

بررسی چگونگی تاثیر آگونیست هورمون آزاد کننده گنادوتروپین (GnRH-a) به صورت غیرپالسی بر روی تخمدانها در موشهای نابالغ رت (Rat)

علیرضا قنادی M.Sc.*¹، محمدحسین نصراصفهانی Ph.D.*²، زین الدین بهدادی پور Ph.D.*³

* مرکز باروری و ناباروری شیراز، بخش IVF

* دانشگاه آزاد اسلامی لارستان، گروه پزشکی

* پژوهشکده رویان، گروه جنین شناسی

* مرکز باروری و ناباروری اصفهان

* دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، دانشکده پزشکی، گروه علوم تشریح

✉ آدرس مکاتبه: شیراز، صندوق پستی: ۷۱۸۳۹-۹۴۵۱۴، مرکز باروری و ناباروری شیراز

پست الکترونیک: Email:ghanadi_ar628@yahoo.com

مکیده

دریافت مقاله: ۸۲/۸/۲۹، پذیرش مقاله: ۸۳/۶/۲۸

*** هدف:** بررسی چگونگی تاثیر آگونیست GnRH به صورت غیرپالسی بر روی تخمدانهای رت (Rat) نابالغ.

*** مواد و روشها:** در این بررسی موشهای نابالغ را به گروههای ۷، ۱۷ و ۲۷ روزه تقسیم کرده و هر یک از گروهها را به چهار زیر گروه چهارتایی تقسیم و به ترتیب به هر زیر گروه میزان ۶۶۶۰ ng/kg و ۶۶۶ ng/kg و ۶۶/۶ ng/kg و یا آب مقطر هر ۱۲ ساعت یک بار به مدت ۳ روز به صورت زیر جلدی (S.C.) تزریق شد. از موشهای نابالغ نرمال نیز به عنوان گروه شاهد دوم استفاده شد. تخمدانها را پس از قطع نخاعی، خارج و بعد از تدارکات بافتی و رنگ آمیزی، مقاطع به صورت سریال ۵ میکرونی با فواصل ۱ به ۱۰ از ابتدا تا انتهای هر تخمدان مشاهده شد.

*** یافته ها:** در موشهای ۷ روزه تزریق دوز بالا باعث کاهش معنی داری در تعداد فولیکولهای وزیکولار اولیه نسبت به گروه شاهد شد ($P < 0.05$) و در دوزهای دیگر در همین سن تغییرات چشم گیری مشاهده نشد. در گروه سنی ۲۷ روزه دوز بالا سبب تغییری در تعداد فولیکولهای اولیه و فولیکولهای وزیکولار اولیه نگردید لیکن باعث کاهش فولیکولهای وزیکولار ثانویه و گراف شد، اما تعداد جسم زرد به طور محسوسی افزایش یافته بود، در صورتی که در دوز متوسط برخلاف دوز بالا باعث افزایش تعداد فولیکولهای وزیکولار ثانویه و گراف گشته ولی تعداد جسم زرد مانند گروه فوق تا حدی افزایش معنی داری داشت ($P < 0.05$). در مقایسه بین موشهای نابالغ ۲۷ روزه و بالغ ۶۰ روزه نشان می دهد که در بالغین تعداد فولیکولهای اولیه و وزیکولار اولیه نسبت به نابالغین کاهش محسوسی پیدا کرده ولی تعداد فولیکولهای وزیکولار ثانویه و گراف و جسم زرد نسبت به نابالغین افزایش داشته است ($P < 0.05$), در صورتی که در مقایسه دوز متوسط در همین سن تقریباً با گروه بالغین همگون بود.

*** نتیجه گیری:** در پایان می توان اظهار داشت که دوزهایی از آگونیست GnRH به صورت غیرپالسی در نابالغین، احتمالاً می تواند سبب رشد فولیکولها و همگون شدن آنها نسبت به بالغین شود. دوزهای بالا رشد اولیه فولیکولها را تحریک می کند ولی تکامل و رشد فولیکولهای رسیده را سرکوب می نماید و دوزهای پایین تأثیر چندانی در روند رشد فولیکولها نخواهد داشت.

کل واژگان: تخمدان، القاء تخمک گذاری، رت، GnRH

نشریه پزشکی یخته، سال ششم، پاییز ۸۳، شماره ۲۳، صفحات ۱۳۱-۱۳۴

مقدمه

می گردد که مقدمه ای برای تخمک گذاری است (۲). اما بعد از تخمک گذاری و در طی فازلوتئال پالس های GnRH به تدریج کاهش یافته و منجر به کاهش آزادسازی LH و FSH در اواخر سیکل می گردد. بنابراین این روند به هماهنگی هورمونهای هیپوتالاموس - هیپوفیز - گنادی وابسته است (۳) و در صورت ایجاد اختلال در هر یک از قسمتهای فوق الذکر می تواند به عنوان یکی از علتهای ناباروری مطرح گردد. در این راستا و برای رفع مشکل ناباروری روشهای متفاوتی در دنیا رایج شده است. به طوری که تحقیقاتی در

ترشح گنادوتروپینهای هیپوفیز با ترشح پالسی هورمون آزادکننده گنادوتروپین GnRH¹ از هیپوتالاموس، با باز شدن کانالهای کلسیمی آغاز و باعث به وجود آمدن سیکلهای طبیعی جنسی در زنان می شود (۱). ترشح پالسی GnRH در کل سیکل یکسان نیست به طوری که در اوایل سیکل تخمدانی ترشح پالسی GnRH باعث رهایی بیشتر FSH² و میزان کمتری LH³ از هیپوفیزی می شود که این امر تحریک رشد فولیکولها را به دنبال خواهد داشت. در اواسط سیکل با افزایش فرکانس پالسهای GnRH ترشح LH نسبت به FSH بیشتر شده و به صورت موجی ظاهر

1. Gonadotropin Releasing Hormone
2. Follicle Stimulating Hormone
3. Luteinizing Hormone

تحریک نمود (۸). به تازگی مصرف دوزهای اندک آگونیست GnRH، را به همراه دوز بالای گنادوتروپینها بدون کاربرد هورمون رشد (GH) سبب بالا رفتن میزان جایگزینی و حاملگی در بیماران شده است به خصوص در زنانی که سن بالا داشته و نیاز به مصرف بالای گنادوتروپینها دارند (۹). از طرفی در مقایسه‌ای که بین آنالوگهای GnRH با آنتاگونیستهای GnRH، جهت Down Regulation انجام گرفت، نشان داد که میزان جایگزینی درگروهی که آنتاگونیستهای GnRH را دریافت داشته‌اند کمتر بوده که این امر می‌تواند احتمالاً مربوط به کاهش بیوسنتز فاکتورهای رشد باشد که توسط آنتاگونیستهای GnRH ایجاد شده است (۱۰). همچنین استفاده از GnRH-a در درمان بلوغ زودرس مرکزی پیشنهاداتی شده است (۱۱). بنابراین اثر سودمندی مهار گنادوتروپینها در طی برنامه‌های ART جلوگیری از اثرات مضر گنادوتروپین‌های اندروژن در دستیابی به فولیکول بیشتر و کیفیت بهتر اووسیت و در نتیجه افزایش شانس حاملگی است (۱۲).

البته از کاربرد GnRH-a به جای HCG در یک سری از گزارشات آمده است به طوری که در یک بررسی مقایسه‌ای که بین GnRH-a و HCG در دستیابی به اووسیت در بیماران PCO انجام گرفت دریافتند که چون این بیماران بیشتر در معرض تحریک بیش از حد تخمدان هستند تزریق GnRH در جلوگیری از این سندرم مؤثرتر خواهد بود (۱۳) چرا که کاربرد GnRH به جای HCG ابتدا سبب موج LH-FSH اندروژن می‌گردد که این امر در بلوغ نهایی اووسیت لازم و ضروری است (۱۴). این مطالعات توسط Imoedemhe و همکاران در کاربرد GnRH-a به جای HCG تأیید کرده‌اند (۱۵) در تحقیق دیگر نیز آمده است که استفاده از GnRH-a low dose (۱۶) در کاربرد GnRH به جای HCG جهت بلوغ فولیکولی در بیمارانی که دچار سندرم تحریک بیش از حد OHSS هستند، مؤثر بوده و حاملگی و جایگزینی را افزایش داده و حتی سبب surge کمی FSH که یک عامل فیزیولوژیک در روند بلوغ فولیکولی است خواهد شد (۱۶). از طرفی القاء بلوغ فولیکولهای Pre ovulatory توسط GnRH-a در محیط *in vitro*، نشان داده است که سلولهای گرانولوزا فرآیند استروئیدوژنز بهتری داشته و سبب surge هورمونهای LH و FSH جهت بلوغ فولیکولی نسبت به کاربرد HCG داشته است (۱۷). همچنین از تأثیرات مستقیم آگونیست GnRH جهت القاء تخمک‌گذاری بر روی موش نیز تحقیقاتی انجام داده‌اند و دریافتند که تزریق $1 \mu\text{g}$ از آگونیست GnRH به صورت زیر جلدی بر روی موشهای نابالغ ۲۳ روزه که هیپوفیزاکتومی شده بودند سبب القاء تخمک‌گذاری می‌شود که این اثر از طریق اثر مستقیم بر روی تخمدان با افزایش TPA یا فعال کننده پلاسمینوژن بافت تخمدان است (۱۸). در تحقیق دیگر از تأثیرات آگونیست GnRH بر روی تخمدانهای موش بالغ در محیط *In vitro* گزارش دادند و دریافتند که تجویز $0.1 \mu\text{g}$ از آگونیست GnRH

زمینه استفاده از گنادوتروپینهای هیپوفیزی انجام گرفته که منجر به درمان موفقیت‌آمیز ناباروری گردیده است. بدین صورت که به کمک گنادوتروپینها می‌توان رشد چند فولیکول را برای باروری در خارج رحم تحریک کرده (IVF)^۱ و سپس جنینها را به داخل رحم انتقال داد (ET)^۲. اما در کاربرد این روشهای جهت القاء تخمک‌گذاری متخصصین با مشکلاتی چون تحریک بیش از حد و یا افزایش (Surge) نابجای LH و در نتیجه توسعه فولیکولهای آترتیک مواجه بودند، و اما بعدها به این نتیجه رسیدند که اگر در معالجه ناباروری علاوه بر گنادوتروپینها از آگونیست GnRH جهت کنترل عمل هیپوفیز استفاده شود درمان مؤثرتر خواهد بود. لذا از آگونیست GnRH برای کاهش تنظیم هیپوفیزی (down-Regulation) در جلوگیری از منحل شدن برنامه درمانی در IVF استفاده شد (۴). در این روش مکانیسم عمل GnRH-a بدین صورت است که با تجویز دوز بالای آگونیست GnRH به صورت غیرپالسی ترشح گنادوتروپینها را مهار می‌کند که این اثر مهاری به دنبال تنظیم منفی رسپتورهای GnRH گنادوتروپهای هیپوفیزی است که به ترشح GnRH اصلی مقاوم می‌شوند (۵). یعنی دوز بالای GnRH باعث می‌شود سلولهای گنادوتروپ هیپوفیزی حساسیت خود را به GnRH از دست داده و متعاقب آن ترشح GnRH کم شده و حالت هیپوگنادوتروپینی ایجاد می‌گردد. البته قبل از مهار ترشح گنادوتروپینها یک اثر تحریکی روی هیپوفیز داشته و باعث افزایش در سطح LH و FSH اندروژن می‌شود، اما چند روز بعد از شروع تزریق GnRH-a سطح LH و FSH کاهش یافته به طوری که این کاهش نیز در سطح LH به مراتب نمایان‌تر است (۶). بدین ترتیب با این روش سیکل طبیعی تخمدان از کنترل هیپوتالاموس هیپوفیز خارج و تحت کنترل دارو در می‌آید و به دنبال این کار پزشک با دادن مقدار کافی گنادوتروپین HMG^3 و HCG^4 تخمدانها را تحریک و باعث تخمک‌گذاری می‌شوند.

در مقایسه‌ای که بین HMG و HMG^۵ به همراه استفاده از آگونیست GnRH که از روز ۲۱ سیکل داده شده، مشاهده گردید که در بیمارانی که HMG/GnRH a- را دریافت داشتند میزان منحل شدن دوره درمانی‌شان از ۳۵/۵ به ۱۴/۲ درصد کاهش یافته بود (۷). در کلینیک همچنین، از اثر کاهش تنظیم هیپوفیزی (down Regulation) توسط آگونیست GnRH در درمان بیماران مبتلا به پلی کلیستیک تخمدانی (PCO)^۵ که توأم با عدم تخمک‌گذاری هستند به همراه HMG استفاده می‌شود به طوری که BUCKLER و همکاران نشان دادند که افزایش تیپیک و نامناسب LH سرم در بیماران مبتلا به PCO منجر به عدم تخمک‌گذاری در این افراد می‌شود. از طرفی سندرم تحریک بیش از حد OHSS^۶ در اکثر بیمارانی که تحت درمان با گنادوتروپینهای اگزوژن قرار می‌گیرند دیده می‌شود اما در بیماران PCO بیشتر است. لذا پیشنهاد شده است که از GnRH-a جهت مهار سریع LH زودرس و جلوگیری از تحریک بیش از حد تخمدان در این گونه افراد می‌توان استفاده کرد و سپس با دادن HMG رشد فولیکولها را

1. In Vitro Fertilization

2. Embryo Transfer

3. Human Chorionic Gonadotrophin

4. Human Menopausal Gonadotrophin

5. Polycystic Ovarian Syndrome

6. Ovarian Hyper Stimulation Syndrom

مواد و روشها

تعدادی موش *Rat* حامله و چهار موش بالغ از نژاد *Albinon - Mari* از لانه حیوانات دانشکده علوم پزشکی اصفهان تهیه نموده و سپس آنها را در قفسهای پلاستیکی مجزا تحت شرایط استاندارد (از نظر نور و دما) یکسان نگهداری نمودیم از تعداد کل نوزادان متولد شده جمعاً ۴۸ موش ماده نابالغ را جدا نموده و آنها را به سه گروه ۷ و ۱۷ و ۲۷ روزه از زمان تولد دسته‌بندی کردیم به طوری که هر گروه شامل ۱۶ موش باشد سپس هر یک از گروه نابالغین را به یک گروه آزمونی ۱۲ تایی و یک گروه شاهد ۴ تایی تقسیم و ۴ موش بالغ نر مال را به عنوان گروه شاهد دیگری برگزیدیم. بدین صورت جمعاً ۵۲ موش ماده را مورد بررسی قرار دادیم گروه آزمون را به ۳ دسته ۴ تایی تقسیم کرده و به دسته اول دوز بالا و دسته دوم دوز متوسط و دسته سوم دوز پایین آگونیست GnRH و به دسته چهارم آب مقطر تزریق نمودیم، با توجه به این که مقدار دوز تزریقی برای یک فرد بالغ ۷۵ کیلوگرمی روزانه یک میلی گرمی (۱۰۰۰ میکروگرم) استفاده می شود (۲۵). لذا ما این دوز را بر اساس وزن موشها به عنوان دوز بالا برگزیدیم و دوزهای متوسط و پایین هر کدام ده و صد برابر رقیق کردیم (وزن متوسط موشهای ۷، ۱۷ و ۲۷ روزه به ترتیب ۱۵gr، ۲۵gr و ۷۵gr بود). بنابراین مقدار دوزهای تزریقی در هر بار تزریق ۶۶۶۰ng/kg به عنوان دوز بالا و ۶۶۶ng/kg به عنوان دوز متوسط ۶۶/۶ng/kg به عنوان دوز پایین تعیین گردید. تزریقات به صورت زیر جلدی با فواصل ۱۲ ساعته برای گروههای آزمون و شاهد انجام شد. از آنجایی که نابالغین سیکل جنسی ندارند؛ لذا طول درمان را به طور انتخابی سه روز برگزیدیم سپس ۱۲ ساعت بعد از آخرین تزریق، موشها را قطع نخاگی کرده تخمدانهای راست آنها را خارج نمودیم پس از تدارک بافتی مقاطع را با ضخامتهای ۵ میکرونی از ابتدا تا انتهای تخمدان تهیه نموده و بعد از رنگ آمیزی به روش هماتوکسیلین - آنروزین (H&E) برشها را با فواصل یک به ده روی لام گذاشته و با میکروسکوپ نوری (Zeiss) مشاهده کردیم در این بررسی ملاک ما شمارش و به دست آوردن میانگین تعداد فولیکولهای اولیه و وزیکولار اولیه و ثانویه و گراف و همچنین جسم زرد بود. همچنین در این بررسی فراوانی فولیکولها (نسبت میانگین هر یک از فولیکولها در یک تخمدان به کل میانگین فولیکولهای همان تخمدان بر حسب درصد) مقایسه گردید. نحوه شمارش فولیکولها بدین صورت بود که ما فقط فولیکولهایی را مورد شمارش قرار دادیم که در هر مقطع اووسیت آنها کاملاً نمایان بود و از شمارش فولیکولهایی که اووسیت آنها مشخص نبود خودداری کردیم سپس نتایج حاصل را با استفاده از نرم افزار SPSS و روش آماری T. Test مورد تجزیه تحلیل قرار داده و $P < 0/05$ به عنوان سطح معنی دار تلقی شد. در این پژوهش به دلیل ضرورت انجام کار عملی که مربوط به شمارش فولیکولهای تخمدان است تقسیم‌بندی به شرح ذیل صورت گرفت:

۱- فولیکول اولیه: به فولیکولی اطلاق می شود که چند لایه سلول گرانولوزا (بیش از دو لایه) در اطراف تخمک قرار گرفته و هیچ گونه فضایی در بین سلولها وجود نداشته باشد.

سبب تخمک گذاری می شود و پیشنهاد کردند که GnRH به طور مستقیم روی تخمدانها اثر کرده و سنتز پروستاگلاندینها را در تخمدانها تحریک و باعث تخمک گذاری می شود (۱۹). از کاربردهای دیگر آگونیستهای GnRH تحریک تخمک گذاری در زنان نازا است. به طوری که کاربرد آنها تعداد و کیفیت فولیکولها را افزایش داده و میزان لوتئینزاسیون زودرس را کاهش و از منحل شدن سیکل درمانی جلوگیری می کند و در افزایش حاملگی مؤثر بوده است. Navot و همکاران نشان دادند که تزریق دوز پایین آگونیست GnRH-a (تقریباً ۱ به ۱۵ دوز نر مال) در اوایل فاز فولیکولار به جای HMG و مترویدین قادر است به طور معنی داری رهایی گنادوتروپینهای اندروژن را القاء نماید و سبب آزادسازی مناسب گنادوتروپینهای اندروژن در ابتدای فاز فولیکولار گردد (۲۰) و در تحقیق دیگر آمده است که تزریق یک درصد دوز نر مال GnRH به صورت زیر جلدی از روز دوم سیکل بدون کاربرد گنادوتروپینهای دیگر باعث تحریک تخمدان و افزایش معنی دار استروژن می گردد (۲۱). همچنین از اثر آگونیست GnRH به صورت پالسی در القاء تخمک گذاری استفاده می گردد. به طوری که مقادیری از این هورمون را از طریق یک پمپ قابل تنظیم پورتابل (زیگوت) به طور ثابت و به صورت پالسی وارد بدن می کنند در این روش احتمال تحریک بیش از حد تخمدان و حاملگی چندقلویی بسیار اندک گزارش شده است و در بیماران مبتلا به آمنوره هیپوتالامیکی بیشترین تأثیر را دارد (۲۲، ۲۳). البته از این مستد درمانی در القاء بلوغ و اسپرماتوزن در مردانی که دچار هیپوگنادوتروپیک و هیپوگنادیسم می باشند نیز استفاده می گردد (۴).

