

شناسائی و حرکت سلولهای پری مرودیال ژرم در جنین جوجه مرغ

محمدرضا خواجه

دانشگاه شهید باهنر کرمان، گروه زیست‌شناسی، رنگ‌آمیزی پاس، سلولهای پری مرودیال

مقدمه:

سلولهای پری مرودیال (PGCs) سلولهای بزرگ کروی و یا گلابی شکلی به اندازه ۱۰ تا ۲۰ میکرون هستند. هسته آنها گرد و دانه‌دار به قطر ۸-۱۲ میکرون می‌باشد. این سلولها ابتدا حاوی مقدار زیادی زرده هستند ولی به PAS تدریج زرده ناپدید شده توسط ذرات چربی و گلیکوژن جانشین می‌گردد (۳، ۴، ۱۱) که این نوار با رنگ‌آمیزی رنگ در (Peridic Acid Schiff) شفافی به خود می‌گیرند (۷). ویژگیهای مذکور یکی از راههای تشخیص PGCs پرنندگان است.

قبلاً تصور بر این بود که « PGCs در جنین مرغ از آندودرم (۱) که «خط germinal crescent نامیده می‌شود در طول مرحله اولیه خود از مهاجرت این سلولها در راحل بعدی به طرف جلو و عقب ایجاد می‌شود (۸). ولی امروزه ثابت شده است که منشاء آنها از اپی‌پلاست و به طور دقیق‌تر او اختصاصی‌تر از قسمت مرکزی منطقه شفاف می‌باشد (۵). با شروع مرحله ۱۰ تکاملی در بعضی از پرنندگان تمام سلولهای PGCs در فضای بین رگها نفوذ کرده ولی تا زمانی که قلب شروع به ضربان نماید وارد جریان خون نمی‌شوند. این سلولها در خون باقی خواهند ماند و وقتی که جنین ۳ روز (مرحله ۱۸ یا ۱۹) (۸). عمر دارد از مویرگها خارج شده و وارد ناحیه بافت زاینده می‌شوند (۶ و ۲).

چکیده:

سلولهای پری مرودیال ژرم سلولهای بزرگ کروی، تخم‌مرغی و یا گلابی شکلی به اندازه ۱۰ تا ۲۰ میکرون و تا منشاء گنادها در جوجه مرغ می‌باشند. مدت‌ها (Chick embryo) تصور بر آن بود سلولهای پری مرودیال ژرم جنین جوجه « مرغ از آندودرم که «germinal crescent نامیده می‌شود و در طول مرحله خط اولیه بوجود می‌آیند. ولی امروزه ثابت شده که منشاء آنها اپی‌پلاست می‌باشد. این سلولها با روش که رنگ‌آمیزی Periodic Acid Schiff (PAS) ذخیره‌های گلیکوژن سیتوپلاسم را رنگ می‌کند تشخیص داده می‌شوند. در این تحقیق زمان مهاجرت و حرکت سلولهای پری مرودیال ژرم و تعداد آنها در خون با در نظر گرفتن مرحله تکوینی جنین جوجه مرغ و همچنین تعداد سلولهای پری مرودیال در ارتباط با تعداد سومیت‌های جنین جوجه مرغ تعیین گردید.

نتایج نشان داد، هنگامی که تعداد سومیت‌ها برابر ۳۰ باشد تعداد سلولهای پری مرودیال ژرم به حد بیشینه می‌رسد و همچنین در مرحله ۱۶ تکوینی سلولهای پری مرودیال ژرم به بیشترین میزان دیده می‌شوند و از این مرحله به بعد این سلولها در گنادها مستقر شده و در مرحله ۱۹ کامل می‌گردند.

روش کار:

(۱) خونگیری و تهیه لام گسترش خونی با ضخامت تقریباً ۱۰ میکرون.

(۲) انتخاب ۱۱۰ جنین که ابتدا ۵۵ عدد از آنها با متیلن بلو رنگ آمیزی و پس از اطمینان از صحیح بودن مراحل مورد جنین، رنگ آمیزی با رنگ PAS، شمارش سومیت و تعیین مرحله تکوینی انجام شد.

