مطالعه هیستوژنز مخچه جنین در گوسفند نژاد قزل

سید سجاد حجازی[1*]، علی خوش سودا[2]

۱ـ گروه علوم پایه دانشکده دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
۲ـ گروه بافت شناسی دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
*مسئول مکاتبات : sajjadhejazi@iaut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۳/۵/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۴/۶/۳۰

چکیده

هدف از این مطالعه تعیین الگوی زمانی تمایز بافت مخچه در دوره جنینی گوسفند نژاد قزل می‌باشد. در این مطالعه که از نوع توصیفی مشاهده‌ای است از ۱۰۰ جنین جدا شده از رحم گوسفند آبستن بطور تصادفی استفاده شده است. نمونه‌ها پس از فیکس شدن و اندازه-گیری مورفولوژیکی طی مراحل تهیه مقاطع بافت‌شناسی به روش هماتوکسیلین-ائوزین رنگ‌آمیزی شده در زیر میکروسکوپ نوری بررسی شد. در مشاهدات میکروسکپی در زمان چهل روزگی از آبستنی هنوز بافت مخچه تمایز پیدا نکرده بود. در این مرحله، محل ظهور مخچه به حالت توده سلول‌های، نوروایپتلیال لوله عصبی بود. در پنجاه روزگی از آبستنی، فرم اولیه مخچه در اثر قرارگیری سلول-های مهاجر بطور لایه‌بندی و ایجاد چین‌خوردگی اولیه در زیر نرم‌شامه، قابل تشخیص بود. در هفتاد روزگی، چین‌ها به تعداد بیشتری روی نوارهای بلند به صورت چین اولیه که روی آن چین ثانویه قرار دارند مشاهده می‌شوند. در هشتاد روزگی، شاهد ظهور سلول‌های پورکنژ در بین لایه‌های گرانولار و مولکولار بودیم. در نود روزگی از آبستنی، بافت مخچه دارای چین‌های اولیه، ثانویه و ثالثیه بود. در صد و بیست روزگی تمامی ساختارهای بافتی مخچه در ماه آخر از آبستنی به فرم بالغ دیده شد. می‌توان نتیجه گرفت که تمایز بافت مخچه از توده سلول‌های مهاجر لوله عصبی بوده که بعد از هفته‌های ششم شروع می‌گردد و تمامی ساختار بافت مخچه در دوره جنینی و قبل از زمان یک ماه قبل از زمان تولد تظاهر می‌نماید.

کلمات کلیدی: جنین گوسفند، سلول پورکنژ، مخچه

مقدمه

گوسفند قزل یکی از نژادهای دنبه‌دار است که منطقه زیست آن در ایران، آذربایجان شرقی و مناطق کوهستانی تبریز بویژه کوهپایه‌های سهند است [٦]. مخچه در حفره کرانیال خلفی قرار داشته و بوسیله چادرینه مخچه پوشیده شده است و به وسیله بطن چهارم از پل مغزی و بصل-النخاع جدا می‌شود که دارای قسمت قشری و مرکزی می‌باشد. قشر مخچه دارای سه لایه می‌باشد و ساختمان آن در سرتاسر مخچه یکسان می‌باشد. مورفولوژی مخچه در حیوانات اهلی (نشخوارکننده) توسط نودن در سال ۱۹۸۳ ارائه شده است. اما اطلاعات مربوط به تکامل مخچه در انواع نشخوارکنندگان ناکافی می‌باشد [۷]. در مطالعات انجام شده روی پیدایش مخچه در انسان و سایر گونه‌های حیوانی اشاره به رشد و مشاهده ناحیه متانسفال شده است [۳، ۸]. اولین نشانه تکامل مخچه، بزرگ شدن قسمت بالایی صفحه بالی متانسفال می‌باشد. این حالت برخلاف صفحه نازک سقف میلنسفال است. رشد پشتی و دو طرفه به نام لب‌های لوزی به طرف داخل در ناحیه‌ی صفحه‌ی سقفی قسمت پیشین بطن چهارم انجام می‌گیرد. در نهایت این ناحیه به هم متصل شده و در خط وسط بطور کامل این قسمت از بطن چهارم را می‌پوشاند [۹]. در این مطالعه سعی شده است تکامل هیستولوژی مخچه، خاستگاه پیدایش مخچه، زمان ظهور لایه‌های تشکیل دهنده قشر مخچه و سلول‌های پورکنژ در جنین گوسفند نژاد قزل مورد بررسی قرار گیرد.

Archive of SID
www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir

مواد و روش کار

جامعه‌ی آماری در این بررسی، شامل گوسفندان ماده آبستن کشتار شده در کشتارگاه صنعتی شهرستان تبریز و واحد نمونه‌گیری شامل ۱۰۰ جنین جدا شده از رحم میش‌های آبستن بود. نمونه‌برداری به روش تصادفی انجام گرفت. این مطالعه در مرکز تحقیقات دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز بود.سن جنین‌های جمع‌آوری شده از ۴۰ روزگی (اولین زمان رویت ماکروسکپی مخچه) الی ۱۲۰ روزگی (ماه آخر آبستنی) بود. سن جنین‌های جمع‌آوری شده با احتساب اندازه طول آنها (CRL)، طبق فرمول ارائه شده: $X = 2.1(Y+17)$ (Y عدد طول جنین و X عدد سن جنین می‌باشد) محاسبه گردید [۲]. با ایجاد برش طولی در ناحیه سر جنین، مخچه‌ها جدا شدند (شکل ۱) و در محلول فیکساتیو فرمالین ۱۰٪ قرار داده شدند. تمامی نمونه‌ها بعد از طی انجام مراحل تهیه مقاطع بافتی، با روش هماتوکسیلین- ائوزین رنگ‌آمیزی شده و زیر میکروسکوپی نوری نیکون (مدل Eclipse E200، ساخت کشور ژاپن) مورد بررسی قرار گرفتند.

شکل۱- جدا سازی بافت مخچه از جنین گوسفند. ۱. مخچه ۲. مخ

نتایج

روز۴۰ از آبستنی: در این مرحله سلول‌های نورواپیتلیال پوشاننده لوله عصبی در حال تقسیم و سلول‌های دختری حاصله به نواحی محیطی مهاجرت می‌نمایند. تراکم سلول‌ها در مجاورت نزدیک لوله عصبی بیشتر بوده و در مجموع به نظر می‌رسد که سلول‌های در حال مهاجرت ایجاد ستون‌های سلول شعاعی از سمت لوله عصبی به طرف محیط را می‌نمایند (شکل ۲).

روز ۴۲ از آبستنی: در این مقطع سطح زیر سلول‌های در حال تزاید به رنگ صورتی یکنواخت مشاهده می‌شود که نسبت به مقاطع قبلی ضخیم‌تر شده است و به نظر می‌رسد که ماده سفید در حال تشکیل می‌باشد نحوه قرار گرفتن سلول‌های در حال تزاید همانند مقاطع قبلی بوده و لایه کم‌سلول ضخامت نسبتاً بیشتری پیدا کرده است. شبکه کوروئید از سقف بطن چهارم به داخل بطن کشیده شده است و سلول‌های نوروبلاست همچنان که سمت نواحی سطحی در حال تزاید و مهاجرت هستند ضخامت لوله عصبی افزایش قابل ملاحظه‌ای را نشان می‌دهد. نوروبلاست‌های حد فاصل بین ناحیه پرسلول و کم سلول از هم کمی فاصله دارند و به نظر می‌رسد که به وسیله استطاله‌های سیتوپلاسمی در ارتباط با یکدیگر هستند، و

www.SID.ir

باهم ایجاد ظاهر شبکه‌مانند در این ناحیه نموده‌اند. سلول‌های موجود در بخش کم‌سلول اغلب دارای هسته‌های کروی و هتروکروماتیک و کوچک می‌باشند، حد فاصل بین این سلول‌ها نیز رشته‌های باریک و به هم مرتبط مشاهده می‌شود (شکل ۳).

روز ۵۰ از آبستنی: در این مرحله ناحیه پرسلول که مجاور حفره داخلی لوله عصبی است بسیار نازک شده است بقیه سلول‌ها در بالای این ناحیه از هم فاصله گرفته‌اند و به وسیله استطاله‌هایی به هم مربوط می‌شوند و ناحیه ضخیمی را تشکیل می‌دهند. در ناحیه سطحی یک لایه پر سلول در حال شکل‌گیری است که به نظر می‌رسد لایه گرانولار خارجی است. بخش ضخیمی که در زیر آن قرار دارد به نظر می‌رسد که لایه‌های قشر در حال تشکیل می‌باشد. در این مرحله چین‌خوردگی سطحی مخچه آغاز شده و در بین چین و شکنج‌های نرم‌شامه پر از عروق خونی نفوذ نموده است (شکل ٤).

روز ۷۰ از آبستنی: چین به تعداد بیشتری روی نوارهای بلند مشاهده می‌شوند به صورت چین اولیه که روی آن چین ثانویه قرار دارند. تعداد سلول‌های سطحی بیشتر بوده و یا متراکم کنار هم قرار دارند، زیر آنها ناحیه کم سلول و سپس یک ناحیه نسبتاً پر سلول مشاهده می‌شود و در وسط چین ماده سفید در حال تکامل مشاهده می‌گردد (شکل ۵).

روز ۸۰ از آبستنی: چین‌های مخچه ضخامت قابل ملاحظه‌ای دارند. ناحیه پرسلول سطحی ضخامت بیشتری پیدا کرده است در عمق ناحیه کم سلول سطحی هسته بعضی در سلول‌های عصبی بزرگتر به نظر می‌رسد. احتمالاً آنها سلول‌های پورکنژ در حال شکل‌گیری می‌باشند (شکل ٦).

روز ۹۰ از آبستنی: مخچه افزایش حجم یافته، چین‌ها ضخیم و کوتاه‌تر شده‌اند. لایه پرسلول سطحی همچنان ضخیم به نظر می‌رسد. در عمق لایه کم سلول (لایه مولکولی) سلول‌های پورکنژ در حال تکامل مشاهده می‌شوند. هسته در این سلول‌ها اوکرماتیک است و سیتوپلاسم صورتی رنگ وسیعی پیرامون آن گرفته و زواید آنها در بعضی نواحی مشاهده می‌شوند. لایه گرانولی در زیر لایه کم سلول قرار دارد (شکل ۷).

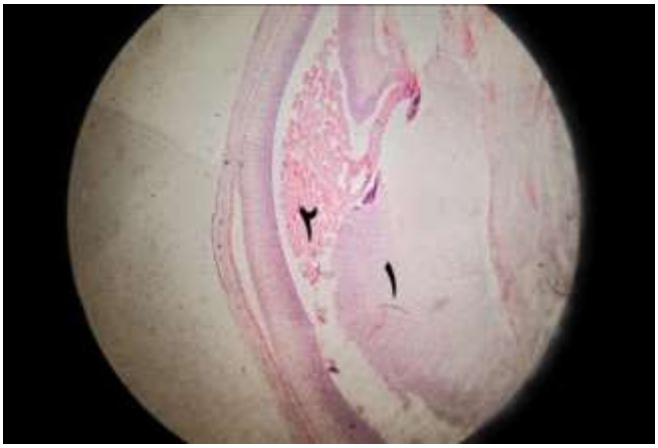
روز ۹۵ از آبستنی: لایه پرسلول سطحی همچنان ضخیم می‌باشد. لایه مولکولار رنگ صورتی بیشتری دریافت کرده است در این ناحیه هسته‌ها پراکنده مشاهده می‌شوند. سلول‌های پورکنژ با فواصل معینی در این روز بهتر مشاهده می‌شوند. فاصله این سلول‌ها بسیار کم بوده و زواید آنها به داخل لایه مولکولار کشیده شده است و لایه دانه‌دار دارای ضخامت قابل ملاحظه است (شکل ۸).

روز ۱۰۵ از آبستنی: لایه پرسلول سطحی در اکثر نواحی حذف یا در حال جداشدن می‌باشد. لایه مولکولار ضخامت قابل ملاحظه‌ای نشان می‌دهد. سلول‌های پورکنژ در بین دو لایه مولکولار و دانه‌دار ردیف شده‌اند. این سلول‌ها سیتوپلاسم نسبتاً بازوفیلی و هسته اوکروماتیک با هستک مشخص مشاهده می‌گردند (شکل ۹).

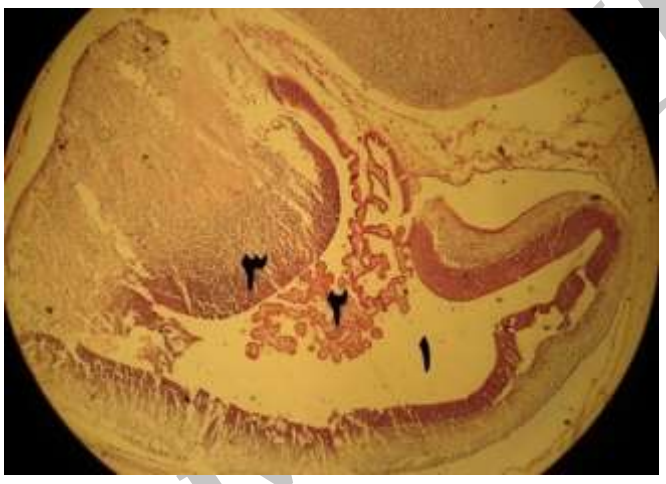
روز ۱۲۰ از آبستنی: تمامی ساختارهای بافتی مخچه در ماه آخر از آبستنی قابل مشاهده و به فرم بالغ دیده شد. بطوریکه در سه ماهه آخر تغییرات قابل ملاحظه‌ای مشاهده نشد (شکل ۱۰).

Archive of SID

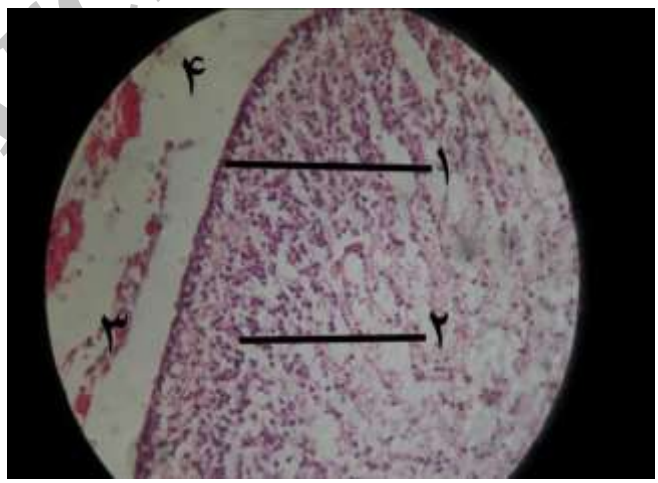
www.SID.ir



شکل۲ـ نمای ریزبینی از تمایز سلول‌های نوراپیتلیال در ناحیه تلانسفال و در حضور گسترش شبکه کورئیدی در فضای بطن چهارم. روز ٤٠ آبستنی(رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ـ ائوزین، درشتنمائی × ۱۰۰ برابر).۱ـ سلول های نورو اپیتلیال ۲ـ شبکه کوروئیدی

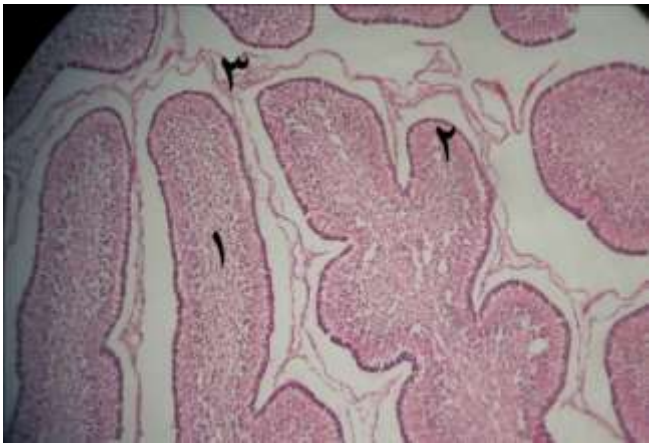


شکل ۳ـ نمای ریزبینی از تمایز سلول‌های نوروبلاستی در ناحیه تلنسفال و در حضور گسترش شبکه کورئید کوروئیدی در فضای بطن چهارم. روز ٤۲ از آبستنی (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ـ ائوزین، درشتنمائی × ۱۰۰ برابر)، ۱.فضای بطن چهارم ۲. شبکه کوروئید ۳. تجمع سلول‌های نوروبلاستی

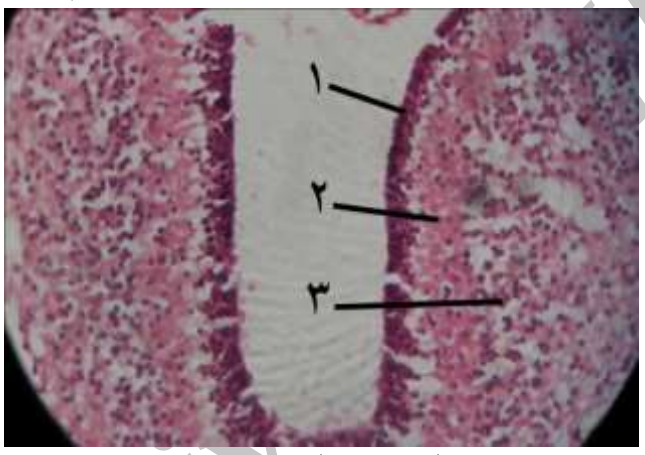


شکل٤ـ نمای ریزبینی از تمایز سلول‌های نوروبلاستی در ناحیه تلنسفال به سلول لایه گرانولار خارجی و لایه‌ی قشر مخچه. روز ۵۰ آبستنی، (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین–ائوزین، درشتنمائی × ۱۰۰ برابر) ، ۱ـ سلول‌های گرانولار خارجی، ۲ـ قشر مخچه اولیه، ۳ـ لایه نرم شامه، ٤ـ فضای بطن چهارم

www.SID.ir



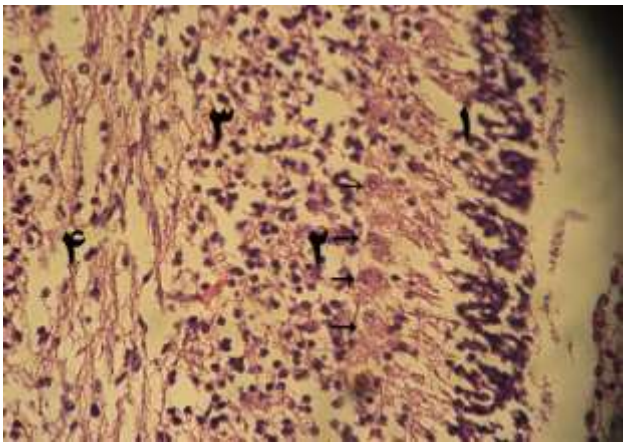
شکل ۵ـ نمای میکروسکوپی از چین‌های اولیه و ثانویه تشکیل شده در مخچه. روز ۷۰ از آبستن (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ـ ائوزین، درشتنمائی × ۱۰۰ برابر)، ۱ـ چین اولیه، ۲ـ چین ثانویه، ۳ـ نرم شامه



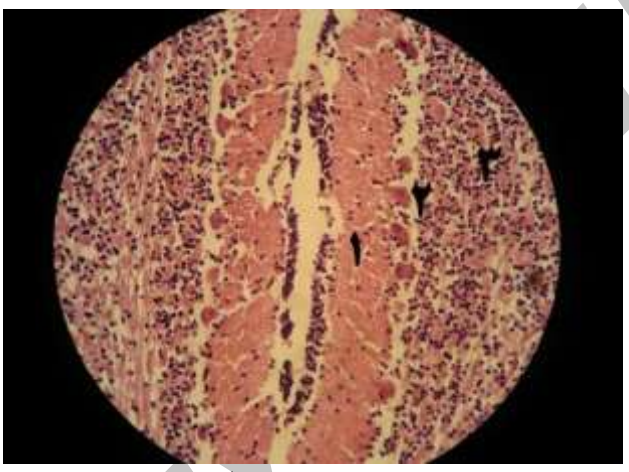
شکل ٦ـ نمای ریزبینی از تمایز قشر مخچه. روز ۸۰ از آبستن، (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین–ائوزین، درشتنمائی × ٤۰۰ برابر)، ۱ـ سلول‌های گرانولار خارجی، ۲ـ لایه مولکولار، ۳ـ لایه گرانولار داخلی

شکل ۷ـ نمای میکروسکوپی از چین‌های اولیه و ثانویه و ثالثیه تشکیل شده مخچه. روز ۹۰ از آبستن (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ـ ائوزین، درشتنمائی × ٤۰ برابر). ۱ـ ماده سفید، ۲ـ چین اولیه، ۳ـ چین ثانویه، ٤ـ چین ثالثیه

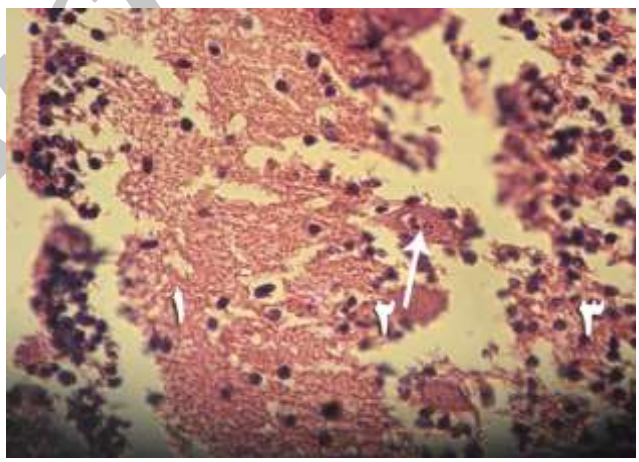
www.SID.ir



شکل ۸ـ نمای میکروسکوپی از بافت مخچه در روز ۹۵ از آبستنی (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ـ ائوزین، درشتنمائی × ۱۰۰ برابر)، ۱ـ لایه مولکولار، ۲ـ لایه پورکنژ، ۳ـ لایه گرانولار، ٤ـ ماده سفید



شکل ۹ـ نمای میکروسکوپی از بافت مخچه تکامل یافته در روز۱۰۵ از (رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ـ ائوزین، درشتنمائی × ٤۰۰ برابر). ۱ـ سلول‌های لایه مولکولار، ۲ـ سلول‌های لایه پورکنژ، ۳ـ سلول‌های لایه گرانولار



