



مطالعه هیستولوژی و هیستوشیمی کبد اسبچه خزر از نظر میزان گلیکوژن کبدی

• مسعود ادیب مرادی، بخش بافت شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران
• محمدرضا اسدی، گروه پرورش اسب مجتمع آموزش شهید زمانپور (جهاد کشاورزی استان تهران)

تاریخ دریافت: اسفند ماه ۱۳۸۳ تاریخ پذیرش: دی ماه ۱۳۸۴

Email: mmadib2000@yahoo.com

چکیده

به دلیل اهمیت اسبچه خزر خصوصاً با توجه به این مطلب که به عنوان نژاد ملی کشور محسوب می‌شود مطالعه‌ای بر روی کبد ۵ راس اسبچه خزر بالغ و سالم نر و ماده انجام گرفت. نمونه‌ها به روش معمول بافت شناسی تهیه و با روش هماتوکسیلین و آنوزین و روش P.A.S رنگ آمیزی گردیدند. مطالعه میکروسکوپی مقاطع تهیه شده در این بررسی نشان داد که کپسول کبد اسبچه خزر نسبتاً ضخیم می‌باشد. کپسول مزبور از دو لایه سروزی خارجی و فیبروزی داخلی تشکیل شده است که قسمت فیبروزی که از جنس بافت همبندی است بخش عمده‌ای از کپسول کبد را تشکیل می‌دهد. بافت پیوندی کپسول به صورت تریاکول‌هایی به درون پارانشیم کبد ادامه یافته و لوبول‌های کبدی را احاطه می‌کند. بافت پیوندی بین لوبولی در محیط لوبول‌ها ساختمان‌های عروقی مختلف مانند ورید باب، شریان کبد، مجرای صفراوی، عروق لنفاوی و اعصاب را در مناطقی به نام مناطق باب احاطه می‌کند. در هر لوبول سلول‌های کبدی به‌طور اشعه وار از مرکز لوبول که ورید مرکزی در آن قرار دارد به طرف محیط لوبول قرار گرفته‌اند. بین هیپاتوسیت‌ها سینوزوئیدهای کبدی قرار دارند که اغلب حاوی سلول‌های خونی بوده و به رنگ قرمز درآمده‌اند. علاوه بر سلول‌های کبدی، سلول‌های چربی فراوانی پارانشیم لوبول‌های کبدی را پر کرده‌اند و سلول‌های کوپفر نیز به صورت چند وجهی با رنگ تیره در پارانشیم کبد اسبچه خزر مشاهده می‌شوند. ذرات گلیکوژن به میزان زیاد در سلول‌های کبدی اطراف ورید مرکز لوبولی دیده می‌شوند که بتدریج از مرکز لوبول به طرف محیط لوبول و بافت پیوندی بین لوبولی از مقدار آنها کاسته می‌شود که این نکته بیانگر بالا بودن میزان ذخیره گلیکوژن در کبد اسبچه خزر در مقایسه با سایر نژادهای اسب و حیوانات اهلی می‌باشد. با توجه به مطالب فوق و نظر به اهمیت کبد در دستگاه گوارش و ارتباط نزدیک آن با سایر دستگاه‌های بدن و وظایف متعدد و پیچیده‌ای که این ارگان به عهده دارد، روشن شدن جزئیات بافت شناسی کبد اسبچه خزر و بررسی اختلافات احتمالی آن با کبد سایر حیوانات اهلی ضروری به نظر می‌رسد.

کلمات کلیدی: هیستولوژی، هیستوشیمی، کبد، اسبچه خزر، گلیکوژن

Pajouhesh & Sazandegi No:71 pp: 71-75

Histological and histochemical studies of liver of Caspian miniature horse from point of view of liver glycogen.

By: Adibmoradi; Assistant Professor Dept of Histology, Veterinary Faculty of Tehran University. M.R. Asadi. Academic Staff of Shahid Zamanpoor.

Regarding to the important of Caspian miniature horse this study was carried out on the microscopic structure of liver of five adult horses. Routin histological processes were used and stained by hematoxylin and eosin and P.A.S methods.

The liver is covered by a thin connective tissue capsule (Glisson's capsule). The basic structural component of the liver

is the liver cell, or hepatocyte. In this study classic liver lobules can be seen and lobules are separated from each other by a layer of connective tissue. In some regions the lobules are demarcated by connective tissue containing bile ducts, lymphatic nerve and blood vessels. These region the portal space are present at the corners of the lobules. Hepatocytes are polyhedral cells with vesicular nucleus and surrounded by an acidophilic cytoplasm containing glycogen and lipid inclusions. In addition liver sinusoid, kupffer cells and fat cells can be seen in this study. Presence of extreme particles of glycogen in hepatic cells of the caspian miniature horse which is probably correlated to greater level of hepatic glycogen which from this point is very important.

Key words: Histology, Histochemical, Liver, Caspian miniature horse.

نمودن حیوانات و باز کردن محوطه شکمی و بررسی مورفولوژیک کبد، از قسمت‌های مختلف کبد، قطعاتی به ابعاد یک سانتی متر جدا و به منظور ثابت شدن در فرمالین قرار گرفتند. نمونه‌ها پس از فیکسه شدن به دستگاه اتوتکنیکون جهت انجام مراحل پاساژ بافتی منتقل گردیدند. سپس نمونه‌های آماده شده توسط میکروتوم به ضخامت ۵ میکرون برش داده شده و به روش‌های هماتوکسیلین و اتوزین و P.A.S رنگ آمیزی گردیدند. سپس برش‌های رنگ آمیزی در زیر میکروسکوپ مورد مطالعه قرار گرفته و فتومیکروگراف‌هایی نیز از آنها تهیه شد (۷، ۸).

نتایج

ساختمان ماکروسکوپی کبد

کبد در اسبچه خزر به‌طور مورب در روی سطح شکمی دیافراگم و در طرف راست خط میانی بدن قرار دارد و دارای دو سطح و چهار لبه است. سطوح کبد شامل سطح‌های احشایی و جداری (دیافراگمی) است و لبه‌های کبدی عبارتند از لبه‌های پشتی، شکمی، راست و چپ. سطح جداری کبد محدب است و به صورت جلویی و پشتی قرار گرفته و با دیافراگم که در مجاورت آن قرار دارد متناسب است. سطح شکمی کبد مقعر است و به صورت عقبی و شکمی قرار می‌گیرد. لبه پشتی یا خلفی به طرف بالا و عقب قرار گرفته و ضخیم است، در حالی که لبه شکمی به طرف پایین و جلو قرار گرفته و نازک می‌باشد. کبد در اسبچه خزر توسط شکاف‌هایی به لب‌های جانبی راست، جانبی چپ و میانی تقسیم می‌شود.

ساختمان میکروسکوپی کبد

کبد در اسبچه خزر دارای کپسولی است که از دو قسمت تشکیل شده است، لایه سروزی خارجی که از پرده صفاق منشا گرفته و شامل یک لایه سلول تلیال می‌باشد. لایه فیبروزی داخلی که از بافت همبندی سخت نامنظم تشکیل شده و به نام کپسول گلیسون نامیده می‌شود. کپسول حاوی رشته‌های کلاژن، سلول‌های فیبروبلاست و سلول‌های

مقدمه

یکی از وظایف مهم کبد نگهداری غلظت طبیعی گلوکز خون است. به عبارت دیگر زمانی که میزان گلوکز خون بالا است، سلول‌های کبدی گلوکز را از خون گرفته و طی یک سری واکنش‌های آنزیمی آن را به گلیکوژن تبدیل می‌کنند. گلیکوژن یکی از اجزای مشخص موجود در سلول‌های کبدی است. این پلی ساکراید در میکروسکوپ الکترونیک به‌صورت گرانول‌های متراکم مشاهده می‌شود که عمدتاً در نزدیک شبکه اندوپلاسمیک صاف تجمع می‌یابند و بسیاری از آنزیم‌های درگیر در گلیکوژنز و گلیکوژنولیز در ماتریکس سیتوپلاسمی سلول‌های کبدی آزاد می‌شوند. از سویی دیگر اسبچه خزر که در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفته است واجد خصوصیات منحصر به فردی می‌باشد که مورد توجه عده زیادی از علاقمندان اسب در دنیا می‌باشد. این نژاد یکی از با ارزش‌ترین اسب‌های اصیل جهان بوده که پراکندگی آن از شهرستان بهشهر در نزدیکی دشت ترکمن تا حدود بندر انزلی در شمال غرب استان گیلان می‌باشد و برخلاف مدت کوتاهی که از شناسایی و معرفی آن به مردم جهان می‌گذرد مورد توجه زیاد دست اندرکاران و پژوهشگران قرار گرفته است. لذا با توجه به نقش بسیار مهم گلیکوژن در ثابت نگهداشتن گلوکز خون و همچنین اهمیت ترشحات کبدی در هضم روده‌ای، بررسی ساختار دقیق میکروسکوپی این عضو ضروری به نظر می‌رسد.

مواد و روش کار

به منظور انجام این بررسی تعداد ۵ راس اسبچه خزر بالغ و سالم نر و ماده از مراکز پرورش اسبچه خزر (به دلیل دارا بودن شجره‌نامه و تایید نژاد اسبچه خزر) تهیه و به منظور نمونه‌برداری به دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران انتقال یافتند. پس از معدوم

کبدی را پر کرده اند. این سلول‌ها به صورت واکنش‌های توخالی در رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین دیده می‌شوند که در بین هیپاتوسیت‌ها قرار گرفته‌اند. در رنگ آمیزی اختصاصی اسید پرپودیک - شیف (P.A.S)، گلیکوژن ذخیره در سلول‌های کبدی، پاس مثبت بوده و در این رنگ آمیزی به رنگ قرمز مشاهده می‌شوند (تصویر ۵).

بحث

گلیکوژن فرم ذخیره‌ای گلوکز است که در اکثر بافت‌های بدن وجود دارد ولی قسمت اعظم آن در کبد و عضلات مخط می‌باشد. زمانی که میزان گلوکز خون بالا است جذب گلوکز توسط کبد افزایش یافته و برعکس هنگامی که میزان گلوکز خون پایین است آزاد شدن گلوکز به داخل خون زیاد می‌شود. بنابراین کبد به عنوان یک نوع گلوکوستات عمل کرده که پی آمد آن ثابت نگهداشتن میزان گلوکز خون است.

بررسی حاضر نشان داد که کپسول پوششی کبد (کپسول گلیسون) به داخل پارانشیم کبد نفوذ کرده و آن را به لوبول‌هایی تقسیم کرده است. این لوبول‌ها بوسیله بافت همبند بین لوبولی از یکدیگر جدا می‌شوند. از نظر وجود بافت همبند بین لوبولی می‌توان کبد اسبچه خزر را مشابه کبد شتر و کبد خوک دانست (۶،۲،۱). تاکنون تنها خوک و شتر در میان حیوانات اهلی دارای بافت همبند بین لوبولی مشخص بوده‌اند. در سایر پستانداران از جمله انسان مرزی بین لوبول‌ها وجود نداشت و به نظر می‌رسد که پارانشیم کبد کاملاً به هم پیوسته و متصل است (۹).

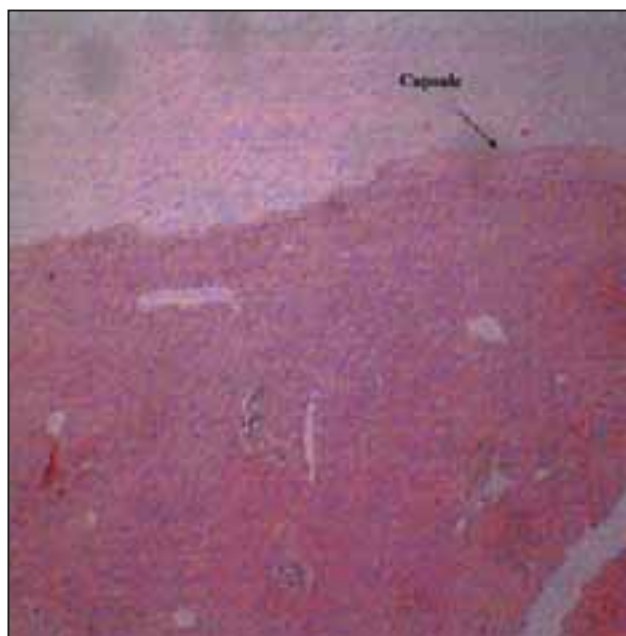
همان گونه که در تصویر ۵ مشاهده می‌شود، سلول‌های کبدی حاوی ذرات بی‌شمار گلیکوژن هستند. این ذرات عمدتاً در سلول‌های کبدی که اطراف ورید مرکزی قرار دارند دیده می‌شوند و به تدریج از مرکز لوبول به طرف محیط لوبول و بافت همبند بین لوبولی از مقدار آنها کاسته می‌شود. گلیکوژن یک پلی‌مر گلوکز است که در رنگ آمیزی P.A.S به رنگ قرمز دیده می‌شود (۸،۷). مقدار گلیکوژن موجود در کبد بستگی به جیره غذایی یا مراحل مختلف هضم دارد، بدین معنی که اگر جیره حاوی مقدار زیادی کربوهیدرات باشد، ذخیره گلیکوژن کبد به مراتب بیشتر از زمانی است که جیره چربی و پروتئین بیشتری نسبت به کربوهیدرات دارد. (۱۰،۴،۳) همچنین زمان نمونه گیری و فاصله آن با زمان تغذیه عامل مهمی در میزان گلیکوژن کبد و نیز جایگزینی آن در قسمت‌های مختلف لوبول‌ها می‌باشد.