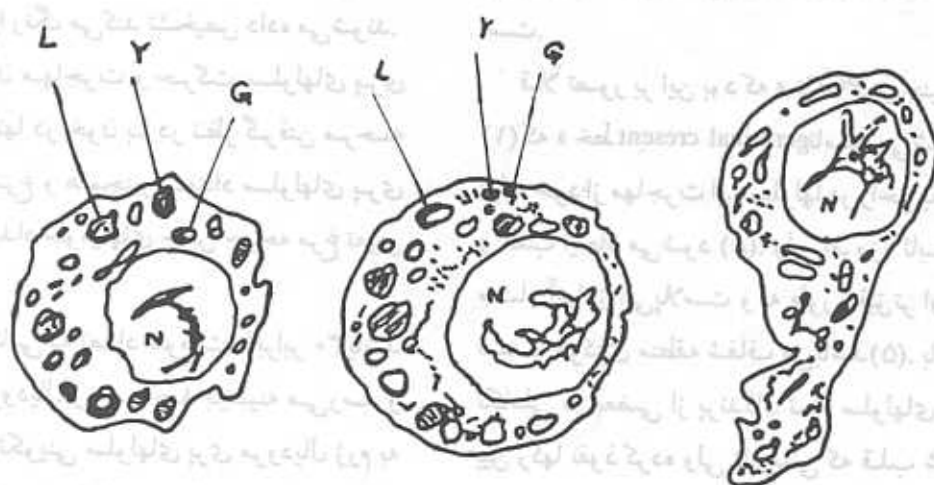
(۳) شمارش PGCs با میکروسکوپ نوری با قدرت تفکیک بالا.

نتایج:

نتیجه حاصل از شمارش تعداد PGCs با منحنی‌های (۱) و (۲) در ارتباط با تعداد سومیت‌ها و مراحل مختلف جنین نشان داده شده است. منحنی‌ها نشان می‌دهند که تعداد PGCs در زمانی که جنین دارای ۳۰ سومیت بوده بیشترین است. و همچنین بین مرحله ۱۶ تا ۱۷ حداکثر در PGCs وجود دارد که در مرحله ۱۹ PGCs جایگاه اصلی خود که گویا باشند قرار گرفته و در مراحل بعدی گوناگونی تشکیل می‌دهند.

برای مطالعه و رنگ آمیزی PGCs در پستانداران از فسفاتاز قلیائی استفاده می‌شود ولی متأسفانه PGCs پرندگان نسبت به این ماده از خود واکنشی نشان نمی‌دهند (۶). همچنین گزارش نموده‌اند که با این روش تنها سلولهای خیلی کوچک PGCs که فقط ۶ میکرون می‌باشند و احتمالاً نماینده ترمبوسیت‌ها هستند مشخص می‌شوند. این سلولها با مشخصات فوق دارای مقدار زیادی زرده، ریبوزوم و میتوکندری هستند (۱، ۴، ۱۱) که ابتداء جزء آندودرم بوده و سپس از جنین‌هایی که در آینده تشکیل می‌شود، جدا می‌شوند وقتی که PGCs ها وارد جریان مویرگی شدند، به شکل کروی در می‌آیند و چند میکروویلی در سطح آنها نمایان می‌شود و یک هسته بزرگ (اغلب در یک انتها) دارند که دارای تعداد کمی ذرات زرده و مقدار زیادی ذخیره چربی و گلیکوژن می‌باشد، در این موقع طول آنها به ۲۰ میکرون می‌رسد (۸ و ۱۲) (شکل ۱).

هدف از انجام این تحقیق تعیین زمان مهاجرت و حرکت و سلولهای PGCs تعداد آنها در جریان خون باتوجه به مراحل تکوینی جنین جوجه مرغ که بوسیله هامبرگر و همیلتون (۹) بیان شده و همچنین تعداد سلولهای PGCs در ارتباط با تعداد سومیت‌ها در جنین می‌باشد.



شکل (۱):

to migrating to the gonadal anlagen.

Development, Growth and Differentiation, 25, 345-352

3- Austin, E. R. 1982. Germ cells and Fertilization, Cambridge University Press.

4- Balinsky, B. L. 1981. An introduction to Embryology. Holt Sanders.

5- L. W. Browder, Carol Brilesen and William R. Jeffery 19x.

Developmental Biology Saunders College Publishing, a division of Holt, Rinehart and Winston, Inc.

6- Chiquoine, A. D. and Rothengerg, E. J. 1957. A note on alkaline Phosphatase activity of germ cells in Ambystoma and Chick embryos. Anatomical Record, 127, 31-35.

