

دانشکده علوم پایه

گروه زیست شناسی

گرایش سلولی تکوینی

بیان فاکتور رشد ترانسفورمینگ- $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) در مایع

آمنیوتیک در طی رشد و نمو جنینی

از:

سعیده دژآگاه ماسوله

استاد راهنما:

دکتر فرهاد مشایخی

اساتید مشاور:

دکتر ابراهیم میرزاجانی - دکتر علی نیک بی

شهریور ۱۳۸۹

تقدیم نامه

تقدیم به مادر بی نظیرم نجیبه الهیار که از او ایثار و فداکاری را آموختم.

و

تقدیم به همسر و بهترین دوستم افشین الکامی که به من عشق و محبت و ایستادگی را آموخت.

و

تقدیم به گلهای بهشت باغ زندگیم فاطیما و محمد پارسا که با وجودشان معنای زندگی در من به زیباترین شکل کامل شد.

بسمه تعالی

تشکر و قدردانی میکنم از استاد محترم، جناب آقای دکتر فرهاد مشایخی که همانند برادری دلسوز در کنار من بودند و با کمک و راهنمایی ایشان توانستم سختیهای این راه را آسانتر طی کنم. برای ایشان آرزوی سلامتی و موفقیت روز افزون در راه علمی شان دارم.

تقدیر و تشکر از استاد گرانقدر جناب دکتر ابراهیم میرزاجانی و جناب دکتر علی نیک پی که با تجربه و راهنمایی آنها توانستم این پژوهش را به انتها برسانم.

تشکر از سرکار خانم زیور صالحی که حضور گرم و راهنمایی ایشان برایم مایه دلگرمی بود.

فهرست مطالب

ر چکیده فارسی

ز چکیده انگلیسی

فصل اول: کلیات

۲ ۱- مقدمه

۲ ۱-۱) غشاهای جنینی

۳ ۱-۱-۱) کیسه زرده

۳ ۱-۱-۲) کوریون

۴ ۱-۱-۳) الانتویس

۴ ۱-۱-۴) پرده آمنیوتیک

۵ ۱-۲) منشا مایع آمنیوتیک

۸ ۱-۳) حجم مایع آمنیوتیک

۹ ۱-۳-۱) مسیر بین غشایی

۱۰ ۱-۳-۲) مسیر تراشامه ای

۱۰ ۱-۳-۳) آکوپورین ها

۱۱ ۱-۳-۴) ادرار

۱۱ ۱-۴) اعمال مایع آمنیوتیک

۱۲ ۱-۵) آمنیوسنتز

۱۲ ۱-۶) بیوشیمی مایع آمنیوتیک

۱۵ ۱-۷) پروتئینهای مایع آمنیوتیک

۲۱ ۱-۸) فاکتور رشد ترانس فورم کننده ($TGF-\beta$)

۲۱ ۱-۸-۱) ساختار ژنی

۲۲ ۱-۸-۲) ساختار $TGF-\beta$

۲۲ منابع TGF- β (۳-۸-۱)
۲۳ فاکتور های مربوطه (۴-۸-۱)
۲۴ تغییر شکل از فرم اپیتلیومی به فرم مزانشیمی (۵-۸-۱)
۲۴ تنظیم ماتریکس خارج سلول (۶-۸-۱)
۲۵ ژن TGF- β و بیان پروتئین در بافت جنینی و مادری (۷-۸-۱)
۲۶ بیان TGF-B و عملکرد آن در اندومتريوم و جفت (۸-۸-۱)
۲۷ TGF- β در میومتریوم انسان (۹-۸-۱)
۲۸ بیان TGF- β در جنین موش (۱۰-۸-۱)
۲۹ بیان TGF- β در طی تکوین اولیه جنین جوجه (۱۱-۸-۱)
۳۰ بیان m RNA رسپتور TGF- β در CNS (۱۲-۸-۱)
۳۱ نقش TGF- β در بیماریزایی (۱۳-۸-۱)
۳۱ هدف از تحقیق (۹-۱)

فصل دوم: مواد و روشها

۳۴ مواد لازم جهت تحقیق (۱-۲)
۳۴ مواد و دستگاههای مورد نیاز (۱-۱-۲)
۳۴ تهیه نمونه های مایع آمنیوتیک (۲-۲)
۳۵ سنجش غلظت کل پروتئینهای مایع آمنیوتیک با استفاده از روش برادفورد (۳-۲)
۳۵ آماده سازی معرف برادفورد (۱-۳-۲)
۳۵ آماده سازی غلظت های مختلف BSA (۲-۳-۲)
۳۶ مطالعه غلظت کمی پروتئین TGF- beta با استفاده از روش الیزا (۴-۲)
۳۶ نکاتی که در آزمایش الیزا باید مورد توجه قرار گیرد (۱-۴-۲)
۳۷ مقدمات آزمایش الیزا (۲-۴-۲)
۳۸ سایر موارد لازم (۳-۴-۲)

۳۸آماده سازی معرف ها (۴-۴-۲).....

