

تأثیر کمی و کیفی بیماری دیابت موش باردار بر جنین ها در مرحله قبل از لانه گزینی

دکتر فاطمه جواد نیا^۱، دکتر محمود هاشمی تبار^۱، مسعود حمادی^۲

یافته / سال پنجم / شماره ۱۹

چکیده

مقدمه: نوزادان مادران دیابتی در مقایسه با نوزادان مادران سالم نقص های مادرزادی، سقط های جنینی و تأخیر رشد داخل رحمی را به طور معنی داری بالاتر نشان می دهند. بیشتر تحقیقات در گذشته در مرحله ارگانوژن صورت گرفته است. در تحقیق حاضر عوارض سوء ناشی از افزایش قند خون و یا اختلالات متابولیکی دیابت در مرحله قبل از لانه گزینی بر روی جنین ها بررسی شد.

مواد و (وشاه): در این مطالعه موش های صحرایی ماده به دو گروه مساوی ($n=60$) آزمایش و کنترل تقسیم شدند. در گروه آزمایش داروی استروپتوزوسین به میزان 30 gr/kg به صورت داخل صفاقی به مدت سه روز متوالی تزریق و وضعیت دیابتی ایجاد شد. حیوانات هر دو گروه با موش های نر هم نژاد هم قفس شدند. در صورت مشاهده بلاک واژینال، صبح روز بعد به عنوان روز اول حاملگی در نظر گرفته شد. موش های باردار در روز دوم، سوم و چهارم بارداری به روش قطع نخاعی کشته شدند و با محیط کشت M2 فلاشینگ لوله و شاخ رحم انجام شد. جنین ها به قطرات $25 \mu\text{l}$ محیط M16 منتقل شدند و سرعت تقسیمات کلیواژی و تعداد جنین ها با استفاده از آزمون Anova و کیفیت بلاستومر های جنین با آزمون Chi-squre بررسی شد.

یافته ها: تعداد تقسیمات کلیواژی در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری ($P<0.001$) کاهش یافت. به طوری که در روز دوم فقط 63% جنین های دیابتی در مقایسه با $94/8\%$ جنین های گروه کنترل به مرحله ۲ سلولی رسیدند. در روز سوم $38/1\%$ جنین های گروه دیابتی در مقایسه با $52/2\%$ گروه کنترل به مرحله ۴ سلولی و در روز چهارم $5/8\%$ جنین های گروه دیابتی در مقایسه با $278/2\%$ گروه کنترل به مرحله مورولایی رسیدند. تعداد جنین ها با کیفیت مطلوب در گروه دیابتی بطور معنی داری ($P<0.001$) کاهش یافت؛ به طوری که در صد فراوانی کیفیت مطلوب (A) در گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل، در روز دوم ($74/43\%$ به $95/5\%$)، سوم ($47/5\%$ به $94/1\%$) و چهارم ($8/5\%$ به $88/9\%$) کاهش داشته است.

نتیجه گیری: به طور کلی دیابت موش های حامله سبب افزایش معنی داری در کیفیت نا مطلوب جنین ها به صورت افزایش تخریب سلولی و کاهش تعداد جنین ها در مقایسه با جنین های گروه کنترل بسته به منظور در روز دوم، سوم و چهارم در مراحل قبل از لانه گزینی شده است.

واژه های کلیدی: دیابت، جنین، مرحله قبل از لانه گزینی، موش صحرایی

۱- استادیار دانشکده علوم پزشکی اهواز گروه تشريح و جنین شناسی

۲- کارشناس ارشد علوم تشريحی

مقدمه

ممکن است باعث ایجاد سیر قهقهایی در رشد و تکامل اولیه جنین ها شود که این امر بعدها در طی حاملگی به صورت سقط جنین، تأخیر رشد داخل رحمی وسایر عارضه های ناهنجار مرتبط به دیابت در مرحله ارگانوژنر نمایان می گردد^(۱۱,۱۲,۱۳)؛ اما هنوز مشخص نشده است که افزایش قند خون تا چه اندازه در سرعت تقسیمات کلیواژی^۴، تخریب سلولی و کیفیت جنینی تا مرحله مورولا^۵ تأثیر دارد. لذا هدف تحقیق حاضر بررسی کمی و کیفی بلاستومرهای جنین در مرحله قبل از لانه گزینی تا مرحله مورولا در دو گروه دیابتی و کنترل است.

مواد و روشها

تعداد ۱۲۰ سر موش صحرایی از نژاد Westar (محدوده وزنی ۱۲۵ ± 5 gr/kg و سن ۸ تا ۱۲ هفته) تحت شرایط متعارف انتخاب و پس از اندازه گیری قند خون، حیوانات به دو گروه آزمایش و کنترل تقسیم شدند.

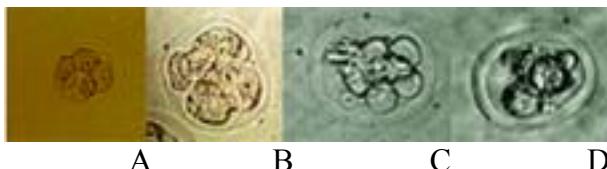
- **ایجاد حالت تجربی دیابت:** در گروه آزمایش برای ایجاد مدل دیابت استروپیوزوسین به مقدار ۳۰ mg/kg به مدت سه روز و در گروه شاهد، نرمال سالین به روش داخل صفاقی تزریق شد^(۱۴).

- **جمع آوری وارزیابی جنین:** حیوانات هر دو گروه با موش های نر هم نژاد هم قفس شدند و صبح روز بعد در صورت مشاهده پلاک واژنیال^۶ به عنوان روز اول حاملگی مجزا و در قفسهای جداگانه نگهداری شدند. موش ها در هر یک از گروه های دیابتی و کنترل به ترتیب به سه گروه ۲۰ عددی بر اساس زمان جنین گیری در روز دوم، سوم و چهارم بارداری به روش قطع نخاعی کشته شدند و با محیط M2 فلاشینگ لوله رحم انجام شد. در روز چهارم علاوه بر لوله رحم، شاخ رحم نیز فلاش شد. پس از شمارش، جنین ها به قطرات ۱ μl محیط M16 پوشیده شده با پارافین سبک منتقل شدند و مطالعه کیفی جنین ها مطابق مقیاس بولتو^۷ اجام شد^(۱۵). کیفیت مطلوب (A) برای

اثر گلوکز بر رشد و تکامل جنین در مراحل قبل از لانه گزینی از مباحث اختلاف بر انگیز است. اکثر محققین براین باورند که جنین موش در تقسیم اول تا سوم به دلیل فقدان استفاده از مسیرهای گلیکولیز نیازکمتری به گلوکز دارد و در محیط Invitro بیشتر نیازمند پیرووات است^(۱,۲). در عین حال عده ای نیز بر این باورند که افزایش گلوکز در محیط Invitro همیشه باعث مهار تقسیمات کلیواژی نمی شود^(۳). بیشتر تحقیقات اثر دیابت بر روی جنین نیز مربوط به دوره بعد از لانه گزینی است. شیوع نقص های مادرزادی مانند ناهنجاری های قلبی، لوله عصبی، سقط های جنینی و تأخیر رشد داخل رحمی به طور معنی داری در نوزادان مادران دیابتی وابسته به انسولین در مقایسه با نوزادان مادران سالم بالا است^(۴,۵). اگرچه عوارض آن را با تجویز انسولین می توان کاهش داد؛ اما با وجود درمان هنوز هم عوارض ناشی از افزایش قند خون ۳ تا ۴ برابر بیشتر از گروه کنترل است^(۷). جنین های پستانداران در مرحله قبل از لانه گزینی در صورتی که در محیط Invitro در معرض عوامل مخرب ناشی از افزایش قند خون قرار گیرند، آسیب های جبران ناپذیری به آنان وارد می گردد^(۸,۹).