7- Clawson, R. C. and Dmm, L. V. 1963. Developmental changes in glycongen content of primordial germ cells in chick embryos. Proceedings of the society for Experimental Biological Medicine, 112, 533-537

8- Eyal-Giladi, H., Ginsburg, M. and Farbaroy, A. 1981. Avian Primordial cells are of epiblastic origin, Journal of Embryology and Experimental Morphology, 65, 139-147.

9- Hamburger, V. and Gamilton, H. 1951. A series of normal stages in the development of the chick embryo. Journal of Morphology 88, 49-92.

10- Meyer, D. B. 1960. Application of the periodic acid-schiff's method to whole chick embryos. Stain Technology, 35, 83-89.

11- Nieuwkoop, P. D. and Sutasurya, L. A. 1981. Primordial germ cells in chordata and primordial germ cells in invertebrates. Cambridge University Press.

12- Ukeshima, A. and Fujimoto, T. 1984. Ultrastructure of Primordial germ cells in the early chick embryo. In Ultrastructure of Reproduction (Van Blerkom, J. and Motta, P. M., eds), PP. 12-18.

Boston, Martinus Nijhoff.

بحث و نتیجه گیری:

زمان مهاجرت PGCs و تعداد آنها در خون با در نظر گرفتن مرحله تکوینی آنها و همچنین تعداد PGCs ارتباط با تعداد سومیت‌ها در جنین جوجه تعیین گردید، مشاهدات بعضی از محققین (۱۰) با در نظر گرفتن منشاء این سلولها و رنگ‌آمیزی مخصوص حاکی از آن است که در روز ۱۸ تا ۱۹ PGCs در محل اصل خود مستقر می‌شوند ولی هیچگاه به موارد فوق اشاره‌ای نکردند. این و مقایسه آن با سایر موارد تقریبی چون مطالعه تجربی در انسان مشکل است، برای تعیین از نوع و مسیر حرکت مهاجرت در میان PGCs جنین جوجه و رنگ‌آمیزی PAS طرح استفاده شده است.

پیشنهاد می‌شود که رنگ‌آمیزی فوق بر روی جنین انسان در نمونه‌های پاتولوژی نیز صورت گیرد تا مشخص شود که آیا مهاجرت از طریق جریان خون است یا به صورت حرکت آئیبی سلولها می‌باشد.

بافت شناسی سلولهای PGCs. PGCs مشتق germlinal vresent (چپ) دارای مقدار زیادی زرده (Y) می‌باشد. با وارد شدن در جریان خون (وسط) زرده کاهش یافته و همزمان قطرات گلیکوژن (G) و چربی (L) افزایش می‌یابد. این نوع PGCs اغلب کروی با هسته کناری می‌باشند. با وارد شدن به منطقه بافت گونادی سلولهای PGCs مقداری از گلیکوژن خود را از دست داده، طویل می‌شوند تا اینکه در این منطقه استقرار می‌یابند (چپ).

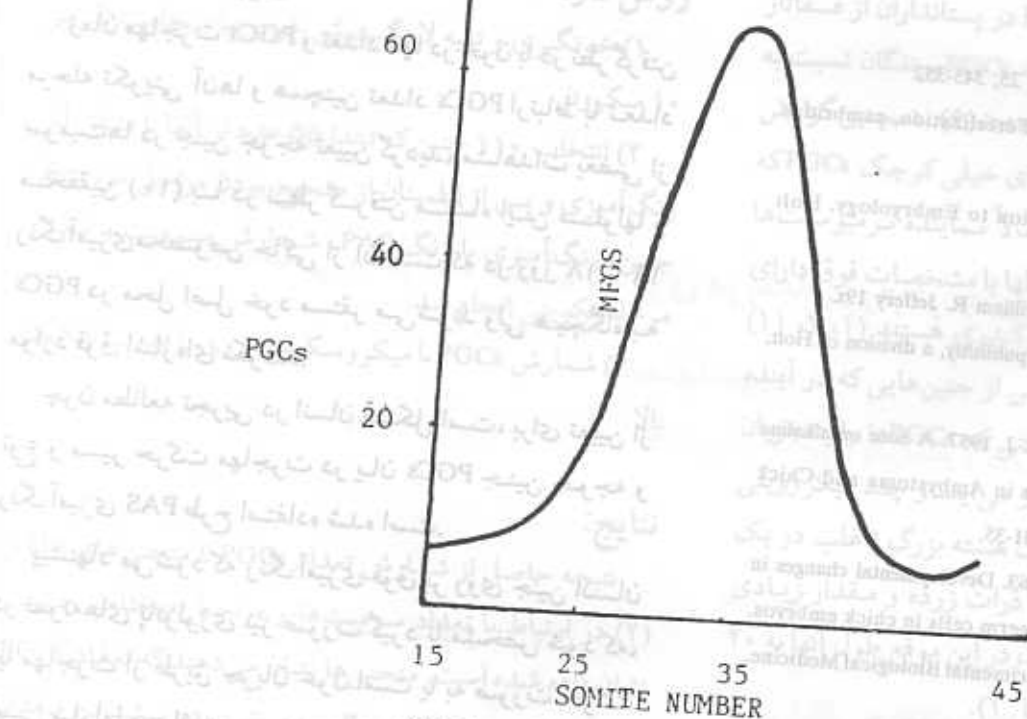
منابع:

۱) شمس لاهیجانی، مریم. ۱۳۷۴. جنین‌شناسی، تولید مثل و چگونگی رشد و نمو در جنین. جلد اول. صفحه ۲۶-۲۷.

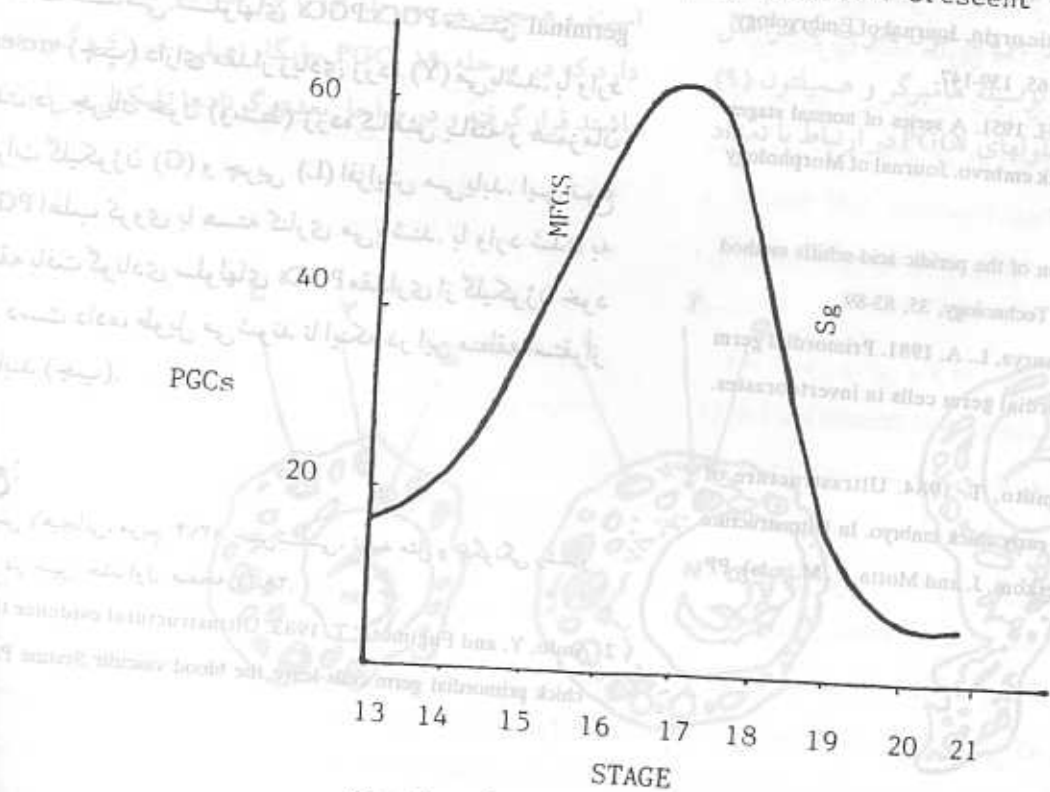
2- Ando, Y. and Fugimoto, T. 1983. Ultrastructural evidence that chick primordial germ cells leave the blood vasculature System Prior

نوع پیچ منحنی و شعاع

روش کار:



MFGC = Migration from germinal crescent



Sg = Settlement in gonad

MFGC = Migration from germinal crescent

منحنی شماره ۱ و ۲: