

اثرات ضدیخ‌های مختلف بر میزان شکست DNA در جنین‌های خوک تولید شده

به روش In vitro

فرزاد رجایی (Ph.D.)^۱، تاکشیج اتویی (Ph.D.)^۲.

۱- استادیار، آزمایشگاه کشت سلولی، گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی قزوین، قزوین، ایران.
۲- استاد، گروه تولیدمثل، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه یاماگوچی، یاماگوچی، ژاپن.

چکیده

زمینه و هدف: تاکنون از ضدیخ‌های زیادی جهت انجماد جنین‌های مرحله قبل از لانه‌گزینی به منظور جلوگیری از تشکیل یخ داخل سلولی استفاده شده است، ولی با این وجود تعداد زیادی از جنینها پس از ذوب به دلایل مختلفی از جمله نوع ضدیخ مورد استفاده و به دنبال آن شکست DNA جنین، در اثر سمیت ضدیخ از بین می‌روند. اتیلن‌گلیکول، و ۱) پروپان‌دیول و گلیسرول ضدیخ‌های معمول می‌باشند که به طور وسیعی برای انجماد جنین حیوانات گوناگون و همچنین انسان استفاده می‌شود. هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثرات ضدیخ‌های مختلف روی میزان شکست DNA بلاستوسیت‌های خوک به منظور تعیین ضدیخ مناسب برای انجماد جنین خوک بود.

روش بررسی: تعداد ۱۹۷ بلاستوسیت خوک به روش In vitro تولید شدند و به طور تصادفی به چهار گروه تقسیم گردیدند. تعداد ۴۰ بلاستوسیت به‌عنوان گروه کنترل به مدت یک ساعت در محلول PBS بدون ضدیخ قرار گرفتند. بقیه بلاستوسیتها در سه گروه متفاوت در معرض ۳ نوع محلول ضدیخ با غلظت ۱۰٪ به مدت یک ساعت در یک روش ۳ مرحله‌ای در درجه حرارت اتاق قرار گرفتند. به‌طوریکه ۴۰ بلاستوسیت در معرض اتیلن‌گلیکول و ۴۰ بلاستوسیت در معرض ۱) پروپان‌دیول و ۴۰ بلاستوسیت در معرض گلیسرول قرار گرفتند. شواهد مورفولوژیک از زنده ماندن بلاستوسیتها پس از ۲۴ ساعت کشت مجدد در گروه‌های مختلف در محیط NCSU-37، براساس تشکیل مجدد حفره بلاستوسل به وسیله مشاهده استریومیکروسکوپی با بزرگنمایی ۴۰ برابر ارزیابی گردید. شاخص میزان شکست DNA در آنها پس از نشانه‌گذاری با تکنیک TUNEL و رنگ‌آمیزی زمینه‌ای با PI مشخص شد. داده‌ها با آنالیز واریانس و آزمون تعقیبی فیشر و با کمک نرم افزار Stutview مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و سطح معنی‌داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج: قرار گرفتن بلاستوسیت‌های خوک در معرض ضدیخ‌های مختلف، منجر به افزایش تعداد هسته‌هایی با شکست DNA می‌شود. در ضمن، میزان شاخص شکست DNA در بلاستوسیت‌های دارای بلاستوسل نسبت به بلاستوسیت‌های فاقد بلاستوسل، بدون توجه به نوع ضدیخ کمتر بود.

نتیجه‌گیری: براساس نتایج این مطالعه در معرض ضدیخ قرار گرفتن بلاستوسیت‌های خوک، میزان شکست DNA را افزایش می‌دهد و در این میان اتیلن‌گلیکول کمترین میزان سمیت را دارد.

کلید واژگان: ضد یخ، سمیت سلولی، آپوپتوزیز، خوک، شکست DNA، بلاستوسیت.

مسئول مکاتبه: دکتر فرزاد رجایی، گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی قزوین، قزوین، ایران.
پست الکترونیک: frajaei@qums.ac.ir