

The Effect of Light on Mouse Preimplantation Embryo Development in Vitro

Sepideh Khalili Savadkoti¹, Abbas Ali Karimpour Malekshah², Ahmad Alizadeh³,
Amir Esmailnezhad Moghadam⁴, Abdolhossein Shiravi¹, Mehri Mirhosseini⁵

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

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 روش‌ها: 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 CO₂ 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 کمی مورد بررسی جهت تعیین تاثیر نور بودند.

یافته‌ها: نتایج نشان می‌دهد 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.

واژه‌های 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.

مؤلف مسئول: عباسعلی کریم پور ملک‌شاه - ساری: کیلومتر ۱۷ 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 حرفه‌ای، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

۴. گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

۵. گروه بیولوژی تکوین، 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

آمده تا آن را به شرایط داخل بدن نزدیک کند، هنوز فاصله آن با شرایط بهینه داخل بدن زیاد است. گرچه پلاستیسیته 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 جنین 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، کار کردن 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 می‌تواند 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، تخمک‌های 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 آبرزی 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 طوری که 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). در یک 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 روش‌ها

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

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 میکروپیت دهانی جنین‌های حاصل از فلاش کردن تمام اویداکت‌ها، به قطره‌ای تمیز و درشت از محیط T₆ 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 کاملاً 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 T₆، برای کشت جنین‌ها استفاده شد. از سرم آلبومین ۲۰ درصد انسان (HSA)، به عنوان یک مکمل برای محیط T₆ (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 فالكون یکبار مصرف گذاشته و روی آن با روغن پارافین استریل پوشانده شد. همچنین محیط HTF دارای HEPES را نیز همزمان سرم‌دار 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. گروه‌های آزمایش به شرح زیر بوده است:

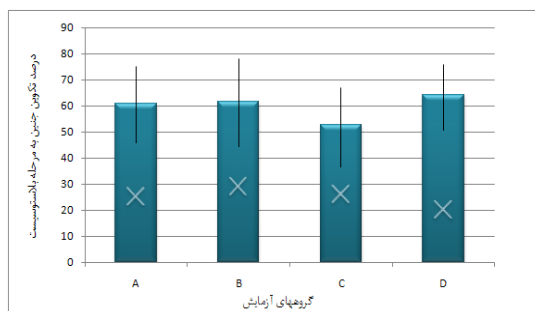
A (گروه اول): گروه شاهد این مطالعه بوده است. در این گروه ظروف کشت حاوی جنین پیش از انتقال به انکوباتور در حالی که با یک ورقه آلومینیوم پوشانده می‌شد تا هیچ نوری به این جنین‌ها تابیده نشود، در تمام مدت آزمایش (۳۰ دقیقه)، در کنار سایر گروه‌ها، بر روی هات پلیت با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد، نگهداری می‌شد.

B (گروه دوم): ظروف کشت حاوی 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.

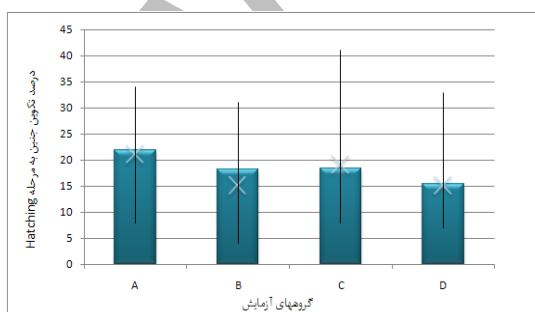
C (گروه سوم): در این گروه جنین‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در معرض نور قرار گرفته، پس از آن ظروف محتوی آن‌ها با ورقه آلومینیوم پوشانده شده و تا پایان مدت آزمایش بر روی هات پلیت نگهداری می‌شد.

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، در گروه‌های 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 بترتیب ۱۸/۲، 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) و گروه‌هایی که به مدت ۵ دقیقه (B)، ۱۵ دقیقه (C) و ۳۰ دقیقه (D) در معرض نور قرار داشتند (اختلاف بین گروه‌ها معنی‌دار نمی‌باشد).



