مطالعه آترزی فولیکول های تخمدانی در گاومیش

دکتر محسن عباسی[1]* دکتر رجبعلی صدرخانلو[2]

دریافت مقاله: ۱۹ آذر ماه ۱۳۸۱
پذیرش نهایی: ۳ خرداد ماه ۱۳۸۲

هدف: ارزیابی علایم بافت شناسی آترزی فولیکول های تخمدانی در گاومیش.
نمونه ها: تخمدان گاومیشهای بالغ.
روش: تخمدانهای گاومیش در محلول تثبیت کننده فرمالین تثبیت شده و سپس مقاطع بافتی تهیه شدند. مشاهدات بافت شناسی با استفاده از تکنیکهای پاس، اویل رد او و هماتوکسیلین ائوزین انجام شد.
نتایج: مشاهدات بافت شناسی نشان داد که اغلب فولیکول های تخمدانی گاومیش متحمل آترزی می شوند. علایم بافت شناسی آترزی فولیکولی که مشاهده شدند عبارتند از: چین وچروک خوردن فولیکول با اووسیت، پراکندگی لایه سلولهای گرانولوزا، پخش شدن سلولهای کومولوسی، لخت شدن اووسیت و شناور شدن آن در آنتروم فولیکول، قطبی شدن گرانول های ویتلین در اووسیت، جدا شدن لایه گرانولوزا از لایه تک، پراکنده شدن سلولهای گرانولوزای پیکنوزه شده در آنتروم، تشکیل لایه ای از سلولهای سنگفرشی گرانولوزایی نزدیک آنتروم، کلاپس فولیکول های آنترال. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، (۱۳۸۲)، دوره ۵۸، شماره ۲، ۱۵۳-۱۴۹.
واژه های کلیدی: فولیکول، آترزی، گاومیش، آپوپتوزیس.

تأمین مواد غذایی و بالاخص پروتئین دامی از مشکلات عمده بسیاری از جوامع انسانی است. برای فایق آمدن بر چنین مشکلی، استفاده بهینه از دامها بهترین راه کار می باشد. با توجه به پراکندگی جمعیت گاومیش در مناطق مختلف ایران و نقشی که در تأمین بخشی از فرآورده های دامی ایفا می کند لازم است شناخت بیشتری نسبت به تمامی ابعاد ساختاری و فیزیولوژیکی این دام کسب گردد. مطالعه دستگاه تولید مثل دامها یکی از مهمترین و اولین گامها در استفاده بهینه از دامها بوده و از اهمیت ویژه ای برخوردار است. بررسی هیستومورفومتری فولیکول های تخمدانی گاومیش قبلاً انجام شده (۲) و بررسی حاضرکه به مطالعه آترزی فولیکول های تخمدانی در این دام پرداخته است در راستای شناخت بیشتر دستگاه تولید مثل این دام می باشد.

در این بررسی به تغییرات بافتی که در حین آترزی فولیکول های تخمدانی گاومیش رخ می دهد و با میکروسکوپ نوری قابل مشاهده می باشد پرداخته شده است تا تفاوت بین فولیکول های سالم و فولیکول های آترتیک تا حدی مشخص گردد.

در پستانداران، تعداد زیادی اووگونیا در حین تکامل جنین از طریق تقسیم میتوز در جنس ماده شکل می گیرد. در اکثر پستانداران در زمان تولد، تکثیر اووگونیا متوقف شده و تکامل اووسیت در مرحله دیپلوتن از اولین تقسیم میوز متوقف می گردد (۴). در این مرحله اووسیت توسط لایه ای از سلولهای شبه گرانولوزایی احاطه شده و تشکیل فولیکول های مقدماتی را می دهد که هر یک از این فولیکول ها در حال استراحت باقیمانده تا سیگنالی برای فعال شدن دریافت کند. با رسیدن حیوان به سن تولیدمثل، تعدادی از این فولیکول ها در هر سیکل جنسی فعال شده و به رشد خود ادامه می دهد و در نهایت تعداد معدودی فولیکول انتخاب شده و تخمکگذاری می کنند. بنابراین تعداد زیادی از فولیکول ها دژنره شده و می میرند (۸).

