

مطالعه سیتوفیزیولوژیک مخاط واژن در گاوهای شیری نژاد هلشتاین در دوران سیکل استروس

ناصر مهدوی شهری^۳، فاطمه فاطمی^۱، مرتضی بهنام رسولی^{۲*}، نرگس غیور^۴

- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران
- ۲- استاد، دکترای فیزیولوژی جانوری و علوم اعصاب، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران
- ۳- استاد، دکترای هیستولوژی، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران
- ۴- کارشناس ارشد، فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی مشهد، ایران

behnam@um.ac.ir

چکیده

سیکل استروس در گاو به چهار مرحله تقسیم می شود: استروس، متاستروس، دی استروس و پرواستروس. در مراحل مختلف سیکل استروس و تحت تاثیر تغییرات هورمونی موکوس واژینال از نظر خصوصیات سیتولوژیکی و همچنین میزان ترشح تغییر می کند. در این مطالعه انواع و درصد سلولهای اپیتلیال واژن در مراحل مختلف سیکل تناسلی در گاو شیری نژاد هلشتاین مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روشها: از موکوس واژینال ۶ گاو نژاد هلشتاین که در مراحل مختلف سیکل استروس قرار داشتند گسترش سلولی تهیه و توسط تکنیک پاپ اسمیر رنگ آمیزی شد. سپس نمونه ها توسط بررسی میکروسکوپی مورد تجزیه و تحلیل سلولی قرار گرفت. از هر گاو به طور متوسط هر ۶ روز یکبار و در مجموع ۱۰ بار نمونه برداری شد. **نتایج:** تغییرات بارز در انواع و درصد سلولهای اپیتلیالی واژن در مراحل مختلف سیکل تناسلی گاو کاملاً مشهود بود. بر این اساس در فاز استروس شمار سلولهای superficial با هسته های بزرگ صورتی رنگ بیشتر بود. در متا استروس سلولهای intermediat با هسته درشت همراه تعداد معدودی سلول superficial مشاهده شد. در فاز دی استروس سلولهای intermediat به میزان فراوان و سلول پارابازال به تعداد کم دیده شد و در فاز پرواستروس فراوانی سلولهای پارابازال به صورت سلولهای کوچک با هسته درشت بیشتر از سایر سلولها بود.

بحث و بررسی: تغییرات سیتولوژیک مشاهده شده در مخاط واژن گاو در طی دوره سیکل استروس به احتمال زیاد ناشی از تغییر در سطح ترشحات هورمونی غدد جنسی است. از آنجا که اندازه گیری سطح هورمونهای جنسی خون امری تخصصی، پرهزینه و وقت گیر است بنابراین با بررسی سیتولوژیک مخاط واژن می توان زمان وقوع مراحل مختلف سیکل استروس و نیز لحظه تخمک گذاری را تعیین نمود.

واژه های کلیدی: سیتوفیزیولوژی، مخاط واژن، سیکل استروس، گاو هلشتاین.

مقدمه

در پستانداران، سیکل تولید مثل شامل وقایعی پی در پی است که وقوع آنها در زمانی معین در دوره سیکل استروس صورت می گیرد. چرخه استروس (estrus cycle) در پستانداران شامل ۴ مرحله بصورت زیر است: پیش استروس (proestrus)، پذیرش جنسی (estrus)، تخمک گذاری (metaestrus)، پس استروس (diestrus) (۱). در گاو، دوره سیکل استروس به طور متوسط ۲۱ روز (۱۷-۲۴) روز طول می کشد. در طی این دوره دستگاه تولید مثل برای استروس یا پذیرش جنسی و تخمک گذاری آماده می شود (۲). مرحله پرواستروس دوره ای است بین تحلیل کوریوس لوتئوم مربوط به سیکل قبل و استروس دوره جدید که طی این مرحله فولیکول تکامل می یابد. مرحله استروس ۸ الی ۳۰ ساعت طول می کشد و دوره پذیرش جنسی است. همچنین در این دوره بلوغ نهائی تخمک و فولیکول رخ می دهد و با ورود به مرحله متاستروس تخمک گذاری انجام می شود. این مرحله ۳ روز به طول می انجامد (۲ و ۳). مرحله دی استروس ۱۳ تا ۱۵ روز طول می کشد و در طی آن ترشح پروژسترون از کوریوس لوتئوم ادامه می یابد (۳).

