

## تحقیقی

## ارزیابی کمی در تکوین رویان‌های موش سوری حاصل از لقاح آزمایشگاهی تخمک‌های بالغ حاصل از تحریک تخمدان با استفاده از ترکیب HMG و استرادیول والرات

منیره عامریون<sup>۱</sup>، دکتر کامران حیدری<sup>۲\*</sup>

۱- کارشناس ارشد علوم تشریحی.

۲- سرپرست مرکز تحقیقات سلول‌های بنیادی، معاون پژوهشی مرکز تحقیقات پزشکی سلولی و مولکولی، استادیار گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان.

### چکیده

**زمینه و هدف:** استرادیول اثرات مثبتی در فولیکوژنز و مراحل تکوینی رویان دارد. این مطالعه به منظور ارزیابی کمی در تکوین رویان‌های موش سوری حاصل از لقاح آزمایشگاهی تخمک‌های بالغ به دست آمده از تحریک تخمدان با استفاده از ترکیب HMG (Human Menopausal Gonadotropin) و استرادیول والرات (E2) انجام شد.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی ۴۰ سر موش سوری به طور تصادفی در دو گروه ۲۰ تایی قرار گرفتند. گروه کنترل HMG (۱۰ IU/mouse) را به تنهایی دریافت نمود و به گروه آزمایشی HMG (۱۰ IU/mouse) و استرادیول والرات (۱ μg/mouse) به صورت داخل صفاقی تزریق شد. پس از القای تخمک‌گذاری توسط HCG تخمک‌های حاصله از نظر مورفولوژی ارزیابی شدند. تخمک‌های بالغ MII به منظور انجام IVF به محیط کشت لقاح حاوی اسپرم‌های ظرفیت‌گیری شده منتقل شدند. سپس رویان‌های حاصله از نظر میزان تکوین تا مرحله بلاستوسیت ارزیابی شدند.

**یافته‌ها:** اختلاف بین میانگین کل تخمک‌های حاصل از القای تخمک‌گذاری پس از تحریک تخمدان و درصد تخمک‌های سالم در گروه‌های کنترل و آزمایش از نظر آماری معنی‌داری نبود. در میان تخمک‌های لقاح‌یافته، درصد تکوین و رسیدن به مرحله دوسلولی در گروه کنترل ۳۶/۲۲±۲۱/۸۷ و در گروه آزمایش ۳۶/۸۳±۲۰/۶۸ تعیین شد. درصد رویان‌هایی که به مرحله بلاستوسیت رسیدند در گروه کنترل ۴۹/۴۱±۲۶/۵ و در گروه آزمایش ۶۲/۰۲±۳۰/۱۷ به دست آمد. اختلاف آماری معنی‌داری در بین دو گروه مشاهده نشد.

**نتیجه‌گیری:** اضافه نمودن استرادیول به HMG به عنوان عامل تحریک تخمدان اثر فزاینده‌ای بر کمیت تخمک‌ها و رویان‌های حاصله ندارد.

**کلید واژه‌ها:** تحریک تخمدان، HMG، استرادیول والرات، IVF، موش سوری

\* نویسنده مسؤول: دکتر کامران حیدری، پست الکترونیکی [haidarikamran@yahoo.com](mailto:haidarikamran@yahoo.com)

نشانی: گرگان، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، دانشکده پزشکی، گروه علوم تشریحی، تلفن (داخلی ۳۲۷) ۰۱۷۱-۴۴۲۱۶۵۱-۴۴۴۰۲۲۵  
وصول مقاله: ۹۱/۴/۶، اصلاح نهایی: ۹۱/۸/۲۹، پذیرش مقاله: ۹۱/۱۰/۱۶

### مقدمه

تحریک تخمدان، القای تخمک‌گذاری، جمع‌آوری تخمک، لقاح و کشت رویان در محیط کشت و انتقال رویان به رحم است (۸-۶). به طور معمول برای تحریک رشد چندین فولیکول پره‌آنترال تخمدان از گنادوتروپین آگنوزون مانند HMG (Human Menopausal Gonadotropin) (۸) که حاوی FSH (Follicle Stimulating Hormone) (Luteinizing hormone) LH است و نیز Clomiphene Citrate (CC) و Recombinant Follicle Stimulating Hormone استفاده می‌شود (۹).