شکل۱۰ـ نمای ریزبینی از سلول پورکنژ تکامل یافته با هسته یوکورماتین هستک و سیتوپلاسم ائوزینوفیلی روز ۱۲۰ از آبستنی (رنگ-آمیزی هماتوکسیلین ـ ائوزین، درشتنمائی × ٤۰۰ برابر) ۱ـ سلول‌های لایه مولکولار، ۲ـ سلول‌های پورکنژ، ۳ـ سلول‌های گرانولار

www.SID.ir

بحث

در مطالعات روی و خاترا (۱۹۸۲) در هفته هفتم از آبستنی سلول‌های نوراپیتلیال مخچه جنین بز به ضخامت ۰/٤٥±١٤ نانومتر گزارش شده بود [۸]. در مطالعات حاضر نیز ضخامت سلول‌های لایه نوراپیتلیال مخچه گوسفند در سن ٥٠ روزگی ضخامت ١٤ نانومتر محاسبه گردید. در مطالعه حاضر تا قبل از ٦٠ روزگی سلول پورکنژ قابل تفکیک نبودند بطوریکه در مطالعه روی و خاترا (۱۹۸۲) ظهور سلول‌های پورکنژ بعد از هفته هشتم از آبستنی گزارش کرده بود [۸]. در همین مطالعه روی مخچه بز زمان پیدایش مخچه را در روز ٦٤ از آبستنی گزارش شده بود در مطالعه حاضر نیز پیدایش چین های اولیه مخچه گوسفند در روز ٦٣ از آبستنی مشاهده شد.

در یک مطالعه‌ای با تکنیک اتورادیوگرافی روی زمان پیدایش عناصر عصبی در مخچه موش صحرائی دیده شده است که زودترین سلول عصبی که متمایز می‌گردد، سلولهای پورکنژ مخچه می‌باشد. این سلول‌ها از روز ١٦-١٥ ام از تکامل جنینی (آبستنی) پدیدار می‌شوند [۱]. در مطالعه‌ای که توسط کرن و همکاران (۲۰۰۳) با روش هیستواتوگرافی در مورد زمان ظهور سلول‌های نوروبلاست موش در مخچه انجام شده بود، چنین بیان شد که سلول‌های پورکنژ در قشر مخچه از روزهای ١٥-١٣ از تکامل جنینی از سلول‌های قابل متمایز شونده ایجاد می‌گردد [٥]. در مطالعه حاضر نیز اولین سلول عصبی کامل متمایز یافته سلول‌های پورکنژ بود.

در مطالعه روی و خاترا (۱۹۸۲) میلین‌سازی در مخچه بز در طول ماه سوم (٦٠ روزگی به بعد) گزارش شده بود. در مطالعه حاضر نیز شکل گیری ماده سفید و میلین‌سازی در روز ٦٧ از آبستنی در جنین گوسفند دیده شد [۸].

تشکیل و پیدایش نرم شامه و تشکیل شبکه کوروئید در بطن چهارم در جنین بز قبل از ٤٠ روزگی از آبستنی [۷، ۸] گزارش شده است. در مطالعه حاضر نیز گسترش شبکه کوروئید در بطن چهارم در نمونه‌های ٤٠ روزگی قابل مشاهده بودند. نودن در مطالعات خود فرم کامل شده مخچه نشخوارکنندگان به زمان تولد اشاره کرده است و از لحاظ مورفولوژی در ماه پنجم از آبستنی ۹ لوب کلاسیک مخچه در نشخوارکنندگان ظاهر می‌شوند [۷]. در مطالعه حاضر، بافت مخچه جنین گوسفند در سن ۱۲۰ روزگی به بعد فرم بالغ به خود گرفت و تمامی لایه‌های مولکولار، پورکنژ، گرانولار و ماده سفید زیر میکروسکوپ قابل تفکیک بودند. زمان ظهور این سلول‌های گرانولار خارجی در سن ٥٠ روزگی به بعد دیده می شوند [۱۰] در مطالعه حاضر نیز بیشترین ضخامت سلول در لایه گرانولار خارجی در محدوده سنی ۸۰ الی۱۰۰روزگی مشاهده شد. قشر مخچه در حیوانات سم‌دار از نظر هماهنگی و تطابق زودتر از گوشتخواران تکامل می‌یابد. در گوساله، لایه زایگر خارجی در محدوده میانی حاملگی به حداکثر ضخامت می رسد و هنگام تولد بسیار نازک می شود. در سگ و گربه، لایه زایگر خارجی در حدود روز هفتم پس از تولد به حداکثر رشد خود رسیده و تا هفته دوم پس از تولد همراه با تشکیل نورون‌های لایه دانه‌دار شروع به کاهش می‌نمایند. در این حیوانات برخی از سلول‌های لایه‌ی زایگر خارجی تا ۳ ماهگی باقی می‌مانند [٤]. در حیوانات آزمایشگاهی، اکثر زمان تکثیر سلول‌های لایه زایگر خارجی در هفته دوم بعداز تولد می‌باشد، اما در انسان این لایه تا ۳ سالگی باقی می‌ماند [٤، ۷]. در جنین گوساله، لایه زایگر خارجی که در حدود روز ٥٧ حاملگی ظاهر شده و در حوالی روز ۱۸۳ از آبستنی به حداکثر ضخامت خود می‌رسد. هنگامی که نورون‌های لایه دانه‌دار قشر مخچه را به وجود می‌آورد، به آرامی اندازه‌اش کاهش می‌یابد و در نتیجه هنگام تولد لایه زایگر خارجی فقط به اندازه چند سلول ضخامت دارد [۷]. مطالعه حاضر نیز الگوی پیدایش و رشد لایه زایگر خارجی با جنین گوساله مطابقت داشت.

بر اساس نتایج بدست آمده از این مطالعه چنین استنباط می‌شود که ارتباط مستقیمی ما بین زمان تمایز و تکامل مخچه با تکامل گونه‌های مختلف حیوانی دارد.

Archive of SID

www.SID.ir

نتیجه‌گیری

بطور کلی از یافته‌های بدست آمده از بخش نتایج و مقایسه آن با سایر مطالعات، می‌توان چنین نتیجه گرفت که میان الگوی زمانی رشد ضخامت قشر مخچه در جنین گوسفند با گوشتخواران تفاوت زمانی چشم‌گیری وجود دارد. همچنین میان الگوی زمانی رشد ضخامت قشر مخچه در گوسفند در مقایسه با تک‌سمیان بسیار نزدیک می‌باشد.

منابع

1- ASHP (American Society of Hospital Pharmacists) (1990), Technical assistance bulletin on handling cytotoxic and hazardous drugs. *American Journal of Hospital Pharmacy*, 47: 1033-1049.

2- Arthur G.H., Noakes D.E., Pearson H. (1989), Veterinary reproductive and obstetrics. 6th ed. London: 59.

3- Dellmann H.D., Enrell J.A. (1998), Text book and veterinary histology. 5th ed., Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, pp: 91-113.

4- Ghosh R.K. (2002), Essentials of veterinary embryology. Medical Book Company, Kolkata, pp: 86-89.

5- Kern J.K. (2003), Purkinje cell vulnerability and autism: a possible etiological connection. *Brain and Development*, 25: 377-382.

6- Mason I.L. (1996), Aworld Dictionary of Livestock Breeds, Types and Varieties. 4th ed. CAB International, pp: 273.

7- Noden D., Lahunta A. (1985), The embryology of domestic animals. Williams and Wilkins, London, pp: 323-326.

8- Roy K.S., Khatra G.S. (1982), A biometrical study on the brain of goat (*Capra hircus*). *Journal of the Anatomical Society of India*, 31: 91-95

9- Sadler T.W. (2004), Longman's medical embryology, 9th ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, pp: 93-95.

10- Smith K.R. (1960), An electron microscopic study of maturation of the cerebellar cortex of the rabbit. *The Anatomical Record*, 138(4): 461-492.

www.SID.ir