نتایج مطالعات گذشته نشان می دهد که تنها ۲۰٪ از جنین های حاصل از موش های دیابتی در ۹۶ ساعت بعد از لفاح به مرحله بلاستوسیستی رسیده اند؛ در صورتیکه در گروه کنترل ۹۰٪ جنین ها به این مرحله رسیده اند. همچنین مقایسه بلاستوسیست های حاصل از موش دیابتی نسبت به بلاستوسیست های گروه کنترل نشان داد که تعداد سلول های جنین در مرحله لاستوسیست ها کمتر است. با استفاده از رنگ آمیزی افتراقی بلاستوسیست ها و تونل^۱ مشخص گردید که اپوپتریس^۲ و فرآگمنتیشن^۳ بیشتر در توده سلولی داخلی است^(۱۰). وجود این یافته ها نشان می دهد که افزایش متابولیت های مخرب Invivo ناشی از افزایش قند خون در مادران دیابتی در محیط

- | | |
|------------------|-------------------|
| 1. Tunel | 5. Morula |
| 2. Apoptosis | 6. Plaque vaginal |
| 3. Fragmentation | 7. Bolto |
| 4. Cleavage | |



شکل ۱: برای بررسی کیفی جنین طبق درجه بندی bolt جنین های حاصل از هر دو گروه شاهد و آزمایش را به چهار دسته کیفی تقسیم گردید.

جدول ۱ مقایسه کیفی ۵۱۹ جنین موش های سالم را نسبت به ۴۰۸ جنین موش های دیابتی در روز های مختلف نشان داده است. بررسی های آماری نشان می دهد که در گروه آزمایش، کیفیت مطلوب A نسبت به گروه کنترل در روزهای آزمایش (P<0.001) دوم، سوم و چهارم به طور معنی داری (P<0.001) کاهش یافته است. به طوری که درصد فراوانی کیفیت مطلوب (A) در گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل، در روز دوم ۰.۷۴/۰.۴۳٪، سوم ۰.۴۷/۰.۴۵٪، چهارم ۰.۷۴/۰.۹۵٪ و (A) به ۰.۸۸/۰.۸٪ کاهش داشته است.

بلاستومرهای با اندازه برابر و بدون فراگمنتیش، کیفیت نامطلوب (B) برای بلاستومرهای برابر و تا حدی فراگمنتیش، کیفیت نامطلوب (C) برای بلاستومرهای نابرابر و تاحدی فراگمنتیش و کیفیت نامطلوب (D) برای بلاستومرهای با بیش از ۵۰٪ فراگمنتیش در نظر گرفته شد. برای بررسی سرعت تقسیمات کلیواژی جنین به تفکیک در روز دوم، سوم و چهارم در گروه آزمایش و کنترل تعداد بلاستومرهای آنها شمارش و در گروه های آزمایش ۸، ۴، ۳، ۲، ۱ سلوی و مورو لا قرار داده شدند.

روش های آماری: مقایسه سرعت تقسیمات کلیواژی و تعداد جنین ها با استفاده از آزمون Anova و کیفیت جنین ها با آزمون Chi-square به وسیله نرم افزار SPSS تحلیل گردید. رسم نمودار ها با نرم افزار EXCEL انجام شد.

یافته ها

تعیین کیفیت جنین ها مطابق مقیاس بولتو با اندازی اصلاح صورت پذیرفت (شکل ۱).

بدین ترتیب که اندیکس فراگمنتیش و نابرابری اندازه

جدول شماره ۱: کیفیت جنین های حاصل از موش های گروه کنترل و گروه دیابتی مرحله قبل از لانه گزینی

کیفیت جنین ها (تعداد و درصد فراوانی)								موش ها
D درصد	تعداد	C درصد	تعداد	B درصد	تعداد	A درصد	تعداد	
-	-	-	-	۴/۵	۶	۹۵/۵	۱۲۸	۱۳۴ روز دوم
۱	۲	۱	۲	۳/۹	۸	۹۴/۱	۱۹۳	۲۰۵ روز سوم
۲/۲	۴	۱/۷	۳	۷/۲	۱۳	۸۸/۹	۱۶۰	۱۸۰ روز چهارم
۱/۹	۲	-	-	۲۹	۳۱	۷۴/۲	۷۴	۱۰۷ روز دوم
۹/۴	۱۵	۲۲/۵	۳۶	۲۰/۶	۳۳	۴۷/۵	۷۶	۱۶۰ روز سوم
۱۹/۹	۲۸	۳۹	۵۵	۳۲/۶	۴۶	۸/۵	۱۲	۱۴۰ روز چهارم

روز دوم کیفیت A در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری (P<0.001) کاهش و کیفیت B افزایش نشان می دهد.

