اثرات تراکم جمعیت بر میزان باروری موش های سوری

فرزاد رجایی*، طیبه هادیگل

گروه علوم تشریح و مرکز تحقیقات ناباروری، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین

تاریخ دریافت: 88/9/20 تاریخ پذیرش: 89/3/4

چکیده

مقدمه: به نظر می رسد افزایش تراکم جمعیت، به دنبال پیشرفت تکنولوژی، عاملی بسیار مهم در ایجاد اختلالات روحی، جسمی و ناباروری باشد. از آن جایی که افسردگی و اضطراب در زنان نسبت به مردان شایع تر است، به نظر می رسد اثرات آن بر روی ارگان های بدن افراد مونث، نظیر دستگاه تولید مثل، بیشتر مشخص باشد. از این رو، مطالعه حاضر به منظور بررسی آثار استرس بر روی تعداد و کیفیت جنین های فلاش شده در مدل حیوانی موش سوری انجام شد.

مواد و روش ها: در مطالعه حاضر، تعداد 50 عدد موش سوری ماده و یک ماهه از نژاد swiss albino انتخاب و به صورت تصادفی به 3 گروه تقسیم گردید. گروه اول به عنوان کنترل(تحت استرس کم) که در هر قفس 5 عدد(3 قفس) و گروه دوم(گروه تحت استرس متوسط) که در هر قفس 10 عدد(2 قفس) و در گروه سوم(گروه استرس زیاد) که در هر قفس 15 عدد موش سوری(1قفس) به مدت یک ماه در قفس های مخصوص موش سوری نگهداری گردید. سپس، به منظور تحریک تخمک گذاری، موش ها تحت تزریق 10 واحد PMSG به صورت داخل صفاقی و 48 ساعت بعد 10 واحد HCG به صورت داخل صفاقی قرار گرفتند. پس از جفت گیری موش های ماده با موش های نر از همان نژاد به مدت یک شب، موش های پلاک مثبت جدا و مجددا در گروهای 5، 10و 15 تایی قرار گرفتند. 98 ساعت بعد از تزریق HCG، شاخ رحم موش ها باز و به طریق فلاش کردن، جنین ها در مرحله بلاستوسیست خارج شدند و تعداد جنین های حاصله و بلاستومرهای جنین در گروه های سه گانه آنالیز آماری گردید.

یافته های پژوهش: نتایج نشان داد که میانگین تعداد جنین های فلاش شده از شاخ رحم موش های گروه کنترل(تحت استرس کم) 3/4±14/8 و در گروه دوم(تحت استرس متوسط) 2/8±7/7 و در موش های گروه سوم(تحت استرس زیاد) 2/1±2/4 بود. اختلاف میانگین تعداد جنین های فلاش شده در گروه ها تفاوتی معنی دار را نشان داد. در حالی که اختلاف میانگین تعداد بلاستومرها در جنین موش های تحت تاثیر استرس متوسط و شدید تفاوتی معنی دار با گروه کنترل نشان نداد.(P=0/176)

واژه های کلیدی: تراکم جمعیت، بلاستوسیست، موش سوری

* **نویسنده مسئول:** گروه علوم تشریح و مرکز تحقیقات ناباروری، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین

Email: farzadraj@yahoo.co.uk

مقدمه

علی رغم گسترش و پیشرفت دانش پزشکی، نازایی و ناباروری معضلی مهم است که حدود 15-10 درصد از زوج ها از آن رنج می برند. مطالعات نشان داده اند که استرس می تواند در بسیاری از اختلالات مانند ناباروری، عدم موفقیت در IVF و سقط جنین موثر باشد.(1)

استرس به عنوان آشفتگی روحی یا عاطفی و یا دگرگونی تعریف می شود که در پاسخ به اثرات عوامل زیان آور خارجی و همچنین محرک یا موقعیتی که آن را ایجاد می کند، رخ می دهد،(2). واکنش در مقابل عوامل استرس زا باعث به هم خوردن ثبات محیط داخلی بدن و تغییراتی در عملکرد بافت ها و ارگان ها می شود. این تغییرات پاسخ های فیزیولوژیکی هستند که ممکن است از نظر میزان یا بزرگی بین افراد فرق کنند، اما از نظر مشخصات کلی، روش، و عمل کرد مشابه هستند. پاسخ های فیزیولوژیکی به دنبال حوادث استرس زا اتفاق می افتند. اکثر عوامل استرس زا آبشاری نوروآندوکراینی را القاء می کنند که شامل آزاد سازی فوری کاتکول آمین ها و فعال شدن محور هیپوتالاموسی هیپوفیزی کلیوی(HPI) است. شدت، طول مدت و نوع عوامل استرس زا و نیز گونه و مرحله بلوغ منجر به پاسخ های کاملا متفاوت می شود.(3)

