Original Article

The Effect of Omega-3 on In Vitro Maturation of Mouse Oocytes at the Stage of Germinal Vesicle

Masume Ghorbani Vahed [1,2], *Ramazan Khanbabaee** [3], *Mehrdad Shariati* [4], *Mohammad Amin Edalatmanesh* [5]

[1]*Department of Biology, Fars Science and Research Branch, Islamic Azad University, Fars, Iran.*

[2]*Department of Biology, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran.*

[3]*Department of Biology, Qaemshahr Branch, Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran.*

[4]*Department of Biology, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran.*

[5]*Department of Biology, School of Sciences, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran.*

***Corresponding Author:**
Ramazan Khanbabaee;
Department of Biology, Qaemshahr Branch, Islamic Azad University, Qaemshahr, Iran.

Email:
khanbabaee@gmail.com

Received: 13 Jan, 2020
Accepted: 6 Jun, 2020

Abstract

Background and Objectives: Studies have shown that fatty acids affect maturation of oocytes, however, studies carried out on the effect of omega-3 on *in vitro* maturation of oocytes, are limited. The aim of this research was to investigate the effects of omega-3 on *in vitro* maturation of oocytes of mouse at the stage of germinal vesicle.

Methods: In this *in vitro* experimental study, NMRI mice aged 6 to 8 weeks, were super ovulated and killed 44 hours later, then their ovaries were removed, and immature oocytes were used for in *vitro* maturation. Immature oocytes were treated with omega-3 at doses of 10 and 100 µM, after 24 hours, the maturation of the oocytes was examined by invert microscope. The data were analyzed using chi square test.

Results: Exposure of immature oocytes to 10 and 100 µM of omega-3 resulted in increased rate of mature oocytes compared to the control group ($p<0.05$ and $p<0.01$, respectively). Maturation rate was also higher in the group exposed to lower dose of omega-3 (10 µM) compared to the group exposed to higher dose (100 µM) of omega-3 ($p<0.01$).
Conclusion: Addition of low doses of omega-3 to oocyte maturation medium, significantly increase the maturation rate of immature oocytes.

Keywords: *Fatty acids, Omega-3; Immature oocyte; Oocytes; In vitro oocyte Maturation techniques.*

DOI: 10.29252/qums.14.3.45

International License Creative Commons Attribution License 4.0

مجله دانشگاه علوم پزشکی قم
دوره چهاردهم، شماره سوم، خرداد ۹۹
صفحه ٤٥ الی ٥٣

مقاله پژوهشی
(Original Article)

تأثیر امگا-۳ بر بلوغ آزمایشگاهی تخمک‌های موش در مرحله وزیکول زایا

معصومه قربانی واحد[۱،۲]، رمضان خان بابایی[۳*]، مهرداد شریعتی[٤]، محمد امین عدالت‌منش[٥]

چکیده

مقدمه و هدف: مطالعات نشان داده‌اند که اسیدهای چرب بر بلوغ تخمک تأثیر می‌گذارند؛ اگرچه بررسی‌ها در خصوص تأثیر امگا-۳ بر بلوغ آزمایشگاهی تخمک محدود می‌باشد. در این ارتباط، پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر امگا-۳ بر بلوغ آزمایشگاهی تخمک موش در مرحله وزیکول زایا انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی آزمایشگاهی، موش‌های نژاد NMRI با سن ۶ تا ۸ هفته مورد تحریک تخمک‌گذاری قرار گرفتند. این موش‌ها ۴۴ ساعت بعد کشته شده و تخمدان‌های آن‌ها خارج گردید. تخمک‌های نابالغ برای بلوغ آزمایشگاهی مورد استفاده قرار گرفتند. تخمک‌های نابالغ در محیط کشت با غلظت‌های مختلف امگا-۳ تیمار شدند. پس از ۲۴ ساعت بلوغ تخمک‌ها با استفاده از میکروسکوپ اینورت بررسی گردید. داده‌ها با استفاده از آزمون مربع کای تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: مواجهه تخمک‌های نابالغ با دوزهای ۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار امگا-۳ باعث افزایش میزان بلوغ تخمک‌ها نسبت به گروه کنترل شد (به ترتیب P<۰/۰۵ و P<۰/۰۱). میزان بلوغ در گروه در مواجهه با دوز پایین‌تر امگا-۳ (۱۰ میکرومولار) بیشتر از میزان بلوغ در گروه در مواجهه با دوز بالاتر (۱۰۰ میکرومولار) امگا-۳ بود (P<۰/۰۱).

نتیجه‌گیری: اضافه نمودن امگا-۳ به میزان کم به محیط تخمک نابالغ نقش مؤثری در بلوغ تخمک داشته و می‌تواند سبب افزایش بلوغ تخمک نابالغ در محیط کشت گردد.

کلیدواژه‌ها: اسید چرب امگا-۳؛ تخمک نابالغ؛ تخمک‌ها؛ تکنیک بلوغ آزمایشگاهی.