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

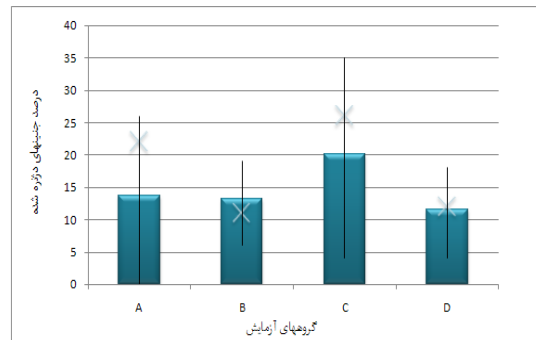
D (گروه چهارم): جنین‌ها در این گروه به مدت ۳۰ دقیقه بر روی هات پلیت، در معرض نور قرار داشتند. دو لامپ فلورسنت (۱۹۰mA، ۶۴۰۰K، ۵۰Hz، ۲۳۰۷ و ۲۳۳W)، در مجاورت هات پلیت به صورتی قرار داده شد، که نوری با شدت ۸۰۰ لوکس، بر ظروف کشت بتابد. برای رسیدن به این شدت نور، این دو لامپ، با پایه‌های فلزی قابل نصب بر میز، 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 CO₂ 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.

یافته‌ها

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

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)، ۱۵ دقیقه (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 دی‌سولفات می‌شوند. استرس اکسیداتیو، نسبت باندهای دی‌سولفید و تشکیل دی‌سولفیدهای مرکب را در سلول افزایش می‌دهد، در نتیجه موجب غیر فعال شدن آنزیم‌هایی مثل گلیسر آلدهید 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 پی خواهند 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 لانه‌گزینی پستانداران انجام پذیرفته از ناهمگونی و هتروژنیته بالایی برخوردار است. سه عامل مهم و تاثیرگذار 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 تفتاد 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

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 مواجهه 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 تنظیم کننده را با مکانیسم‌های مختلف، جبران کند. این مکانیسم‌های 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 جنین‌ها 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 ترمیم کننده 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 بتوانند آسیب‌های وارد بر DNA را با استفاده از پدیده ترمیم، که در این جنین‌ها بسیار فعال می‌باشد، جبران نمایند. بعلاوه،

معمول کار با جنین در آزمایشگاه، حداقل در سطح مرفولوژیک تاثیر نامطلوب آشکاری بر جنین نمی گذارد، 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

بدین وسیله مراتب قدردانی و سپاس خود را از همکاری صمیمانه و حمایت های مالی معاونت محترم پژوهشی و کلیه همکارانشان ابراز داشته و در ضمن متذکر می گردد که این مقاله حاصل بخشی از پایان نامه دوره کارشناسی ارشد رشته بیولوژی تکوین خانم سپیده خلیلی سوادکوهی از دانشگاه علوم پزشکی مازندران می باشد.

مطالعات نشان داد که سلول وقتی در معرض شرایط نامساعدی قرار می گیرد، اقدام به سنتز پروتئین هایی در سیتوپلاسم خود می کند که باعث افزایش قدرت تحمل و سازش آن در برابر استرس می شود. چنین مکانیسمی در سلول های مختلف بدنال قرار گرفتن در معرض شوک گرمایی گزارش شده است (۲۱، ۲۲). چنین مکانیسمی احتمالا در اووسیت و بلاستومرهای جنین اولیه نیز وجود داشته و امکان سازش جنین و پشت سر گذاشتن شرایط نامساعد را فراهم می آورد. کما این که گزارش شده است که بیان ژن Hsp70 بعد از تابش نور آبی در جنین ها افزایش یافته و این امر نقش مهمی در حفظ بقای آن ها در مقابل استرس های محیطی ایفا می کند (۲۳). بدیهی است تنوع این مکانیسم های جبرانی و سازشی و پیچیدگی آن ها می تواند توجیه کننده تفاوت هایی باشد که در گزارش های مختلف در خصوص تاثیر نور بر جنین های اولیه وجود دارد. بر اساس یافته های این مطالعه می توان نتیجه گرفت که نور مرئی در مدت زمان

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 Natl Acad Sci USA* 2007; 104(36): 14289-14293.
6. Hamdoun A, Epel D. Embryo stability and vulnerability in an always changing world. *Proc Natl 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.

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 H₂O₂. *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.