Archive of SID

دوره ۱/ شماره ی ۳ / بهار ۱۳۸۲

بررسی لانه گزینی بلاستوسیست و تغییرات بافتی آندومتر رحم پیرامون آن در موش

چکیده

مقدمه: تشکیل بلاستوسیست و مرحله ی لانه گزینی آن در رحم یکی از فرآیند های پیچیده در دانش جنین شناسی است. با توجه به حساسیت این مرحله، هر گونه اختلال در روند طبیعی آن می تواند به سقط و بارداری ناموفق منجر گردد. با وجود بررسی های گوناگون، هنوز هم ناشناخته هایی درباره ی چگونگی تغییرات آندومتر در ناحیه ی لانه گزینی هست. هدف از انجام این پژوهش بررسی مراحل تکاملی بلاستوسیست همراه با تغییرات آندومتر پیرامون آن به هنگام لانه گزینی است. **روش کار:** برای انجام این بررسی، ۱۵۰ موش غیر هم نژاد (Outbred) نر و ماده در شرایط استاندارد، از نظر دسترسی به آب، غذا و نور (۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت نور)، به مدت یک هفته نگهداری شدند. سپس، دو موش ماده و یک موش نر در قفس های جداگانه گذاشته شدند. مشاهده ی پلاگ مهبلی ، به عنوان روز نخست بارداری تعیین شد. در روز های چهارم تا هفتم بارداری (در ساعت های ۸، ۱۲ و ۱۸ هر روز)، موش ها به روش در رفتگی گردنی کشته شدند و سپس، رحم آنها بیرون آورده شد. پس از مراحل گوناگون آماده سازی بافتی، قالب های دارای نمونه، به صورت پشت سر هم بریده شدند و به روش هماتوکسیلین_ائوزین رنگ آمیزی شدند. نمونه های بافتی به وسیله میکروسکوپ نوری بررسی و فتومیکروگراف های لازم فراهم گردید. **یافته ها:** بررسی مراحل لانه گزینی و تغییرات آندومتر پیرامون نشان داد که پیوند در آغاز در ناحیه ی آنتی مزومتریال است. تغییرات آندومتر پیرامون، نیز در آغاز لانه گزینی در ناحیه ی دسیدوائی اولیه و سپس، به مناطق دیگر کشیده می شود. نمونه ای از این تغییرات عبارت هستند از خیز، افزایش و نفوذ لوکوسیتی و پیوند سلول های تروفوبلاست به دسیدوا. **نتیجه:** با توجه به در

دکتر صغری بهمن پور
دانشیار گروه علوم تشریحی،
دانشکده پزشکی،
دانشگاه علوم پزشکی شیراز

نویسنده مسوول:
دکتر صغری بهمن پور
شیراز، دانشکده پزشکی،
گروه علوم تشریحی
تلفن :۰۷۱۱-۲۳۰۴۳۷۲
E-mail:
bahmans@sums.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

دسترس نبودن نمونه های انسانی، بیشتر بررسی هایی که تاکنون انجام یافته بر روی موش است. پایه ی این بررسی، نیز پژوهشی بر روی الگوهای حیوانی بوده است، که می توان یافته های آن را همانند دیگر بررسی ها، به انسان نیز تعمیم داد، اما برای رسیدن به نتایج قطعی، به بررسی های گسترده تر نیاز است.

کلید واژه ها: آندومتریوم، بلاستوسیست، لانه گزینی، واکنش دسیدوایی

مقدمه

بررسی هایی که تا کنون در دانش جنین شناسی انجام گرفته، بیشتر درباره ی مراحل آغازین جنینی تا مرحله ی مورولا و در محیط بیرون رحم (In Vitro) بوده است. بلاستوسیست از مراحل مهم و حساس جنینی است که پیوند و یا عدم پیوند آن به رحم، می تواند به یک بارداری موفق و یا یک سقط منجر گردد. لایه ی شفاف پیرامون بلاستوسیست از آغاز تشکیل جنین، که به صورت زیگوت است، از پیوند آنها به یکدیگر و یا به آندومتر جلوگیری می کند. عواملی، چون اسیدیته ی رحم و یا عوامل مکانیکی، می تواند در بیرون رفتن بلاستوسیست از لایه ی شفاف (Hatching) موثر باشد [۱]. تروفوبلاست، که در پیرامون بلاستوسیست هست، در انتقال یون ها و تنظیم آنها در درون حفره ی بلاستوسل مؤثر است [۲]. بلاستوسیست در حفره ی رحمی در ناحیه ی آنتی مزومتریال جا گرفته [۳] و سپس، برای لانه گزینی، سه مرحله را می گذراند، که در این مراحل، رویان به درون بافت رحم نفوذ کرده و در اصطلاح، کاشته (Implant) می شود. مرحله ی رویارویی با رحم (Apposition)، زمانی است که بلاستوسیست نزدیک اپیتلیوم رحمی جا می گیرد، سپس، در مرحله ی پیوند (Adhesion)، به دیواره ی رحم می چسبد و سرانجام، در مرحله ی تهاجم (Invasion) تروفوبلاست پیرامون بلاستوسیست، به درون آندومتر نفوذ می کند [٤]. مرحله ی آخر به وسیله ی سیگنال ها و کدهای ژنتیکی ویژه ای مهار می شود[٥] اینترلوکین -۱ و دیگر سیتوکین ها در این فرایند نقشی مهم دارا هستند و باعث پذیرش بلاستوسیست به وسیله ی رحم می شوند [٦]. بررسی های دیگر، نیز به نقش اینتگرین و سلکتین مترشحه از تروفوبلاست در مرحله ی تهاجمی اشاره نموده اند [۸،۷].

در این پژوهش، کوشش شده است، که تشکیل بلاستوسیست و مرحله ی لانه گزینی را، که از اهمیتی ویژه بر خوردار است، بررسی کرده و با فراهم کردن میکروگراف هایی از رویان، بتوان به هدف های زیر دست یافت: ۱- رابطه ی میان بلاستوسیست و آندومتر را، که دو عامل مهم در لانه گزینی هستند را به شیوه ی (In Vivo) بررسی کرد. ۲- برخی رویکرد های واکنشی ریخت شناختی میان رویان و مادر را، که در شرایط آزمایشگاهی (In Vitro)، بررسی آن شدنی نیست را به شیوهIn Vivo مورد مطالعه قرار داد. ۳- با بررسی واکنش میان بلاستوسیست و آندومتر و یافته های آن بتوان به تفاوت های میان محیط بیرون و درون رحم پی برد.٤- به مراحل و روند لانه گزینی دست یافت. با دستیابی به موارد بالا می توان تا اندازه ای دشواری های بارداری های ناموفق را، که در رابطه با رویارویی میان آندومتر و بلاستوسیست است،

www.SID.ir

Archive of SID

را شناسایی کرده وآنها را از میان برد.

مواد و روش

در این بررسی، از ۱۵۰ موش غیر هم نژاد (Outbred) با سن ۱۲ تا ١٤ هفته استفاده گردید. موش ها در دوره ی نوری مناسب، ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی با شرایط آب و غذایی معمول نگهداری شدند. موش سوری که دارای بارداری کوتاه مدت با دوران رشد جنینی سریع و شمار جنین زیاد است، نمونه ای مطلوب برای این پژوهش بود.

در آغاز، مرحله ی مناسب از دوره ی استروس به وسیله ی اسمیر مهبلی مشخص گردید. برای این کار، موش هایی که در مرحله ی پرواستروس بودند، شناسایی گردیدند. سپس، گروه هایی از دو موش ماده ی مرحله ی پرواستروسی و یک موش نر در قفس های جداگانه نگهداری شدند. پس از مشاهده ی پلاگ مهبلی، موش های باردار در قفس های جداگانه جا داده شدند و روز نخست بارداری مشخص شد[۹]. در روزهای چهارم تا هفتم بارداری، هر روز ۳۰ موش به طور تصادفی انتخاب و ده موش در ساعت ۸ ده موش در ساعت ۱۲ و ده موش در ساعت ۱۸، به روش در رفتگی گردنی کشته شدند. رحم دو شاخه همراه با جای پیوند آن به مزومتریوم مشخص گردید و به وسیله ی نرمال سالین شسته شد. سپس، رحم را بیرون آورده و پس از آماده سازی بافتی، مانند ثابت کردن، آبگیری، شفاف ساختن و سرانجام بلوک گیری، مقاطعی به ضخامت ۵ تا٦ میکرون از نمونه ها بریده شد و به روش هماتوکسیلین_ائوزین رنگ آمیزی گردید[۱۰]. برشها در زیر میکروسکوپ نوری بررسی و فتومیکروگراف های لازم فراهم شد.

یافته ها

بررسی تصویرهای به دست آمده از اسلایدهای میکروسکوپی، نشان داد، که در روز سوم بارداری بلاستوسیست های وارد شده به رحم در کریپت های آن جای داشتند. محل استقرار آنها در ناحیه ی آنتی مزومتریال رحم بود. استرومای پیرامون بلاستوسیست در ناحیه ی مخالف جای پیوند مزومتریوم و یا آنتی مزومتریال تغییر یافته بود. سلول های استرومای این ناحیه از حالت فیبروبلاستی بیرون آمده و به صورت شبه پوششی (Epithelioid) در آمده بود. این تغییرات، در آغاز در ناحیه ی پیرامون جای لانه گزینی دیده می شدند. بلاستوسیست در روز چهارم بارداری به صورت چروکیده(Contraction) و آزاد، در مرحله ی رویارویی (Apposition) در حفره ی رحمی جا داشت (شکل۱). همان گونه که در این شکل دیده می شود، استرومای پیرامون، افزون بر دسیدوایی شدن، به خیز دچار گشته، که با افزایش فضای میان سلولی همراه بوده است. شکل یاد شده، نفوذ شماری زیاد لوکوسیت به درون استرومای رحم را نیز نشان می دهد. شکل ۲، بافت رحم را، اندکی پیش از لانه گزینی نشان می دهد. بافت پوششی آن به صورت استوانه ای ساده در آمده، که با تجمع گلیکوژن در ناحیه ی زیر هسته ای (Subnuclear) همراه است. موقعیت آنتی مزومتریال بلاستوسیست در روز ٤/٥ بارداری در شکل شماره ی ۳ دیده می شود. در این مرحله، بلاستوسیست به دیواره ی رحم پیوند شده و بافت پوششی آن، نیز در طی فرآیندی با عنوان آپوپتوز(Apoptosis)، که یک واکنش اتولیتیک است، از میان رفته و در پی آن، نیز تروفوبلاست با رحم

www.SID.ir

Archive of SID

پیوند می خورد. در شکل ٤، بلاستوسیست به صورت پنجه در پنجه (Interdigitate) با سلول های رحم دیده شد. با توجه به این شکل، پیوند از راه تروفوبلاست جداری بوده است. واکنش دسیدوائی، در آغاز در منطقه ی دسیدوائی اولیه (Primary Decidual Zone) پیرامون بلاستوسیست دیده می شد و سپس، در مراحل دیگر لانه گزینی، به نواحی دورتر و در نتیجه به ناحیه ی مزومتریال یا ناحیه ی دسیدوائی ثانویه نیز کشیده شده بود. در شکل های گوناگون ، می توان این تغییرات را آشکارا دید. ماهیچه های دیواره ی رحم، نیز در ناحیه ی لانه گزینی و یا آنتی مزومتریال در مقایسه با مناطق دیگر، به هیپرتروفی دچار گشته و برضخامت آنها نیز افزوده شده بود.

بحث

لانه گزینی یکی از فرآیندهای سرنوشت ساز در طی تکامل جنینی است. در طی مراحل آغازین لانه گزینی، آندومتر رحمی پیرامون بلاستوسیست به تغییراتی دچار می گردد. نمونه های مورد بررسی در این پژوهش تغییرات در آندومتر پیرامون جای لانه گزینی را نشان می دهند. تغییرات یاد شده عبارت هستند از، هیپرپلازی و هیپرتروفی سلول ها که با عنوان دسیدوایی شدن (Decidualization) نامیده می شود، که با یافته های دیگران همخوانی دارد [۱۲،۱۱]. افزون بر این، سلول های پیرامون بلاستوسیست، به ویژه در ناحیه ی آنتی مزومتریال، به خیز دچار گشته، که برخی از پژوهشگران [۱۳] تغییر یاد شده را به دلیل نفوذ پذیری زیاد دیواره ی رگ های

شکل ۱: بلاستوسیت شناور در حفره رحمی در روز ۴ بارداری که در آن ادم (*) به وضوح مشاهده می شود. (×۴۰۰)

خونی این ناحیه دانسته اند، که با پیدایش اتصالات فاصله دار (Gap Junction) همراه بوده است. تغییرات یاد شده به طور عمده در ناحیه ی دسیدوایی اولیه قابل تشخیص بود. در بررسی های دیگر نشان

شکل ۲: بلاستوسیت در حفره رحمی همراه با ذخایر گلیکوژنی (⟶) در بافت پوششی و خیز یا ادم (*) بین سلولی. (×۲۰۰)

www.SID.ir

Archive of SID

شکل ۳: بلاستوسیت در حال لانه گزینی در ناحیه آنتی مزومتریال همراه با (*) ناحیه دسیدوایی اولیه. (×۱۰۰)

شکل ۴: بلاستوسیت در حال تهاجم به درون بافت پوششی رحم در روز ۴/۵ بارداری. (×۴۰۰)

داده شد [۱۴،۱۳]، که خیز ایجاد شده، باعث اتساع ناحیه ی دسیدوایی اولیه گشته و این اتساع، می تواند به صورت سد ایمنی شناختی (Immunologic Barrier) عمل کند. مشاهده شمار زیاد لوکوسیت در این ناحیه، می تواند دلیل بر وجود سد ایمنی شناختی یاد شده باشد و فعالیت های ایمنی را در ناحیه ی لانه گزینی تایید کند. همان گونه که در شکل های۳ و٤ دیده می شود، بلاستوسیست به هنگام لانه گزینی به استرومای رحم چسبیده و با سلول های رحم پنجه در پنجه تماس برقرار کرده است به این ترتیب، که ضمن فرآیند خیز، دیواره ی رحم به سوی بلاستوسیست نزدیک گشته و فرآیند لانه گزینی را آسان کرده است. از سویی، پیوند تروفوبلاست و آندومتر هنوز مورد بحث است و درباره ی آن دیدگاه هایی گوناگون وجود دارد. برخی، پیوند را از راه اپی تلیوم و شماری از راه غشای پایه و یا سلول های دسیدوائی می دانند [٥،٤]، اما در این بررسی، دیده شد، که این پیوند از راه دسیدوا است. شکل ٤، نیز پیوند پنجه در پنجه ی سلول های دسیدوائی با تروفوبلاست را آشکارا نشان می دهد، که پیوند یاد شده را تأیید می کند. بررسی های دیگر نشان داده است، که تجزیه ی فیبرونکتین سلول های آندومتر، نیز در این پیوند سهیم هستند. فیبرونکتین سطح سلولی، پس از تجزیه، قابلیت پذیرش را افزایش داده، و پیوند بلاستوسیست را موجب می شود [۱۵].

سایمون (Simon)، در پژوهشی نشان داد، که اپی تلیوم ناحیه ی لانه گزینی توسط سلول های دسیدوایی مجاور سست گشته و ضمن تخریب غشای پایه ی تروفوبلاست می تواند به آن بچسبد [۱۲]. بررسی های دیگر، نیز نشان می دهد، که تجزیه ی رشته های کلاژن و تبدیل آن به رشته های نازک، موجب انعطاف پذیری ناحیه ی لانه گزینی برای پیوند بلاستوسیست می شود [١٦]. بررسی کنونی نشان می دهد، که پیوند بلاستوسیست به رحم، به وسیله ی

www.SID.ir

Archive of SID

مرگ برنامه ریزی شده (Programmed Cell Death) یا آپوپتوز در سلول های آندومتر است، که با بررسی های دیگران، نیز همخوانی دارد [۱۷]. وجود گلیکوژن در ناحیه ی زیر هسته ای سلول های اپی تلیوم رحمی از یافته های دیگر این بررسی بوده است، که در بررسی های گوناگون گزارش هایی متناقض درباره ی آن داده شده است [۱۸،۱۳]. شماری از بررسی ها به وجود اندازه ی اندک گلیکوژن در این ناحیه اشاره کرده اند [۱۸]، در حالی که، در بررسی کنونی، گلیکوژن در سلول های اپی تلیال آندومتر و در ناحیه ی زیر هسته ای به اندازه ی زیاد دیده شده است. این ذخایر گلیکوژنی می تواند به هنگام تهاجم تروفوبلاست به درون مجرای رحمی ریخته شده، باعث تغذیه ی بلاستوسیست گردد.

با توجه به این که لانه گزینی یکی از فرآیندهای مهم در تشکیل و تکامل جنین است، در فرآیند یاد شده تغییرات ساختاری مهمی در آندومتر رخ می دهد. این تغییرات، عبارت هستند از، تجزیه ی کلاژن، حل شدن فیبرونکتین و پیدایش اتصالات فاصله دار در میان سلول های اندوتلیال رگ های خونی ناحیه ی لانه گزینی. افزون بر آن، هیپرپلازی، هیپرتروفی، خیز و دسیدوایی شدن، نیز نمونه هایی از تغییرات دیگر این فرآیند هستند. شناخت دقیق این تغییرات می تواند به افزایش میزان موفقیت لانه گزینی و در نتیجه، کاهش سقط کمکی موثر کند. برای دستیابی به جزییات مولکولی و سلولی این فرآیند پیچیده، به پژوهش های بیشتر نیاز است.