در طی مراحل مختلف سیکل استروس وقایع درون ریز و تغییرات تخمدانی و همچنین میزان ترشح موکوس واژینال تغییر می کند (۴). علاوه بر این در طی این دوره اپتیلیوم واژن و مورفولوژی سلولی آن در لایه های اپیتلیوم در طی سیکل استروس تغییر می کند. تحقیقات گذشته در این زمینه نشان می دهند که در اسمیر واژینال تهیه شده از افراد نرمال انواعی از سلولها شامل سلولهای superficial اسیدوفیل و بازوفیل، سلولهای intermediate، سلولهای پارابازال و نوتروفیل ها قابل رویت است. سلولهای superficial اسیدوفیل به صورت صاف و تا حدی بی شکل با قطری در حدود ۳۵ الی ۶۵ میکرومتر، با هسته کوچک و شامل سیتوپلاسم فراوان به صورت غالب مشخصه وقوع فاز استروس یا همان فاز فولیکولار است. علاوه بر این تعداد کمی سلول superficial بازوفیل و intermediate نیز در این مرحله حضور دارند. این مرحله توسط تحریک استروژنی کنترل می شود بطوری که با افزایش سطح استروژن سلولهای superficial بالغ و اسیدوفیل می شوند و از

اینرو اسمیر تهیه شده از این مرحله اسمیر فولیکولار نامیده می شود (۵). نوع دیگر از سلولهای قابل مشاهده در اسمیر واژینال سلولهای intermediate است. سلولهای intermediate به شکل صاف و با اندازه ۲۰ الی ۴۰ میکرومتر مشاهده می شوند. این سلولها دارای سیتوپلاسم بازوفیل و رنگ پذیر می باشند و هسته تا حدی بزرگتر از هسته سلولهای superficial است. بررسی های سیتولوژیک انجام شده نشان می دهند که سلولهای intermediate نوع غالب سلول در فاز لوتئال (دی استروس) یا فاز پروژسترونی اند و وقوع این مرحله با افزایش سطح پروژسترون سرم قابل تشخیص است. سلولهای intermediate در این مرحله به صورت متراکم و با حاشیه چین خورده به همراه تعداد کمی سلولهای superficial اسیدوفیل و بازوفیل و همچنین تعداد اندکی از لوکوسیتها قابل مشاهده اند (۸-۵).

سلولهای پارابازال دارای سیتوپلاسم بازوفیل بوده و سلولها با قطر حدود ۱۲ الی ۱۵ میکرومتر و هسته بزرگ قابل تشخیص می باشند. حضور غالب این سلولها نشان دهنده مرحله پرواستروس است. پس از آن همزمان با ورود به فاز متاستروس افزایش قابل ملاحظه در تعداد نوتروفیل ها مشاهده می شود. در این مرحله از چرخه استروس، نوتروفیل ها با تعداد فراوان به همراه تعداد کمی از سلولهای intermediate و superficial حضور دارند (۵).

هدف از مطالعه حاضر بررسی تغییرات سیتولوژیکی و انواع و درصد انواع سلولهای اپی تلیال واژن در مراحل مختلف سیکل تناسلی در گاو شیری نژاد هلشتاین بوده است.