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:
Ghorbani Vahed M, Khanbabaee R, Shariati M, Edalatmanesh MA. The Effect of Omega-3 on In Vitro Maturation of Mouse Oocytes at the Stage of Germinal Vesicle. Qom Univ Med Sci J 2020;14(3):45-53. [Full Text in Persian]

[۱]گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات فارس، فارس، ایران.

[۲]گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شیراز، شیراز، ایران.

[۳]گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قائمشهر، قائمشهر، ایران.

[٤]گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کازرون، کازرون، ایران.

[٥]گروه علوم پایه، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم شیراز، شیراز، ایران.

[*]نویسنده مسئول مکاتبات:
رمضان خان بابایی؛ گروه زیست‌شناسی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران.

آدرس پست الکترونیکی:
khanbabaee@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۲۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۳/۱۷

International License Creative Commons Attribution License 4.0

مقدمه

اسیدهای چرب امگا-۳ برای تنظیم فعالیت‌های بدن انسان ضروری هستند؛ اما در بدن ساخته نمی‌شوند (۱،۲). بررسی‌ها نشان‌دهنده تأثیر اسیدهای چرب بر بلوغ تخمک می‌باشند که این اثر می‌تواند در زمینه درمان ناباروری‌های مربوط به بلوغ تخمک مورد توجه قرار گیرد. مطالعه تأثیر اسیدهای چرب غیر اشباع امگا-۳ بر تخمک‌های خوک نشان داده است که افزودن این ماده به محیط کشت باعث تکوین بهتر تخمک‌ها می‌شود (۳). اسیدهای چرب غیر اشباع امگا-۳ در دوز کم باعث افزایش کلیواژ تخمک‌ها و نیز افزایش سرعت تکوین تخمک‌های دامی می‌شوند (۴). در حال حاضر یکی از روش‌های رایج در درمان ناباروری، روش بلوغ آزمایشگاهی (IVM: In Vitro Maturation) است. در این روش تخمک‌های نابالغ در محیط کشت بالغ شده و برای لقاح آزمایشگاهی استفاده می‌شوند (۵). کشف این روش در محیط آزمایشگاه برای اولین بار در سال ۱۹۳۵ انجام شد و طی آن تخمک‌های به دست آمده از فولیکول بالغ خرگوش‌ها در محیط آزمایشگاهی بلوغ یافتند (۶). موفقیت در لقاح آزمایشگاهی نیازمند تخمک‌هایی است که در محیط آزمایشگاهی به مرحله متافاز میوز ۲ (Metaphase II) برسند. بلوغ آزمایشگاهی تخمک به نوبه خود با مشکلات بسیاری مواجه است. شاید بتوان گفت مهم‌ترین مشکل در بلوغ آزمایشگاهی تخمک، پایین بودن کیفیت تخمک‌های بالغ شده در آزمایشگاه است که تأثیر زیادی بر میزان موفقیت لقاح آزمایشگاهی دارد (۷). تخمک‌ها به تدریج و طی رشد، بلوغ هسته‌ای و سیتوپلاسمی را کسب می‌کنند. توانایی تخمک برای رسیدن به متافاز میوز ۲، بلوغ هسته‌ای نام دارد و لازمه این قابلیت آن است که تخمک‌ها به ۶۰ درصد سایز نهایی خود رسیده باشند. بلوغ سیتوپلاسمی پس از کفایت میوزی رخ می‌دهد. شایان ذکر است که سلول‌های گرانولوزا نیز نقش اساسی در بلوغ سیتوپلاسمی تخمک دارند (۹،۸).

افزودن مواد مغذی به محیط کشت بر میزان درصد بلوغ تخمک‌ها تأثیرگذار می‌باشد. در این ارتباط، تسریع و بهبود در تکوین و بلوغ تخمک‌های نابالغ و سلول‌های گرانولوزا همزمان با مصرف اسیدهای چرب گزارش گردیده است (۱۰).