مشخص گردید که در موش صحرایی دو ساعت بعد از تغذیه ذرات گلیکوژن در سراسر لوبول کبدی پخش می‌شوند، در حالی که شش ساعت بعد از تغذیه قسمت اعظم ذرات گلیکوژن در قسمت میانی و مرکزی لوبول تجمع می‌یابند. همزمان با افزایش گلیکوژن در ساعات بعدی تجمع ذرات گلیکوژن بیشتر در اطراف لوبول اتفاق می‌افتد. بیشترین ذخیره گلیکوژن در کبد حیوانات دوازده ساعت بعد از شروع تغذیه با میزان ۷/۵۲ درصد بوده است، از این ساعت به بعد و با عدم تغذیه مجدد گلیکوژن کبد بتدریج رو به کاهش گذاشته است به طوری که بعد از ۱۸ ساعت سلول‌های مناطق میانی و محیطی لوبول‌ها، گلیکوژن کمتری نسبت به سلول‌های مرکز لوبول و اطراف ورید مرکزی

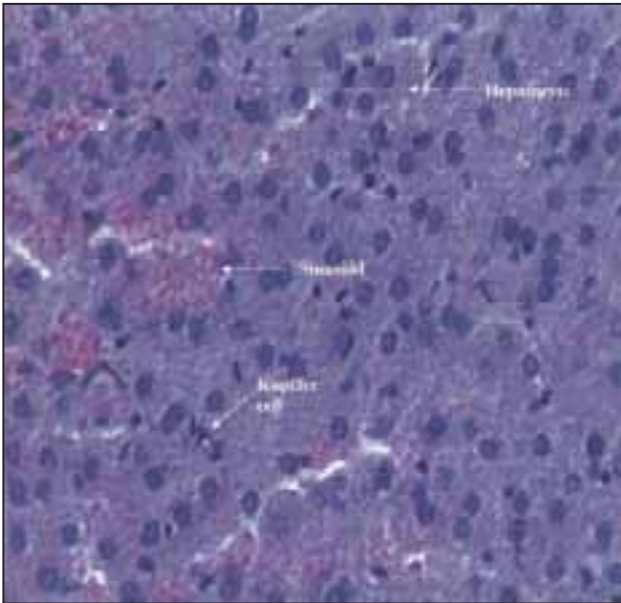
عضلانی صاف است. بافت پیوندی از کپسول به داخل فضاهای بین لوبولی ادامه یافته و سیستم عروقی و مجاری صفراوی را محافظت می‌کند. بافت همبند بین لوبولی از نوع بافت همبند سست بوده و مشخص کننده لوبول‌های کبدی است که واحد عملی کبد را تشکیل می‌دهند (تصاویر ۱ و ۲)

بافت همبند بین لوبولی در محیط لوبول‌ها ساختمان‌های عروقی مختلف مانند ورید باب، شریان کبد، مجرای صفراوی، عروق لنفاوی و اعصاب را در مناطقی به نام مناطق باب احاطه می‌کند (تصویر ۳). پارانشیم کبد از سلول‌های چند وجهی که به نام هیپاتوسیت نامیده می‌شوند تشکیل شده است. این سلول‌ها دارای یک هسته گرد مرکزی با یک یا تعداد بیشتری هسته مشخص است. هیپاتوسیت‌ها به صورت شعاعی در لوبول‌های کبدی قرار می‌گیرند. سلول‌های کبدی صفحاتی را می‌سازند که از محیط لوبول به مرکز آن هدایت می‌شوند. فضای بین این صفحات تشکیل مویرگ‌های سینوزوئیدی را می‌دهند که به نام سینوزوئیدهای کبدی نامیده می‌شوند که توسط یک ردیف سلول‌های اندوتلیال پوشیده شده اند و حاوی سلول‌های خونی هستند. هسته سلول‌های اندوتلیال سینوزوئیدهای کبد به صورت کشیده با رنگ تیره و هسته سلول‌های کوپفر به صورت چند وجهی با رنگ تیره در تمام پارانشیم کبد مشاهده می‌شود (تصویر ۴).

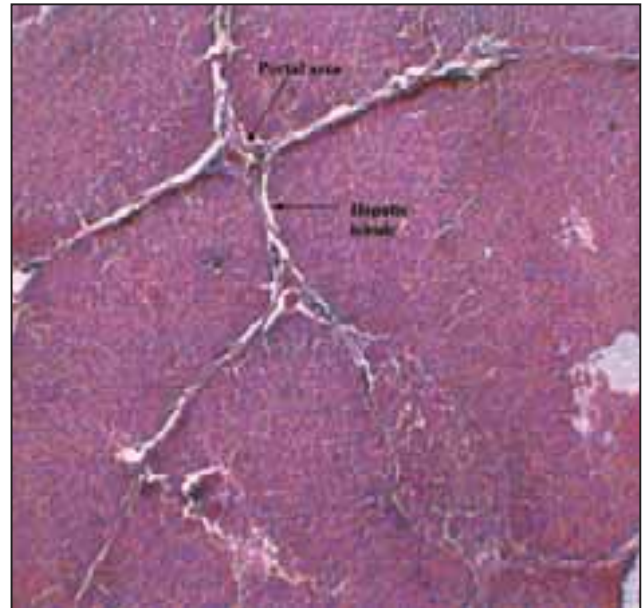
بررسی مقاطع میکروسکوپی تهیه شده همچنین نشان می‌دهد که علاوه بر هیپاتوسیت‌ها، سلول‌های چربی فراوانی پارانشیم لوبول‌های



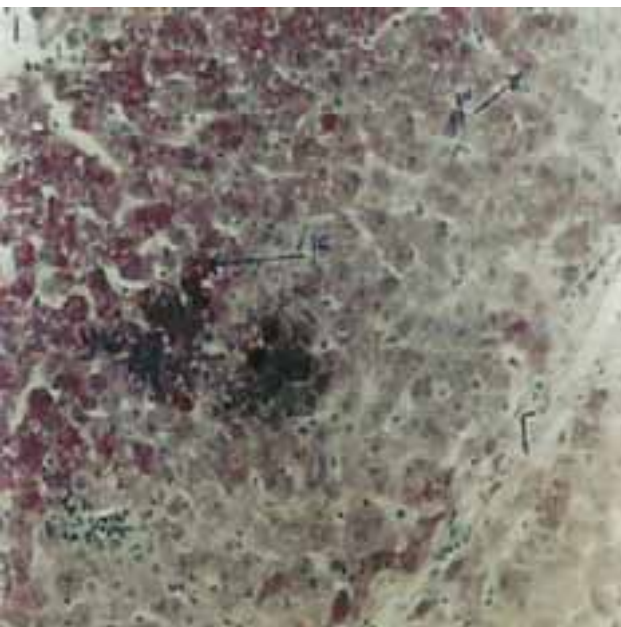
تصویر ۱- H&E X ۴۰



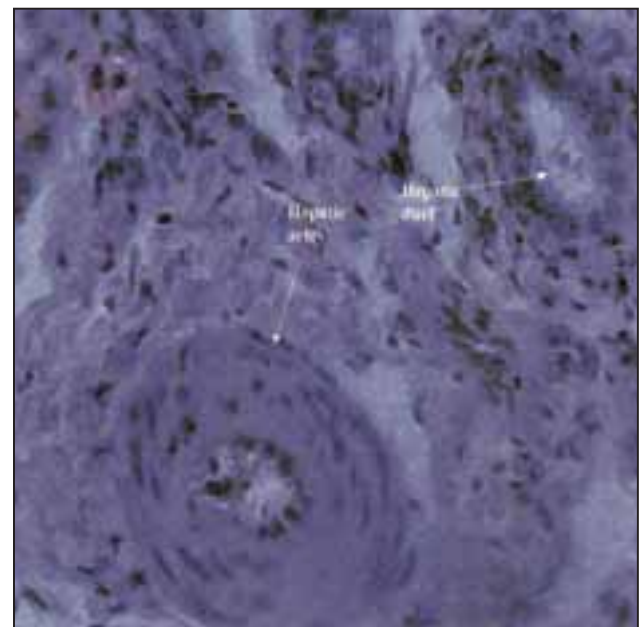
تصویر ۴- ۴۰۰ X H&E



تصویر ۲- ۴۰ X H&E



تصویر ۵- ۴۰۰ X P.A.S



تصویر ۳- ۱۰۰ X H&E

- 3- Barnard , E.A ، 1990; Comparative biochemistry and physiology of digestion. W.B. Saunders. Philadelphia. pp: 139-152.
- 4- Bobcock, M.B . and Cardell ، R.R .1998; Hepatic glycogen patterns in Fasted and Fed Rats. Amer . J . Anat . 176 : 299-338.
- 5- Bone , J.F. 1996; Animal anatomy and physiology. Reston publishing co.Inc.pp: 154-156.
- 6- Fahmy, M.F.A .1983; Anatomical study of the liver of the camel (*Camelus dromedarius*). The Hepatic veins. Acta Morphol. Neevl. Scand. pp: 221-228.
- 7- Clark, G. 1993; Staining procedures used by the biological stain commission. 5rd edition. The Williams and Wilkins Co , Baltimore, pp: 569- 573.
- 8- Luna , L.G and Ishak , K.G. 2001; A New stain for Bile canaliculi, Amer . J.Med. Techn. 52. 521 – 524.
- 9- Phillis ، J.W. 1983; Veterinary Physiology. Bristol , Wright – Scientecnica· pp: A55 –A58.
- 10- Vonnahme. F.J ، and Sauer. R.1996; Open fenestrations in the liver sinusoids of equine. Acta anat. pp: 157.

داشته‌اند(۵،۲).

بررسی حاضر وجود ذرات بیش از حد گلیکوژن در سلول‌های کبد اسبچه خزر به‌ویژه در اطراف وریدهای مرکزی در نمونه‌های مختلف را نشان می‌دهد که با توجه به مطالب فوق این نکته را احتمالاً می‌توان در ارتباط با فاصله زمانی بین آخرین تغذیه و کشتار حیوان دانست .
با توجه به گزارشات فوق و صرف نظر از اثر تغذیه و با توجه به نتایج بدست آمده در این بررسی و بکاربردن حداقل زمان‌های توصیه شده در رنگ آمیزی P.A.S چنین به نظر می‌رسد که میزان ذخیره گلیکوژن کبد اسبچه خزر احتمالاً بیشتر از بسیاری از حیوانات اهلی و مشابه شتر می‌باشد که در این رابطه باید شرایط خاص تغذیه‌ای و مقاومت نسبی حیوان در مقایسه با سایر تک‌سمی‌ها را نباید از نظر دور داشت که لزوم چنین مکانیسمی را اجتناب ناپذیر می‌سازد.

منابع مورد استفاده

- ۱ - پوستی ، ایرج ؛ ادیب مرادی ، مسعود. ۱۳۸۲ ؛ بافت شناسی مقایسه‌ای و هیستوتکنیک. چاپ پنجم ، انتشارات دانشگاه تهران. ص ۳۲۹- ۳۲۳
- 2- Andrew , W. and Hickman· C.p., 1986; Histology of the vertebrates, a comparative text. A.V Mosby co. st. lois pp : 275- 294.

