مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان/ دوره یازدهم/ بهار ۱۳۸۵/ ۷۰-۶۰

بررسی اثر فاکتور رشد اپیدرمال بر تکوین جنین‌های ۱۶-۸ سلولی موش و بیان ژن گیرنده این فاکتور پس از انجماد شیشه‌ای

نسیم قربانمهر[۱]، دکتر منصوره موحدین[۲]، دکتر سید جواد مولی[۳]

۱- کارشناس ارشد ژنتیک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات

۲- دانشیار گروه علوم تشریح دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس (مؤلف مسئول) mansoure@modares.ac.ir

۳- دانشیار گروه ژنتیک دانشکده علوم پایه، دانشگاه تربیت مدرس

چکیده

زمینه و هدف: انجماد جنین‌های انسانی یک فعالیت روتین در درمانگاههای درمان ناباروری می‌باشد. تکوین موفقیت‌آمیز و لانه‌گزینی جنین‌های منجمد شده به میزان زیادی به محیط کشت مناسب، فاکتورهای رشد، سایتوکاینها و بیان ژنومی دارد. مطالعات اخیر بیانگر نقش مهم فاکتور رشد اپیدرمال (EGF) و رسپتور آن در تکوین جنین و مراحل لانه‌گزینی می‌باشند.

هدف از این مطالعه تعیین تأثیر فاکتور رشد اپیدرمال در تکوین قبل از لانه‌گزینی و بیان رسپتور آن در جنین موش منجمد شده با استفاده از نی کشیده شده می‌باشد.

روش بررسی: جنین‌های ۱۶-۸ سلولی ٦٦ تا ۷۲ ساعت پس از تزریق HCG از موشهای تحریک تخمک‌گاری شده نژاد NMRI بدست آمدند و به ٤ گروه (دو گروه شاهد و دو گروه آزمون) تقسیم شدند. جنین‌های گروه شاهد ۱و۲ به مدت ۹٦ ساعت در محیط- MEM-α و MEM-α +EGF(10 ng/ml) کشت داده شدند. جنین‌های گروه آزمون ۱ و ۲ بلافاصله پس از جمع‌آوری منجمد شدند و پس از ذوب به ترتیب در دو محیط MEM-α و MEM-α +EGF (10 ng/ml) برای مدت ۹٦ ساعت کشت داده شدند. تکوین جنین‌ها بطور روزانه ثبت شد. نتایج بدست آمده با استفاده از آزمون χ^2 بررسی شدند.

بررسی بیان ژن گیرنده با روش RT-PCR در جنین‌های خارج شده و یا در حال خروج از زونا صورت گرفت. به دنبال واکنش RT (ترجمه معکوس) واکنش PCR با استفاده از پرایمرهای Nested صورت پذیرفت تا دقت و حساسیت کار افزایش یابد.

یافته‌ها: میزان تشکیل بلاستوسیست و خروج از زونا در جنین‌های منجمد شده به میزان قابل توجهی کمتر از جنین‌های غیرمنجمد بود. میزان دژنراسیون در جنین‌های منجمد شده بوضوح بالاتر بود. مقایسه دو گروه شاهد ۱ با ۲ و آزمون ۱ با ۲ بصورت دو به دو نشان داد که میزان تشکیل بلاستوسیست، خروج از زونا و دژنراسیون در بین این گروهها از تفاوت معنی‌داری برخوردار نیست. بررسی‌های مولکولی با روش RT-PCR نشان دادند که پس از ۹٦ ساعت کشت جنین‌ها mRNA مربوط به گیرنده فاکتور رشد اپیدرمال در هر ٤ گروه شاهد ۱و ۲، آزمون ۱ و ۲ بیان می‌شود.

نتیجه‌گیری: افزودن EGF با غلظت 10 ng/ml به یک محیط کشت مانند MEM-α هیچگونه تأثیر محرکی بر تکوین جنین‌های منجمد شد و غیرمنجمد ندارد.

انجماد باعث ایجاد وقفه در بیان ژن گیرنده فاکتور رشد پس از ۹٦ ساعت کشت جنین‌های منجمد شده، نمی‌شود.

کلید واژه‌ها: جنین قبل از لانه گزینی، انجماد جنین، فاکتور رشد اپیدرمال، بیان ژن.

وصول مقاله: ۸۴/۹/۲۸ اصلاح نهایی: ۸۵/۳/۱۵ پذیرش مقاله: ۸۵/۳/۱۸