در روز سوم کیفیت A در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری (P<0.001) و کیفیت C.B و (D) افزایش نشان می دهد.

در روز چهارم کیفیت A در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری (P<0.001) کاهش و کیفیت (C.B) و (D) افزایش نشان می دهد.

دیابتی نسبت به جنین های موش های سالم به طور معنی داری کاهش یافته است (P<0.001). به طوری که در روز دوم فقط ۰.۶۳٪ جنین های دیابتی در مقایسه با ۰.۹۴٪ جنین های گروه کنترل به مرحله ۲ سلوی رسیده اند

در جدول ۲ مقایسه کمی ۵۱۹ جنین حاصل از موش های سالم نسبت به ۴۰۸ جنین موش های دیابتی در روز های مختلف نشان داده است. بررسی آماری نشان می دهد که تعداد تقسیمات کلیواژی در روز دوم، سوم و چهارم در جنین های حاصل از موش های

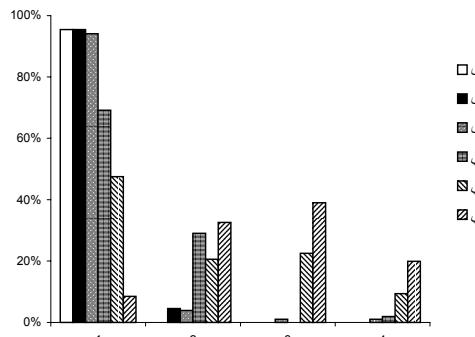
گروه نرمال به مرحله مورولا بی رسانیدند.
نمودار شماره ۱ و ۲ مقایسه کیفیت و کمیت جنین ها را در دو گروه نرمال و دیابتی نشان می دهد.

در روز سوم ۳۸/۱٪ جنین های گروه دیابتی در مقایسه با ۵۲/۲٪ گروه نرمال به مرحله ۴ سلولی رسانیدند و در روز چهارم ۸/۵٪ جنین های گروه دیابتی در مقایسه با ۷۸/۲٪

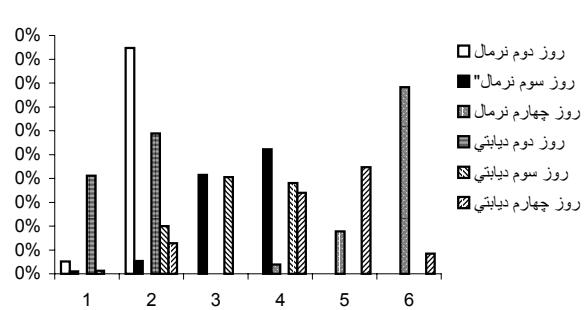
جدول شماره ۲- بررسی کمی تقسیمات کلیواژی در جنین های حاصل از دو گروه نرمال و دیابتی

نرمال	کیفیت جنین ها (تعداد و درصد فراوانی)												موش ها
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	۹۴/۸	۱۲۷	۵/۲	۷	۱۳۴
-	-	-	-	۵۲/۵	۱۰۷	۴۱/۵	۸۵	۵/۴	۱۱	۱	۲	۲۰۵	
۷۸/۲	۱۴۱	۱۷/۸	۲۲	۲/۹	۷	-	-	-	-	-	-	-	۱۸۰
-	-	-	-	-	-	-	-	۵۸/۹	۶۳	۴۱/۱	۴۴	۱۰۷	دیابتی
-	-	-	-	۳۸/۱	۶۱	۴۰/۶	۶۵	۲۰	۳۲	۱/۳	۲	۱۶۰	روز دوم
۸/۵	۱۲	۴۴/۷	۶۳	۳۴	۴۸	-	-	۱۲/۸	۱۸	-	-	-	روز سوم
													روز چهارم