بنابراین با نگاهی بر سیر مطالعات انجام گرفته در کاربرد آگونیستهای GnRH نشان می دهد که از آگونیستهای GnRH در ۱۵ سال اخیر بیشتر در مهار محور هیپوتالاموسی - هیپوفیزی و ایجاد down-regulation استفاده شده و یا در جهت القاء تخمک گذاری از GnRH به صورت پالسی با استفاده از پمپهای قابل تنظیم به کار رفته است. البته تحقیقاتی نیز در زمینه کاربرد دوزهای پایین آگونیست GnRH به صورت غیر پالسی جهت القاء تخمک گذاری با بررسی تغییرات سطح FSH و LH و استروژن سرم در یک سری از افراد نابارور انجام شده اما تحقیقاتی جامع در زمینه بررسی تغییرات بافت شناسی تخمدان به دنبال تزریق غیر پالسی آگونیست GnRH انجام نگرفته است. لذا ما بر آن شدیم که چگونگی تأثیر یک نوع آگونیست GnRH که بازرین استات (Superfact, Hoechst, Germany) نام دارد را به صورت غیر پالسی بر روی تخمدانها در موشهای نابالغ *Rat* مورد بررسی قرار دهیم.

البته علت انتخاب موش نابالغ به دلیل ترشح بسیار کم هورمون GnRH در اثر حساسیت بالای هیپوتالاموس به هورمونهای جنسی است (۲۴) که در نتیجه با تزریق آگونیست GnRH در نابالغین هر گونه اتفاقی که در تخمدان رخ دهد را می توان ناشی از این تجویز دانست.

وزیکولار اولیه و وزیکولار ثانویه افزایش معنی داری مشاهده شد و تزریق دوز پایین در این سن هیچ تفاوتی با گروه شاهد نداشت (جدول ۲).

جدول ۲: مقایسه میانگین تعداد فولیکولهای اولیه و فولیکولهای وزیکولار ثانویه در موشهای ۲۰ روزه

| گروه شاهد | دوز بالا | دوز متوسط | دوز پایین | دوز دارو |
|--------------|----------------|--------------|-------------|----------------------------|
| ۱۶/۰۷۵±۲/۸۹۸ | * ۲۱/۶۷۵±۲/۵۲۲ | ۱۶/۷۲۵±۲/۱۷۸ | ۵۲±۱/۶۷۷ | فولیکولهای اولیه |
| ۳/۷۱±۱/۱۵۸ | * ۱/۶۴۵±۰/۶۷۵ | * ۵/۴۵±۰/۹۴۷ | ۴/۰۷۵±۰/۷۱۸ | فولیکولهای وزیکولار اولیه |
| ۰/۳۹۵±۰/۱۸۶ | * | * ۰/۸±۰/۲۱۶ | ۰/۵۲۵±۰/۰۹۶ | فولیکولهای وزیکولار ثانویه |

* اختلاف معنی دار این گروه با گروه شاهد می باشد $P < 0.05$
میانگین ± انحراف معیار

۳- در گروه موشهای ۳۰ روزه تزریق دوز بالا سبب کاهش معنی داری در میانگین تعداد فولیکولهای وزیکولار ثانویه و گراف و افزایش معنی داری در میانگین جسم زرد نسبت به گروه شاهد نشان داد. اما تزریق دوز متوسط سبب افزایش معنی داری در میانگین تعداد فولیکولهای وزیکولار ثانویه و گراف گردید همچنین در همین دوز میانگین تعداد جسم زرد افزایش معنی داری داشته اما در مقایسه با تزریق دوز بالای آگونیست GnRH کمتر بوده است تزریق دوز پایین در همین رده سنی افزایش معنی داری در میانگین تعداد فولیکولهای گراف نشان داد اما در مقایسه با دوز متوسط چندان محسوس نبود (جدول ۳).

جدول ۳: مقایسه میانگین تعداد فولیکولهای اولیه و فولیکولهای وزیکولار ثانویه فولیکولهای گراف و جسم زرد در موشهای ۳۰ روزه

| گروه شاهد | دوز بالا | دوز متوسط | دوز پایین | دوز دارو |
|--------------|---------------|----------------|---------------|----------------------------|
| ۱۶/۵±۴/۲۲۲ | ۱۵/۶۷۵±۲/۲۴۹ | ۱۲/۸±۲/۵۳۷ | ۱۳/۹۵±۲/۶۹۲ | فولیکولهای اولیه |
| ۴/۳۲۵±۰/۷۴۱ | ۲/۵۷۵±۱/۵۸۲ | ۴/۶±۲/۵۵۷ | ۵/۱۵±۱/۹۳۶ | فولیکولهای وزیکولار اولیه |
| ۰/۵۷۵±۰/۱۲۶ | * ۰/۲۷۵±۰/۱۷۱ | * ۱/۸±۰/۶۴۸ | ۰/۸۲۵±۰/۲۳ | فولیکولهای وزیکولار ثانویه |
| ۰/۱۴۷۵±۰/۰۳۶ | * | * ۰/۱۸۵±۰/۲۶۵ | * ۰/۲۳۷±۰/۰۷۵ | فولیکولهای گراف |
| ۰ | * ۰/۳۵±۰/۱۲۹ | * ۰/۱۷۲۵±۰/۰۴۶ | ۰ | جسم زرد |

* اختلاف معنی دار این گروه با گروه شاهد می باشد $P < 0.05$
میانگین ± انحراف معیار

۴- در مقایسه ای که بین موشهای نابالغ نرمال ۳۰ روزه و بالغ نرمال ۶۰ روزه انجام گرفت، نشان داد که در بالغین تعداد فولیکولهای اولیه و وزیکولار اولیه نسبت به گروه نابالغین

۲- فولیکول وزیکولار اولیه: به فولیکولی اطلاق می شود که یک سری فضاهای پر از مایع بین سلولهای گرانولوزا پدیدار گشته ولی این فضاها از یکدیگر مجزا بوده و حجم کمی را اشغال کرده اند.

۳- فولیکول وزیکولار ثانویه: به فولیکولی اطلاق می شود که دارای یک فضای واحد بین سلولهای گرانولوزا است و اندازه فولیکول در مقایسه با فولیکول وزیکولار اولیه کمی بزرگتر است.

* هر سه فولیکول فوق با بزرگنمایی ۴۰ عدسی شیئی میکروسکوپ نوری قابل دید و شمارش هستند.

۴- فولیکول گراف (رسیده) به فولیکولی اطلاق می گردد که علاوه بر بزرگی فضای آنتروم آن با بزرگنمایی ۴۰ عدسی شیئی میکروسکوپ نوری به طور کامل قابل رؤیت نبوده و جهت شمارش چنین فولیکولهایی از بزرگنمایی ۱۰ عدسی شیئی میکروسکوپ نوری استفاده گردیده است.

یافته‌ها

نتایج حاصل از مقایسه میانگین تعداد فولیکولها و جسم زرد بین دو گروه آزمون و شاهد در دوزهای مختلف در هر یک از گروههای سنی ۷-۱۷-۲۷ روزه بعد از سه روز تزریق به طور جداگانه عبارتند از:

۱- در گروه موشهای ۱۰ روزه تزریق بالای آگونیست GnRH تفاوت معنی داری در میانگین تعداد فولیکولهای اولیه نسبت به گروه شاهد نداشت اما باعث کاهش معنی داری در میانگین تعداد فولیکولهای وزیکولار اولیه نسبت به گروه شاهد شده بود در تزریق دوز متوسط و پایین تغییر چشمگیری بین دو گروه آزمون و شاهد مشاهده نگردید (جدول ۱).

جدول ۱: مقایسه میانگین تعداد فولیکولهای اولیه و وزیکولار اولیه در موشهای ۱۰ روزه

| گروه شاهد | دوز بالا | دوز متوسط | دوز پایین | دوز دارو |
|--------------|---------------|--------------|-------------|----------------------------|
| ۱۲/۴۲۵±۱/۲۰۹ | ۱۳/۳۵±۲/۰۵۵ | ۱۲/۰۷۵±۱/۵۴۶ | ۱۱/۵۷۵±۰/۶۵ | فولیکولهای اولیه |
| ۱/۴۷۵±۰/۲۷۷ | * ۰/۶۲۵±۰/۱۲۶ | ۱/۷۲۵±۰/۲۲۲ | ۱/۲±۰/۲۱۶ | فولیکولهای وزیکولار ثانویه |

* اختلاف معنی دار این گروه با گروه شاهد می باشد $P < 0.05$
میانگین ± انحراف معیار

۲- در گروه موشهای ۲۰ روزه تزریق دوز بالا سبب افزایش معنی داری در میانگین تعداد فولیکولهای اولیه نسبت به گروه شاهد گردید. ولی سبب کاهش معنی داری در میانگین تعداد فولیکولهای وزیکولار اولیه و ثانویه نسبت به گروه شاهد شد، تزریق دوز متوسط در این رده سنی تفاوت معنی داری در میانگین تعداد فولیکولهای اولیه نسبت به گروه شاهد نشان نداد اما در میانگین تعداد فولیکولهای

نرمال) اما در گروه موشهایی که دوز پایین را دریافت داشته‌اند کمتر افزایش داشت (۱/۱ درصد نسبت به ۰/۷ درصد در گروه کنترل) در گروه موشهایی که دوز بالای آگونیست را دریافت داشته‌اند هیچ فولیکول گراف قابل گزارش نبود.

۵- کورپوس لوتئوم یا جسم زرد در دو گروه نابالغ نرمال و موشهایی که دوز پایین را دریافت داشتند، مشاهده نشد ولی در مورد موشهایی که دوز متوسط دارو را دریافت داشتند بین روزهای ۲۰ تا ۳۰ زندگی ۰/۸۷ درصد قابل گزارش است که این مقدار در مورد موشهایی که دوز بالای آگونیست GnRH را دریافت کرده‌اند بیشتر و درصدی برابر ۱/۷۶ درصد را نشان می‌دهد.

جدول ۵: مقایسه میانگین تعداد فولیکولهای اولیه، و زیکولار اولیه، فولیکولهای و زیکولار ثانویه، گراف و جسم زرد در موشهای نابالغ نرمال ۳۰ روزه که دوز متوسط دارو را دریافت کرده‌اند با موشهای بالغ نرمال ۶۰ روزه

| فولیکولها | موشهای نابالغ ۳۰ روزه که دوز متوسط دارو را دریافت کرده‌اند | موشهای بالغ نرمال ۶۰ روزه |
|-----------------------------|--|---------------------------|
| فولیکولهای اولیه | * ۱۲/۱±۲/۵۴۷ | ۵/۲۵±۰/۸۶۶ |
| فولیکولهای و زیکولار اولیه | * ۶/۶±۲/۵۵۷ | ۲/۰۵±۰/۶۷۶ |
| فولیکولهای و زیکولار ثانویه | ۱/۸±۰/۶۴۸ | ۱/۴۷۵±۰/۵۷۴ |
| فولیکولهای گراف | * ۰/۸۵±۰/۲۶۵ | ۴/۱۲۵±۱/۳۲۵ |
| جسم زرد | * ۰/۱۷۲۵±۰/۰۴۶ | ۰/۹۲۵±۰/۱۲۶ |

* اختلاف معنی‌دار این گروه با گروه بالغ می‌باشد $P < 0.05$ میانگین ± انحراف معیار

بحث

با بررسی نتایج به دست آمده از این تحقیق می‌توان اظهار داشت که دوزهای بالای آگونیست GnRH رشد اولیه فولیکولها را تحریک و رشد فولیکولهای رسیده را مهار می‌کند. این مسئله می‌تواند مربوط به اثر تحریکی این دوز روی هیپوفیز در آزاد سازی تمامی ذخایر FSH و LH در ابتدای تزریق و نیز مهار ترشح گنادوتروپین با تنظیم منفی رسپتورهای گنادوتروپ با ادامه تزریق باشد. به طوری که در گروه موشهای ۱۰ روزه تزریق این دوز سبب کاهش معنی‌داری در میانگین تعداد فولیکولهای و زیکولار اولیه شده است. این مسئله نشان می‌دهد که در این زمان فولیکولها در حال رشد بوده و تزریق دوز بالای آگونیست GnRH سبب مهار این رشد شده است. همین حالت نیز در مورد موشهای ۲۰ روزه اتفاق افتاده است. یعنی با تزریق دوز بالای آگونیست GnRH ابتدا رشد فولیکولهای اولیه را تحریک می‌کند ولی از ادامه رشد آنها و تبدیل به فولیکولهای و زیکولار اولیه و ثانویه جلوگیری می‌کند در نتیجه باعث افزایش معنی‌داری در میانگین تعداد فولیکولهای اولیه و کاهش معنی‌داری در میانگین تعداد فولیکولهای و زیکولار اولیه و ثانویه شده است.

در گروه موشهای ۳۰ روزه تزریق دوز بالای آگونیست GnRH سبب مهار رشد فولیکولهای اولیه و و زیکولار به سمت فولیکولهای

کاهش محسوسی پیدا کرد، ولی تعداد فولیکولهای و زیکولار ثانویه و گراف و جسم زرد نسبت به نابالغین افزایش معنی‌داری داشته است (جدول ۴).

جدول ۴: مقایسه میانگین تعداد فولیکولهای اولیه، و زیکولار اولیه و ثانویه، گراف و جسم زرد در موشهای نابالغ نرمال ۳۰ روزه با موشهای بالغ نرمال ۶۰ روزه

| فولیکولها | موشهای نابالغ ۳۰ روزه | موشهای بالغ نرمال ۶۰ روزه |
|-----------------------------|-----------------------|---------------------------|
| فولیکولهای اولیه | * ۱۶/۵±۴/۲۲ | ۵/۲۵±۰/۸۶۶ |
| فولیکولهای و زیکولار اولیه | * ۴/۳۲۵±۰/۱۷۴۱ | ۲/۰۵±۰/۶۷۶ |
| فولیکولهای و زیکولار ثانویه | * ۰/۵۷۵±۰/۱۲۶ | ۱/۴۷۵±۰/۵۷۴ |
| فولیکولهای گراف | * ۰/۱۴۷۵±۰/۰۴۶ | ۴/۱۲۵±۱/۳۲۵ |
| جسم زرد | * | ۰/۹۲۵±۰/۱۲۶ |

* اختلاف معنی‌دار این گروه با گروه بالغ می‌باشد $P < 0.05$ میانگین ± انحراف معیار

۵- در مقایسه‌ای که بین موشهای بالغ و موشهای ۳۰ روزه که دوز متوسط دارو را دریافت داشته‌اند، نشان داد که میانگین تعداد فولیکولهای و زیکولار ثانویه دو گروه اختلاف معنی‌داری نداشته است (جدول ۵).

همچنین در این تحقیق، فراوانی (Index) فولیکولها نیز محاسبه گردید و روند آنها را با افزایش سن بین گروههای آزمون و شاهد مقایسه شد که این نتایج بدست آمد:

۱- میانگین تعداد فولیکولهای اولیه با افزایش سن کاهش نشان می‌دهد که در گروه نرمال از ۸۹/۴۲ درصد در موشهای ۱۰ روزه به ۳۵/۴۴ درصد در موشهای ۶۰ روزه سیر نزولی داشته است. این روند نیز در مورد کلیه موشهایی که دوز دارو را دریافت داشته‌اند دیده می‌شود که تقریباً همگون با گروه نرمال است اما در موشهایی که دوز بالای آگونیست GnRH را دریافت کرده‌اند این سیر را کندتر نشان می‌دهد.

۲- میانگین تعداد فولیکولهای و زیکولار اولیه در تمام گروهها سیر صعودی داشته که این سیر بین روزهای ۱۰ تا ۲۰ روزه در موشهایی که دوز متوسط و پایین دارو را دریافت داشتند تقریباً همسان با گروه نرمال افزایش داشته و آنهایی که دوز بالای آگونیست را دریافت داشته‌اند روند افزایش در همین زمان چندان چشمگیر نبوده است ولی بین روزهای ۲۰ تا ۳۰ کمی افزایش نشان داده است.

۳- میانگین تعداد فولیکولهای و زیکولار ثانویه در گروه نرمال و موشهایی که دوز پایین را دریافت داشته‌اند تقریباً همسان افزایش داشته، اما در گروه موشهایی که دوز متوسط دارو را دریافت داشته‌اند این افزایش بیشتر نشان می‌دهد ولی در گروه موشهایی که دوز بالای دارو را دریافت کرده‌اند، فقط بین روزهای ۲۰ تا ۳۰ کمی افزایش داشته که کمتر از حد نرمال بوده است.

۴- میانگین تعداد فولیکولهای گراف بین روزهای ۲۰ تا ۳۰ در گروه موشهایی که دوز متوسط دارو را دریافت داشته‌اند نسبت به گروه نرمال افزایش نشان می‌دهد (۴/۳۵ درصد نسبت به ۰/۷ درصد در گروه

دوز بالا و متوسط آگونیست GnRH را دریافت داشته‌اند مربوط به افزایش سریع در ترشح LH و FSH به دنبال تزریق دارو و در نتیجه سبب رشد و آزاد شدن فولیکولهای گراف که از قبل وجود داشته‌اند (مانند گروه شاهد) است. البته در گروه موشهایی که دوز متوسط دارو را دریافت داشتند کمتر از گروه دیگر بوده و فقط یک سری از فولیکولهای گراف آزاد گشته ولی در گروهی که دوز بالای آگونیست را دریافت داشته‌اند تمام فولیکولهای گراف آزاد گشته و تبدیل به جسم زرد شده‌اند به طوری که هیچ فولیکول گرافی در این سن (۳۰ روزه) مشاهده نشد. از این رو می‌توان از دوزهای بالای آگونیست GnRH در دستیابی به فولیکول به جای HCG استفاده کرده که قبلاً نیز در انسان گزارش شده است (۱۳).

با نتایج به دست آمده از فراوانی تعداد فولیکولها می‌توان چنین توجیه کرد که اگر ما تعداد فولیکولهای اولیه را ثابت در نظر بگیریم در گروه شاهد (نرمال) با افزایش سن تعداد فولیکولهای اولیه به تدریج کاهش و تعداد فولیکولهای وزیکولار اولیه و ثانویه و گراف افزایش می‌یابد این امر نیز در تمام گروههایی که دوزی از آگونیست GnRH را دریافت داشته‌اند با اندکی تغییر قابل مشاهده و گزارش است. برای مثال در دوز متوسط دارو فراوانی تعداد فولیکولهای اولیه (۳۰ روزه) به حداقل رسیده (۶۰ درصد از کل فولیکولها) در صورتی که تعداد فولیکولهای وزیکولار اولیه و ثانویه و گراف افزایش یافته که جمعاً حدود ۴۰ درصد می‌شود که اگر همین فراوانی را در گروه نرمال در نظر بگیریم تعداد فولیکولهای اولیه ۸۰ درصد از کل فولیکولها بوده و تعداد فولیکولهای وزیکولار اولیه و ثانویه و گراف کلاً ۲۰ درصد می‌شود. این خود بیانگر این است که GnRH در دوز متوسط نسبت به گروه شاهد حدود ۲۰ درصد روند فولیکوژن را افزایش داده است. در نتیجه می‌توان روند تأثیر دارو را در هر یک از گروههای تزریقی و در گروه شاهد دنبال کرد. در بررسی میانگین فولیکولها نسبت به سن مؤکد تحقیقات قبلی و فوق‌الذکر است. به طوری که ابتدا میانگین فولیکولهای اولیه در روز دهم کمتر از روز بیستم زندگی است که این امر مربوط به وجود محدودیت رشدی است (از جمله عدم محدودیت اندروژن سازی جهت تولید استروژن) سپس با افزایش سن میانگین تعداد فولیکولهای اولیه به تدریج کاهش می‌یابد که این مسئله به علت افزایش توانایی آنها جهت تبدیل به فولیکولهای وزیکولار اولیه و ثانویه و گراف و جسم زرد می‌باشد و فولیکولهای فوق‌الذکر بر خلاف روند فولیکولهای اولیه افزایش می‌یابند که این افزایش در بعضی از دوزها به خصوص دوز متوسط آگونیست GnRH نسبت به گروه شاهد بیشتر بوده است. برای مثال در گروه موشهای ۳۰ روزه فولیکولهای وزیکولار ثانویه حدود ۴ برابر نسبت به گروه شاهد افزایش نشان می‌دهد که این خود بیانگر قدرت تحریک GnRH در دوزهای پایین جهت رشد فولیکولها می‌باشد. بنابراین در این تحقیق با دسته‌بندی فولیکولها و بررسی میانگین فراوانی و روند رشد آنها چنین می‌توان استنباط نمود که دوزهای پایین GnRH قادر به تحریک رشد فولیکولها می‌باشند و همان طور که دیگران در بررسی سرولوژی

وزیکولار ثانویه و گراف شده است. به طوری که نتایج کاهش معنی‌داری را در میانگین تعداد فولیکولهای وزیکولار ثانویه و گراف نشان می‌دهد. در توجیه این امر می‌توان به این مسئله اشاره کرد که با افزایش سن ترشح پالسی GnRH نیز افزایش می‌یابد لذا تزریق دوز بالای آگونیست GnRH می‌تواند اثرات مهاری بیشتری را نسبت به سنهای قبل در مهار رشد فولیکولها داشته باشد، احتمالاً اگر این دوز را به موشهای بالغ دهیم به علت وجود ترشح پالسی GnRH در زمان بلوغ ترشح گنادوتروپینها کاملاً مهار می‌شود.

تزریق دوز متوسط و پایین دارو در گروه موشهای ۱۰ روزه تأثیر چندانی در تحریک رشد فولیکولها نسبت به گروه شاهد نداشته که این امر می‌تواند مربوط به محدودیت سنتز کافی استروژن توسط سلولهای گرانولوزا علی‌رغم افزایش گنادوتروپینها باشد (۱۴، ۲۶).

تزریق دوز متوسط آگونیست GnRH در گروه موشهای ۲۰ و ۳۰ روزه سبب افزایش ترشح گنادوتروپینها بدون اثرات مهاری از هیپوفیز شده که متعاقب آن تولید استروژن افزایش یافته و رشد فولیکولها تحریک می‌گردد. به طوری که در گروه موشهای ۲۰ روزه باعث افزایش معنی‌داری در فولیکولهای وزیکولار اولیه و ثانویه و در گروه موشهای ۳۰ روزه سبب افزایش معنی‌داری در فولیکولهای وزیکولار ثانویه و گراف نسبت به گروه شاهد شده است. این افزایش در فولیکولهای گراف حدود ۶ برابر نسبت به موشهای هم سن خود در گروه شاهد بوده لیکن هنوز این تعداد به اندازه فولیکولهای گراف در موشهای بالغ نرسیده است که این دو مسئله را بیان می‌کند:

۱- GnRH باعث تحریک و افزایش رشد فولیکولها گشته ولی هنوز این افزایش به علت محدودیتهایی که در عدم بلوغ وجود دارد به حد تعداد گراف نرمال نرسیده است.

۲- احتمالاً این مسئله می‌تواند مربوط به محدودیت در سنتز FSH و LH در سلولهای گنادوتروپ هیپوفیزی باشد.

تزریق دوز پایین آگونیست GnRH تأثیر چندانی در تحریک رشد فولیکولها در گروه موشهای ۲۰ روزه نداشته است که شاید مربوط به عدم تحریک کافی رسپتورهای گنادوتروپ هیپوفیزی در ترشح LH و FSH باشد اما در گروه موشهای ۳۰ روزه تزریق این دوز سبب افزایش معنی‌داری در میانگین تعداد فولیکولهای گراف شده است که در توجیه آن می‌توان به افزایش تعداد رسپتورهای GnRH روی سلولهای گنادوتروپ در این زمان و در نتیجه افزایش حساسیت هیپوفیز حتی به دوزهای پایین آگونیست GnRH ربط داد، که این امر سبب ترشح مقدار بیشتر گنادوتروپینها نسبت به گروه نرمال در این گروه شده است. از طرفی فولیکولهایی به ترشح کم گنادوتروپین واکنش نشان داده‌اند که دارای تعداد رسپتورهای FSH و LH بیشتری هستند. بنابراین فولیکولهای وزیکولار ثانویه که دارای رسپتور LH و FSH بیشتری نسبت به فولیکولهای اولیه و وزیکولار اولیه هستند واکنش نشان داده و رشد کرده و به فولیکول گراف تبدیل گشته‌اند. افزایش معنی‌دار جسم زرد در گروه موشهای ۳۰ روزه که

دستیابی به فولیکول و تخمک گذاری استفاده کرد.

۵- آگونیستهای GnRH می توانند ما را در دستیابی به روش مناسب و ارزاتر در القاء تخمک گذاری بدون کاربرد گنادوتروپینها و یا استفاده کمتر از آنها یاری کنند.

تقدیر و تشکر

نویسندگان مراتب تقدیر خود را از آقایان دکتر احمدی، مرکز باروری و ناباروری اصفهان و دکتر صدرخانلو از مرکز باروری و ناباروری ارومیه و دکتر حمید بهرامیان از گروه علوم تشریح اصفهان ابراز می دارند.

گزارش داده اند، دوزهای پایین باعث افزایش سطح استروژن نسبت به گروه شاهد می گردد (۲۰، ۲۱) و احتمالاً این تغییرات اکثراً به علت تحریک GnRH می باشد چرا که در موشهای نابالغ میزان ترشح GnRH محدود است.