نتایج مطالعه ای نشان داده شد که استرس روی اندازه دور سر و وزن هنگام تولد در بچه های متولد شده از زنان در معرض عوامل استرس زا(حوادث زندگی) موثر بوده و به این نتیجه رسیدند که استرس می تواند روی تکامل مغز نیز موثر باشد.(4) گزارش هایی وجود دارد که نشان می دهد استرس های به کار گرفته شده در رت های حامله هم چنین بر روی تکامل و رفتار های جنسی نوزادان مذکر موثر می باشد،(5). مطالعه ی دیگری نشان داده که استرس های فیزیولوژیکی ناشی از جنگ کوتاه مدت در اسلوونی باعث کاهش میزان تحرک اسپرم (از 56 درصد به 52 درصد بعد از جنگ) و کاهش نسبت جنسی هنگام تولد(نسبت افراد مذکر به کل متولدین) گردیده است،(6). در مطالعه ای دیگر، تاثیر استرس را در درمان هایIVF با سنجش میزان هورمون های وابسته به استرس مثل کورتیزول و پرولاکتین سرم بررسی نموده و گزارش کردند که احتمالا بین استرس و شانس حاملگی ارتباطی وجود دارد،(7). درمطالعه ای دیگر مشاهده شد که IVF از نظر روانی استرس زا است و مارکرهایی نظیر کورتیزول، پرولاکتین و پروژسترون را تغییر می دهد. استرس و تشویش های روانی در نتایج حاملگی موثر است،(8). نتایج بعضی تحقیقات نشان داده است تعدادی از مریض هایی که از سقط رنج می برند ممکن است دارای اختلالات روحی و روانی نیز باشند،(9،10). گزارش هایی در دست است که استرس میزان موفقیت حاملگی را در سقط های با دلیل نامشخص افزایش داده است،(11). مطالعات نشان داده اند که استرس می تواند تعادل مابین سیتوکین های ترشحی را در جریان حاملگی بر هم زده و به نقص در لانه گزینی و سقط جنین منجر شود،(12). تحقیقات در پریمات ها مشخص کرده است که استرس های مداوم می تواند باعث اختلال باروری از طریق ضعیف کردن عمل کرد تخمدان، کاهش سیکل های قاعدگی(13) و کاهش سطح پروژسترون(14) و افزایش میزان سقط جنین(15) شود. سطوح استرسی بالا باعث کاهش میزان لانه گزینی(16)، طولانی شدن سیکل های قاعدگی(17) و سقط جنین بعد از هفته 11 می شود،(18). عوامل استرس زا، با توجه به مرحله ی بلوغ، می توانند باعث شتاب دادن و یا به تاخیر انداختن تولید مثل شوند که از طریق پاسخ های متغیر فیزیولوژیکی بر آترزی، رشد و تخمک گذاری تاثیر می گذارند،(19). ژانگ و همکاران اثر استرس اکسیداتیو را بر اووسیت های در حال استراحت انسان بررسی کردند. نتایج پژوهش ها نشان داده است که آپوپتوز اووسیت فولیکول های در حال استراحت به دوز و مدت استرس های اکسیداتیو بستگی دارد،(20). آگروال و همکاران نشان دادند که در بدن سالم، اکسیژن نوع راکتیو(ROS) به عنوان مولکول سیگنال دهنده کلیدی در فرآیندهای فیزیولوژیکی از قبیل بلوغ اووسیت تا لقاح، تکامل جنین و حاملگی و هم چنین در فرآیندهای پاتولوژیکی دستگاه تولید مثل زن نقش دارد.(21)

از آن جایی که افسردگی و اضطراب در زنـــان شایع تر از مردان می باشد، به نظر می رسد اثرات استرس بر روی ارگان های بدن افراد مونث نظیر دستگاه تولید مثل بیشتر مشخص باشد،(22). با اطلاعات ما تاکنون مطالعه ای که اثرات استرس اجتماعی را به صورت ازدحام موش ها در مراحل قبل و بعد از تخمک گذاری بر بلاستوسیست موش سوری و حتی انسان نشان دهد، وجود ندارد. بررسی جنین ها از این نظر می تواند به چشم اندازی نوین در درک مکانیسم آسیب وارده به جنین و به دنبال آن یافتن راه حل مناسب در جلوگیری از وقوع آن منجر شود. در تحقیق حاضر تاثیر استرس های اجتماعی به صورت ازدحام موش ها بر بلاستوسیست موش مورد بررسی قرار گرفت.

