مطالعه بافت‌شناسی و هیستومورفومتری برخی اندام‌های لنفاوی کبک چوکار ۲۰ روزه

سمیه حامدی*[۱]، امیرسالار زندی[۲]

چکیده

با توجه به نقش مهم اندام‌های لنفاوی در حفظ سلامت پرندگان و نیز عدم آگاهی از ویژگی‌های بافت‌های لنفاوی کبک به عنوان یک گونه پرورشی مهم در کشور، مطالعه حاضر به ارزیابی بافت‌شناسی اندام‌های لنفاوی کبک چوکار می‌پردازد. از تیموس، بورس فابریسیوس، طحال، لوزه سکومی و لوزه پیلور ۳۰ عدد کبک چوکار نر۲۰ روزه نمونه‌گیری انجام شد. پس از فیکس شدن و طی مراحل معمول بافت‌شناسی برش‌ها به روش هماتوکسیلین ائوزین رنگ‌آمیزی شده و با میکروسکوپ نوری مورد مطالعه بافت‌شناسی و هیستومورفومتریک قرار گرفتند. طبق نتایج بدست آمده ساختار لوزه سکومی متشکل از واحدهای فولیکولی و شیار مرکزی با نام فوسولا بود که میانگین طول ۱/۱٤±۰,۱۱ و عرض ۰/۳۱±۰/۰٦ میلی‌متر را داشت. بورس فابریسیوس حاوی چین‌های مخاطی پلیکا با طول ۲/۹۹±۰/۳۰ میلی‌متر، و دارای تعداد زیادی فولیکول لنفاوی با قطر ۰/٤۹±۰/۰۲ میلی‌متردر پارین بود. تیموس توسط بافت همبند به لبول‌های ناقصی با قطر ۰/٦۰±۰/۰۷ میلی‌متر تقسیم شده بود. در طحال نیز پالپ قرمز در حد فاصل پالپ سفید قرار داشت که ضخامت پالپ سفید ۰/۲۰±۰/۰ میلی‌متر بود. فولیکول‌های زیر مخاطی لوزه پیلور در تمام مجرا با قطر ۰/۲٤±۰/۰٤ میلی‌متر مشاهده گردید. این مطالعه نشان داد اندام‌های لنفاوی کبک چوکار از نظر بافت‌شناسی مشابه و در عین حال گسترده‌تر از اندام‌های لنفاوی جوجه‌های گوشتی می‌باشد که همین می‌تواند دلیلی بر ایمنی بالای این پرنده باشد.

واژگان کلیدی: *کبک چوکار، بافت‌شناسی، هیستومورفومتری، اندام‌های لنفاوی*

تاریخ دریافت: ۱۳۹٦/۹/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹٦/۱۲/۱۹

مقدمه

کبک پرنده‌ای غیرمهاجر از خانواده Phasianidae و با سایز متوسط بین قرقاول‌های بزرگ و بلدرچین‌های کوچک می‌باشد. از دیرباز در بسیاری از کشورها پرورش و نگهداری پرندگانی از قبیل قرقاول، بوقلمون و کبک، علاوه بر پرورش مرغ جهت تامین گوشت مصرفی انسان به ویژه جهت سلیقه‌های خاص متداول بوده است. در پاره ای از کشورها نیز پرورش متراکم تعدادی از پرندگان وحشی نظیر کبک متداول شده است اخیرا در ایران صنعت تولید و تکثیر و پرورش کبک آغاز شده و در حال حاضر مزارعی در استان های فارس، کرمان، سمنان، گلستان و اصفهان به این فعالیت مشغول می‌باشند(۱).

دستگاه لنفاوی طیور منحصر به فرد بوده و از نظر عملکرد و مورفولوژی به دو جز تقسیم می‌شوند: اندام‌های لنفاوی مرکزی (تیموس و بورس فابریسیوس) و محیطی (طحال و بافت‌های لنفاوی مخاطی). بورس فابریسیوس یک عضو لنفواپیتلیال و مخصوص پرندگان بوده در ناحیه پشتی کلواک نزدیک محل اتصال آن به رکتوم (پروکتودئوم) قرار دارد. سطح داخلی بورس از چین یا پلیکا تشکیل شده و هر پلیکا از تعداد زیادی فولیکول لنفاوی تشکیل گردیده است(۷و٤،۵،٦). تیموس در پرندگان به صورت لوب‌های مجزا با کپسول ظریفی است که آن را به لوبول‌های ناکاملی تقسیم می کند. تیموس از لنفوسیت‌های کوچکی تشکیل یافته که سبب ایجاد ایمنی سلولی شده، در حالیکه بورس فابریسیوس دارای لنفوسیت‌های بزرگتری بوده که در بافت به پلاسماسل تبدیل شده و نقش مهمی در ایمنی خونی دارند(۱۳و۱۲،۹). طحال عضوی دایره‌ای تا بیضی شکل است که نسبت وزن آن به وزن بدن در پرندگان کمتر از پستانداران است. ترابکول در طحال کبوتر و غاز همانند جوجه‌ها خیلی توسعه یافته نیست و پولپ قرمز و سفید به سختی از هم قابل تفکیک هستند(۱۰و۷). مخاط ابتدای سکوم یک بخش آن حاوی لوزه (لوزه سکومی) و دارای کرک‌های

*۱- گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران (sahar_hamedi@yahoo.com)

۲- گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی،مازندران، ایران

کوتاه یا تحلیل رفته است و بخش مقابل آن دارای‌کرک‌های بلند شبیه به روده باریک است(۱۸و۱۵). لوزه پیلور یک عضو لنفواپیتلیوم محیطی در لوله گوارش طیور می‌باشد که به تازگی شناسایی شده است. لوزه پیلور در پستاندان دیده نمی‌شود. این عضو یک حلقه لنفاوی کامل را در ابتدای دوازدهه ساخته، در صورتیکه لوزه سکومی فقط در سمت آنتی مزانتریک ابتدای سکوم دیده می‌شود (۱٦).

نقش مهم بافت لنفاوی در مقابل میکروارگانیسم‌ها بر کسی پوشیده نیست. همچنین درک فیزیولوژی و ایمنی‌شناسی اندام‌های لنفاوی بدون شناخت ساختار پایه‌ای آنها ناقص می‌باشد. از این رو با توجه به جایگاه خاص پرورش کبک در صنعت پرورش طیور و تقاضای رو به افزون مصرف گوشت و اقتصادی بودن تولید آن و پیش‌بینی توسعه بیشتر این صنعت در آینده، همچنین مقاومت بدنی بالای کبک و نقش مهم بافت لنفاوی در مطالعه حاضر به ارزیابی بافت‌شناسی اندام‌های ایمنی این پرنده به طور اعم از جمله تیموس، بورس فابریسیوس، لوزه سکومی، طحال، لوزه پیلور پرداخته شده است.

مواد و روش کار

این مطالعه بر روی ۳۰ عدد کبک چوکار نر در سن ۲۰ روزگی که ظاهرا سالم و در شرایط یکسان پرورش یافته بودند انجام پذیرفت. کبک های همسن از موسسه پرورش کبک به صورت کاملا تصادفی جدا و خریداری شدند و سپس به سالن آناتومی دانشکده دامپزشکی منتقل شدند.

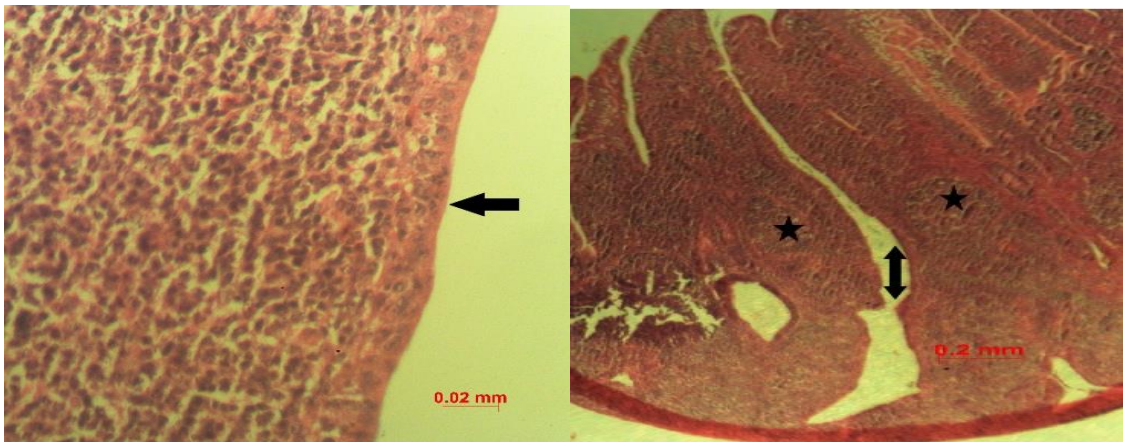
کبک‌ها از ناحیه گردنی کشتار شدند و سپس تیموس از طریق کالبدشکافی شکمی (Ventral dissection) ناحیه گردن و بورس فابریسیوس، طحال، لوزه سکومی و لوزه پیلور از طریق کالبدشکافی شکمی ناحیه شکم خارج شدند و پس از اطمینان از عدم وجود ضایعه آسیب‌شناسی مورد نمونه‌گیری قرار گرفتند. نمونه‌ها سریعا در شیشه‌های حاوی بافر فرمالین قرار گرفته و اطلاعات مربوط به کبک‌ها را نیز بر روی هر یک از شیشه‌های محتوی نمونه بطور جداگانه درج و به آزمایشگاه بافت‌شناسی انتقال یافتند. پس از فیکس شدن کامل، نمونه‌ها تحت مراحل معمول بافت‌شناسی شامل آبگیری، شفافیت و آغشتگی با پارافین، تهیه قالب‌های پارافینی و نهایتاً برش قالب‌ها به ضخامت ٦ میکرومتر قرار گرفت. سپس برش‌ها به روش هماتوکسیلین ائوزین رنگ‌آمیزی شده و با میکروسکوپ نوری Nikon مدل Alphaphot YS مورد مطالعه بافت‌شناسی قرار گرفت. علاوه بر آن جهت مطالعه هیستوموفومتریک از گراتیکول خطی استفاده گردید که برای هر یک از فاکتورهای مورد بررسی از هر نمونه ۱۵ لام و از هر لام ۵ شان به طور تصادفی مورد بررسی قرار گرفت. سپس داده‌های بدست آمده در نرم‌افزار SPSS صرفا به صورت توصیفی (Descriptive Statistic) ارزیابی شدند و نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شدند.

نتایج

لوزه سکومی

در مقطع عرضی بافت‌شناسی، مخاط ابتدای سکوم به دو شکل دیده شد که یک بخش آن حاوی لوزه ودارای کرک‌های کوتاه یا تحلیل رفته و بخش مقابل آن دارای کرک‌های بلند شبیه به روده باریک بود. کرک‌ها دارای اپیتلیوم استوانه‌ای ساده حاوی ریزکرک به همراه سلول‌های جامی بودند در حالیکه لوزه سکومی دارای برجستگی مخاطی ـ زیرمخاطی حاوی واحدهای فولیکولی (Follicular Unit) بود. هر واحد فولیکولی با لایه نازکی از عضلات مجزا شده بود. همچنین یک شکاف مشخص با نام فوسولا (Fossula) داخل هر واحد فولیکولی وجود داشت که بافت پوششی آن به صورت ناگهانی فاقد سلول‌های جامی بود و M cell ها در اپیتلیال فسولادیده میشدند که کوتاهتر از سلول‌های اپیتلیومی کرک‌ها بودند. همچنین این سلولها به شدت اسیدوفیل بودند. پارین این قسمت مملو از سلول‌های لنفاوی بود. سطح خارج لوزه سکومی از دو لایه ماهیچه صاف و سروز پوشیده شده بود(نگاره ۱).

طبق نتایج هیستومورفومتریک لوزه سکومی طول واحد فولیکولی ۱/۱٤±۰,۱۱، عرض واحد فولیکولی ۰/۳۱±۰/۰٦، طول فسولا ۰/۸۹±۰/۱۹ و قطر فولیکول واحد فولیکولی ۲۳/۰۲±۰/۰ بود (داده‌ها بر حسب میلی‌متر وبه صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشد).

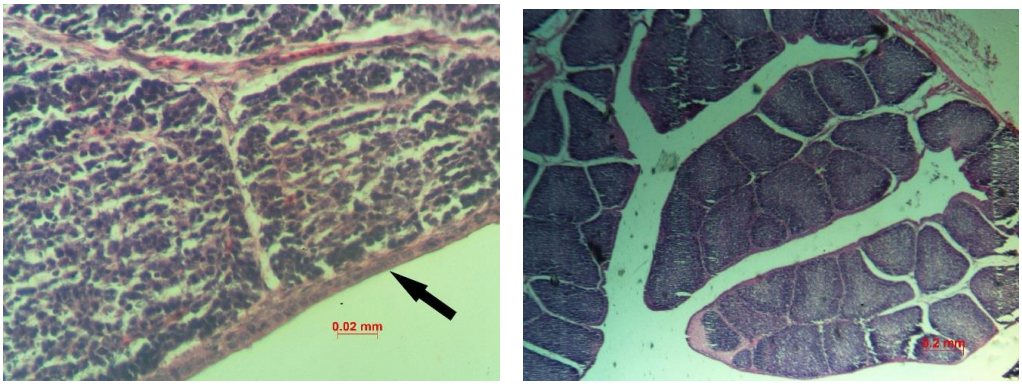


نگاره ۱ـ نمای میکروسکوپی از لوزه سکومی کبک چوکار ۲۰ روزه، سمت چپ: فسولا(فلش دو طرفه) و فولیکول (ستاره)(40X) ، سمت راست: M cells (پیکان ضخیم) (H&E× 400X).

بورس فابریسیوس

در سطح داخلی بورس فابریسیوس چین یا پلیکا مشاهده شد که هر پلیکا حاوی تعداد زیادی فولیکول لنفاوی جدا شده توسط بافت همبندی بود. پلیکاها مملو از لنفوسیت بودند و دارای دو نوع بافت پوششی شبه مطبق IFSE(Inter follicular surface epithelium) و اپی تلیوم وابسته به فولیکول FAE(Follicule-associated epithelium) استوانه ای کوتاه بودند. فولیکول‌های لنفاوی بورس دارای دو بخش کورتکس و مدولا بودند. سطح خارجی بورس توسط دو لایه عضله صاف و بافت همبند سروز در برگرفته شده بود (نگاره ۲).

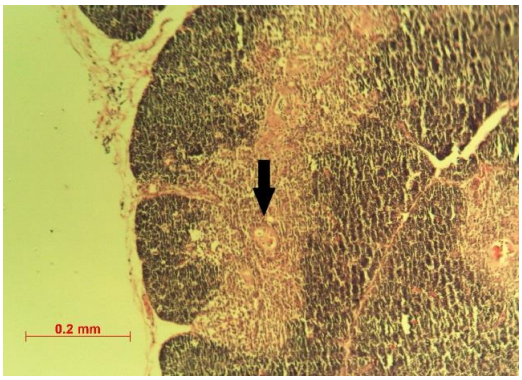
بر طبق نتایج هیستومورفومتریک طول پلیکا ۲/۹۹±۰/۳۰، قطر فولیکول ۰/٤۹±۰/۰۲، ضخامت قشرفولیکول ۰/۰±۳٦/۰٤، ضخامت مرکز فولیکول ۰/۰۵±۰/۰۱ بود (داده‌ها بر حسب میلی‌متر و به صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشد).



نگاره ۲ـ نمای میکروسکوپی از بورس فابریسیوس کبک چوکار ۲۰ روزه سمت چپ : نمای پلیکاها(40X) ، سمت راست : اپیتلیوم وابسته به فولیکول FAE (پیکان) (H&E× 400X).

تیموس

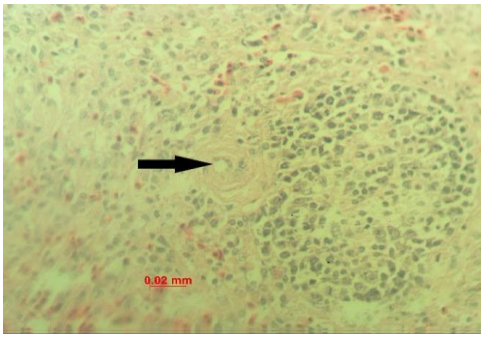
تیموس که توسط کپسول ظریفی به لوبول‌های ناکاملی تقسیم شده بود فاقد فولیکول‌های لنفاوی بود. هر لوبول از دو بخش قشری و مرکزی تشکیل شده و قشر بازوفیل تر از مرکز دیده شد و مرکز حاوی اجسام هاسال بود. در مرکز و قشر سلول‌های رتیکولر دیده می‌شدند(نگاره ۳). نتایج هیستومورفومتریک نشان داد: قطر لبول ۰/۰۷±۰/۶۰، ضخامت مرکز لبول ۰/۰۸±۰/۳۳ و ضخامت قشر لبول ۰/۰±۱۹/۰۵ بود(داده‌ها بر حسب میلی‌متر و به صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشد).

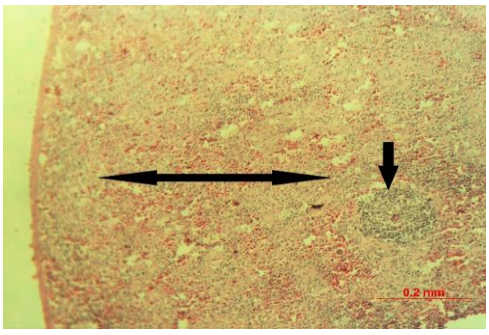


نگاره ۳ـ نمای میکروسکوپی تیموس کبک چوکار ۲۰روزه، پیکان : جسمک هاسال (H&E ×100X).

طحال

طحال عضوی دایره‌ای تا بیضی شکل دارای کپسول همبندی ضخیم بود. ترابکول‌های مشخصی در طحال دیده نشد. پالپ سفید دارای شریان‌های غلاف‌دار و ندول‌های لنفاوی با ضخامت ۰/۰±۰/۲۰ میلی‌متر بود. لنفوسیت‌های کوچک، متوسط و بزرگ در پالپ سفید دیده می‌شد. پالپ قرمز به صورت محدود در فاصله بین پالپ‌های سفید قرار داشت. همچنین پالپ قرمز شامل سینوس‌های وریدی، سلول‌های رتیکولر، ماکروفاژ، لنفوسیت و گلبول قرمز بود (نگاره ٤).



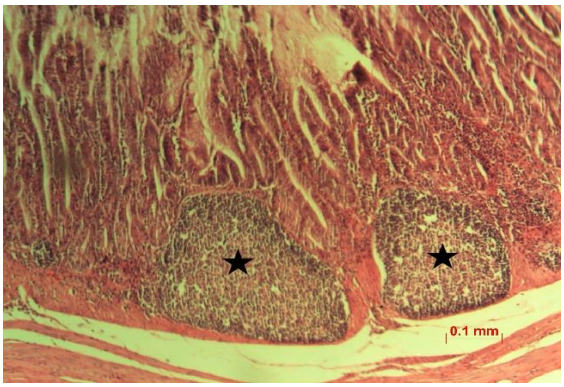


نگاره ٤ـ نمای میکروسکوپی از طحال کبک چوکار۲۰ روزه، سمت چپ : پولپ سفید(پیکان) و قرمز (پیکان دو جهته) به صورت پراکنده قرار گرفته اند (100X) و سمت راست: شریان مرکزی پولپ سفید(پیکان ضخیم)(H&E× 400X) .

لوزه پیلور

لوزه پیلور یک حلقه لنفاوی در ابتدای دوازدهه بود. در این ناحیه کریپت‌های لیبرکوهن به لوزه‌های کرپتی حاوی لنفواپیتلیوم تبدیل شده بودند. در حالیکه لوزه سکومی فقط در سمت آنتی مزانتریک ابتدای سکوم دیده می‌شد، لوزه پیلور دور تا دور این ناحیه را در بر گرفته بود. لنفوسیت، ماکروفاژ و

سلول‌های رتیکولر به فراوانی در ندول‌های زیرمخاطی آن دیده می‌شدند(نگاره ۵). طول و عرض کرک این ناحیه و ضخامت مخاط آن به ترتیب ۰/۰۴±۰/۵۰، ۰/۰۲±۰/۱۰ و ۰/۰۷±۰/۷۹ بود. همچنین قطر فولیکول ۰/۰۴±۰/۲۴ بود (داده ها بر حسب میلی‌متر و به صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشد).



نگاره ۵ـ نمای میکروسکوپی از لوزه پیلور کبک چوکار۲۰ روزه، ستاره: فولیکول لنفاوی (H&E ×100X).

بحث

پیش از این Haydarian و همکاران در سال ۲۰۱۵ به مطالعه بافت‌شناسی طحال و تیموس کبک چوکار در دوره جنینی پرداختند(۷). همچنین مطالعات فراوانی در مورد بافت‌های لنفاوی پرندگان انجام گرفته است. Rahman و همکاران در سال ۲۰۰۳ به مطالعه بافت‌های لنفاوی لوله گوارش در جوجه‌های بومی پرداختند و مشابه یافته‌های این مطالعه بافت‌های لنفاوی منتشر و متراکم را در مخاط و زیرمخاط لوزه سکومی نشان دادند (۱۷). Rezaian و Hamedi در سال۲۰۰۷ به مطالعه لوزه سکومی جوجه‌های گوشتی پرداختند و نشان دادند که ندولهای لنفاوی در لوزه سکومی ساختار متشکل از واحدهای فولیکولی یا Follicular Unit را دارند و هر واحد فولیکولی با لایه ظریفی از سلول‌های عضلانی مجزا شده است. همچنین یک فرورفتگی عمیق از اپیتلیوم به داخل واحد فولیکولی سبب ایجاد شکافی با نام فوسولا (Fossula) می‌شود که دارای اپیتلیوم مکعبی حاوی M cell هستند و در این شکاف به صورت ناگهانی سلول‌های جامی حذف می‌شوند(۱۸). این نتایج مطابق با یافته‌های بافت‌شناسی این مطالعه در کبک چوکار ۲۰ روزه می‌باشد. همچنین در این مطالعه یافته‌های هیستومورفومتریک قطر فولیکول لوزه سکومی کبک چوکار بسیار مشابه با یافته‌های Akter و همکاران در سال ۲۰۰۶ در جوجه گوشتی بود(۲). در مطالعه بورس فابریسیوس Honjo&Hirota در سال ۱۹۹۳ در جوجه‌های لگهورن سفید و Akter و همکاران در سال ۲۰۰۶ در جوجه گوشتی، همسو با یافته‌های این مطالعه بیان کردند که این ته کیسه که محل تکامل لنفوسیت‌های B است دارای پلیکا یا چین های اولیه و ثانویه می‌باشد که پلیکاها حاوی صدها فولیکول با اپیتلیوم وابسته به آن، لنفوسیت، ماکروفاژ و پلاسماسل هستند(۸و۲). در این مطالعه قطر فولیکول بورس فابریسیوس کبک چوکار بیشتر از جوجه گوشتی (۷۰/۱۹±۲۴۰/۳۴ میکرومتر) در مطالعه Akter و همکاران بود(۲). در مطالعه حاضر همسو با یافته‌های King در سال ۱۹۷۵ و Bach در سال ۱۹۷۸در لگهورن سفید و Karmin و همکاران در سال ۲۰۰۵ در جوجه‌های نژاد ون کوب، تیموس دارای کپسولی از بافت همبند بود که انشعابات کپسول در پارانشیم لبول های ناقصی را ایجاد کرده بود. هر لبول دارای قشر تیره و مرکز روشن و همچنین لنفوسیت‌ها و سلول‌های رتیکولر اپیتلیالی بود که سلول‌های رتیکولراپیتلیال سبب ایجاد اجسام تیموس یا هاسال در مرکز می‌شدند(۱۴و۱۱،۳). در این مطالعه قطر لبول کبک چوکار، بیشتر از قطر لبول جوجه گوشتی (۰۳/۹۲±۳۷۶/۹۸ میکرومتر) در مطالعه Akter و همکاران بود (۲). یافته‌های بافت‌شناسی طحال کبک چوکار در این مطالعه مشابه یافته‌های King در سال ۱۹۷۵ و Bach در سال ۱۹۷۸ در لگهورن سفید بود که بیان کردند که غلاف لنفاوی اطراف سرخرگی به همراه فولیکول‌های لنفاوی پولپ سفید طحال را ایجاد می کند و پولپ قرمز از سینوس‌های طحالی و طناب‌های لنفاوی تشکیل شده است (۱۴و۳). همچنین همسو با یافته‌های Olah و Nagy در سال ۲۰۰۷ در لوزه پیلور جوجه گوشتی، در لوزه پیلور کبک چوکار ۲۰ روزه نیز فولیکول‌های لنفاوی زیر مخاطی دیده شد که مابین خود دارای ناحیه بین فولیکولی

حاوی لنفوسیت‌های کوچک، ماکروفاژ و رتیکولر بودند. این محققان بیان کردند که لوزه پیلور می‌تواند جبرانی بر عدم وجود فولیکول‌های لنفاوی مزانتریک در طیور باشد (۱۶).

این مطالعه نشان داد اندام‌های لنفاوی کبک چوکار از نظر بافت‌شناسی بسیار مشابه با اندام‌های لنفاوی جوجه‌های گوشتی می‌باشد ولی بر طبق داده‌های هیستوموفومتریک بافت‌های لنفاوی در کبک چوکار گسترده از جوجه گوشتی می‌باشد که همین می‌تواند دلیلی بر ایمنی بالای این پرنده باشد.

فهرست منابع

۱- مقدس، الف.، (۱۳۹۰): پرورش نگهداری و بیماری‌های کبک. انتشارات نیلوبرگ، تهران، ایران.: ۱۴-۲۴.

2- Akter, S.H., Khan, M.Z.I., Jahan, M.R., Karimand, M.R., Islam, M.R. (2006): Histomorphological study of the lymphoid tissues of broiler chickens. Bangl. J. Vet. Med. 4(2): 87–92.

3- Bach, J.F. (1978): Immunology. 5th edn, John Wiley and Sons, New York, USA. pp. 15-35.

4- Ciriaco, E., Pinera, P.P., Diaz-Esnal, B., Laura, R. (2003): Age-related changes in the avian primary lymphoid organs thymus and bursa of Fabricius. Microsc. Res. Tech. 62(6): 482–487.

5- Cooper, M.D., Peterson, R.D.A. and Good, R.A. (1965): Delineation of the thymic and bursal lymphoid systems in the chicken. Nature. 205: 116-143.

6- Cooper, M.D., Peterson, R.D.A., South, M.A. and Good, R.A. (1966): The functions of the thymus system and the bursa system in the chicken. J Experiment. Med. 123: 75-102.

7- Haydarian, S., Pousty, I., Gilanpour, H., Mortazavi, P. (2015): Histogenesis study on prenatal development of the spleen and thymus of Partridge (Alectoris Chukar). Saussurea. 3(1): 363-369

8- Honjo, K. and Hirota, Y. (1993): Immunohistochemical investigations of lymphocytes in the lymphoid organs of cyclophosphamide treated chickens. J. Vet. Med. Sci. 55:895-897.

9- Janeyway, C.A., Jones, B. and Hayday, A. (1988): Specificity and function of T-cell bearing γδreceptors. Immunol. Today. 9: 73-76.

10- John, J.L., (1994): The avian spleen: a neglected organ. Q. Rev. Biol. 69(3):327-51.

11- Karim, M.R., Khan, M.Z.I. and Haque, Z. (2005): The dynamics of immunocompetent cells in the major lymphoid organs and mucosa associated lymphoid tissues of chemotherapy treated chickens. J. Bangladesh Societ. Agricultur. Sci. Tech. 2: 5-8.

12- Khalil, M., Islam, Z.I., Khalil, M. and Islam, R. (2003): A prospective study of prenatal and postnatal development of thymus of deshi chicken.Mymensingh. Med. J. 12: 20-24.

13- Khenenou, T., Melizi, M., Bennoune, O.and Benzaoui H. (2012): Morpho-Histological Study of the Thymus of Broiler Chickens during Post-Hashing Age. Inter. J. Poult. Sci. 11 (1): 78-80

14- King, A.S. & McLelland, J. (1975): Lymphatic system. In A.S. King & J. McLelland (Eds.). Outlines of Avian Anatomy London: Baillie`re Tindall; 103-105.

15- Kitagawa, H., Imagawa, T., Uehara, M. (1996): The apical caecal diverticulum of the chicken identified as a lymphoid organ. J. Anat. 189: 667-672.

16- Nagy, N. and Oláh, I. (2007): Pyloric tonsil as a novel gut-associated lymphoepithelial organ of the chicken. J Anat. 211(3): 407–411

17- Rahman, M.L., Islam, M.R., Asaduzzaman, M. and Khan, M.Z.I. (2003): Lymphoid tissues in the digestive tract of Deshi Chicken (Gallus domesticus) in Bangladesh. Pakistan J. Biologic. Sci. 6: 1145-1150.

18- Rezaian, M. and Hamedi, S. (2007): Histological Study of the Caecal Tonsil in the Cecum of 4- 6 Months of Age White Leghorn Chicks. Americ. J. Anim. Vet. Sci. 2 (2): 50-54.