۱) گروه آموزشی دامپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان، لرستان - ایران.
۲) گروه آموزشی علوم پایه دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه - ایران.
*) نویسنده مسئول Abasi.m@lu.ac.ir

Study of the ovarian follicular atresia in buffalo

Abbasi,M.,[1] Sadrkhanloo, R.A. [2]

[1]*Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, University of Lorestan, Lorestan-Iran.* [2]*Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Urmia, Urmia-Iran.*

Objective: Evaluation of histological signs of follicular atresia in Buffalo.
Samples: Mature buffalo ovaries.
Procedure: Buffalo ovaries were collected and fixed to process for tissue sectionning. Histological observation using PAS, Oil Red O and H&E techniques.
Results: The majority of Buffalo ovarian follicles undergo atresia. Histological signs of follicular atresia that were observed including: shrinkage of follicle with oocyte, dispersion of granulosa cell layer, dispered cumulus cells, denudation of oocyte and flotation of oocyte in follicular antrum, polarization of vitelin granuls in oocyte, separation of granulosa layer from thecal layer, dispresion of picnotic granulosa cells in antrum, formation of squamus cell layer of granulosa next to the antrum and collapse of antral follicle. ***J. Fac. Vet. Med. Univ. Tehran. 58, 2: 149-153, 2003.***
Key words: Follicle, Atresia , Buffalo, Apoptosis.
corresponding author email:Abasi.m@lu.ac.ir

دژنره شدن فولیکول ها که تحت عناوین آترزی، مرگ سلولی برنامه ریزی شده و آپوپتوزیس نامیده می شود در هر مرحله ای از تکامل فولیکول می تواند ایجاد شود (۱۰).

امروزه مشخص شده است که آترزی فولیکول های تخمدانی تحت مکانیسمی مولکولی به نام آپوپتوزیس صورت می گیرد (۴). به طور کلی در تخمدان پستانداران، بخش اعظم فولیکول ها (۹۹/۹- ۷۵ درصد) متحمل آترزی می شوند. آترزی فرآیندی بسیار منظم در تخمدان مهره داران بوده و از طریق این نوع مرگ سلولی، سلو لهای زایگر و سوماتیک به طور انتخابی از تخمدان حذف می شوند (۱۴).

مواد و روش کار

تخمدانهای پنج گاومیش بالغ (ده عدد تخمدان) از کشتارگاه ارومیه در فصل زمستان جمع آوری شده و در درون ظرف حاوی سرم فیزیولوژی قرار گرفته و در آزمایشگاه پس از جداسازی بافتهای اضافی پیرامون تخمدان، جهت فیکس شدن در داخل ظرف حاوی فرمالین ۱۰ درصد بافر خنثی قرار گرفتند. جهت تثبیت شدن کامل، نمونه ها در داخل محلول ثبوتی بوئن قرار داده شدند و پس ازتثبیت شدن، عمل تهیه مقاطع میکروسکوپی شامل پاساژ بافتها، آغشتگی با پارافین، قالبگیری، برش و رنگ آمیزیهای لازم صورت گرفت. رنگ آمیزی هما توکسیلین و ائوزین یکی از رنگ آمیزیهای رایج بوده و در این رنگ آمیزی هسته سلولها آبی رنگ و سیتوپلاسم سلولها و رشته های همبندی به درجات متفاوتی رنگ صورتی به خود می گیرند. این

رنگ آمیزی انواع متفاوتی دارد ولی آنچه در این بررسی استفاده شد رنگ آمیزی هماتوکسیلین هاریس بود و رنگ ائوزین به عنوان رنگ مخالف به کارگرفته شد. ضخامت مقاطع تهیه شده برای این رنگ آمیزی پنج میکرومتر بود (۹).

رنگ آمیزی پریودیک اسید شیف (پاس): تخمدانهایی که جهت رنگ آمیزی پاس جمع آوری شده بودند پس از تثبیت شدن آنها در الکل ۷۰ درصد با تعویض یک روز درمیان الکل و پس از طی یک هفته، عمل پاساژ، آغشتگی و قالبگیری و برش و رنگ آمیزی صورت گرفت. این روش رنگ آمیزی برای مشاهده کربوهیدرات ها و مواد متشکل از کربوهیدرات ـ پروتئین استفاده می شود. این مواد پاس مثبت بوده و به رنگ قرمز متمایل به ارغوانی نمایان می شوند. همراه با این رنگ برای مشاهده برخی اجزای دیگر بافتی از هماتوکسیلین به عنوان رنگ مخالف استفاده گردید (۹).

برای رنگ آمیزی ابتدا پارافین گیری از مقاطع صورت می گیرد و آبدهی مقاطع تا الکل ۷۰ درصد و سپس قرار دادن اسلایدها در محلول پریودیک اسید به مدت ۶۰ دقیقه صورت می‌گیرد. پس از چند بار شستشو در الکل مطلق، نمونه ها را در معرف شیف به مدت ۳۰ دقیقه قرار می دهیم. چنانچه از رنگ هماتوکسیلین برای رنگ آمیزی هسته ها استفاده می شود، که در این بررسی استفاده شد، پس از شستشوی اسلایدهایی که در معرف شیف قرار داشتند به مدت ۱۰دقیقه در آب جاری، به مدت ۶ دقیقه در هماتوکسیلین قرار داده و پس از قرار دادن در اسید الکل و کربنات لیتیوم، اسلایدها را در الکل مطلق چندین بار شستشو داده و پس از شفاف کردن و آماده کردن آنها، اسلایدها تحت بررسی میکروسکوپی قرار گرفتند (۹).

رنگ آمیزی اویل رداو: تخمدانهایی که برای رنگ آمیزی اختصاص اویل رد او در نظر گرفته شده بودند پس از تثبیت کردن آنها در فرمالین ۱۰ درصد با استفاده از دستگاه برش انجمادی (کرایوستات) برشهایی با ضخامت ۱۵ـ ۱۰ میکرومترتهیه و پس از قرار دادن آنها برروی اسلایدها رنگ آمیزی صورت گرفت. رنگ اویل رد او با استفاده از رنگ مزبور همراه با الکل اتیلیک ۷۰ درصد استون ساخته می شود. در این رنگ آمیزی نیز ازهماتوکسیلین برای رنگ آمیزی هسته ها به عنوان رنگ مخالف استفاده گردید. در نتیجه این رنگ آمیزی لیپیدها به رنگ قرمز متمایل به نارنجی تا قرمز روشن دیده می شوند (۹).

پس ازخشک شدن مقاطع انجمادی بر روی اسلایدها، آنها را در الکل اتیلیک ۶۰ درصد شستشو داده و اسلایدها را به مدت ۱۰ دقیقه درمحلول اویل رد او قرار می دهیم. سپس در الکل ۶۰ درصدشستشو داده و رنگ آمیزی افتراقی در هماتوکسیلین به مدت ۳ـ۲ دقیقه و ادامه رنگ آمیزی به صورت معمول صورت می گیرد و پس از مونته کردن با ژل گلیسیرین تا هنگام بررسی در یخچال نگهداری می شوند (۹).

نتایج

نتایج به دست آمده از بررسی بافتی آترزی فولیکول های تخمدانی که با استفاده از روشهای رنگ آمیزی H&E، PAS و Oil Red O آماده شده بودند به شرح ذیل می باشد.

در بررسی مقاطع بافتی تخمدان مشخص گردید که در تمامی مراحل رشد فولیکول های تخمدانی، فولیکول ها دچار آترزی می شوند که علایم این فرآیند در فولیکول های با مراحل مختلف متفاوت است.

در فولیکول های در حال رشد پیش آنترال، شامل فولیکول های مقدماتی، اولیه وثانویه علایم بافتی آترزی شامل تغییراتی است که ابتدا در اووسیت فولیکول رخ می دهد. در فولیکول های آنترال سالم، لایه گرانولوزا و سایر قسمتهای فولیکول به جز اووسیت نسبت به رنگ آمیزیOil Red O واکنش منفی نشان می دهند درحالی که در فولیکول آنترال آترتیک تغییرات دژنراتیو در سلولهای گرانولوزا به خوبی مشخص بوده و وجود قطرات چربی در داخل سیتوپلاسم سلولهای گرانولوزا ولایه تک و توده کومولوسی با استفاده از رنگ آمیزیOil Red O دیده می شود (تصاویر۲ و ۵).گرانول های ویتلین در اووسیت به صورت گرانولهای قرمز رنگ مشاهده می شود که در یک قطب اووسیت تجمع یافته و حالت همگون خود را از دست داده است (تصاویر۱ و ۲). تغییرات نکروتیک درسلولهای گرانولوزای حاشیه آنتروم به صورت پیکنوزه شدن آنها نمایان بوده و بر وسعت آنها افزوده می شود. سست شدن ارتباط بین سلولهای گرانولوزا و همین طور از دست دادن ارتباط بین لایه گرانولوزا ولایه تک نیز به وضوح دیده می شود (تصویر ۴). با نکروزه شدن سلولهای گرانولوزا وسست شدن ارتباط آنها با یکدیگر، سلولها به داخل آنتروم ریخته شده و در رنگ آمیزی با Oil Red O واکنش مثبت خود را با حضور گرانول های چربی که به صورت ذراتی با رنگ قرمز نمایان می کنند، نشان می دهند (تصاویر ۲ و ۵). از دیگر علایم آترزی مشاهده شده، سست شدن و پراکنده شدن سلولهای توده کومولوسی از اطراف اووسیت می باشد که باعث شناور شدن اووسیت فاقد توده کومولوسی در داخل آنتروم می شود (تصویر۳).