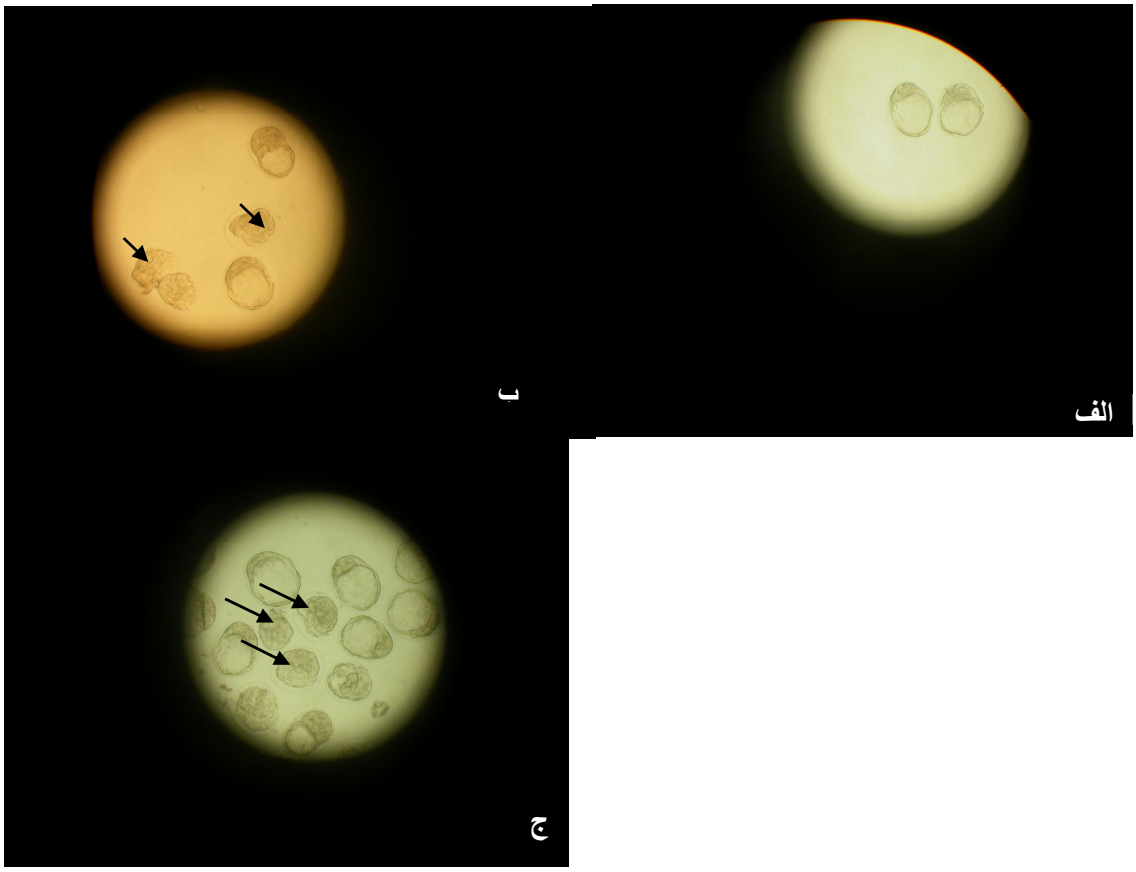
مواد و روش ها

حیوانات و جمع‌آوری جنین‌ها

ابتدا 50 عدد موش سوری ماده بالغ یک ماهه نژاد swiss albino از موسسه واکسن و سرم سازی رازی خریداری و سپس به مدت یک هفته در حیوان خانه دانشگاه علوم پزشکی قزوین به منظور تطابق با شرایط محیطی جدید، در قفس نگهداری موش، به صورت گروه های 5 تایی نگهداری شده و امکان دسترسی به آب و غذای کافی فراهم گردید. سپس حیوانات به صورت تصادفی به 3 گروه تقسیم شدند و هر گروه در قفس مخصوص موش سوری به ابعاد(14×21×27) نگهداری گردید. در گروه کنترل(تحت استرس کم) هر 5 سر موش در یک قفس قرار گرفتند(3 قفس)، درگروه دوم(تحت استرس متوسط) هر 10 سر موش در یک قفس قرار گرفتند(2 قفس)، و در گروه سوم(تحت استرس زیاد) در یک قفس 15 عدد موش به مدت یک ماه نگهداری شدند. سپس به منظور تحریک تخمک گذاری، موش ها تحت تزریق 10 واحد PMSG، و 48 ساعت بعد 10 واحد HCG به صورت داخل صفاقی قرار گرفتند،(تصویر شماره 1). بلافاصله بعد از تزریق hCG، موش های ماده به صورت تک به تک داخل قفس موش های نر از همان نژاد قرار گرفتند تا جفت‌گیری صورت گیرد. برای اطمینان از وقوع حاملگی، موش های ماده‌ای که به مدت یک شب در قفس موش های نر قرار گرفته بودند، صبح روز بعد معاینه واژینال شدند. به این ترتیب که موش توسط یک دست مهار شده و با دست دیگر به کمک یک پروب باریک، واژن از نظر وجود یا عدم وجود پلاک واژنی(توده سفید یا خامه‌ای رنگ که متعاقب جفت‌گیری در ابتدای واژن تشکیل می‌شود) مورد بررسی قرار گرفت. موش هایی که دارای پلاک واژنی بودند، حامله تلقی شده و تا 98 ساعت پس از تزریق hCG یعنی هنگامی که تخم لقاح یافته به مرحله بلاستوسیست رسیده و در ناحیه شاخ رحمی قرار می‌گیرد، مجددا در قفس های مربوطه در گروهای 5، 10 و 15 تایی قرار گرفتند. برای دستیابی به شاخ رحم، موش های ماده‌ای که پلاک واژن آن ها تأئید شده بود، پس از گذشت زمان مورد نظر(98 ساعت) با روش جا به جایی مهره‌های گردنی، بیهوش شده و در شرایط استریل، پوست، عضلات شکم و صفاق آن ها باز شد و با کنار زدن روده‌ها، رحم در معرض دید قرار گرفت. برای جدا کردن شاخ رحم از لوله رحم با یک پنس ظریف انتهای رحم، مقداری بالا کشیده شد و حد فاصل شاخ رحم و لوله رحم با یک قیچی ظریف چیده شد. سپس انتهای رحم با یک برش دیگر جدا شده و به این ترتیب