

## بررسی تغییرات بافت‌شناسی جداره واژن گاو میش در مراحل مختلف آبستنی

دکتر اسماعیل آیین<sup>۱</sup> دکتر رسول شهروز<sup>۲</sup>

### Histological changes of the vaginal wall during different stages of pregnancy in buffaloes

Ayen, E.,<sup>1</sup> Shahrouz, R.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Urmia, Urmia - Iran. <sup>2</sup>Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Urmia, Urmia - Iran.

**Objective:** To compare histological changes of the vaginal wall during non-pregnancy period and different stages of pregnancy in buffaloes.

**Design:** Observational study.

**Animals:** Fifty nine specimens from non-pregnant and pregnant buffaloes in different stages of pregnancy.

**Procedures:** After preparation of specimens in the lab anatomy. They were stained by the method of hematoxylin - eosine and four special methods of Verhoof, Toluidine blue, Panton and Veigerts Iron. The number of cell layer, type of epithelial cells, vascular activities, distribution of plasma cells, elastic fibers and collagen in the mucosa and submucosa were studied.

**Statistical analysis:** One way ANOVA, Duncan's multiple range test.

**Results:** During different stages of pregnancy, no significant difference in the number of cell layers and cell type of epithelium was observed. From the second month of gestation, the secretory cells were seen between the epithelial cells which increased significantly to maximum number in the fifth month ( $P < 0.01$ ) and decreased in the seventh month of pregnancy. Special pregnancy cells, were present in the epithelium from the fourth month of gestation and increased with pregnancy progress, which was more remarkable during months 9 and 10. During the first three months of pregnancy, the number of plasma cells in mucosa and submucosa were greater than the other months. Vascular activities increased with the pregnancy progress and during the last months of gestation, submucosa was more vascular and oedematous. Distribution of the collagen fiber in the deep portion of the mucosa and submucosa was higher than the other regions. Elastic fibers were fairly distributed in the all layer of the vaginal wall.

**Clinical implications:** Although there is some differences in the histological structure of the vaginal wall during pregnancy in buffaloes, but it can not be used as a method for pregnancy diagnosis. *J. Fac. Vet. Med. Univ. Tehran. 57, 3: 55-60, 2002.*

**Key words:** Buffaloes, Vaginal histology, Pregnancy.

در گاو تغییرات عمده در سلولهای اپی‌تلیوم قدامی واژن (مجاور سرویکس) و عمل ترشحي در عدد گردن رحم اتفاق می‌افتد. در طی استروس، اپی‌تلیوم مخاط قسمت قدامی واژن در اثر افزایش تقسیم سلولی و افزایش ارتفاع سلولهای استوانه‌ای ترشح کننده ماده موکوسی بر ضخامت اپی‌تلیوم افزوده می‌شود (۱). در لایه سطحی، در نتیجه تجمع موکوس در قسمت رأسی، سلولها به حداکثر ارتفاع خود می‌رسند و تعداد سلولهای چند ضلعی زیرین در زمان استروس کمتر از پنج لایه می‌باشند. در مرحله دی‌استروس سلولهای سطحی از سلولهای مکعبی تا سلولهای پهن تغییر شکل می‌دهند. از دو روز بعد از استروس افزایشی در تعداد لایه‌های سلولی به وجود می‌آید و اپی‌تلیوم مخاط اغلب به شش تا هشت لایه سلولی نیز می‌رسد. در این دوره کنده شدن سلولهای اپی‌تلیومی و حضور لوکوسیت‌ها

هدف: مقایسه تغییرات بافت‌شناسی وجود آمده در زمان غیر آبستنی و در ماههای مختلف آبستنی در جداره واژن گاو میش.

طرح: مطالعه بافت‌شناسی جداره واژن با استفاده از روشهای مختلف رنگ آمیزی حیوانات: تهیه نمونه بافتی از واژن ۵۹ گاو میش زنده غیر آبستن و آبستن، ۴-۷ گاو میش در هر یک از ماههای آبستنی و ۵ گاو میش غیر آبستن.

روش: نمونه‌های بافتی پس از تهیه و آماده سازی در آزمایشگاه، به روش هماتوکسیلین-ائوزین، ورفاف، تولوئیدین بلو، پانتین و آهن وایگرت رنگ آمیزی شده و تعداد لایه‌های سلولی، تغییرات سلولهای مخاطی، پراکندگی فیبروبلاستی و عروقی در زیر مخاط، پراکندگی سلولهای ایمنی و تراکم رشته‌های الاستیک و کلاژن در بافت همبند مخاط و زیر مخاط و لایه عضلانی مورد مطالعه قرار گرفتند. تجزیه و تحلیل آماری: جهت بررسی اختلاف ما بین داده‌ها از آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و متعاقباً آزمون دانکن استفاده شد.

نتایج: تعداد لایه‌های سلولی اپی‌تلیوم مخاط در طول دوران آبستنی تقریباً یکسان بوده و اختلاف معنی‌داری بین آنها وجود نداشت. از ماه دوم آبستنی سلولهای ترشحي در لایه‌های سایر سلولهای مخاطی و بخصوص در لایه سطحی مشاهده شدند که در ماه پنجم آبستنی تعداد آنها به طور معنی‌دار ( $P < 0.01$ ) به حداکثر رسیده و از ماه هفتم آبستنی کاهش یافت. سلولهای آبستنی نیز، از ماه چهارم آبستنی در مخاط حضور نسبی دارند که با پیشرفت آبستنی بر تعداد آنها به طور معنی‌دار ( $P < 0.01$ ) افزوده شد و در ماههای نهم و دهم بسیار افزایش پیدا کرده و به شکل بالونی مشاهده گردید. پراکندگی پلاسماسل‌ها نیز در سه ماه اول آبستنی در مخاط و زیر مخاط بیشتر از ماههای دیگر آبستنی بود. بر فعالیت عروقی نیز با پیشرفت آبستنی افزوده شده و در ماههای آخر آبستنی زیر مخاط کاملاً پر عروق و پر خون مشاهده می‌گردد. رشته‌های الاستیک به صورت ظریف در همه لایه‌های بافتی مشاهده شدند ولی پراکندگی آنها در طبقه عضلانی نسبتاً بیشتر از طبقه مخاط و زیر مخاط بود. رشته‌های کلاژن نیز بلافاصله در زیر اپی‌تلیوم نسبتاً کم بوده و ظریف ولی به طرف زیر مخاط بر تراکم و ضخامت آنها افزوده شده و در طبقه عضلانی، فقط در بین دستجات عضلانی مشاهده شدند. نتیجه‌گیری: نتایج حاصله از مطالعه حاضر بیانگر وجود اختلاف بافت‌شناسی واژن گاو میش در ماههای مختلف آبستنی است که با بسیاری از نظرات و گزارشات به خصوص در مورد گوسفند توافقی و همخوانی دارد ولی با این وجود تهیه گسترشهای واژینال در تشخیص دقیق مراحل مختلف آبستنی در گاو میش مفید نمی‌باشد. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، (۱۳۸۱)، دوره ۵۷، شماره ۳، ۵۵-۶۰.

واژه‌های کلیدی: گاو میش، بافت‌شناسی واژن، آبستنی.

دیواره واژن در نشخوارکنندگان دارای سه لایه مخاط - زیر مخاط، عضلانی و سروزی یا ادوانتیس در بخش خلفی می‌باشد. ساختمان سلولی اپی‌تلیوم واژن از نوع سنگفرشی مطبق است که در مرحله فولیکولر به ضخامت آن افزوده می‌شود. همچنین فقط در گاو در قسمت قدامی واژن لایه‌ای از سلولهای استوانه‌ای و جامی شکل بر روی اپی‌تلیوم سنگفرشی مطبق وجود دارد (۴). تفاوت‌های گونه‌ای در تغییرات بافت‌شناسی واژن در طول چرخه استروس وجود دارد. این تفاوت‌ها احتمالاً منعکس کننده نسبت‌های مختلف ترشح استروژن و پروژسترون می‌باشد. با این وجود گسترشهای واژینال در تشخیص مراحل مختلف چرخه استروس یا موارد غیر طبیعی مفید نیستند (۸).

(۱) گروه آموزشی علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه - ایران.  
(۲) گروه آموزشی بافت‌شناسی علوم پایه دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه - ایران.



## مواد و روش کار

در مطالعه حاضر برای بررسی تغییرات مخاط واژن گاومیش در زمان غیر آبستنی و در ماههای مختلف آبستنی تعداد ۵۹ نمونه بافتی، ۴-۷ نمونه برای هر ماه آبستنی و تعداد ۵ نمونه غیر آبستن از گاومیشهای موجود در مرکز پرورش و اصلاح نژاد گاومیش شمال غرب کشور وابسته به جهاد کشاورزی استان آذربایجان غربی از طریق بیوپسی از دامهای زنده تهیه گردید. در مرکز فوق کلیه دامها تحت نظر دامپزشک بوده و تاریخچه تولید مثلی آنها به دقت ثبت و ضبط می گردید.

مدت زمان آبستنی در دامها با استفاده از تاریخچه و زمان آخرین فحلی و تلقیح مصنوعی حصول اطمینان از عدم برگشت مجدد به فحلی تشخیص و با انجام عمل لمس راست روده‌ای تأیید شد. جهت بیوپسی از واژن دامها ابتدا ناحیه رکتوم، فرج و پرینه دام با آب ولرم و ساون شستشو داده شده و بعد از انجام عمل لمس راست روده‌ای با دست چپ، گردن رحم گرفته شده و پنس بیوپسی ضد عفونی شده از طریق فرج به داخل واژن هدایت گردید و بعد از لمس آن در ابتدای گردن رحم، حدود ۵ سانتیمتر عقب کشیده شده و نمونه از محل جداره چپ واژن به اندازه حداکثر ۵ میلیمتر و به ضخامت کل جداره برداشته شد. نمونه‌های اخذ شده جهت ثبوت فوراً به داخل فرمالین ۱۰ درصد (BDH Chemicals ltd, Poole, England) انتقال یافتند.

در برخی از موارد خونریزیهای بسیار جزئی بعد از نمونه برداری در ناحیه واژن برخی از دامها مشاهده می شد که نیازی به درمان احساس نشده و دقایقی بعد خونریزی خود به خود قطع می شد ولی تا حصول اطمینان کامل از عدم بروز عفونت واژن و یا هر عارضه دیگر، دام چندین روز تحت کنترل قرار گرفت.

بعد از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه، آنها را داخل محلول فیکساتیو بیرون آورده شده و در سبدهای مخصوص به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در محلول ثبوتی فرمالین ۱۰ درصد به مقدار ۸۰-۵۰ برابر حجم نمونه قرار داده شدند. برای آگیری نمونه‌ها از محلولهای الکل اتیلیک با غلظتهای صعودی ۵۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰ و مطلق و برای شفاف کردن آنها از گزلیل و همچنین برای آغشتگی از پارافین با نقطه ذوب ۵۶.۵۸°C استفاده شد. بعد از قالبگیری و شماره گذاری بر قالبهای بافتی، نمونه‌ها به یخچال انتقال یافته و سپس مقاطع میکروسکوپی به ضخامت ۵-۷ میکرومتر با استفاده از دستگاه میکروتوم دوار ایجاد و سه لام از هر نمونه تهیه گردید. جهت رنگ آمیزی هماتوکسیلین، بعد از پارافین گیری، لامها در داخل الکل اتیلیک با غلظتهای نزولی و در هر کدام به مدت سه دقیقه قرار داده شدند و سپس از هماتوکسیلین برای رنگ آمیزی هسته با قرار دادن برشها در داخل آن به مدت ۲۰-۱۵ دقیقه استفاده شد و برای ثابت کردن رنگ، لامها به مدت یک دقیقه در محلول اسات یا کربنات لیتیم قرار گرفتند. برای رنگ آمیزی سیتوپلاسم نیز رنگ انوزین بر روی هر لامی به مدت ۴-۲ دقیقه ریخته شد و برای آگیری، لامها در محلول الکل اتیلیک با غلظت صعودی قرار داده شدند. سپس به منظور بالا بردن ضریب انکسار و شفاف نمودن بافتهای تهیه شده از گزلیل استفاده شد.

جهت مشاهده رشته‌های الاستیک از رنگ آمیزی ورهاف (Verhoeff) استفاده شد (۹). که در آن تمامی مراحل پارافین گیری و آبدی مثل رنگ آمیزی هماتوکسیلین - انوزین بوده و نمونه‌ها ابتدا با محلول ورهاف

نیز مشاهده می شود. در مرحله پرواستروس بتدریج سلولهای استوانه‌ای رشد می کنند و تعداد لایه‌های سلولی چند ضلعی زیرین تقلیل می یابد، به طوری که در اواخر پرواستروس فقط یک تا دو لایه از سلولهای اپی تلیال وجود دارد. همچنین لوکوسیتها در سراسر این دوره حضور دارند (۱۱).

در گوسفند در طول مرحله پرواستروس و استروس اپی تلیوم واژن تحت تأثیر هورمون استروژن واقع شده و بر ضخامت آن افزوده می شود (۴). که در اثر پرولیفراسیون سلولهای طبقه قاعده‌ای اپی تلیوم به طرف لایه زیرین استروما به وجود می آید (۶). در مرحله استروس اپی تلیوم واژن دارای ۱۵-۱۳ لایه سلولی است که سلولهای سطحی چند وجهی بوده و در طبقه بازال لایه‌ای از سلولهای بلند استوانه‌ای چند وجهی نیز مشاهده می شوند (۱۰). در طی مدت مت استروس سلولهای سطحی به سلولهای پهن یا استوانه‌ای کوتاه تغییر شکل می یابند (۱۱). در مرحله دی استروس، سلولهای اپی تلیال از حالت مسطح تا استوانه‌ای کوتاه تغییر شکل داده (۱۱) و از ضخامت اپی تلیوم نیز کاسته می شود (۷).

در گوسفند در مرحله دی استروس و آبستنی، ضخامت مخاط واژن کاهش می یابد (۶) و در روز ۳۰ آبستنی اپی تلیوم سنگفرشی مطبق مخاط با کاهش در تعداد لایه‌های سلولی به مکعبی مطبق تبدیل شده و از روز ۶۰-۹۰ آبستنی مخاط واژن اغلب از یک لایه سلولی استوانه‌ای شکل تشکیل یافته (۱۰) و با افزایش طول مدت آبستنی تعداد لایه‌های سلولی مخاط واژن کاهش یافته و نوع سلولها از سنگفرشی به مکعبی تغییر شکل می دهند (۲).

برخی از محققین با استفاده از تغییرات مخاط واژن گوسفند، روشی را جهت تشخیص آبستنی ارایه نمودند (۵). به طوری که با استفاده از این روش، بعضی بعد از روز ۵۰ آبستنی تا ۹۰ درصد (۱۲) و در تحقیقاتی دیگر بعد از روز ۴۰ آبستنی تا ۹۰ درصد و نیز در گزارشی بعد از روز ۸۰ آبستنی تا ۱۰۰ درصد، توانسته‌اند آبستنی را به طور دقیق تشخیص دهند (۱۴). البته برخی نیز گزارش کرده‌اند که تغییرات مخاط واژن گوسفند در دوران مختلف آبستنی در حدی نیست که بتوان دوران مختلف آبستنی را از هم تفکیک و یا آبستنی را با مرحله دی استروس و انستروس تشخیص داد (۶).

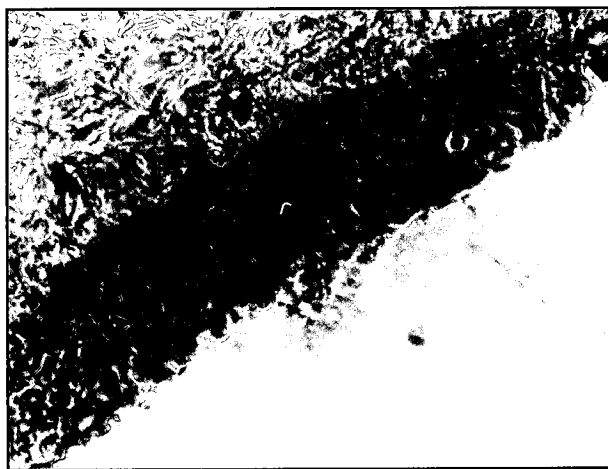
میزان پراکندگی کلاژن موجود در جداره واژن گوسفندان آبستن و غیر آبستن چندان متفاوت نمی باشد. مقدار آن در مراحل مختلف آبستنی در گوسفندان آبستن در ناحیه شکمی واژن بیشتر از ناحیه پشتی بوده در صورتی که در گوسفندان غیر آبستن مقدار آن در ناحیه پشتی واژن بیشتر از ناحیه شکمی می باشد. در گوسفندان آبستن میزان کلاژن موجود در جداره واژن در مراحل مختلف آبستنی یکسان بوده و تفاوت معنی داری مشاهده نمی شود. همچنین مقدار آن در مراحل مختلف آبستنی در ناحیه میانی شکمی واژن نسبتاً بیشتر از سایر نواحی واژن می باشد. پراکندگی کلاژن موجود در جداره واژن گوسفندان مبتلا به بیماری پرولاپس سرویکس و واژن بیشتر از گوسفندان سالم بوده که این امر ممکن است به علت بالا بودن میزان استروژن و یا واکنش التهابی واژن در گوسفندان مبتلا به بیماری فوق باشد (۳).

مطالنه حاضر با هدف بررسی تغییرات احتمالی بافت شناسی جداره واژن گاومیش در مراحل مختلف آبستنی جهت تفکیک و شناسایی دوران مختلف آبستنی از یکدیگر صورت گرفته است.





تصویر ۱- مقطع میکروسکوپی از مخاط واژن گاومیش در ماه پنجم آبستنی و حضور سلولهای ترشخی در سطحی ترین لایه، رنگ آمیزی H&E، درشت نمایی  $\times 400$ .



تصویر ۲- مقطع میکروسکوپی از مخاط واژن گاومیش در ماه دهم آبستنی و حضور سلولهای آبستنی، رنگ آمیزی H&E، درشت نمایی  $\times 400$ .

کرده و در اغلب نمونه‌ها، سلولها کم حجم بوده و دارای هسته کشیده و تاریک می‌باشند که این وضعیت در لایه‌های سطحی بیشتر مشاهده می‌شود. سلولهای سطحی اغلب به شکل سنگفرشی و یا مکعبی می‌باشند ولی سلولهای عمقی بیشتر چند وجهی هستند و تفاوت خاصی ما بین سلولها در ماههای مختلف آبستنی مشاهده نمی‌شود.

از ماه دوم آبستنی سلولهای ترشخی به شکل استوانه‌ای با سیتوپلاسم روشن در لایه‌های سلولهای مخاط و بخصوص در لایه سطحی مشاهده می‌شوند که با پیشرفت آبستنی بر تعداد آنها افزوده می‌شود به طوری که در ماه پنجم آبستنی سطحی‌ترین لایه سلولی اپی‌تلیوم مخاطی اغلب از نوع سلولهای ترشخی هستند (تصویر ۱) که در برخی از نقاط تجمع سلولهای فوق سبب ایجاد حالت غده‌ای در مخاط گردیده است. از ماه هفتم آبستنی از تعداد آنها در مخاط و بخصوص لایه سطحی کاسته شده و در ماه دهم آبستنی بندرت غده داخل اپی‌تلیالی دیده می‌شوند.

سلولهای آبستنی از ماه چهارم آبستنی به صورت سلولهای درشت و حجیم با پراکندگی نسبی در مخاط و همچنین در لایه سطحی دیده می‌شوند که با پیشرفت آبستنی بر تعداد آنها افزوده شده و در ماههای نهم و دهم آبستنی به تعداد بسیار زیاد و به صورت کاملاً مشخص به شکل بالونی در مخاط حضور دارند (تصویر ۲).

به مدت ۳۵-۱۵ دقیقه رنگ آمیزی شدند. در این نوع رنگ آمیزی نیز رشته‌های الاستیک و هسته، آبی سیاه تا سیاه کامل دیده شده و سیتوپلاسم و سلولهای عضلانی زرد رنگ و رشته‌های کلاژن به رنگ قرمز مشاهده می‌شوند.

برای رنگ آمیزی ماست سل ها نیز از رنگ آمیزی تولوئیدین بلو (Toluiden blue) استفاده شد (۹) که بعد از طی مراحل پارافین گیری و آبدهی مشابه رنگ آمیزیهای قبلی، نمونه‌ها با محلول ۱ درصد تولوئیدین بلو به مدت ۳-۴ دقیقه رنگ آمیزی شدند. در این رنگ آمیزی نیز اسید موکوپلی ساکارد و پلی‌ساکاریدهای سولفات‌ه‌ای محتوی دانه‌های ماست سل ها، بنفش مایل به قرمز و هسته آبی رنگ مشاهده می‌شوند و بقیه ساختمانها سایه‌هایی از آبی روشن را به خود می‌گیرند.

جهت مطالعه و بررسی رشته‌های کلاژن از دو روش پانتین (Pantin) و آهن وایگرت (Veigirts Iron) استفاده شد (۹). در روش پانتین، مقاطع بافتی پس از پارافین گیری در گزیل، ابتدا در مردانت (محلول کلرو مرکور اشباع همراه ۵ درصد اسید استیک) به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفتند. پس از شستشو با آب مقطر، به محلول رنگ آمیزی مالوری به مدت ۱۵ ثانیه انتقال یافته و پس از شستشوی مجدد در آب مقطر (۱۰ ثانیه)، در محلول فسفومولیدیک و سپس محلول مالوری II (۲ دقیقه) قرار گرفتند. در این رنگ آمیزی هسته‌ها قرمز، عناصر سیتوپلاسم و ماهیچه قرمز تا نارنجی، رشته‌های عصبی بنفش و رشته‌های کلاژن آبی تیره رنگ می‌گیرند.

در روش آهن وایگرت نیز مقاطع بافتی پس از طی مراحل پارافین زدایی و آبدهی، در محلول همانوکسیلین کلروفریک به مدت ۲۰ دقیقه، شستشو در آب جاری، تمایز در محلول اسید الکل ۱ درصد و رنگ آمیزی در محلول وان گیسون به مدت ۳-۵ دقیقه، رشته‌های کلاژن به رنگ قرمز مشاهده گردیدند. بعد از اتمام هر رنگ آمیزی با استفاده از چسب آنتلان لامل بر روی هر لام به طوری که هیچ گونه حباب هوایی در زیر آن وجود نداشته باشد، چسبانده شد. مقاطع بافتی بعد از رنگ آمیزیهای معمولی و اختصاصی با احتمال تغییرات در سلولهای مخاطی، فعالیت سلولهای ترشخی و سلولهای آبستنی در مخاط، پراکندگی فیبروبلاستی و عروقی در زیر مخاط و پراکندگی سلولهای ایمنی به خصوص پلاسماسل ها و ماست سل ها در مخاط و زیر مخاط، پراکندگی و تراکم رشته‌های الاستیک و رشته‌های کلاژن در بافت همبند مخاط و زیر مخاط و لایه عضلانی مورد مطالعه قرار گرفتند. کلیه داده‌ها و نتایج با استفاده از آزمون تجزیه واریانس یکطرفه و متعاقباً آزمون دانکن بررسی شدند.

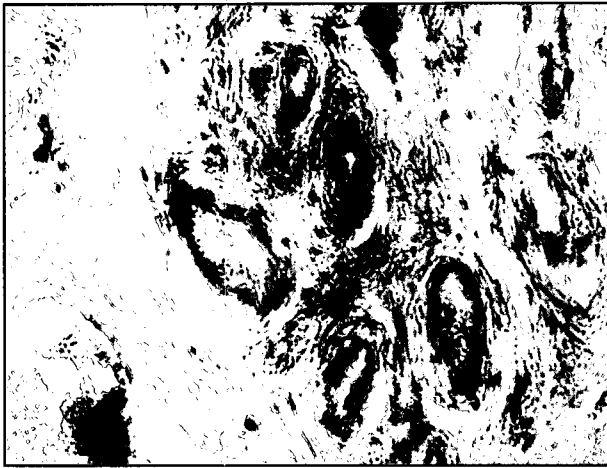
## نتایج

نتایج نشان می‌دهند که در گاومیشهای غیر آبستن مخاط واژن از سلولهای سنگفرشی یا مکعبی مطبق و بندرت سلولهای ترشخی و تعداد ۷-۸ لایه سلولی در آن مشاهده می‌شود. لکوسیت‌های بسیار کمی در حال عبور از مخاط می‌باشند که بر تعداد آنها در بافت همبند زیر مخاط افزوده شده و به صورت نسبی و پراکنده در زیر مخاط حضور دارند.

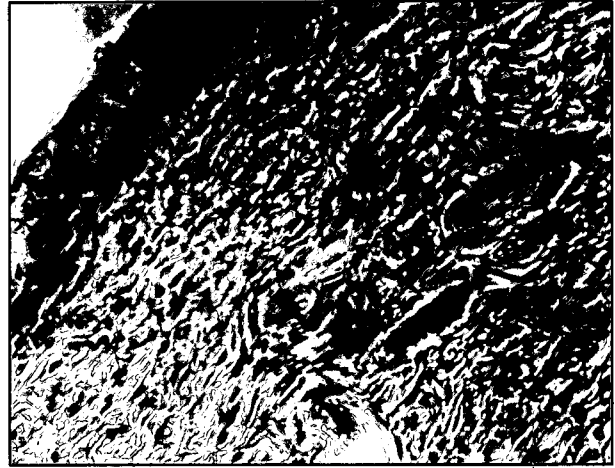
در دامهای آبستن زیر سه ماه، ضخامت مخاط حاوی ۷-۵ لایه سلولی بوده ولی در ماههای بعدی آبستنی تعداد آنها از ۵ لایه تجاوز نمی‌کند و براساس تست دانکن چنین اختلافی معنی دار نمی‌باشد. بررسی تعداد لایه‌های سلولی نشان می‌دهد که این تعداد بین دامهای غیر آبستن و آبستن سه ماهه و بالاتر اختلاف معنی دار بوده ( $P < 0.01$ ) ولی بین دامهای غیر آبستن و آبستن زیر سه ماه اختلاف معنی داری وجود ندارد.

سلولهای پوششی در طول دوره آبستنی از الگوی نسبتاً مشابهی پیروی





تصویر ۴- مقطع میکروسکوپی از مخاط واژن گاومیش در ماه نهم آبستنی و فعالیت عروقی وسیع، رنگ آمیزی H&E، درشت نمایی  $\times 400$ .



تصویر ۲- مقطع میکروسکوپی از مخاط واژن گاومیش در ماه هفتم آبستنی و حضور کم ماست سل ها، رنگ آمیزی تولوئیدین بلو، درشت نمایی  $\times 400$ .



تصویر ۶- مقطع میکروسکوپی از واژن گاومیش در ماه پنجم آبستنی و حضور رشته‌های کلاژن در طبقات متفاوت، رنگ آمیزی آهن و ایگرت، درشت نمایی  $\times 400$ .



تصویر ۵- مقطع میکروسکوپی از مخاط واژن گاومیش در ماه هشتم آبستنی و حضور رشته‌های الاستیک، رنگ آمیزی ورهاف، درشت نمایی  $\times 400$ .

افزوده شده و در ماه‌های آخر آبستنی کاملاً پر عروق، پر خون و ادماتوز مشاهده می‌گردد (تصویر ۴).

پراکندگی رشته‌های الاستیک در بافت همبند و زیر مخاط بسیار کم و ظریف می‌باشد و به صورت رشته‌های پراکنده و تیره رنگ در بین رشته‌های کلاژن (آبی رنگ) مشاهده می‌گردد. رشته‌های الاستیک در بین سلول‌های عضلانی صاف در طبقه عضلانی واژن نیز پراکنده و ظریف بوده و فراوانی نسبتاً بیشتری را نشان می‌دهد. این رشته‌ها در دیواره عروق خونی واقع در بین لایه‌های عضلانی صاف در طبقه عضلانی واژن بیشتر نمایان است (تصویر ۵).

تراکم رشته‌های کلاژن به رنگ آبی بلافاصله در زیر اپی تلیوم نسبتاً کم بوده و این رشته‌ها ظریف می‌باشند که در عمق پارین تراکم بیشتری را نشان می‌دهند. به طرف زیر مخاط دستجات رشته‌های کلاژن ضخیم و به هم بافته مشاهده می‌شوند که این حالت تا طبقه عضلانی ادامه می‌یابد. در طبقه عضلانی دستجات رشته‌های کلاژن تنها در بین دستجات عضلانی مشاهده می‌شوند (تصویر ۶).

پلاسماسل ها نیز از ماه اول آبستنی در بافت همبند پارین و زیر مخاط به طور نسبی دیده می‌شوند که بر تعداد آنها در ماه‌های دوم و سوم آبستنی افزوده شده و در ماه سوم آبستنی حتی به میزان زیاد و به صورت وسیع در لایه‌های سلول‌های اپی تلیال در مخاط نیز مشاهده می‌شوند. از ماه چهارم آبستنی به بعد از تعداد آنها کاسته شده و از ماه هشتم آبستنی تا زایمان بندرت دیده می‌شوند. از ماه ششم آبستنی به بعد پلاسماسل ها به طور چشمگیر در اطراف عروق خونی در عمق زیر مخاط حضور دارند که در اواخر آبستنی مجدداً از حضور آنها کاسته می‌شود. در ماه‌های آخر آبستنی علاوه بر پلاسماسل، تعدادی لنفوسیت و لکوسیت نیز بخصوص در اطراف عروق خونی در عمق بافت زیر مخاط مشاهده می‌شوند. همچنین ماست سل ها نیز با گرانول اندک به تعداد بسیار کم و پراکنده در بافت همبند مخاط و زیر مخاط حضور دارند (تصویر ۳).

فعالیت عروقی در زیر مخاط در ماه‌های اول آبستنی کمتر بوده و عروق خونی کمتری با وسعت کم در بافت همبند نزدیک مخاط دیده می‌شود ولی با پیشرفت آبستنی بر تعداد و وسعت آنها بخصوص در عمق زیر مخاط



## بحث

تعداد لایه‌های سلولی اپی‌تلیوم مخاط واژن گاو میش در سه ماه اول آبستنی در مقایسه با تعداد آنها در گاو میش‌های غیر آبستن کاهش یافته ولی اختلاف معنی‌داری ندارند در صورتی که این تعداد در ماه‌های بعدی آبستنی کاهش چشمگیری یافته است ( $P < 0.01$ ). کاهش تعداد لایه‌های سلولی اپی‌تلیوم در اثر روند افزایش غلظت پروژسترون و کاهش غلظت استروژن با پیشرفت آبستنی به وجود می‌آید. این امر سبب کاهش اثرات پرولیفراتیو استروژن بر روی واژن در دوران آبستنی می‌شود (۴). به طوری که کاهش تعداد لایه‌های سلولی اپی‌تلیوم در طول مرحله دی‌استروس نیز به علت کاهش میزان استروژن چشمگیر می‌باشد. کاهش تعداد لایه‌های سلولی با پیشرفت آبستنی در گوسفند نیز توسط بسیاری از محققین گزارش شده است (۲، ۱۲، ۱۳، ۱۴). بروز چنین حالتی در گاو میش شاید به علت افزایش ناگهانی غلظت پروژسترون و کاهش ناگهانی غلظت استروژن به خصوص در اوایل آبستنی و بروز اثرات آن بر روی لایه‌های سلولی مخاط واژن از ماه سوم آبستنی به بعد باشد.

حضور سلول‌های ترشحی در لایه سطحی اپی‌تلیوم واژن از ماه دوم آبستنی و افزایش آنها در ماه پنجم آبستنی و حضور سلول‌های آبستنی از ماه سوم آبستنی که با پیشرفت آبستنی بر تعداد آنها نیز افزوده می‌شود. در این مطالعه مشاهده شده است. چنین وضعیت مشابهی نیز توسط (۱۲) در گوسفند گزارش شده و این امر شاید به علت تأثیر پروژسترون به میزان زیاد در اواسط آبستنی باشد (۴). در ماه سوم آبستنی تعداد پلاسماسل‌ها در مخاط و زیر مخاط بسیار زیاد دیده می‌شوند که با پیشرفت آبستنی از تعداد آنها کاسته شده ولی بر تعداد لنفوسیت‌ها و لکوسیت‌ها بخصوص در اطراف عروق خونی در اواخر آبستنی افزوده می‌شود که به نظر می‌رسد که یکی از اثرات پروژسترون افزایش دفاع بافتی در مخاطات دستگاه تناسلی باشد و این امر با اظهارات Dellman و Eurrell کاملاً مطابقت دارد (۴).

کاهش فعالیت عروقی در زیر مخاط در اثر پایین آمدن ناگهانی میزان استروژن در اوایل آبستنی مشهود است ولی در اواخر آبستنی بخصوص ماه‌های نهم و دهم آبستنی، افزایش عروق خونی و ایجاد حالت پر خونی و ادماتوز در زیر مخاط قابل توجه است که ممکن است به علت افزایش میزان استروژن با نزدیک شدن به زمان زایمان به وجود آمده باشد.

