



تأثیر تجویز پروژسترون بر تعداد فولیکول‌های ثانویه موش تحریک تخمک‌گذاری شده در زمان پیش از لانه‌گزینی

لیلا نریمانی^۱، نسیم بیگی‌بروجنی^۲، محمدرضا غلامی^۳، خاطره عنبری^۴، میترا آریمن‌منش^۵، ماندانا بیگی‌بروجنی^{۶*}

۱- کارشناسی ارشد علوم تشریحی - گروه آناتومی - دانشکده پزشکی - دانشگاه علوم پزشکی لرستان - خرم‌آباد - ایران.

۲- استادیار - مرکز تحقیقات گیاهان دارویی رازی - دانشگاه علوم پزشکی لرستان - خرم‌آباد - ایران.

۳- دانشیار - گروه آناتومی - دانشکده پزشکی - دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه - کرمانشاه - ایران.

۴- دانشیار - گروه پزشکی اجتماعی - دانشکده پزشکی - دانشگاه علوم پزشکی لرستان - خرم‌آباد - ایران.

۵- استادیار - گروه آناتومی - دانشکده پزشکی - دانشگاه علوم پزشکی زنجان - زنجان - ایران.

۶- دانشیار - گروه آناتومی - دانشکده پزشکی - دانشگاه علوم پزشکی لرستان - خرم‌آباد - ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۲/۵، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۳/۲۶

چکیده

مقدمه: تحریک تخمک‌گذاری توسط گنادوتروپین‌ها باعث افزایش پروژسترون در اواخر فاز فولیکولار و به دنبال آن تأثیر منفی روی نتیجه تحریک تخمک‌گذاری می‌شود. در این مطالعه به بررسی تأثیر تجویز پروژسترون بر تعداد فولیکول‌های ثانویه موش تحریک تخمک‌گذاری شده در زمان پیش از لانه‌گزینی پرداخته شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه از ۱۵ سر موش ماده بالغ استفاده شد. حیوانات به‌طور تصادفی به سه گروه تقسیم شدند: گروه کنترل، گروه تحریک تخمک‌گذاری و گروه تحریک تخمک‌گذاری همراه با تجویز پروژسترون. در گروه‌های تجربی، با hMG و hCG تحریک تخمک‌گذاری انجام شد و سپس حاملگی کاذب در هر سه گروه القا گردید. در گروه تجربی ۲ پس از القای حاملگی کاذب، روزانه ۱ mg پروژسترون به ازاء هر موش تزریق شد. جهت بررسی‌های بافت‌شناسی، در زمان پیش از لانه‌گزینی نمونه‌های تخمدان از هر سه گروه برداشته و پس از جمع‌آوری داده‌ها تجزیه و تحلیل آماری انجام شد.

نتایج: در بررسی نتایج، تعداد فولیکول‌های ثانویه بین گروه‌های تجربی ۱ نسبت به گروه تجربی ۲ و گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت ($P < 0.05$). اما در گروه تجربی ۲ نسبت به گروه کنترل، اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: تجویز پروژسترون پس از تحریک تخمک‌گذاری باعث مهار فولیکولوژنز و در نتیجه جلوگیری از وقوع سندرم تحریک بیش از حد تخمدان می‌شود. به نظر می‌رسد که تجویز پروژسترون پس از تحریک تخمک‌گذاری باعث ایجاد شرایط متعادل‌تر در تخمدان شده است.

واژه‌های کلیدی: فولیکول ثانویه، تحریک تخمک‌گذاری، پروژسترون، پیش از لانه‌گزینی.

*نویسنده مسئول: گروه آناتومی - دانشکده پزشکی - دانشگاه علوم پزشکی لرستان. تلفن: ۰۹۱۳۲۸۴۱۶۶۷، نمابر: ۰۶۶۳۳۱۲۰۱۳۳
Email: mandbe2000@yahoo.com

ارجاع: نریمانی لیلا، بیگی‌بروجنی نسیم، غلامی محمدرضا، عنبری خاطره، آریان‌منش میترا، بیگی‌بروجنی ماندانا. تأثیر تجویز پروژسترون بر تعداد فولیکول‌های ثانویه موش تحریک تخمک‌گذاری شده در زمان پیش از لانه‌گزینی. مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی ۱۳۹۸؛ ۱۴(۱): ۵۱-۵۵.