نتایج کلی که از بحث بدست می آید به تفکیک عبارتند از:

- ۱- زمان واکنش به آگونیست GnRH نسبت به سن متفاوت است.
- ۲- واکنشها و رشد فولیکولی بعد از زمان خاصی از تولد قابل مشاهده است.
- ۳- با دادن دوز مناسب آگونیست GnRH می توان تخمدانها را تحریک و میانگین تعداد فولیکولهای بالغ را افزایش داد.
- ۴- از دوز بالای آگونیست GnRH می توان به جای HCG در



References

1. Leslie JD: "Text of Endocrinology" Third edition, From W. B saunders company, 1995; 1(252-254), 218-229, 151-159
2. Danied R, Mishell JR, Val D, Rogerio A: "Infertility contraception and Reproductive Endocrinology" third edition, from black well scientific publication, 1991; 3- 32 , 807-823 , 104-124
3. Lenon S, Robert HG, Nathan GK: "Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility" fifth Edition, From Williams Wilkins Co, 1994; 2, 5, 6
4. Gordon BC, Andrew R, Haffman S, Swerd O, Richard J, Snten D, Meldrum R, Florence C: "Theraputic applications of luteinizing- hormone - Releasing hormone and its Analogs" Annals of Internal medicine 1, 1985; 102(5): 643-657
5. Clayton Rn, Catt KJ: "Gonadotropin- releasing- hormone receptors: Characterization, physiological regulation and relationship to reproductive function". Endocrinology reviewe, 1981; 2: 186-203
6. Lanzone. A, Fulghesu. AM, Spina MA, Apa R, Menini E, Caruso A, Mancuso S: "successful Induction of ovulation and conception with combined gonadotropin- releasing hormone agonist plushighly purilied follicle- stimulating hormona in patient with polycystic ovarian disease". The J clinEndocrinology metab 1987; 65: 1253
7. Loutradis A, Kallianidis K, Kosiskos S, Bletsa R, Creatsas G, Michalas S, Ararantions D: "Combined Gn RH agonist and HMG therapy in patient with stimulation failure" Int j gyencol obstet, 1991; 36: 317-321
8. Buckler H, Phillips FE, Kovacs GT, Burger GH, Healy OL: "GnRH Agonist administration in polycystic ovary syndrome" The J. clinical endocrinology, 1989; 31: 151-165
9. Fady IS, Howard DM: "A Modified Microdose GnRHa/ gonado tropin protocol for ovarian stimulation in IVF " Experience in 102 cycles" Middle East Fertility society journal, 2000; 5(3): 204-209
10. Blumen feld Z: "Gonadotropin- Releasing hormone antagonists instead of agonists: a change for the better"? Fertility sterility, 2001; 76(3): 443-445
11. Donald Son MDC, Stanhop R: Leets "Gonadotropin responses to GnRH in precocious puberty treated with GnRH analogues" The J clin Endocrinology, 1984; 21: 499-503
12. Phillip EP, Debbie E, Kenneth AB, Oon PW: "The use of gonadotropin- releasing hormone agonist to regulate oocyte retrieval time" The J Fertility sterility, 1990; 54(4): 652-655
13. Lanzone A, Goido M, Fulghesu AM, Nicoletti MC, Caruso A, Guida C, Mancuso S: "Gonadotropine- releasing hormone agonist versus human choronic gonadotropin as a tigger of Ovulation in polycystic ovarian disease gonadotropin hyper stimulated cycles" The J. Fertility and sterility, 1994; 62: 35-41
14. Carson R, Smith J: "Development and steroidogenic activity of preantral follicles in the neonatal Rat ovary" the J Endocrinol, 1986; 110: 87-92
15. Imoedemhe D, Sique A, Pacpaco E, Olazo A: "Stimulation of endogenous surge of Luteinizing hormone with gonadotrophin-releasing hormone analogue after ovarian stimulation for in vitro fertilization" Fertility and sterility, 1991; 55: 328-332
16. Dan AG: Imoedemhe, Artoro Olazo, Edgardo Pacpaco, Roger C.W. Chan" The use of ultra-low dose of gonadotropin releasing hormon agonist for induction of midcycle endogenous surge of LH for follicular

maturation in patients at high risk of OHSS" Middle East fertility society journal, 2000; 5(3): 213-219

17. Imoedemhe Dag and Pacpaco ELA "In vitro evidence of better steroidogenesis by granulosa cells from pre-ovulatory follicles matured by GnRH-analogue induced LH surge" Middle East fertility society journal 1998; 3: 42-55

18. Hsich A, Cajander S, Dahl K, Kristensen P, Tar NY: "Gonadotropin-releasing hormone induces ovulation in hypophysectomized Rats: Studies on ovarian tissue-type plasminogen activator activity messenger Ribonucleic Acid Content, and cellular localization. The J Endocrinol, 1988; 122: 1486-1495

19. Robert D, Koos and William J: "The effect of a gonadotropin-releasing hormone agonist on ovulation and steroidogenesis during perfusion of Rabbit and Rat ovaries in vitro" The J Endocrinology, 1985; 116: 628-632

20. Scott RT, Navot D: "Enhancement of ovarian responsiveness with micro doses of gonadotropin-releasing hormone agonist during ovulation for in vitro Fertilization" The J of Fertility and sterility, 1994; 61(5): 880-885

21. Navot D, Rosenwoks Z, Anderson F, Hodgen GD:

"Gonadotropin - Releasing agonist - Induced ovarian hyper stimulation: low dose side effects in woman and monkeys" The J Of Fertility and sterility, 1991; 55(6): 1069-1075

22. David SM, Rober RR, Nancy S, Robert WR, Samuel SC: "Pulsatile administration of low-dose gonadotropin releasing hormone ovulation and pregnancy in women with hypothalamic amenorrhea" The J of JAMA, 1983: 250(21): 2937-2941

23. Santoro N, Wlerman ME, Filicori M, Waldstrelde I, Crowley WF: "Inter venous administration of pulsatile gonadotropin releasing hormone in hypothalamic amenorrhea effect of dosage" The J of clinical Endocrinology metab, 1986; 62(1): 109-115

24. Scott FG: "Text of developmental biology" From W. B. Saunders co, Third Edition, 1991; 713-715

25. Jacobson A, Galen D, Milani H, Weckstein L, Jacobson J: "A novel super ovulation regimen: Three day gonadotropin-releasing hormone agonist with overlapping gonadotropins. The J Fertility and sterility 1991; 56(6): 1169-1172

26. Marthin J, Barry E: "Essential Reproduction" second edition, From black well scientific publications, 1984, 75-104



Archive