

مطالعه مورفولوژیک پیوند تخدمان (اتوگرافت) در زیرکپسول کلیه و تحریک پذیری نسبت به هورمونهای گونادوتروپین در موش صحرائی

نویسندها: دکتر ناصر سلسیلی^۱، دکتر مجید درودی^۲، دکتر
محمدحسین اسدی^۳، دکتر زهرا نراقی^۴

چکیده مقاله:

پیوند تخدمان چپ بصورت اتوگرافت در زیرفاسیانی کلیه چپ در ۳۲ موش صحرائی ماده و برسی تاثیرات پس دوره هورمونهای گونادوتروپین (hMG-hCG) در بخش آناتومی دانشگاه علوم پزشکی تهران مورد تحقیق قرار گرفت. بدین منظور ۴ گروه موش صحرائی بر اساس روزهای ۲۱، ۲۲، ۷.۵ روز پس از پیوند تخدمان چپ به زیرکپسول کلیه همان طرف انتخاب گردیدند، هر گروه شامل ۸ سر موش صحرائی ماده از نوع Sprague-Dawley بودند. ۲ سر از رتبهای هر گروه پس از پیوند تخدمان در روزهای فوق الذکر کشته شدند. سپس از ناحیه پیوندی در روی کلیه چپ نمونه برداشی شد. نمونه ها پس از فیکس شدن، آبکیری، بلوك، گیری و پازافینه شدند. آنکه بصورت سریال با ضخامت ۰.۵ میلی‌متری قطع گیری شده و بدائله ۱ به ۱۰ در روی لام قرار گرفتند.

۲ سر موش صحرائی دیگر از گروه تحت تزریق ۱ mg-hMG برابر ۱۵ واحد و بعد از ۴۸ ساعت تزریق ۱ mg-hCG ۱ واحد قرار گرفتند.

بعد از کشتار، نمونه برداشی و سایر مرافق تهیه لام مطابق گروه قبلی صورت پذیرفت. جهت بررسی کیفی تخدمانها، مورد رنگ‌آمیزی اختصاصی Tol Blue، H+E، کرم ماسون و PAS و سپس جهت بررسی تغییرات کمی مور، آنالیز واریاشن و T-Test قرار گرفت.

نتایج حاصل از این تحقیق پیوند تخدمان را امکان پذیر می‌نماید. در بافت تخدمانی پیوند شده رشد فولیکولها در زیرکپسول کلیه قابل تحریک توسط هورمونهای گونادوتروپین می‌باشد. با قطع تخدمان چپ و پیوند آن هورمون در گردش خون بطور طبیعی در تحریک تخدمان را است دخالت کرده و تعداد فولیکول و تخمک آن را بطور طبیعی بیشتر نموده است ($P<0.0001$).

مراحل پیوند تخدمان و فعالیت مجدد آن وابستگی تمام با هورمونهای فولیکولی و عروق خونی دارد. هورمونهای فولیکولی و عروق خونی در جهت رشد و تمایز سلولی و بلوغ فولیکولها تا حد فولیکول گراف در انتهای روز ۲۱ نقش دارند. این تحقیق مشخص نمود قطع اعصاب تخدمانی از تخمک گذاری و رشد فولیکولها بی تأثیر است. بافت تخدمانی پیوند شده ۲۱ روز بعد از عمل پیوند به حد بافت طبیعی تخدمان رسیده و فرآیندهای بلوغ و سیری گردش فازشای مختلف فولیکولهای تخدمانی را در زیرکپسول کلیه بطور طبیعی انجام می‌دهد. عملکرد هورمونهای گونادوتروپین بر روی فولیکولهای تخدمانی همچ آثار پاتولوژیک ایجاد نکرده و فقط ضخامت زوناپلوسیدار اضخیم تر می‌نماید ($P<0.03$).

کلید واژه: پیوند تخدمان، موش صحرائی، هورمونهای گونادوتروپین

مقدمه:

بدنبال کشف تأثیر بیوفیدبکی تخدمان بر تخدمانها دچار اختلالات هورمونی بوده اند (۱) و پیوند بافت تخدمانی سالم پیشنهاد روى هیپوتالاموس و هیپوفیز (۲)، همواره (۳) و موارد عدم تخمک گذاری و نقص ترشح گردیده است. ناباروری از لحاظ تخمک گیری

۱- استادیار دانشگاه علوم پزشکی تهران - بخش آناتومی و جنین شناسی

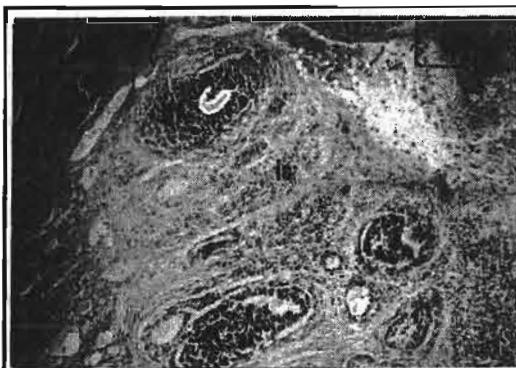
۲- استادیار دانشگاه علوم پزشکی شاهد - بخش آناتومی و جنین شناسی

۳- استادیار دانشگاه علوم پزشکی بقیة...

۴- استادیار دانشگاه علوم پزشکی تهران - بخش پاتولوژی بیمارستان امام خمینی (ره)

مطالعه مورفولوژیک پیوند تخدان (اتوگراف) در زیرکپسول ...

۲۱ روز، از هر گروه هشت تابی ۴ موش صحرایی نگهدارشته شدند. شرایط فیزیکی حیوانخانه بطور مطلوب با درجه حرارت ۲۰ تا ۲۰ درجه را کشته و تشریح نمودیم و نمونه‌ای پیوند شده بهمراه تخدان سمت راست آنها در فیکساتور سانتیگراد و رطوبت نسبی ۵۵ تا ۴۵ درصد و نور اتاق بطور متناوب ۱۲ ساعت روش و ۱۲ قرار داده شد. فیکساتور انتخابی بوئن بود تا ساعت خاموش از ساعت ۷ صبح بود. پس از ساعت خاموش از محيط آزمایشگاه از موشها رنگ آمیزی و تغییرات سلولی داشه باشیم. بهترین ساختار سیتوولاسمیک را برای تطابق حیوانات با محيط آزمایشگاه از موشها در مورد ۴ موش صحرایی باقیمانده از هر گروه بعد از تزریق hMG به میزان یک میلی گرم برابر ۱۵ واحد مدت ۴۸ ساعت صبر نمودیم. پس یک میلی گرم هورمون hCG برابر ۱۰ واحد بین المللی به هر یک از موشها تزریق و پس از ۸ ساعت موشها را کشته و تشریح نمودیم. آنگاه نمونه‌های پیوند شده تخدان در زیرکپسول کلیه چپ بهمراه کلیه چپ و تخدان سمت راست آنها خارج و توسط فیکساتور بوئن فیکس گردید. پس از مراحل آبگیری بافت از طریق الکلا و تهیه بلوك پارافینه مقاطع سریال به ضخامت ۵ µm و به فاصله ۱ به ۱۰ برداشت شده و روی لام انکوبه شد. لامهای تهیه شده مورد رنگ آمیزی اختصاصی به چهار نوع رنگ آمیزی



تصویر ۱: تخدان چپ ۵ روز از پیوند آن در زیرکپسول کلیه گذشته در حالیکه هورمون تزریق نکرده است. انواع فولیکول در مراحل مختلف بیونسانس در وسط تصویر و سلولهای آماسی بصورت پراکنده مشخص می‌باشد.

DF: فولیکول در حال بیونسانس، IC: سلولهای آماسی Stain: H & E ۱۰

هماتوکسیلین/انوژن، تولوینیدین/بلو، تری کروم گرفت که از رنگ آمیزی پایانیکولا استفاده شد. بعد از تعیین روز سیکل در زیر بیهودی عمومی ماسون و پاس قرار گرفت. در بررسی کمی موشها مورد عمل جراحی قطع تخدان چپ و قسمتهای مختلف فولیکولهای تخدانی به انتقال آن به زیرکپسول کلیه چپ قرار گرفتند. ترتیب قطر انواع فولیکول، قطر تخدان، بعد از جراحی در ۴ گروه هشت تابی دسته بندی ضخامت زونا پلوسیدا، میانگین ضخامت طبقه شدند. بر اساس فواصل زمانی ۵، ۷، ۱۴ و گرانولوزا و میانگین طبقه تک داخلی در

یا در زمان یائسگی همراه با کاهش استروئیدها، سبب پوکی استخوانها می‌گردد. (۴) سایر نارسائیهای متابولیکی نیز همراه این کاهش بوده که پیوند آن از این نقص جلوگیری می‌نماید.

در تخدان فولیکولها واحدهای کارآیی هستند، با دو نقش فیزیولوژیک، که در بلوغ و رشد تخمکها با ایجاد یک محیط کشت سلولی نقش دارند (۵)، از طرف دیگر ترشیح هورمونهای استروئیدی را بعده دارند. در مدت ۳ هفته سلولهای فولیکول تخدانی قابلیت رشد، از حد سلولهای اولیه غیرمتایز شده تا حد سلولهای بالغ و ظرفیت یافته فولیکول گراف را پیدا می‌کنند (۶).

در این تحقیق کشت و پیوند تخدان بصورت Invivo و قابلیتهای سلولی آن در

ناحیه زیرکپسول کلیه بررسی شده است. همچنین تغذیه سلولهای فولیکول آن بصورت انتشار و نیز عروق دار شدن تخدان و نقش آن در تخمک گذاری و بلوغ سلولهای فولیکول اولیه در حالت پیوند به بررسی گذاشته شده است. تحریک هورمونی سلولهای فولیکول تخدانی با گونادوتروپینها، قسمت دیگری از این بررسی را تشکیل می‌داد. تا میزان پاسخ تخدان و سلولهای تشکیل دهنده فولیکولهای آن در زمان تحریک بررسی شده و توانایی تخمک گذاری فولیکولها در حالت پیوند در محل دیگری مطالعه شود.

مواد و روش کار:

۳۲ سر موش صحرایی آزمایشگاهی از تزاد طبق جدول شماره ۱ در این پژوهش استفاده گردید، وزن حیوانات حدوداً ۲۵۰ گرم و سن آنها ۴ ماه بود.

موش های صحرایی مورد آزمایش در دسته های چهارتایی و در قفس های مخصوص

زمان کشن حیوان بعد از تزریق هورمون	تعداد موش های صحرایی هر گروه پیوند شده همراه با تزریق هورمون	تعداد رتهاي هر گروه (فقط پیوند هورمون شده)	زمان کشن حیوان بعد از عمل	ردیف
۵۶ ساعت	۴	۴	روز پنجم	۱
۶۵ ساعت	۴	۴	روز هفتم	۲
۵۶ ساعت	۴	۴	روز چهاردهم	۳
۵۶ ساعت	۴	۴	روز بیست و یکم	۴
		۱۶	جمع	

جدول شماره ۱: نحوه تقسیم نمونه ها در روزهای مختلف بعد از عمل و تزریق هورمون

تخدمان های پیوند شده و تخدمانهای پیوند شده و تحریک شده با استفاده از گرایکول چشمی میکرومتري شد. همچنین فولیکولها جایی از تمایز و بلوغ سلولهای جنسی و پیدايش فولیکول های اولیه و پیش رس مشهود بود. سلولهای حجمی دیده می شد. در نسوج پیوندی (تصویر ۲) در گروه ۷ روز بعد از پیوند، انواع متفاوتی از از فولیکولها مشاهده گردید همچنین در مرز بین تعداد فولیکولها بیشتر بود ولی فولیکولهای تخدمان و کلیه عروق خونی تازه تشکیل شده مشاهده شد. همچنین جسم زرد با عروق خونی بعلت ضخیم بودن پوسته کلیه امکان آزاد شدن

جهت بررسی دقیق تر به چهار نوع تعریف شده تقسیم و اندازه گیری شدند. نتایج حاصل از T.Student آندازه گیریهای فوق به روش آماری محاسبه گردید. به منظور آنالیز پارامترهای test

فولیکول	قطر فولیکول	قطر تختک	ضخامت زونا	ضخامت تک داخلی	ضخامت طبقه گرانولوزا
ثانویه	۰/۱۸۱۲۵۶	۰/۲۳۸۷۳۰	۰/۵۹۲۹۸۰	۰/۷۶۰۸۱۷	۰/۶۴۱۲۹۹۲
انتروم دار اولیه	۰/۳۱۳۲۶	۰/۱۶۹۵۰۹	۰/۵۸۴۶۸۰	۰/۸۵۳۸۸۰	۰/۱۷۱۰۱۶
انتروم دار ثانویه	۰/۴۳۶۶۶۱	۰/۳۱۱۳۳۷	۰/۰۰۹۹۰۳	۰/۰۴۵۲۹۸	۰/۵۱۱۶۳۷
گراف	۰/۶۲۸۲۰۷	۰/۱۸۲۶۰۱	۰/۰۲۵۸۷۸	۰/۰۸۳۶۰۴	۰/۷۸۰۷۹۵

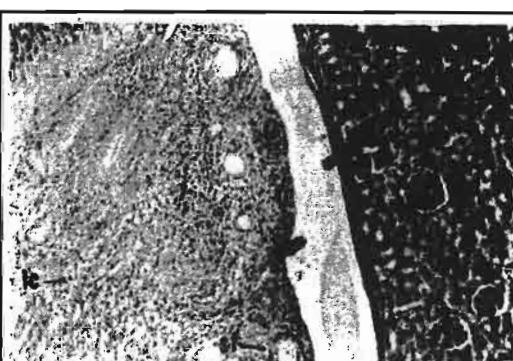
جدول P.V-۲ مقایسه تخدمان راست موشهایی که هورمون دریافت کرده و تخدمان راستو چپ موشهایی که هورمون دریافت نکرده و مورد پیوند تخدمان چپ قرار گرفته بودند.

تخدمک نبوده و لذا مورد تهاجم سلولهای پلی مورفوتوکلنو قرار گرفته و کیستهای فولیکولی با الگوی یاپلری را به نمایش گذاشته اند. در گروه ۲۱ روز بعد از پیوند ارتتاح آمامی همراه با استحاله استرومای تخدمان همراه با کانون های فیبروز و هیالینوز دیده می شد. (تصویر ۴) در حالیکه در گروه ۲۱ روز پیوند که هورمون دریافت کرده بودند تخدمان فعل و سالم بوده و جسم زرد محتوی لیپوکرم و افزایش بسیار مشخص انواع فولیکول در درجات مختلف تا فولیکول آنترال دیده می شد. (تصویر ۵)

نتایج تغییرات کمی (بر اساس

یافته های میکروسکوپی):

مقایسه تخدمانهای پیوندی سمت چپ در زیر پوسته کلیه همان سمت با تخدمانهای سمت راست و با حالت تحریک شده تخدمانها توسط هورمونهای گونادوتropین بر اساس معیارهای مؤثر در مراحل تکامل انواع فولیکول (ثانویه، انتروم دار اولیه - انتروم دار ثانویه - گراف) بررسی شد.



تصویر ۲: تخدمان چپ ۵ روز از پیوندان در زیر پکسول کلیه گذشته و هورمون نیز دریافت نموده است. نمای یک فولیکول ثانویه و همچنین انتشار سلولهای آملسی در بافت تختکی و نمای بافت کلیه مشخص است.

گ: بافت کلیه، S: فولیکول ثانویه، C: سلول آمامی ۱۰ Stain: H & E

مختلف در فولیکولها از آنالیز واریانس چند جانبه بین گروههای شاهد و کنترل مقایسه صورت یافته. سیس از ارزش احتمال (ProbAbility Value) آنها جهت نتیجه گیری استفاده نمودیم. در هیچنیک از ۳۲ مورد موش صحرایی که تحت جراحی و پیوند تخدمان و متعاقب آن تحریک تخدمان قرار گرفتند، مرگ و یا عفونت جراحی دیده نشد.

نتایج تغییرات کیفی:

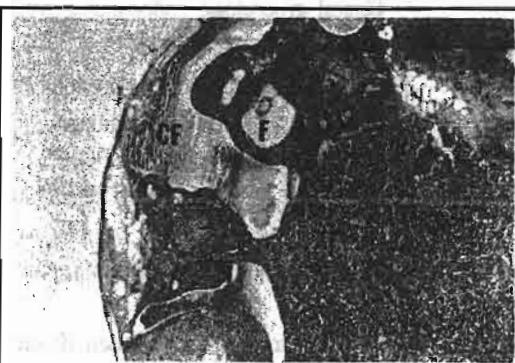
در گروهی که ۵ روز بعد از پیوند کشتار شده بودند تخدمان پیوند شده دچار تغییرات نکروزایسکمیک و پیدايش سلولهای آمامی در استرومای نسبتاً سالم تخدمان شده بود. (تصویر شماره ۱) ضمناً مقاطعی از انواع فولیکول در مراحل مختلف رشد که تماماً در حال دژنرنسانس بودند دیده می شد. در گروهی که ۵ روز بعد از پیوند هورمون دریافت کرده بودند نمای کلی پیوند هورمون دریافت کردند نمای کلی دیده می شد. (تصویر ۳) در گروه ۱۴ روز بعد از پیوند کاهش حجم اولیه - انتروم دار ثانویه - گراف) بررسی شد.

مطالعه مورفولوژیک بیوند تخدمان (اتوگرافت) در زیر کپسول ...

فویلکول	قطر فولیکول	قطر تخمک	ضخامت زونا	ضخامت تک داخلي	ضخامت زونا	قطر فولیکول
ثانويه	۰/۸۷۰۳۱۷	۰/۰۵۹۰۵۶	۰/۱۱۳۸۴۶	۰/۲۰۰۴۹۰	۰/۲۳۲۰۴۷۲	
انتروم دار اوليه	۰/۸۹۰۱۰۹	۰/۰۲۹۲۶۹	۰/۱۹۱۲۹۷	۰/۷۸۰۷۹۰	۰/۰۴۳۶۰۴	
انتروم دار ثانويه	۰/۵۷۳۶۲۴	۰/۰۶۰۲۸۹	۰/۹۹۰۱۲۴	۰/۳۴۰۳۵۶	۰/۰۲۰۷۷۴۷	
گرایاف	۰/۸۶۱۶۳۸۱	۰/۸۲۸۸۶۳	۰/۱۳۳۶۱۴	۰/۰۵۷۳۷-۳	۰/۱۷۰۶۸۸	

P.V مقایسه تخدمان درست و بیش از شوابه، که هر رونم در رایافتگت کم ده و بیست و یک، روز بعد تشریح شده است.

گذشت ۲۱ روز از پیوند تحریباً در تمامی موارد اندازه گیری اختلاف وجود ندارد. تخمک گذاری در بافت‌های پیوندی تخدمان نگرفته و معمولاً تخمکها در داخل فولیکولها دژنره شدن وی سلوهای گرانولوز لوتینیزه بودند. البته این الگوی تخدمانی در تخدمان موش صحرائی قبلاً توسط دکتر پاپکین (۱۰) گزارش شده بود که می‌توانیم علت آن را ضخیم بودن کپسول کلیه در روی تخدمانهای پیوند شده بدانیم. با توجه به این بررسی عصب گیری تخدمان نقشی در عملکرد و تنظیم و کنترل عمل تخدمان پیوند شده نداشت بنابر این مراحل بلوغ تخمکها جدای از ۱۱ تقسیم بندی و زمانبندیهای کلاسیک عمل می‌نمود، این



تصویر: تخدمان چپ، ۲۱ روز از پیوند آن بر زیر کپسول کلیه گذشته، در حالیکه هورمون تزریق نکرده است. عروق خونی هماره با فولیکول گراف و جسم زرد هموراژیک و مزوپلیال تخدمان: B: عروق خونی، L: جسم زرد.

Stain: Masson's Trichrom 2.5

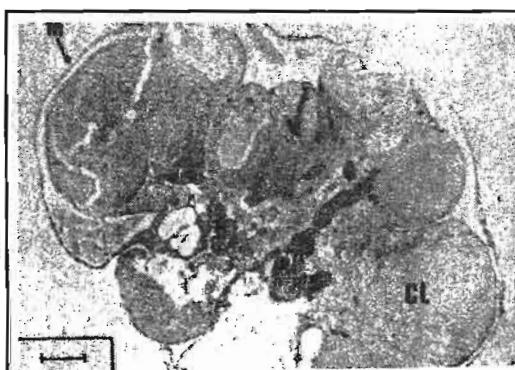
و اندازه و سایر پارامترها مثل ضخامت نک اختلاف قابل توجهی از نظر فاکتورهای یافته با نظرات دکتر لارا (۱۹۹۱) موافق است. اندازه گیری شده ایجاد کنند. بطوری که بعد از دارد.

پس از مدت ۵ روز یک هیپرتروفی جبرانی ایجاد نموده است که نسبت به تخدمان موشهای تحریک شده با هورمون گونادوتروپین از یک میزان تخدمان بخوردار می‌باشد. بنظر می‌رسد هورمون در گردش بعد از قطع تخدمان سمت چپ متوجه تخدمان سمت راست می‌گردد که عامل این هیپرتروفی است. بنابر این همانند یک تحریک تخمک گذاری محسوب می‌گردد. روز ۷ بعد از پیوند، تخدمانهای چپ پیوند شده، دارای فولیکول در مراحل مختلف رشد شده، استرومای تخدمان طبیعی و فاقد افیلترای آمامی و حتی جسم زرد مشخص می‌باشند، در بررسی فولیکولها و تخمکها از نظر قطر و اندازه و سایر پارامترها مثل ضخامت نک داخلي و طبقه گرانولوز هیچ اختلاف آماری دیده نشده. این یافته‌ها تأثیری است بر اینکه فولیکولها خارج از محدوده مکانی، مراحل تکاملی در سیکل‌های تخدمانی را می‌توانند داشته باشند و تکامل بیابند و مراحل تسایز و بلوغ خود را طی کنند، این یافته مؤید نظرات دکتر تلفر (۸، ۹)

می‌باشد. این یافته‌ها، وابستگی بافت تخدمان را به عروق خونی پس از پیوند نشان می‌دهد. همچنین بلوغ سلوهای تک داخلي وابسته به برقراری این ارتباط می‌باشد. در موارد تزریق هورمون در موشهای پیوند شده تخدمان راست و چپ به یک نسبت فعال شده و نتوانسته اند

نتیجه گیری کلی مقاله:

پیوند تخدمان بصورت اتوگرافت امکان پذیر است. بافت پیوند شده در زیر کپسول کلیه قابل تحریک توسط هورمونهای گونادوتروپین می‌باشد. مراحل پیوند و فعالیت مجدد تخدمان وابستگی به هورمونهای فولیکولی و عروق خونی دارد. عصب گیری تخدمان نقشی در جهت رشد و نمایز سلولی و بلوغ فولیکولها ندارد. هورمونهای تخدمانی هیچ آثار پاتولوژیک روی تخدمان ندارند و فقط ضخامت زونا پلوسیدا در تخمکها افزوده می‌شود.



تصویر: تخدمان چپ، ۲۱ روز از پیوند آن بر زیر کپسول کلیه گذشته، و هورمون نیز تزریق نداشته است. انواع متعدد فولیکول و جسم زرد هموراژیک با فولیکول کیستیک متعدد در زمینه استرومای سالم تخدمان مشهود است.

F: فولیکول گراف، CF: فولیکول کیستیک 2.5

References:

- 1- Pfeiffer C.A. Sexual differences of the hypophyses and their determination by the gonads. Am. J. Anat. 58: 195-225 (1936).
- 2- Lunenfeld, Insler Diagnosis and treatment of functional infertility. Blackwell scientific, PP: 77-99(1992).
- 3- Lara H.E. Dees W.L. Hiney J.K. Dissen C.A. Rivier C. Ojeda S.R. Functional recovery of the developing rat ovary after transplantation, contribution of the extrinsic innervation Endocrinology vol, 129, No.4 PP. 1849-1860 (1991).
- 4- Leon Speroff, Robert H. Glass Nathan G.
- Clinical gynecologic endocrinology and infertility PP. 15-16 (1989).
- 5- Austin C.R, and Short R.V., Reproduction in mammals hormones Cambridge University-Press, Vol 3, Chapter 3-5 (1975).
- 6- Peppler R.D. & Greenwald G.S., Influence of unilateral ovarioectomy on follicular development in cycling rats. Am.j. Anat. 127 (1970).
- 7- Nancy APectro, Tricia E. Markusen, Bronte A.Stone, Marrs P.R, Numbers and quality of oocytes after induction of multiple folliculogenesis in women and in mice with different lots of human menopausal gon-
- asotropins. J. Fertility and sterility Des., 60:6 PP: 1082-87 (1993).
- 8- Telfer E., Factors influencing follicular development in mammalian ovaries, Ph.D thesis University of Edinburgh. (1987)
- 9- Telfer E. Torrance C. Gosden R.C., Morphological study of cultured preantral follicles of mice after transplantation under the kidney capsule. J. of Repro & fert. 89, 562-72 (1990).
- 10- Popkin R.M, Fraser H. M & Gosden R.G., Effects of LH-RH agonist on LH-RH immunoneutralization of pituitary and ovarian LH-RH receptors in female rats. J.Reprod. fer.69:PP: 245-52. (1983).

«سوره' مبارکه اشعراء آیه ۸۰»

وَإِذَا مَرِضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِ

هنگامیکه بیمارشوم او است که مرا شفای دهد