

## بررسی تکامل اولیه لنز در جنین جوجه به وسیله مدلسازی سه بُعدی با کامپیوتر

سعید رهبر Ph.D\*<sup>♠</sup>، مجتبی رضازاده ولوجردی Ph.D\*<sup>♠</sup>، احمد حسینی Ph.D\*

\* جهاد دانشگاهی علوم پزشکی ایران - پژوهشکده رویان

\* دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه علوم تشریح

\* دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده پزشکی، گروه علوم تشریح

♠ آدرس مکاتبه: تهران، صندوق پستی ۴۶۴۴-۱۹۳۹۵، پژوهشکده رویان، گروه جنین شناسی

### چکیده

**\* هدف:** بررسی تکامل اولیه لنز در جنین جوجه به وسیله مدلسازی سه بُعدی با کامپیوتر

**\* مواد و روشها:** مقاطع سریال از لنز اولیه پردازش و به وسیله میکروسکوپ نوری نقشه‌های توموگرافی تهیه شد. سپس توسط نرم‌افزار اتوکد سه بُعدی سازی انجام شد.

**\* یافته‌ها:** در این بررسی مشخص شد که: (۱) اپی‌تلیوم اکتودرم سطحی ضخیم شده و سپس به سمت داخل انحنا می‌یابد. (۲) این تورفتگی وسیع‌تر شده و در لبه شکمی شیب کمتر و وسعت بیشتری دارد. (۳) ناحیه تورفته اپی‌تلیوم اکتودرمی سطحی، حباب لنزی نامتقارن را با لبه‌های برآمده و قسمت گود مرکزی ایجاد می‌کند و روزنه لنزی بسته شده و لنز اولیه حاصل از اینواژینه شدن از قسمتهای فوقانی شروع و تا نواحی تحتانی ادامه می‌یابد.

**\* نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد که تورفتگی ناحیه مرکزی پلاک لنزی همزمان با برآمدگی نواحی کناری پلاک لنزی است.

**کل واژگان:** پلاک لنزی، تورفتگی، مدلسازی سه بُعدی

## مقدمه

مدلسازی سه‌بعدی یا بازسازی حجمی با کامپیوتر یکی از روشهای جدیدی است که در علوم ریخت‌شناسی جایگاه ویژه‌ای را به‌خود اختصاص داده است. به‌طوری‌که مطالعات انجام شده به‌وسیله این تکنیک، نظرات و اطلاعات جدیدی را فراروی محققان قرار داده است. اهمیت استفاده از روش مدلسازی سه‌بعدی با کامپیوتر در جنین‌شناسی دو چندان است، زیرا از یک‌سو حرکت‌های مورفوژنتیک بسیاری در روند تکاملی جنین دیده می‌شود و از سوی دیگر؛ نگرش حجمی به ساختارهای جنینی باعث درک بهتر تکامل آن اندام خواهد شد (۱).

در این بررسی تکامل اولیه لنز در جنین جوجه به‌وسیله مدلسازی سه‌بعدی با کامپیوتر مطالعه شد.

تغییر شکل پلاک لنزی<sup>۱</sup> به جام لنزی<sup>۲</sup> وابسته به تماس غیرمستقیم پلاک لنزی و جام بینایی است (۲). احتمالاً انحنای و تورفتگی‌ها در چشم در اثر انقباض میکروفیلانهای ناحیه راسی سلولها انجام می‌شود. از آنجایی که سلولها با هم دارای اتصالات پیچیده‌ای هستند، همگی با هم به داخل کشیده می‌شوند و در نتیجه انحنای یا تورفتگی در لنز اولیه ایجاد می‌شود (۳). جام لنزی حاصل از پلاک لنزی است که در اثر جدا شدن پلاک لنزی از اپی‌تلیوم اکتودرمی سطحی به‌وسیله یک تورفتگی یا ساختمانی نامتقارن به‌وجود می‌آید (۴، ۵). تورفتگی لبه قدامی روزنه لنزی شیب ملایم‌تری نسبت به بقیه قسمتها دارد (۴). به‌عبارت دیگر؛ ابتدا یک تورفتگی در پلاک لنزی پدید می‌آید، سپس این تورفتگی عمیق‌تر شده و یک روزنه لنزی کاملاً وسیع را ایجاد می‌کند. در مرحله بعد ابعاد دهانه روزنه لنزی کاهش یافته و جام لنزی کاملاً توسعه یافته، به‌صورت یک قسمت مستقل از اپی‌تلیوم اکتودرمی سطحی<sup>۴</sup> تشکیل می‌شود (۶، ۷).

این نامتقارن بودن حرکت‌های مورفوژنتیکی در تکامل اولیه از جمله پلاک لنزی چشم به‌دلیل تغییرات ساختمانی دیگر در سر جنین است (۸). آنچه که با مرور بر مطالعات انجام شده در بررسی تکامل اولیه به‌نظر می‌رسد این است که با وجود بررسیهای بسیار دقیق در تمام جوانب، حتی ژنتیکی و بیوشیمیایی، مطالعه چندان در مورد ساختمان حجمی لنز اولیه صورت نگرفته است در حالی‌که بسیاری از حرکت‌های مورفوژنتیک و تغییرات مورفولوژیکی در تکامل چشم اولیه، مستلزم بررسی ابعاد فیزیکی یا زمینه هندسه فضایی است.

در این تحقیق ضمن ارزیابی تکنیک‌های مدلسازی سه‌بعدی به‌عنوان یک روش با مزئیهای فراوان، سعی شده است که چگونگی تقارن در تشکیل لنز اولیه، ساختار حجمی آن، هندسه فضایی حرکت‌های مورفوژنتیکی و تغییرات مورفولوژیکی لنز اولیه بررسی شود.

## مواد و روشها

تخم مرغ نطفه‌دار نژاد White Leghorn در داخل انکوباتور با درجه حرارت ۳۸ تا ۳۹ سانتی‌گراد و رطوبت مناسب قرار داده شد و از ساعت ۳۵ تا ۷۰ انکوباسیون، جنینهای حاصله هر نیم ساعت خارج شده و براساس مرحله‌بندی هامبرگر، هامپلتون طبقه‌بندی شدند. پس از

جدا کردن جنین از داخل تخم مرغ به‌وسیله حلقه کاغذی، فیکساسیون با محلول بوئن انجام گرفت و پردازش بافت جنینی شامل آبگیری، شفاف کردن و آخشنگی با پارافین انجام شد. سپس مقاطع سریال به ضخامت ۶ میکرومتر تهیه شد و اسلایدها با رنگ هماتوکسیلین، انوزین رنگ آمیزی شدند و از مقاطع رنگ آمیزی شده با میکروسکوپ نوری مجهز به لوله رسم، تصاویر توموگرافیکی ترسیم شد (بزرگنمایی ۲۳۰×).

## چگونگی ورود اطلاعات به کامپیوتر

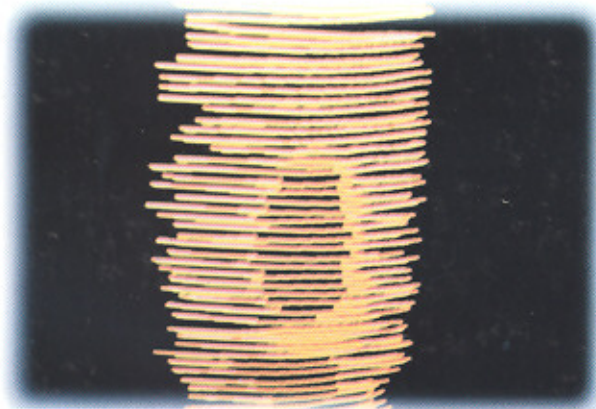
قبل از وارد کردن اطلاعات حدود دقیق تصاویر نسبت به هم تعیین شد که برای این منظور از نقطه مرجع استفاده گردید. دیواره خارجی جنین و دیواره منفرد اولیه که در تمام مقاطع تکرار شده بود به‌عنوان نقاط مرجع داخلی تعیین شده و با تطابق دو نقشه پشت سر هم، یک نقطه و خط فرضی به‌عنوان نقطه مرجع خارجی تعیین گردید و این روش برای تمامی تصاویر تکرار شد. تصاویر به‌وسیله قلم Stylus دیجیتایزر رسم و بعد از تعیین ارتفاع، تصاویر بر روی هم سوار شدند.

## یافته‌ها

برای سهولت در این بررسی، تکامل لنز اولیه به ۴ مرحله طبقه‌بندی شده که اساس آن سن جنین و مرحله‌بندی تعریف شده به‌وسیله هامبرگر و هامپلتون<sup>۵</sup> (۱۱) است.

### فاز I: مرحله ۱۲ و ۱۳ و ساعت ۴۸ تا ۵۲ جنینی

در این مرحله اپی‌تلیوم اکتودرمی سطحی ضخیم شده و تورفتگی به داخل شروع می‌شود. خطوط حاصل از مقاطع سابق نقاط اپی‌تلیوم اکتودرمی سطحی بدون انحنای قابل مشاهده است (شکل ۱).

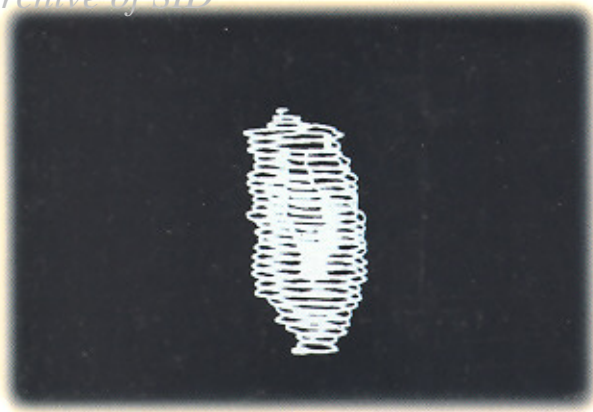


شکل ۱: اپی‌تلیوم اکتودرمی سطحی و سمیت ضخیم شده به‌وجود آورنده پلاک لنزی؛ جنین جوجه فاز I، مرحله ۱۲ و ۱۳ و ساعت ۴۸ تا ۵۲ جنینی (H-H) (بزرگنمایی ۲۳۰×).

1. Lens placode
2. Lens cap
3. Lens pit
4. Surface ectodermal epithelium
5. Hamburger and Hamilton



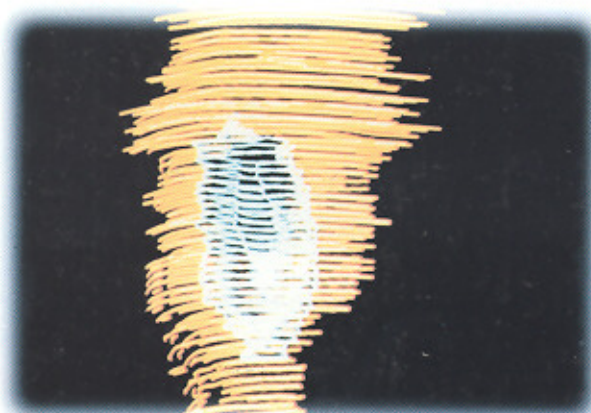




شکل ۴: جام لنزی در حال تشکیل و منشعب از اپی‌تلیوم اکتودرمی سطحی که به صورت مستقل نشان داده شده است: فاز III، مرحله ۱۶ و ۱۷ ساعت ۵۶ تا ۶۴ جنینی (H-H) (بزرگنمایی  $\times 230$ ).

به طوری که در شکل ۵ مشاهده می‌شود در نواحی از لنز اولیه که تورفتگی کامل شده است اپی‌تلیوم اکتودرمی سطحی کاملاً جدا شده و به صورت یک لایه مستقل بر روی لنز اولیه قرار گرفته است، اما در نواحی تحتانی و مرکزی جدا شدن به طور کامل انجام نشده است. نکته مهمی که در مدلسازی سه‌بعدی با کامپیوتر مشخص شده این است که بسته شدن روزنه لنزی و ایجاد لنز اولیه حاصل از تورفتگی، از قسمتهای فوقانی شروع و سپس به سمت نواحی تحتانی ادامه می‌یابد.

۳۵



شکل ۵: اپی‌تلیوم اکتودرمی سطحی و جیب لنزی به صورت تلیقی و چگونگی ارتباط آنها: فاز III، مرحله ۱۶ و ۱۷ ساعت ۵۶ تا ۶۴ جنینی (H-H) رنگ زرد: اپی‌تلیوم اکتودرمی سطحی، رنگ آبی: جام لنزی (بزرگنمایی  $\times 230$ ).

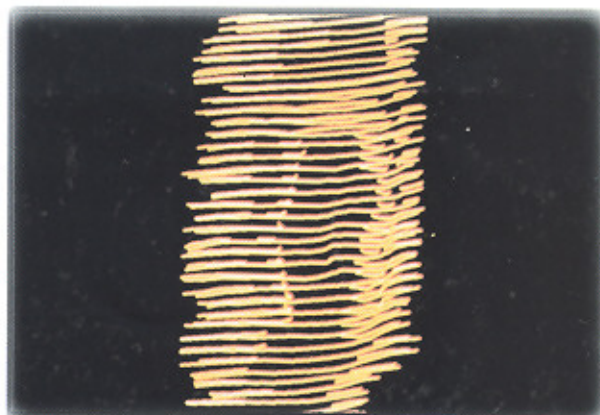
### فاز IV: مرحله ۱۸ ساعت ۶۴ تا ۶۹ جنینی

در این فاز اپی‌تلیوم اکتودرمی سطحی کاملاً از جیب لنزی جدا شده و به صورت یک لایه مستقل بدون هیچ‌گونه انحنا یا تورفتگی و برآمدگی بر روی سطح خارجی چشم اولیه کشیده

1. Ventral
2. Lens vesicle

### فاز II: مرحله ۱۴ و ۱۵ و ساعت ۵۲ تا ۵۶ جنینی

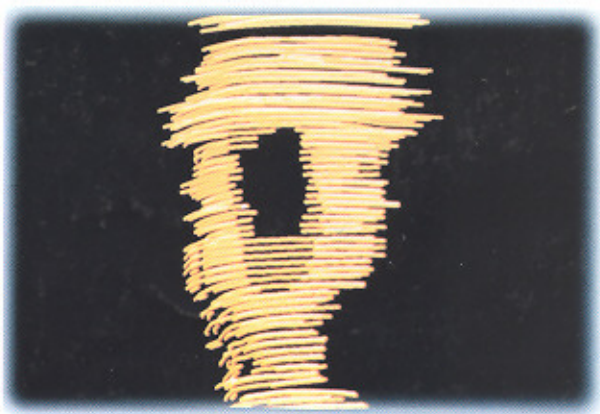
تورفتگی اپی‌تلیوم اکتودرمی سطحی بسیار وسیع شده و در لبه شکمی<sup>۱</sup> شیب کمتری نسبت به دیگر لبه‌ها مشهود است. انحناى خطوط حاصل از مقاطع بافتی نسبت به فاز I، بسیار وسیعتر شده و میزان انحنا نیز بسیار شدیدتر است و در ناحیه شکمی وسعت ناحیه انحنادار بیش از نواحی دیگر است. مطلب قابل توجه، عدم تقارن دو طرف لبه‌های ناحیه اینواژینه شده است (شکل ۲).



شکل ۱: اپی‌تلیوم اکتودرمی سطحی با اینواژیناسیون وسیع. قسمت ضخیم شده آن بیانگر پلاک لنزی است: فاز II، مرحله ۱۴ و ۱۵ و ساعت ۵۲ تا ۵۶ جنینی (H-H) (بزرگنمایی  $\times 230$ ).

### فاز III: مرحله ۱۶ و ۱۷ ساعت ۵۶ تا ۶۴ جنینی

به علت تورفتگی بیشتر پلاک لنزی فضای ایجاد شده نسبت به فاز II کاهش می‌یابد و این محدوده به صورت یک حفره دارای انحنا در نواحی کناری، مشاهده می‌شود. قسمت نورفته اپی‌تلیوم اکتودرمی سطحی که همان جیب لنزی<sup>۲</sup> است به صورت ناحیه‌ای با لبه‌های برآمده و قسمت گود مرکزی به‌خصوص در بخشهای میانی مشاهده می‌شود که این برآمدگی و تورفتگی تقریباً نامتقارن است (شکل ۳ و ۴).

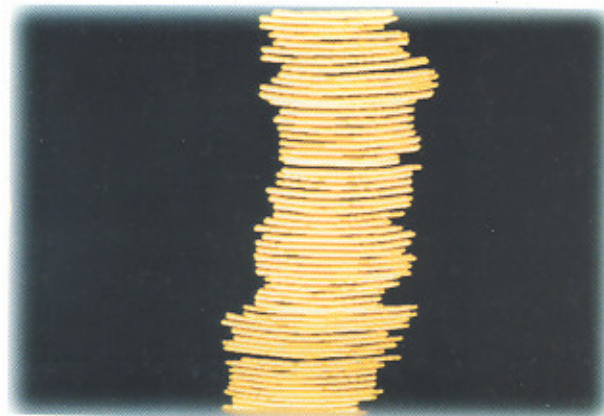


شکل ۳: اپی‌تلیوم اکتودرمی سطحی و ناحیه‌ای که تبدیل به جام لنزی شده و به صورت حفره‌ای نواحی مشاهده می‌گردد. بر نواحی تحتانی به‌علت عدم جداسازی کامل فقط تورفتگی دیده می‌شود: فاز III، مرحله ۱۶ و ۱۷ ساعت ۵۶ تا ۶۴ جنینی (H-H) (بزرگنمایی  $\times 230$ ).





شکل ۸. تلفیق تصاویر لنز اولیه و اپی‌تلیوم اکتودرمی سطحی و چگونگی ارتباط آن: فاز IV، مرحله ۱۸ ساعت ۶۳ تا ۶۹ جنینی (H-H). رنگ زرد: اپی‌تلیوم اکتودرمی سطحی، رنگ آبی: لنز اولیه (بزرگنمایی  $\times 230$ ).



شکل ۶. اپی‌تلیوم اکتودرمی سطحی که به صورت یک لایه کاملاً مستقل دیده می‌شود: فاز IV، مرحله ۱۸ ساعت ۶۳ تا ۶۹ جنینی (H-H) (بزرگنمایی  $\times 230$ ).

### بحث

در مطالعات قبلی بیان شده بود که پلاک لنزی در اثر ضخیم شدن اپی‌تلیوم اکتودرمی سطحی در ناحیه‌ای مجاور با حباب بینایی، تشکیل می‌شود (۲، ۳، ۴) و ناحیه ضخیم شده اپی‌تلیوم اکتودرمی سطحی به صورت نامتقارن دیده می‌شود (۷، ۸). همچنین مطرح شده که پلاک لنزی یک ساختمان نامتقارن است که تورفتگی آن نیز پدیده‌ای نامتقارن می‌باشد. به طوری که لبه شکمی روزنه لنزی حاصل از تورفتگی دارای شیب ملایم‌تری نسبت به لبه‌های کناری و خلفی است (۴، ۶، ۷).

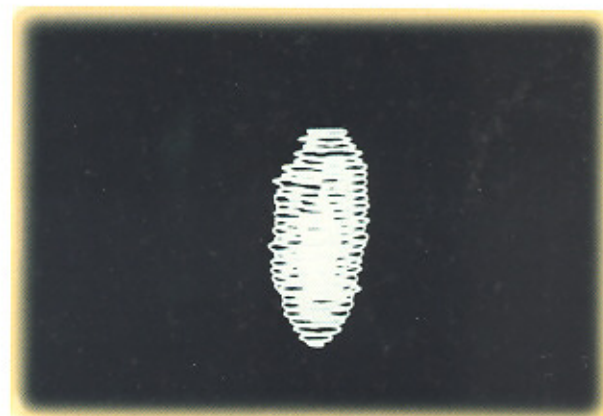
در بررسی حاضر نیز ضخیم شدن اپی‌تلیوم اکتودرمی سطحی موسوم به پلاک لنزی در فاز I مشاهده می‌شود (شکل ۱). همچنین در فاز II تورفتگی پلاک لنزی و ایجاد یک روزنه لنزی گسترده با دهانه نامتقارن و غیریکنواخت مشاهده می‌شود (شکل‌های ۳، ۴، ۵). چنین به نظر می‌رسد که تورفته شدن ناحیه مرکزی پلاک لنزی همراه با برآمده شدن نواحی کناری پلاک لنزی است و اپی‌تلیوم اکتودرمی سطحی از حالت یکنواخت خارج شده و به صورت ناهموار دیده می‌شود که این ناهمواری در لبه قدامی به علت شیب کمتر، مشخص‌تر است که این مشاهدات به وسیله انحنا حاصل از مقاطع بافتی در مدل‌سازی سه‌بعدی به خوبی دیده می‌شود (شکل ۲، ۳)؛ گرچه در گزارشهای قبلی توضیحی داده نشده است.

پدیده‌های مورفوننتیکی از قبیل تورفتگی و برآمدگی ادامه می‌یابند تا اینکه لبه‌های روزنه لنزی به هم نزدیک و نزدیک‌تر شده و روزنه لنزی کوچکتر می‌شود و سپس از اپی‌تلیوم اکتودرمی سطحی جدا شده و جام لنزی را ایجاد می‌کند (۷، ۹، ۱۰).

با بررسی به وسیله مدل‌سازی سه‌بعدی با کامپیوتر در فاز III مشخص شد که بسته شدن روزنه لنزی و ایجاد لنز اولیه از نواحی فوقانی شروع می‌شود و سپس به ناحیه میانی و تحتانی امتداد می‌یابد (شکل ۳، ۴).

در فاز IV اپی‌تلیوم اکتودرمی سطحی کاملاً از جام لنزی جدا شده و به صورت یک لایه مستقل و بدون انحنا بر روی سطح خارجی لنز اولیه

حباب لنزی کاملاً بسته شده و به صورت لنز اولیه مشاهده می‌گردد و فقط در قسمت مرکزی دارای یک انحنای بسیار جزئی بسته با شیب کم است. وسعت لنز اولیه در نواحی میانی زیاد بوده و در دو انتها به مرور کاهش می‌یابد (شکل ۷).



شکل ۷. جام لنزی عملاً تشکیل شده به صورت لنز اولیه: فاز IV، مرحله ۱۸ ساعت ۶۳ تا ۶۹ جنینی (H-H) (بزرگنمایی  $\times 230$ ).

در شکل ۸ می‌توان چگونگی ارتباط بین اپی‌تلیوم اکتودرمی سطحی و لنز اولیه را مشاهده کرد و ایجاد تقارن در قسمتهای مختلف لنز اولیه و اپی‌تلیوم اکتودرمی سطحی قابل رویت است. همچنین جداسازی دو ناحیه ذکر شده به صورت کامل انجام شده است. مزیت مدل‌سازی سه‌بعدی در فازهای یاد شده را نسبت به تکنیکهای دیگر می‌توان در نمایش اپی‌تلیوم اکتودرمی سطحی و لنز اولیه به صورت جداگانه، همراه با یکدیگر، جدا از سایر نواحی لنز اولیه و در تمام نقاط به صورت همزمان عنوان نمود.



## تقدیر و تشکر

نویسندگان بدینوسیله مراتب تقدیر و تشکر خود را از مسئولین و کارکنان دانشگاه تربیت مدرس و جهاد دانشگاهی علوم پزشکی ایران که در انجام این تحقیق مساعدت فراوان نمودند ابراز می‌دارند.

کشیده می‌شود (شکل‌های ۶، ۷، ۸). مدل‌سازی سه‌بعدی با کامپیوتر هم‌چنین مشخص نمود که وسعت لنز اولیه در نواحی میانی بیشتر از نواحی فوقانی و تحتانی بوده و از وسعت لنز اولیه به سمت دو انتها کاسته می‌شود که در گزارشات قبلی اشاره‌ای به دو مطلب اخیر نشده است.

## References

1. Poggon PI: Rapid three dimensional reconstruction at the light microscopic level and a technique for reembedding the same semithin sections. *Biotech Histochem* 1992; 67(1): 55-57
2. Mckeehan M: Induction of portions of the chick lens without contact with the optic cup. *Anat Rec* 1985; 132: 297-306
3. Wrenn J, Wessel SK: An ultrastructural study of lens invagination in the mouse. *J Exp Zool* 1969; 171: 359-368
4. Wakely J: Observations on the role of ectodermal spreading in the early stages of lens placode invagination in the chick embryo. *Exp Eye Res* 1984; 38: 627-638
5. Nippon Ika, Daigaku Zasshi: Scanning electron microscopic study of the development of crystalline lens fiber. *Hotta K eye* 1995; 62(2): 161-175
6. Francis PS, Berry V: Lens biology development and cataractogenesis. *Trends Genet* 1999; 15(5): 191-196
7. Bancroft M, Bellairs R: Placode of the chick embryo studied by scanning electron microscope. *Anat Embryol* 1977; 151: 97-108
8. Lovicu FJ, Mcavoy J: Spatial and temporal expression during lens development. *Mech Develop* 1999; 86 (1-2): 165-169
9. Hifler SR: Development of the eye of the chick embryo. *SEM* 1983; III: 1353-69
10. Silver R: The initial stage in the development of the lens capsule chick and mouse embryos. *Exp Eye Res* 1974; 19: 73-77
11. Hamburger and Hamilton H: Development of the chick (Revised) Henry holt and co, New York, 1952
12. Branele K: A new method for aligning histological serial sections for three dimensional reconstruction. *Comput Biomed Res* 1989; 22(1): 52-62