تجارب آزمایشگاهی نشان داده‌اند که اسیدهای چرب نقش مهمی را در بلوغ تخمک‌های نابالغ ایفا می‌کنند (۱۱). در واقع، مایع فولیکولی حاوی اسیدهای چرب می‌باشد که برای تولید انرژی مورد استفاده تخمک‌ها قرار می‌گیرد و بر بلوغ تخمک‌ها تأثیرگذار می‌باشد (۱۲). علاوه‌براین، نشان داده شده است که بین افزایش متابولیسم اسیدهای چرب اشباع نشده، فسفولیپیدها، مولکول‌های مرتبط با کلسترول، دی آسیل گلیسرول، تری آسیل گلیسرول و فرایند بلوغ تخمک‌ها ارتباط وجود دارد (۱۳). مطالعات جانوری نیز نشانگر آن هستند که اسیدهای چرب موجود در رژیم غذایی بر توسعه تخمدان اثرگذار بوده و سبب بهبود عملکرد تولید مثلی و باروری در ماهی‌ها می‌شوند. در میان اسیدهای چرب، نقش اسید چرب امگا-۳ در بهبود باروری مورد بررسی قرار گرفته است؛ اگرچه اثرات آن بر بلوغ آزمایشگاهی تخمک هنوز هم جای بحث و بررسی دارد. در این خصوص، یافته‌های پژوهشی حاکی از آن هستند که اسید چرب امگا-۳ بر بهبود فعالیت تولید مثلی و باروری اثرگذار می‌باشد (۱۵،۱۴). به نظر می‌رسد که مصرف امگا-۳ در جانوران می‌تواند بر بلوغ تخمک اثرگذار باشد (۱۶). از سوی دیگر، اسیدهای چرب امگا-۳ موجب افزایش غلظت پروژسترون مایع فولیکولار شده (۱۷) و از این طریق می‌توانند بر بهبود بلوغ تخمک‌ها اثرگذار باشند. مصرف مکمل‌های خوراکی حاوی امگا-۳ و امگا-۶ نیز می‌تواند سبب افزایش تعداد فولیکول‌ها شده و بدین‌ترتیب احتمالاً بر بلوغ تخمک‌ها نیز مؤثر باشد (۱۸).

با توجه به شیوع قابل ملاحظه ناباروری در میان زنان و نیز با توجه به اینکه بخش عمده‌ای از این ناباروری به دلیل عدم کفایت در بلوغ تخمک نابالغ می‌باشد و نیز از آنجایی که یافتن موارد اثرگذار بر بهبود ناباروری به ویژه مواد مؤثر در بهبود بلوغ تخمک می‌تواند بر درمان ناباروری بسیار اثرگذار باشد و همچنین نظر به محدودیت مطالعات قبلی در حوزه بررسی ارتباط اسیدهای چرب امگا-۳ با بلوغ آزمایشگاهی تخمک، پژوهش حاضر با هدف بررسی اثرات امگا-۳ بر بلوغ آزمایشگاهی تخمک موش در مرحله وزیکول زایا انجام شد.

International License Creative Commons Attribution License 4.0

روش بررسی

این مطالعه تجربی در آزمایشگاه جنین‌شناسی انستیتو پاستور آمل انجام شد. پروتکل اخلاق پژوهشی کار روی حیوانات پس از کسب مجوز با شماره IR.IAU.SHIRAZ.REC.1398.021 از کمیته مربوطه در دانشگاه رعایت گردید. تمامی مواد مورد استفاده از شرکت Sigma خریداری شدند.

جمع‌آوری تخمک‌ها

در این مطالعه بر مبنای مطالعات پیشین (۸،۹،۱۲،۱۸) و طبق اصول اخلاقی انستیتو پاستور آمل از ۱۰۰ سر موش نژاد NMRI با سن ۸-۶ هفته نگهداری شده در شرایط استاندارد (۱۲ ساعت روشنایی- تاریکی) استفاده گردید. از آنجایی که طبق پروتکل اجرایی بین ۱۰۰ تا ۱۵۰ تخمک در چهار گروه مختلف وارد می‌شود و نیز با توجه به تجربیات قبلی و احتمال از دست دادن تخمک‌ها نیاز به ۱۰۰ رأس موش بود.

ورود این تعداد موش به تصویب کمیته اخلاق رسید. تحریک تخمک‌گذاری با تزریق ۷/۵ واحد بین‌المللی گنادوتروپین سرم اسبی (PMSG:_Pregnant Mare Serum Gonadotropin) به صورت داخل صفاقی به موش انجام شد. سپس عمل کشتن موش به روش جابه‌جایی مهره‌های گردنی صورت گرفت. در ادامه، تخمدان‌ها خارج گردید و به محیط کشت تشریح منتقل شد.

محیط کشت تشریح

برای تهیه این محیط، محیط کشت ضروری حداقل (a-MEM: a-Minimal Essential Medium) همراه با ۱۰ درصد سرم گاوی جنینی (FBS: Fetal Bovine Serum) آماده گردید. علاوه‌براین، این محیط حاوی بافر HEPES (4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid)) بود تا PH محیط حفظ شده و به سلول‌ها آسیب وارد نشود. در ادامه با کمک سرنگ انسولین، قطرات ۱۰۰ میکرولیتری در یک پتری دیش ۶ سانتی‌متری گذاشته شدند و در کنار این قطرات، قطرات کوچک ۲۰ میکرولیتری برای شستشو قرار گرفتند. قطرات با روغن معدنی پوشیده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵ درصد CO2 (Carbon Dioxide) انکوبه گردیدند.