در مطالعه‌ای بعد از تحریک با Highly Purified HMG (HP-HMG) و tFSH بر روی بیماران تحت IVF، تخمک‌های بیشتری در گروه

یکی از مهم‌ترین مسایل مربوط به بهداشت باروری در کشورهای در حال توسعه میزان بالای ناباروری و فقدان فرزند است (۱ و ۲). بر طبق آمارها بیش از ۷۰ میلیون نفر در سراسر جهان از ناباروری رنج می‌برند (۳ و ۴). طبق مطالعه وحیدی و اردلان میزان ناباروری در بعضی از نقاط ایران حتی به ۲۱ درصد نیز می‌رسد (۵). برای حل این معضل سال‌هاست که به واسطه روش‌های کمک باروری (ART) با هدف انجام لقاح آزمایشگاهی، اقداماتی بر روی اسپرم، تخمک و رویان صورت می‌پذیرد. از جمله این روش‌ها IVF (In Vitro Fertilization) است که مبنای درمان در آن شامل

شدند. مجموعه‌های تخمک - کومولوس از لوله رحمی با زدن برشی به وسیله سوزن ۲۹ G به ناحیه متورم، جمع‌آوری و به ریز قطره‌های محیط کشت (IVF (T6 و BSA ۱۵ میلی گرم بر میلی لیتر) تحت پوشش روغن معدنی، به انکوباتور مرطوب با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و دی اکسید کربن ۵ درصد منتقل شدند.

تخمک‌های جمع‌آوری شده تحت میکروسکوپ اینورت از نظر مورفولوژی و تعداد، ارزیابی و در سه گروه سالم، دژنره و نابالغ تقسیم‌بندی شدند.

تخمک‌های MII سالم دارای سیتوپلاسمی شفاف به رنگ زرد متمایل به خاکستری و در فضای دوره زرده‌ای دارای یک Polar Body بودند. این تخمک‌ها برای انجام ادامه آزمایشات به محیط کشت IVF منتقل شدند. تخمک‌های دژنره سیتوپلاسم فشرده و به رنگ تقریباً نارنجی داشتند که از مطالعه خارج شدند. تخمک‌های نابالغ دارای Germinal vesicle و تخمک‌های MI که فاقد GV و Polar Body بودند؛ علی‌رغم این که سیتوپلاسم طبیعی همانند تخمک‌های دسته اول داشتند؛ در مطالعه وارد نشدند.

اسپرم‌های ظرفیت‌گیری شده از دم اپیدیدیم موش‌های بالغ نر، پس از قرارگیری به مدت ۱/۵ ساعت در انکوباتور و در قطره‌های حاوی T6 غنی‌شده با BSA (۱۵ mg/ml) به دست آمد. سپس اسپرم‌ها از حاشیه قطره جمع‌آوری و به محیط IVF منتقل شدند. پس از طی زمان ۶-۴ ساعت رویان‌های 2PN برای ادامه روند تکامل در قطره‌های حاوی T6 و BSA (۴ mg/ml) قرار گرفتند. سپس میزان رسیدن رویان‌ها از مرحله دوسلولی تا بلاستوسیست تحت میکروسکوپ معکوس مورد ارزیابی قرار گرفت. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-16 و آزمون آماری t تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

#### یافته‌ها

میانگین کل تخمک‌های حاصل از القای تخمک‌گذاری (مجموعی از انواع تخمک‌های تعریف شده) پس از تحریک تخمدان در گروه‌های کنترل و آزمایش به ترتیب  $20/6 \pm 12/46$  و  $19/56 \pm 8/84$  بود که اختلاف آماری معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نشد (جدول یک).

میانگین درصد تخمک‌های سالم MII در گروه کنترل  $57/31 \pm 26/11$  و در گروه آزمایش  $60/91 \pm 17/61$  به دست آمد. علی‌رغم درصد بیشتر در گروه آزمایش، اختلاف آماری معنی‌داری بین دو گروه یافت نشد (جدول یک).

در میان تخمک‌های لقاح‌یافته، درصد تکوین و رسیدن به مرحله دوسلولی در گروه کنترل  $34/22 \pm 21/87$  و در گروه آزمایش  $36/83 \pm 20/68$  تعیین شد. درصد رویان‌هایی که به مرحله بلاستوسیست رسیدند در گروه کنترل  $49/41 \pm 26/5$  و در گروه

تحت rFSH در مقایسه با گروه تحت HP-HMG به دست آمد؛ اما تکامل تخمک‌ها و نیز میزان بارداری در HP-HMG نسبت به rFSH بیشتر بود (۱۰).

تکامل فولیکول به‌طور مستقیم توسط تحریک گنادوتروپین‌های هیپوفیز FSH و LH و نیز کمپلکس‌های پاراکرین و اتوکرین در داخل تخمدان مانند استروئیدها، سیتوکین‌ها و سایر عوامل تنظیم می‌گردد و استرادیول یکی از مهم‌ترین عوامل اثرگذار در نظر گرفته می‌شود (۱۱ و ۱۲). از طرفی استروژن نقش مهمی در برخی فعالیت‌ها در سطح فولیکول‌های تخمدانی از قبیل تکثیر و تمایز سلول‌های گرانولوزا، القای Gap junctions بین سلولی، سنتز cAMP و تحریک بیشتر تولید گیرنده‌های استروئیدوزن دارد (۱۳ و ۱۴). روند تکامل فولیکول موش وابسته به استرادیول بوده؛ اما مشروط به تحریک با گنادوتروپین‌ها است (۱۳). از آنجایی که کیفیت تخمک براساس میزان لقاح و صلاحیت تکوینی رویان سنجیده می‌شود (۱۵)؛ لذا کاربرد محرک‌های آگروژن مناسب در جهت تکامل فولیکول‌های تخمدانی با استفاده از گنادوتروپین‌هایی چون FSH و به ویژه LH (۱۶) و ایده تقویت فاز لوتئال در چرخه تحریکی لقاح آزمایشگاهی همواره مورد بحث بوده است (۱۷). اثرات حیاتی استرادیول از طرفی با اثرگذاری بر ژنوم تخمک، بر روند تکوینی رویان حاصل از آن بیشتر مشهود می‌شود (۱۳). این مطالعه به منظور ارزیابی کمی در تکوین رویان‌های موش سوری حاصل از لقاح آزمایشگاهی تخمک‌های بالغ به دست آمده از تحریک تخمدان با استفاده از ترکیب HMG و استرادیول والرات (E2) انجام شد.

#### روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۴۰ سر موش سوری ماده و ۱۰ سر موش سوری نر از نژاد NMRI تهیه شده از انستیتو پاستور آمل (ایران) در محدوده سنی ۱۰-۸ هفته‌ای انجام شد.

حیوانات در شرایط دمایی ۲۳-۲۰ درجه سانتی گراد، ۱۲ ساعت روشنایی - ۱۲ ساعت تاریکی و رطوبت ۵۵-۵۰ درصد با دسترسی آزادانه به آب و غذا نگهداری شدند. کلیه مراحل کار با حیوان مطابق آیین‌نامه اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی گلستان رعایت شد. موش‌های ماده به‌طور تصادفی در دو گروه ۲۰ تایی قرار گرفتند و تمامی نتایج دو گروه در سه تکرار به دست آمد.

گروه اول (کنترل) HMG (۱۰ IU/mouse) را به تنهایی دریافت نمود و به گروه دوم (آزمایش) HMG (۱۰ IU/mouse) و استرادیول والرات (۱ μg/mouse) به صورت داخل صفاقی تزریق شد (۱۸ و ۱۹). ۴۸ ساعت بعد، از هورمون HCG به میزان ۱۰ IU/mouse برای القای تخمک‌گذاری استفاده شد. ۱۶-۱۴ ساعت پس از القای تخمک‌گذاری، موش‌ها به روش دررفتگی مهره‌های گردنی کشته

جدول ۱ میزان تکامل تخمک‌ها، رویان‌های دوسلولی و بلاستوسیست موش‌های سوری  
گروه‌های کنترل (دریافت کننده HMG) و آزمایش (دریافت کننده HMG و استرادیول والرآت)

p-value	گروه آزمایش (n=20)	گروه کنترل (n=20)	
۰/۶۹۸	۱۹/۵۶±۸/۸۴	۲۰/۶±۱۲/۴۶	میانگین کل تخمک‌های حاصل از لقاح تخمک‌گذاری
۰/۶۱۴	۶۰/۹۱±۱۷/۶۱	۵۷/۳۱±۲۶/۱۱	میانگین درصد تخمک‌های MII سالم
۰/۷۱۳	۳۶/۸۳±۲۰/۶۸	۳۴/۲۲±۲۱/۸۷	میانگین درصد رویان دو سلولی
۰/۲۳۲	۶۲/۰۲±۳۰/۱۷	۴۹/۴۱±۲۶/۵	میانگین درصد رویان بلاستوسیست

فولیکولوزن، ظرفیت تکاملی تخمک‌های آن، میزان لقاح و تکامل رویانی بررسی کردند؛ همخوانی دارد (۱۳).

از طرفی Pritts و Atwood دریافتند که بالا رفتن سطح استرادیول پلازما با به‌کارگیری استرادیول اگزوزن موجب کاهش میزان تخمک‌های به دست آمده MII می‌شود (۲۰) که بر خلاف مطالعه حاضر است. Elizure و همکاران در بررسی اثرات حاصل از افزودن E2 به HMG در برنامه IVF در بیماران مراجعه کننده به مرکز ناباروری Mac Gill کانادا به این نتیجه رسیدند که در حضور E2 تعداد بیشتری تخمک MII به دست می‌آید (۲۱).

کاربرد E2 اگزوزن در این مطالعه نتوانست اثرات مثبت این استروئید را که به‌طور طبیعی از همکاری سلول‌های تکا و گرانولوزا در فرایند رشد فولیکول تولید می‌شود؛ تقویت کند. شاید یک دلیل آن میزان دوز به‌کار رفته بوده که استفاده از دوزهای بالاتر را می‌طلبیده است. به طوری که در مطالعه Pritts و Atwood اثرات مثبت E2 وابسته به دوز دانسته شد (۲۰).

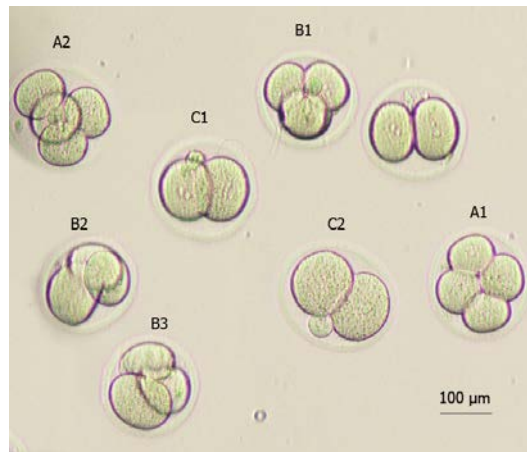
در مشاهده نتایج مطالعه حاضر مربوط به میانگین درصد تخمک‌هایی که ۲۴ ساعت پس از IVF به مرحله دو سلولی رسیدند؛ علی‌رغم افزایش ۲ درصدی در گروه آزمایش تفاوت آماری معنی‌داری حاصل نشد. در مطالعه Shao و همکاران نیز E2 نتوانست با اثرگذاری بر روی ژنوم مادری (تخمک) که صلاحیت تکوینی آتی تخمک‌های موجود در تخمدان را دارا است؛ در یک سیکل تحریک تخمدان - لقاح سبب شود (۱۹).

در مطالعه Karagenc و همکاران که روی میزان تکامل رویان‌ها از مرحله دو سلولی تا بلاستوسیست در حضور E2 انجام شد؛ افزایش مشاهده شده در میزان رویان‌های دو سلولی نشان از نتیجه متفاوت با مطالعه Zhang (۲۲). از طرف دیگر در مطالعه Zhang و همکاران اثرات افزودن E2 و پروژسترون در طول IVF تخمک‌های موش بررسی شد و E2 باعث توقف پیشرفت رویان‌ها به مراحل تکامل بالاتر (مرحله بلاستوسیست) گردید (۲۳).

### نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد که اضافه نمودن استرادیول به HMG به عنوان عامل تحریک تخمدان اثر فزاینده‌ای بر کمیت تخمک‌ها و رویان‌های حاصله ندارد.

آزمایش ۶۲/۰۲±۳۰/۱۷ به دست آمد که اختلاف آماری معنی‌داری نیز از این حیث در بین دو گروه مشاهده نشد (جدول یک) (شکل‌های ۱ و ۲).



شکل ۱: ۴۸ ساعت بعد از لقاح تخمک‌های حاصل از تحریک تخمدان با استفاده از ترکیب تحریکی HMG و استرادیول والرآت رویان‌های چهارسلولی (A1, A2, A3) و سه سلولی (B1, B2) که در این زمان قابل انتظار هستند و رویان‌های دو سلولی (C1, C2) دچار وقفه تکاملی شده‌اند.