روز دوم تعداد جنین های گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری ($p < 0.001$) در مرحله ۱ سلولی افزایش و در مرحله ۲ سلولی کاهش نشان می دهد.
روز سوم تعداد جنین های گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری ($p < 0.001$) در مرحله ۱ سلولی و ۲ سلولی افزایش و در مرحله ۳ سلولی و ۴ سلولی کاهش نشان می دهد.
روز چهارم تعداد جنین های گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل به طور معنی داری ($p < 0.001$) در مرحله ۴ سلولی و ۸ سلولی افزایش و در مرحله ۶ سلولی کاهش نشان می دهد.



نمودار ۲- مقایسه کیفی جنین های حاصل از موش های سالم و دیابتی در روزهای دوم و سوم و چهارم مرحله قبل از لانه گزینی



نمودار ۱- مقایسه کمی جنین های حاصل از موش های سالم و دیابتی در روزهای دوم و سوم و چهارم مرحله قبل از لانه گزینی

تصور می شود تنظیم آن از تعادل دقیق میان سیگنال های حیاتی داخل و خارج سلولی پیروی می کند؛ اما این که چه عواملی باعث ایجاد این فرایند حذف سلولی در بلاستوسیست ها می شود نشان داده شد که سلول های بلاستوسیستی که به سیگنال های حیاتی داخل و خارج سلولی پاسخ نمی دهند، به طور خودبخود با مکانیسم مرگ به دلیل نقص^۳ از بین می روند. از طرف دیگر این امکان وجود دارد که تحت شرایط آسیب شناختی نظیر بیماری دیابت هم بین عوامل داخل و خارج سلولی تعادل از بین بود که منجر به حذف نامناسب سلول ها

بحث

نتایج حاصل از این تحقیق بیانگر این است که در روز دوم، سوم و چهارم زندگی داخل رحمی کیفیت نامطلوب بلاستومر های حاصل از جنین های مادران دیابتی در مقایسه با گروه کنترل بالاتر بوده است. این نتایج با یافته های پامپفر^۱ در مرحله بلاستوسیستی تطابق دارد و به نظر می رسد که کیفیت بلاستومرها در تعیین سرنوشت جنین بی تأثیر نیست. به طور طبیعی در طی تکامل بلاستوسیست فرایند های مرفوژنتیک ناشی از مرگ سلولی به صورت مرحله گذرا اتفاق می افتد که

داده است که در موش های باردار دیابتی، میزان گلوکز در داخل سلول جنین های آنها در مرحله قبل از لانه گزینی کاهش می یابد به خصوص در ۴۸ و ۹۸ ساعت بعد از انجام عمل لقاح که این کاهش در واقع نتیجه کاستی در میزان انتقال گلوکز به داخل سلول است نه به دلیل افزایش فعالیت همگروکیناز. هم چنین این کاهش در انتقال، بازگوکننده ایجاد خلل در تسهیل انتقال گلوکز در هر دو سطح mRNA و عوامل پروتئینی نسخه برداری سلول های جنینی است(۸). مطالعه انجام شده در مرحله بلاستوسیستی نشان داد که افزایش میزان گلوکز مادران باردار باعث کاهش تنظیم GLUT2-4 در سطح mRNA و عوامل پروتئینی و آغاز وقایع مرگ سلولی به وسیله عوامل تحریک کننده نظریه پاسخ به میزان بالای قند خون مادر تنظیم بیان GLUT1 کاهش می یابد که ممکن است بازگوکننده کاهش یک سری وقایع تنظیم کننده fh عامل نسخه برداری باشد که ناحیه Upstream زنجیره DNA از ژن GLUT1 را تنظیم می کند(۱۷). مطالعه در محیط Invitro فوق و مطالعه Invivo تحقیق حاضر و تحقیقات(۱۰،۱۱) نشان می دهد که افزایش میزان قند خون موش های دیابتی در روز دوم، سوم و چهارم منجر به افزایش کیفیت نامطلوب در جنین های آنها می گردد. تحقیق حاضر هم چنین نشان داد که علاوه بر تأثیر کیفی، تعداد تقسیمات بلاستومری نیز در طی روند مرحله قبل از لانه گزینی در جنین های حاصل از مادران دیابتی در مقایسه با گروه کنترل کم است که با توجه به مکانیسم انتقال گلوکز و تنظیم مولکولی و ثانی که در پاسخ به افزایش میزان قند خون مادر اتفاق می افتند نتایج به دست آمده،

با همین مکانیسم می گردد (۱۰). با توجه به این موضوع به نظر می رسد که در صورت حذف نامناسب سلول های موجود در توده سلولی داخلی^۳ که در مرحله ارگانوژن^۴ باعث تشکیل تمامی ارگان های بدن جنین می شود، ممکن است عواقب ناخوشایندی در مراحل بعدی تکامل به وجود آید. مطالعات گذشته وجود این عارضه را انکار نمی کنند و نشان می دهند که تعداد سلولهای بلاستوسیست حاصل از موش های باردار دیابتی نسبت به بلاستوسیست گروه کنترل به طور معنی داری کمتر شده است (۱۶). علاوه بر آن ادامه حیات بلاستوسیست های گروه آزمایش نیز نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است. تحقیق حاضر نیز تعداد جنین های دو سلولی تا مورولای حاصل از موش دیابتی را نسبت به گروه کنترل با درصد پایین تری کمتر نشان داد؛ به نظر می رسد با گذشت زمان میزان جذب جنین افزایش می یابد.

به طور کلی مطالعات در بعد مولکولی نشان داده است که گلوکز به وسیله یکی از چهار عامل انتقال گلوکز به نام های GLUT4، GLUT3، GLUT2 و GLUT1 از مادر به GLUT3، GLUT2، GLUT4 در مرحله بعد از لانه گزینی و GLUT1 از روز سوم مرحله قبل از لانه گزینی دخیل هستند. بنابراین کنترل متابولیکی انتقال گلوکز خون در چند سطح صورت می گیرد که شامل فعالیت انتقال دهنده های داخل سلولی ریپتور ها، کمپلکس پروتئینی لیگاندها، ترانس کریپشنال فاکتور ها و تنظیم قبل و بعد از ترانس کریپشنال است (۱۷،۱۸،۱۹).

حقیقین با کشت سلول های مختلف در محیط های با غلظت بالای قندخون حضور میزان بالای گلوکز را عامل ایجاد خلل در تسهیل انتقال گلوکز عنوان نموده اند. بر عکس این مسئله نیز صدق است و در صورت پایین بودن سطح گلوکز افزایش سریعی در تولید mRNA و عوامل نسخه برداری رخ می دهد و باعث افزایش ناگهانی در میزان انتقال گلوکز به داخل سلول می شود (۲۰). در مطالعات داخل رحمی نیز نشان