جمع‌آوری تخمک‌ها

مطابق با مطالعات پیشین (۱۹،۲۰)، در محیط تشریح با کمک یک سوزن انسولین، تخمدان به آرامی پاره شد و با انجام این عمل، توده سلول‌های کومولوس حاوی تخمک از تخمدان خارج شدند. سپس طی عملیات پیپتینگ یا تکرار ورود و خروج تخمک‌ها به پیپت، تخمک‌ها به صورت تک‌تک جدا گردیدند. برای جداسازی سلول‌های کومولوس از تخمک‌ها، کمپلکس کومولوس- تخمک (COCs:_Cumulus Oocyte Complex) به مدت ۳ دقیقه در محیط کشت حاوی ۰/۱ درصد هیالورونیداز قرار گرفت و سپس تخمک‌ها با آب دو بار تقطیر شستشو داده شدند تا تخمک‌های لیز شده و سایر آلودگی‌ها زدوده گردند. تخمک‌های خارج شده با استفاده از پیپت دهانی به قطره‌های ۱۰۰ میکرولیتری محیط a-MEM حاوی HEPES منتقل شدند؛ به طوری که در هر قطره ۳۰-۲۰ تخمک قرار داشت. تخمک‌هایی که با این روش کشت داده شدند، هر ۲۴ ساعت با استفاده از میکروسکوپ از نظر افزایش اندازه و رشد بررسی گردیدند و میزان بلوغ آن‌ها برای آنالیزهای بعدی ثبت شد.

تهیه امگا-۳ (محلول استوک)

برای تهیه امگا-۳ از کپسول آماده ساخت شرکت بایو فارمانورگ (نروژ) استفاده شد. کپسول با قیچی استریل برش داده شد و محتویات داخل آن وارد میکروتیوپ گردید. برای حل کردن امگا-۳ از الکل خالص ۲ درصد استفاده شد که بر مبنای مطالعات پیشین (۸،۹،۲۰،۱۹،۱۸) اثر زیان‌آوری بر گسترش سلول‌های کومولوس و بلوغ تخمک‌ها ندارد. برای تهیه غلظت ۱۰۰ میکرومولار امگا-۳ مطابق با دستورالعمل استاندارد شرکت، ۱۸۸ میکرولیتر از محتوای کپسول با استفاده از اتانول ۹۹/۵ درصد به حجم ۱ میلی‌لیتر رسانده شد و سپس با فیلتر ۰/۲۲ میکرون استریل گردید. از سوی دیگر برای تهیه غلظت ۱۰ میکرومولار امگا-۳، ۱۸/۸ میکرولیتر از محتوای کپسول با استفاده از اتانول۹۹/۵ درصد به حجم ۱ میلی‌لیتر رسانده شد.

گروه‌بندی نمونه‌ها و بررسی میزان بلوغ تخمک‌ها

در ادامه، تخمک‌های مرحله ژرمینال وزیکول (GV: Germinal Vesicle) موجود در محیط کشت به گروه‌های کنترل (عدم تیمار)، شم (تیمار با الکل ۹۹/۵ درصد) و در معرض

International License Creative Commons Attribution License 4.0

۱۰ و ۱۰۰ میکرومولار امگا-۳ تقسیم‌بندی شدند؛ به طوری که در هر گروه آزمایش حدود ۱۰۰ تا ۱۵۰ تخمک وارد گردید (۲۱). پس از گذشت ۲۴ ساعت از زمان شروع تیمار، مرحله بلوغ تخمک‌ها با استفاده از میکروسکوپ اینورت مورد بررسی قرار گرفت. در این راستا، تغییرات مورفولوژیک در هسته با آزاد شدن اولین جسم قطبی که به عنوان معیاری برای بلوغ هسته‌ای تخمک‌های نابالغ محسوب می‌شود، مورد توجه قرار گرفت. تخمک‌های بدون تغییر شکل در هسته با عنوان تخمک‌های نابالغ یا ژرمینال وزیکول، تخمک‌های با هسته شکسته شده به عنوان تخمک‌های مرحله

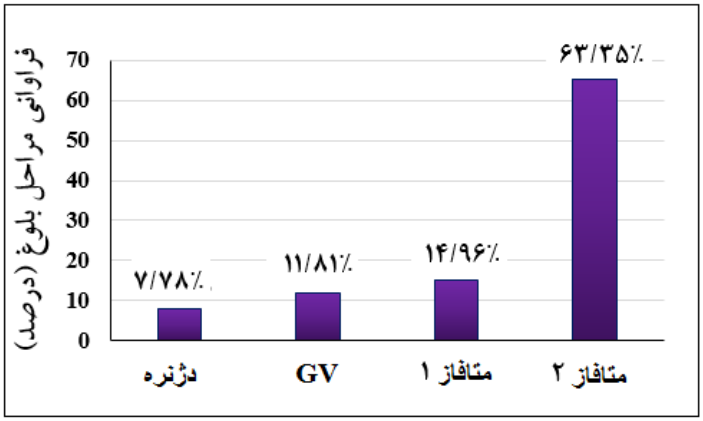
(GVBD: Germinal Vesicle Break Down) با نشانه شروع تقسیم میوز و تخمک‌های دارای جسم قطبی به عنوان تخمک‌های بالغ یا مرحله متافاز میوز ۲ (MII) شناسایی شدند. درصد تخمک‌های باقی مانده در مرحله GV، تخمک‌های مراحل GVBD و متافاز میوز ۲ پس از ۲۴ ساعت کشت آزمایشگاهی در گروه‌ها محاسبه گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

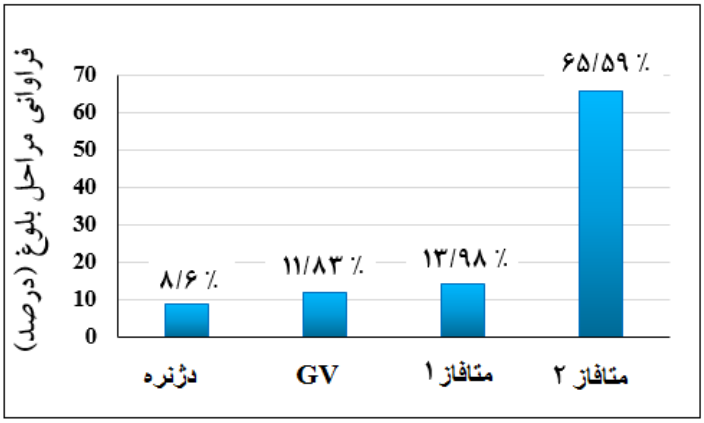
داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 18 و آزمون مربع کای تجزیه و تحلیل گردیدند.

یافته‌ها

نتایج نشان دادند که در گروه کنترل تنها ۷/۸ درصد دژنره و ۶۵/۳ درصد از تخمک‌ها به بلوغ رسیده بودند (نمودار ۱). از سوی دیگر درصد تخمک‌های دژنره، مرحله GV، مرحله متافاز ۱ و مرحله متافاز ۲ میوز در گروه‌های کنترل و شم (نمودار ۲) تفاوت معناداری نداشت. علاوه‌براین، درصد بلوغ تخمک‌های نابالغ در گروه‌های تیمار شده با غلظت‌های ۱۰ و ۱۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر به ترتیب برابر با ۸۱ و ۷۷/۵ درصد بود که افزایش معناداری نسبت به گروه کنترل داشت (به ترتیب P<۰/۰۵ و P<۰/۰۱) (نمودارهای ۳ و ۴)؛ اگرچه غلظت ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر امگا-۳ تأثیر بیشتری را نسبت به غلظت ۱۰۰ میکرومولار امگا-۳ بر بلوغ تخمک اعمال نمود.

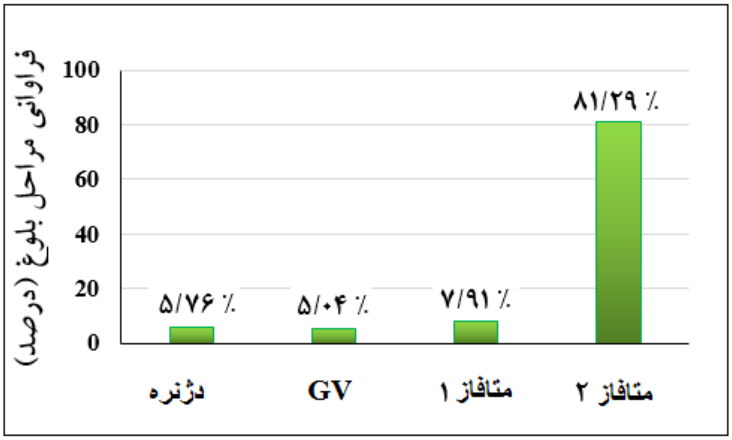


نمودار شماره ۱: درصد فراوانی مراحل بلوغ در گروه کنترل پس از ۲٤ ساعت قرار گرفتن در محیط کشت. GV: ژرمینال وزیکول.

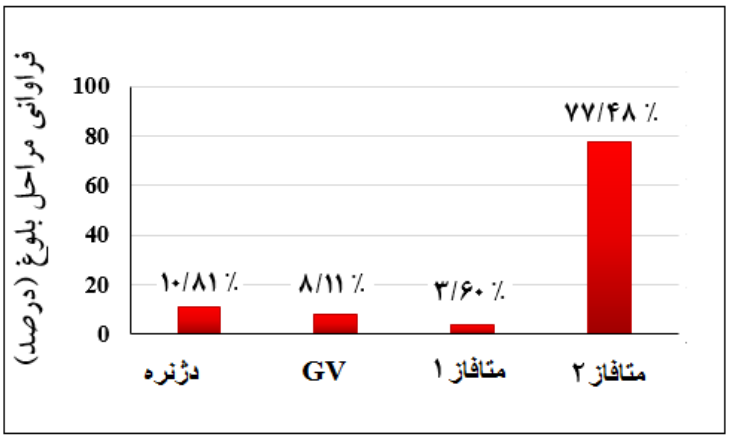


نمودار شماره ۲: درصد فراوانی مراحل بلوغ در گروه شم پس از ٢٤ ساعت قرار گرفتن در محیط کشت . GV: ژرمینال وزیکول.

International License Creative Commons Attribution License 4.0



نمودار شماره ۳: درصد فراوانی مراحل بلوغ در گروه در معرض امگا-۳ با غلظت ۱۰ میکرومولار پس از ۲٤ ساعت قرار گرفتن در محیط کشت.
GV: ژرمینال وزیکول.



نمودار شماره ٤: درصد فراوانی مراحل بلوغ در گروه در معرض امگا-۳ با غلظت ۱۰۰ میکرومولار پس از ۲٤ ساعت قرار گرفتن در محیط کشت.
GV: ژرمینال وزیکول.

بحث

نتایج پژوهش حاضر نشان دادند که امگا-۳ می‌تواند سبب بهبود بلوغ آزمایشگاهی تخمک گردد. همراستا با این نتایج در بررسی‌های دیگر نیز نشان داده شده است که مشتقات اسیدهای چرب، نقشی محوری در بلوغ تخمک‌ها و سلول‌های گرانولوزا در گونه‌های مختلف دارند. در واقع اسیدهای چرب غیر اشباع شده با زنجیره طولانی مانند امگا-۳، جزء لاینفک چربی غشایی در بسیاری از انواع سلول‌ها از جمله سلول‌های سیستم تولید مثل هستند و بدان واسطه می‌توانند عملکرد و رشد سلول‌ها را تحت تأثیر قرار دهند. مطالعات نشان داده‌اند که مکمل‌های غذایی امگا-۳ می‌توانند عملکرد سیستم تولید مثلی ماده به ویژه سیستم تخمک‌گذاری در گونه‌های مختلف را بهبود بخشند (۲۲).

در حقیقت امگا-۳ با تأثیرگذاری بر پروستاگلاندین‌ها و بیان ژن‌های مختلف در سلول‌های هدف، عملکرد سیستم تولید مثل را بهبود می‌بخشد (۲۳). گزارشات پژوهشی حاکی از آن هستند که اسیدهای چرب می‌توانند تکثیر سلول‌های گرانولوزا و بیوسنتز استروئیدها را تنظیم کنند که این امر به نوبه خود می‌تواند نقش مهمی را در بلوغ تخمک ایفا نماید. ارتباط بین اسیدهای چرب و بلوغ تخمک در مطالعات اخیر نیز نشان داده شده است (۲۴). از آنجایی که نقش انرژی‌زایی اسیدهای چرب در فعالیت‌های سلولی به اثبات رسیده است، سوخت و ساز چربی در سلول و آزاد شدن انرژی در میتوکندری، عاملی در جهت پیشبرد بلوغ محسوب می‌گردد(۲۵) و بدین‌ترتیب می‌توان گفت که تغذیه مناسب تخمک‌های نابالغ با امگا-۳ می‌تواند در بهبود بلوغ تخمک مؤثر باشد.

International License Creative Commons Attribution License 4.0

بررسی‌ها نشان داده‌اند که اسیدهای چرب در بلوغ فولیکول‌ها و تخمک‌های جانوران دریایی نیز نقش مؤثری دارند (۲۶). در این راستا، در زمینه بررسی اثرات منابع تغذیه‌ای اسیدهای چرب بر کیفیت و رشد فولیکول و تخمک گاو شیرده نشان داده شده است که اسیدهای چرب موجب افزایش بلوغ تخمک می‌گردند (۲۷).

در مقابل، برخی از یافته‌های پژوهشی نشان‌دهنده اثر مهاری اسیدهای چرب بر بلوغ تخمک می‌باشند. در این راستا، مشاهده شده است که استفاده از دوز بالای اسید چرب سبب انباشته شدن چربی در سیتوپلاسم، تخمک و در نتیجه دژنره شدن تخمک و کاهش روند بلوغ می‌گردد (۲۸). در این زمینه، نتایج حاصل از این پژوهش نیز مؤید این امر بود. همچنانکه یافته‌های این پژوهش نشان دادند با افزایش غلظت امگا-۳ به میزان ۱۰۰ میکرومولار، درصد تخمک‌های بلوغ یافته نسبت به غلظت پایین‌تر یعنی غلظت ۱۰ میکرومولار دچار کاهش گردید. همچنین در پژوهشی در سال ۲۰۱۱ نشان داده شد که برخی از اسیدهای چرب مانند پالمتیک اسید و استئاریک اسید دارای اثر مهاری بر رشد تخمک بوده (۲۹) و مصرف مکمل‌های امگا-۳ در طول تخمک‌گذاری موجب کاهش توانایی رشد می‌گردد (۳۰).

مطالعه حاضر در حیطه بررسی اثرات امگا-۳ بر بلوغ آزمایشگاهی تخمک موش در مرحله وزیکول زایا در محیط آزمایشگاهی انجام شد که در آن بررسی سلولی محدود به بررسی مورفولوژی سلولی بود و به دلیل محدودیت‌های پشتیبانی مالی، امکان بررسی مطالعات در سطح سلولی و مولکولی به ویژه میکروسکوپ الکترونی فراهم نشد. امید است در آینده امکان بررسی‌های بیشتر در سطح سلولی و مولکولی به ویژه بیان ژن‌های دخیل در بلوغ آزمایشگاهی تخمک فراهم گردد.

نتیجه‌گیری

در مجموع، نتایج این پژوهش نشان دادند که امگا-۳ می‌تواند سبب بهبود بلوغ آزمایشگاهی تخمک گردد؛ اگرچه افزایش غلظت امگا-۳ با افزایش درصد بلوغ آزمایشگاهی تخمک همراه نبوده؛ بلکه با کاهش درصد بلوغ همراه می‌باشد. این امر بیانگر اهمیت غلظت مورد استفاده امگا-۳ به منظور بهبود بلوغ آزمایشگاهی تخمک می‌باشد. همچنین با توجه به نتایج به دست آمده در این پژوهش، استفاده از امگا-۳ در بلوغ تخمک انسانی می‌تواند مورد توجه قرار گیرد.

تقدیر و تشکر

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه دکتری رشته علوم تکوینی با عنوان عمومی "ارتباط بین اسیدهای چرب غیر اشباع و بلوغ آزمایشگاهی تخمک" مصوب دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز می‌باشد. بدین‌وسیله از همکاران انستیتو پاستور آمل که پژوهشگران را در اجرای این مطالعه یاری رساندند، تقدیر و تشکر می‌گردد.

References:

1. Jeromson S, Gallagher IJ, Galloway SD, Hamilton DL. Omega-3 fatty acids and skeletal muscle health. Mar Drugs 2015;13(11):6977-7004. PMID: 26610527

2. Cao Y, Lu L, Liang J, Liu M, Li X, Sun R, et al. Omega-3 fatty acids and primary and secondary prevention of cardiovascular disease. Cell Biochem Biophysics 2015;72(1):77-81. PMID: 25427890

3. Hoyos-Marulanda V, Alves BS, Rosa PR, Vieira AD, Gasperin BG, Mondadori RG, et al. Effects of polyunsaturated fatty acids on the development of pig oocytes in vitro following parthenogenetic activation and on the lipid content of oocytes and embryos. Anim Reprod Sci 2019;205:150-5. PMID: 31076217

4. Oseikria M, Elis S, Maillard V, Corbin E, Uzbekova S. N-3 polyunsaturated fatty acid DHA during IVM affected oocyte developmental competence in cattle. Theriogenology 2016;85(9):1625-34. PMID: 26898414

International License Creative Commons Attribution License 4.0

5. Davies MJ, Moore VM, Willson KJ, Van Essen P, Priest K, Scott H, et al. Reproductive Technologies and the risk of birth defects. N Engl J Med 2012;366(19):1803-13. PMID: 22559061

6. Chang PL, Zeitoun KM, Chan LK, Thornton MH 2nd, Sauer MV. GnRH antagonist in older IVF patients. Retrieval rates and clinical outcome. J Reprod Med 2002;47(4):253-8. PMID: 12012875

7. Hwu YM, Lee RK, Chen CP, Su JT, Chen YM, Lin SP. Development of hatching blastocysts from immature human oocytes following in-vitro maturation and fertilization using a co-culture system. Hum Reprod 2005;13(7):1916-21. PMID: 9740449

8. Gilchrist RB, Luciano AM, Richani D, Zeng HT, Wang X, Vos MD, et al. Oocyte maturation and quality: role of cyclic nucleotides. Reproduction 2016;152(5):R143-57. PMID: 27422885

9. Hardy K, Wright CS, Franks S, Winston RM. In vitro maturation of oocytes. Br Med Bull 2000;56(3):588-602. PMID: 11255547

10. Wonnacott KE, Kwong WY, Hughes J, Salter AM, Lea RG, Garnsworthy PC, et al. Dietary omega-3 and -6 polyunsaturated fatty acids affect the composition and development of sheep granulosa cells, oocytes and embryos. Reproduction 2010;139(1):57-69. PMID: 19789173

11. Nehra D, Le HD, Fallon EM, Carlson SJ, Woods D, White YA, et al. Prolonging the female reproductive lifespan and improving egg quality with dietary omega-3 fatty acids. Aging Cell 2012;11(6):1046-54. PMID: 22978268

12. Marei WF, Wathes DC, Fouladi-Nashta AA. The effect of linolenic acid on bovine oocyte maturation and development. Biol Reprod 2009;81(6):1064-72. PMID: 19587335

13. Pirro V, Oliveri P, Ferreira CR, González-Serrano AF, Machaty Z, Cooks RG. Lipid characterization of individual porcine oocytes by dual mode DESI-MS and data fusion. Anal Chim Acta 2014;848:51-60. PMID: 25263116