۴۰روش انجام آزمایش (۵-۴-۲).....

فصل سوم: نتایج

۴۳مطالعه غلظت پروتئین کل در روزهای مختلف جنینی (۱-۳).....

۴۶اندازه گیری بیان نسبی فاکتور $TGF-\beta$ در روزهای مختلف جنینی با استفاده از تکنیک الایزا (۲-۳).....

فصل چهارم : بحث

۵۱پیشنهادات.....

۵۳منابع.....

فهرست شکل ها:

- ۱-۱) تصویر شماتیک از جنین جوجه در روز سوم انکوباسیون و موقعیت قرار گرفتن پرده های خارج جنینی ۶
- ۲-۱) موقعیت قرار گرفتن جنین جوجه E4 و پرده های خارج جنینی ۷
- ۳-۱) نحوه تشکیل مولکول TGF-beta بالغ و فعال ۲۲
- ۴-۱) سوپر فامیلی TGF-beta ۲۳
- ۵-۱) فرایند تغییر شکل سلولهای اپیتلیومی به سلولهای مزانشیمی ۲۴
- ۶-۱) ارتباط متقابل فاکتور رشد و ماتریکس خارج سلولی ۲۶
- ۷-۱) TGF-beta و بافت اندومتريوم ۲۷
- ۸-۱) عملکرد اعضای خانواده TGF-beta در ارتباط مادری-جنینی در طی حاملگی ۲۸
- ۱-۲) روش ساختن محلول استاندارد TGF-beta ۳۹
- ۱-۳) غلظت کلی پروتئین در مایع آمنیوتیک در روزهای مختلف جنینی ۴۴
- ۱-۱۱) میزان بیان فاکتور TGF-beta در مایع آمنیوتیک در طی تکوین جنین جوجه در روزهای ۶-۱۵ جنینی ۴۵

فهرست جدول

- ۱-۲) طرز فراهم کردن مقدمات آزمایش الایزا..... ۳۷
- ۱-۳) محاسبه جذب نمونه های BSA با غلظت های متفاوت..... ۴۳
- ۲-۳) میزان بیان نسبی فاکتورهای رشد ترانس فورم کننده - بتا در مایع آمنیوتیک در روزهای ۶ تا ۱۵ جنینی..... ۴۵

بیان فاکتور رشد ترانسفورمینگ- $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) در مایع آمنیوتیک در طی رشد و نمو جنینی

سعیده دژآگاه ماسوله

چکیده

مایع آمنیوتیک (AF) برای سلامت جنین حائز اهمیت است زیرا یک کیسه حمایت کننده گرداگرد جنین تشکیل میدهد که حاوی مواد مغذی و فاکتورهای رشد می باشد. اهمیت فاکتورهای رشد در رشد طبیعی جنین به اثبات رسیده است. در مایع آمنیوتیک انسان فاکتور رشد ترانس فرم کننده بتا-1 ($TGF-\beta 1$) وجود دارد و تصور میشود که در هنگام تکوین معده و لوله های تنفسی عمل کند. $TGF-\beta$ یک سایتوکین چندکاره است که در تنظیم تمایز، تشکیل ماتریکس خارج سلولی، القای مرگ سلولی برنامه ریزی شده، تشکیل استخوان، رگ زایی، تغییر اپیتلیو- مزانشیال و خون سازی در طی مراحل اولیه جنینی دخیل است. فاکتورهای رشد یا هورمونهای موجود در مایع آمنیوتیک، نه تنها میتوانند از طریق بلع مایع آمنیوتیک جذب شوند بلکه میتوانند از طریق شش نیز از سطح جنینی رگ دار جفت نفوذ کنند. هدف اصلی این مطالعه، بررسی غلظت کل پروتئین (TPC) و میزان سطح $TGF-B1$ طی تکوین جنینی جوجه بود. TPC همزمان با افزایش سن تغییر میابد. با استفاده از روش $Elisa$ معلوم شد که غلظت $TGF-B1$ در طی تکوین جنینی تغییر میکند. بنابراین نتیجه گیری میشود که $TGF-B1$ نه تنها عضو مهم در جنین زایی جوجه است بلکه به نظر میرسد تغییرات در TPC و بیان $TGF-B1$ در مایع آمنیوتیک در آزمایش ما ممکن است با شکل زایی اندامها در طی مراحل مختلف تکوین جنین مرتبط باشد.