تراکم رشته‌های کلاژن در طبقات متفاوت واژن در مراحل مختلف آبستنی تفاوت چشمگیری را نشان نمی‌دهد که مشابه وضعیت تراکم و درصد کلاژن در ماه‌های مختلف آبستنی در گوسفند می‌باشد (۳) و ممکن است علت آن عدم وجود اختلاف کافی در مقادیر هورمون‌های استروژن برای ایجاد اختلاف در تراکم کلاژن باشد.

اگر چه نتایج حاصله از مطالعه حاضر نشانگر وجود اختلافات بافت‌شناسی واژن گاو میش در ماه‌های مختلف آبستنی است و با نظرات و گزارشات بسیاری از محققین بخصوص در مورد بافت‌شناسی واژن میش توافق و همخوانی دارد ولی به نظر می‌رسد که مطالعه بیشتر با افزایش تعداد نمونه‌های مورد مطالعه و همچنین بخاطر تفاوت احتمالی بافت‌شناسی اپی‌تلیوم قسمت قدامی و خلفی واژن، بررسی مقایسه‌ای قسمت قدامی و خلفی آن در ماه‌های مختلف آبستنی و در طول چرخه استروس در جهت تکمیل مطالعه حاضر مفید و مؤثر واقع خواهد شد.

## تشکر و قدردانی

از زحمات و همکاری‌های صمیمانه مسئولین و کارکنان و کارگران محترم مرکز پرورش و اصلاح نژاد گاو میش شمال غرب کشور وابسته به جهاد کشاورزی استان آذربایجان غربی مخصوصاً آقای دکتر وحید شفیعی پور، دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه بخصوص آقایان طبیب‌زاده و کهربا در آماده سازی و انجام کارهای بافت‌شناسی تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

## References

1. Arthur, G. H., Noakes, D. E., Pearson, H. and Parkinson, T. J. (1996): Veterinary Reproduction and Obstetrics, 7<sup>th</sup> ed., W. B. Sanders, Philadelphia, PP: 5 - 97.
2. Ayen, E. (1996): Factors involved in the cause and pathogenesis of the cervico - vaginal prolapse in the ewe. PhD thesis, Royal Veterinary College, University of London, PP: 260 - 278.
3. Ayen, E., Noakes, D. E. (1998): Distribution of collagen in the vaginal wall of ewes, The Veterinary Journal, 155, 213-215.
4. Dellman, D. H. and Eurell, J. A. (1998): Textbook of Veterinary Histology, 5<sup>th</sup> ed. William and Wilkins Co. Philadelphia, PP: 257 - 264.
5. Doganeli, M. Z., Tanyolac, A., Alacum, E. (1979): Studies by vaginal smears and biopsy techniques during the different stages of pregnancy in the ewe. Veteriner Fakultesi Dergisi, Ankara Vniversity, 26: 177-183.
6. Ghannam, S. A. M. (1972): Examination of vaginal epithelium of the sheep and its use in pregnancy diagnosis. American Journal of Veterinary Research, 33: 1174 - 1186.
7. Ghannam, S. A. M., (1974): The epithelia of the anterior part of the vagina in the sheep, Journal of Egyptian Veterinary Medicine Association, 34: 113-12 .
8. Hafez, S. E., (2000): Reproduction in Farm Animals, 7<sup>th</sup> ed., Lea and Febiger, Philadelphia, PP: 21 - 215.
9. Humason, G., Animal tissue techniques. 4th Edn. W. H. Freeman and company, Sanfrancisco, PP: 26-80, (1979).
10. Miroud, K. (1987): Changes in the exfoliative cytology, histology and histochemistry of the ovine and bovine vaginal mucosa during the oestrus cycle, after ovariectomy and following exogenous steroid therapy, Mphil thesis, the Royal Veterinary College, University of London, PP: 130-145.
11. Miroud, K. and Noakes, D. E., (1991): Histological changes in the vaginal mucosa of the cow during the oestrus cycle, after ovariectomy and following exogenous oestradiol benzoate and progesterone treatment, British Veterinary Journal, 147: 469 - 477.



12. Mitchell, D. (1972): Vaginal biopsy as a method for diagnosis of pregnancy in the ewe. *Veterinary Record*, 91 (7): 161 - 164.
13. Radev, G, Thodorov, A. and Danow, D. (1990): Vaginal biopsy for diagnosis of pregnancy in sheep. *Zuchthyg, Fortifl - Storung, U. Besamung*, 4: 149 - 161.
14. Richardson, C. (1972): Diagnosis of pregnancy in the ewe by vaginal biopsy, *British Veterinary Journal*, 128: 316 - 332.