14. Norberg B, Kleppe L, Andersson E, Thorsen A, Rosenlund G, Hamre K. Effects of dietary arachidonic acid on the reproductive physiology of female Atlantic cod (Gadus morhua L). Gen Comp Endocrinol 2017;250:21-35. PMID: 28576420

15. Meher AP, Joshi AA, Joshi SR. Preconceptional omega-3 fatty acid supplementation on a micronutrient-deficient diet improves the reproductive cycle in Wistar rats. Reprod Fertil Dev 2013;25(7):1085-94. PMID: 23137932

16. Wakefield SL, Lane M, Schulz SJ, Hebart ML, Thompson JG, Mitchell M. Maternal supply of omega-3 polyunsaturated fatty acids alter mechanisms involved in oocyte and early embryo development in the mouse. Am J Physiol Endocrinol Metab 2008;294(2):E425-34. PMID: 18073322

17. Wonnacott KE, Kwong WY, Hughes J, Salter AM, Lea RG, Garnsworthy PC, et al. Dietary omega-3 and -6 polyunsaturated fatty acids affect the composition and development of sheep granulosa cells, oocytes and embryos. Reproduction 2010;139(1):57-69. PMID: 19789173

18. Bilby TR, Block J, do Amaral BC, Sa Filho O, Silvestre FT, Hansen PJ, et al. Effects of dietary unsaturated fatty acids on oocyte quality and follicular development in lactating dairy cows in summer. J Dairy Sci 2006;89(10):3891-903. PMID: 16960065

19. Liang S, Zhao MH, Ock SA, Kim NH, Cui XS. Fluoride impairs oocyte maturation and subsequent embryonic development in mice. Environ Toxicol 2016;31(11):1486-95. PMID: 26011085

20. Zhang ZP, Liang GJ, Zhang XF, Zhang GL, Chao HH, Li L, et al. Growth of mouse oocytes to maturity from premeiotic germ cells in vitro. PLoS One 2012;7(7):e41771. PMID: 22848595

21. Robinson RS, Pushpakumara PG, Cheng Z, Peters AR, Abayasekara DR, Wathes DC. Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on ovarian and uterine function in lactating dairy cows. Reproduction 2002;124(1):119-31. PMID: 12090925

International License Creative Commons Attribution License 4.0

22. Gulliver CE, Friend MA, King BJ, Clayton EH. The role of omega-3 polyunsaturated fatty acids in reproduction of sheep and cattle. Anim Reprod Sci 2012;131(1-2):9-22. PMID: 22386690

23. McKeegan PJ, Sturmey RG. The role of fatty acids in oocyte and early embryo development. Reprod Fertil Dev 2011;24(1):59-67. PMID: 22394718

24. Mahla AS, Chaudhari RK, Verma AK, Singh AK, Singh SK, Singh G, et al. Effect of dietary supplementation of omega-3 polyunsaturated fatty acid (PUFA) rich fish oil on reproductive performance of the goat (Capra hircus). Theriogenology 2017;99:79-89. PMID: 28708503

25. Lolicato F, Brouwers JF, de Lest CH, Wubbolts R, Aardema H, Priore P, et al. The cumulus cell layer protects the bovine maturing oocyte against fatty acid-induced lipotoxicity. Biol Reprod 2015;92(1):16. PMID: 25297544

26. Sorbera LA, Asturiano JF, Carrillo M, Zanuy S. Effects of polyunsaturated fatty acids and prostaglandins on oocyte maturation in a marine teleost, the European sea bass (Dicentrarchus labrax). Biol Reprod 2001;64(1):382-9. PMID: 11133697

27. Jungheim ES, Macones GA, Odem RR, Patterson BW, Lanzendorf SE, Ratts VS, et al. Associations between free fatty acids, cumulus oocyte complex morphology and ovarian function during in vitro fertilization. Fertil Steril 2011;95(6):1970-4. PMID: 21353671

28. Zarezadeh R, Mehdizadeh A, Leroy JL, Nouri M, Fayezi S, Darabi M. Action mechanisms of n-3 polyunsaturated fatty acids on the oocyte maturation and developmental competence: Potential advantages and disadvantages. J Cell Physiol 2019;234(2):1016-29. PMID: 30073662

29. Aardema H, Vos PL, Lolicato F, Roelen BA, Knijn HM, Vaandrager AB, et al. Oleic acid prevents detrimental effects of saturated fatty acids on bovine oocyte developmental competence. Biol Reprod 2011;85(1):62-9. PMID: 21311036

30. Ponter AA, Guyader-Joly C, Nuttinck F, Grimard B, Humblot P. Oocyte and embryo production and quality after OPU-IVF in dairy heifers given diets varying in their n-6/n-3 fatty acid ratio. Theriogenology 2012;78(3):632-45. PMID: 22537996

International License Creative Commons Attribution License 4.0