کلیدواژه: $TGF-\beta 1$ ، مایع آمنیوتیک، جنین جوجه

Expression of TGF- β 1 in amniotic fluid during embryonic development.

Saeedeh dezhagah masuleh

Abstract

Amniotic fluid (AF) is important to fetal health because it forms a protective sac around the embryo that contains nutritional and growth factors. The importance of AF growth factors for normal fetal growth has been demonstrated. In the human, Transforming growth factor (TGF B1) are present in the AF and are thought to act in the development of the stomach and the respiratory tract. TGF-B1 is a multifunctional cytokine that involves in the regulatory of differentiation, extracellular matrix formation, induction of apoptosis, bone formation, angiogenesis during early embryonic development. Growth factors or hormones present in the AF can be taken up by the fetus not only by AF deglutition, but can also penetrate the lung by the vascularized fetal surface of the placenta. The original aim of this study was to study AF total protein concentration (TPC) and TGF-B1 levels during chick embryonic development. TPC changing with age, using ELISA, it was found that TGF-B1 concentrations changes during embryonic development. As TGF-B1 is important growth factor involving in embryonic development and growth factor in the AF can diffuse through the fetal skin and can be absorbed by the vascularized fetal surface of the placenta, thus changes in the AF growth factors concentration could influence development of the embryo. It is thus concluded that TGF-B1 is not only a constant component of the AF during chick embryogenesis, but also changes in TPC and experiment might be correlated with the morphogenesis of organs during different stages of embryonic development.

Keywords: TGF- β 1, Amniotic fluid, chick embryo

فصل اول

کلیات

ایجاد کیسه آمنیون یکی از مراحل مهم در طی تکامل جانوران ساکن خشکی است. کیسه آمنیوتیک حاوی مایع آمنیوتیک (Amniotic Fluid=AF) است که جنین را در بر گرفته است و حاوی آب و ترکیبات معدنی و مواد آلی نظیر پروتئین ها و فاکتورهای رشد میباشد. بررسی بیوشیمیایی مایع آمنیوتیک میتواند شاخص خوبی جهت بررسی سلامت جنین باشد زیرا تغییرات مولکولی و بیوشیمیایی مایع آمنیوتیک در جنین میتواند روی ترکیب بیوشیمیایی مایع آمنیوتیک تاثیر بگذارد. در این تحقیق به بررسی غلظت کل پروتئین و بیان فاکتور رشد ترانس فورم کننده بتا-1 ($TGF-\beta 1$) در مایع آمنیوتیک پرداخته شده است. به همین جهت در این بخش در خصوص کیسه آمنیون و نحوه ایجاد آن، مایع آمنیوتیک و ترکیب بیوشیمیایی آن و نقش $TGF-\beta 1$ در رشد و نمو جنین پرداخته میشود.

۱-۱) غشاهای جنینی

تخم آمنیون داران شامل ۴ پرده جنینی میباشد که شامل کیسه زرده، الانتوئیس، کوریون و آمنیون است.

کیسه زرده (yolk sac) نقش ذخیره ای دارد، الانتوئیس (allantois) که ذخیره مواد حاصل از متابولیسم جنین را برعهده دارد، کوریون (chorion) که در ارتباط متقابل با محیط خارج است و بطور انتخابی اجازه ورود مواد و رسیدن مواد به جنین را انجام میدهد و آمنیون (amnion) که شامل مایعی است که اطراف جنین قرار دارد. کوریون و الانتوئیس در مراحل بعدی رشد و نمو با یکدیگر ادغام میشوند و ساختمان جدیدی بنام کوریوالانتوئیک (chorioallantoic) را بوجود می آورد (Gilbert, 2003).

تخم آمنیون داران توسط پوسته ای (shell) روکش میشود که کار حفاظت جنین در مقابل حملات محیطی و خشک شدن را انجام میدهد و در عین حال اجازه انتشار اکسیژن بداخل تخم را میدهد. چهار پرده فوق با همکاری مزودرم و یکی دیگر از لایه های زاینده بوجود میاید. به مجموع اکتودرم و مزودرم جداری سوماتوپلورا گفته میشود که کوریون و آمنیون از سوماتوپلورا شکل میگیرند. اسپلانکوپلورا به مجموع مزودرم و آندودرم گفته میشود که الانتوئیس و کیسه زرده ای از آن منشا میگیرد (Gilbert, 2003).

۱-۱-۱) کیسه زرده

اولین غشای خارج جنینی است که تکوین میابد. کیسه زرده ای تا روز ۴ انکوباسیون توسط غشای زرده ای احاطه شده است. برخورد بافت جنینی با غشای ویتلن، ساختار آنها را تغییر میدهد و باعث تسهیل گسیختگی آنها میشود. در این زمان حجم کیسه زرده ای افزایش میابد. زرده شکل کروی خود را از دست میدهد و ساختار زرده و جنین با شکل تخم هماهنگ میشود. سیستم خونی اولیه در کیسه زرده ای در روز ۲-۳ انکوباسیون قابل مشاهده است. در این زمان رگهای زرده ای که خون را از قلب به سطح بلاستودرم حمل میکند آشکار است. در این زمان سیاهرگ در حاشیه بلاستودرم تشکیل میشود. خون از طریق مویرگهای سطحی به این سیاهرگ میرسد که خون قسمت بالا را به قسمت بالای سیاهرگ زرده ای میبرد و دوباره به قلب برمیگردد. کیسه زرده توانایی سنتز و ترشح پروتئینهای پلازما را دارد. این پروتئینها در انتقال مواد معدنی دخیل هستند. کیسه زرده تنها یک سد غیرفعال نیست بلکه دارای توانایی جذب مواد معدنی زرده و نگهداری آنها در یک دوره کوتاه و سپس آزاد کردن این مواد بدرون بافتهای جنین از طریق گردش ویتلن است. حرکت و جذب مواد معدنی ذخیره شده بوسیله کیسه زرده ای انجام میشود. این کیسه بعنوان انبار کوتاه مدت برای مواد معدنی انجام وظیفه میکند و مکان مهمی برای سنتز پروتئینهای پلازما است، از طرفی دارای توانایی تنظیم خروج این مواد معدنی به جنین در طی تکوین میباشد. چرخه مواد زرده ای باعث انتقال آنها به جنین میشود. کبد وظیفه جمع آوری مواد معدنی و توزیع آن به بافت جنین از طریق جریان خون را دارا است (Mark, 1997).

قبل از بیرون آمدن از تخم، کیسه زرده به داخل لوله گوارش میانی جنین وارد میشود و مقداری از زرده که در کیسه زرده باقی مانده است بعنوان منبع غذایی جوجه در طی روزهای اولیه بعد از خروج از تخم مورد استفاده قرار میگیرد. در جدار کیسه زرده، عروق خونی وسیعی ایجاد میشوند که قادرند مواد زرده ای را به جنین منتقل کنند (Gilbert, 2003).

۱-۱-۲) کوریون

از لایه خارجی سوماتوپلورا منشا میگیرد. رشد سریع محیطی سوماتوپلورا باعث میشود که کوریون به سمت ساک زرده ای پیش رود و در نهایت کیسه زرده ای و جنین و همه غشاها را در برمیگیرد. عملکرد مهم آن ارتباط متقابل با محیط خارجی

است این غشا در انتقال کلسیم از پوسته به جنین دخیل است و بطور انتخابی اجازه نفوذ و دریافت مواد به جنین میدهد. در گونه های تخم گذار عملکرد اصلی این غشا مبادله گاز های تنفسی است.

۱-۱-۳) آلانتوئیس

در روز سوم جنینی جوجه آلانتوئیس به صورت جوانه کوچکی از آندودرم دیوار شکمی لوله گوارش عقبی بوجود میآید بطوریکه در روز ۴ قابل مشاهده است. آلانتوئیس از آندودرم بوجود آمده و توسط مزودرم احشایی روکش میشود. بخش داخلی آن از آندودرم و بخش خارجی آن از مزودرم رگی است.

در واقع این غشا محل حرکت مواد دفعی به سمت پوسته است و دارای قابلیت انتقال آهن است. غشای کوریوالتوئیک دارای رگهای خونی فراوان است و بعنوان منبع ذخیره مواد دفعی نیتروژن دار عمل میکند. اسیداوریک که ماده سمی است توسط کوریوالتوئیک به اورات تبدیل میشود. اینکار از طریق ترکیب اسید اوریک با یونهای دوظرفیتی انجام میشود. اورات چون بصورت بلور است حجم آن کمتر است. انتقال کلسیم از پوسته به جنین برای تشکیل استخوان را نیز انجام میدهد Mark (1997).

۱-۱-۴) پرده آمیون

بعنوان یک سازش تکاملی بسیار مهم بوده به نحوی که آمیون میتواند آب مورد نیاز جنین را فراهم کند و لذا جنین های جانوران خشکی زی نیز کماکان در مایع فوق زنده میمانند و آمیون پرده ای دوجداره میباشد. جدار مزودرمی آن از سوماتوپلورای خارج جنینی و جدار خارجی آن از اپی بلاست مشتق میشود. این پرده با رشد جنین گسترش حاصل کرده و سطح جنینی را میپوشاند و بتدریج سلولهای جدار آن مایع آمنیوتیک ترشح میکنند که جنین در این مایع غوطه ورمیشود.

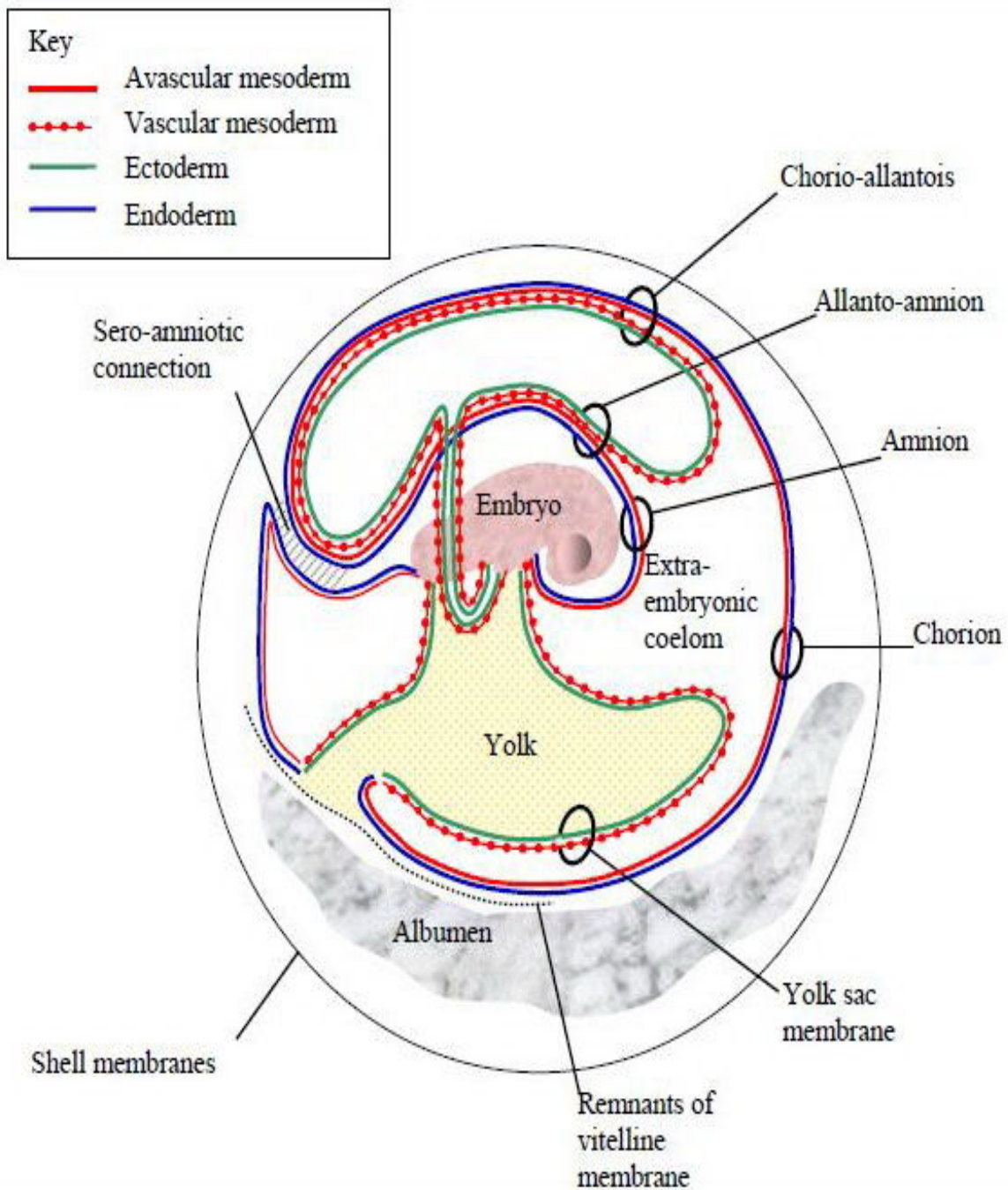
در جوجه سوماتوپلورای آمیون بخصوص در هفته اول نمو جنین با تشکیل الیاف عضلانی صاف و انجام حرکات ریتمیک انقباضی باعث حرکت جنین در مایع آمنیوتیک میشود. با متحرک شدن جنین، این انقباضات از بین میرود. حرکات جنین برای انتقال مواد ضروری است و باعث مرطوب نگاه داشتن سطح جنین میشود. آمیون با ترشح مایع آمنیوتیک سطح جنینی را تاروز از تخم در آمدن، مرطوب نگاه میدارد و مانع خشک شدن آن میشود (Gilbert, 2006). در جنین جوجه ابتدا در بخش قدامی یک منطقه فاقد مزودرم بنام پیش آمیون ایجاد میشود که در مراحل بعدی سطح جنین را روکش میکند. با ادامه رشد

پرده آمنیون، چینهای آمنیوتیک (Amniotic fold) تشکیل میشود. بعد از ۷۲ ساعت چین های آمنیوتیک جلویی و عقبی بایکدیگر ادغام میشوند و جنین را محاصره میکند و بخش کوچکی بنام شکاف حباب آمنیوتیک از چین باقی می ماند که بعداً بسته میشود. فضای بین جنین و آمنیون بنام حفره آمنیوتیک (Amniotic cavity) نامیده میشود. این فضا پر از مایع آمنیوتیک است (Wolpert, 1998).

لایه داخلی غشای آمنیوتیک از اکتودرم است و خارج آن مزودرم غیر رگی است. در لایه مزودرم جداری آمنیون سلولهای ماهیچه ای ظاهر میشود. بهمین خاطر آمنیون میتواند در روز پنجم منقبض شود. انقباض رشته عضلانی مانع چسبیدن جنین به پرده آمنیون میشود. رگهای خونی این غشا از اتحاد این مزودرم غیررگی با مزودرم رگی الانتوئیس تشکیل میشود (Glenn, 1998).

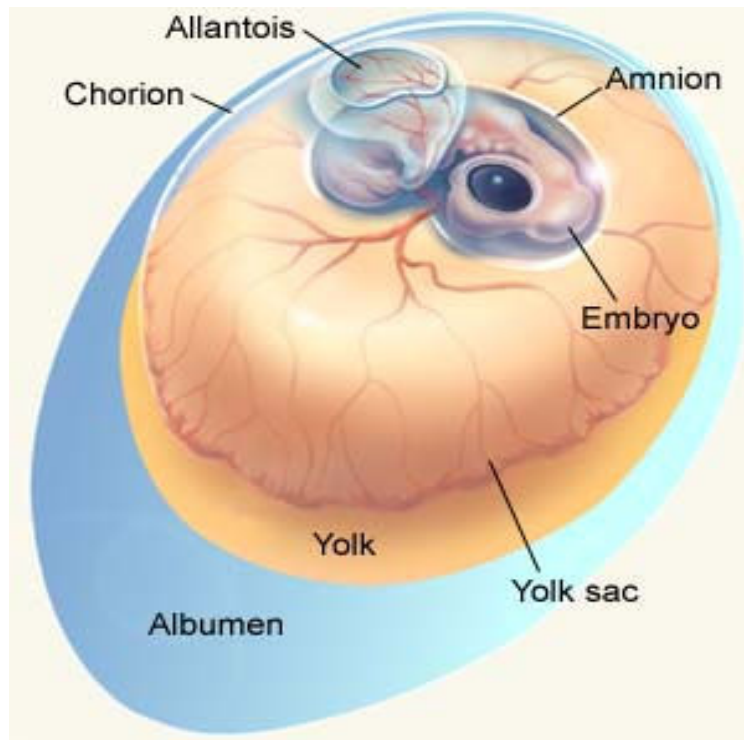
۱-۲) منشامایع آمنیوتیک:

مایع آمنیوتیکی حدود ۹۸ تا ۹۹٪ آن آب است. منشامایع آمنیوتیک جنین - مادر است. بخش جنینی آن از ترشحات اپیتلیوم آمنیون، ادرار و تراوش از گردش خون جنینی فراهم میشود. منشامادری این مایع از گردش خون مادر ایجاد میشود ولی قسمت اعظم مایع آمنیوتیک توسط جنین تولید میشود (Wilson, 2002). ترکیب شیمیایی درون این مایع با سن حاملگی تغییر میکند. در نیمه اول حاملگی مایع آمنیوتیکی از لحاظ بیوشیمیایی بسیار مشابه مایع خارج سلولی جنین انسان است. در نیمه دوم بارداری مایع آمنیوتیک تحت تاثیر کلیه ها قرار میگیرد. در اوایل بارداری مقدار قابل توجهی از مایع آمنیوتیک قبل از برقراری ادرار و بلع جنینی وجود دارد. محتمل ترین مکانیسم انتقال فعال مواد محلول بوسیله غشای آمنیوتیک بدرون کیسه آمنیوتیک و به دنبال آن حرکت آب بصورت غیرفعال بر اساس گرادیان شیمیایی است (Bacchi et al., 2004). ترشح ادرار و بلع مایع آمنیوتیک توسط جنین، دو پدیده اصلی برای تشکیل و تصفیه مایع آمنیوتیک است. ادرار جنین منبع اصلی مایع آمنیوتیک در نیمه دوم حاملگی است. ادرار ابتدا در هفته ۸-۱۱ حاملگی انسان وارد فضای آمنیوتیک میشود. (Bacchi et al., 2004) کیسه آمنیوتیک قبل از اینکه کلیه فعالیتهای خود را آغاز کند پر میشود. در سه ماهه اول حاملگی و اندکی قبل از اتحاد کامل آمنیون و کوریون، منشامایع آمنیوتیک از بافت همبند است.



شکل ۱-۱: تصویر شماتیک از جنین جوجه در روز سوم انکوباسیون و موقعیت قرار گرفتن پرده های خارج جنینی

(Baggot , 2001)



شکل ۱-۲: موقعیت قرار گرفتن جنین جوجه E4 و پرده های خارج جنینی (sinn,1998)

. در سه ماهه اول فرایند انتقال یون از طریق غشای آمنیون به سمت حفره آمنیوتیک و به دنبال آن جریان آب بر اثر گرادیان شیمیایی وجود دارد. مطالعات در جنین گوسفند در نزدیکی زایمان نشان داده است که جریان رو به خارج از شش ها به اندازه ۲۰۰-۴۰۰ میلی لیتر در روز وجود دارد و این جریان متناسب با ۱۰٪ وزن بدن است که بواسطه انتقال فعال کلر از میان لایه اپی تلیال به شش صورت میگیرد (Bacchi et al.,2004). تعادل در سیستم نیازمند و عملکرد منظم آناتومیکی کلیه و جریان خروج ادرار و بلع است. در پستانداران آب از طریق جفت از گردش خون مادر به مایع اضافه میشود، سپس بین اجزای بدن جنینی جفت و مایع آمنیوتیک گردش میکند. در سه ماهه دوم و سوم، کلیه جنین منبع اصلی برای تولید مایع آمنیوتیکی است (Beall et al.,2006). زمانیکه ادرار جنین شروع به وارد شدن به کیسه آمنیوتیکی میکند اسمولاریته پایین مایع آمنیوتیک، نیروی اسمولاریته بزرگی ایجاد میکند که منجر به جریان آب از طریق مسیر غشای تراشامه ای (transmembraneous) و داخل غشایی (Intramembraneous) میشود. این تغییرات در ترکیب بیوشیمیایی مایع آمنیوتیک منعکس میشود. به همین دلیل مطالعه ترکیبات مایع آمنیوتیک و تغییرات آن در هفته های مختلف حاملگی مطالب مفیدی را درباره فهم مراحل بلوغ و هم برای فهم پارامترهای عملکردی کلیه و نارسایی های جفتی فراهم میکند (Beall et al.,2006).

قسمتی از مایع آمنیوتیک ممکن است بوسیله حفره oral-nasal جنینی ترشح شود که در تنظیم حجم مایع آمنیوتیک نقش دارد. نهایتاً قسمتی از آب مایع آمنیوتیک ممکن است از انتقال آب بین پوست با قابلیت تراوایی بالا در نیمه اول حاملگی بدست آید سرانجام با کراتینه شدن پوست در هفته ۲۲-۲۵ این مسیر مسدود میشود. اینها مدارکی هستند که بیانگر اهمیت متابولیسم آب و انتقال ترانس اپی درمال آب در مرحله پیش بلوغی نوزاد است پس مایع آمنیوتیک یک استخر راکد نیست. (Bacchi et al., 2004).

۱-۳) حجم مایع آمنیوتیک:

میانگین حجم مایع آمنیوتیک در جنین انسان در حدود ۵۰۰ میلی لیتر است. در هفته دوم حجم آن به ۵۰ میلی لیتر، در هفته دوازدهم حدود ۸۰۰ میلی لیتر و در هفته ۳۲ حدود ۶۰۰ میلی لیتر میشود (Tuma et al., 2006). مایع آمنیوتیک دارای وزن مخصوص پایین حدود ۱/۰۰۸ و pH حدود ۷/۲ است. این مایع با سرعت نسبتاً زیادی در حال گردش مداوم است بطوریکه در جنین انسان در هر ساعت ۵۰۰ میلی لیتر از آن جایگزین میشود (Wilson, 2002).

سه ماهه دوم حجم اشغال شده توسط جنین در حدود حجم مایع آمنیوتیک است. به نظر نمیرسد که جنین توسط رحم محدود شود و در سرتاسر سه ماهه دوم و سوم حجم جنین در مقایسه با حجم مایع، افزایش می یابد و در اواخر حاملگی به نظر می رسد که حجم مایع آمنیوتیک در مقایسه با حجم جنین کوچک باشد (سالمه، ۱۳۸۷).

در جنین جوجه در نیمه دوره انکوباسیون حجم مایع آمنیوتیک به حداکثر میزان خود میرسد. نفوذ مقدار زیادی آلبومین بداخل کیسه آمنیوتیک مسئول این افزایش حجم و افزایش غلظت پروتئینها میباشد. این امر منجر به بالا رفتن ویسکوزیته مایع آمنیوتیک میشود. در انتهای دوره تکوین جنینی، بعلت بلعیدن حجم بالای مایع آمنیوتیک، کاهش سریع حجم مایع آمنیوتیک مشاهده میشود (Rommanoff and Hayward, 1970). در هفته ۳۰ میزان حجم مایع آمنیوتیک (Amniotic fluid volume = AFV) نصف حجم جنین است و در موقع زایمان ۱/۴ جنین است.

جنین در هر شبانه روز نزدیک به تولد حدود ۴۰۰ تا ۵۰۰ میلی لیتر از مایع آمنیوتیک را میلعد و این مقدار مساوی حجم شیری است که نوزاد تازه متولد شده مصرف میکند. در روزهای نزدیک به زایمان درون این مایع مقدار کمی کلسیم وجود دارد (Bacchi et al., 2004).

Kilpatriot گزارش کرده است که نوشیدن ۲ لیتر آب توسط یک زن که ایندکس مایع آمنیوتیک پایین دارد منجر به ۳۱٪ افزایش در شاخص مایع آمنیوتیک (Amniotic fluid index=AFI) میشود . (Beall et al.,2006). شاخص مایع آمنیوتیک توسط اندازه گیری در هر چهار ربع انجام میشود و بیشترین اندازه ای عمودی جلویی-عقبی باهم جمع خواهد شد. تا هفته ۲۸ در AFI افزایش پیش روندهای مشاهده میشود. بعد از آن AFI به آرامی کم خواهد شد. بعد از هفته ۳۰ حاملگی میزان AFI حدود ۱۰ تا ۲۴ سانتی متر کم میشود (Lee, 2006) .

مکانیسم اساسی بازجذب مایع آمنیوتیک، بلع توسط جنین است. مکانیسم ثانویه بازجذب مسیر intramembranous است که از آمینون به گردش خون جنین است که باعث حفظ حجم طبیعی مایع میشود. جریان آب از میان غشاهای بیولوژیکی توسط نیروهای هیدرواستاتیک و اسمزی صورت میگیرد. اطلاعات موجود پیشنهاد میکند که جریان بین غشایی در انسان از اختلاف اسمزی بین سرم جنین و مایع آمنیوتیک ناشی میشود. نیروی حاصل برای جریان جفتی بحث برانگیزتر است و به نظر میرسد توسط دو نیروی هیدرواستاتیک و اسمزی توامان صورت گیرد. بسته به نیاز جنین، جریان آب از میان جفت افزایش میابد (Beall et al., 2006). در جنین جوجه مایع آمنیوتیکی در روز ۱۳ انکوباسیون به حداکثر میزان خود میرسد. علت آن افزایش غلظت پروتئین ها خصوصا آلبومین است. این پروتئینها باعث افزایش ویسکوزیته مایع آمنیوتیک و دریافت آب بیشتر و در نتیجه افزایش حجم آب مایع آمنیوتیک میشود. نزدیک به زمان از تخم درآمدن، جوجه مقدار زیادی از مایع آمنیوتیک رامیببلعد و این امر به کاهش سریع حجم مایع منجر میشود (Glenn, 2001).

۱-۳-۱) مسیر داخل غشایی (Intramembraneous) :

در جنین پرندگان و احتمالاً انسان، انتقال مایعات بین گردش خون جنین و مایع آمنیوتیک وجود دارد. Brace Gilbert این مسیر احتمالی را معرفی کردند و خاطر نشان کردند که همه جذب مایع آمنیوتیکی توسط بلع نیست و قسمتی از بازجذب از طریق غشاهای رخ میدهد. بنابراین آنها نوعی زهکشی لمفاتیک بین آمینون و کوریون در نظر گرفتند. زهکشی مایع آمنیوتیک به سمت رگهای خونی جنین در سطح جنینی -جفت است.