مواد و روشها

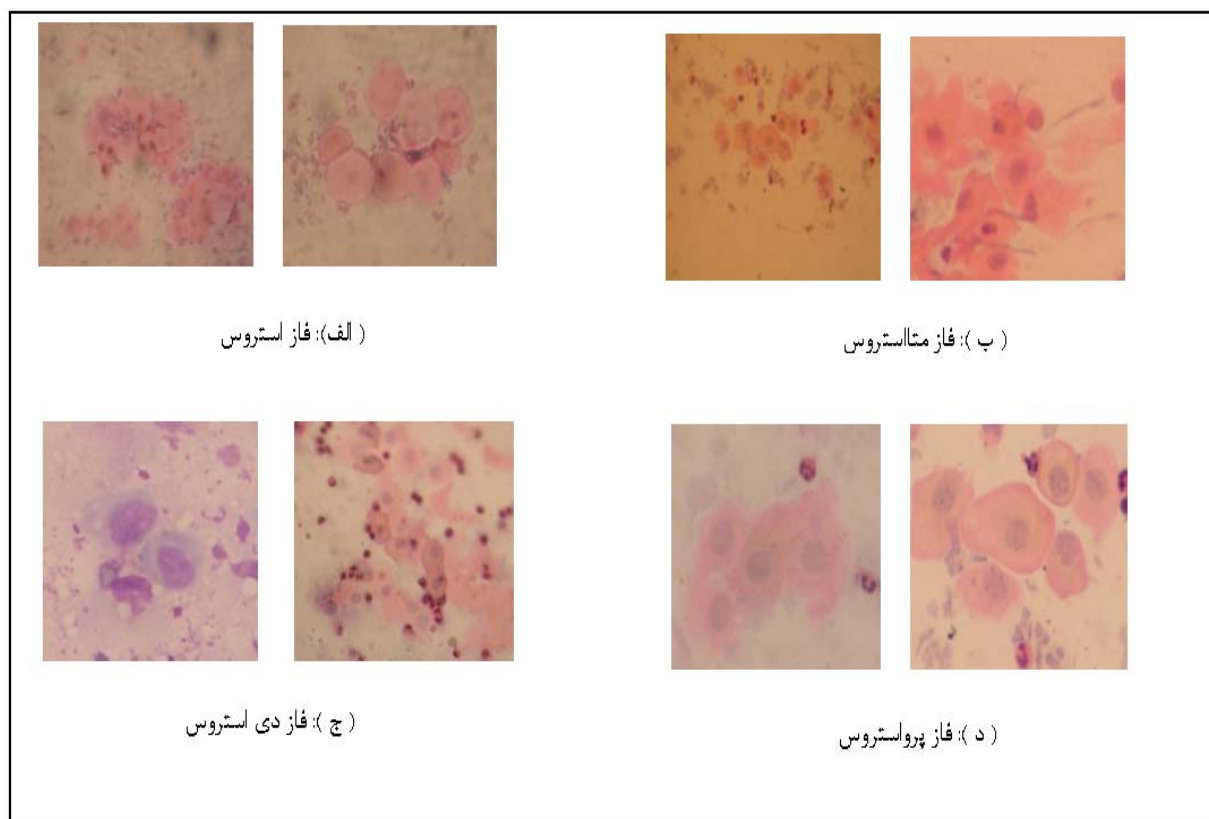
در این تحقیق از ۶ گاو شیری نژاد هلشتاین استفاده شد. نمونه برداری از موکوس واژینال طی دوره ای ۶۰ روزه و در ۱۰ نوبت و هر ۶ روز یکبار انجام گرفت. در طی هر نوبت نمونه برداری، حیوانات مورد بررسی در مراحل مختلف سیکل استروس قرار داشتند. پس از آن گسترش های سلولی نمونه برداری شده از موکوس واژینال توسط تکنیک پاپ اسمیر و بر اساس تکنیک ارائه شده در رفرانس (۹) رنگ آمیزی شدند.

superficial با هسته های بزرگ صورتی رنگ بیشتر است، در متاستروس سلولهای intermediat با هسته درشت همراه تعداد معدودی سلول superficial قابل مشاهده است، در فاز دی استروس سلولهای intermediat به میزان فراوان و نیز تعداد کمی سلول پارابازال مشاهده می شود و در فاز پرواستروس فراوانی سلولهای پارابازال به صورت سلولهای کوچک با هسته درشت بیشتر از سایر سلولهاست.

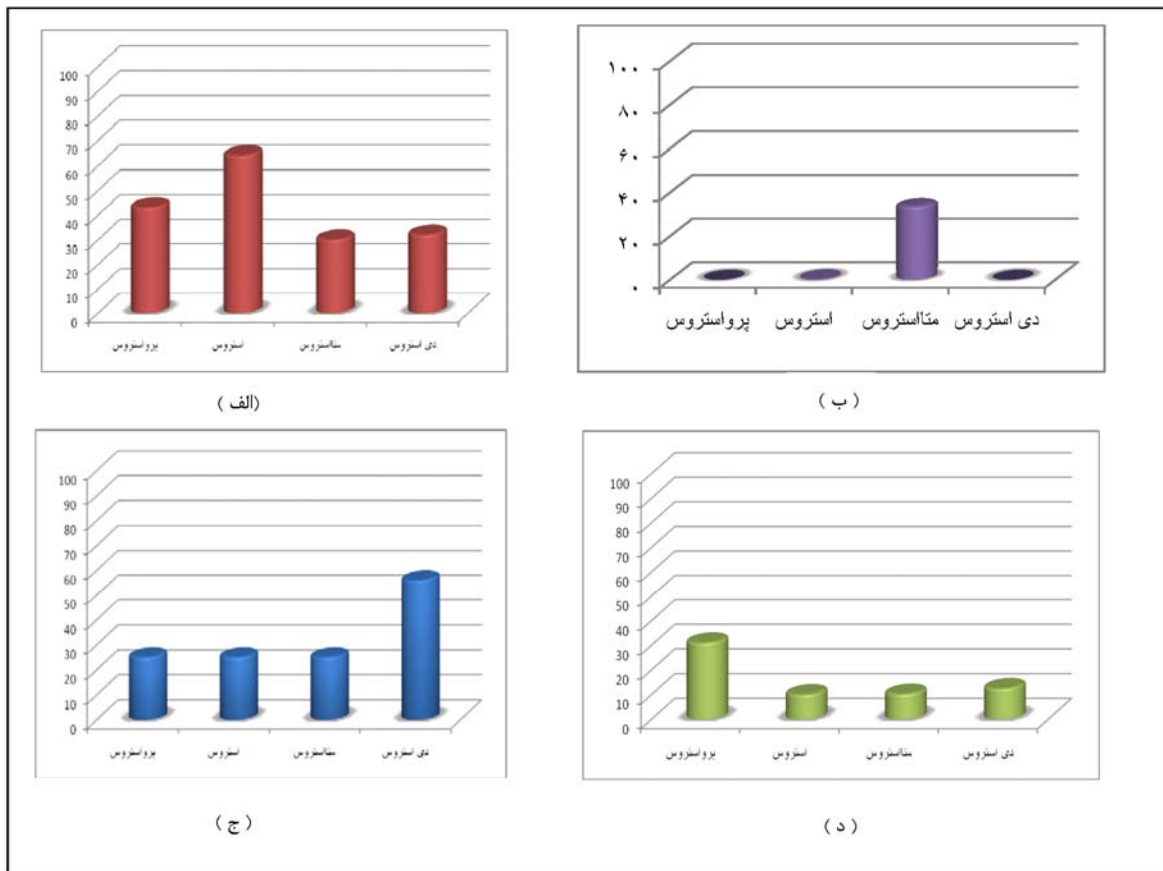
پس از رنگ آمیزی، گسترش های سلولی توسط میکروسکوپ نوری مورد بررسی سیتولوژیکی قرار گرفتند.

نتایج

نتایج حاصل از این تحقیق تغییرات بارز در انواع و درصد سلولهای اپیتلیال واژن در مراحل مختلف سیکل تناسلی گاو را نشان می دهد. همان طور که در شکل های ۱ و ۲ نشان داده شده است در فاز استروس شمار سلولهای



شکل ۱: نمایش انواع سلولهای superficial (الف)، intermediat (ب)، parbasal (ج) و neutrophil (د) در اسمیر واژینال طی سیکل استروس در گاو نژاد هلشتاین.



شکل ۲: میانگین درصد سلولهای (الف) superficial، (ب) Intermediate، (ج) parabasal و (د) neutrophil در اسمیر واژینال طی سیکل استروس در گاو نژاد هلشتاین.

حدود ۳۰ تا ۳۵ درصد کاهش می یابد. در این مرحله اسمیر فاقد سلول نوتروفیل است اما دارای تعداد کمی اریتروسیت است (شکل ۱ و ۲ الف). در مرحله متا استروس افزایش تعداد نوتروفیل ها چشمگیر است و در اسمیر تعدادی سلول اپیتلیال نابالغ و لنفوسیت نیز دیده می شود (شکل ۱ ب). برعکس اسمیر تهیه شده از سایر مراحل سیکل که فاقد نوتروفیل است در این مرحله از چرخه استروس حدود ۳۵ درصد کل سلولها نوتروفیل است (شکل ۱ و ۲ ب). در فاز دی استروس کاهش ناگهانی در تعداد سلولهای اپیتلیال و نیز افزایش قابل ملاحظه در شمار سلولهای intermediate بروز می کند بطوری که تعداد این سلولها به حدود ۵۵ تا ۶۰ درصد کل سلولها می رسد. بعلاوه تعدادی نوتروفیل در ابتدای این مرحله وجود دارد که با گذشت ۱ تا ۲ روز ناپدید می شوند (شکل ۱ و ۲ ج). در اسمیر تهیه شده از مرحله پرواستروس تعداد سلولهای superficial و intermediate به همراه درصدی از سلولهای پارابازال

بحث

نتایج حاصل از تحقیقات قبلی حاکی از آنست که با بررسی ویژگی های سیتولوژیک مخاط واژن نه تنها می توان زمان وقوع مراحل مختلف سیکل استروس و نیز لحظه تخمک گذاری را تعیین کرد بلکه بررسی مورفولوژیک سیستم تولید مثلی می تواند در رابطه با ارزیابی باروری گاو و سایر پستانداران نیز مورد استفاده قرار گیرد (۱۳-۱۰).

