

شناسائی و حرکت سلولهای پری مرویدال ژرم در جنین جوجه مرغ

محمدرضا خواجه

دانشگاه شهید باهنر کرمان، گروه زیست شناسی، رنگ آمیزی پاس، سلولهای پری مرویدال

مقدمه:

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

قبلاً تصور بر این بود که « PGCs در جنین مرغ از آندودرم (۱) که «خط germinal crescent نامیده می شود در طول مرحله اولیه خود از مهاجرت این سلولها در راحل بعدی به طرف جلو و عقب ایجاد می شود (۸). ولی امروزه ثابت شده است که منشأ آنها از اپی پلاست و به طور دقیق تر او اختصاصی تر از قسمت مرکزی منطقه شفاف می باشد (۵). با شروع مرحله ۱۰ تکاملی در بعضی از پرندگان تمام سلولهای PGCs در فضای بین رگها نفوذ کرده ولی تا زمانی که قلب شروع به ضربان نماید وارد جریان خون نمی شوند. 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 می شوند (۶ و ۲).

چکیده:

سلولهای پری مرویدال ژرم سلولهای بزرگ کروی، تخم مرغی و یا گلابی شکلی به اندازه ۱۰ تا ۲۰ میکرون و تا منشأ گنادها در جوجه مرغ می باشند. مدتها (Chick embryo) تصور بر آن بود سلولهای پری مرویدال ژرم جنین جوجه « مرغ از آندودرم که «germinal crescent نامیده می شود و در طول مرحله خط اولیه بوجود می آیند. ولی امروزه ثابت شده که منشأ آنها اپی پلاست می باشد. این سلولها با روش که رنگ آمیزی Periodic Acid Schiff (PAS) ذخیره های گلیکوژن سیتوپلاسم را رنگ می کند تشخیص داده می شوند. در این تحقیق زمان مهاجرت و حرکت سلولهای پری مرویدال ژرم و تعداد آنها در خون با در نظر گرفتن مرحله تکوینی جنین جوجه مرغ و همچنین تعداد سلولهای پری مرویدال در ارتباط با تعداد سومیت های جنین جوجه مرغ تعیین گردید.

نتایج نشان داد، هنگامی که تعداد سومیت ها برابر ۳۰ باشد تعداد سلولهای پری مرویدال ژرم به حد بیشینه می رسد و همچنین در مرحله ۱۶ تکوینی سلولهای پری مرویدال ژرم به بیشترین میزان دیده می شوند و از این مرحله به بعد این سلولها در گنادها مستقر شده و در مرحله ۱۹ کامل می گردند.

روش کار:

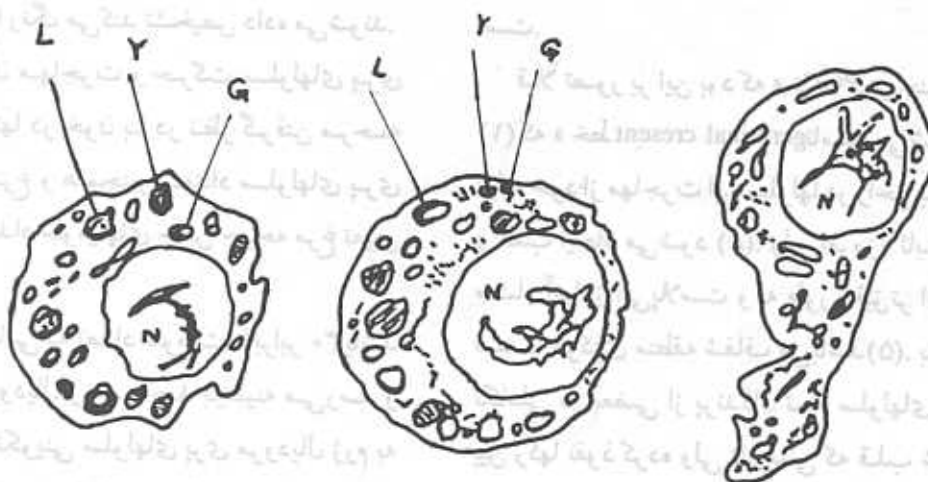
- (۱) خونگیری و تهیه لام گسترش خونی با ضخامت تقریباً ۱۰ میکرون.
- (۲) انتخاب ۱۱۰ جنین که ابتدا ۵۵ عدد از آنها با متیلن رنگ آمیزی و پس از اطمینان از صحیح بودن مراحل مورد جنین، رنگ آمیزی با رنگ PAS، شمارش سومیت و مرحله تکوینی انجام شد.
- (۳) شمارش PGCs با میکروسکوپ نوری با قدرت تفکیک بالا.

نتایج:

- نتیجه حاصل از شمارش تعداد PGCs با منحنی‌های (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 دارد که در مرحله ۱۹ PGCs جایگاه اصلی خود که گویا باشند قرار گرفته و در مراحل بعدی گوناگون‌ها تشکیل می‌شوند.

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-schiffs 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.

چون مطالعه تجربی در انسان مشکل است، برای تعیین از نوع و مسیر حرکت مهاجرت در یان PGCs جنین جوجه و رنگ‌آمیزی PAS طرح استفاده شده است.

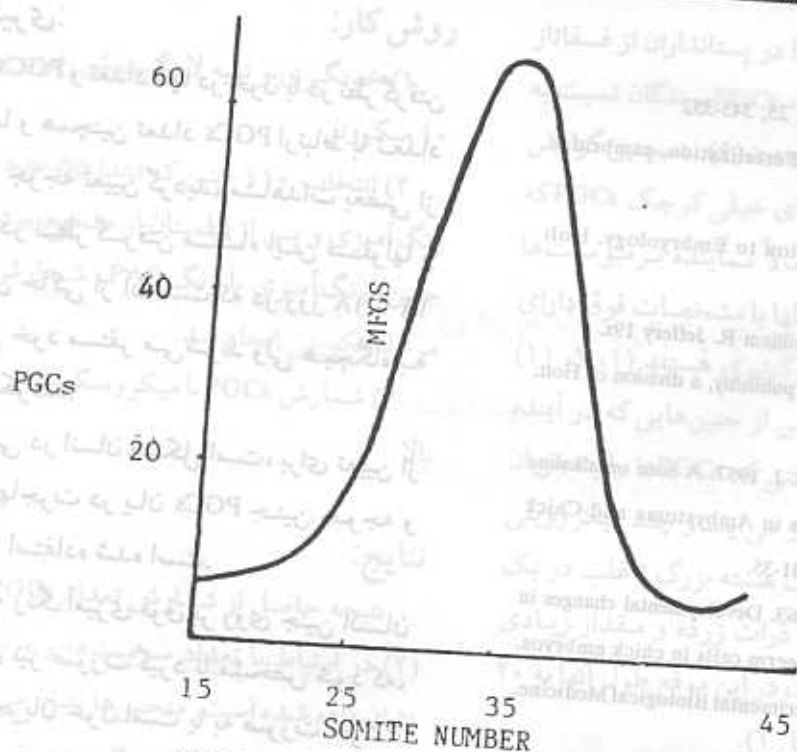
پیشنهاد می‌شود که رنگ‌آمیزی فوق بر روی جنین انسان در نمونه‌های پاتولوژی نیز صورت گیرد تا مشخص شود که آیا مهاجرت از طریق جریان خون است یا به صورت حرکت آئیبی سلولها می‌باشد.

بافت شناسی سلولهای PGCs. PGCs مشتق germinal 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).

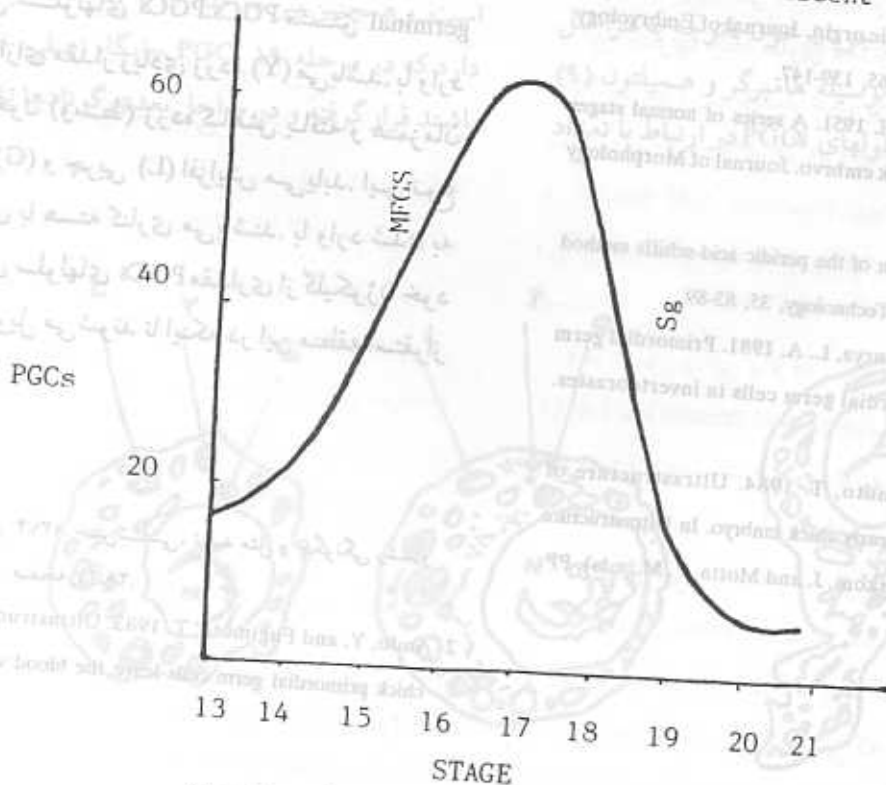
منابع:

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 vascular System Prior



MFGC = Migration from germinal crescent



Sg = Settlement in gonad

MFGC = Migration from germinal crescent

منحنی شماره ۱ و ۲: