Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 20:13 +0330 on Monday December 17th 2018

ORIGINAL ARTICLE

The Effect of Light on Mouse Preimplantation Embryo Development in Vitro

Sepideh Khalili Savadkohi[1], Abbas Ali Karimpour Malekshah[2], Ahmad Alizadeh[3], Amir Esmaeilnezhad Moghadam[4], Abdolhossein Shiravi[1], Mehri Mirhosseini[5]

[1] Department of Anatomy, Azad University of Damghan, Damghan, Iran
[2] Department of Anatomy, Faculty of Medicine & Cellular and Molecular Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[3] Department of Occupational Health, Faculty of Health, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[4] Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[5] Cellular and Molecular Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received 7 December, 2010 ; Accepted 20 January, 2011)

Abstract

Background and purpose: In assisted reproductive (ART) laboratory, during the experimental manipulation, oocytes and early embryos are exposed to day light or artificial light for variable periods. The purpose of this study was to assess the effect of fluorescent light exposure, with intensity almost equal to that produced by microscopes in ART laboratory, on mouse early embryo development.

Materials and methods: The bicellular embryos were obtained from superovulated pregnant female NMRI mice 48 hours after HCG injection. After washing, the embryos were randomly allocated in HEPES buffered HTF medium into three experimental and one control group. Two hundred and fifteen (group B), 222 (group C) and 229 (group D) bicellular embryos were exposed to fluorescent light of 800 LX for 5, 10 and 30 minutes at 37°C, respectively. The embryos of control group (215, group A), and also other groups (B, C and D) were kept on a heat plate during the time of experiment and protected from the light by covering the dishes with aluminium foil. Expanding and hatching blastocyst rates were recorded after 72 and 96 hours of culture, respectively.

Results: The results demonstrated that 61.6%, 52.5% and 65.1% of embryos in the experimental groups (group B, C, and D respectively) and 61% of embryos in the control group reached to blastocyst stage. There was no statistically significant difference between the experimental and the control groups. Also the hatching rates and degeneration rates showed no significant differences between the groups.

Conclusion: The fluorescent light of 800 LX for a period of less than 30 minutes had no significant effect on mouse embryo development in vitro.

Key words: Mouse embryo, light exposure, blastocyst

J Mazand Univ Med Sci 2011; 21(80): 17-24 (Persian).

Archive of SID

www.SID.ir

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیستم شماره ۸۰ بهمن سال ۱۳۸۹ (۲۴-۱۷)

بررسی اثر نور بر تکوین جنین‌های مرحله قبل از لانه‌گزینی موش در محیط آزمایشگاه

سپیده خلیلی سوادکوهی[۱] عباسعلی کریم پور ملکشاه[۲] احمد علیزاده[۳]
امیر اسماعیل نژاد مقدم[۴] عبدالحسین شیروی[۵] مهری میرحسینی[۶]

چکیده

سابقه و هدف : طی فرآیند و مراحل اجرای روش‌های مختلف کمک به باروری، جنین‌ها طی دوره‌های زمانی متوالی، در معرض نور آزمایشگاه و نیز نور میکروسکوپ قرار می‌گیرند. هدف از انجام این تحقیق، مطالعه تاثیر نوربا شدتی تقریباً برابر با نور میکروسکوپ بر تکوین جنین‌های مرحله قبل از لانه‌گزینی در شرایط آزمایشگاه می‌باشد.

مواد و روش ها : جنین‌های ۲ سلولی موش‌های NMRI ، ۴۸ ساعت بعد از تزریق HCG از بدن حیوانات حامله خارج شد. پس از شستشو و جمع‌آوری در قطرات محیط کشت جنینها بطور تصادفی به سه گروه تجربی و یک گروه شاهد قرار گرفتند. در گروه‌های تجربی، ۲۱۵ (گروه B)، ۲۲۲ (گروه C) و ۲۲۹ (گروه C) جنین ۲ سلولی به ترتیب ۵، ۱۵ و ۳۰ دقیقه در شرایط دمایی ۳۷ درجه سانتیگراد، در معرض نور فلورسانس با شدت ۸۰۰ لوکس قرار گرفته و سپس برای کشت نهایی به انکوباتور CO_2 انتقال می‌یافتند. جنین‌های گروه شاهد، ۲۱۵ جنین (گروه A) به همراه ۳ گروه دیگر، به مدت ۳۰ دقیقه روی هات پلیت با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داشتند ولی، ظرف کشت مربوطه با پوششی از ورقه آلومینیوم پوشیده شده بود تا نوری به آن نتابد. میانگین نسبت جنین‌هایی که به مرحله بلاستوسیست رسیدند، همچنین، میزان دژنراسیون جنین‌ها، پس از ۷۲ و ۹۶ ساعت کشت شاخص‌های کمّی مورد بررسی جهت تعیین تاثیر نور بودند.

یافته ها : نتایج نشان می دهد که درصد تکوین جنین‌ها به مرحله بلاستوسیست، در گروه‌هایی که در معرض نور قرار گرفته بودند به ترتیب، ۶۱/۶، ۵۲/۵ و ۶۵/۱ درصد و در گروه کنترل ۶۱ درصد بود. بهر حال اختلاف معنی‌داری آماری بین دو گروه آزمایش و کنترل وجود نداشت. همچنین، درصد جنین‌های دژنره شده در گروه‌های در معرض نور قرار گرفته با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری نشان نداد.

استنتاج : نور فلورسانس سفید با شدت ۸۰۰ لوکس برای مدت زمان کمتر از ۳۰ دقیقه، اثر قابل توجهی بر تکوین جنین‌های موش نداشته است.

واژه های کلیدی : اثر نور، جنین‌های مرحله قبل از لانه‌گزینی، جنین موش، بلاستوسیست

مقدمه

در شرایط طبیعی و نرمال داخل بدن جنین‌ها در محیطی مناسب و بهینه در لوله رحم و رحم مراحل رشد و نمو خود را سپری می‌کنند. با وجود اصلاحات فراوانی که در شرایط کشت جنین در محیط آزمایشگاه بعمل

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی شماره ۱۲۷- ۸۷ است که توسط معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران تامین شده است.

مولف مسئول: عباسعلی کریم پور ملکشاه – ساری:کیلومتر۱۷ جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی علوم پزشکی مازندران، دانشکده پزشکی E-mail: akarimpour@mazums.ac.ir
۱. دانشجوی کارشناسی ارشد رشته بیولوژی تکوین دانشگاه آزاد اسلامی دامغان
۲. گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی مازندران
۳. گروه بهداشت حرفه ای، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مازندران
۴. گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران
۵. گروه بیولوژی تکوینی، دانشگاه آزاد اسلامی دامغان
۶. کارشناس ارشد علوم تشریح

تاریخ دریافت : ۸۹/۹/۱۶ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۸۹/۱۰/۱۵ تاریخ تصویب: ۸۹/۱۰/۳۰

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 20:13 +0330 on Monday December 17th 2018
www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 20:13 +0330 on Monday December 17th 2018

آمده تا آن را به شرایط داخل بدن نزدیک کند، هنوز فاصله آن با شرایط بهینه داخل بدن زیاد است. گرچه پلاستیسیتی جنین‌های مرحله قبل از لانه‌گزینی پستانداران زیاد بوده و در شرایط تحت نرمال هم به طور قابل ملاحظه‌ای رشد می‌کنند، ولی مطالعات نشان داد که تاثیر شرایط تحت نرمال فراتر از مورفولوژی ظاهری بوده و می‌تواند روی بیان ژن‌ها در مراحل جنینی(۲،۱) و حتی، روی رشد و فیزیولوژی نوزادان حاصل از چنین جنین‌هایی در مرحله بعد از تولد اثر بگذارد(۳).

طی فرآیند و مراحل اجرای روش‌های مختلف کمک به باروری همانند لقاح آزمایشگاهی و تزریق اسپرم به سیتوپلاسم اووسیت، کارکردن با اووسیت و جنین در آزمایشگاه و کشت جنین در محیط‌های کشت، جنین‌ها طی دوره‌های زمانی متوالی در معرض نور آزمایشگاه و نیز نور میکروسکوپ قرار می‌گیرند. این در حالی است که، در شرایط نرمال داخل بدن، جنین اصلاً در معرض نور قرار نمی‌گیرد. با وجود اهمیتی که نور برای حیات دارد، هر دو طیف مرئی و نامرئی نور می‌توانند اثرات سوئی بر سلول داشته باشند. این اثر در نتیجه آسیب رساندن به DNA از طریق تشکیل دایمرهای تیمیدین و پیدایش اکسیژن فعال صورت می‌پذیرد، اکسیژن فعال باعث تخریب DNA، لیپیدها و پروتئین‌های سلول شده و سبب مرگ سلول یا بروز نئوپلازی در آن می‌شود(۴). مطالعاتی که در خصوص تاثیر نور بر رشد و نمو جنین‌های اولیه در پستانداران انجام پذیرفت، معدود و با نتایج متفاوتی همراه بوده است(۵). در شرایط طبیعی، تخمک های پستانداران و جنین‌های آن‌ها، هرگز در معرض نور خورشید یا نورهای مصنوعی قرار نمی‌گیرند و در نتیجه به نظر نمی‌رسد که از مکانیسم‌های حفاظتی در برابر آسیب‌های ناشی از تابش نور برخوردار باشند. در مقابل تخمک‌ها و جنین‌های جانوران آبزی مانند ماهی‌ها و دوزیستان دارای مکانیسم‌هایی برای حفاظت در برابر تابش نور شدید خورشید و حتی طیف ماوراء بنفش موجود در نور خورشید بوده و به خوبی آن را تحمل می‌کنند(۶). برخی گزارش‌ها نشان می‌دهد که جنین‌های هامستر آسیب‌پذیری قابل ملاحظه‌ای در برابر نور از خود نشان می‌دهند، به طوری‌که فقط ۵ دقیقه قرارگیری در معرض نوری با شدت ۴۰۰ لوکس، باعث کاهش رشد و نمو و افزایش آسیب‌های DNA در آن‌ها می‌شود(۷،۵)، در حالی که، جنین‌های خرگوش مقاومت بیشتری داشته و وقتی که در معرض نوری با شدت ۳۲۵۰ لوکس به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفتند، آسیب وارده به آن‌ها ناچیز گزارش شده است(۸). دریک مطالعه اختلاف معنی‌داری در تکوین جنین‌های اولیه موش که به مدت ۳۰ دقیقه در معرض نور با شدت ۲۹۰۰ لوکس قرار داده شدند، در مقایسه با جنین‌های گروه کنترل مشاهده نشد(۹)، در حالی که، در گزارش Takenaka و همکاران در سال ۲۰۰۷، همین مدت تابش نور با شدت ۱۲۰۰ لوکس، باعث آسیب رسیدن به جنین‌ها و کاهش تکوین آن‌ها به بلاستوسیست و افزایش آپوپتوز در آن‌ها شده است(۵).

در حال حاضر در آزمایشگاه‌های IVF با وجود ظنین بودن جنین‌شناسان به تاثیرات نور بر جنین و تلاش برای کاهش زمان قرارگیری جنین‌ها در مقابل نور، به دلیل عدم اطمینان از آسیب‌پذیری و مخصوصاً، مشخص نبودن شدت نور آسیب رساننده و تاثیر زمان در این فرآیند، معمولاً فیلتری در مقابل لامپ‌های آزمایشگاه و منبع نور بیشتر میکروسکوپ‌ها بکار گرفته نمی‌شود. این پروژه، با هدف مطالعه تاثیر نور با شدت معادل نوری که به طور معمول از لامپ میکروسکوپ‌های آزمایشگاه و محیط آزمایشگاه، در جریان کار با جنین بر آن تابیده می‌شود، بر تکوین جنین‌های مرحله قبل از لانه‌گزینی انجام پذیرفته است.

مواد و روش ها

برای تهیه جنین از موش‌های سوری NMRI استفاده شد. سن حیوانات ۶ تا ۸ هفته و شرایط نگهداری

www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 20:13 +0330 on Monday December 17th 2018

آن‌ها، شامل ۱۲ ساعت در نور و ۱۲ ساعت در تاریکی و دمای ۲۳ الی ۲۵ درجه سانتیگراد بوده است. برای گرفتن جنین‌ها، به حیوانات ماده ۷ واحد هورمون PMSG و ۴۸ ساعت بعد ۷ واحد هورمون HCG به طریق داخل صفاقی، تزریق می‌شد. بلافاصله پس از تزریق HCG، حیوان ماده با موش نر از همان گونه در یک قفس جهت جفت‌گیری قرار می‌گرفت و صبح روز بعد با معیار پلاک واژنی، حیواناتی را که جفت‌گیری انجام داده بودند، جدا و ۴۴ تا ۴۶ ساعت پس از تزریق HCG، با کشتن از طریق قطع نخاع گردنی، لوله رحمی آن‌ها خارج و به محیط کشت انتقال داده می‌شدند. برای خارج کردن جنین‌ها از لوله رحمی، از روش فلاشینگ استفاده شد. بعد از فلاش کردن، لوله رحمی را از قطره خارج کرده و با استفاده از یک میکروپیپت دهانی جنین‌های حاصل از فلاش کردن تمام اویداکت‌ها، به قطره‌ای تمیز و درشت از محیط T_6 انتقال داده می‌شدند. در قطره مزبور، جنین‌ها به طور تصادفی انتخاب شده و به محیط‌های مورد تحقیق انتقال می‌یافتند. قبل از انتقال هر گروه به قطره نهایی برای کشت جنین‌ها، با دو بار انتقال جنین‌ها به قطره‌های تمیزی از همان جنس محیط، جنین‌ها کاملا شسته شده و از ذرات بافتی و مایع فلاشینگ پاک گردیدند.

خارج ساختن جنین‌ها از بدن موش و آماده‌سازی آن‌ها برای کشت، در اتاقی بدون پنجره انجام شد. نور میکروسکوپ به گونه‌ای تنظیم شد که شدت آن به همراه یک لامپ مهتابی روشن در سقف آزمایشگاه بین ۲۵ تا ۴۵ لوکس بود. زمان کار با جنین به حداقل ممکن کاهش داده شد.

در این پروژه، از محیط کشت T_6، برای کشت جنین‌ها استفاده شد. از سرم آلبومین ۲۰ درصد انسان(HSA)، به عنوان یک مکمل برای محیط T_6 (به نسبت ۱۰ درصد) استفاده شد. برای آماده کردن محیط کشت جنین‌ها، در حدود ۲۴ ساعت قبل از گرفتن جنین از اویداکت‌های موش، مقدار مورد نیاز از محیط کشت، سرم‌دار شده و سپس با استفاده از سمپلر، قطراتی به حجم ۲۰ میکرون در ظروف کشت فالکون یکبار مصرف گذاشته و روی آن با روغن پارافین استریل پوشانده شد. همچنین محیط HTF دارای HEPES را نیز همزمان سرم دار کرده و در یک تست تیوب ریخته و در حالی که درب آن کاملاً محکم بسته شده بود، آن را به انکوباتور منتقل کرده تا در شرایط انکوباتور متعادل گشته و در روز بعد برای قرار دادن اویداکت‌ها و فلاش کردن آن‌ها در آن آماده شود.

جنین‌های بدست آمده از موش‌ها در هر سری از آزمایش در قطره‌ای درشت از محیط کشت گردآوری شدند، سپس به طور تصادفی، در ۴ گروه که محیط کشت مربوط به هر گروه ، قبلاً در ظروف کشت جداگانه قطره‌گذاری شده بود (A، B، C و D) جای داده شدند. در این مرحله از محیط کشت HTF دارای بافر HEPES استفاده شد تا در شرایط خارج از انکوباتور تغییرات pH به حداقل برسد. تعداد جنین‌ها در هر قطره، ۸ تا ۱۲ عدد بوده است. گروه های آزمایش به شرح زیر بوده است :

A (گروه اول) : گروه شاهد این مطالعه بوده است. در این گروه ظروف کشت حاوی جنین پیش از انتقال به انکوباتور در حالی که با یک ورقه آلومینیوم پوشانده می‌شد تا هیچ نوری به این جنین‌ها تابیده نشود، در تمام مدت آزمایش (۳۰ دقیقه)، در کنار سایر گروه‌ها، بر روی هات پلیت با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد، نگهداری می‌شد.

B (گروه دوم) : ظروف کشت حای جنین‌ها در این گروه به مدت ۵ دقیقه در معرض نور قرار گرفته و پس از آن با ورقه آلومینیوم پوشانده شده و تا پایان مدت آزمایش بر روی هات پلیت نگهداری می‌شد.

C (گروه سوم) : در این گروه جنین‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در معرض نور قرار گرفته، پس از آن ظروف محتوی آن ها با ورقه آلومینیوم پوشانده شده و تا پایان مدت آزمایش بر روی هات پلیت نگه‌داری می‌شد.

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 20:13 +0330 on Monday December 17th 2018

D (گروه چهارم) : جنین‌ها در این گروه به مدت ۳۰ دقیقه بر روی هات پلیت، در معرض نور قرار داشتند.

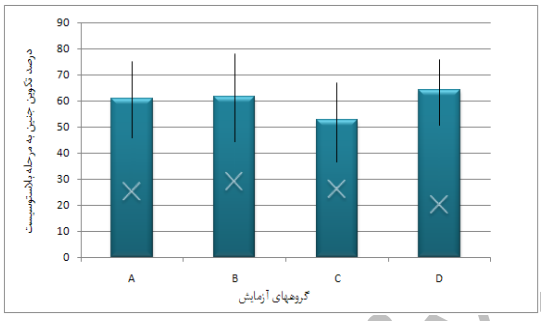
دو لامپ فلورسنت (۱۹۰mA، ۶۴۰۰K، ۵۰HZ، ۲۳۰V و ۲۳W)، در مجاورت‌هات پلیت به صورتی قرار داده شد،که نوری با شدت ۸۰۰ لوکس، بر ظروف کشت بتابد. برای رسیدن به این شدت نور، این دو لامپ، با پایه‌های فلزی قابل نصب بر میز، در دو طرف میز کاری که هات پلیت روی آن قرار داشت، نصب و فاصله آن‌ها از مرکز هات پلیت (محل قرار دادن ظروف کشت)، به گونه‌ای تنظیم شد که، لوکس متر، تابش نوری با شدت مورد نظر را نشان دهد. پس از رسیدن به شدت نور مورد نظر و اندازه‌گیری چند باره آن در نوبت‌های زمانی مختلف، تنظیمات انجام یافته، تا پایان آزمایشات حفظ شد. پس از تاباندن نور به جنین‌ها، این جنین‌ها به سرعت به ظروف کشت دیگر که حاوی محیط کشت HTF (بدون Hepes) بودند، منتقل شده، و سپس در انکوباتور CO_2 قرار داده شدند. کشت جنین‌ها به مدت ۹۶ ساعت (۴ شبانه روز) ادامه یافت و روند تکوین جنین‌ها هر ۲۴ ساعت بررسی شد. مراحل تکوین جنین، شامل مرحله ۴ سلولی، ۸ سلولی، مورولا، بلاستوسیست، Hatching و همچنین جنین‌هایی که دچار دژنراسیون شدند، ثبت شد.

بررسی آماری یافته‌ها در نرم‌افزار SPSS انجام شد. نسبت جنین‌هایی که در هر یک از گروه‌ها به مرحله بلاستوسیست رسیدند، محاسبه و میانگین نسبت‌ها مورد مقایسه آماری قرار گرفت. اختلاف با $p<0/05$، به عنوان تفاوت معنی‌دار در نظر گرفته شد. مقایسه آماری با استفاده از آزمون Chi-square انجام گرفت.

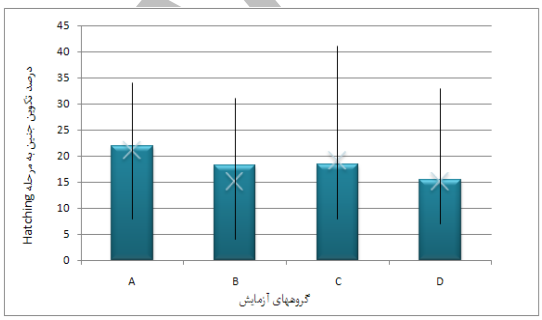
یافته ها

هشتصد و هشتاد و یک جنین ۲ سلولی، در چهار گروه آزمایش شامل ۲۱۵، ۲۱۵، ۲۲۲ و ۲۲۹ جنین به ترتیب در گروه‌های A (گروه شاهد) ، B (گروه ۵ دقیقه نور)، C (گروه ۱۵ دقیقه نور) و D (۳۰ دقیقه نور)، به مدت ۹۶ ساعت کشت داده شدند. نسبت جنین‌هایی که به مرحله بلاستوسیست رسیدند، درگروه‌های B، C و D بترتیب، ۶۱/۶، ۵۲/۵ و ۶۵/۱ درصد بود که با یکدیگر و با گروه شاهد (۶۱ درصد) اختلاف معنی‌داری نداشت (نمودار شماره ۱).

نسبت جنین‌هایی که به مرحله Hatching رسیدند، در گروه‌های B ، C و D بترتیب۱۸/۲، ۱۸/۳ و ۱۵/۴ درصد بود که با یکدیگر و با گروه شاهد (۲۱/۸ درصد) از لحاظ آماری، اختلاف معنی‌داری نداشته است (نمودار شماره ۲).



نمودار شماره ۱ : نسبت تکوین جنین‌ها به مرحله بلاستوسیست پس از ۷۲ ساعت کشت، در گروه شاهد(A) وگروه‌هایی که به مدت ۵ دقیقه (B)، ۱۵ دقیقه (C) و ۳۰ دقیقه (D) درمعرض نور قرار داشتند (اختلاف بین گروه‌ها معنی‌دار نمی‌باشد).

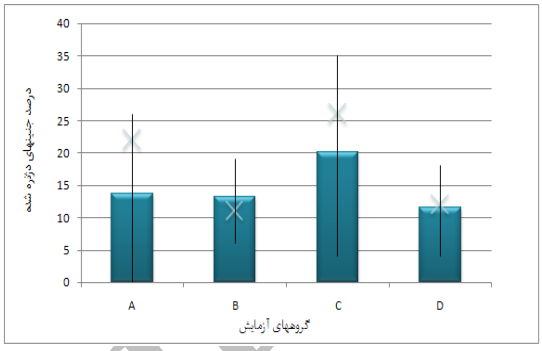


نمودار شماره ۲ : نسبت تکوین جنین به مرحله Hatching پس از ۹۶ ساعت کشت درگروه شاهد(A) و گروه‌هایی که به مدت ۵ دقیقه (B)، ۱۵دقیقه (C) و ۳۰ دقیقه (D) در معرض نور قرار داشتند (اختلاف بین گروه‌ها معنی‌دار نمی‌باشد).

www.SID.ir
Archive of SID

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 20:13 +0330 on Monday December 17th 2018

همچنین، نسبت جنین‌های دژنره شده در گروه‌های A، B ، C و D اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (نمودار شماره ۳).



نمودار شماره ۳: نسبت جنین‌های دژنره شده پس از ۷۲ ساعت کشت در گروه شاهد(A) و گروه‌هایی که به مدت ۵ دقیقه (B)، ۱۵دقیقه (C) و ۳۰ دقیقه (D) در معرض نور قرار داشتند (اختلاف بین گروه‌ها معنی‌دار نمی‌باشد).

بحث

با وجود حیاتی بودن نور برای موجودات زنده، مطالعات نشان داده است که هر دو طیف مرئی و نامرئی نور می‌تواند اثرات سویی بر سلول داشته باشد. نور مرئی، سبب القای تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و القای آسیب سلولی از قبیل اکسیداسیون بازها و شکستن رشته‌های DNA، می‌شود(۱۰). نور با تشکیل دایمرهای تیمیدین، باعث ایجاد آسیب در DNA شده، علاوه بر آن، با تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن، موجب آسیب پروتئین‌ها و لیپیدهای سلول خواهد شد(۵). رادیکال‌های آزاد اکسیژن باعث القا اکسیداسیون پروتئین سولفیدریل‌ها و تشکیل دی سولفات می‌شوند. استرس اکسیداتیو، نسبت باندهای دی‌سولفید و تشکیل دی‌سولفیدهای مرکب را در سلول افزایش می‌دهد، در نتیجه موجب غیر فعال شدن آنزیم‌هایی مثل گلیسرآلدهید ۳ فسفات دهیدروژناز می‌شود(۱۱). همچنین، رادیکال‌های آزاد اکسیژن، باعث القا پراکسیداسیون لیپیدها می‌شوند(۱۲). گزارش شده است که، توقف رشدی مرحله ۲ سلولی در جنین‌های موش (2-cell block)، با افزایش در پراکسیداسیون لیپیدها همراه می‌باشد(۱۳). این آسیب‌ها، مرگ سلولی زودرس را در پی‌خواهند داشت. با وجود اثبات چنین اثراتی از نور با شدت معین بر سلول‌های زنده، مسئله مهم شدت و مدت زمان تابش نور است. در این تحقیق شدتی از نور سفید فلورسانس که بطور معمول در آزمایشگاه‌های مراکز درمان ناباروری در جریان کار با اووسیت و جنین بر آن‌ها می‌تابد، اندازه‌گیری شده و تاثیر آن در زمان‌های مختلف بر تکوین جنین‌های موش مورد بررسی قرار گرفت. یافته‌های این مطالعه نشان داد که، چنین شدتی از نور حتی در مدت ۳۰ دقیقه که حداکثر زمانی است که ممکن است اووسیت و یا جنین در جریان کار در آزمایشگاه در معرض آن قرار بگیرند، حداقل در سطح مرفولوژیک تاثیر سوء آشکاری بر جنین‌های موش نداشته و در تکوین آن‌ها به سمت ایجاد بلاستوسیست اختلال ایجاد نمی‌کند. مطالعاتی که تاکنون در خصوص تاثیر نور مرئی بر تکوین جنین‌های مرحله قبل از لانه گزینی پستانداران انجام پذیرفته از ناهمگونی و هتروژنیتی بالایی برخوردار است. سه عامل مهم و تاثیر گذار در تعیین اثر نور بر تکوین جنین، شدت و طول موج نور مورد استفاده، مدت زمان تابش نور به جنین و گونه حیوانی که جنین از آن تهیه شده است، می‌باشند. تفاوت سه عامل مورد اشاره در مطالعات مختلف سبب تفات در یافته‌های گزارش شده آن‌ها در خصوص تاثیر نور بر جنین می‌باشد. در حالی که تمام مطالعاتی که تاثیر نور بر جنین هامستر را مورد بررسی قرار دادند، بر تاثیر سوء آن بر روند تکوین حتی با زمان تابش کوتاهی مانند ۵ دقیقه و شدت تابش نسبتاً پایین ۴۰۰ لوکس تاکید کرده‌اند(۱۴،۷،۵) مطالعه بر روی جنین‌های خرگوش نشان دهنده مقاومت بالای آن‌ها در برابر تاثیر تابش نور بوده است. بگونه‌ای که قرار دادن جنین‌های خرگوش به مدت ۳۰ دقیقه در معرض نوری با شدت ۳۲۵۰ لوکس تاثیری معنی‌داری بر روند تکوین

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 20:13 +0330 on Monday December 17th 2018

آن‌ها نداشته است(۸). جنین‌های موش از این لحاظ در وضعیت بینابین قرار دارند. ممکن است جنین‌های انسان از این نظر به جنین‌های موش نزدیک‌تر باشند. شدت نور مورد استفاده در این مطالعه پس از اندازه‌گیری نوری که بطور معمول در آزمایشگاه‌ها از لامپ میکروسکوپ‌ها، بعلاوه نور آزمایشگاه که بر جنین تابیده می‌شود، انتخاب شد. مطالعه ما نشان داد این شدت از نور تا مدت ۳۰ دقیقه تاثیر سوء آشکاری بر روند تکوین جنین‌های موش ندارد. Takenaka و همکارانش در سال ۲۰۰۷ گزارش کردند که قرار گرفتن جنین‌های یک سلولی موش در معرض نور فلورسانس سفید، با شدت ۱۲۰۰ لوکس، به مدت ۱۵ دقیقه تکوین این جنین‌ها به مرحله بلاستوسیست را با اختلال مواجه نمی‌کند(۵). همچنین در مطالعه‌ای دیگر گزارش شده است که نور با شدت ۲۹۰۰ لوکس طی مدت ۳۰ دقیقه میزان تکوین جنین‌های موش به بلاستوسیست را کاهش نداده است(۹). اما در مقابل ماهانی و همکارانش در سال ۲۰۰۸، نشان دادند که جنین‌های موش وقتی برای مدت ۳۰ تا ۴۵ دقیقه در معرض نور مرئی با شدت ۱۶۰۰ لوکس قرار می‌گیرند، دچار آسیب شده و میزان تکوین آن‌ها به مرحله بلاستوسیست کاهش می‌یابد(۱۵). در یک مطالعه دیگر نیز وقتی از نوری با شدت بالا (۴۰۰۰ لوکس) استفاده شد، روند تکوین جنین‌های موش با اختلال جدی مواجه شد(۱۶) چنان‌که توسط محققان دیگر نیز مورد تاکید قرار گرفت(۱۷) از مجموع این مطالعات می‌توان فهمید که نور بر روند تکوین جنین‌های پستانداران تاثیر نامطلوب دارد، منتها میزان حساسیت و قدرت تحمل و توانایی پشت سر گذاشتن آسیب‌های احتمالی در جنین‌های گونه‌های مختلف متفاوت است. به نظر می‌رسد جنین‌های موش، نور مرئی با شدت معمول در آزمایشگاه‌ها را می‌توانند تحمل کنند. ممکن است چنین شدتی از نور واقعاً منجر به تولید فاکتورهای آسیب رسان همانند رادیکال‌های آزاد با غلظت تخریب کننده در این جنین‌ها نشود؛ اما با توجه به شباهت بسیار بالای مسیرهای متابولیک و ترکیبات دخیل در این مسیرها در گونه‌های مختلف جانوری، بنظر می‌رسد تفاوتی که در میزان حساسیت جنین‌های پستانداران مختلف به نور مشاهده می‌شود، بیشتر به تفاوت مکانیسم‌های جبرانی برای مقابله به استرس وارده در این گونه‌ها باشد. تنظیم چرخه سلولی در شرایط آزمایشگاه، بسیار پیچیده است. پارامترهای تنظیم کننده چرخه سلولی، حین رشد و نمو قبل از مرحله لانه‌گزینی شدیداً تغییر می‌کنند. این تغییرات، که توسط مسیرهای سیگنالی مختلف کنترل می‌شوند، برای رشد و نمو نرمال جنین ضروری هستند. مطالعاتی که در آن برخی از ژن‌ها را از کار انداخته و مختل کردند، نشان داد که چرخه سلولی جنینی دارای انعطاف‌پذیری بسیار بالایی است، به‌طوری که قادر است، نبود یک یا چندین پروتئین تنظیم‌کننده را با مکانیزم‌های مختلف، جبران کند. این مکانیزم‌های جبرانی، بین عملکرد پروتئین‌هایی که در بخش‌های مختلف تنظیم چرخه سلولی فعالیت می‌کنند، اتفاق می‌افتد. همچنین، گروه کوچکی از رده ژن‌های مربوط به تنظیم چرخه سلولی موش، در مرحله ۲ سلولی حضور دارند و این ژن‌ها در این مرحله نسبت به مرحله یک سلولی بسیار فعال‌تر هستند(۱۸)، بنابراین احتمال می‌رود که جنین ها بتوانند اثرات زیانبار ناشی از تابش نور را تا وقتی که از یک آستانه بالاتر نرفته باشد، با مکانیسم تغییر و تنظیم چرخه سلولی، خنثی نمایند.

همچنین مطالعات نشان می‌دهد که، پدیده ترمیم DNA ، که توسط یکسری ژن‌های ترمیم‌کننده صورت می‌گیرد، در جنین‌های مرحله قبل از لانه‌گزینی بسیار فعال می‌باشد(۱۹). ژن‌های مسئول ترمیم آسیب DNA در موش، در اووسیت و همچنین جنین‌های مرحله قبل از لانه‌گزینی (مرحله ۲ تا ۴ سلولی)، بیان می‌شوند(۲۰). بنابراین، این احتمال وجود دارد که، جنین‌هایی که در معرض نور قرار می‌گیرند، تا حدودی بتوانندآسیب‌های وارد بر DNA را با استفاده از پدیده ترمیم،که در این جنین‌ها بسیار فعال می‌باشد، جبران نمایند. بعلاوه،

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 20:13 +0330 on Monday December 17th 2018

مطالعات نشان داد که سلول وقتی در معرض شرایط نامساعدی قرار می‌گیرد، اقدام به سنتز پروتئین‌هایی در سیتوپلاسم خود می‌کنند که باعث افزایش قدرت تحمل و سازش آن دربرابر استرس می‌شود. چنین مکانیسمی در سلول‌های مختلف بدنبال قرار گرفتن در معرض شوک گرمایی گزارش شده است(۲۲،۲۱). چنین مکانیسمی احتمالا در اووسیت و بلاستومرهای جنین اولیه نیز وجود داشته و امکان سازش جنین و پشت سر گذاشتن شرایط نامساعد را فراهم می‌آورد. کما این‌که گزارش شده است که بیان ژن Hsp_{70} بعد از تابش نور آبی در جنین‌ها افزایش یافته و این امر نقش مهمی در حفظ بقای آن‌ها در مقابل استرس‌های محیطی ایفا می‌کند(۲۳). بدیهی است تنوع این مکانیسم‌های جبرانی و سازشی و پیچیدگی آن‌ها می‌تواند توجیه کننده تفاوت‌هایی باشد که در گزارش‌های مختلف در خصوص تاثیر نور بر جنین‌های اولیه وجود دارد. بر اساس یافته‌های این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که نور مرئی در مدت زمان معمول کار با جنین در آزمایشگاه، حداقل در سطح مرفولوژیک تاثیر نامطلوب آشکاری بر جنین نمی‌گذارد، با این وجود، شاخص مورد استفاده در این مطالعه برای بررسی تاثیر نور محدودتر از آن است که بتوان حکم قطعی در خصوص بی خطر بودن آن برای جنین در آزمایشگاه صادر کرد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله مراتب قدردانی و سپاس خود را از همکاری صمیمانه و حمایت‌های مالی معاونت محترم پژوهشی و کلیه همکارانشان ابراز داشته و در ضمن متذکر می‌گردد که این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد رشته بیولوژی تکوین خانم سپیده خلیلی سوادکوهی از دانشگاه علوم پزشکی مازندران می‌باشد.

References

1. Mann MR, Lee SS, Doherty AS, Verona RL, Nolen LD, Schultz RM, et al. Selective loss of imprinting in the placenta following preimplantation development in culture. Development 2004; 131: 3727-3735.
2. Schultz RM. From egg to embryo: a peripatetic journey. Reproduction 2005; 130: 825-828.
3. Gonzalez RF, Moreira P, Bilbao A, Jimenez A, Crespo MP, Ramirez MA, et al. Long-term effect of in vitro culture of mouse embryos with serum on mRNA expression of imprinting genes, development and behavior. Proc Natl Acad Sci USA 2004; 101: 5880-5885.
4. Schultz RM. Of light and mouse embryos: less is more. Proc Natl Acad Sci USA 2007; 104(37): 14547-14548.
5. Takenaka M, Horiuchi T, Ryuzo Y. Effect of light on development of mammalian zygotes. Proc Netl Acad Sci USA 2007; 104(36): 14289-14293.
6. Hamdoun A, Epel D. Embryo stability and vulnerability in an always changing world. Proc Netl Acad Sci USA 2007; 104(6): 1745-1750.
7. Takahashi M, Saka N, Takahashi H, Kanai Y, Schultz RM, Okano A. Assessment of DNA damage in individual hamster embryo by comet assay. Mol Reprod Dev 1999; 54: 1-7.
8. Bedford JM, Dobernis A. Light exposure of oocytes and pregnancy rates after their transfer in the rabbit. J Reprod Fertil 1989; 85: 477-481.

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 20:13 +0330 on Monday December 17th 2018

9. Kruger T, Stander FSH. The effect of fluorescent light on the cleavage of two-cell mouse embryos. South Africa Med J 1985; 68: 744-745.
10. Beehler BC, Przybyszewski J, Box HB, Kulesz-Martin M.E. Formation of 8 hydroxydeoxyguanosine within DNA of mouse keratinocytes exposed in culture to UVB and H_2O_2. Carcinogenesis, 2003-2007; 13.
11. Halliwell B, Gutteridge JMC. The chemistry of oxygen radicals and other derived species. 2nd ed, Oxford: Clarendon Press; 1989. PP 22-85.
12. Guerin P, Mouatassim SEI, Menezo Y. Oxidative stress and protection against reactive oxygen species in the preimplantation embryo and its surroundings. Hum Reprod Update 2001; 2: 175-189.
13. Nasr-Esfahani MH, Aitken RJ, Johnson MH. Hydrogen peroxide levels in mouse oocytes and early cleavage stage embryos developed in vitro or in vivo. Development 1990a; 109: 501-507.
14. Umaoka Y, Noda Y, Nakayama Y, Narimoto K, Mori T, Iritani A. Effect of visual light in vitro on embryonic development in the hamster. Theriogenology, 1992; 38: 1045-1054.
15. Nematollahi-mahani SN, Pahang H, Moshkdanian G, Nematollahi-mahani A. Effect of embryonic fibroblast cell co-culture on development of mouse embryos following exposure to visible light. J Assist Reprod Genet 2009; 26: 129-135.
16. Barlow P, Puissant F, Van der Zwalmen P, Vandromme J, Trigaux P, Leroy F. In vitro fertilization, development, and implantation after exposure of mature mouse oocytes to visible light. Mol Reprod Dev 1992; 33: 297-302.
17. Ottosen LD, Hindkjaer J, Ingerslev J. Light exposure of the ovum and preimplantation embryo during ART procedures. J Assist Reprod Genet 2007; 24: 99-103.
18. Artus J, Tannoudji MC. Cell cycle regulation during early mouse embryogenesis. Mol Cell Endocrinol 2008; 282: 78-86.
19. Jaroudi S, SenGupta S. DNA repair in mammalian embryos. Mutat Res 2007; 635: 53-77.
20. Zeng F, Baldwin DA, Schultz RM. Transcript profiling during preimplantation mouse development. Dev Biol 2004; 272: 483-496.
21. Benjamin IJ, McMillan DR. Stress (heat shock) proteins, molecular chaperones in cardiovascular biology and disease. Circ Res 1998; 83: 117-132.
22. Feder ME, Hofmann GE. Heat shock proteins, molecular chaperones, and the stress response: evolutionary and ecological physiology. Annu Rev Physiol 1999; 61: 243-282.
23. Gorgidze LA, Oshemkova SA, Vorobjev IA. Blue light inhibits mitosis in tissue culture cells. Biosci Rep 1998; 18(4): 215-24.

Archive of SID

www.SID.ir