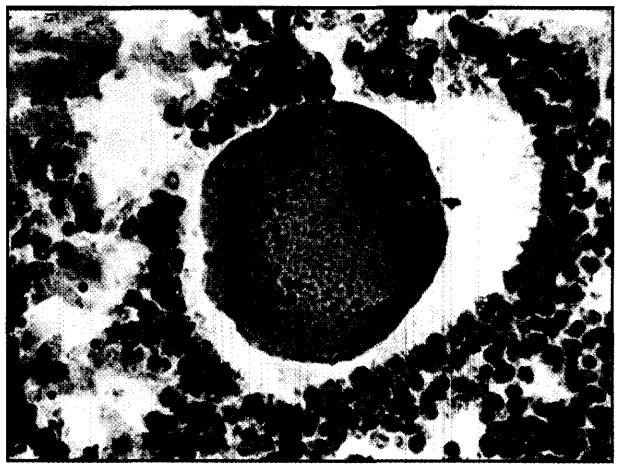
تبدیل شدن سلولهای گرانولوزای مفروش کننده آنتروم به لایه ای از سلولهای سنگفرشی از علایم برجسته فولیکول های آترتیک درگاومیش است که در تصویر۶ مشاهده می شود. هجوم رشته های همبندی به داخل فولیکول آترتیک که با رنگ آمیزیPAS واکنش مثبت نشان می دهند وجود دارد (تصویر ۷).

ضخیم شدن لایه زوناپلوسیدا و یکنواخت نبودن تشکیل این لایه همراه با فقدان توده کومولوسی نیز در فولیکول های آترتیک دیده می شود.

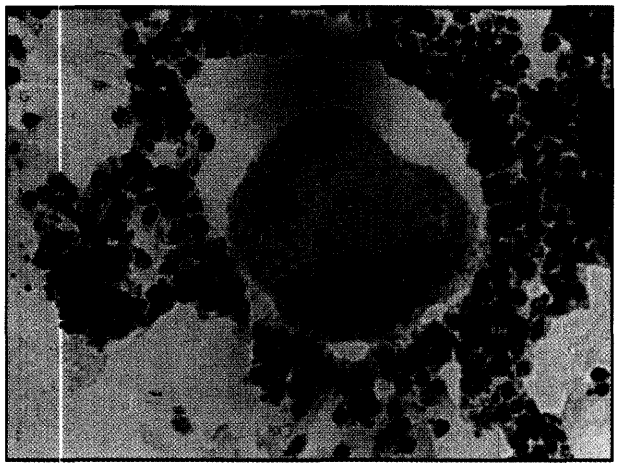
بحث

عمل اصلی غدد تناسلی جنس ماده، تمایز و آزادسازی اووسیت بالغ جهت لقاح و تکثیرگونه های متفاوت حیوانی است. علاوه بر این تخمدان تولید کننده استروئیدها بوده که باعث تکامل صفات ثانویه جنسی ماده شده و حمایت کننده آبستنی است (۱۱). پستانداران ماده با تعداد محدودی اووسیت های تخمدانی که درون فولیکول های تخمدانی جای گرفته اند متولد می شوند که از بدو تشکیل و پس از تولد در دوره زندگی موجود زنده در حال تحلیل بوده که این فرایند تحت عنوان آترزی فولیکول های تخمدانی شناخته می شود (۴). حدود ۹۹/۹ـ۷۵ درصد کل فولیکول ها در گونه های متفاوت پستانداران تحت تأثیر آترزی قرار می گیرند. بررسیهای انجام شده نشان می دهد که دژنراسیون آترتیک فولیکول های تخمدانی یک روند آپوپتوزی است که با قطعه قطعه شدنDNA مشخص می شود (۱۲).

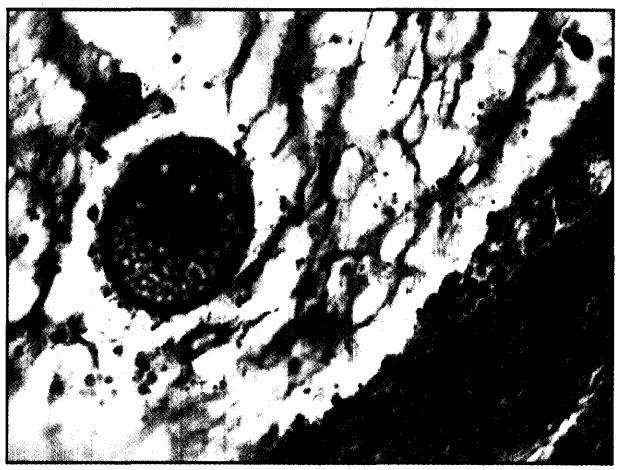
تعداد فولیکول های مقدماتی در گونه های متفاوت حیوانی و با توجه به سن آنها دارای اختلافات فراوانی است. به عنوان مثال تعداد این فولیکول ها درهرتخمدان موش۲۵۰۰ عدد، در هر دو تخمدان گاو۱۰۵۰۰۰ و در خوک۲۱۰۰۰۰ عدد گزارش شده است (۱). تعداد فولیکول های مقدماتی در هر تخمدان گاومیش نژاد سورتی۱۲۰۰۰ و در نژاد نیلی راوی۱۹۰۰۰ عدد گزارش شده است. تعداد فولیکول های مقدماتی در دامهای سیکلیک بیشتر از دامهای غیر سیکلیک می باشد مثلاً درگاومیش رودخانه ای سیکلیک



تصویر۱- اووسیت حاوی گرانول های ویتلین که در یک طرف اووسیت تجمع یافته اند. هسته اووسیت حالت مرکزی خود را از دست داده و ارتباط سلولهای تاج شعاعی و توده کومولوسی با اووسیت ازبین رفته است. Oil Red O ,۲۰۰×.



تصویر۲- جدا شدن توده کومولوسی از اووسیت، واکنش ORO مثبت در سلولهای گرانولوزا، تجمع گرانولهای ویتلین در یک طرف اووسیت، رنگ آمیزی Oil Red O ,۲۰۰×.



تصویر۳- فولیکول گراف آترتیک، شناور شدن اووسیت فاقد توده کومولوسی در آنتروم (A)، از بین رفتن و تغییر شکل سلولهای گرانولوزا (G). H&E ,۲۰۰×.

تصویر۴- فولیکول گراف آترتیک، جدا شدن لایه گرانولوزا از تک داخلی (a)، از هم گسیختگی سلولهایگرانولوزا و وتوده کومولوسی و شناور شدن آنها در آنتروم (A). (G). H&E ,۱۰۰×.

این تعداد۱۲۶۶۳ و در گاومیشهای غیر سیکلیک ۱۰۱۳۲ عدد تخمین زده اند (۱۳). در یک بررسی تعداد فولیکول های مقدماتی در گاومیشهای ایران به طور میانگین ۱۷۴۵۱ عدد گزارش شده است که۹۴ درصد مجموع فولیکول های تخمدانی را شامل می شود (۱).

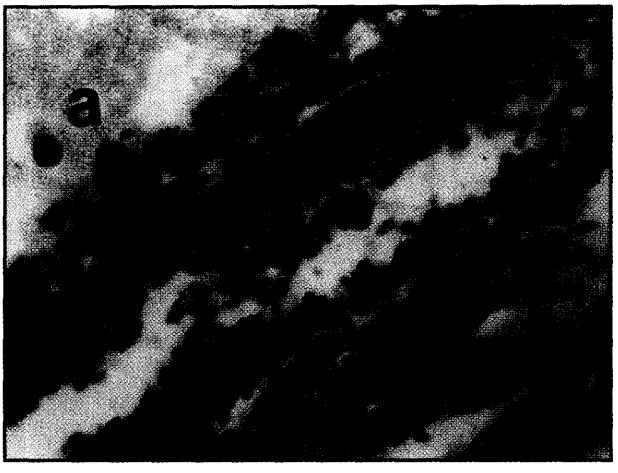
از زمان تشکیل اووسیت ها و در تمامی مراحل رشد آنها، سیر قهقرایی آنها نیز شروع می شود به نحوی که مثلاً درجنین انسان در هفته ۲۰ حاملگی، از حداکثر۷-۶ میلیون اووسیت تشکیل شده، تعداد آنها شدیداً رو به کاهش گذاشته تا در زمان تولد فقط ۴۰۰-۳۰۰ هزار عدد از آنها باقی می ماند (۱۱).

تنظیم تکامل فولیکولی و آترزی یک فرآیند پیچیده بوده و شامل فعل و انفعالاتی است که بین عوامل آندوکرین (گونادوتروپینها) و عوامل تنظیم کننده داخل تخمدانی (استروئیدهای جنسی، عوامل رشد و سیتوکین ها Cytokines) رخ می دهد (۱۶).

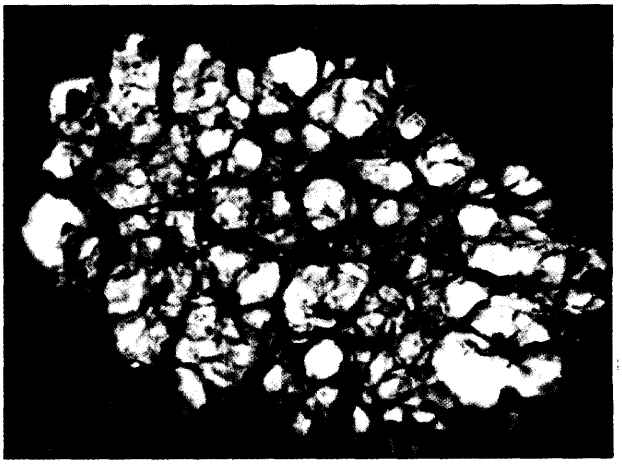
روشهای متفاوتی برای ارزیابی ایجاد آترزی در فولیکول ها وجود دارد مثلاً در مورد فولیکول های آنترال قبل ازتخمکگذاری با استفاده از سونوگرافی و تعیین قطر فولیکول و بررسی تهیه مقاطع با استفاده ازمیکروسکوپ نوری و همین طور تعیین کمی وکیفی میزان هورمونهای استروئیدی مایع فولیکولی و اخیراً ردیابی آپوپتوزیس به وسیله آنالیزهای DNA می توان ارزیابی آترزی فولیکول ها را انجام داد (۴،۱۲،۱۵،۱۶).

مکانیسم های مرگ فیزیولوژیکی سلول که تحت عناوین آپوپتوزیس، مرگ سلولی برنامه ریزی شده، مرگ سلولی فعال و مرگ سلولی بیولوژیکی نامیده می شود نقش اساسی در عمل دوره ای تخمدان ایفا می کند. با استفاده از رهیافتهای بیولوژیکی مولکولی و ترکیب آن با بررسیهای بافت شناسی کلاسیک، تأکید شده است که فرآیند آپوپتوزیس در طی تکامل تخمدانی جنین و مراحل مختلف تکامل فولیکول ها و آترزی رخ می دهد (۴). در بعضی از مراحل رشدی هر سلول مشخص، یکسری اتفاقات غیر قابل برگشت که به وسیله ژن هدایت می شود رخ می دهد که باعث حذف سلولها از سلولهای مجاور می شود، بدون این که در عمل طبیعی بافت اختلالی رخ دهد که به این روند آپوپتوزیس گفته می شود. در حالی که مرگ سلولی پاتولوژیک که غالباً به عنوان نکروز بیان می شود در دسته ای از سلولهای مجاور هم، به دنبال تحریک پاتوژن اتفاق می افتد که فرآیندی تصادفی بوده و مانند آپوپتوزیس برنامه ریزی شده نیست (۱۵،۱۶).

سلولی که دچار مرگ آپوپتوزی می شود، کاهش مشخصی در حجم سیتوپلاسمی نشان می دهد که همزمان یا بلافاصله به وسیله پیکنوز هسته ای(که نتیجه کلیواژ DNA ژنومیک با وزن مولکولی بالا یا پایین می باشد) تعقیب می شود. ارگانلهای داخل سلولی و باقیمانده های هسته ای در داخل وزیکولهای محدود به غشاء پلاسمایی بسته بندی شده و به عنوان اجسام



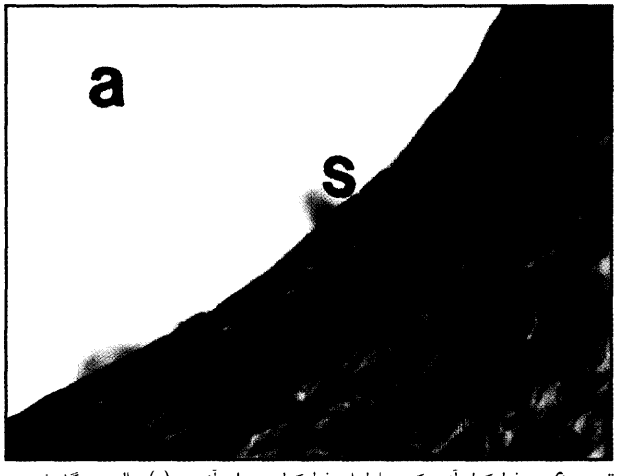
تصویر۵- واکنش ORO مثبت در سلولهای گرانولوزا و وجود قطرات چربی درداخل سلولها، شناور شدن سلولهایگرانولوزا در داخل آنتروم (a). Oil Red O ,۴۰۰×.



تصویر۷- هجوم سلولها و رشته های همبندی به داخل فولیکول آترتیک، PAS ,۲۰۰×.

آپوپتوزی Apoptotic bodies نامیده می شوند که به وسیله سلولهای مجاور یا ماکروفاژهای مقیم فاگوسیته می شوند (۳،۷). تمایز بین فولیکول های آترتیک و سالم به وجود تغییرات دژنراتیو نکروتیک بستگی داشته و هر فولیکولی که علایم مرگ سلولی را نشان دهد جزء فولیکول های آترتیک قلمداد می شود. به طور عمده دو نوع آترزی فولیکولی قایل هستند که درآترزی نوع اول، تغییرات اولیه آترتیک در اووسیت رخ می دهد که در فولیکول های پیش آنترال معمول می باشد در حالی که درآترزی نوع دوم، تغییرات اولیه آترتیک در سلولهای گرانولوزا ایجاد می شود که عمدتاً در فولیکول های آنترال رخ می دهد (۵).

در حین آترزی تغییراتی در فولیکول ها مشاهده می شود که به سه مرحله تقسیم می کنند. در فولیکول های گراف آترتیک در مرحله اول تغییرات نکروتیک ابتدا در برخی ازسلولهای گرانولوزا که در حاشیه آنتروم قرار دارند ظاهر می شود و محدوده سلولهای نکروزه وسیع گشته تا این که به پیکنوزه شدن تمامی سلولهای گرانولوزا که در امتداد آنتروم قرار دارند منجر می شود (۵). در بررسی حاضر وجود چنین حالتی را در تصاویر ۴ و۶ می توان مشاهده کرد. در مرحله دوم آترزی، نواحی اصلی نکروزه در سلولهای گرانولوزای دیواره فولیکول توسعه می یابد و در ادامه با اتوفاژی سلولهای گرانولوزا و الحاق هسته آنها با یکدیگر تشکیل اجسام آترتیک می دهند (۵). در بررسی دیگری اشاره شده است که در حین آپوپتوزیس هسته سلولها که دچار مرگ برنامه ریزی شده گشته اندبه قطعات ۲۰۰-۱۸۰ کیلو دالتونیDNA شکسته شده و با



تصویر۶- در فولیکول آترتیک، سلولهای فولیکولی جداره آنتروم (a) حالت سنگفرشی به خود گرفته اند (S). Oil Red O ,۴۰۰×.

رتیکولوم آندوپلاسمیک به وزیکولهای تغییر شکل یافته ای به عنوان اجسام آپوپتوزی به داخل فضای خارج سلولی آزاد می شوند. این اجسام آپوپتوزی حاوی ارگانلهای سلولی و قطعات هسته ای بوده و به وسیله سلولهای مجاور فاگوسیته می شوند (۷). وجود اجسام آپوپتوزی در فولیکول آترتیک گاومیش درتصاویر ۳ و۵ مشاهده می شود که بررسی دقیقتری جهت شناسایی ترکیب آنها لازم است. در مرحله سوم آترزی، سلولهای گرانولوزای دیواره فولیکول نکروز شده و در اکثر قسمتها اغلب آنها به صورت شناور درآنتروم قرار می گیرند (۵). وجود سلولهای گرانولوزای شناور درفولیکول آترتیک گاومیش در تصویر۴ به خوبی نشان داده شده است. در اواخر مرحله سوم آترزی، نکروز شدیدی در سلولهای کومولوسی آشکار می شود و علایم دژنره شدن در اووسیت قابل ردیابی است. با سست شدن ارتباط سلولهای کومولوسی، اووسیت فقط به وسیله سلولهای تاج شعاعی احاطه شده و سلولهای کومولوسی درآنتروم شناور می شوند (۵). همان طوری که در تصویر ۲ مشاهده می شود ارتباط بین سلولهای کومولوسی سست گشته، ضمن این که نکروز شدن و شناور شدن سلولهای گرانولوزا در آنتروم مشاهده می شود. جداشدن لایه گرانولوزا از لایه تک داخلی نیز از دیگر علایم آترزی بوده که درتصویر ۴ نشان داده شده است. درموارد شدید سلولهای تاج شعاعی نیز از اطراف اووسیت جداگشته و با حذف این سلولها، اووسیت ازسلولهای کومولوسی در داخل آنتروم عاری می ماند (تصویر۳).

در یک بررسی حضور بیش از ده سلول گرانولوزای پیکنوزه شده درآنتروم هرفولیکول (در بزرگترین مقطع عرضی) یکی ازملاکهای آترتیک بودن آن قلمداد گردیده است (۶). وجود سلولهای گرانولوزای پیکنوزه و شناور به تعداد زیاد درآنتروم فولیکول های گاومیش مشاهده می شود (تصاویر۲،۳و۴). با حذف سلولهای گرانولوزا و اووسیت، فولیکول آترتیک کلاپس کرده و تهاجم رشته ها و سلولهای همبندی را به دنبال دارد که در تصویر ۷ وجود رشته های همبندی که با رنگ آمیزی PAS واکنش مثبت نشان داده اند مشاهده می شود. در این بررسی تغییراتی در اووسیت فولیکول های آترتیک مشاهده گردید که عبارت بودند از:

دریک بررسی، اولین علامت آترزی به وسیله کاهش قطر، دژنراسیون و جدا شدن سلولهای گرانولوزا از پرده بازال و کاهش شدید نسبت استروژن به پروژسترون ذکر شده است (۱۶). جدا شدن سلولهای گرانولوزا ازپرده بازال درتصویر۴ مشخص است.

از علایم دیگر فولیکول های آنترال آترتیک درگاومیش حذف سلولهای گرانولوزا و تبدیل شدن دیواره آنتروم به لایه ای یکنواخت و متشکل از سلولهای سنگفرشی است که درمنابع مورد بررسی، گزارشی مشاهده نگردید (تصویر ۶).