شکل ۲: رویان‌های مرحله بلاستوسیست (A1, A2, A3) و رویان‌های فراگمته (B1, B2) ۱۲۰ ساعت پس از لقاح تخمک‌های حاصل از تحریک تخمدان با استفاده از ترکیب تحریکی HMG و استرادیول والرآت

### بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که افزودن استرادیول به HMG به عنوان ترکیب تحریک کننده تخمدان نتوانست اثری مثبت در جهت افزایش تعداد تخمک‌ها و رویان‌های حاصله داشته باشد که با نتایج مطالعه Fatum و همکاران که ارتباط سطح استرادیول E2 را با

## تشریح و قدردانی

حوزه معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی گلستان به‌خاطر پشتیبانی مالی و تجهیزاتی از پایان‌نامه‌های دانشجویی تحت راهنمایی اساتید دانشگاه قدردانی می‌نماید. همچنین از آقای حبیب‌اله سینه‌سپهر به‌خاطر نگهداری مستمر روزانه حیوانات تحت آزمایش سپاسگزاری می‌گردد.

این مقاله حاصل پایان‌نامه خانم منیره عامریان برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته علوم تشریحی از دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گلستان بود. همچنین حاصل طرح تحقیقاتی مصوب معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی گلستان بود و با حمایت مالی آن معاونت انجام شد. نویسندگان مقاله از

## References

- Bergström S. Reproductive failure as a health priority in the Third World: a review. *East Afr Med J*. 1992 Apr;69(4):174-80.
- Leke RJ, Oduma JA, Bassol-Mayagoitia S, Bacha AM, Grigor KM. Regional and geographical variations in infertility: effects of environmental, cultural, and socioeconomic factors. *Environ Health Perspect*. 1993 Jul;101 (Suppl 2):73-80.
- Boivin J, Bunting L, Collins JA, Nygren KG. International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking: potential need and demand for infertility medical care. *Hum Reprod*. 2007 Jun;22(6):1506-12.
- Fathalla MF. Reproductive health: a global overview. *Early Hum Dev*. 1992 Jun-Jul;29(1-3):35-42.
- Vahidi S, Ardalan A, Mohammad K. Prevalence of primary infertility in the Islamic Republic of Iran in 2004-2005. *Asia Pac J Public Health*. 2009 Jul;21(3):287-93.
- Zegers-Hochschild F, Adamson GD, de Mouzon J, Ishihara O, Mansour R, Nygren K, et al. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) revised glossary of ART terminology, 2009. *Fertil Steril*. 2009 Nov;92(5):1520-4.
- Williams SC, Gibbons WE, Muasher SJ, Oehninger S. Minimal ovarian hyperstimulation for in vitro fertilization using sequential clomiphene citrate and gonadotropin with or without the addition of a gonadotropin-releasing hormone antagonist. *Fertil Steril*. 2002 Nov;78(5):1068-72.
- Rosen MP, Zamah AM, Shen S, Dobson AT, McCulloch CE, Rinaudo PF, et al. The effect of follicular fluid hormones on oocyte recovery after ovarian stimulation: FSH level predicts oocyte recovery. *Reprod Biol Endocrinol*. 2009 Apr;7:35.
- Hompes PG, Broekmans FJ, Hoozemans DA, Schats R; FIRM group. Effectiveness of highly purified human menopausal gonadotropin vs. recombinant follicle-stimulating hormone in first-cycle in vitro fertilization-intracytoplasmic sperm injection patients. *Fertil Steril*. 2008 Jun;89(6):1685-93.
- Andersen AN, Devroey P, Arce JC. Clinical outcome following stimulation with highly purified hMG or recombinant FSH in patients undergoing IVF: a randomized assessor-blind controlled trial. *Hum Reprod*. 2006;21(12):3217-27.
- Richards JS. Maturation of ovarian follicles: actions and interactions of pituitary and ovarian hormones on follicular cell differentiation. *Physiol Rev*. 1980 Jan;60(1):51-89.
- Zheng P, Si W, Bavister BD, Yang J, Ding C, Ji W. 17Beta-estradiol and progesterone improve in-vitro cytoplasmic maturation of oocytes from unstimulated prepubertal and adult rhesus monkeys. *Hum Reprod*. 2003 Oct;18(10):2137-44.
- Fatum M, Gyo Y, Diana P, Laufer N, Simon A. Is estradiol mandatory for an adequate follicular and embryo development? A mouse model using aromatase inhibitor (anastrozole). *J Assist Reprod Genet*. 2006 Nov-Dec;23(11-12):407-12.
- Wu TC, Wang L, Wan YJ. Detection of estrogen receptor messenger ribonucleic acid in human oocytes and cumulus-oocyte complexes using reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Fertil Steril*. 1993 Jan;59(1):54-9.
- Hillier SG. Ovarian manipulation with pure gonadotrophins. *J Endocrinol*. 1990 Oct;127(1):1-4.
- Fischer R. Understanding the role of LH: myths and facts. *Reprod Biomed Online*. 2007 Oct;15(4):468-77.
- Drummond AE. The role of steroids in follicular growth. *Reprod Biol Endocrinol*. 2006; 4:16.
- Ghaemi SR, Salehnia M, Valojerdi MR. The effect of progesterone and exogenous gonadotropin on preimplantation mouse embryo development and implantation. *Exp Anim*. 2008 Jan;57(1):27-34.
- Shao R, Nutu M, Karlsson-Lindahl L, Benrick A, Weijdegård B, Lager S, et al. Downregulation of cilia-localized IL-6R alpha by 17beta-estradiol in mouse and human fallopian tubes. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2009 Jul;297(1):C140-51.
- Pritts EA, Atwood AK. Luteal phase support in infertility treatment: a meta-analysis of the randomized trials. *Hum Reprod*. 2002; 17(9):2287-99.
- Elizur SE, Son WY, Yap R, Gidoni Y, Levin D, Demirtas E, Tan SL. Comparison of low-dose human menopausal gonadotropin and micronized 17beta-estradiol supplementation in in vitro maturation cycles with thin endometrial lining. *Fertil Steril*. 2009 Sep;92(3):907-12.
- Karagenc L, Lane M, Gardner DK. Oestradiol, cyclodextrin-encapsulated 17beta-oestradiol and the oestradiol solubilizer 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin all impair preimplantation mouse embryo development. *Reprod Biomed Online*. 2004 Sep;9(3):280-6.
- Zhang L, Du W, Lin X, Zhang A, Chen H. Progesterone and 17beta-estradiol, but not follicle stimulating hormone, alter the sex ratio of murine embryos fertilized in vitro. *Theriogenology*. 2008 May;69(8):961-6.

Original Paper

# Quantitative assessment of mouse embryo development yielded from in vitro fertilization of ovulated mature oocytes after ovarian stimulation using human menopausal gonadotropin and Estradiol valerate

Amerion M (MSc)\*<sup>1</sup>, Haidari K (PhD)<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Msc in Anatomy. <sup>2</sup>Head of Stem Cell Research Center, Deputy Director of Medical Cellular and Molecular Research Center, Assistant Professor, Department of Anatomy, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran.

---

## Abstract

**Background and Objective:** Estradiol plays an important role in folliculogenesis and its developmental stages of embryo. This study was done to determine the quantitative assessment of mouse embryo development yielded from in vitro fertilization of ovulated mature oocytes after ovarian stimulation using human menopausal gonadotropin (HMG) and Estradiol valerate (E2).

**Materials and Methods:** In this experimental study, 40 female NMRI mice were allocated into two groups. Control and treatment groups received HMG alone (10 IU/mouse) and a combination of HMG and E2 (1µg/mouse) in single dose manner, respectively. Following the induction of ovulation by HCG, the oocytes collected and morphologically evaluated. MII oocytes for in vitro fertilization (IVF) were transferred into medium containing capacitated and incubated sperm derived from male NMRI mice. The yielded embryos subsequently transferred into developmental medium for reaching to the blastocyst stage.

**Results:** The difference between the mean percentage of yielded oocytes and healthy MII oocytes in the control and treatment groups was not significant. The percentages of the fertilized oocytes reached to two-cells was 34.22±21.87 and 36.83±20.68 in control and treatment groups, respectively. The percentages of the blastocys stages of embryos was 49.41±26.5 and 62.02±30.11 in control and treatment groups, respectively.

**Conclusion:** The addition of estradiol to HMG as an ovarian stimulator can not increase the rates of yielded MII oocytes and embryonic development.

**Keywords:** Ovarian stimulation, HMG, Estradiol valerat, IVF, Mouse

---

\* Corresponding Author: Haidari K (PhD), E-mail: haidarikamran@yahoo.com

Received 6 July 2012

Revised 19 November 2012

Accepted 5 January 2013