References

1. maggie MY, Chi Amande H and Kelle HM. Metabolic changes in the glucose – induced apoptotic in blastocyst suggest alteration in mitochondrial physiology. *AMJ physiol Endocrinol, Metab*, 2002; 283: 226-231
2. Tenneille E, Ludwig ML and Barry DB. Differential effect of hexoses on Hamster embryo Development in culture. *Biology of Reproduction*, 2001; 64: 1366-1374
3. John D, and McGinnis LK. Evidence that glucose is not always an inhibitor of mouse preimplantation Development in vitro. *Human Reproduction*, 2001; 16(1):153-163
4. William LJ Human Embryology, Churchill livingstone, Hong kong, 1997
5. Sutherland HW & Pritchard CW. Increased incidence of spontaneous abortion in pregnancies complicated by maternal diabetes mellitus. *AM, J Obstet Gynecol*, 1987; 156: 135-138
6. Mills JL. Incidence of spontaneous abortion among normal women and insulin-dependent diabetic women whose pregnancies were identified within 21 days of conception. *N, Engl J Med*, 1988; 319: 1617-1623
7. Lis JL Simpson 74, D.G.Driscoll, and Peterson. Incidence of spontaneous DG, abortion among normal women and insulin –dependent diabetic women whose pregnancies were identified within 21days of conception *N. Engl J. Med*, 1988; 319: 1617-1623
8. Kelle HM, Maggie M. ehiy, and Mike M. Maternal hyperglycemia alters glucose transport and utilization in mouse preimplantation embryos. *AM J physiol Endocrinol Metab*, 1998; 275: 38-47
9. Greene Mf. Preimplantation and diagnosis of congenital anomalies in diabetic pregnancies. *Clin perinatol*, 1993; 20:533-547
- 10-Pampfer SR, DeHertogh I. Vanderheyden MB and Vercheval M. Decreased inner cell mass proportion in blastocysts from diabetic rats. *Diabetes*, 1990; 39: 471-476
11. Lea RG, McCracken JE, McIntyre SS, Smith W, and Baird JD. Disturbed development of the preimplantation embryo in the insulin-dependent diabetic BB/E rat. *Diabetes*, 1996; 45: 1463-1470
12. Martin KL and Leese HJ. Role of glucose in mouse preimplantation embryo development. *Mol Reprod Dev*, 1995; 40: 436-443
13. Korgun EK, Demir R, Hammer A, Dohr G, Desoye G, Skofitsch G, and HahnGlucose T. Transporter Expression in Rat Embryo and Uterus During Decidualization, Implantation, and Early ostimplantation *Biology of Reproduction*, 2001; 65: 1364-1370
14. Diamond MP, Moley Pellicer A, Vaughn WK, and DeCherney AH, and et al. Effects of streptozotocin- and alloxan-induced diabetes mellitus on mouse follicular and early embryo development. *J Reprod Fertil*, 1989; 86:1-10

پذیرفتنی و مورد انتظار بوده است؛ اما این که چه راه های درمانی برای جلوگیری از تأثیر تخریبی هیپرگلیسمی ناشی از ژن های انتقال دهنده گلوکز وجود دارد، جای بحث و تحقیق فراوان دارد به نظر می رسد ژن درمانی در ۳ روز اول حاملگی برای افزایش بیان ژنی GLUT1 اهمیت بسزایی دارد.

15. Bolto VN, Hawas SM, Taylor CT, and Paraons JH. Development of spare human pre implantation embryos *iv vitro*: an analysis of the correlations among gross morphology, on *in vitro* cleavage rates and development to the blastocyst. *J In vitro Fertile, Embryo Transfer*, 6, 30, 1989
16. Weile MJ, Acobson MD, Coles HS; Darics TJ, Gardner RL, Raff KD, and Raff MC. Constitutive expression of the machinery for programmed cell death. *J Cell Biol*, 1996; 133:1053-1059
17. Ott RM, Robertson M, Muckersie E, and Forrester JV. Regulation of glucose transporters (GLUT-1 and GLUT-3) in human retinal endothelial cells. *Biochern J*, 1996; 318:313-317
18. Rown JG, and Whittingham DG. The roles of pyruvate, lactate and glucose during preimplantation development of embryos from F1 hybrid mice *in vitro*. *Development*, 1991; 112: 99-105
19. Pantaleon MB, Harvey WS, Pascoe DE, James E, and Kaye PL. Glucose transporter GLUT3: Ontogeny, targeting, and role in the mouse blastocyst. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Developmental Biology*, 1997; Vol. 94., 3795-3800
20. Ridge MV, Tan AS, McCoy KD, Kansara M, and Rudert F. CD95 (Fas/Apo-1)-induced apoptosis results in loss of glucose transporter function. *J Immunol*, 1996; 156: 4092-4099
21. Moley MM, Chi JK, Manchester DB McDougal and OHowry Alterations of intraembryonic metabolites in preimplantation mouse embryos exposed to elevated concentrations of glucose: a metabolic explanation for the developmental retardation seen in preimplantation embryos from diabetic animals. *Biology of Reproduction*, 1996; Vol 54, 1209-1216