با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق و بر اساس نتایج بدست آمده از تحقیقات گذشته (۸-۴) بررسی سیتولوژیک گسترشهای تهیه شده از اسمیر گاو نشان می دهند که در حیوانات مورد بررسی، در طی یک دوره ۶۰ روزه نمونه برداری از موکوس واژینال، به طور متوسط ۲ تا ۳ سیکل استروس به وقوع پیوسته است. در اسمیر تهیه شده از موکوس واژینال در فاز استروس حدود ۶۰ الی ۶۵ درصد کل سلولها از نوع سلولهای superficial است. با ورود به مرحله متاستروس تعداد این سلولها

- 3-Hafez ESE. Reproductive cycles. *Reproduction in farm animals*.1987;p 213.
- 4-Idowu Ola S, Ajani Sanni W, Egbunike G. Exfolia vaginal cytology during the oestrus cycle of West African draft goate. *Nutr. Dev*.2006; 46:87-95.
- 5-Eroschenko VP. Di Fiore s atlas of Histology. 1993; 296-297.
- 6-Arthur G.H, Noakes D. Veterinary reproduction and obstetrics. pp;4-26
- 7-Serin G, Parin U. Recurrent vaginal discharge causing by retained foetal bones in a bitch: a case report. *Veterinarni Medicina*; 2009 ;54: 287-290.
- 8-Ahmadi M.R, Nazifi S, Ghaisari H. R. Comparision of hormonal changes of estrus cycle with cytology of cervical mucosa and hematological parameters in dairy heifers. *Comp Clin Pathol* 2006 ;15: 94-97.
- 9-Shirin sokhan M, Afifi R. Abstract of pathology and cytology. 1376;89-90
- 10- Radoslavov V, Savova-Burdarvo S. Occurrence of bacterial contamination, clinical symptoms and histopathological changes in the genital organs of coes after calving. *Vet Med Nauki* .1982; 184: 665-670.
- 11- Ahmadi M.R, Khodakaram Tafti A, Nazifi S. The comparative evaluation of uterine and cervical mucosa cytology with endometrial histopathology in cows. *Comp Clin Path* .2005;14 :90-94.
- 12- Lafi SQ, Khamas WA, Vaginal cytology in small ruminants. *Indian Vet J* 1997;74:662-665.
- 13- Schutte AP. Cannine vaginal cytology-I. Technique and cytological morphology. *JSmall Anim Pract*.1967; 18:301-306.

حضور دارند (شکل ۱ و ۲ د).

نتایج حاصل از بررسی های انجام شده توسط سایر محققان نیز نشان می دهند که در طی سیکل استروس در پستانداران در مخاط واژن تغییرات سیتولوژیک قابل مشاهده است (۵). در این رابطه گزارش شده است که اگرچه سلولهای superficial همزمان با دوره پرواستروس و استروس پدیدار می شوند ولی در اوایل دوره متاستروس تعداد آنها کاهش می یابد و بدین ترتیب این چنین تغییرات سیتولوژیک تحت کنترل ترشحات استروژنی می باشد (۱۰). علاوه بر این، در اسمیر، سلولهای intermediat و parabasal در فاز دی استروس مشاهده می شوند که این فاز در ارتباط با فاز لوئثال تخمدانی و تحت کنترل ترشحات پروژسترونی است (۵). این چنین ارتباط چرخه ای بین تغییر در ترشحات تخمدانی و تغییر در ترکیب سلولی مخاط واژن که در پستانداران و سایر گونه ها به وضوح قابل مشاهده است (۱۱) با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد. از نتایج حاصل از این بررسی و تحقیقات مشابه می توان در دستیابی به اطلاعات فیزیولوژیک و پاتولوژیک دستگاه تولید مثل استفاده کرد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله نویسندگان مقاله از مساعدتهای کارشناس محترم دامداری و نیز کارشناسان محترم گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی مشهد صمیمانه تشکر و سپاسگزاری می نمایند.

منابع

- 1-Azarnia M, Tahamtani Y, Rajabi M. An introduction to animal reproduction. 1386; 450- 456.
- 2-BeardenH .J, Fuquay J.W. Reproductive physiology. Translation by Hashemi M, Hassani S. 1374; 83-93.