پژوهش و سازندگی
در امور دام و آبزیان
شماره ۷۱، تابستان ۱۳۸۵

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 ائوزین و روش P.A.S رنگ آمیزی گردیدند. مطالعه میکروسکوپیک 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 به‌صورت ترابکول‌هایی 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 گرفته اند. بین هپاتوسیت‌ها سینوزوئیدهای کبدی قرار دارند که اغلب حاوی سلول‌های خونی بوده و به رنگ قرمز در آمده‌اند. 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 persent 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 sinosoid , 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.

مقدمه

یکـی از وظایف مهم کبد نگهداری غلظـت طبیعی گلوکز خون اسـت. به عبـارت دیگر زمانـی که میـزان گلوکز خون بالا اسـت ، سلول‌های کبدی گلوکز را از خون گرفته و طی یک‌سری واکنش‌های آنزیمـی آن را بـه گلیکوژن تبدیل می‌کنند. گلیکـوژن یکی از اجزاء مشـخص موجود در سـلول‌های کبدی است. این پلی سـاکارید در میکروسـکوپ الکترونیـک به‌صـورت گرانول‌های متراکم مشـاهده می‌شـود که عمدتاً در نزدیک شـبکه اندوپلاسـمیک صـاف تجمع می‌یابند و بسـیاری از آنزیم‌های درگیر در گلیکوژنـز و گلیکوژنولیز در ماتریکس سیتوپلاسـمی سلول‌های کبدی آزاد می‌شوند. از سویی دیگر اسـبچه خزر که در این تحقیق مورد بررسـی قرار گرفته است واجد خصوصیات منحصر به‌فردی می‌باشد که مورد توجه عده زیادی از علاقمندان اسـب در دنیا می‌باشـد. این نژاد یکی از با ارزش‌ترین اسـب‌های اصیل جهان بوده که پراکندگی آن از شهرسـتان بهشهر در نزدیکی دشـت ترکمن تا حدود بندر انزلی در شـمال غرب استان گیلان می‌باشـد و برخـلاف مدت کوتاهی که از شناسـایی و معرفی آن بـه مردم جهان می‌گـذرد مورد توجه زیاد دسـت انـدرکاران و پژوهشگران قرار گرفته است. لذا با توجه به نقش بسیار مهم گلیکوژن در ثابت نگهداشـتن گلوکز خون و همچنین اهمیت ترشحات کبدی در هضم روده‌ای ، بررسـی سـاختار دقیق میکروسـکوپی این عضو ضروری به نظر می‌رسد.

مواد و روش کار

بـه منظور انجام این بررسـی تعداد ۵ راس اسـبچه خـزر بالغ و سـالم نـر و مـاده از مراکز پرورش اسـبچه خزر (به دلیـل دارا بودن شـجره‌نامه و تایید نژاد اسـبچه خزر) تهیه و به منظـور نمونه‌برداری به دانشـکده دامپزشـکی دانشـگاه تهران انتقال یافتند. پس از معدوم نمودن حیوانات و باز کردن محوطه شـکمی‌و بررسی مورفولوژیک کبد، از قسـمت‌های مختلف کبد، قطعاتی به ابعاد یک سـانتی متر جدا و به منظـور ثابت شـدن در فرمالین قـرار گرفتند. نمونه‌ها پس از فیکسـه شـدن به دسـتگاه اتوتکنیکون جهت انجام مراحل پاسـاژ بافتی منتقل گردیدند. سـپس نمونه‌های آماده شـده توسـط میکروتوم به ضخامت ۵ میکـرون برش داده شـده و به روش‌هـای هماتوکسـیلین و ائوزین و P.A.S رنـگ آمیزی گردیدند. سـپس برش‌هـای رنگ آمیزی در زیر میکروسـکوپ مـورد مطالعه قـرار گرفتـه و فتومیکروگراف‌هایی نیز از آنها تهیه شد (۸، ۷).

نتایج

ساختمان ماکروسکوپیک کبد

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

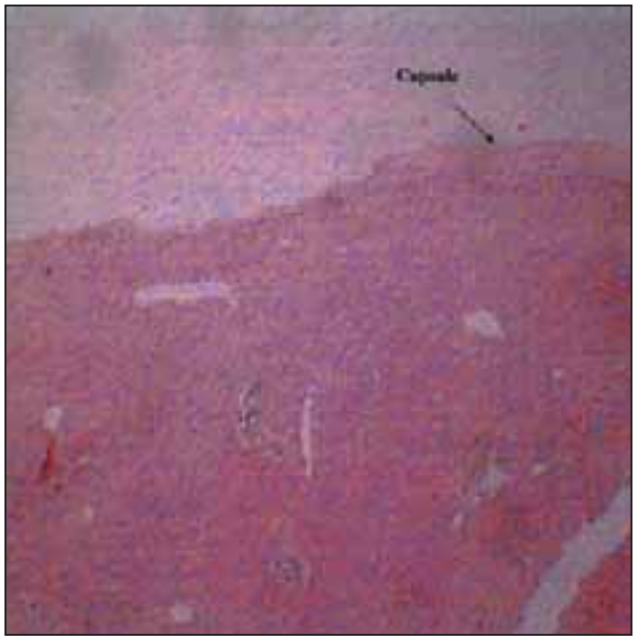
ساختمان میکروسکوپیک کبد

کبد در اسـبچه خزر دارای کپسولی اسـت که از دو قسمت تشکیل شـده است ، لایه سروزی خارجی که از پرده صفاق منشا گرفته و شامل یک لایه سـلول تلیال می‌باشد.لایه فیبروزی داخلی که از بافت همبندی سـخت نامنظم تشـکیل شده و به نام کپسول گلیسـون نامیده می‌شود. کپسـول حاوی رشته‌های کلاژن ، سـلول‌های فیبروبلاست و سلول‌های

عضلانـی صاف اسـت. بافت پیوندی از کپسـول به داخـل فضاهای بین لوبولـی ادامه یافته و سیسـتم عروقـی و مجاری صفـراوی را محافظت می‌کنـد. بافت همبندی بین لوبولی از نوع بافت همبندی سسـت بوده و مشـخص کننده لوبول‌های کبدی اسـت که واحد عملی کبد را تشکیل می‌دهند(تصاویر ۱ و ۲)

بافـت همبنـدی بین لوبولـی در محیـط لوبول‌ها سـاختمان‌های عروقی مختلف مانند ورید باب ، شـریان کبد ، مجرای صفراوی، عروق لنفـاوی و اعصـاب را در مناطقـی به نـام مناطق باب احاطـه می‌کند (تصویـر ۳). پارانشـیم کبـد از سـلول‌های چنـد وجهی کـه به نام هپاتوسـیت نامیده می‌شـوند تشکیل شده اسـت. این سلول‌ها دارای یک هسـته گرد مرکزی با یک یا تعداد بیشتری هستک مشخص است. هپاتوسـیت‌ها به صورت شـعاعی در لوبول‌های کبدی قـرار می‌گیرند. سـلول‌های کبدی صفحاتی را می‌سـازند که از محیـط لوبول به مرکز آن هدایت می‌شـوند. فضـای بین ایـن صفحات تشـکیل مویرگ‌های سـینوزوئیدی را می‌دهنـد کـه به نام سـینوزوئیدهای کبـدی نامیده می‌شـوند که توسـط یک ردیف سـلول‌های آندوتلیال پوشـیده شـده انـد و حاوی سـلول‌های خونی هسـتند. هسـته سـلول‌های اندوتلیال سـینوزوئیدهای کبد به صورت کشـیده با رنگ تیره و هسته سلول‌های کوپفـر به صـورت چند وجهی بـا رنگ تیـره در تمام پارانشـیم کبد مشاهده می‌شود(تصویر۴).

بررسـی مقاطع میکروسکوپی تهیه شده همچنین نشان می‌دهد که علاوه بر هپاتوسـیت‌ها ، سـلول‌های چربی فراوانی پارانشیم لوبول‌های کبـدی را پر کرده اند. این سـلول‌ها بـه صورت واکوئل‌هـای توخالی در رنـگ آمیـزی هماتوکسـیلین و ائوزین دیده می‌شـوند که در بین هپاتوسـیت‌ها قرار گرفته‌اند. در رنگ آمیزی اختصاصی اسید پریودیک – شـیف (P.A.S) ، گلیکوژن ذخیره در سلول‌های کبدی، پاس مثبت بوده و در این رنگ آمیزی به رنگ قرمز مشـاهده می‌شـوند(تصویر۵).



تصویر ۱- H&E X ۴۰

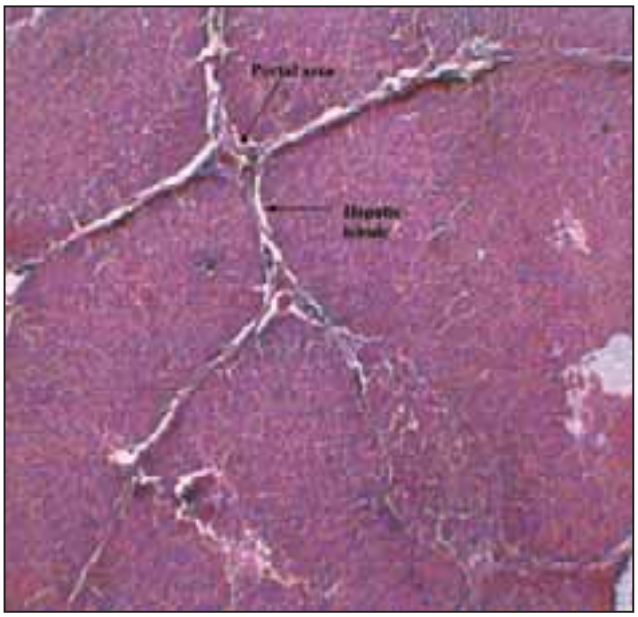
بحث

گلیکوژن فرم ذخیره‌ای گلوگز اسـت کـه در اکثر بافت‌های بدن وجود دارد ولی قسـمت اعظم آن در کبد و عضلات مخطط می‌باشـد. زمانی که میزان گلوکز خون بالا است جذب گلوکز توسط کبد افزایش یافته و برعکس هنگامی‌که میزان گلوکز خون پایین اسـت آزادشـدن 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.

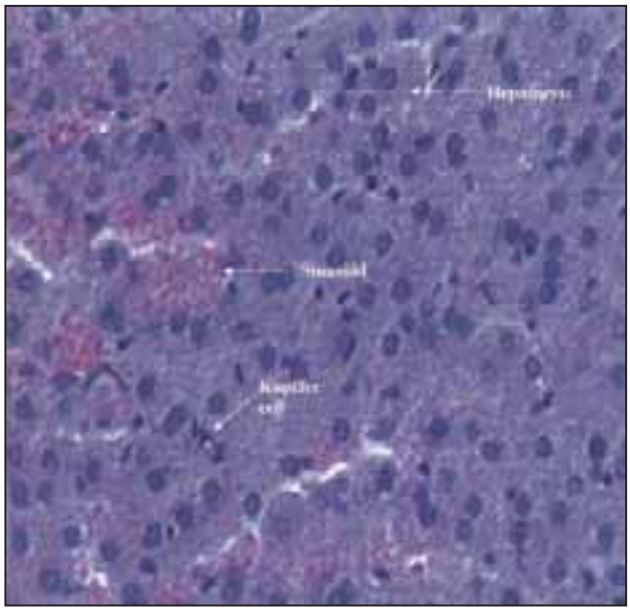
بررسی حاضر نشان داد که کپسول پوششی کبد (کپسول گلیسون) بـه داخل پارانشـیم کبد نفوذ کرده و آن را به لوبول‌هایی تقسـیم کرده اسـت. این لوبول ها بوسـیله بافـت همبند بین لوبولـی از یکدیگر جدا می‌شـوند. از نظر وجود بافت همبندی بین لوبولی می‌توان کبد اسـبچه خزر را مشـابه کبد شتر و کبد خوک دانست(۶،۲،۱). تاکنون تنها خوک و شـتر در میان حیوانات اهلی دارای بافت همبندی بین لوبولی مشخص بوده‌اند. در سـایر پستانداران از جمله انسـان مرزی بین لوبول ها وجود نداشـت و به نظر می‌رسد که پارانشیم کبد کاملاً به هم پیوسته و متصل است(۹).

همان گونه که در تصویر ۵ مشـاهده می‌شـود ، سـلول‌های کبدی حاوی ذرات بی شـمار گلیکوژن هستند. این ذرات عمدتاً در سلول‌های کبـدی که اطـراف ورید مرکزی قرار دارند دیده می‌شـوند و به تدریج از مرکـز لوبول به طـرف محیط لوبول و بافت همبنـدی بین لوبولی از مقدار آنها کاسـته می‌شـود. گلیکوژن یک پلی مر گلوکز اسـت که در رنگ آمیزی P.A.S به رنگ قرمز دیده می‌شـود(۸،۷). مقدار گلیکوژن موجـود در کبد بسـتگی به جیره غذایی یا مراحـل مختلف هضم دارد ، بدیـن معنی که اگر جیـره حاوی مقدار زیادی کربوهیدرات باشـد ، ذخیـره گلیکوژن کبد به مراتب بیشـتر از زمانی اسـت که جیره چربی و پروتیین بیشـتری نسـبت به کربوهیدرات دارد. (۱۰،۴،۳) همچنین زمـان نمونه گیـری و فاصله آن با زمان تغذیه عامـل مهمی در میزان گلیکـوژن کبـد و نیـز جایگزینی آن در قسـمت‌های مختلـف لوبول‌ها می‌باشد.

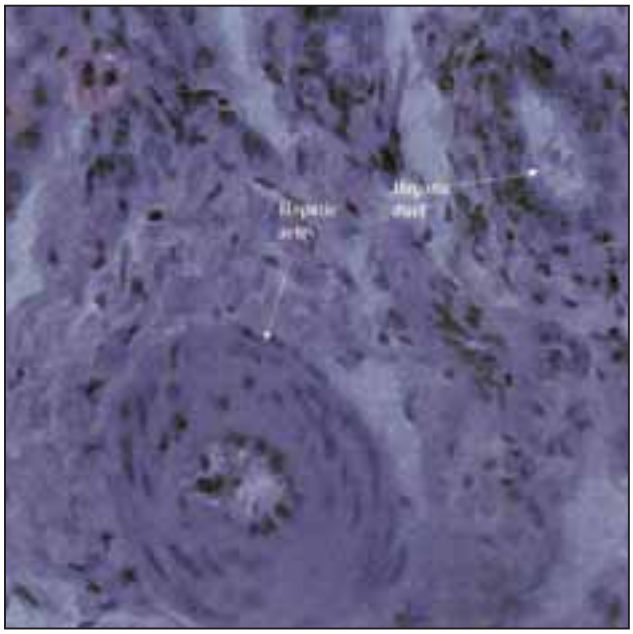
مشـخص گردید که در موش صحرایی دو ساعت بعد از تغذیه ذرات گلیکوژن در سراسـر لوبول کبدی پخش می‌شـوند ، در حالی که شـش سـاعت بعد از تغذیه قسـمت اعظم ذرات گلیکوژن در قسـمت میانی و مرکزی لوبـول تجمع می‌یابند. همزمان با افزایش گلیکوژن در سـاعات بعـدی تجمـع ذرات گلیکوژن بیشـتر در اطراف لوبول اتفـاق می‌افتد. بیشـترین ذخیره گلیکوژن در کبد حیوانات دوازده سـاعت بعد از شروع تغذیه با میزان ۷/۵۲ درصد بوده اسـت ، از این سـاعت به بعد و با عدم تغذیه مجدد گلیکوژن کبد بتدریج رو به کاهش گذاشـته است به طوری که بعد از ۱۸ سـاعت سـلول‌های مناطـق میانی و محیطـی لوبول‌ها ، گلیکوژن کمتری نسـبت به سلول‌های مرکز لوبول و اطراف ورید مرکزی



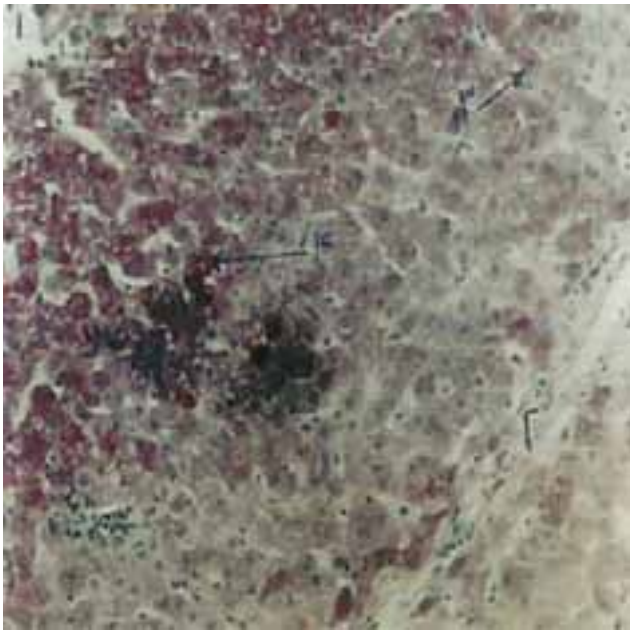
تصویر ۲- H&E X ۴۰



تصویر ۴- H&E X ۴۰۰



تصویر ۳- H&E X ۱۰۰



تصویر ۵- P.A.S × ۴۰۰

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 احتمالا 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 تک سمی‌ها 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 مقایسه ای 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.

3- Barnard , E.A ، 1990; Camparative 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.1nc.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 – Scientechnica، pp: A55 –A58.

10- Vonnahame. F.J ، and Sauer. R.1996; Open fenestrations in the liver sinusoids of equine. Acta anat. pp: 157.