مقدمه

در این مطالعه از ۱۵ سر موش بالغ ماده نژاد NMRI با سن ۱۰-۶ هفته استفاده شد. حیوانات به مدت دو سیکل، به منظور سازگاری و هم فاز شدن کنار هم قرار گرفتند سپس حیوانات به طور تصادفی به سه گروه تقسیم شدند: گروه کنترل، گروه تحریک تخمک‌گذاری (گروه تجربی ۱) و گروه تحریک تخمک‌گذاری همراه با تجویز پروژسترون (گروه تجربی ۲). در گروه‌های تجربی، با دوز ۱۰ واحد بین‌المللی (دوز منفرد) هورمون hMG و ۴۸ ساعت پس از آن با استفاده از تزریق داخل صفاقی ۱۰ واحد بین‌المللی (دوز منفرد) هورمون hCG تحریک تخمک‌گذاری انجام شد (۱۰). سپس با کشیدن سواب در ناحیه واژینال، حاملگی کاذب در هر سه گروه القا گردید. در گروه تحریک تخمک‌گذاری همراه با تجویز پروژسترون پس از القای حاملگی کاذب، روزانه ۱ mg پروژسترون به ازاء هر موش به صورت زیر جلدی تزریق شد (۱۳-۱۱). پس از گذشت ۳/۵ روز از القای حاملگی کاذب، در زمان پیش از لانه‌گزینی حیوانات با روش جابجایی مهرمای کشته و نمونه‌های تخمدان از هر سه گروه برداشته شدند.

نمونه‌های بافتی، جهت ثبوت به مدت ۴۸ ساعت در فرمالین ۳۷٪ قرار گرفتند. سپس آبیگری، شفاف‌سازی، آغشتگی به پارافین و قالب‌گیری انجام شد. پس از تهیه بلوک‌های پارافینی، برش‌های ۵ میکرونی به صورت سریال سکشن از هر بلوک تهیه و با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-آئوزین رنگ‌آمیزی شدند. سپس از هر ۵ برش، یک برش مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۳). تجزیه و تحلیل‌های آماری گروه‌های مورد مطالعه، با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آنالیز واریانس یکطرفه و نیز آزمون تعقیبی توکی انجام شد و $P \leq 0.05$ به منظور تعیین معنی‌داری آماری لحاظ گردید.

نتایج

بررسی کیفی تصاویر میکروسکوپی از بافت تخمدان در هر سه گروه مورد مطالعه (شکل ۱) نشان داد که تعداد فولیکول‌های ثانویه در گروه تحریک تخمک‌گذاری نسبت به دو گروه دیگر بیشتر بود که تجزیه و تحلیل داده‌های کمی مطالعه حاضر نیز گویای همین است. تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که میانگین تعداد فولیکول ثانویه در زمان پیش از لانه‌گزینی در گروه‌های کنترل، تحریک تخمک‌گذاری و تحریک تخمک‌گذاری همراه با تجویز پروژسترون به ترتیب 0.78 ± 0.5 ، 1.05 ± 0.7 و 1.04 ± 0.43 بود. بررسی نتایج نشان داد که تعداد فولیکول‌های ثانویه بین گروه تحریک تخمک‌گذاری نسبت به گروه کنترل و همچنین گروه تحریک تخمک‌گذاری همراه با تجویز پروژسترون افزایش معنی‌داری مشاهده شد ($P < 0.05$). اما در گروه تحریک تخمک‌گذاری همراه با تجویز پروژسترون نسبت به گروه کنترل، از لحاظ آماری اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد (جدول ۱).

تحریک تخمک‌گذاری کنترل شده موجب تداخل در مکانیسم‌های فیزیولوژیکی بدن می‌شود (۱). پس از تجویز hCG سطح پروژسترون به سرعت افزایش می‌یابد (۲)، پروژسترون اثرات پاراکرینی موضعی در تخمدان ایجاد می‌کند که بر فولیکولوژنز تأثیر می‌گذارد (۳). این افزایش باعث بلوغ نهایی اووسیت می‌شود. علاوه بر این، بروز زودرس LH باعث تعدیل فعالیت استرادیول (E2)، لوتئینه شدن زودرس و حذف چرخه درمان در بیماران تحت درمان با IVF می‌شود (۲). در تحریک تخمک‌گذاری، افزایش زودرس پروژسترون در اواخر فاز فولیکولار اثر منفی بر روی نتیجه تحریک تخمک‌گذاری دارد (۴). خطر افزایش زودرس پروژسترون با تعداد و اندازه فولیکول‌ها و همچنین شدت تحریک تخمک‌گذاری در ارتباط است (۳).

سندرم تحریک بیش از حد تخمدان (OHSS) یک عارضه جدی است که در برخی از بیماران، در واکنش به درمان‌های دارویی IVF بروز می‌کند (۵). گنادوتروپین‌های درونی و خارجی از عوامل مهمی هستند که باعث ایجاد این سندرم می‌شوند. این عارضه تقریباً همیشه با افزایش استرادیول همراه است (۶). بنابراین، افزایش سطح استرادیول و تعداد فولیکول‌ها در پیش‌بینی این عارضه کمک‌کننده هستند (۷).

با مهار انتشار گنادوتروپین‌های درونی هیپوفیز، عرضه آگونیست و آنتاگونیست‌های GnRH، میزان LH زودرس کاهش می‌یابد که این عوامل در حال حاضر در طی IVF مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲). تحریک تخمک‌گذاری به دلیل فقدان LH، باعث اختلال فاز لوتئال می‌شود. این اختلال می‌تواند با میزان ترشح پروژسترون در ارتباط باشد، و باعث ناباروری و سقط مکرر در سه ماهه اول شود. دو روش برای اصلاح این اختلال پیشنهاد می‌شود، تحریک جسم زرد با hCG و یا تجویز مکمل‌های استروئیدی فاز لوتئال از جمله استروژن و پروژسترون (۸ و ۹).

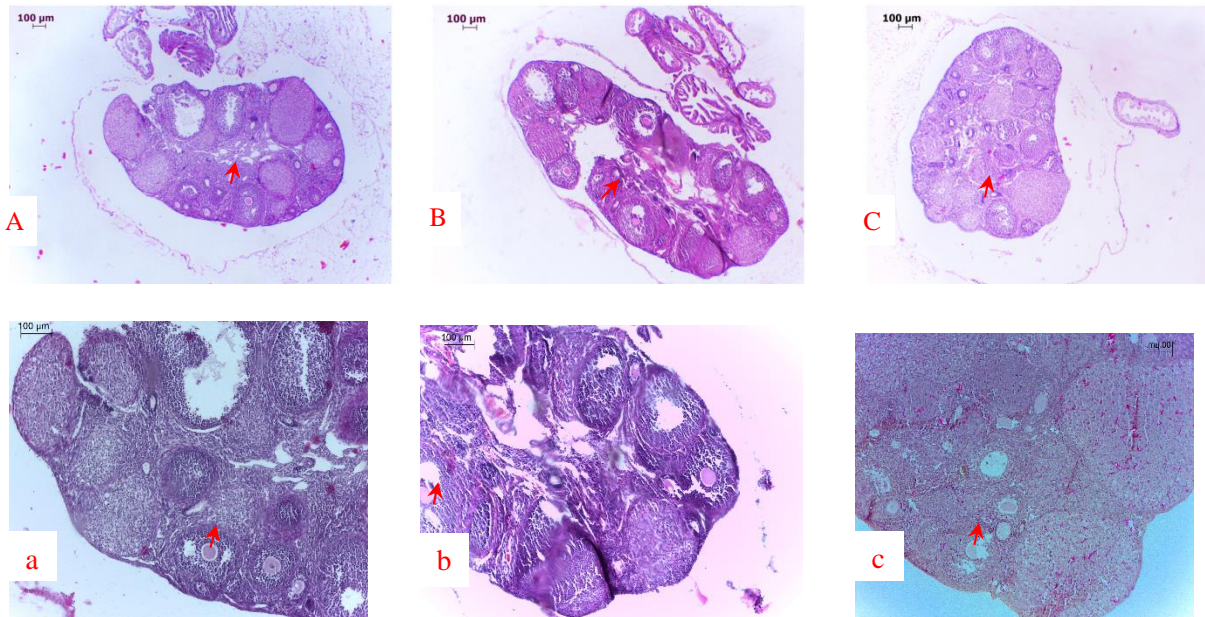
با وجود مطالعات متعدد در زمینه پروژسترون، تاکنون مطالعه‌ای در خصوص تأثیر تجویز پروژسترون بر تعداد فولیکول‌های ثانویه موش تحریک تخمک‌گذاری شده در زمان پیش از لانه‌گزینی انجام نشده بود. بنابراین این مطالعه جهت بررسی در زمینه پروتکل‌های تحریک تخمک‌گذاری انجام شد تا با دست‌یافتن به اطلاعات بیشتر، اثرات سوء تحریک تخمک‌گذاری روی تخمدان، را کاهش دهیم.

مواد و روش‌ها

جدول ۱- میانگین \pm انحراف معیار تعداد فولیکول ثانویه در زمان پیش از لانه‌گزینی در گروه‌های مورد مطالعه

گروه کنترل	گروه تحریک تخمک‌گذاری	گروه تحریک تخمک‌گذاری همراه با تجویز پروژسترون
0.78 ± 0.5	1.05 ± 0.7	1.04 ± 0.43

a تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل ($P \leq 0.05$).b تفاوت معنی‌دار با گروه تحریک تخمک‌گذاری ($P \leq 0.05$).



شکل ۱- مقایسه تعداد فولیکول ثانویه در زمان پیش از لانه‌گزینی در گروه‌های مورد مطالعه با رنگ‌آمیزی H&E و بزرگنمایی $\times 40$ و $\times 100$. پیکان نشان‌دهنده فولیکول ثانویه است. A و a- گروه کنترل؛ در این گروه تعداد فولیکول‌ها نسبت به گروه تحریک تخمک‌گذاری کمتر است. B و b- گروه تحریک تخمک‌گذاری؛ در این گروه تعداد فولیکول‌ها نسبت به سایر گروه‌ها بیشتر است. C و c- گروه تحریک تخمک‌گذاری همراه با تجویز پروژسترون؛ در این گروه تعداد فولیکول‌های ثانویه نسبت به گروه تحریک تخمک‌گذاری کمتر است.

بحث

در طول دوره‌ی باروری تقریباً ۴۰۰ فولیکول بالغ می‌شوند و سپس تخمک‌گذاری صورت می‌گیرد. فولیکول‌ها برای رشد تا مرحله آنتروم به گنادوتروپین نیاز ندارند اما بعد از آن به FSH نیاز دارند. بعد از بلوغ، در شروع هر سیکل غلظت FSH افزایش می‌یابد و تعدادی فولیکول شروع به رشد می‌کنند اما فقط یکی از آن‌ها به دلیل پاسخ به افزایش سطح هورمون‌های تخمدانی غالب می‌شود و به سمت تخمک‌گذاری می‌رود (۱۴).

تحریک تخمک‌گذاری توسط گنادوتروپین‌ها اولین گام در پروتکل‌های ART است (۷). بعد از تزریق گنادوتروپین‌ها، تعداد زیادی اووسیت رشد می‌کنند و ترشح هورمون‌های استروژن و پروژسترون افزایش می‌یابد (۱۵-۱۸). علاوه بر این، استفاده از دارو، جهت تحریک تخمک‌گذاری بدون عارضه نبوده و ممکن است باعث ایجاد سندرم تحریک بیش از حد تخمدان (OHSS) شود. این سندرم ممکن است به دو صورت زود هنگام و یا دیر هنگام پس از تزریق داروهای محرک ایجاد شود (۷). در مطالعه‌ای که بر روی سطح هورمون‌های تخمدانی در ۱۵ زن در معرض ابتلا به سندرم بیش از حد تخمدان انجام شد، نتایج سنجش هورمون‌ها نشان داد که میزان استرادیول و پروژسترون با پیش‌بینی سندرم تحریک

بیش از حد تخمدان در ارتباط نیست (۱۹). در صورتی که مطالعه‌ای دیگر، به‌صورت مروری به بررسی میزان غلظت پروژسترون در اواخر فاز فولیکولار در تحریک تخمک‌گذاری پرداخته که ارتباط بین این هورمون را با سندرم گزارش کرده است (۳). در مطالعه حاضر نیز، افزایش تعداد فولیکول‌های ثانویه بعد از تحریک تخمک‌گذاری و همچنین کاهش آن پس از تجویز پروژسترون ارتباط بین هورمون‌ها را با سندرم نشان می‌دهد.

افزایش زود هنگام پروژسترون در اواخر فاز فولیکولار (۴) و همچنین فقدان LH باعث اختلال در فاز لوتئال می‌شود (۸ و ۹). جریان خون تخمدان به شدت با میزان ترشح پروژسترون در ارتباط است و نقص در فاز لوتئال به‌علت کاهش عروق خون‌رسان تخمدان است (۸). پروژسترون، تولید فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) را در سندرم تحریک بیش از حد تخمدان (OHSS)، تنظیم می‌کند در حالی که آنتی پروژسترون این فاکتور را کاهش می‌دهد (۲۰). تجویز مکمل‌های استروئیدی فاز لوتئال از جمله پروژسترون، یکی از روش‌های اصلاحی این اختلال (۸ و ۹) و در نتیجه جلوگیری از سندرم تحریک بیش از حد تخمدان می‌باشد.

9. Devroey P, Bourgain C, Macklon NS, Fauser BC. Reproductive biology and IVF: ovarian stimulation and endometrial receptivity. *Trends Endocrinol Metab* 2004;15:84-90. doi: 10.1016/j.tem.2004.01.009
10. Beigi M, Salehnia M, Al-Tiraihi T. Morphological change in mouse endometrium after ovarian hyperstimulation during implantation period. *Medical J of Yazd Univ* 2003;11:90-6.[Persian].
11. Arianmanesh M, Salehnia M, Niknafs B. Effect of progesterone on the ultrastructure of endometrium uterus after hyperstimulation mice at pre-implantation period. *Yakhteh* 2003;61-5.[Persian].
12. Salehnia M. Different pattern of expression in stimulated mouse endometrium. *Exp Anim* 2005;54:349-52. doi: 10.1538/expanim.54.349
13. Momeni S, Boroujeni MB, Momeni HR, Boroujeni NB, Alavi ER, Gholami MR. Role of progesterone administration on endometrial angiogenesis and other endometrial quantitative changes in hyperstimulated mice at implantation period. *Knowledge & Health* 2015;10:31-9.[Persian]. doi: 10.1234/knh.v10i4.848
14. Hillier SG. Current concepts of the roles of follicle stimulating hormone and luteinizing hormone in folliculogenesis. *Human Reprod* 1994;9:188-91. doi: 10.1093/oxfordjournals.humrep.a138480
15. Salehnia M, Arianmanesh M, Beigi M. The impact of ovarian stimulation on mouse endometrium: a morphometrical study. *IJRM* 2006;4:7-11.
16. Gad A, Besenfelder U, Rings F, Ghanem N, Salilew-Wondim D, Hossain MM, et al. Effect of reproductive tract environment following controlled ovarian hyperstimulation treatment on embryo development and global transcriptome profile of blastocysts: implications for animal breeding and human assisted reproduction. *Hum Reprod* 2011;26:1693-707. doi: 10.1093/humrep/der110
17. Sibug RM, Helmerhorst FM, Tijssen AM, de Kloet ER, de Koning J. Gonadotrophin stimulation reduces VEGF(120) expression in the mouse uterus during the peri-implantation period. *Hum Reprod* 2002;17:1643-8. doi: 10.1093/humrep/17.6.1643
18. Artini PG, Fasciani A, Monti M, Luisi S, D'Ambrogio G, Genazzani AR. Changes in vascular endothelial growth factor levels and the risk of ovarian hyperstimulation syndrome in women enrolled in an in vitro fertilization program. *Fertil Steril* 1998;70:560-4. doi: 10.1016/s0015-0282(98)00221-0
19. Egbase P, Sharhan MA, Berlingieri P, Grudzinskas J. Serum oestradiol and progesterone concentrations during prolonged coasting in 15 women at risk of ovarian hyperstimulation syndrome following ovarian stimulation for assisted reproduction treatment. *Human Reproduction* 2000;15:2082-6.
20. Ishikawa K, Ohba T, Tanaka N, Iqbal M, Okamura Y, Okamura H. Organ-specific production control of vascular endothelial growth factor in ovarian hyperstimulation syndrome-model rats. *Endocrine Journal* 2003;50:515-25.

در مجموع نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تجویز پروژسترون در موش‌های تحریک تخمک‌گذاری شده باعث کاهش تعداد فولیکول‌های ثانویه شده که این امر از ایجاد سندرم تحریک بیش از حد تخمدان جلوگیری می‌کند، از طرفی احتمالاً به نظر می‌رسد که تجویز پروژسترون با افزایش فاکتورهای آنژیوژنیک باعث اصلاح نقص فاز لوتئال، مهار فولیکولوژنز، جلوگیری از وقوع سندرم تحریک بیش از حد تخمدان (OHSS) و در نتیجه ایجاد شرایط متعادل‌تر در تخمدان جهت ادامه بارداری شده است.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی لرستان و همه عزیزانی که در راستای انجام این تحقیق ما را همراهی کردند، کمال تشکر و قدردانی را دارم.

