش‌ها می‌توان گام‌های بسیار مهمی در جهت تولید آزمایشگاهی جنین از تخمک و اسپرمِ استحصال‌شده برداشت [۱]. همچنین می‌توان از این راه‌کارها در درمان ناباروری‌های انسانی و دامی و حفظ حیواناتِ درمعرض انقراض استفاده کرد [۲]. بلوغ تخمک در شرایط آزمایشگاهی (IVM) به‌عنوان تکنیکی موثر در جهت کاهش قیمت و تقلیل اثرات جانبی تحریکات گنادوتروپین‌ها در لقاح آزمایشگاهی (IVF) شناخته شده است [۳، ۴]. *چانگ* و *تویودا* بعد از جمع‌آوری تخمک‌ها و آماده‌کردن منی [۵]، تخمک‌ها را در محیط کشت قرار دادند، به‌صورتی که لقاح در شرایط آزمایشگاهی انجام شد. همچنین مطالعات دیگری در مورد جمع‌آوری و کشت تخمک‌ها برای IVF در حیواناتی مانند همستر [۶] و موش [۷] و همچنین در انسان‌ها گزارش شده است [۸]. موفقیت در بلوغ، لقاح و تکوین قبل از لانه‌گزینی جنین بستگی به یک برنامه منظم از رشد و تمایز تخمک همراه با تکوین و تمایز سلول‌های احاطه‌کننده فولیکول دارد.

ملاتونین (N- استیل ۵- متوکسی‌تریپتامین) مهم‌ترین هورمون غده اپی‌فیز است. گزارشات نشان داده‌اند که هیپوتالاموس و هیپوفیز قدامی در تنظیم تولیدمثل به‌وسیله ملاتونین نقش حیاتی بازی می‌کنند [۹]. رادیکال‌های آزاد، نقش دوجانبه‌ای در مسیر تولیدمثل دارند و مولکول‌های کلیدی سیگنالینگ برای عملکردهای متنوع تخمدان هستند [۱۰]. به‌ویژه، عملکرد سوء رادیکال‌های آزاد در ریزمحیط تخمک، اسپرم و در مایع فولیکولی منجر به تغییراتی می‌شود که این تغییرات بر تکوین فولیکولی، تخمک‌گذاری، کیفیت تخمک‌ها، میان‌کنش اسپرم- تخمک، لانه‌گزینی و تکوین اولیه جنینی تاثیر می‌گذارند [۱۱].

ملاتونین به‌عنوان یک پاک‌کننده قوی رادیکال آزاد شناخته شده است [۱۲]. استفاده از ملاتونین به‌عنوان دارو از آسیب‌های رادیکال‌های آزاد جلوگیری می‌کند و به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان فرصت‌هایی را برای مدیریت بیماری‌هایی مانند سرطان، اختلالات ایمنولوژیک، بیماری آلزایمر، دیابت‌ها و عفونت‌های ویروسی فراهم می‌نماید [۱۳]. مطالعات نشان داده‌اند که تیمار با ملاتونین، شیوه‌ای موثر برای القاکردن دوره استروس و افزایش تخمک‌گذاری و میزان باروری است [۱۴].

دست‌کاری تخمک‌ها و جنین‌ها در طول بلوغ آزمایشگاهی و لقاح آزمایشگاهی، خطر مواجه‌شدن با سطوح بالایی از نمونه‌های فعال اکسیژن (ROS) را به‌همراه دارد، به‌گونه‌ای که آسپیره‌کردن تخمک، لقاح و کشت جنین در تراکم بالای اکسیژن می‌تواند مقادیر بالاتری از رادیکال‌های آزاد را تولید کند. از طرفی با توجه به این‌که ملاتونین به‌عنوان پاک‌کننده قوی ROS شناخته شده است [۱۲]، این امکان وجود دارد که میزان بلوغ آزمایشگاهی تخمک و کیفیت جنین را نیز بهبود بخشد. لازم به ذکر است که تاکنون تاثیر ملاتونین بر ظرفیت بلوغ آزمایشگاهی تخمک، لقاح و تکوین بلاستوسیست‌های موش مورد بررسی قرار نگرفته است.

بنابراین هدف تحقیق حاضر، بررسی اثر ملاتونین بر بلوغ آزمایشگاهی تخمک‌های نارس و لقاح آزمایشگاهی تخمک‌های بالغ‌شده در شرایط آزمایشگاه و تکوین جنین‌ها تا مرحله بلاستوسیت بود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی در مرکز تحقیقات سلولی- ملکولی دانشگاه علوم‌پزشکی گیلان در سال ۱۳۸۹ انجام شد. همه مواد مصرفی به‌جز PMSG و HCG (Organon؛ هلند) از شرکت سیگما خریداری شدند و از موش سوری نژاد NMRI تهیه‌شده از انستیتوی رازی استفاده شد.

ابتدا موش‌های تهیه‌شده به‌مدت ۲ هفته در شرایط استاندارد دما، رطوبت، تغذیه و نور (۱۲ ساعت روشنایی- ۱۲ ساعت تاریکی) در حیوان‌خانه نگه‌داری شدند تا با شرایط محیط سازگار شوند. سپس موش‌های ماده ۸-۶هفته‌ایِ مناسب که در دوره باروری بودند، انتخاب شدند. برای تحریک تخمک‌گذاری موش‌ها، ۵ واحد بین‌المللی PMSG به‌صورت داخل‌صفاقی تزریق شد. بعد از گذشت ۴۶ تا ۴۸ ساعت، موش‌ها با جابه‌جایی مهره گردنی کشته شدند. سپس تخمدان‌ها برداشته شده و بلافاصله در محیط TCM (محیط کشت بافت- ۱۹۹) گرم‌شده در انکوباتور که شامل FCS (سرم جنینی گوساله) ۵٪ بود، قرار گرفتند. تخمدان‌ها با کمک سوزن انسولین کالبدشکافی شدند و مجموعه تخمک-کومولوس (COCs) و وزیکول زاینده (GV) جدا شد.

گروه‌های آزمایش: برای مطالعه اثر ملاتونین بر بلوغ آزمایشگاهی تخمک‌ها، تخمک‌های نارسِ (COCs+GV) گرفته‌شده از تخمدان در محیط TCM حاوی دوزهای مختلف ملاتونین قرار داده شدند و بعد از ۱۸ تا ۲۴ ساعت میزان بلوغ تخمک‌ها مورد بررسی قرار گرفت. تمام مراحل آماده‌سازی ملاتونین در محیط حداقل نور انجام شد. تخمک‌های نابالغ به‌صورت تصادفی در گروه کنترل و گروه‌های تیمارشده با ملاتونین توزیع شدند و روند بلوغ آنها با استفاده از میکروسکوپ معکوس مورد ارزیابی قرار گرفت.

لقاح آزمایشگاهی: موش‌ها با جابه‌جایی مهره گردنی کشته شده و از دم اپیدیدیم آنها اسپرم گرفته شد. اسپرم‌ها به‌مدت ۱/۵-۱ ساعت در محیط T۶ شامل BSA (آلبومین سرم گاو) ۱۵٪ انکوبه شدند تا استعداد لازم را به‌دست آورند. سپس مقدار ۱×۱۰^{۶}اسپرم بر میلی‌لیتر، در قطرات ۵۰ میکرولیتر از محیط T۶ (شامل BSA ۱۵٪) قرار داده شد و به هر قطره ۴ تا ۵ تخمک بالغ‌شده در محیط آزمایشگاهی اضافه شد. بعد از ۴ تا ۶ ساعت از همجواری اسپرم و تخمک، تخمک‌ها در محیط تمیز T۶ شستشو داده شدند و جنین‌های دوپیش‌هسته‌ای با استفاده از میکروسکوپ معکوس جدا شده و انکوبه

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

شدند. ۱۸ ساعت پس از انکوباسیون، میزان تشکیل جنین‌های دوسلولی در هر گروه مورد بررسی قرار گرفت.

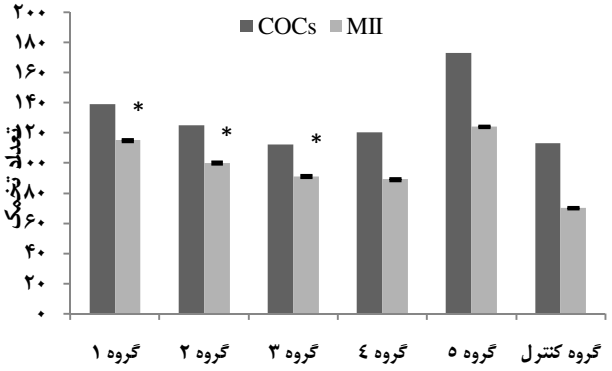
تکوین جنین‌ها: به‌منظور بررسی تاثیر دوزهای مختلف ملاتونین بر میزان کلیواژ و تشکیل بلاستوسیست، جنین‌های دوپیش‌هسته‌ای حاصل از لقاح آزمایشگاهیِ تخمک‌های بالغ به ۵ گروه تیمارشده با دوزهای ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار و ۱۰ و ۱۰۰ نانومولار و گروه کنترل تقسیم شدند. تعداد جنین‌های دوپیش‌هسته‌ای به‌دست‌آمده از لقاح آزمایشگاهی در جدول ۱ آمده است. سپس تکوین جنین تا مرحله بلاستوسیست مورد مطالعه قرار گرفت.

اطلاعات مربوط به همه گروه‌ها جمع‌آوری شد و نتایج با استفاده از آزمون مجذور کای و با کمک نرم‌افزار SPSS 13 با گروه کنترل، مقایسه و بررسی شد.

جدول ۱) گروه‌های مختلف آزمایش و تعداد جنین‌های دوپیش‌هسته‌ای به‌دست‌آمده از لقاح آزمایشگاهی

گروه‌های آزمایش	دوز ملاتونین	تعداد تخمک (GV+COCs)	تعداد جنین‌های دوپیش‌هسته‌ای
۱	۱۰۰ میکرومولار	۱۳۹	۶۳
۲	۱۰ میکرومولار	۱۲۵	۶۲
۳	۱ میکرومولار	۱۱۲	۵۹
۴	۱۰۰ نانومولار	۱۲۰	۵۰
۵	۱۰ نانومولار	۱۷۳	۴۵
کنترل	۰	۱۱۳	۴۱

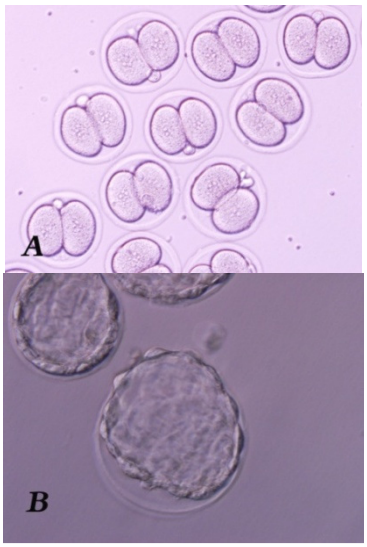
شکل ۱) تخمک موش در مراحل مختلف بلوغ. مجموعه تخمک- کومولوس (A)، متافاز II (B) و دوپیش‌هسته‌ای (C).