شاخ رحم به صورت کامل از مابقی احشاء جدا گردید. آن گاه، به طریق فلاش کردن با محیط کشت PB۱، جنین های در مرحله بلاستوسیست خارج شدند و تعداد جنین های حاصله در گروه های مورد مطالعه مورد بررسی قرار گرفت. به منظور مطالعه تعداد بلاستومر هر بلاستوسیست، جنین های حاصله با 50 میکروگرم بر میلی‌لیتر محلول (Propidium Iodide, PI (sigma، به مدت 20 دقیقه، به منظور نشانه‌گذاری همه هسته‌ها رنگ‌آمیزی زمینه‌ای گردیدند،(23). سپس بلاستوسیست‌ها پس از شستشو در محلول PBS/PVA با فشار کـم لامل در یک قطره 20 میکرو لیتری از محلول (slow fade antibleaching Oregon, USA) بر روی لام مونتـــاژ گردید و پس از مهـــر و موم کردن لبه های لام با لاک نـــاخن، لام ها در زیر میکروسکـــوپ فلـــوئوروسنت(Olympus, Japan)مورد بررسی قرار گرفت.

روش های آماری

پس از جمع آوری داده ها، یافته ها در قالب جداول آماری، نمودار و شاخص های عددی ارائه شد. بـــــــرای آنالیز داده های کمی از آنالیز واریانس استـــــفاده و سطح معنی داری، 5 درصد در نظر گرفته شد.



شکل 1. نمای میکروسکوپی بلاستوسیست‌های فلاش شده از شاخ رحم موش در گروه های مختلف. الف: در گروه تحت استرس کم که بلاستوسیست های سالم همراه با توده سلولی داخلی، سلول های تروفوبلاستی و حفره بلاستوسل در مرکز به وضوح مشاهده می شوند. ب: در گروه استرس متوسط که تعدادی از بلاستوسیست ها فاقد پرده شفاف و حفره بلاستوسل هستند (پیکان) ج: در گروه استرس زیاد که تعداد زیادی از بلاستوسیست های غیر طبیعی (پیکان) مشاهده می شوند. بزرگنمایی 100 برابر

یافته های پژوهش

بررسی های میکروسکوپی نشان می دادند که بلاستوسیست‌های فلاش شده از شاخ رحم موش در گروه های مختلف که تحت استرس کم، متوسط و زیاد بودند به شکل های مختلف دیده شدند، به طوری که در گروه تحت استرس کم، اغلب بلاستوسیست‌ها دارای پرده شفاف سالم و دست نخورده بوده و بلاستومرها کاملاً فضای داخل پرده شفاف را اشغال کردند. در حالی که در گروه تحت استرس متوسط، تعدادی از بلاستوسیست‌ها دارای پرده شفاف غیرطبیعی و بلاستومرهای چروکیده بوده و در گروه تحت استرس زیاد، اغلب بلاستوسیست‌ها دارای تعداد زیادی بلاستومرهای دژنره و فاقد پرده شفاف بودند. همچنین پس از رنـــــگ آمیزی بلاستوسیست ها با PI، همه سلول ها زیر میکروسکوپ فلوئورسنت به رنگ قرمز دیده شدند.

نتایج نشان داد که میانگین تعداد جنین های فلاش شده از شاخ رحم موش های گروه کنترل(تحت استرس کم) 14/8±3/4، در گروه دوم(تحت استرس متوسط) 7/7±2/8، در موش های گروه سوم(تحت استرس زیاد) 2/4±2/1 بود. آزمون آماری اختلاف معنی داری بین میانگین تعداد جنین های فلاش شده سه گروه نشان داد،(P<0/02). همان طوری که در جدول شماره 1 نیز مشاهده می‌شود، اختلاف میانگین تعداد بلاستومرها در جنین موش های تحت تاثیر استرس متوسط و زیاد تفاوتی معنی دار با گروه کنترل نشان نداد،(P=0/176). اطلاعات مربـوط به تعداد جنین های فلاش شده از شاخ رحم و تعداد بلاستومرها در بلاستوسیست‌های گروه کنترل و گروه های تحت تاثیر استرس در جدول شماره 1 خلاصه شده است.

جدول شماره 1. شاخص های عددی تعداد جنین های فلاش شده و تعداد بلاستومرها به تفکیک در گروه های مورد مطالعه

گروه	میانگین تعداد جنین های فلاش شده	تعداد بلاستومرها
استرس کم	14/8±3/4 *	54/68±3/2
استرس متوسط	7/7±2/8 **	50/23±2/9
استرس زیاد	2/4±2/1 ***	44/91±2/47

میانگین به صورت Mean±SD ارائه گردیده است.

متغیر های با تعداد متفاوت * در یک ستون به شکلی معنی دار با هم متفاوت هستند،(P<0/005)

بحث و نتیجه گیری

با اطلاعات ما تاکنون مطالعه ای که اثرات تراکم جمعیت را به صورت ازدحام موش ها بر بلاستوسیست موش و حتی انسان نشان دهد، وجود ندارد. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که میانگین تعداد جنین های فلاش شده از شاخ رحم موش های گروه های تحت استرس متوسط و زیاد نسبت به گروه کنترل(استرس کم) تفاوتی معنی دار دارد. در حالی که اختلاف میانگین تعداد بلاستومرها در جنین موش های تحت تاثیر استرس متوسط و زیاد تفاوتی معنی دار با گروه کنترل نشان نداد. به طور مشابهی ییلدیز و همکاران در سال 2007 اثرات اندازه و ازدحام قفس را بر رشد، تکامل ارگان هـــــا، حالت متابولیکی و فاکتور های خونی رت های جوان نژاد Sprague-Dawley بررسی کردند و نشان دادند که افزایش تراکم، اثرات زیان آور بیشتری در رت های ماده نسبت به نرها دارد. در حالی که ارزیابی های خونی نشان می دهد که در پاسخ به افزایش اندازه گروه و ازدحام، نرها نسبت به ماده ها دارای ضعف ایمنی بیشتری هستند،(24). هم چنین در مطالعه ای، 10 رت در هر قفس (در مقایسه با گروهی که 5 عدد در هر قفس بودند) قرار داده شدند و آن ها، کاهش رشدی قابل توجه همراه با کاهش وزن تیموس و افزایش وزن غدد آدرنال و بیضه را(اگر چه تغییری در دریافت غذا ایجاد نشد) نشان دادند،(25). نتیجه ای که اذعان دارد کاهش رشد ناشی از ازدحام می تواند به تغییرات هورمونی و متابولیسمی مربوط باشد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که میانگین تعداد جنـــین های فلاش شده از شاخ رحم موش های گروه های تحـــت استرس شدید به طور قابل ملاحظه ای کمتر از گروه تحت استرس متوسط است که این یافته با نتایج شرک و همکاران مبنی بر این که شدت استرس به بروز پاسخ های متفاوتی در حیوانات منجر می شود، همخوانی دارد،(3). هم چنین به طور مشابهی در سال 2001، وان لو و همکاران اثر اندازه گروه ها را بر تغییرات تهاجمی موش های نر نژاد BALB/c بررسی کردند. آن ها نشان دادند که رفتار تهاجـــمی بین نرها در گروه های 8 تایی نسبت به

گروه های 3 و 5 تایی به طور قابل ملاحظه ای بیشتر بود.(26)

در مطالعه ای دیگر، پاسخ های نوروموتوری در 90 بچه میمون متولد شده از حاملگی های نرمال و تحت استرس ارزیابی گردید و محققین نشان دادند که آشفتگی های فیزیولوژیک مکرر در طول حاملگی به صورت قطع ارتباطات اجتماعی حیوانات ماده حامله، به طور قابل ملاحظه ای حرکات بچه های جوان را در تست های نوروموتوری تغییر داد،(27). در مطالعه ای دیگر، تاثیر استرس را در درمان هایIVF با سنجش میزان هورمون های وابسته به استرس مثل کورتیزول و پرولاکتین سرم بررسی نموده و گزارش کردند که احتمالا بین استرس و شانس حاملگی ارتباطی وجود دارد،(8،7). مطالعـــات نشان داده اند دسته ای از مریض هایی که از سقط رنج می برند ممکن است دارای اختلالات روحی و روانی نیز باشند،(10،9). بررسی ها نشان داده اند که استرس میزان موفقیت حاملگی را در سقط های با دلیل نامشخص افزایش داده است،(11). در مقابل، کاگابو در سال 1986 اثر تراکـــم جمعیت را بر تعداد تخمک های آزاد شده در رت های ماده بالغ 12 هفته که قبلا تحریک تخمک گزاری شده بودند، بررسی کردند و نشان دادند که وقتی رت ها به تعداد 3، 6 و 9 عدد در هر قفس به ابعـــاد(180mm ×380×260) از روز سی ام تا هفته 12 قرار می گیرند، اختلاف معنی داری در تعداد تخمک های آزاد شده در جمعیت های با تراکم گوناگون مشاهده نمی شود،(28). علت اختلاف نتایج مطالعه فوق با نتایج مطالعه حاضر می تواند تفاوت در نوع حیوان و سن حیوانات مورد مطالعه باشد. به طوری که نشان داده شده واکنش گونه ها از نظر پاسخ فیزیولوژیکی و نتیجه تولید مثلی در برابر استرس متفاوت می باشند(3) و سن حیوانات در مطالعه مذکور 12 هفته ولی در مطالعه حاضر 4 هفته بوده که این تفاوت سن می تواند در تفاوت نتایج موثر باشد. در ضمن، مطالعه مذکور بر روی تخمک ها بوده در حالی که مطالعه حاضر روی بلاستوسیست بوده است.

عدم اختلاف معنی دار تعداد بلاستومرها در بلاستوسیست های فلاش شده در گروه های مورد مطالعه می تواند به این صورت توجیه شود که استرس می تواند با تاثیر روی بعضی از بلاستومرها باعث مرگ آن ها شود و وقتی که تعداد بلاستومرهای یک بلاستوسیست از حد آستانه ای کاهش یابد، آن بلاستوسیست دژنره شده و از بین می رود، بنابراین، کاهش تعداد بلاستوسیست ها در مطالعـه حاضـــر می تواند امری طبیعی باشد، به همین دلیل از آنجایی که بلاستوسیست های دژنره و مرده و به دنبال آن تعداد بلاستومرهای آن ها در طی فلاش کردن در دسترس نیستند، شاید با وجود اثرات منفی استرس بر روی تعداد بلاستومرها، تعداد بلاستومرها در جنین موش های تحت تاثیر استرس متوسط و زیاد، تفاوتی معنی دار با گروه کنترل مشاهده نشده است. با این وجود، برای اثبات آن به مطالعات بیشتری نیاز است.

مطالعات نشان داده اند که استرس می تواند تعادل بین سیتوکین های ترشحی را در جریان حاملگی بر هم زده و به نقص در لانه گزینی و سقط جنین منجر شود،(13). همچنین مشخص شده است که استرس های مداوم می تواند باعث اختلال باروری از طریـــق ضعیف کردن عمل کرد تخمدان، کاهش سیکل های قاعدگی(14) و کاهش سطح پروژسترون(15) و افزایش میزان سقط جنین(16) شود. سطـوح استـــــرسی بالا باعث کاهش میـــــزان لانه گزینی(17)، طـــــــولانی شدن سیکل های قاعدگی(18) و سقـــــط جنین بعد از هفتـــه 11 می شود،(19). عوامل استرس زا با توجه به مرحـــله بلوغ می توانند باعث شتاب دادن و یا به تاخیر انداختن تولید مثل شـــــوند که از طریق پاسخ های متغیر فیزیولوژیکـــــی بر آترزی، رشد و تخمک گذاری تاثیـــــر می گذارند،(3). عوامل استرس زای محیطی به ویژه تغذیه می توانند بر زمان بلوغ، کیفیت گامـــــت ها، رشد و باروری اثر بگـذارند. بیشـــتر وقایع تولید مثلـــی به وسیله گونـــادوتروپین های LH و FSH کنترل می گردد و اخبـــار ضـــد و نقیضی از اثـــر استـــرس بر گونـــادوتروپیـــن ها و هـورمون های جنسی وجـــود دارد.

به طور خلاصه، مطالعه حاضر نشان داد که تراکم جمعیت می تواند با کاهش تعداد جنین های حاصله در بلاستوسیست موش سوری، عامل بسیار مهمی در ناباروری باشد.

سپاس گزاری

این مطالعه، طرح مصوب دانشگاه علوم پزشکی قزوین می باشد و بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی قزوین در شتامین هزینه انجام این مطالعه تقدیر و تشکر به عمل می آید.

References

۱-Leridon H, Slama R. The impact of a decline in fecundity and of pregnancy postponement on final number of children and demand for assisted reproduction technology. Hum Reprod. ۲۰۰۸ Apr ۳. PMID: ۱۸۳۸۷۹۶۰

۲-Selye H. Forty years of stress research: principal remaining problems and misconceptions. Can Med Assoc J ۱۹۷٦; ۱۱۵(۱):۵۳-٦. PMID: ۱۲۷۷۰٦۲

۳-Schreck CB. Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny. Aquaculture ۲۰۰۱ June; ۱۹۷(۱-٤): ۳-۲٤.

٤-Hansen D, Lou HC, Nordentoft M, Pryds OA, Jensen FR, Nim J, et al. The significance of psychosocial stress for pregnancy course and fetal development. Ugeskr Laeger ۱۹۹٦ Apr ۲۲;۱۵۸(۱۷): ۲۳٦۹-۷۲. PMID: ۸٦۸۵۹۸۸

۵-McGrady AV. Effects of psychological stress on male reproduction: a review.Arch Androl. ۱۹۸٤;۱۳(۱):۱-۷. PMID: ٦۱۵۲۵۲۷

٦-Zorn B, Šuc ur V, Stare J, Meden-Vrtovec H. Decline in sex ratio at birth after ۱۰-day war in Slovenia. Hum Reprod. ۲۰۰۲ Dec; ۱۷(۱۲):۳۱۷۳-۷. PMID: ۱۲٤۵٦٦۲۰

۷-Harlow CR, Fahy UM, Talbot WM, Wardle PG, Hull MG. Stress and stress-related hormones during in-vitro fertilization treatment. Hum Reprod. ۱۹۹٦ Feb;۱۱(۲):۲۷٤-۹. PMID: ۸٦۷۱۲۰۸

۸-Milad, M.P, Klock, S.C, Moses S, Chatterton R. Stress and anxiety do not result in pregnancy wastage. Hum. Reprod ۱۹۹۸; ۱۳: ۲۲۹٦–۳۰۰. PMID: ۹۷۵٦۳۱٤

۹-Berle B.B. & Javert C.T. Stress and habitual abortion: their relationship and the effect of therapy. Obstet. Gynecol.۱۹۵٤; ۳: ۲۹۸–۳۰٦. PMID: ۱۳۱۳۳۲۵۷

۱۰-Neugebauer R, Kline J, Shrout P, Skodol A., O'Connor P, Geller P.A, et al. Major depressive disorder in the ٦ months after miscarriage. JAMA۱۹۹۵; ۲۷۷: ۳۸۳–۸۸. PMID: ۹۰۱۰۱۷۰

۱۱-Stray-Pedersen B, Stray-Pedersen S. Etiologic factors and subsequent reproductive performance in ۱۹۵ couples with a prior history of habitual abortion. Am. J. Obstet. Gynecol. ۱۹۸٤; ۱٤۸: ۱٤۰–٦. PMID: ٦٦۹۱۳۸۹

۱۲-Agrawal A, Gupta S, Sharma RK. Role of oxidative stress in female reproduction. Reprod Biol Endocrinol. ۲۰۰۵ Jul; ۳: ۲۸. PMID: ۱٦۰۱۸۸۱٤

۱۳-Ladee Bataille N. Koeppel B, Frydman R, Chaouat G. The impact of stress in the maternofetal relationship: an immunological approach. Gynecol Obstet Fertil. ۲۰۰۳ Sep; ۳۱(۹):۷۷۸-۸۱. PMID: ۱٤٤۹۹۷۲۷

۱٤-Shively CA. Social subordination stress, behavior, and central monoaminergic function in female cynomolgus monkeys. Biological Psychiatry ۱۹۹۸; ٤٤(۹):۸۸۲-۹۱. PMID: ۹۸۰۷٦٤۳

۱۵-Shively CA, Laber-Laird K, Anton RF. Behavior and physiology of social stress and depression in female cynomolgus monkeys. Biological Psychiatry ۱۹۹۷; ٤۱(۸): ۸۷۱- ۸۲. PMID: ۹۰۹۹٤۱٤

۱٦-Altmann J, Sapolsky RM, Licht P. Baboon fertility and social status. Nature ۲۰۰۲; ۳۷۷: ٦۸۸- ۸۹. PMID: ۷٤۷۷۲۵۸

۱۷-Gallinelli A, Roncaglia R, Matteo ML, Ciaccio I, Volpe A, Facchinetti F. Immunological changes and stress are associated with different implantation rates in patients undergoing in vitro fertilization–embryo transfer. Fertility and Sterility ۲۰۰۱; ۷٦(۱): ۸۵-۹۱. PMID: ۱۱٤۳۸۳۲٤

۱۸-Hjollund NHI, Jensen TK, Bonde JPE, Henriksen TB, Andersson A, Kolstad HA, et al. Distress and reduced fertility (a follow-up study of first-pregnancy planners). Fertility and Sterility ۱۹۹۹; ۷۲(۱): ٤۷-۵۳. PMID: ۱۰٤۲۸۱٤۷

۱۹-Boyles S, Ness RB, Grisso JA, Markovic N, Bromberger J, CiFelli D. Life event stress and the association with

spontaneous abortion in gravid women at an urban emergency department. Health Psychology ۲۰۰۰;۱۹(٦): ٥۱۰-۱٤. PMID: ۱۱۱۲۹۳٥۳

۲۰-Zhang L. XRedox-Induced apoptosis of human O ocytes in resting follicles in vitro. J Soci Gynec Invest. ۲۰۰٦; ۳ (٦): ٤٥۱-۸. PMID: ۱٦۸۷۹۹۹۱

۲۱-LaRosa C , Downs SM. Stress stimulates AMP-activated protein kinase and meiotic resumption in mouse Oocytes. Biol Reprod ۲۰۰٦; ۷٤: ٥۸٥-۹۲. PMID: ۱٦۲۸۰٤۱٥

۲۲-Shively C A, Register TC, Friedman D P, Morgan T M, Thompson J, LanierT. Social stress-associated depression in adult female cynomolgus monkeys (Macaca fascicularis). Biological Psychology ۲۰۰٥; ٦۹: ٦۷–۸٤. PMID: ۱٥۷٤۰۸۲٦

۲۳-Rajaei F, NWK Karja, B Agung, P Wongsrikeao, M Taniguchi۱, M Murakami۱, et al. Analysis of DNA fragmentation of porcine embryos exposed to cryoprotectants. Reprod Dom Anim ۲۰۰٥; ٤۰: ۱-٤. PMID: ۱٦۱٤۹۹٤۷

۲٤-Yıldız A, Hayirli A, Okumus Z, Kaynar Ö, Kısa F. Physiological profile of juvenile rats:effects of cage size and cage density. Lab Anim (NY). ۲۰۰۷ Feb;۳٦(۲):۲۸-۳۸. PMID: ۱۷۲٤٥۳۸٦

۲٥-Foltz C, Carbone L, DeLong D, Rollin BE, Van Loo P, Whitaker J, et al. Considerations for determining optimal mouse caging density. Lab Anim (NY). ۲۰۰۷ Nov; ۳٦(۱۰): ٤۰-۹. PMID: ۱۷۹٥۷۱۷۹

۲٦-Van Loo PL, Mol JA, Koolhaas JM, Van Zutphen BF, Baumans V. Modulation of aggression in male mice: influence of group size and cage size. Physiol Behav. ۲۰۰۱ Apr; ۷۲(٥):٦۷٥-۸۳. PMID: ۱۱۳۳٦۹۹۹

۲۷-Schneider ML, Coe CL: Repeated social stress during pregnancy impairs neuromotor development of the primate infant. J Dev Behav Pediatr. ۱۹۹۳ Apr; ۱٤(۲):۸۱-۷. PMID: ۸٤۷۳٥۲۸

۲۸-Kagabu S. Influence of body weight and population density on the number of ova shed in the superovulation-treated adult rat. Jikken Dobutsu. ۱۹۸٦ Jul; ۳٥(۳):۲۷٥-۷. PMID: ۳۷۷۰۰۷۹.

Effects of Overcrowding on Mice Blastocyst

Rajaei F, Hadigol T*

(Received: 11 Dec. 2009 Accepted: 25 May. 2010)

Abstract

Introduction: The increase of social stress following the technological improvements appears to be an important factor that causes psychosomatic disorders and finally results in infertility. Since anxiety and depression are more prevalent in women than men, it seems the effect of stress can be observed more in female organs such as genital system. Therefore, the present study was conducted to investigate the effect, of stress on number and quality of flushed mice blastocysts.

Materials & Methods: In our study, 50 mature female mice of the Swiss Albino species were selected and randomly divided into 3 groups. Group 1 as control group(low stress group) with 5 mice in a cage (3 cages), Group 2 (high stress group) with 10 mice in a cage (2 cages), and Group 3 (high stress group) with 15 mice in a cage (1 cage). Each group was kept in a special mouse cage for one month. After 1 month, the animals were induced to superovulate with i.p injections of 10 IU of PMSG and 10 IU of HCG given 48 h apart, and were mated with Swiss Albino male mice. Mice with positive vaginal plug were placed again as 5, 10 and 15 members in their cages. After 98 h post HCG injection, embryos, mostly at the blastocyst stage, were collected from the uteri of mated animals by flushing. The number of flushed blastocysts, and blastomers in each embryo in 3 groups were analyzed statistically.

Findings: Our results showed that the mean number of flushed blastocysts in control low stress group (7,7±2,8) and high stress group (2,4±2,1) was significantly lower than control group (14,8± 3,4), and also the mean number of blastomers in low stress group and high stress group showed no significant difference in comparison to control group. (P=0,176)

Discussion & Conclusion: It can be concluded that overcrowding could be considered an important factor in infertility by decreasing the number of flushed blastocysts in mice.

Keywords: overcrowding, blastocysts, mouse

Dept of Anatomy & Infertility Research Centre, Faculty of Medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran
**(corresponding author)*