References

1. Santos MA, Kuijk EW, Macklon NS. The impact of ovarian stimulation for IVF on the developing embryo. *Reproduction* 2010;139:23-34. doi: 10.1530/REP-09-0187
2. Bosch E, Labarta E, Crespo J, Simon C, Remohi J, Jenkins J, et al. Circulating progesterone levels and ongoing pregnancy rates in controlled ovarian stimulation cycles for in vitro fertilization: analysis of over 4000 cycles. *Human Reprod* 2010;25:2092-100. doi: 10.1093/humrep/deq125
3. Al-Azemi M, Kyrou D, Kolibianakis E, Humaidan P, Van Vaerenbergh I, Devroey P, et al. Elevated progesterone during ovarian stimulation for IVF. *Reprod Biomed Online* 2012;24:381-8. doi: 10.1016/j.rbmo.2012.01.010
4. Lawrenz B, Fatemi H. Effect of progesterone elevation in follicular phase of IVF-cycles on the endometrial receptivity. *Reprod Biomed Online* 2017;34:422-8. doi: 10.1016/j.rbmo.2017.01.011
5. Verdin H. Ovarian hyperstimulation syndrome. *Head of Regulatory Policy* 2018.
6. Aboulghar M. Prediction of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) Estradiol level has an important role in the prediction of OHSS. *Hum Reprod* 2003;18:1140-1. doi: 10.1093/humrep/deg208
7. Papanikolaou EG, Tournaye H, Verpoest W, Camus M, Vernaev V, Van Steirteghem A, et al. Early and late ovarian hyperstimulation syndrome: early pregnancy outcome and profile. *Hum Reprod* 2005;20:636-41. doi: 10.1093/humrep/deh638
8. Reynolds LP, Grazul-Bilska AT, Redmer DA. Angiogenesis in the female reproductive organs: pathological implications. *Int J Exp Pathol* 2002;83:151-63. doi: 10.1046/j.1365-2613.2002.00277.x



The Effect of Progesterone Administration on the Number of Secondary Follicles of Ovulated Mice During Pre-Implantation

Leila Narimani (M.Sc.)¹, Nasim Beigi Boroujeni (Ph.D.)², Mohamad Reza Gholami (Ph.D.)³, Khatereh Anbari (Ph.D.)⁴, Mitra Arianmanesh (Ph.D.)⁵, Mandana Beigi Boroujeni (Ph.D.)^{2,6*}

1- Dept. of Anatomical, School of Medicine, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran.

2- Razi Herbal Medicines Research Center, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran.

3- Dept. of Anatomical, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.

4- Dept. of Social Medicine, School of Medicine, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran.

5- Dept. of Anatomical, School of Medicine, Zanzan University of Medical Sciences, Zanzan, Iran.

6- Dept. of Anatomical, School of Medicine, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran.

Received: 24 February 2019, Accepted: 16 June 2019

Abstract:

Introduction: Ovulation induction using gonadotropins increases the progesterone at the end of follicular phase and subsequently has a negative effect on the outcome of ovulation induction. The aim of this study was evaluation of the effect of progesterone administration on the number of secondary follicles on ovulation.

Methods: In this study, 15 adult female rats were randomly divided into three groups: control, ovulation induction group and ovulation induction group with progesterone administration. In experimental groups, ovulation stimulation was performed with hMG and hCG, and then false pregnancy was induced in all three groups. In Experimental group 2, after induction of pregnancy, 1 mg progesterone daily was injected. For histological examination, ovarian samples were taken from all three groups at the time of pre-implantation and statistical analysis performed.

Results: The number of secondary follicles in experimental groups 1 was significantly higher than the experimental group 2 and control group ($P < 0.05$). However, there was no significant difference in the experimental group 2 compared to the control group.

Conclusion: Progesterone administration after ovulation stimulation inhibits folliculogenesis and thus prevents excessive ovarian stimulation syndrome. Progesterone administration balance ovulation stimulation.

Keywords: Secondary follicle, Ovarian stimulation, Progesterone, Pre-implantation.

Conflict of Interest: No

*Corresponding author: M. Beigi Boroujeni, Email: mandbe2000@yahoo.com

Citation: Narimani L, Beigi Boroujeni N, Gholami MR, Anbari Kh, Arianmanesh M, Beigi Boroujeni M. The effect of progesterone administration on the number of secondary follicles of ovulated mice during pre-implantation. Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences 2019;14(1):51-55.