بررسی اثر هیالورونان روی میزان لقاح اسپرم‌های موش سوری قبل از انجماد و پس از ذوب

میترا بختیاری[۱]
رضا محمودی[۲]
علیقلی سبحانی[۳*]
محمد اکبری[۱]
محمد بربرستانی[۱]
پریچهر پاسبخش[۱]
فریدون سر گلزائی[۴]
عظیم هدایت پور[۱]

۱. گروه آناتومی دانشگاه علوم پزشکی تهران
۲. گروه آناتومی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
۳. گروه آناتومی و مرکز تحقیقات بهداشت باروری ولی عصر دانشگاه علوم پزشکی تهران
۴. گروه آناتومی دانشگاه علوم پزشکی زاهدان

*نشانی: تهران، خیابان پورسینا، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پزشکی، گروه آناتومی
تلفن تماس: ۶۴۴۳۲۳۴۸
پست الکترونیک: sobhania@tums.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: علی‌رغم پیشرفت‌هایی که در انجماد اسپرم صورت گرفته است، میزان لقاح اسپرم‌ها پس از انجماد و ذوب به‌طور چشمگیری کاهش می‌یابد. با توجه به‌اینکه هیالورونان نقش مهمی در میزان لقاح اسپرم دارد لذا در تحقیق حاضر اثر دوز ۷۵۰ µg/ml هیالورونان روی میزان لقاح اسپرم‌های موش سوری قبل از انجماد و پس از ذوب بررسی شده است.

روش بررسی: در این مطالعه تعداد ۲۴ سر موش نر سوری به‌صورت تصادفی انتخاب شدند. نمونه‌های بدست آمده از هر حیوان نر به چهار گروه تقسیم شدند. گروه اول (کنترل بدون انجماد)، گروه دوم (کنترل منجمد شده)، گروه سوم (قبل از انجماد ۷۵۰µg/ml هیالورونان افزوده شد) و گروه چهارم (پس از ذوب همین میزان هیالورونان اضافه شد). انجماد اسپرم‌ها در کرایوتیوب ۱/۸ میلی‌لیتری و با استفاده از ضد یخ ۱۸٪ رافینوز و ۳٪ skim milk انجام شد. پس از ذوب کردن نمونه‌ها و تهیه اووسیت متافاز II، IVF صورت گرفت و بعد از ۱۸ ساعت جنین‌های دو سلولی شمارش شدند.

یافته‌ها: نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن دوز ۷۵۰µg/ml هیالورونان پس از ذوب به نمونه‌ها تاثیر مثبتی را روی میزان لقاح اسپرم‌ها دارد، اما اضافه کردن همین دوز قبل از انجماد بر روی فاکتور فوق بی‌تاثیر بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به یافته‌های این مطالعه به نظر می‌رسد که افزودن ۷۵۰ µg/ml هیالورونان به اسپرم منجمد شده پس از ذوب، باعث افزایش میزان لقاح اسپرم‌ها می‌شود. لذا توصیه می‌نمائیم با انجام تحقیقی مشابه در مورد نمونه انسانی و در صورت تایید آن، از نتایج حاصله در کلینیک‌های IVF استفاده به عمل آید.

کلمات کلیدی: هیالورونان، انجماد اسپرم، باروری آزمایشگاهی، میزان لقاح.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19]

مقدمه

تلاش برای حفظ قابلیت باروری اسپرم پستانداران از حدود ۱۳۵ سال پیش شروع شده است. اسپرم فریز شده در پستانداران نر می‌تواند برای انتقال مواد ژنتیکی با ارزش مثلا برای صادرات استفاده شود.[۱] همچنین در حیوانات آزمایشگاهی نظیر موش، یک روش بالقوه برای حفظ رشته‌های جهش‌یافته، منجمد کردن و نگهداری اسپرم آنهاست.[۲] منجمدسازی اسپرم انسانی به‌طور گسترده‌ای در برنامه‌های تلقیح مصنوعی AI و باروری آزمایشگاهی IVF برای نگهداری گامت نر و فراهم آوردن شانسی برای باروری‌های بعدی به‌کار می‌رود. به‌طور مثال در درمان بدخیمی[۳] شیمی‌درمانی سیتوتوکسیک، رادیوتراپی و بعضی از انواع درمان‌های جراحی که ممکن است منجر به یک نقص عملکرد بیضه یا اختلال در عملکرد سیستم انزالی شود، فریز کردن اسپرم‌ها قبل از شروع درمان امیدی برای باروری بعدی بیماران را فراهم می‌کند.[۴] در افراد اهدا کننده اسپرم، استفاده از سمین فریز شده اجازه بررسی جزئیات افراد اهدا کننده ازنظر وجود عفونت‌هایی از قبیل HIV و HBS را به‌وجود می‌آورد.[۵] همچنین برای تکرار اعمال جراحی از قبیل (MESA) Microsurgical Epididimal Sperm Aspiration و (TESE) Testicular Sperm Extraction که به‌عنوان اعمال جراحی درمانی در آزوسپرمی استفاده می‌شود، می‌توان از منجمد کردن اسپرم استفاده نمود.[۶] علیرغم پیشرفت‌های متنوعی که در روش منجمدسازی اسپرم صورت گرفته است موتلیتی و میزان لقاح اسپرم‌ها پس از انجماد و ذوب به‌طور چشمگیری کاهش می‌یابد.[۴] یک راهکار مناسب برای بهبود کیفیت اسپرم منجمد شده، استفاده از مواد افزودنی مختلف از جمله هیالورنیک اسید می‌باشد.[۷] هیالورونان که یکی از اجزاء موکوس سرویکال، مایع فولیکولار و مایع سمینال است.[۸] یک جزء مهم ماتریکس خارج سلولی بوده و نقش مهمی در تنظیم پروسه‌های سلولی مختلف مثل حرکت، اثر متقابل سلول به سلول در طی مورفوژنز و تمایز انجام می‌دهد.[۹] چهارده سال پیش با کشف دو گیرنده هیالورونان در سطح سلول یعنی CD44[۱۰] و RHAMM 1[۱۱] برای اولین بار نقش این ماده در تنظیم مستقیم موتلیتی، مهاجرت و نفوذپذیری سلول مشخص شد.[۱۲] از آنجائی‌که هیالورونیک اسید، موتلیتی و قابلیت باروری اسپرم را پس از انجماد و ذوب بهبود بخشیده و قدرت زنده ماندن اسپرم را افزایش می‌دهد لذا اسپرم در طی عمل متقابل اسپرم ـ اووسیت موثرتر خواهد بود.[۱۳] استفاده از هیالورونیک اسید به‌عنوان یک راهکار کاربردی، در جهت بهبود کیفیت اسپرم در طی انجماد و ذوب توصیه می‌شود. با توجه به اینکه نتایج متضادی در مورد زمان افزودن هیالورونان در پروسه انجمادی در گونه‌های مختلف بدست آمده است لذا در تحقیق حاضر اثر دوز ۷۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر هیالورونان را در دو مرحله قبل از انجماد و پس از ذوب بر روی سمین موش سوری مورد بررسی قرار می‌دهیم.

روش بررسی

تعداد ۲۴ سر موش نر نژاد سوری به‌صورت تصادفی انتخاب شدند، سپس نمونه‌های اسپرم تهیه‌شده از هر موش نر به چهارگروه به شرح زیر تقسیم‌بندی شد: گروه۱ (کنترل تازه): که بدون انجماد تنها درمعرض محیط HTF قرار گرفتند و هیچ دوزی از هیالورونان به این محیط اضافه نشد. گروه۲ (کنترل انجمادی): که در مراحل انجماد و پس از ذوب هیالورونان دریافت نکردند. گروه۳: که قبل از انجماد ۷۵۰ µg/ml هیالورونان افزوده شد. گروه۴: قبل از انجماد هیالورونان دریافت نکرده ولی پس از ذوب، ۷۵۰µg/ml هیالورونان افزوده شد. در تمام گروه‌ها پس از دو ساعت انکوباسیون آنالیز اسپرم انجام شد. سپس تعداد (غلظت) اسپرم‌ها در هر گروه با استفاده از لام نئوبار شمارش شد.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19]

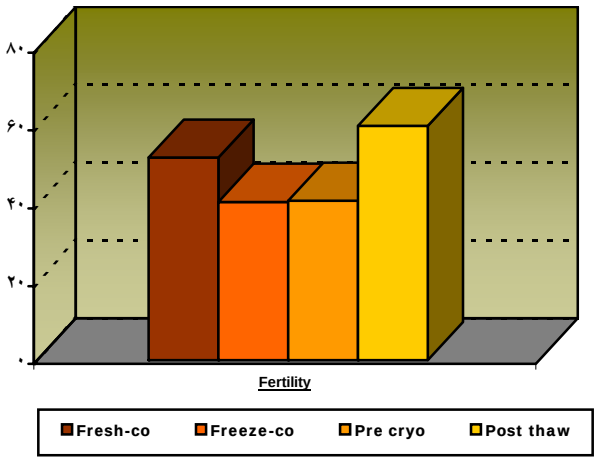
جهت تهیه اووسیت‌های متافازII، ابتدا به موش‌های نژاد سوری ده واحد PMSG داخل صفاقی و بعد از ۴۸ ساعت ده واحد HCG به‌صورت داخل صفاقی تزریق شد. روز بعد با استفاده از جابجایی مهره‌های گردنی موش‌ها کشته شدند. پس از باز نمودن ناحیه شکم، انتهای لوله رحم را که در بین انتهای هریک از شاخ‌های رحم و تخمدان مربوطه قرار داشت جدا نموده و در زیر میکروسکوپ معکوس اووسیت‌های متافاز II با پاره کردن لوله‌های رحم خارج شدند.

جهت IVF نمونه‌های اسپرم به مدت دو ساعت در داخل انکوباتور Co_2 انکوبه شدند تا ظرفیت‌پذیری را به‌دست آورند آنگاه، اووسیت‌های مرحله متافاز II را در قطرات محیط کشت T6 قرار داده و اسپرم‌ها افزوده شده و به مدت ۶-۴ ساعت در انکوباتور CO_2 انکوبه شدند. سپس اووسیت‌ها جهت شستشو به محیط کشت جدید منتقل گردیدند تا اووسیت‌های لقاح یافته در محیط کشت جدید حاوی مواد غذایی کافی رشد نموده و به مرحله دو سلولی برسند. در نهایت در صبح روز بعد تعداد جنین‌های دو سلولی را شمارش نموده و از این طریق میزان لقاح در هر یک از گروه‌های آزمون و کنترل محاسبه گردید (تصویر شماره۱). برای مقایسه گروه‌های آزمون با گروه کنترل از نرم افزار SPSS و آزمون آماری t-test استفاده شد.

تصویر-۱: جنین‌های به‌دست آمده در مرحله دو سلولی.

یافته‌ها

مقایسه فرتیلیته اسپرم‌ها در گروه کنترل با گروه‌های آزمون: میانگین فرتیلیته در گروه۱ (کنترل با اسپرم تازه) ۵۲/۰۶ و در گروه۲ (کنترل با اسپرم فریز شده) ۴۰/۶۵، در گروه۳ (افزودن هیالورونان قبل از انجماد) ۴۰/۹۵ و در گروه۴ (افزودن هیالورونان پس از ذوب) ۶۰/۲۰ بود. طبق نتایج به‌دست آمده و مقایسه دو گروه کنترل ۱و۲ با هم، میزان لقاح اسپرم‌ها پس از انجماد کاهشی برابر با ۱۲/۴۱ درصد را نسبت به گروه منجمد نشده نشان می‌دهد. این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بوده و موید تاثیر پروسه انجماد بر کاهش قابلیت باروری اسپرم‌ها می‌باشد. مقایسه نتایج حاصل از میزان لقاح نمونه‌های دو گروه ۲ و۳ از نظر آماری معنی‌دار نبوده و به‌نظر می‌رسد اضافه کردن هیالورونان قبل از انجماد تاثیر مثبتی در افزایش قابلیت باروری اسپرم‌ها ندارد. در گروه۴ با اختلاف نتایج بدست آمده از نظر آماری با P=۰/۰۰۰ معنی‌دار بود، یعنی این اضافه کردن هیالورونان پس از ذوب دارای اثر مثبت روی فرتیلیته اسپرم‌ها می‌باشد و می‌تواند به‌طور معنی‌داری باعث افزایش قابلیت باروری اسپرم‌ها در محیط کشت شود. نتاج بدست آمده از آنالیزهای آماری فوق را به‌صورت نموداری در زیر نشان داده‌ایم (نمودار شماره۱).



نمودار-۱: مقایسه میزان لقاح اسپرم‌ها.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19]

بحث

هیالورونیک اسید بر روی اعمال فیزیولوژیکی مهم اسپرم مانند نفوذپذیری و موتیلیتی و میزان لقاح نقش مهمی دارد.[۱۴] در تحقیق حاضر مشاهده شد که افزودن دوز ۷۵۰ µg/ml هیالورونان پس از ذوب قابلیت باروری اسپرم تاثیر مثبتی داشته و باعث افزایش آن در حد بالایی (P=۰/۰۰۰) می‌گردد و نیز مشخص گردید که افزودن همین دوز قبل از انجماد تاثیری بر روی میزان لقاح اسپرم ندارد. در این زمینه Pena و همکارانش در سال ۲۰۰۴ تاثیر دو دوز متفاوت ۵۰۰ µg/ml و ۱۰۰۰ µg/ml هیالورونان را روی موتیلیتی اسپرم خوک مطالعه کرده و گزارش نمودند که دوز ۵۰۰ µg/ml موتیلیتی اسپرم‌ها را ۹/۴٪ و دوز ۱۰۰۰ موتیلیتی اسپرم‌ها را ۳۰٪ افزایش می‌دهد و افزودن هیالورونان در حین انجماد باعث محافظت از اسپرم‌ها می‌شود.[۱۵] در مطالعه دیگری که در سال ۱۹۹۷ توسط Sbracia و همکارانش انجام شد تاثیر دوز ۲۵۰ µg/ml هیالورونیک اسید بر روی اسپرم انسانی پس از انجماد و ذوب بررسی گردید و نتایج حاصل نشان داد که افزودن هیالورونان قبل از انجماد اثر حفاظتی بر روی اسپرم‌ها ندارد ولی اضافه کردن آن پس از ذوب در طی زمان ظرفیت‌پذیری اسپرم باعث بهبود موتیلیتی می‌شود. همچنین در این تحقیق مطرح گردید که احتمالاً پروسه انجماد باعث تغییر ساختمان هیالورونیک اسید می‌شود.[۱۶] باید توجه داشت که مکانیزم اثر هیالورونان بر روی موتیلیتی اسپرم‌ها به این صورت است که در سطح سلول دو گیرنده شناخته شده هیالورونان به نام‌های CD_{44} و RHAMM وجود دارد.[۱۰و۱۱] که هیالورونان با عمل متقابل خود با این گیرنده‌ها و افزایش فسفوریلاسیون پروتئین‌های اتصالی به هیالورونان تحرک اسپرم را میانجیگری می‌کند (که این افزایش فسفوریلاسیون ابتدا در دم اسپرم اتفاق می‌افتد).[۱۷] و در نهایت باعث افزایش Ca^{+2} داخل سلولی می‌گردد. هیالورونان عمل افزایش Ca^{+2} داخل سلولی را در اسپرم به‌واسطه تاثیر متقابل با غشاء پلاسمایی انجام می‌دهد، بدین طریق که هیالورونان متصل به غشاء پلاسمایی PH-20 باعث تجمع رسپتورهایی که در انتقال سیگنال‌های داخل سلولی نقش دارند می‌شود در نتیجه اسپرم سطح بالایی از Ca^{+2} در داخل سلول و رسپتورهای زیادی در سطح نشان می‌دهد که باعث افزایش عمل اکروزم بعد از اتصال به زوناپلاسیدا می‌شوند.[۱۸] لذا به نظر می‌رسد که دوز معینی از هیالورونان می‌تواند بیشترین تاثیر را روی موتیلیتی اسپرم داشته باشد. در این رابطه اعمالی که برای گیرنده هیالورونان CD_{44} شناسایی شده‌اند عبارتند از ۱: CD_{44} به لیگاندهای متعددی متصل می‌شود و در مخابره کردن فاکتورهای رشد شرکت می‌کند.[۱۹] ۲: با افزایش هیالورونان ماتریکس خارج سلولی لازم است که هیالورونان به سطوح سلول لنگر بیاندازد که این عمل در بیشتر موارد توسط CD_{44} میانجیگری می‌شود.[۲۰] ۳: CD_{44} نقش بزرگی در برقراری ارتباط سلول با ماتریکس خارج سلولی بازی می‌کند و تحت بعضی شرایط می‌تواند آندوسیتوز هیالورونان را میانجیگری کند برای مثال در طی مورفوژنز بافت‌هایی مانند ریه، پوست، غضروف و در طی رشد استخوان‌های دراز.[۲۱] مهمترین عملی که برای گیرنده جدید هیالورنان یعنی RHAMM موجود در سطح اسپرم بیان می‌شود افزایش تحرک اسپرم توسط این گیرنده در پاسخ به هیالورونان می‌باشد.[۲۲] یک پروتئین اتصالی هیالورونان به نام $HABP_1$ نیز در سطح اسپرم انسان وجود دارد که این پروتئین در سطح اسپرم بیماران الیگواسپرمی و آسیتنوزواسپرمی در مقایسه با افراد نورمواسپرمی کاهش نشان می‌دهد و این پروتئین وقتی که با هیالورونان اتصال پیدا می‌کند فعال می‌شود.[۲۲] مکانیزم‌هایی که به‌وسیله آن‌ها هیالورونان وارد شده شکسته می‌شود به‌طور کامل مطالعه نشده است اما احتمالاً هیالورونیداز آندروزومال و لیزوزمال در این کار دخالت دارد.[۲۳] به غیر از این نتایج، Hall و همکارانش طی مطالعه‌ای که در سال ۱۹۹۶ روی گیرنده‌های هیالورونان انجام دادند

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19]

گزارش نمودند که گیرنده‌های هیالورونان در ورود هیالورونان به داخل سلول موثر هستند و این گیرنده‌ها محدود بوده و با اضافه نمودن سطح بالایی از هیالورونان از خارج افزایشی در آنها دیده نمی‌شود.[۱۴] لذا از نتایج حاصل از این مطالعه و مطالعات قبلی چنین استنباط می‌شود که یک مقدار و دوز مناسب از هیالورونان برای افزایش تحرک سلول و بهبود قابلیت باروری لازم است. با توجه به نتایج حاصل از مطالعه دیگری که توسط همین گروه در آزمایشگاه جنین شناسی دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شده است اثر سه دوز ۷۵۰، ۱۰۰۰، ۱۲۵۰ µg/ml هیالورونیک اسید بر روی اسپرم‌های موش سوری پس انجماد و ذوب در محیط کشت بررسی گردید و طبق نتایج حاصله دوز ۷۵۰ µg/ml بیشترین تاثیر را در بهبود موتیلیتی ویتالیتی و میزان باروری نمونه‌ها داشت ضمن اینکه هیچکدام از سه دوز مذکور تاثیری بر روی مورفولوژی نداشتند. با توجه به موارد مذکور و تحقیقات متفاوتی که انجام شده بود دراین مطالعه تاثیر دوز ۷۵۰ µg/ml هیالورونان را در زمان قبل و پس از انجماد بررسی کردیم. نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن دوز ۷۵۰ µg/ml هیالورونان پس از ذوب به نمونه‌ها تاثیر مثبتی را روی قابلیت باروری اسپرم‌ها دارد، در حالی که اضافه کردن همین دوز از هیالورونان قبل از انجماد هیچ تاثیر مثبتی بر روی بهبود قابلیت باروری اسپرم‌ها نداشت. به این ترتیب احتمال دارد که انجماد باعث تغییر در ساختمان هیالورونیک اسید شود و اضافه کردن آن پس از ذوب می‌تواند برای بهبود قابلیت باروری اسپرم‌های موش سوری در محیط کشت مورد استفاده قرار گیرد.

نتیجه‌گیری و پیشنهادها: از نتایج بدست آمده در این مطالعه چنین استنتاج می‌شود که افزودن دوز ۷۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر هیالورونان به نمونه اسپرم پس از ذوب روی قابلیت باروری اسپرم‌های موش سوری در محیط کشت تاثیر مثبت دارد، در صورتی‌که اضافه کردن همین دوز هیالورونان قبل از انجماد به نمونه‌ها تفاوت معنی‌داری در نتایج آنالیزهای انجام شده مشاهده نگردید. پیشنهاد می‌شود میزان هیالورونان فوق بعد از تست بر روی نمونه‌های اسپرم انسان و در صورت تایید جهت استفاده در انسان به‌کار گرفته شود.

سپاسگزاری:
نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران به خاطر تامین هزینه‌های این پروژه تشکر و قدردانی کنند.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19]

References

1. Eriksson M. Effect of freezing and thawing rates on the post-thaw viability of boar spermatozoa frozen in Flat Packs and Maxi-straws.Animal reproduction science. 2000.63:205-220.
2. Koshimato M. The effect of osmolality of sugar-containing media on the survival of frozen-thawed mouse sperm.cryobiology. 2002.45:80-90.
3. Sanger W.G., Olson J.H. and Shermman J.K. Semen cryobanking for men with cancer criteria change. Fertil Stril. 1992. 58: 1024-1027.
4. Donnelly A. Assessment of DNA integerity and morphology of ejaculated spermatozoa from fertile and infertile men .Human reproduction. 2001.16(6):1191-1199.
5. Sherman J.K. Frozen semen- efficiency in artificial insemination and advantage in testing for acquired immune deficiency syndrome. Fertil stril.1987.47:19-24.
6. Hsieh et al. Cryopreservation of human sperm within mouse empty zona pellucida.fertility and strelity.2000.79:694-702.
7. Sztein, J. M., Farley, J. S., and Mobraaten, L. E. In vitro fertilization with cryopreserved inbred mouse sperm.Biol. Reprod. 2001. 63: 1774–1780
8. Huszar M. Hyaluronic acid improves retention of sperm motility and velocity in normospemic and oligospermic speciment. Fertility and Sterility. 1990. 54: 1127-1133.
9. Ranganathan S., Bharadwaj A., Datta K. Hyaluronan mediates sperm motility by enhancing phosphorylathon of proteins including hyaluronan binding protein. Cell Mol Res.1995. 41(5): 467-76.
10. Aruffo A., Stamenkovic I., Melnick M., Underhill C.B., and Seed B. CD44 is the principal cell surface receptor for hyaluronate. Cell. 1990. 61: 1303-1313.
11. Hammond J. The effect of temperature on the survival in vitro of rabbit spermatozoa from the vagina.Journal of Experimental Biology. 1990. 7:175–191.
12. Lokeshwar VB., and Selzer M.G. Hyaluronan Activates Cell Motility of v- Src-transformed Cells via Ras-Mitogen–activated Protein Kinase and Phosphoinositide 3-Kinase-Akt in a Tumor-specific Manner J. Biol. Chem. 2001. 275: 27641-27649.
13. Rosanna F., Thmas L., Teresa A., Rashmin CS., Gregory EC., and Matthias S. Hyaluronan serves a novel role in airway mucosal host defense. The FASEB Journal . 2001. 15: 2179- 2186.
14. Tulsiani DR., Yoshida-Komiya H., Araki Y. Mammalian fertilization a carbohydrate-mediated event. Biol Reprod. 2002. 57 (3): 487-94.
15. Pena FJ A., Johannisson M., Wallgren H., Rodriguez M. Effect of hyaluronan supplementation on boar sperm motility and membrane lipid architecture status after cryopreservation. Therogenology.2004. 61: 63-70.
16. Sbracia M., Grasso J., Sayme N., Stronk J., Huszar G. Hyaluronic acid substantially increases the retention of motility in cryopreserved/thawed human spermatozoa. Hum. Reprod. 1997. 1 (9): 1949-54.
17. Artken RJ., Bowie H., Buckingham D., Harkiss D., Richardson DW., West KM:. Hyaluronic acid and the cumulus extracellular matrix induce increases in intracellular calcium in macaque sperm via the plasma membrane protein PH-20. J Androl. 1992. 13 (1): 44-54.
18. Herrlich P., Morrison H., Sleeman J., Orian-Rousseau V., Konig H., Weg-Remers S., and Ponta H. CD44 acts both as a growth- and invasiveness-promoting molecule and as a tumor-suppressing cofactor. Ann. N. Y. Acad. Sci. 2000. 910: 106-118.
19. Tammi R., Säämänen AM., Maibach HI., and Tammi M. Degradation of newly synthesized high molecular mass hyaluronan in the epidermal and dermal compartments of human skin in organ culture. J. Invest. Dermatol. 1991.97: 126-130,
20. Toole B. Hyaluronan in morphogenesis. J. Intern. Med. 1997.242: 35-40.
21. Kornovski BS., McCshen J., Kredentser J., Turly E. The regulation of sperm motility by a novel hyaluronan receptor. Fertil Steril. 1994. 58: 599-602.
22. Roden L., Campbell P., Fraser JR., Laurent, TC., Pertoft H., and Thompson JN:. Enzymic pathways of hyaluronan catabolism. CIBA Found. Symp. 1989. 143: 60-76.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19]

Tehran University Medical Journal; Vol. 64, No. 9, Dec 2006: 19-25

The effect of hyaluronan on fertilization capability of mouse sperm before cryopreservation and after thawing

M. Bakhtiari[1]
R. Mahmoudi[2]
A. Sobhani[3*]
M. Akbari[1]
M. Barbarestani[1]
P. Pasbakhsh[1]
F. Sargolzaei Aval[4]
A. Hedayatpoor[1]

1.Dept of Anatomy, Tehran University of Medical Sciences
2. Dept of Anatomy, Yasouj University of Medical Sciences
3. Dept of Anatomy and Vali-e-Asr Reproductive Health Research Center
4. Dept of Anatomy, Zahedan University of Medical Sciences

* .Dept of Anatomy and Vali-e-Asr Reproductive Health Research Center.Tehran University of Medical Sciences, Tehran, IRAN.
Tel: +98-21-64432348
Email: sobhania@tums.ac.ir

Abstract

***Background*:** Freezing and thawing induce a number of insults to the sperm cells, such as low motility and low fertilization capability. For evaluation of hyaluronan (HA) supplementation on sperm characteristics, we investigated the effect of hyaluronan (HA) on mouse sperm before freezing and after thawing.
***Methods*:** For this purpose we removed cauda epididimes from 24 male mice with aseptic method and freezed the semen in 1.8ml cryotubes with %18 raffinose and %3 skim milk cryoprotectant solution.We had 4 groups: group 1(fresh control) group 2(freeze control) group 3(supplemented 750 µg/ml HA to sperm before freezing) and group 4(supplemented 750 µg/ml HA to sperm after thawing). Fertility rate evaluated after routine IVF by counting two-cell stage embryos.
***Results*:** HA supplementation (750µg/ml) after thawing improved fertilization capability parameters but supplementation before freezing had no effect on mentioned characteristic.
***Conclusion*:** Acording to data of present study the hyaluronan supplementation (750µg/ml) after thawing has the greatest effect on the fertility rate of sperms.

Keywords: Hyaluronan (HA), Cryoprotectant Agent (CPA), In Vitro Fertilization (IVF), Fertilization capability.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-19]