بررسیهای اخیر نشان می دهد که آپوپتوزیس موضعی تحت کنترل ژنتیکی، هورمونی و فاکتورهای بافتی موضعی است. عوامل رشد مانند عوامل رشد شبه انسولینی (Insulin like growth factors "IGFs") واستروژن به عنوان عوامل نجات دهنده فولیکول عمل می کنند، در حالی که آندروژنها و هورمونهای آزادکننده گونادوتروپین ها پتانسیل آپوپتوزیس فولیکول را دارند (۷).

عوامل بسیار زیادی در تکامل و رشد فولیکول های تخمدانی پستانداران دخالت داشته و اثرات خود را ازطریق آندوکرین، پاراکرین و اتوکرین ایفا می کنند که شناسایی این عوامل در برنامه ریزی و به کارگیری پتانسیلهای تولید مثلی دامها نقش مهمی ایفا کرده و با ترکیب رهیافتهای حاصله از تحقیقات پایه و کلینیکی نسبت به عملیاتی کردن اطلاعات درحوزه تجربی استفاده بهینه به عمل خواهد آمد.

تشکر و قدردانی

کلیه اعتبارات مالی این تحقیق از محل طرحهای مصوب پژوهشی دانشگاه لرستان هزینه شده است، بدین وسیله از حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه لرستان تشکر و قدردانی می شود.

References

۱. صدر خانلو، ر. و عباسی، م. (۱۳۷۸): شمارش انواع فولیکول های نخمدانی در گاومیش، مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۴، شماره ۴، صفحه: ۳۹-۳۵.

۲. صدر خانلو، ر. و عباسی، م. (۱۳۷۹): بیومتری و هیستولوژی تخمدان گاومیش، مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران دوره ۵۵، شماره ۱، صفحه: ۱۵-۱۱.

3. Chun, S.Y. and Hsueh, A.J. (1998): Paracrine mechanisms of ovarian follicle apoptosis, J. Reprod. Immunol. 39: 63-75.
4. Devine, P.J., Payne, C.M., Mc Cuskey, M.K. and Hoyer, P.B. (2000): Ultrastructural evaluation of oocytes during atreisa in rat ovarian follices, Biol. Reprod. 63: 1245-1252 (Abst).
5. Erickson, G.F. (1986): Endocrinology and Metabolism, The Ovary: Basic Principels and Concepts, 2nd ed. University of California, Sandiago, USA. PP:2-56.
6. Erickson, G.F., Magoffin, D.A., Unger, M., Allen, W.R. and Dulbecco, R. (1988): A monoclonal antibody recognize a 39kDa protein expressed in atretic granulosa cells, Mol. Cell. Endocrinol. 60:177-187.
7. Haanen, C. and Vermes, I. (1996): Apoptosis: Programmed cell death in fetal development, Eur. J. Obest. Gyneocol. Reprod. Biol. 64, 1:129-133.
8. Hirshfiled, A.N. (1991): Development of follicles in the mammalian ovary. Int Rev Cytol. 124: 43-101.
9. Humason, G.L. (1979): Animal Tissue Techiques, 4th ed. W.H.Freeman and Company, Sanfrancisco, USA, PP: 113-118.
10. Kaipia, A. and Hsueh, A.J.W. (1997): Regulation of ovarian follicle atresia.Annu Rev Physiol .59: 349-363.
11. McGee, E. and Hsueh, A.J.W. (2000): Initial and cyclic recruitment of ovarian follicles, Endocrine Rev. 27: 200-214.
12. Nahum, R., Bejth, Y., Chun, S.Y., Hsueh, A.J. and Tsafriri, A. (2000): Early onset of deoxyribonucleic acid fragmentation durinig atresia of preovulatory ovarian follicles in rats, Biol. Reprod. 55: 1075-1080.
13. Samad, H.A. and Nassari, A.A. (1979): A quantitativ study of primordial follicles in Buffalo heifers ovaries. Compendium 13, FAO Int Course on Animal Reproduction, Sweden.
14. Wood, A.N. and Van Der Kraak, G.J. (2001): Apoptosis and ovarian function:Novel prospectives from the teleosts. Biol.Reprod. 64: 264-271.
15. Yang, M.Y. and Rajamahendran, R. (2000): Morphological and biochemical identification of apoptosis in small, medium, and large bovine follicles and the effects of follicle-stimulatiny hormone and insulin-like growth factor - I on spontaneous apoptosis in cultured bovine granulosa cells, Biol. Reprod. 62:1209-1217.
16. Yang, M.Y. and Rajamahendran, R. (2000): Involvement of apoptosis in the atresia of nonovulatory dominant follicle during the bovine estrous cycle, Biol. Reprod. 63:1313-1321.