نمودار ۱) بررسی تاثیر ملاتونین بر میزان بلوغ تخمک‌های موش (*p<۰/۰۱ در مقایسه با گروه کنترل). COCs: مجموعه تخمک- کومولوس، MII: متافاز II

نتایج

بلوغ و لقاح آزمایشگاهی: ۷۸۲ تخمک نابالغ از تخمدان تشریح‌شده موش به‌دست آمد. در شکل ۱، تخمک موش در مراحل مختلف بلوغ نشان داده شده است. در مقایسه با گروه کنترل، میزان بلوغ به‌طور معنی‌داری در گروه‌های تیمارشده با دوزهای ۱۰۰، ۱۰ و ۱ میکرومولار از ملاتونین (گروه ۱ تا ۳) افزایش یافت (نمودار ۱)، به‌طوری که درصد تخمک‌های بالغ‌شده در گروه‌های تیمارشده با ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار از ملاتونین و گروه کنترل به‌ترتیب ۸۲/۷۳٪، ۸۰٪، ۸۱/۲۵٪ و ۷۰٪ بود (p<۰/۰۱). همچنین میزان تشکیل جنین‌های دوپیش‌هسته‌ای حاصل از تخمک‌های تیمارشده با دوزهای مذکور ملاتونین با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری داشت (p<۰/۰۱).

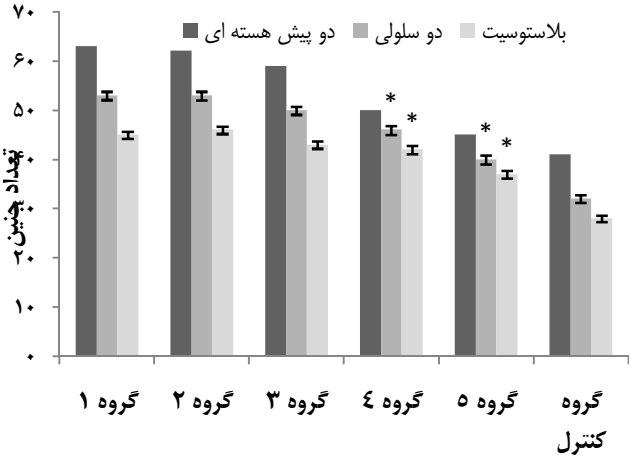


شکل ۲) جنین موش در مراحل مختلف تکوین. جنین‌های دوسلولی (A) و بلاستوسیست (B).

میزان تشکیل جنین‌های دوپیش‌هسته‌ای، معیاری برای لقاح آزمایشگاهی موفق تخمک‌ها محسوب می‌شود که این میزان لقاح

آزمایشگاهی، در گروه ۱ تا ۳ در مقایسه با گروه کنترل به ترتیب ۵۲/۹۴٪، ۵۱/۲۳٪، ۵۰/۸۶٪ و ۳۶/۶٪ بود.

تکوین جنین‌ها: در شکل ۲ مراحل مختلف تکوین در جنین موش نشان داده شده است. به‌دنبال تیمار جنین‌های دوپیش‌هسته‌ای حاصل از لقاح آزمایشگاهی، میزان تشکیل جنین دوسلولی (شکل 2A)، کلیواژ و بلاستوسیست (شکل 2B) در گروه‌های ۴ و ۵ در مقایسه با گروه کنترل، افزایش معنی‌داری نشان داد (p<۰/۰۱؛ نمودار ۲)، به‌گونه‌ای که درصد جنین‌های دوسلولی و بلاستوسیست در گروه تیمارشده با ملاتونین ۱۰ نانومولار به‌ترتیب ۸۸/۸۸٪ و ۸۲/۲۲٪، ۱۰۰ نانومولار به‌ترتیب ۹۲٪ و ۸۴٪ و گروه کنترل به‌ترتیب ۷۸/۰۴٪ و ۶۸/۲۹٪ بود.



نمودار ۲) بررسی تاثیر ملاتونین بر میزان تکوین جنین‌های دوپیش‌هسته‌ای موش حاصل از لقاح آزمایشگاهی (p<۰/۰۱* در مقایسه با گروه کنترل).

بحث

ملاتونین می‌تواند فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و نیز سطوح mRNA سلولی را تحت تاثیر قرار دهد. ممکن است ملاتونین به‌طور مستقیم از آسیب‌های میتوکندریایی در تخمک‌ها جلوگیری کند و در نتیجه کیفیت تخمک را بهبود بخشد [۱۵]. دیده شده است که ملاتونین می‌تواند میزان زنده‌ماندن جنین و میزان IVF را افزایش دهد [۱۶]. همچنین تیمارهای ملاتونین اثرات مثبتی را در جهت القای دوره استروس و افزایش تخمک‌گذاری و متعاقباً میزان تولد در طول دوره غیراستروس نشان داده است. مطالعات گذشته نشان داده‌اند که ملاتونین، فعالیت تخمدان و تکوین فولیکولی را بهبود می‌بخشد [۱۴]. ملاتونین می‌تواند بر تکوین اولیه جنین، تاثیر مثبت داشته باشد که سلول‌های جنینی را از استرس اکسیداتیو در طول بلوغ در شرایط آزمایشگاهی محافظت می‌کند [۱۷]. ملاتونین و متابولیت‌های آن، آنتی‌اکسیدان‌های موثری هستند که رادیکال‌های آزاد را پاک می‌کنند و بیان چندین آنزیم آنتی‌اکسیدانی را افزایش می‌دهند [۱۸]. همچنین ملاتونین دارای پتانسیل اثرات ضدآپوپتوزی بر انواع سلول‌های مختلف است [۱۹] و به‌خصوص در سطح میتوکندریایی به‌منظور کاهش آسیب‌های القاشده با استرس اکسیداتیو میتوکندریایی عمل می‌کند [۲۰]. در مطالعه تاثیر ملاتونین بر گونه‌های دیگر به دو نقش مهم ملاتونین بر باروری اشاره است: اول، ارتباط اندوکرینولوژی فتوپریودیک که اشاره به محور هیپوفیزی- گنادی دارد و منجر به بلوغ فولیکول و تخمک‌گذاری می‌شود و دوم این که ملاتونین ترشح پروژسترون را تحریک می‌کند و سنتز پروستاگلاندین‌ها را مهار می‌نماید [۲۱]. چنانچه آسپیره‌کردن تخمک، لقاح و کشت جنین در تراکم بالای اکسیژن صورت گیرد، می‌تواند مقادیر بالاتری از رادیکال‌های آزاد را تولید کند که اثرات معکوسی بر تکوین اولیه جنینی دارد [۲۲]. در طول سال‌های اخیر، سیستم‌های مختلفی از پاک‌کننده‌های رادیکال آزاد برای کشت آزمایشگاهی جنین‌های پستانداران به‌کار گرفته شده است [۲۳] و ملاتونین به‌عنوان پاک‌کننده ROS، به‌منظور بهبود تولید جنین گاو و گوسفند در شرایط آزمایشگاهی بررسی شده است.

نتایج این مطالعه نشان داد که تیمار محیط کشت با ملاتونین، میزان بلوغ، لقاح و تکوین جنین‌ها را در مقایسه با گروه کنترل افزایش می‌دهد. همان‌گونه که در تعدادی از سیستم‌های کشت سلول در شرایط آزمایشگاهی گزارش شده است، ملاتونین ممکن است بر تقسیم سلولی و چرخه سلولی جنین‌ها تاثیر بگذارد [۲۴]. در ابتدا گزارش شده بود که ملاتونین تاثیری بر تکوین جنین‌های موش بعد از لقاح آزمایشگاهی ندارد [۲۵]. به‌دنبال آن *ایشی‌زوکا* و همکاران در سال ۲۰۰۰ نتایج متفاوتی را گزارش دادند [۲۶]. آنها با حل‌کردن ملاتونین در DMSO (دی‌متیل‌سولفوکسید) و اضافه‌کردن آن به محیط، ۴ ساعت بعد از همجوارکردن اسپرم با تخمک (زمانی که اسپرم به‌طور کامل در سیتوپلاسم تخمک نفوذ کرده بود) به‌جای مرحله دوسلولی یا ۸سلولی، دریافتند که ملاتونین میزان توقف در مرحله دوسلولی را کاهش و میزان بلاستولاسیون را افزایش می‌دهد. از این رو در این مطالعه، سعی بر آن شد که اثرات ملاتونین در مراحل ابتدایی‌تر یعنی از مرحله بلوغ تخمک مورد ارزیابی قرار گیرد.

نتایج ما در توافق با نتایج مذکور بود. چرا که میزان بلوغ و لقاح تخمک در محیط‌های تیمارشده با دوزهای میکرومولار افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان داد و این در حالی است که میزان تکوین جنین‌ها در دوزهای نانومولار افزایش یافت. همچنین در سال ۲۰۰۸ نیز تاثیر ملاتونین بر بلوغ تخمک‌های گوسفند گزارش شد که نشان‌دهنده تاثیر مثبت ملاتونین بر کیفیت تخمک، لقاح آزمایشگاهی و تکوین اولیه جنین‌ها در فصول تولیدمثلی و غیراستروس است [۲۷]. از این رو احتمالاً ملاتونین در متابولیزم مراحل خاصی از جنین‌زایی به‌منظور تحریک تشکیل بلاستوسیست شرکت می‌کند.

اگرچه اطلاعات ما نمی‌تواند به‌طور مستقیم برای لقاح انسان و انتقال جنین در شرایط آزمایشگاهی به‌کار برده شود، اما ممکن است شرایط کشت برای چنین برنامه‌هایی را بهبود بخشد.

نتیجه‌گیری

اضافه‌کردن ملاتونین به محیط کشت در افزایش بلوغ تخمک و تکوین جنین موثر است و میزان تشکیل بلاستوسیت را افزایش می‌دهد.

تشکر و قدردانی: این پژوهش بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد دانشگاه پیام نور تهران است. نویسندگان بر خود لازم می‌دانند که از همکاری و مساعدت جناب آقای دکتر *آبتین حیدرزاده* رئیس دانشکده پزشکی و همچنین دکتر *بهرام سلطانی* رئیس مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشکده پزشکی گیلان و سرکار خانم *فاطمه قاسمیان* به‌دلیل مساعدت در پیش‌برد تحقیق، تقدیر و تشکر نمایند.

منابع

1- JU JC, Chang YC, Huang WT, Tang PC, Cheng SP. Superovulation and transplantation of demi-and aggregated embryos in rabbits. Asian-Aust J Anim Sci. 2001;14:455-61.
2- Bavister BD. Early history of in vitro fertilization. Reproduction. 2002;124(2):181-96.
3- Fortune JE, Cushman RA, Wahl CM, Kito S. The primordial to primary follicle transition. Mol Cel Endocrinol. 2005;163(5):53-60.
4- Roy SK, Treacy BJ. Isolation and long-term culture of human prenatal follicles. Fertil Steril. 2002;59(12):783-90.
5- Toyoda Y, Chang MC. Fertilization of rat eggs in vitro by epididymal spermatozoa and the development of eggs following transfer. J Reprod Fertil. 1974;36(1):9-22.
6- Yanaginachi R, Chang MC. Fertilization of hamster eggs in vitro. Nature. 1963;200:281-2.
7- Whittingham DG. Fertilization of mouse eggs in vitro. Nature. 1968;220(5167):592-3.
8- Edwards RG. Maturation in vitro of human ovarian oocytes. Lancet. 1965;286(7419):926-9.
9- Dıaz Lopez B, Diaz Rodrıguez E, Urquijo C, Fernandez Alvarez C. Melatonin influences on the neuroendocrine-reproductive axis. Ann N Y Acad Sci. 2005;1057(1):337-64.
10- Sugino N, Takiguchi S, Kashida S, Karube A, Nakamura Y, Kato H. Superoxide dismutase expression in the human corpus luteum during the menstrual cycle and in early pregnancy. Mol Hum Reprod. 2000;6:19-25.
11- Agarwal A, Gupta S, Sharma RK. Role of oxidative stress in female reproduction. Reprod Biol Endocrinol. 2005;3:28.
12- Reiter RJ, Tan DX, Maldonado MD. Melatonin as an antioxidant: Physiology versus pharmacology. J Pineal Res. 2005;39(2):215-6.
13- Pappolla MA, Chyan YJ, Poeggeler B, Frangione B, Wilson G, Ghiso J, et al. An assessment of the antioxidant and the antiamyloidogenic properties of melatonin: Implications for Alzheimer's disease. J Neural Transm. 2000;107(2):203-31.
14- Luther JS, Redmer DA, Reynolds LP, Choi JT, Pant D, Navanukraw C, et al. Ovarian follicular development and oocyte quality in anestrous ewes treated with melatonin, a Controlled Internal Drug Release (CIDR) device and follicle stimulating hormone. Theriogenology. 2005;63(8):2136-46.
15- Hiroshi T, Akihisa T, Ichiro M. Oxidative stress impairs oocyte quality and melatonin protects oocytes from free radical damage and improves fertilization rate. J Pineal Res. 2008;44(3):280-343.
16- Valasi F, Tsiligianni T, Papanikolaou T, Dimitriadis I, Vainas E, Samartzi F. Melatonin improves the developmental competence of sheep oocytes. Reprod Domest Anim. 2006;41:341.
17- Chetsawang B, Putthaprasart C, Phansuwan-Pujito P, Govitrapong P. Melatonin protects against hydrogen cells: Involvement of nuclear factor kappa B, Bax and Bcl-2. J Pineal Res. 2006;41(2):116-23.
18- Tan DX, Manchester LC, Terron MP, Flores LJ, Reiter RJ. One molecule, many derivatives: A never-ending interaction of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species? J Pineal Res. 2007;42(1):28-42.
19- Juknat AA, Mendez Mdel V, Quaglino A, Fameli CI. Melatonin prevents hydrogen peroxide-induced Bax expression in cultured rat astrocytes. J Pineal Res. 2005;38(2):84-92.
20- Jou MJ, Peng TI, Reiter RJ, Jou SB, Wu HY, Wen ST. Visualization of the antioxidative effects of melatonin at the mitochondrial level during oxidative stress-induced apoptosis of rat brain astrocytes. J Pineal Res. 2004;37(1):55-70.
21- Sandyk R, Anastasiadis PG, Anninos Parsagas N. The pineal gland and spontaneous abortions: Implications for therapy with melatonin and magnetic field. Int J Neurosci. 1992;62(3-4):243-50.
22- Agarwal A, Said TM, Bedaiwy MA, Banerjee J, Alvarez JG. Oxidative stress in an assisted reproductive techniques setting. Fertil Steril. 2006;86(3):503-12.
23- Poleszczuk O, Papis Kwenta-Muchalska E. An effect of melatonin on development of bovine embryos cultured in vitro under optimal or enhanced oxygen tensions. Reprod Fertil Dev. 2005;17(2):224.
24- Roth JA, Rabin R, Agnello K. Melatonin suppression of PC12 cell growth and death. Brain Res. 1997;768:63-70.
25- McElhinny AS, Davis FC, Warner CM. The effect of melatonin on cleavage rat of C57BL/6 and CBA/Ca preimplantation embryos cultured in vitro. J Pineal Res. 1996;21(1):44-8.
26- Ishizuka B, Kuribayashi Y, Murai K, Amemiya A, Itoh MT. The effect of melatonin on in vitro fertilization and embryo development in mice. J Pineal Res. 2000;28(1):48-51.
27- Vazquez MI, Abecia JA, Forcada F, Casao A. Effects of exogenous melatonin on in vivo embryo viability and oocyte competence of undernourished ewes after weaning during the seasonal anestrus. Theriogenology. 2010;74(4):618-26.