A Study on Blastocyst Implantation and Related Histological Changes of the Endometrium in Mice

S. Bahmanpour, Ph.D.,
Associate Professor of Anatomy,
Shiraz University of Medical Sciences,
Shiraz, Iran

Background: Blastocyst formation and implantation in the uterus is a complicated aspect of embryology. Any abnormal implantation in this critical stage may lead to pregnancy failure. There are still some ambiguities regarding the implantation process. The aim of this study was to investigate blastocyst development along with changes in the endometrium. **Materials and Methods**: One hundred and fifty outbred mice were kept under standard conditions with an appropriate light cycle (12 hours dark, 12 hours light). Then, every two female mice were placed in a cage with one male mouse overnight. Observation of the vaginal plug was considered as the first day of pregnancy. The mice were then killed from the fourth to seventh day of pregnancy at three different hours (8,12 and 18) by cervical dislocation. The uterus was then dissected, and tissue processing was done. The blocks containing specimens were cut serially and stained by

www.SID.ir

Archive of SID

hematoxilyn-eosin. The specimens were later studied under the light microscope and photomicrographs were prepared**. Results**: Results showed that blastocyst attachment took place at the antimesometrial zone. The endometrial changes also occurred at the primary decidual zone and then extended toward other zones. The endometrial changes observed included edema, leukocyte infiltration and decidua-trophoblast adhesion. **Conclusion**: Considering the fact that access to human specimens is not easy, most of the studies carried out so far have focused on mice, and although this study has also been conducted on an animal model, the results may be generalized to humans as well.

Keywords: Endometrium, Blastocyst, Implantation, Decidual reaction

Correspondence:
S. Bahmanpour
Department of Anatomy, School of Medicine, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
Tel: *+98-711-2304372*
E-mail:
bahmans@sums.ac.ir

منابع

[1]Tarkowski AK: Interspecific transfer of egg between rat and mouse. ***J Embr Exp Morphol*** 1962;10:476-95.
[2]Welsh A, Enders A: Chorioallantoic placenta formation in the rat: I. Luminal epithelial cell death and extracellular matrix modifications in the mesometrial region of implantation chambers. ***Am J Anat*** 1991;192(3):215-31.
[3]Kufman MH: Assessment of development stage of pre- and post implantation mouse embryos. In: Kufman MH, ed. ***Atlas of mouse.*** 1st ed. London, UK: Academic Press, 1992:17-175.
[4]Schlafke S, Enders AC: Penetration of basal lamina of uterine luminal epithelium in the rat. ***Anat Rec*** 1985;212: 47-56.
[5]Belkrom JV: Morphodynamics of outgrowth of mouse trophoblast in the presence and absence of uterine epithelium. ***Am J Anat*** 1982; 162:143-55.
[6]Lindhard A, Bentin-Ley U, Ravn V,et al.: Biochemical evaluation of endometrial function at the time of implantation. ***Fertil Steril*** 2002;78(2):221-33.
[7]Genbacev OD, Prakobphol A, Faulk RA, et al.: Trophoblast L-selectin- mediated adhesion at maternal fetal interface. ***Science*** 2003;299(5605):405-8.
[8]Wang J, Armant DR: Integrin-mediated adhesion and signaling blastocyst implantation . ***Cells Tissues Organs*** 2002;172(3):190-201.
[9]Mori N, Tsugane MH, Yamshita K, et al.: Pathogenesis of retinoic acid-induced abnormal pad patterns on mouse volar skin. ***Teratology*** 2000;62(4):181-8.
[10]Hopwood D: Fixation and fixative. In: Bancraft JD, Stevens SA, eds. ***Theory and practice of histological techniques.*** 3rd ed. London, UK: Churchill-Livingstone, 1991:21-64.
[11]Parr MP: Ultrastructure of the primary decidual zone. ***Am J Anat*** 1986;176:423-36.
[12]Simon C, Frances A, Piquette GN, et al.: Embryonic implantation in mice is blocked by interleukin-I antagonist. Endocrinology 1994;134(2)521-4.
[13]Welsh AO, Enders AC: Light and electron microscopic examination of the mature decidual cells in the rat. ***Am J Anat*** 1985;172:1-29.

www.SID.ir

Archive of SID

[14]Abrahamson PO: Ultrastructure of the endometrial blood vessels during implantation of the rat blastocyst. ***Cell Tissue Res*** 1983; 229:269-80.
[15]Grinnel F, Head JR: Fibronectin and cell shape in vivo studies on the endometrium during pregnancy. ***J Cell Biol*** 1982; 94:586-606.
[16]Faintast T: Extracellular studies of uterus. ***Am J Anat*** 1993; 112:337-70.
[17]Beaulton J: The relation of programmed cell death to development and reproduction. ***Int Rev Cytol*** 1982;79:215-32.
[18]Tabibzadeh S, Babaknia A: The signals and molecular pathways involved in implantation, A symbiotic interaction between blastocyst and endometrium involving adhesion and tissue invasion. ***Human Reproduction*** 1995;10:1579-1602.

www.SID.ir