





دانشکده دامپزشکی
گروه علوم پایه

پایان نامه برای دریافت درجه دکتری حرفه ای رشته دامپزشکی

عنوان پایان نامه:

مطالعه بافت شناختی معده خاریشت سینه سفید جنوبی در سطح میکروسکوپ نوری و الکترونی: یک رهیافت هیستوشیمی و ایمونوهیستوشیمی

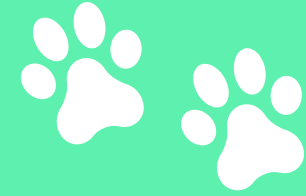
نگارش:

مریم الماسی

استاد راهنما:

دکتر نادر گودرزی

خرداد ۱۴۰۱



مقدمه و کلیات



خارپشت‌ها

خارپشت از اعضای راسته خارپشت‌شکلان ، خانواده خارپشت سانان است

خارپشت سینه سفید جنوبی گونه‌ای بومی خاورمیانه، آناتولی در ترکیه، قفقاز و ایران است. قبلاً با خارپشت اروپایی هم گونه تلقی می‌شدند، با این حال در مطالعات جدیدتر آن را به عنوان یک گونه متمایز در نظر گرفته‌اند

در ایران: (چهار گونه خارپشت): خارپشت اروپای شرقی ، خارپشت بیابانی ، خارپشت ایرانی و خارپشت گوش بلند

خارپشت‌ها در زبان عامه مردم به جوجه تیغی معروف‌اند - پستاندارانی کوچک و شب‌زی - گسترده‌گی جهانی -
حیوانات شب‌گردی که در آب و هوای سرد به خواب زمستانی می‌روند- دندان‌های تیز و مخروطی

تغذیه: از بی‌مهرگان، حشرات، عقرب‌ها و مهره‌داران کوچک نظیر مارمولک‌ها

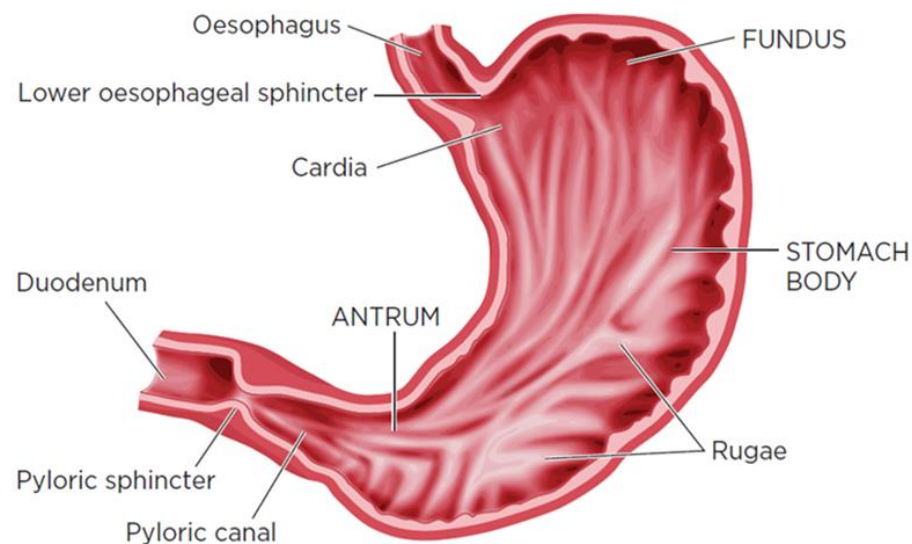
معدۀ



عضلانی و خمیده - لوله گوارشی فوقانی - در تمام مهره داران آرواره دار - محلی برای ذخیره موقت و هضم اولیه غذا در محیطی اسیدی - سمت چپ حفره شکمی - اندازه و شکل معدۀ در گونه های مهره داران متناسب با رژیم غذایی

معدۀ بالغ ترشح و تولید اسید و آنزیم ← کمک به هضم غذا و از بین بردن میکروب ها، رساندن غذا به روده

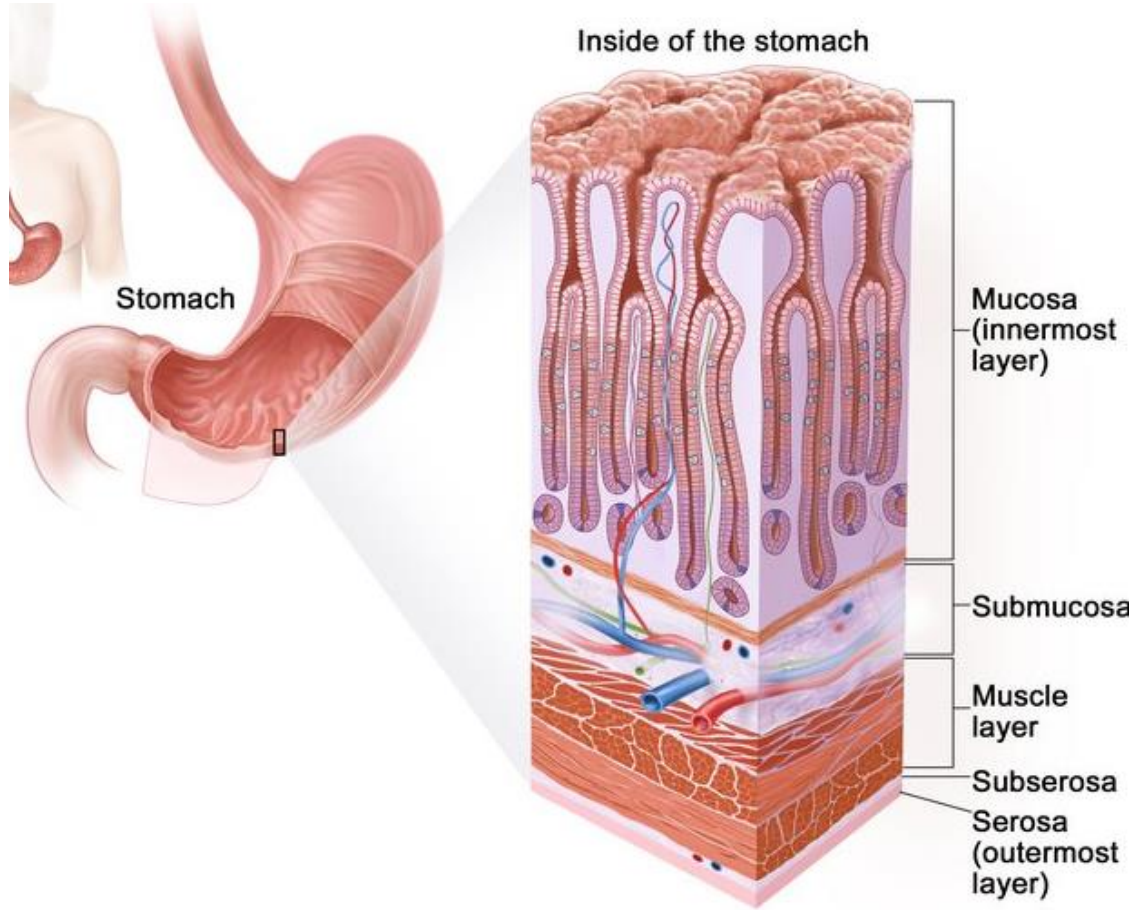
کوچک



معدۀ بالغ از 3 ناحیه اصلی تشکیل شده است:

- فوندوس
- بدنه
- پیلور

بافت شناسی معده



- مخاط:

مهم ترین لایه - چین های معدی

شامل سه لایه: اپیتلیوم استوانه ای ساده / لامینا پروپریا / عضله مخاطی

- زیرمخاط

- لایه عضلانی: دو تا سه لایه

لایه طولی خارجی - لایه حلقوی - لایه مورب

- سروز

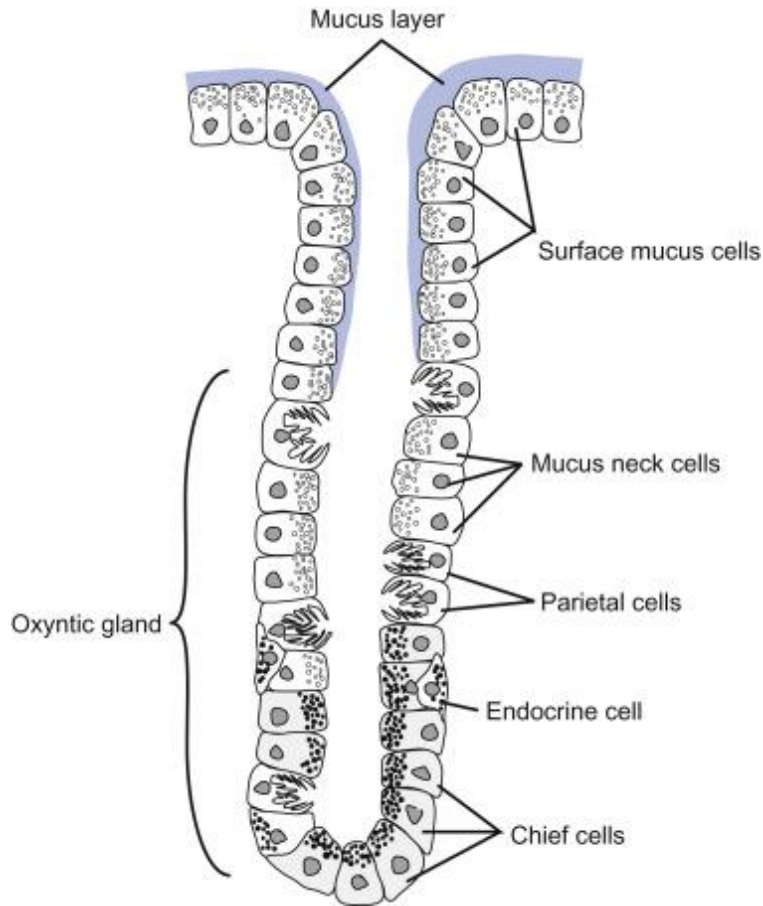
در چین خوردگی‌ها، فرورفتگی‌های کوچکی به نام **چاله‌های معده** وجود دارد که شامل چهار سلول اصلی ترشحی است:

• سلول‌های جداری: اسید هیدروکلریک – فعال کردن آنزیم پروتئولیتیک

• سلول‌های مخاطی: ترشح موکوس قلیایی

• سلول‌های اصلی: ترشح پپسینوژن

• سلول‌های غدد درون‌ریز

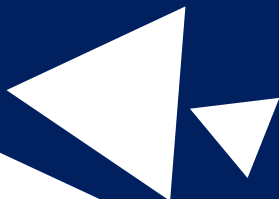




- بررسی موقعیت آناتومی و توصیف مورفولوژی معده در خارپشت
- بررسی هیستوشیمی نواحی مختلف سلولی معده با استفاده از تکنیک‌های مختلف رنگ‌آمیزی اختصاصی و ایمونوهیستوشیمی.
- مطالعه ویژگی‌های مخاطی در قسمت‌های مختلف معده خارپشت در سطح میکروسکوپ الکترونی نگاره
- مقایسه هیستولوژی خارپشت با سایر همه‌چیزخواران و پستانداران.

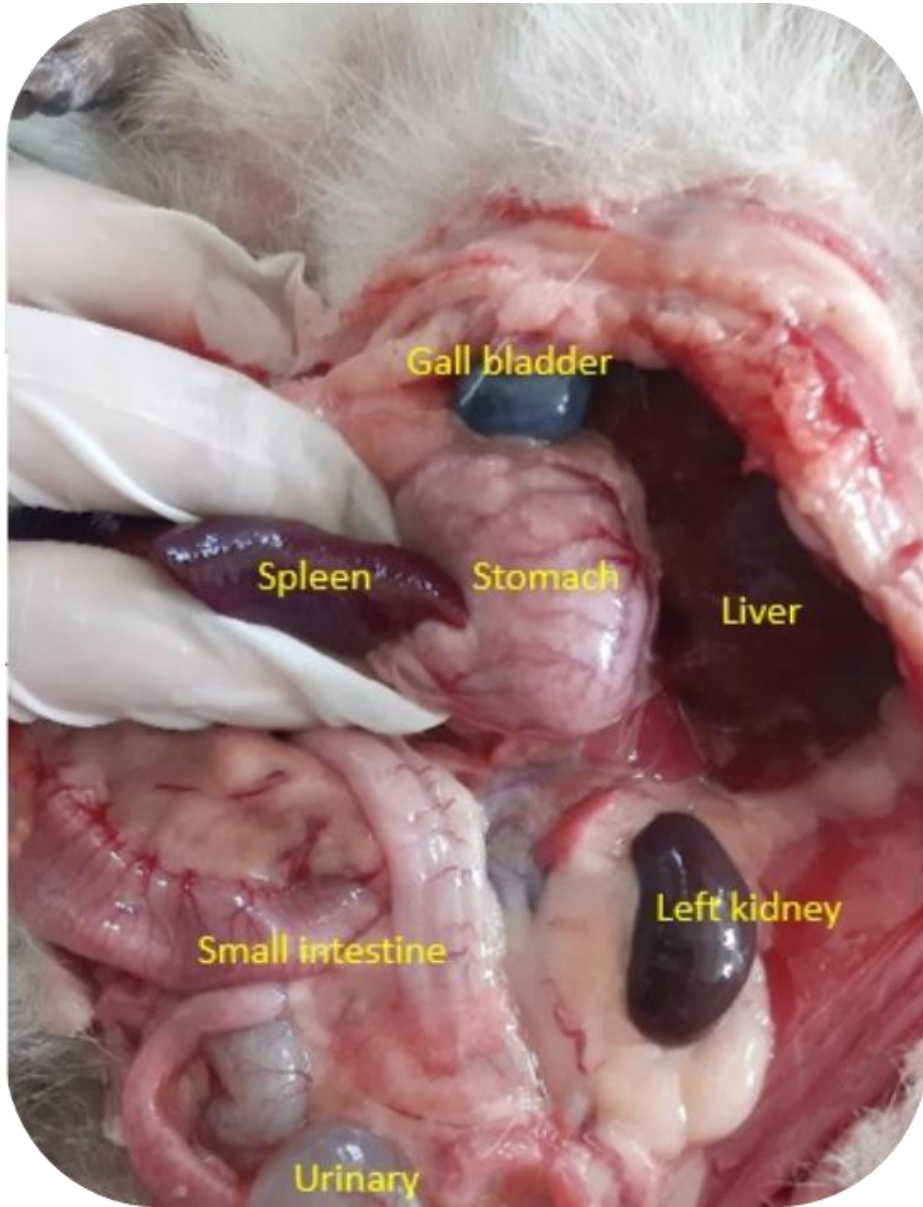


مواد و روش کار



تهیه نمونه و کالبدگشایی

- تعداد ۲ سر خارپشت سینه سفید جنوبی با میانگین وزنی یک کیلوگرم از مزارع کشاورزی حومه‌ی کرمانشاه تهیه شد.
- سپس با استفاده از پنبه آغشته به اتر، آسان‌کشی صورت گرفت. با کالبدگشایی حیوانات و باز نمودن حفره شکمی، موقعیت آناتومیکی معده و اتصالات آن بررسی شد.





مراحل تهیه مقاطع بافتی

1. آبگیری

2. مرحله قالبگیری و برش

3. پارافینزدایی

4. آبدهی



دستگاه توزیع‌کننده پارافین (شرکت دید سبز، ساخت ایران)



دستگاه آون (شرکت وین طب، ساخت ایران)



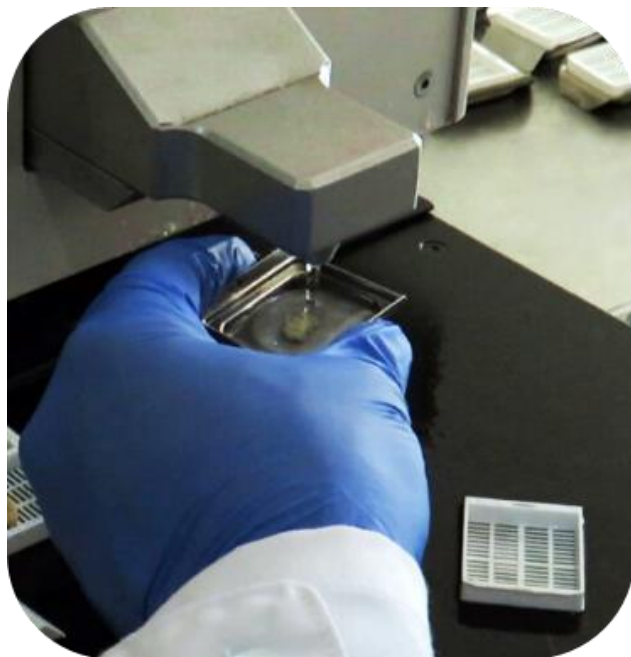
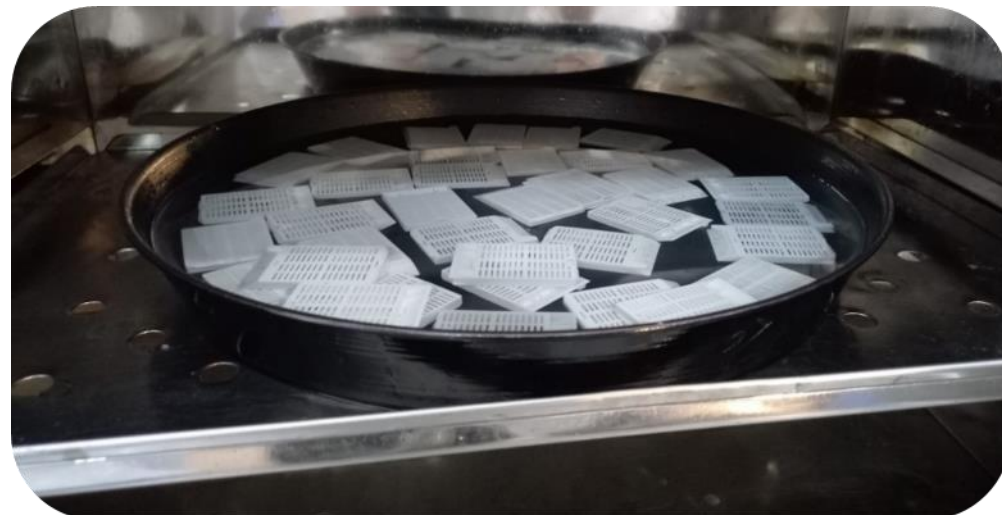
میکروتوم (شرکت Leica Biosystems، ساخت آلمان)



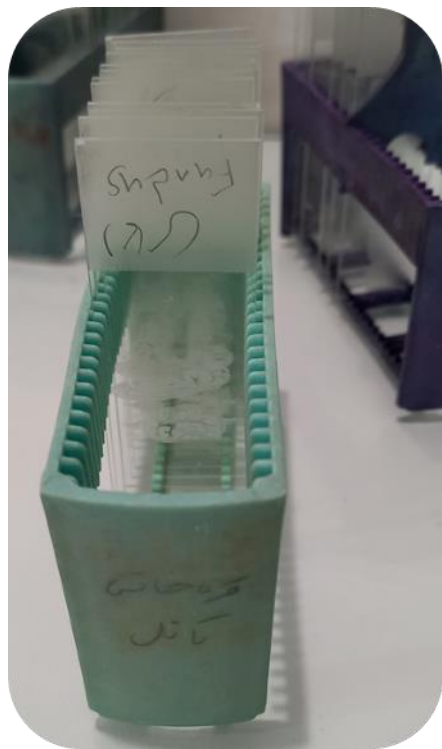
دستگاه حمام شناورسازی بافت

مراحل تهیه مقاطع بافتی

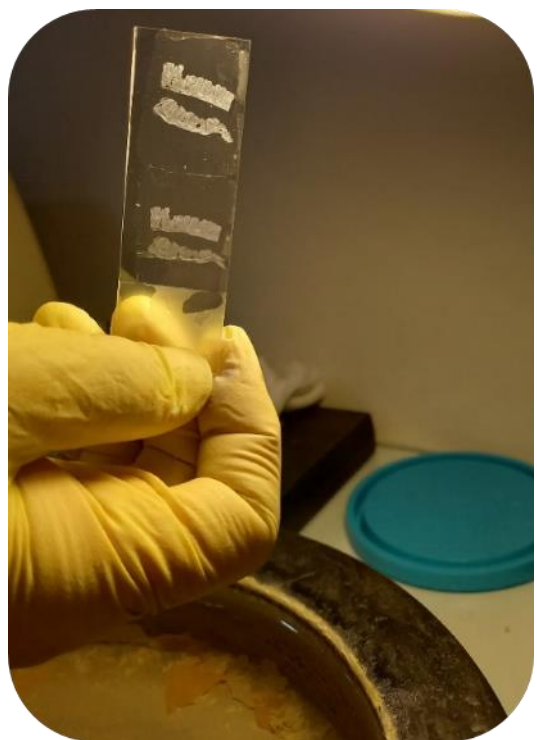
جهت استحکام برای مرحله برش‌گیری:
غوطه‌ورسازی نمونه‌ها در پارافین مذاب (ظرف
پارافین مذاب در آن قرار دارد)



توزیع پارافین بر روی بافت توسط
دستگاه توزیع‌کننده پارافین



آماده‌سازی لامها



قراردادن برش بافتی بر روی لام سیلانه



برش‌هایی به ضخامت 5 میکرومتر با دستگاه میکروتوم ایجاد شد



قراردادن بر روی یخ به منظور سفت شدن پارافین



رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین

رنگ آمیزی آلشین بلو

رنگ آمیزی پریودیک اسید شیف



ریختن معرف شیف بر روی لامها



ریختن محلول پریودیک اسید بر روی لامها



محلول تهیه شده پریودیک اسید

مواد و وسایل مورد نیاز در ایمونوهیستوشیمی



• محلول TBS 1X

• محلول PBS

• سرم بز

• تریتون

• آنتی بادی های گاسترین، سروتونین، گلوکاگن، SOX9

مراحل ایمونوهیستوشیمی

۱. قرار دادن لامها را در محلول TBS 1X در داخل ماکروفر - پس از رسیدن به نقطه جوش ماکروفر را خاموش کرده و ۲۰ دقیقه نمونه‌ها در محلول باقی مانند.

۲. شستشو نمونه‌ها با PBS در سه مرحله شستشو

۳. اضافه کردن تریتون ۳/۰ درصد به مدت ۳۰ دقیقه (نفوذپذیر کردن غشاء سلول‌ها)

۴. شستشوی نمونه‌ها با PBS

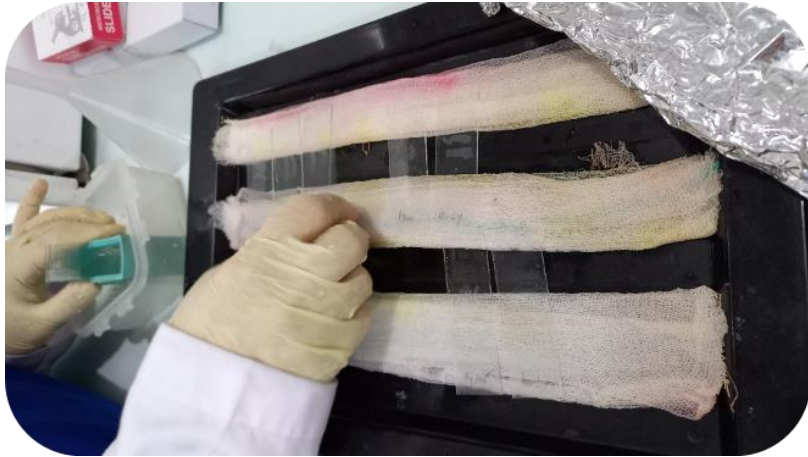
۵. اضافه کردن سرم بز ۱۰ درصد برای مدت ۴۵ دقیقه (بلاک کردن واکنش آنتی‌بادی ثانویه)



لامها در ماکروفر



لامها در محلول TBS



قراردادن لامها بر روی محیط مرطوب

۶. آنتی‌بادی اولیه رقیق شده (۱ به ۱۰۰) با PBS را بر روی نمونه‌ها ریخته و بعد از ایجاد یک محیط مرطوب برای جلوگیری از خشک شدن بافت به مدت ۲۴ ساعت درون یخچال با دمای ۲ تا ۸ درجه قرار داده شد.

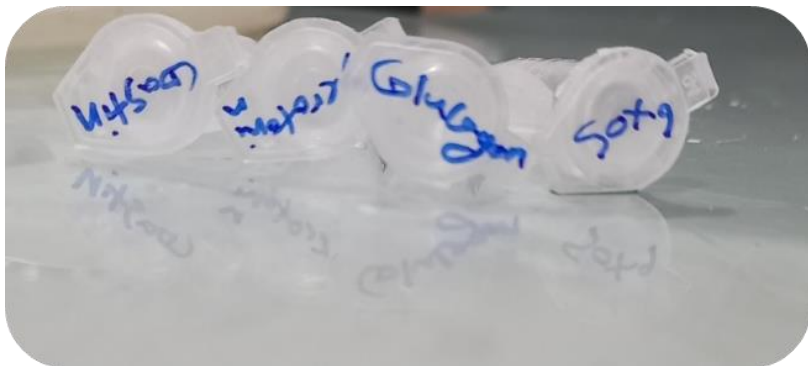
۷. پس از ۲۴ ساعت ظرف حاوی بافت از یخچال خارج - شستشو با PBS

۸. اضافه کردن آنتی‌بادی ثانویه با رقت ۱ به ۱۵۰ و در انکوباتور ۳۷ درجه به مدت ۱ ساعت و ۳۰ دقیقه در تاریکی

۹. انتقال نمونه‌ها از انکوباتور به اتاق تاریک - ۳ بار شستشو - اضافه کردن DAPI
پس از ۲۰ دقیقه، شستشو با PBS

۱۰. محلول گلیسرول و PBS را بر روی نمونه‌ها ریخته - قرار دادن لامل

۱۱. اندازه‌گیری درصد بیان مارکرهای ایمونوهیستوشیمی توسط نرم‌افزار آنالیز تصاویر Image j انجام شد.



آنتی‌بادی‌های استفاده شده: گاسترین، سروتونین، گلوکاگن، SOX9

مراحل آماده سازی نمونه‌ها در میکروسکوپ الکترونی روبشی



1. الکل 10%
2. الکل 30%
3. الکل 50%
4. الکل 70%
5. الکل 100%

6. الکل 30% + استون 70%
7. الکل 50% + استون 50%
8. استون 100%

9. 24 ساعت در هوای آزاد قرار دادیم تا خشک شود



الکل و استون
استفاده شده در
فرایند آبگیری بافت

مراحل آماده سازی نمونه‌ها در میکروسکوپ الکترونی روبشی



میکروسکوپ الکترونی روبشی

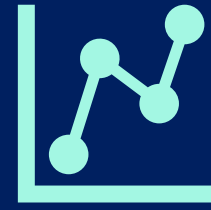


دستگاه پوشش‌دهی به روش کندوپاش

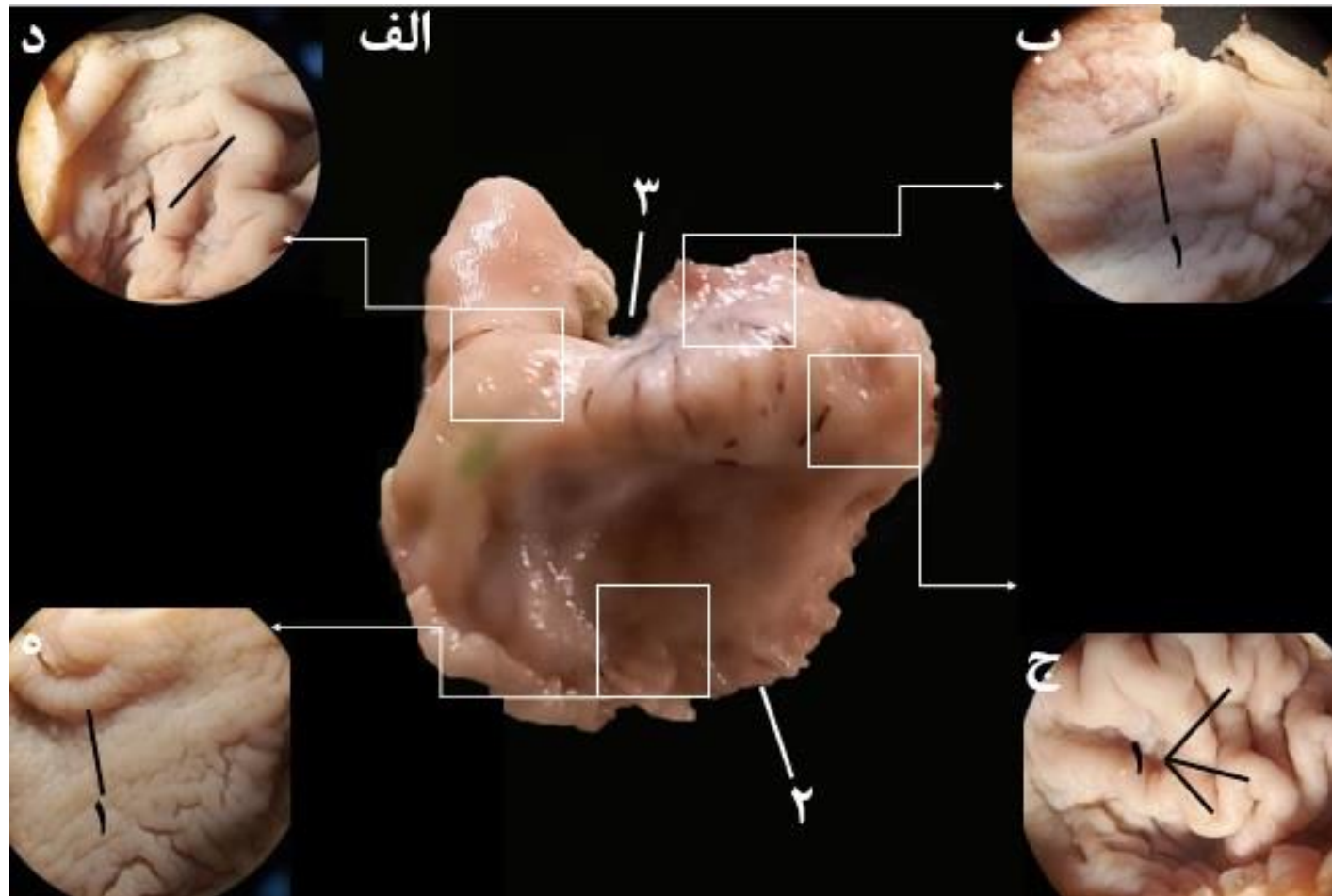
مراحل آماده سازی نمونه‌ها در میکروسکوپ الکترونی روبشی



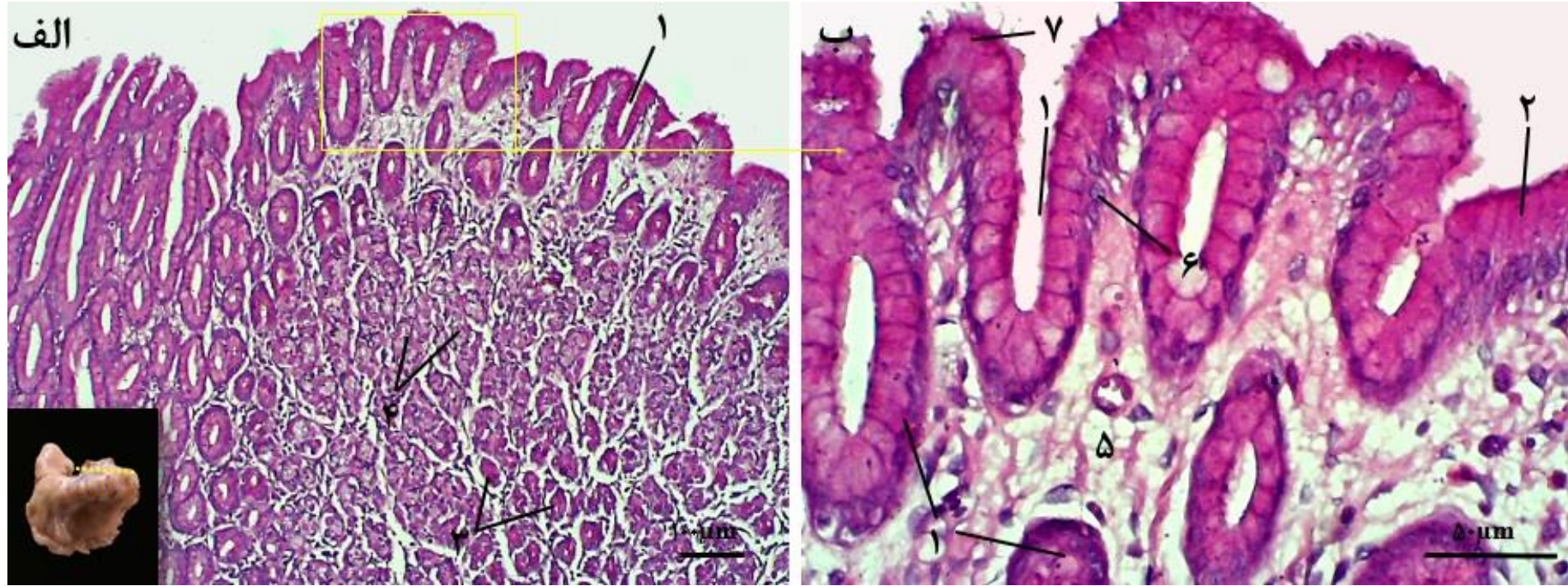
قرارگیری نمونه‌ها بر روی پایه‌های برنجی میکروسکوپ الکترونی روبشی



نتائج

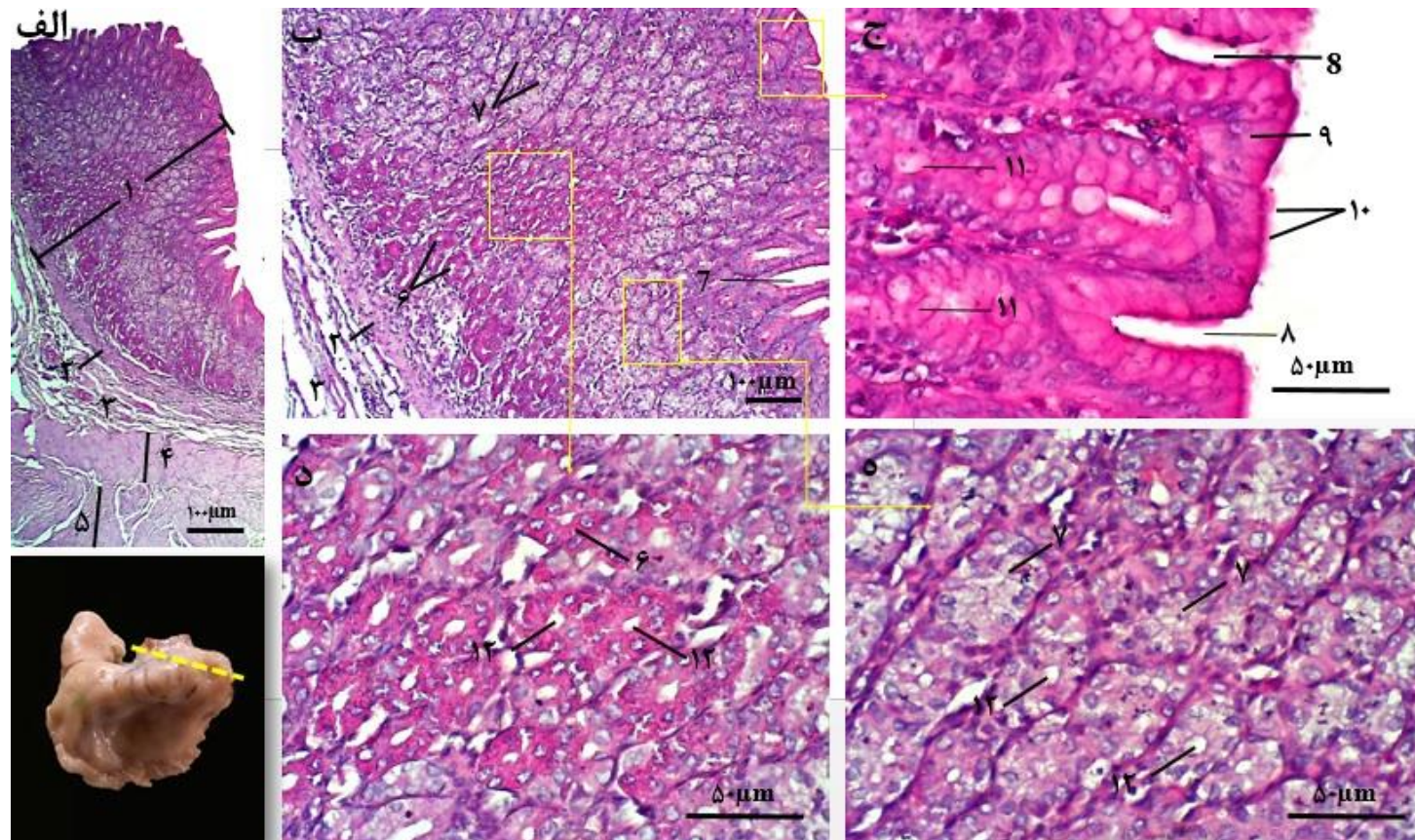


۱. تصویر ماکروسکوپیکی از سطح مخاطی معده در خاریشت سینه سفید جنوبی در سطح لوپ. الف) سطح احشایی معده، ب) مخاط کاردیا، ج) مخاط فوندوس، د) مخاط بدنه، ه) مخاط پیلور. ۱: چین معده، ۲: خمیدگی بزرگ معده، ۳: خمیدگی کوچک معده

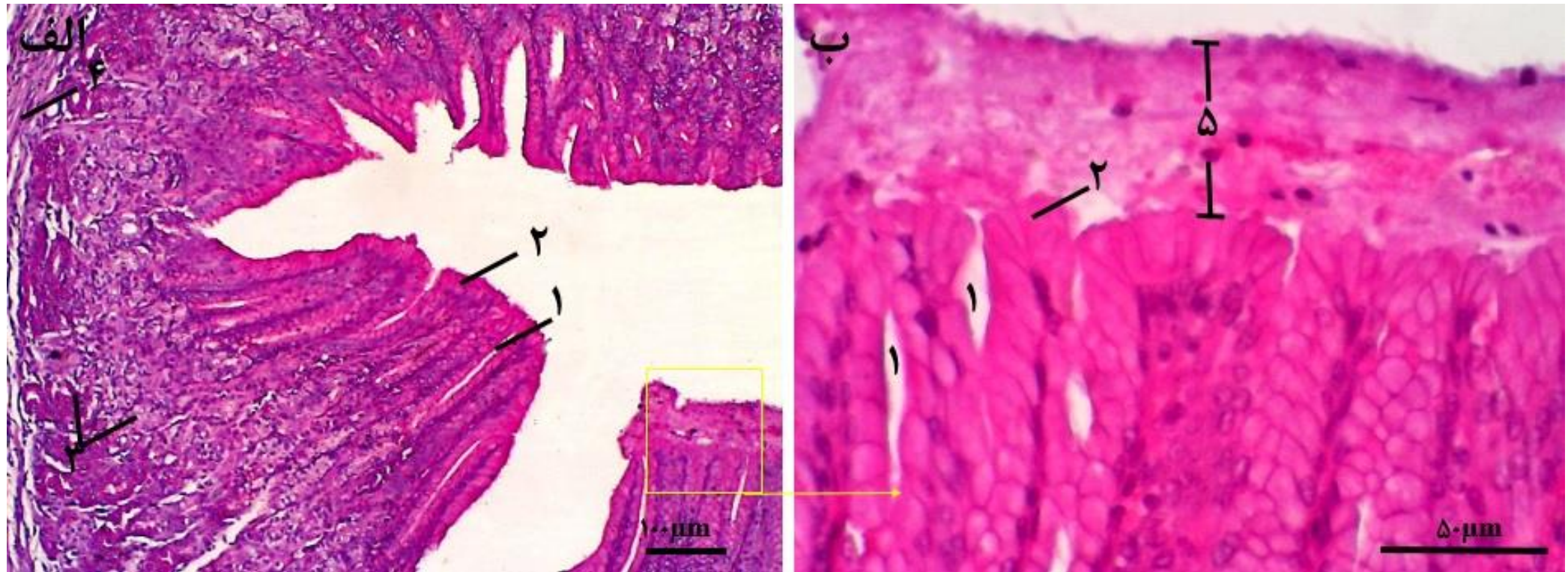


۲. الف) تصویری از ناحیه کاردیا در خارپشت سینه سفید جنوبی در سطح میکروسکوپ نوری، ب) مربع زرد رنگ در (الف) را در بزرگنمایی بالاتر نشان می‌دهد. ۱: چاله‌های معدی، ۲: اپیتلیوم استوانه‌ای ساده‌ی ترشح‌کننده موکوس، ۳: غدد کاردیایی PAS مثبت، ۴: غدد کاردیایی PAS منفی، ۵: لامینا پروپریا، ۶: هسته‌ی سلول‌های اپیتلیال، ۷: ماده موکوسی مترشحه. (شکل الف) با بزرگنمایی $\times 10$ ، شکل ب) با بزرگنمایی $\times 40$

▪ اپیتلیوم سطحی معده به ویژه در راس سلول‌ها به شدت PAS مثبت = تجمع مقادیر قابل توجهی موسین خنثی در سیتوپلاسم



۳. الف) نمایی از ناحیه‌ی فوندوس خارپشت سینه سفید جنوبی با میکروسکوپ نوری، ب) مخاط فوندوس با بزرگنمایی بالاتر را نشان می‌دهد، ج) در کادر زرد رنگ با بزرگنمایی بیشتر، سلول‌های پوششی اپیتلیال را نشان می‌دهد، د) غدد فوندوسی PAS مثبت با بزرگنمایی بیشتر را نشان می‌دهد، ه) غدد فوندوسی PAS منفی با بزرگنمایی بیشتر. ۱: مخاط فوندوس، ۲: ماهیچه مخاطی، ۳: زیرمخاط، ۴: ماهیچه مورب داخلی، ۵: ماهیچه حلقوی میانی، ۶: غدد فوندوسی PAS مثبت، ۷: غدد فوندوسی PAS منفی، ۸: چاله‌ها و حفره‌های معدی، ۹: اپیتلیوم استوانه‌ای ساده‌ی ترشح کننده‌ی موکوس، ۱۰: ماده موکوس ترشح شده، ۱۱: سلول‌های موکوسی گردنی، ۱۲: مجرای غدد معده (رنگ آمیزی PAS، در الف)، ب)، با بزرگنمایی ۱۰× و در ج)، د)، ه) با بزرگنمایی ۴۰×)

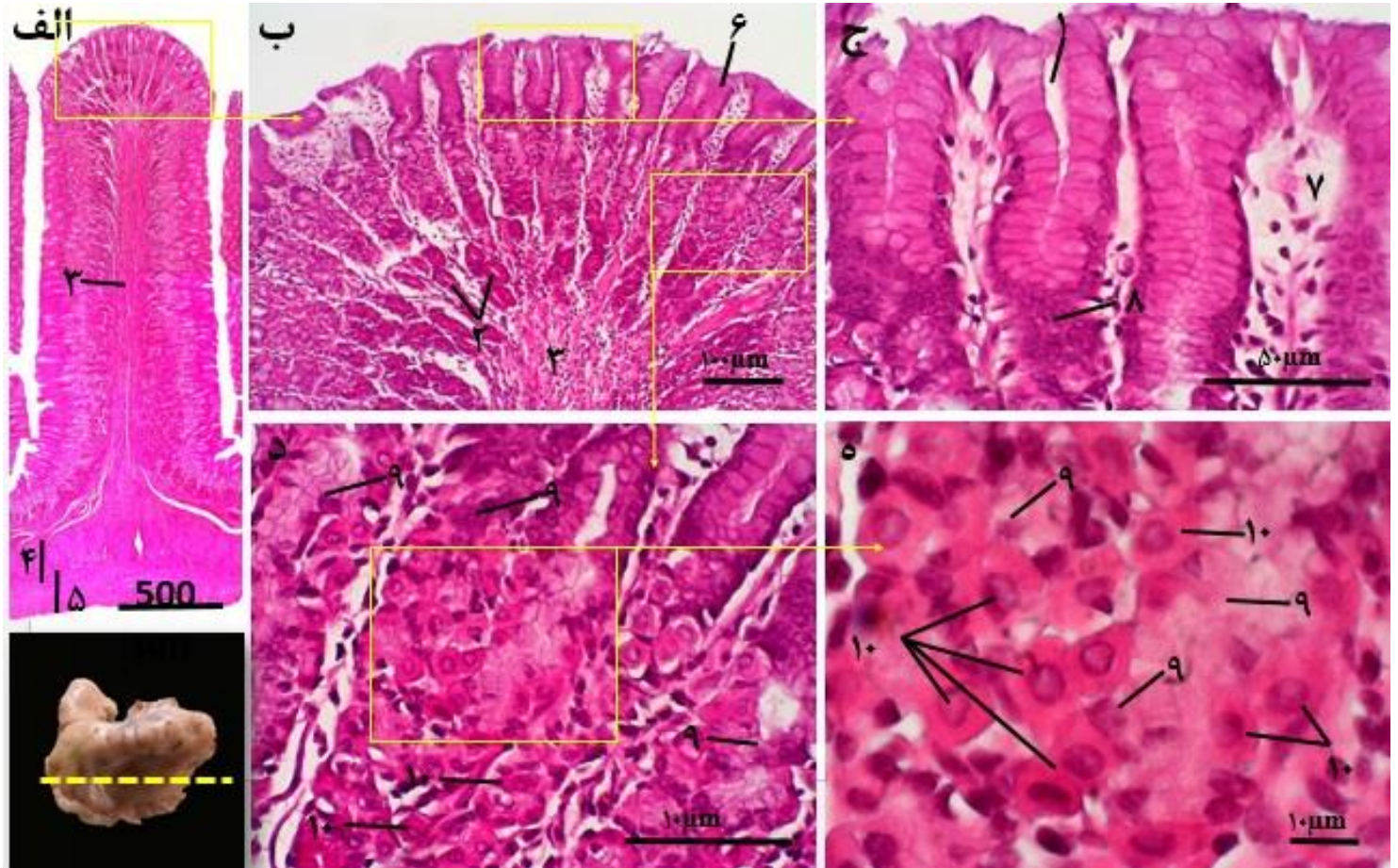


۴. الف) ناحیه‌ی روشن در قسمت فوندوس در معده خاریشت سینه سفید جنوبی با میکروسکوپ نوری (رنگ آمیزی PAS)، ب) کادر زرد رنگ مشخص شده در الف با بزرگنمایی بالاتر نشان داده شده است (رنگ آمیزی H&E). ۱. حفره‌ها یا چاله‌های معده، ۲: اپیتلیوم استوانه‌ای ساده‌ی ترشح کننده مخاط، ۳: غدد فوندوس، ۴: ماهیچه مخاطی، ۵: ماده موکوسی ترشح شده (الف: رنگ آمیزی PAS، ب: رنگ آمیزی H&E، در (الف) با بزرگنمایی ۱۰× و در (ب) با بزرگنمایی ۴۰×)

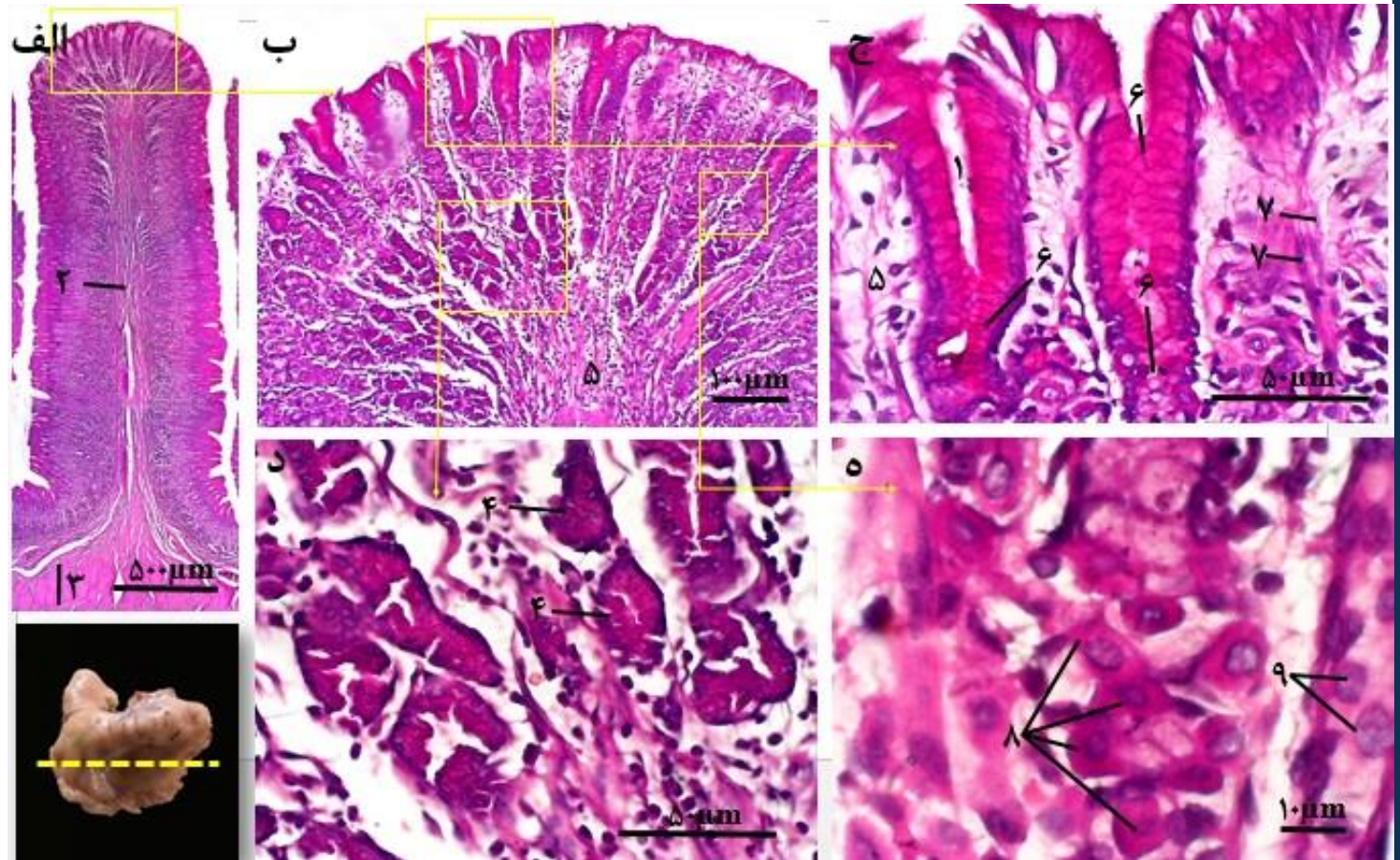
۵. الف) ناحیه تیره در قسمت فوندوس خاریشت سینه سفید جنوبی با میکروسکوپ نوری، ب) کادر زرد رنگ مشخص شده در (الف) با بزرگنمایی بالاتر را نشان می‌دهد که پوشش اپیتلیالی در آن مشخص است. ج) کادر زرد رنگ مشخص شده در ناحیه (الف) با بزرگنمایی بالاتر را نشان می‌دهد که در آن می‌توان غدد فوندوسی را مشاهده کرد. ۱: حفره‌های معده، ۲: اپیتلیوم استوانه‌ای ساده ترشح کننده‌ی موکوس، ۳: سلول‌های موکوسی گردنی، ۴: لامینا پروپریا، ۵: سلول‌های حاشیه‌ای، ۶: سلول‌های اصلی (رنگ آمیزی H&E، در (الف) با بزرگنمایی ۱۰× و در (ب)، (ج) با بزرگنمایی ۴۰×)



۶. الف) نمایی از ناحیه بدنه در معده خاریشت
 سینه سفید جنوبی با میکروسکوپ نوری، ب) کادر
 زرد رنگ مشخص شده در شکل (الف) با
 بزرگنمایی بیشتر نشان داده شده است که راس
 چین‌های معدی را نشان می‌دهد، ج) کادر زرد
 رنگ مشخص شده در شکل (ب) با بزرگنمایی
 بیشتر، پوشش اپیلیالی را نشان می‌دهد، د) در کادر
 زرد رنگ مشخص شده در شکل (ب) با
 بزرگنمایی بیشتر، غدد فوندوسی مشاهده می‌شوند،
 ه) غدد فوندوسی در تصویر (د) با بزرگنمایی بالاتر
 نشان داده شده است. ۱: حفره‌های معده، ۲: غدد
 فوندوسی، ۳: ماهیچه مخاطی، ۴: لایه مورب
 داخلی لایه عضلانی، ۵: لایه طولی خارجی لایه
 عضلانی، ۶: اپیتلیوم استوانه‌ای ساده‌ی ترشح‌کننده
 موکوس، ۷: لامینا پروپریا، ۸: سلول‌های موکوسی
 گردنی، ۹: سلول‌های اصلی، ۱۰: سلول‌های
 حاشیه‌ای (رنگ آمیزی H&E، در (الف)، با
 بزرگنمایی ۱۰×، در (ج)، (د) با بزرگنمایی ۴۰×،
 در (ه) با بزرگنمایی ۱۰۰×)



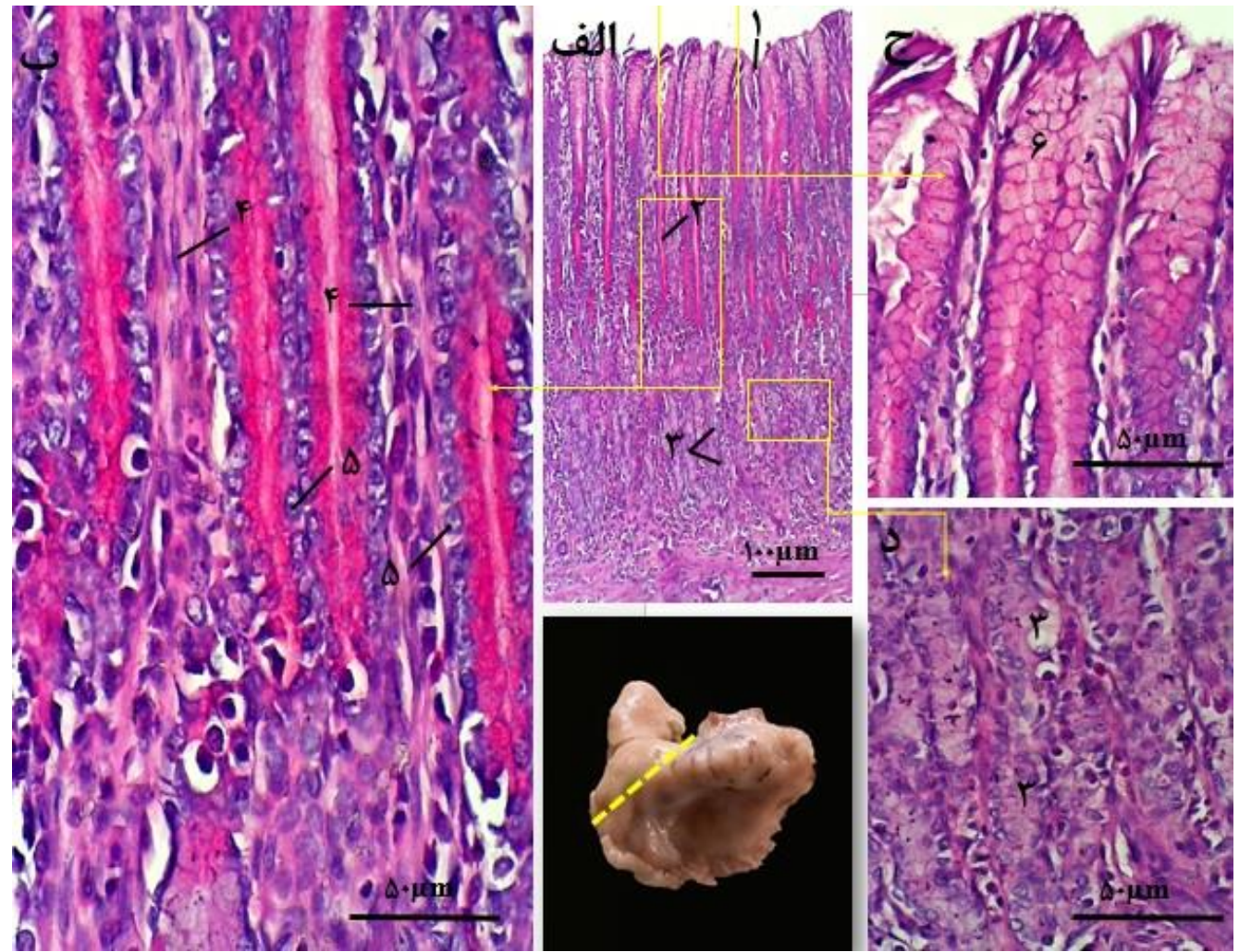
۷. الف) ناحیه بدنه معده خارپشت سینه سفید جنوبی با میکروسکوپ نوری، ب) کادر زرد رنگ مشخص شده در تصویر (الف) با بزرگنمایی بالاتر، راس چین‌های معدی را نشان می‌دهد، ج) کادر زرد رنگ در شکل (ب) با بزرگنمایی بالاتر است که نشان دهنده سلول‌های پوششی اپیتلیال است، د، ه) کادرهای زرد رنگ مشخص شده در شکل (ب) با بزرگنمایی بالاتر را نشان می‌دهند که غدد فوندوسی در آنها مشخص است. ۱: حفره‌های معده، ۲: ماهیچه مخاطی، ۳: لایه مورب داخلی لایه عضلانی، ۴: سلول‌های غدد معدی **PAS مثبت**، ۵: لامینا پروپریا، ۶: سلول‌های موکوسی گردن، ۷: سلول‌های ماهیچه صاف، ۸: سلول‌های حاشیه‌ای، ۹: سلول‌های اصلی (رنگ آمیزی PAS، در (الف) با بزرگنمایی ۱۰×، در (ب) با بزرگنمایی ۴۰×، در (ج)، (د)، (ه) با بزرگنمایی ۱۰۰×



در برخی از مناطق، ماهیچه مخاطی با لایه عضلانی که به داخل چین‌های معده کشیده شده بود، ادغام شده بود

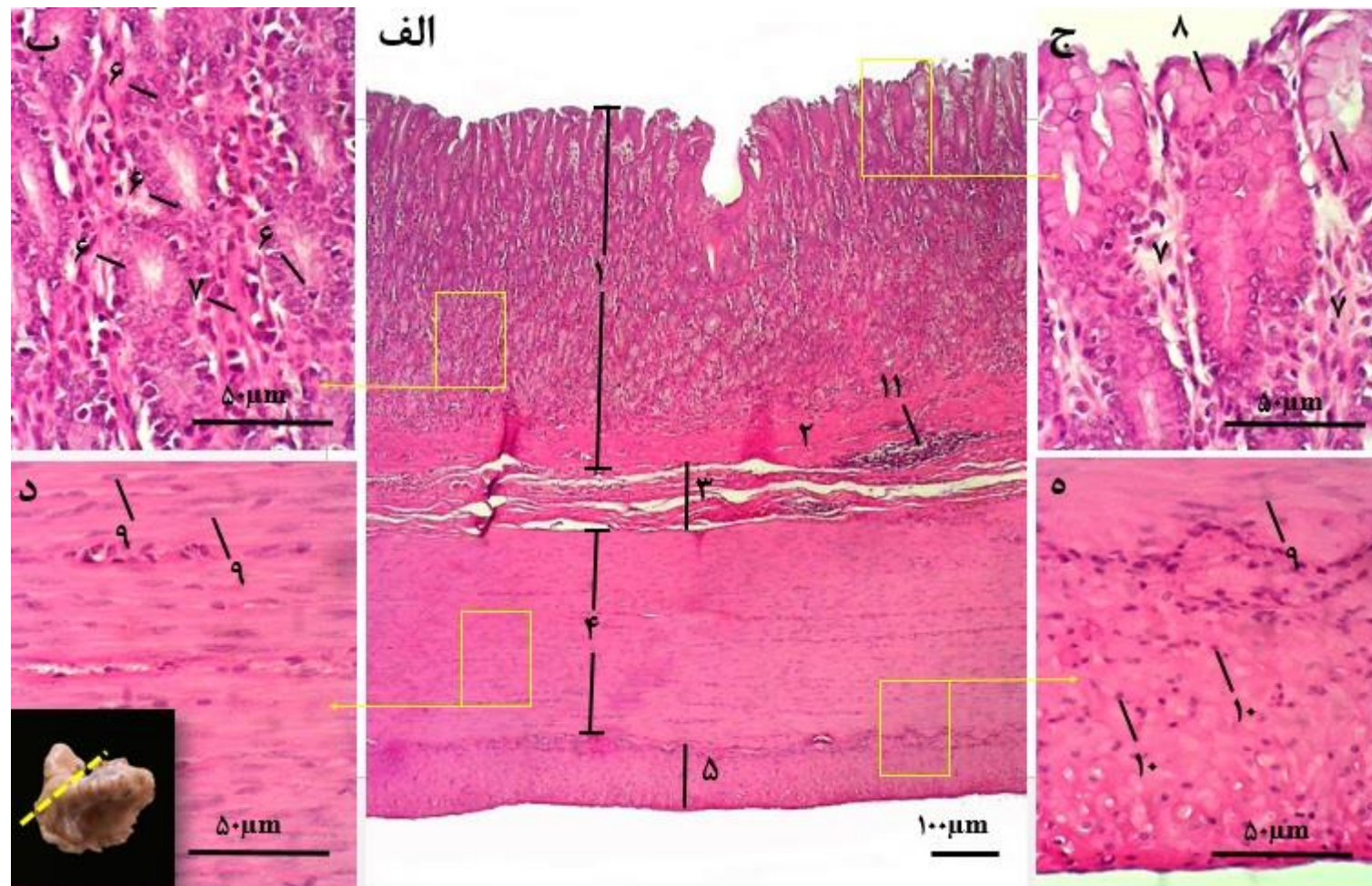
در یک سوم فوقانی غدد، سلول‌های جداری و اصلی متمرکز داشتند و تعداد قابل توجهی از سلول‌های جداری بزرگ تا قسمت گردن غدد گسترش یافته بود.

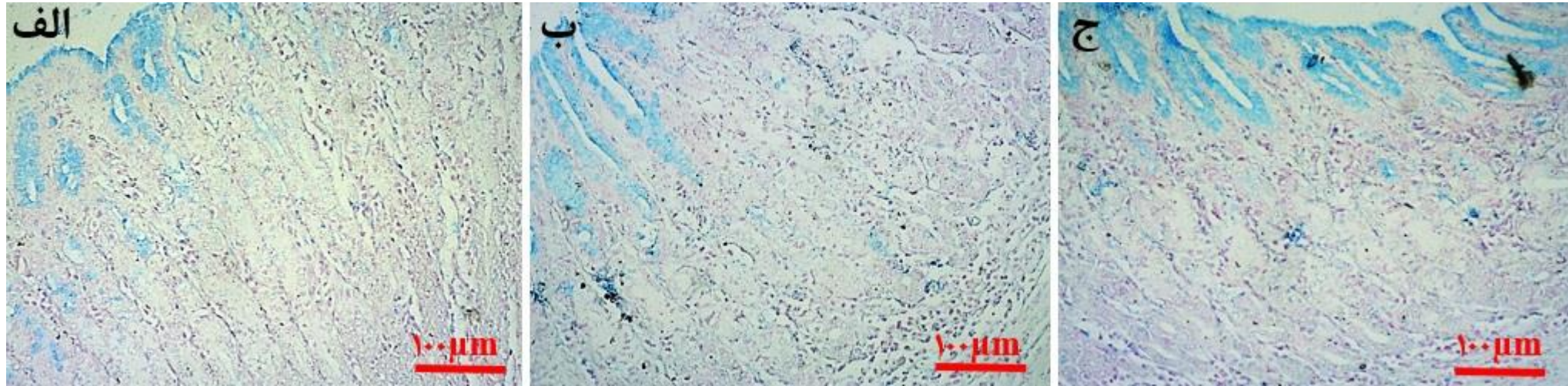
۸. الف) ناحیه پیلور معده در خاریشت سینه سفید جنوبی با میکروسکوپ نوری، ب) کادر زرد رنگ مشخص شده در تصویر (الف) با بزرگنمایی بیشتر که حفره‌های معدی عمیقی را نشان می‌دهد، ج) کادر زرد رنگ در شکل (الف) با بزرگنمایی بیشتر، سلول‌های پوششی اپیتلیال را نشان می‌دهد، د) کادر زرد رنگ در شکل (الف) با بزرگنمایی بیشتر را نشان می‌دهد. ۱: اپیتلیوم استوانه‌ای ترشح کننده موکوس، ۲: حفره‌های معدی عمیق، ۳: غدد پیلوری، ۴: سلول‌های ماهیچه صاف، ۵: هسته سلول‌های مخاطی، ۶: سلول‌های اپیتلیالی PAS منفی (رنگ آمیزی PAS، در شکل (الف) بزرگنمایی ۱۰× و در شکل (ب)، (ج)، (د) ۴۰×)



۹. الف) ناحیه پیلور معده در خارپشت سینه سفید جنوبی با میکروسکوپ نوری، ب) کادر زرد رنگ مشخص شده در شکل الف) با بزرگنمایی بیشتر نشان داده شده است که غدد پیلوری در آن مشخص است، ج) سلول‌های پوششی اپیتلیال (کادر زرد رنگ مشخص شده در الف) با بزرگنمایی بیشتر، د، ه) لایه عضلانی (کادر زرد رنگ مشخص شده در الف) با بزرگنمایی بیشتر.

۱: مخاط پیلور، ۲: ماهیچه مخاطی، ۳: زیرمخاط، ۴: لایه حلقوی میانی، ۵: لایه طولی خارجی، ۶: غدد پیلوری، ۷: لامینا پروپریا، ۸: اپیتلیوم استوانه‌ای ساده‌ی ترشح کننده‌ی موکوس، ۹: سلول‌های ماهیچه صاف، ۱۰: مقطع عرضی از هسته‌های سلول‌های ماهیچه صاف، ۱۱: تجمع سلول‌های لنفاوی (رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی در الف) $\times 10$ و در ب)، ج)، د)، ه) $\times 40$)

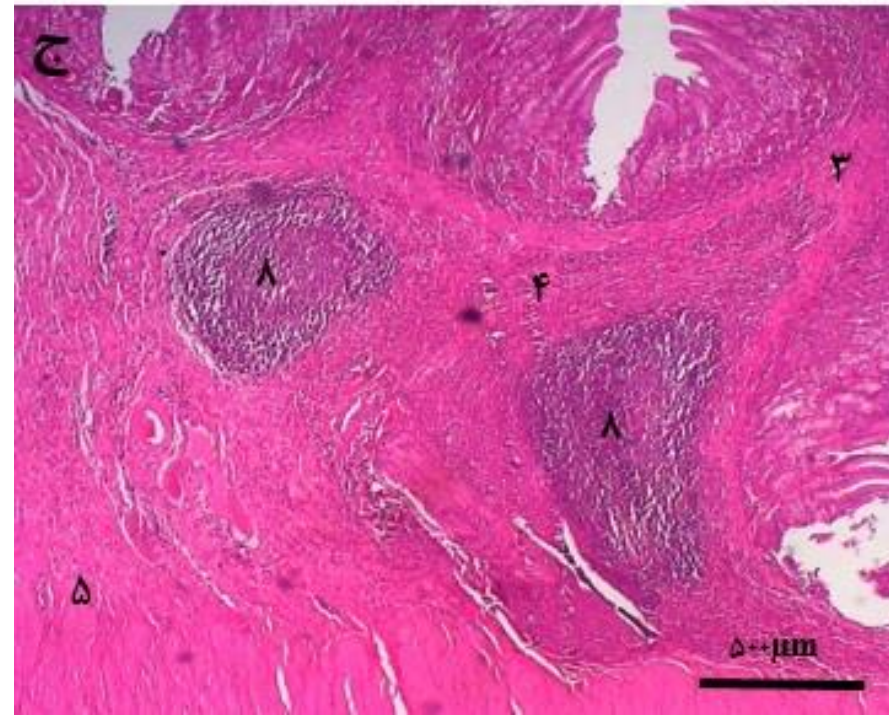
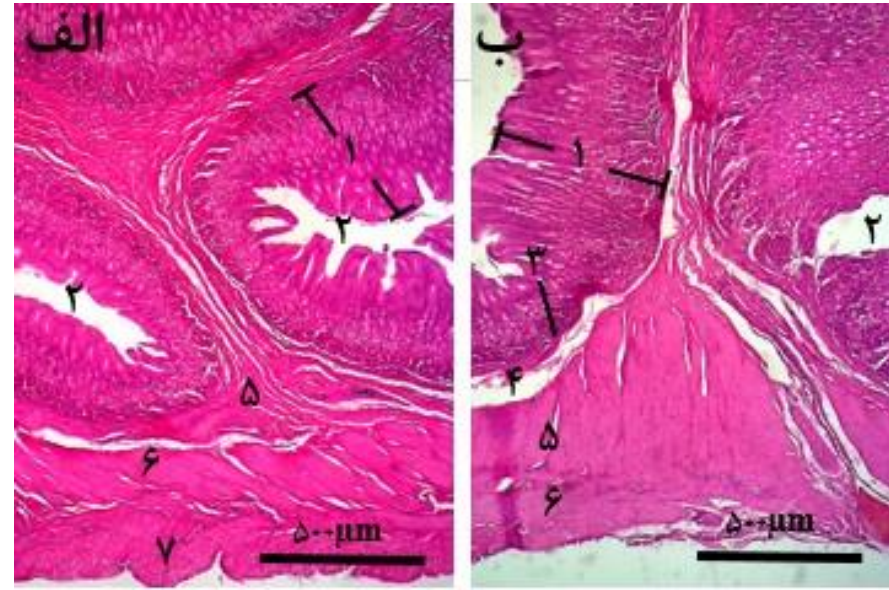




۱۰. رنگ آمیزی آلشین بلو که برای مخاط معده‌ی خارپشت سینه سفید جنوبی استفاده شده است. الف) فوندوس، ب) بدنه، ج) پیلور

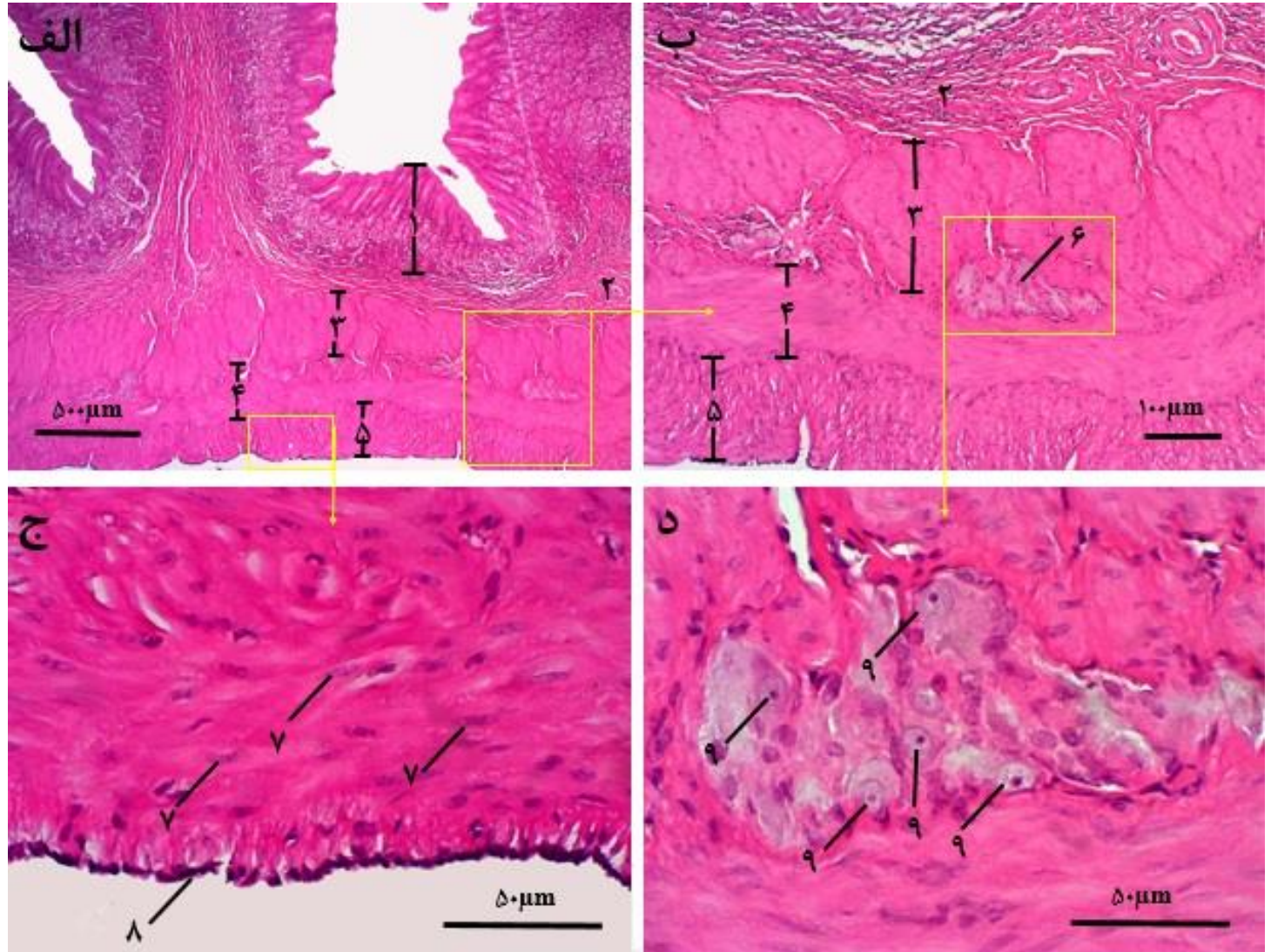
رنگ آمیزی آلشین بلو، واکنش مثبت متوسط در اپیتلیوم سطحی و چاله‌های معدی را نشان داد. غلظت موسین اسیدی در قسمت پیلور بیشتر از نواحی کاردیا یا بدنه بود، در حالیکه غدد معدی واکنش منفی به رنگ آمیزی آلشین بلو نشان دادند

۱۱. الف) ناحیه **فوندوس** با میکروسکوپ نوری، ب، ج) ناحیه **بدنه** معده خارپشت سینه سفید جنوبی که لایه عضلانی و زیر مخاط که شامل نودول‌های لنفاوی است، مشاهده می‌شود. ۱: مخاط معده، ۲: لومن معده، ۳: ماهیچه مخاطی، ۴: زیرمخاط، ۵: لایه مورب داخلی، ۶: لایه حلقوی میانی، ۷: لایه طولی خارجی، ۸: **ندول‌های لنفاوی** (رنگ آمیزی H&E با بزرگنمایی ۴×)

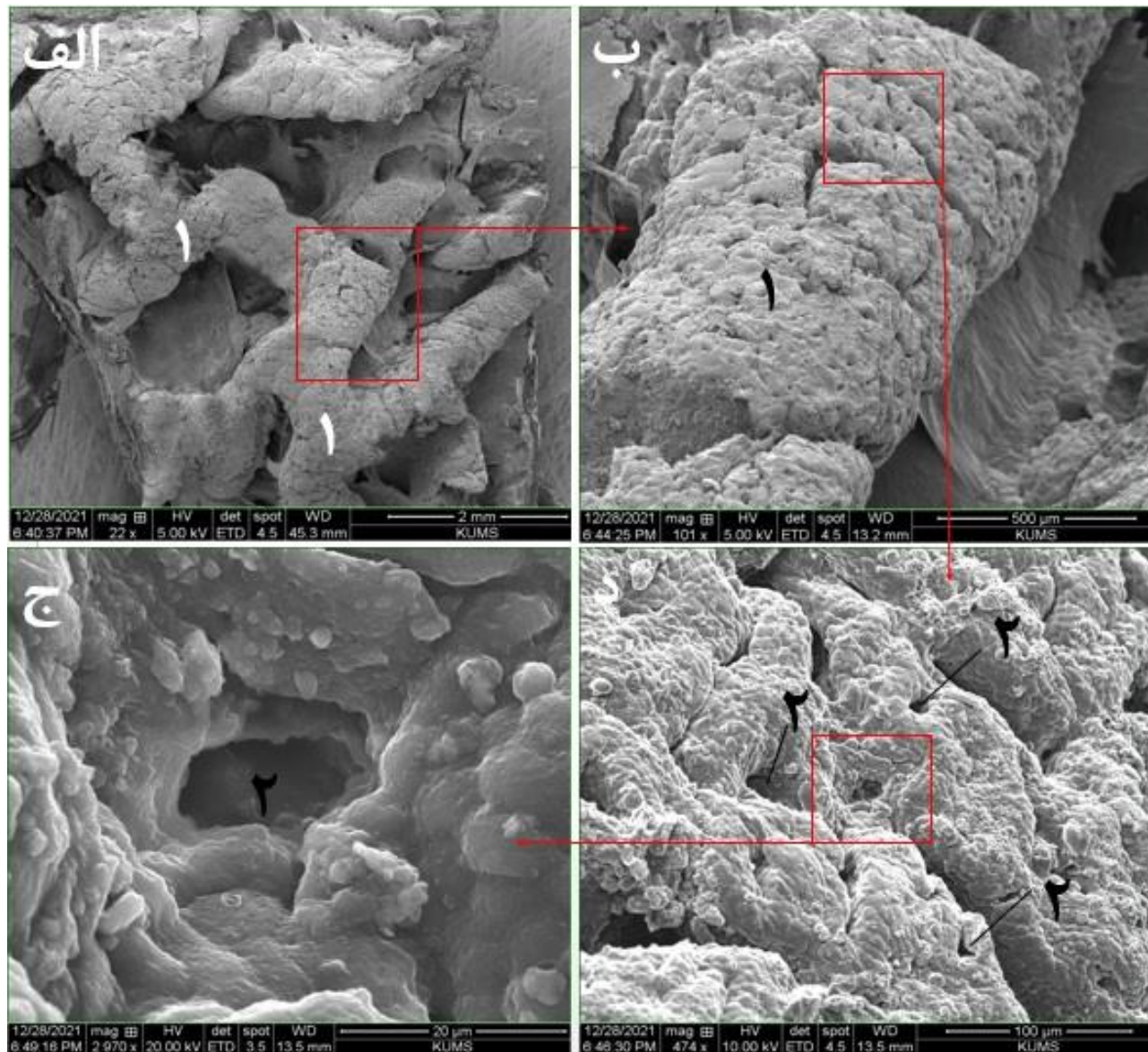


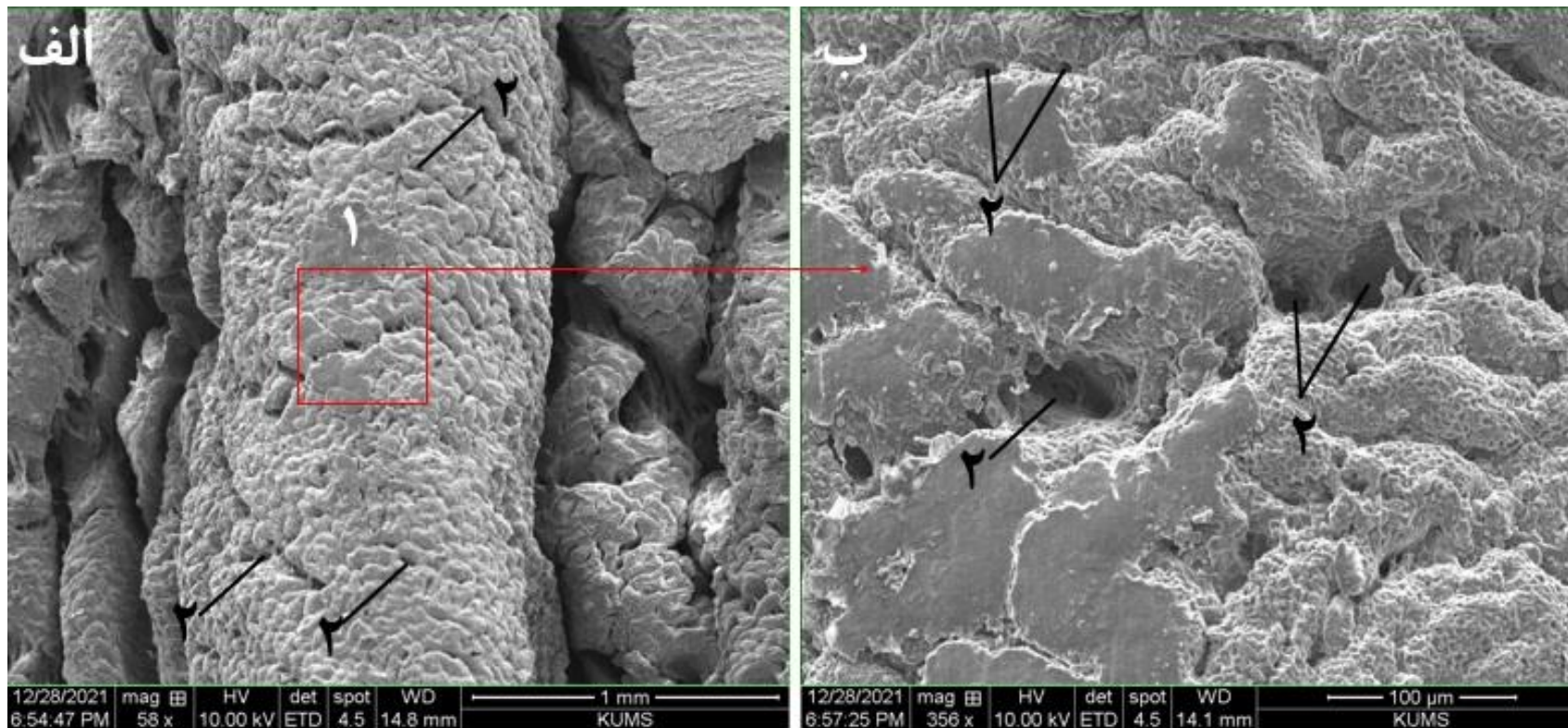
در برخی از چین‌های معده در فوندوس و بادی، از لایه عضلانی چندین شاخه عضلانی به زیرمخاط کشیده شده بود، بطوریکه در چنین نواحی زیرمخاط به وضوح قابل تشخیص نبود

۱۲. الف) ناحیه بدنه در خارپشت سینه سفید جنوبی که نشان دهنده لایه عضلانی و شبکه عصبی پاراسمپاتیکی میانتریک است، ب) شبکه میانتریک و لایه عضلانی (کادر زرد رنگ در الف) با بزرگنمایی بیشتر، ج) لایه عضلانی و سروز (کادر زرد رنگ در شکل الف) با بزرگنمایی بیشتر، د) شبکه عصبی میانتریک (کادر زرد رنگ در شکل ب) با بزرگنمایی بیشتر). ۱: مخاط معده، ۲: زیرمخاط، ۳: لایه مورب داخلی، ۴: لایه حلقوی میانی، ۵: لایه طولی خارجی، ۶: شبکه عصبی میانتریک، ۷: سلول‌های ماهیچه صاف، ۸: سلول‌های مزوتلیال سروز، ۹: جسم سلولی در شبکه میانتریک (رنگ آمیزی H&E، بزرگنمایی در الف) $\times 4$ و در ب) $\times 10$ و در ج)، د) $\times 40$)

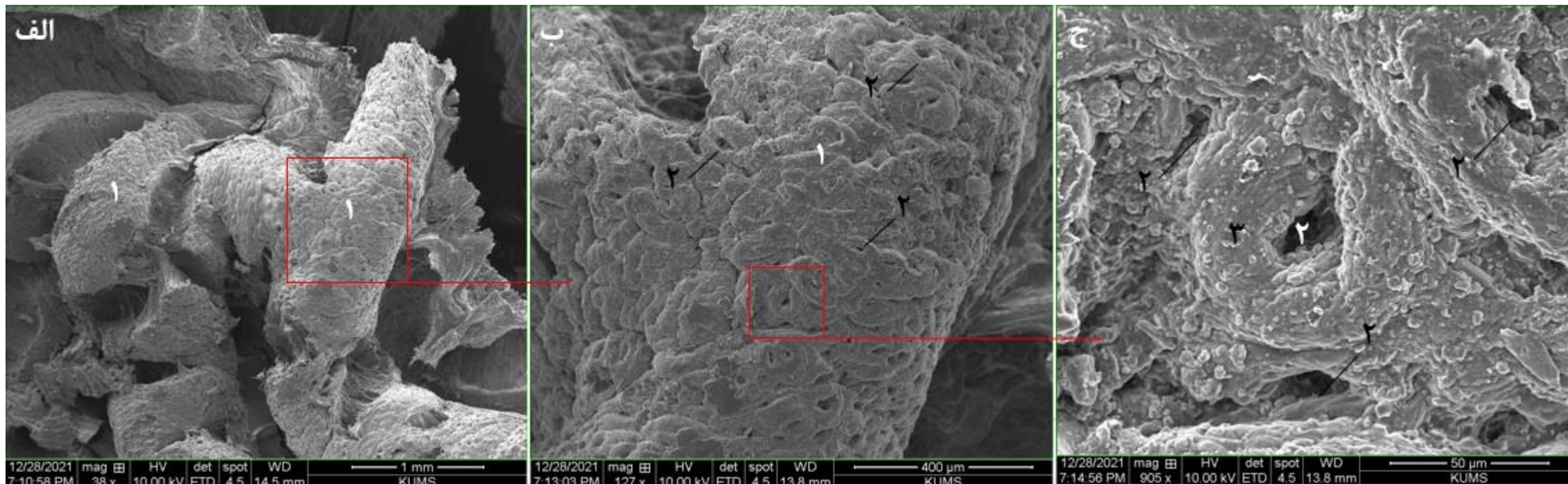


۱۳. نمایی از مخاط فوندوس در معده خارپشت
سینه سفید جنوبی با میکروسکوپ الکترونی
روبشی. ۱: چینی معده، ۲: منافذ غدد معدی

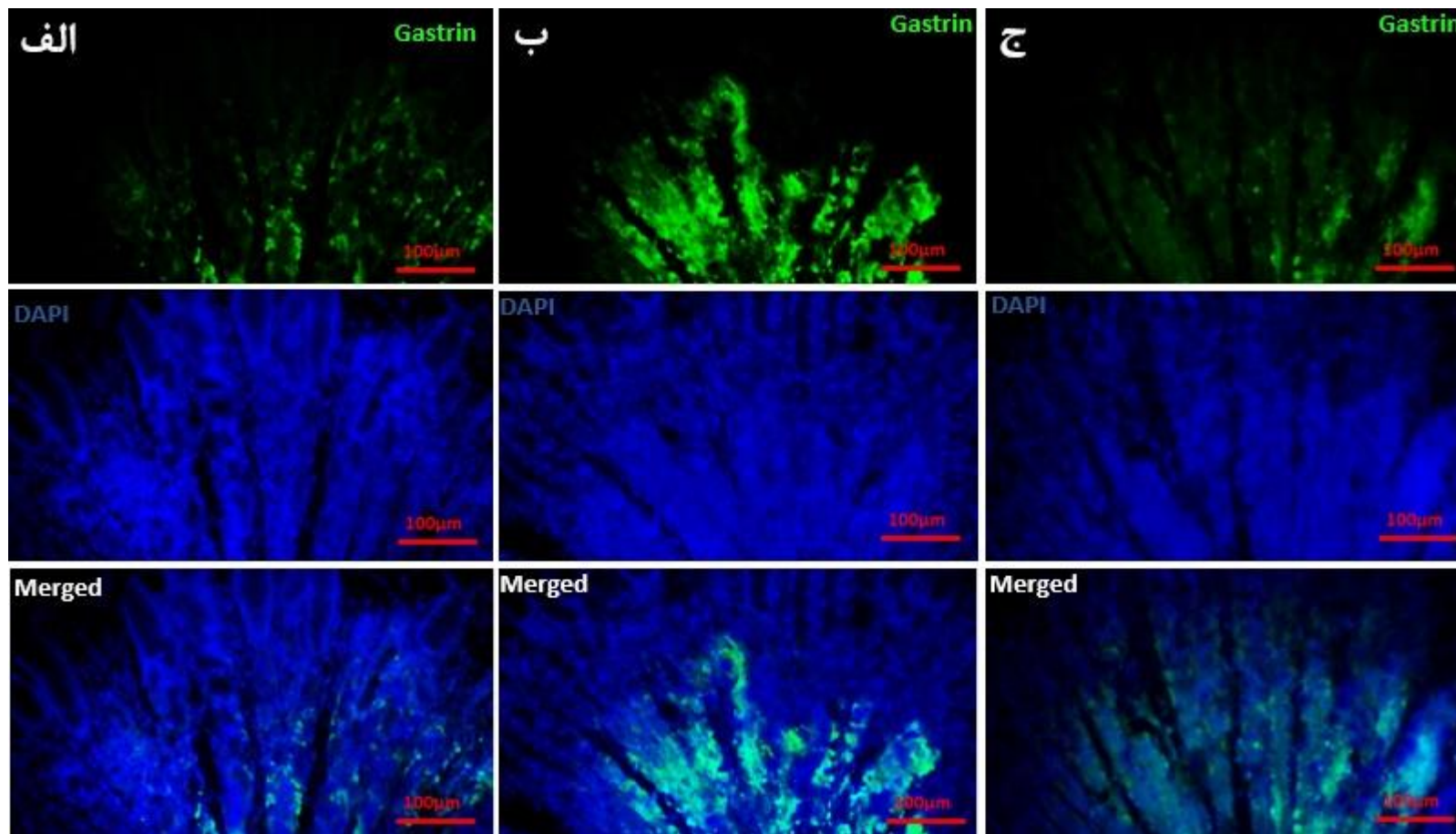




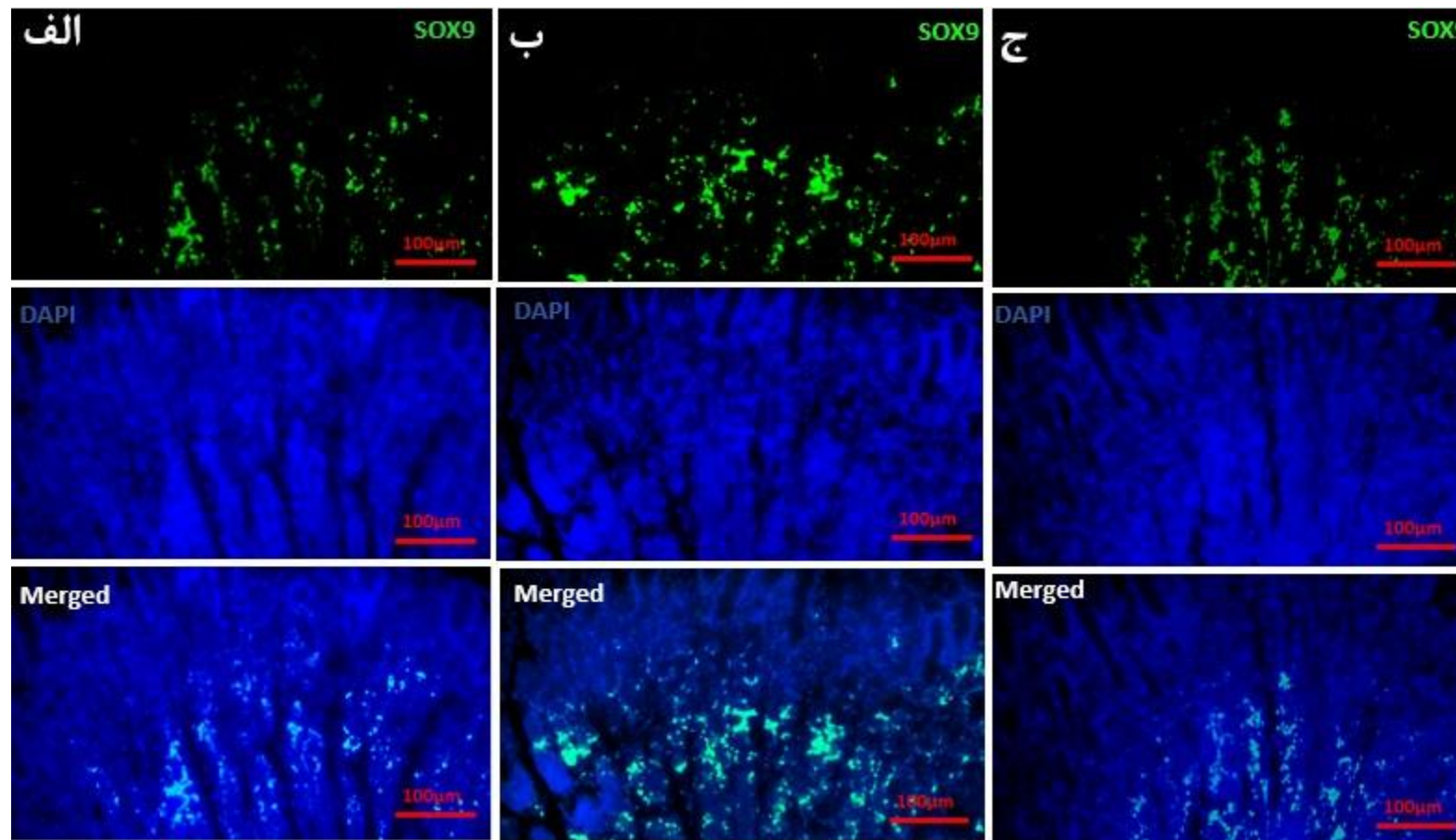
۱۴. نمایی از مخاط بدنه در معده خارپشت سینه سفید جنوبی با میکروسکوپ الکترونی روبشی. ۱: چینی معده، ۲: کادر قرمز مشخص شده در شکل (الف) با بزرگنمایی بیشتر که منافذ غدد معدی را نشان می دهد.



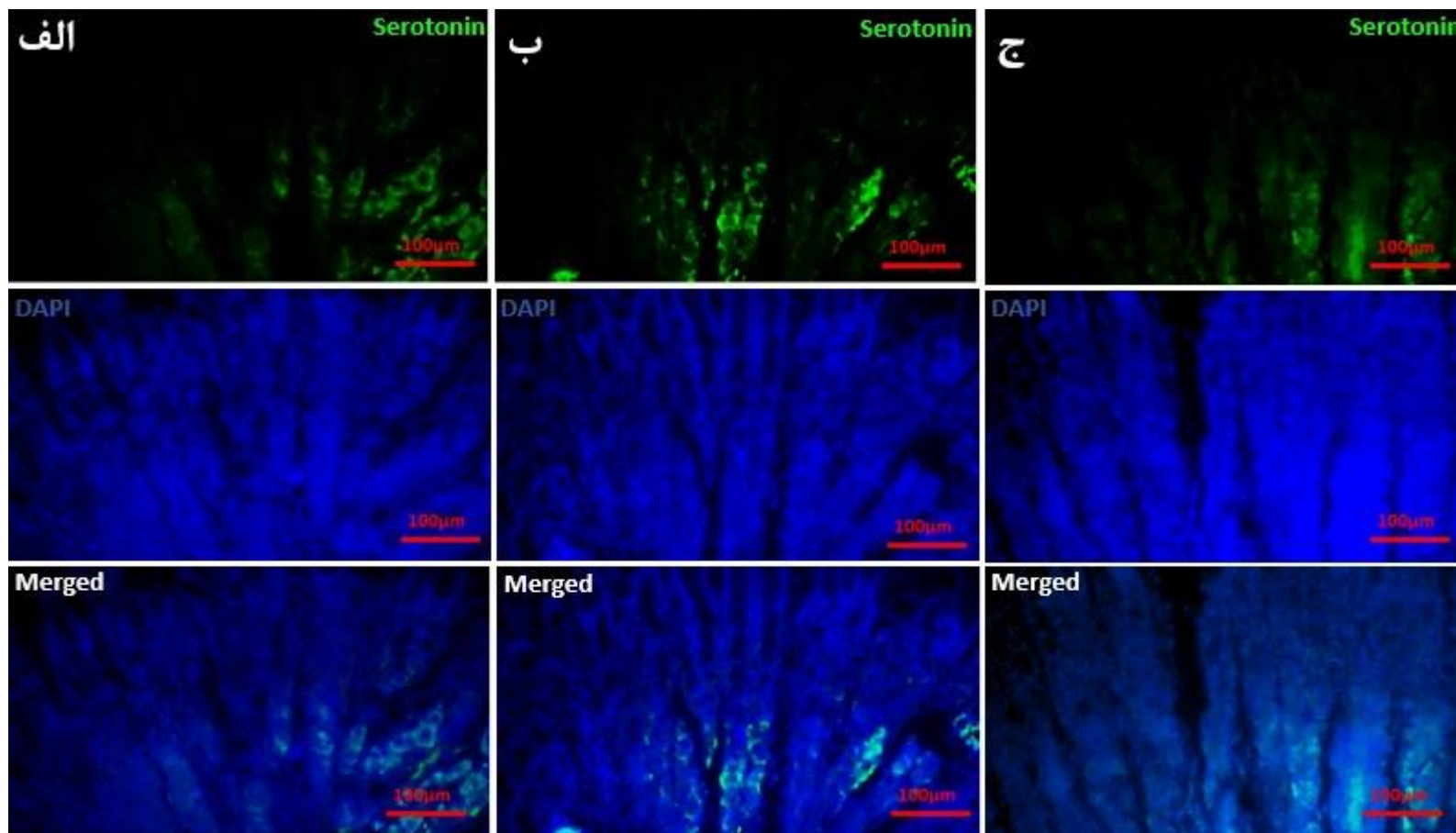
۱۵. نمایی از مخاط پیلور در معده خارپشت سینه سفید جنوبی با میکروسکوپ الکترونی روبشی. ۱: چینی معده، ۲: منافذ غدد معدی، ۳: چین حلقوی مخاطی



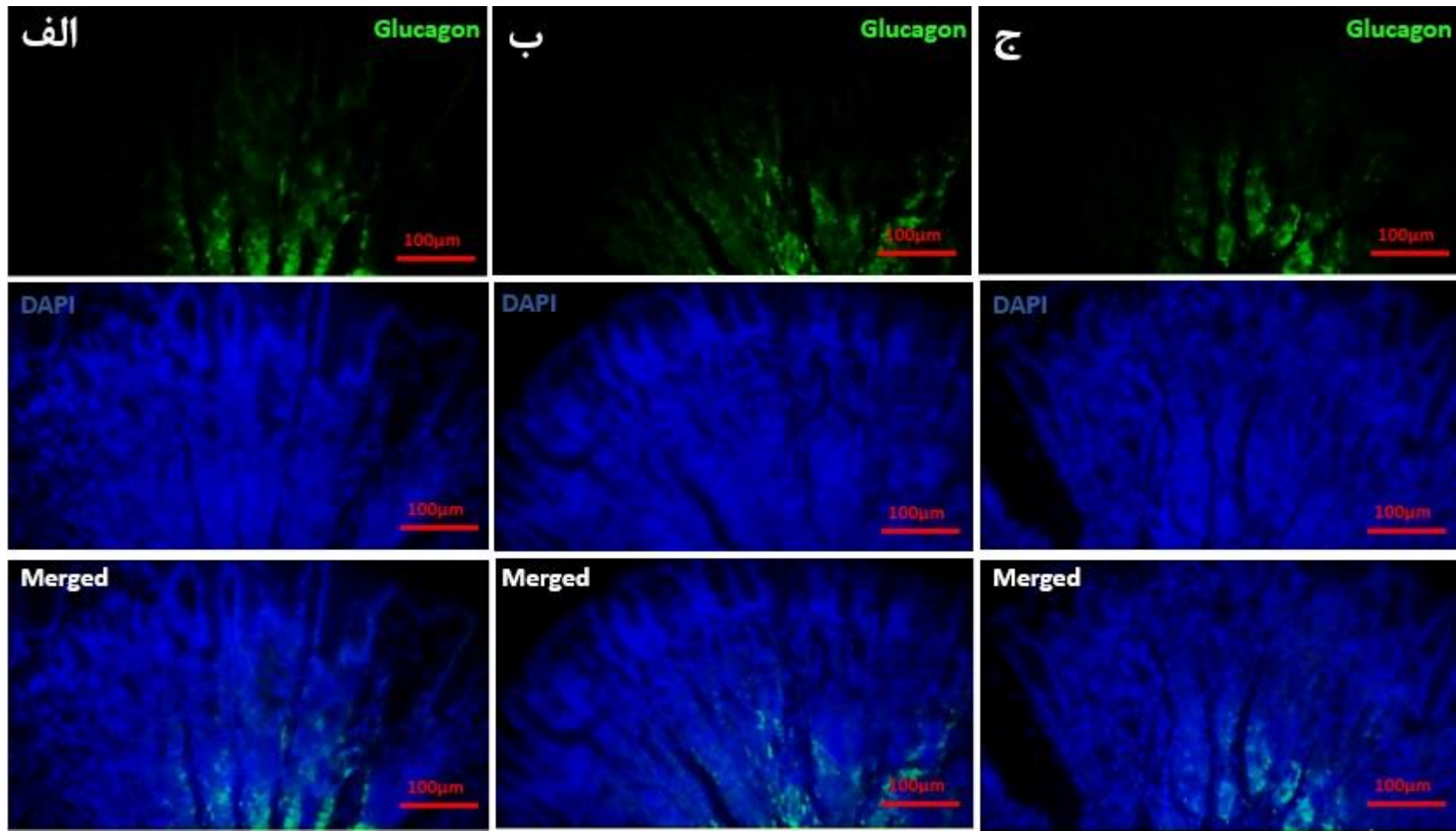
۱۶. تصاویر میکروسکوپ فلورسانس از سلول‌های اندوکرینی گاسترین - مثبت در مخاط معده‌ی خاریشت سینه سفید جنوبی. الف) فوندوس، ب) بدنه، ج) پیلور. (بزرگنمایی ۱۰×)



۱۷. تصاویر میکروسکوپ فلورسانس از سلول‌های اندوکرینی SOX9 مثبت در مخاط معده‌ی خارپشت سینه سفید جنوبی. الف) فوندوس، ب) بدنه، ج) پیلور. (بزرگنمایی ۱۰×)



۱۸. تصاویر میکروسکوپ فلورئورسانس از سلول‌های اندوکرینی سروتونین - مثبت در مخاط معده‌ی خارپشت سینه سفید جنوبی. الف) فوندوس، ب) بدنه، ج) پیلور. (بزرگنمایی ۱۰×)



۱۹. تصاویر میکروسکوپ فلوروسانس از سلول‌های اندوکرینی گلوکاگن - مثبت در مخاط معده‌ی خارپشت سینه سفید جنوبی. الف) فوندوس، ب) بدنه، ج) پیلور. (بزرگنمایی ۱۰×)



بحث و پیشنهادات



❖ معده خارپشت سینه سفید جنوبی از نوع ساده با ظاهری خمیده بود و اسفنکترهای کاردیا و پیلور به دلیل کوتاه بودن خمیدگی کوچک، به هم نزدیک بودند.

- با مطالعات صورت گرفته در موش صحرایی، موش، همستر، خرگوش، اسب و گوشتخواران، مطابقت دارد. (Ghoshal & Bal, 1989)

- با این حال، در خوکیه هندی و خفاش میوه‌خوار مصری، معده ای لوله‌ای و C شکل گزارش شده است. (Abumandour & Pérez, 2017; Ghoshal & Bal, 1989)

- در مطالعه‌ی مورفومتری Girgiri و همکاران (۲۰۱۵): ۱۲ عدد خارپشت ۴ انگشتی آفریقایی – با تعداد جنسیت مساوی

- خارپشت‌های ماده لوله گوارشی توسعه یافته‌تر در مقایسه با نرها – به طرز قابل توجهی اندازه طول خم بزرگ در ماده بیشتر از نر



❖ در سطح استریومیکروسکوپ و میکروسکوپ الکترونی روبشی، فوندوس بوسیله چین‌های معدی متعددِ قطور و به هم فشرده‌شده مشخص شد، درحالی که سطح مخاطی بدنه و نواحی کاردیا صاف‌تر بوده و چین‌های معدی ضخامت کمی داشتند.

• (1989) Bal و Ghoshal

فاقد چین: قسمت غده‌ای معده همستر و کاردیا و فوندوسِ معده خوکچه هندی

دارای چندین چین مخاطی: بخش غیر غده‌ایِ معدی موش



• Abumandour و همکاران (۲۰۱۷): بررسی معده خفاش میوه‌خوار - چین‌های طولی در سرتاسر طول معده امتداد یافته و تعداد آنها زیاد - در ناحیه فوندوس نازک، منشعب و صاف‌تر - در ناحیه کاردیا و پیلوریک ضخامت بیشتر بود و منشعب نبودند

• در نوعی وزغ زرد، چین‌های معدی در ناحیه پیلور برجسته تر بودند (Machado-Santos et al., 2014

این یافته‌ها نشان می‌دهد که ممکن است چین خوردگی مخاط برای آزادسازی ترشحات غدد معده ضروری نباشد. ←



- ❖ همچنین در این مطالعه، با بررسی میکروسکوپ الکترونی روبشی، **منافذ متعددی** برای تخلیه ترشحات غدد معده بر روی چین‌های فوندوس مشاهده شد و سطح مخاطی بدنه به شکل صاف بود.
- با این حال، به نظر می‌رسد که چین معده عملکرد مکانیکی دارد و به معده اجازه می‌دهد تا به اندازه کافی متسع شود و این چین‌ها بتوانند غذای بیشتری را در هنگام گوارش جابجا کنند (Haschek et al., 2010)



❖ بررسی بافت‌شناسی نشان داد که معده خارپشت سینه سفید جنوبی کاملاً غده‌ای بوده و دقیقاً مشابه معده گوشتخواران و انسان. (Eurell & Frappier, 2013).

• اگرچه خارپشت به راسته جونندگان تعلق ندارد، اما در یک دید مقایسه‌ای، معده‌ی موش، موش صحرایی، همستر، خوکچه هندی و جربیل، از هر دو بخش غیر غده‌ای و غده‌ای تشکیل شده‌اند (Ghoshal & Bal, 1989)



❖ بر اساس مشاهدات بافت شناسی، **غدد معده در کاردیا، پیلور و بخش کوچکی از ناحیه فوندوس**، تنها از سلول‌های ترشح‌کننده **موکوس**، تشکیل شده بود. در حالی که مخاط **فوندوس و بدنه حاوی غدد ترشح‌کننده اسید** بود. مسلماً چنین تفاوتی می‌تواند منجر به مقادیر مختلف pH در نواحی خاص معده شود.

- مقدار pH **ناحیه کاردیا** در انسان، موش صحرایی، سگ و میمون به دلیل جمعیت بیشتر سلول‌های جداری در قسمت تحتانی غدد معده، **بیشتر از ناحیه پیلور**، گزارش شده است. اگرچه در خرگوش در هر دو قسمت میزان PH ، پایین گزارش شده است. (Kararli, 1995)



❖ از آنجایی که هر دو بخش **کاردیا و پیلور** در خارپشت دارای **غدد ترشح کننده موکوس** هستند، انتظار می رود که این نواحی دارای **pH مشابه و بالاتری** در مقایسه با ناحیه فوندوس باشند. به علاوه توزیع غدد معدی اصلی بین گونه ها به طور قابل توجهی متفاوت است.

- در گوشتخواران این غدد بیش از نیمی از مخاط معده - در اسبها بیش از یک سوم - در خوک ها تقریباً یک چهارم مخاط معده را اشغال می کند (Eurell & Frappier, 2013)



❖ یکی دیگر از یافته‌های این مطالعه این بود که علاوه بر ناحیه باریکی که در **فوندوس** غدد مخاطی در آن وجود دارد، **دو ناحیه مجزا** نیز قابل تشخیص بود. یک ناحیه با **چاله‌های عمیق معده** و **مخاط نازک** و یک ناحیه با **چاله‌های معده کم عمق و مخاط ضخیم**.

• این وضعیت قبلاً فقط در **سگ** به عنوان مناطق روشن و تیره توصیف شده است (Eurell & Frappier, 2013).

• با این حال در مطالعه Santos که بر روی وزغ زرد به عنوان جاندار حشره‌خوار انجام داد، **غدد معدی** در **ناحیه پیلور بیشتر و عمیق‌تر** بودند (Machado-Santos et al., 2014)



❖ در مطالعه حاضر، رنگ آمیزی هیستوشیمیایی نشان داد که سلول‌های اپیتلیال پوشاننده نواحی کاردیا، فوندوس و بدنه به شدت PAS مثبت بودند، به ویژه در نیمه راسی سلول‌های آنها که مقادیر قابل توجهی موسین خنثی تجمع یافته در سیتوپلاسم راسی است. سلول‌هایی با بالاترین میزان موسین خنثی در اپیتلیوم بدنه مشاهده شدند، در حالی که واکنش اپیتلیوم پیلور برای PAS تقریباً منفی بود.

- در یافته‌های بافت شناسی وزغ زرد، ناحیه راسی سلول‌های پوششی در فوندوس، اسیدوفیل و به شدت PAS مثبت بود (Machado-Santos et al., 2014)
- مطالعه‌ای نشان داده است که در معده خو کچه هندی، اپیتلیوم فوندوس بیشترین شدت واکنش را به PAS نشان می‌دهد. (Chendeh et al., 2020)



❖ در این مطالعه، رنگ آمیزی آلشین بلو نشان داد که **اپتلیوم پیلور** نسبت به سایر نواحی، مخاط اسیدی بیشتری تولید می کند. علاوه بر این، نکته قابل توجه این است که غدد پیلوریک به PAS یا آلشین بلو واکنش نشان ندادند. بنابراین می توان تفسیر کرد که **مخاط پیلور در خارپشت در تولید موسین نقشی ندارد.**

- با این حال، نکته جالب اینجاست که غدد معدی اصلی در **فوندوس و بدنه** حاوی سلول های PAS مثبت در قسمت های قاعده ای خود بودند که در **سنتز موسین خنثی** نقش دارند.
- این مشاهدات در تضاد با موارد گزارش شده در سایر گونه های پستانداران (Raica et al., 2004) و **خوکچه هندی** (Chendeh et al., 2020) است.



- مطالعه دیگری گزارش داده است که **غدد پیلور خوکیچه هندی برای PAS و آلشین بلو مثبت** هستند (Chendeh et al., 2020) در حالی که یافته‌های به دست آمده در مورد معده خارپشت کاملاً برعکس بود

- در مقایسه‌ی مورفولوژیکی و بافت‌شناسی که بر روی دستگاه گوارش چهار گونه خفاش حشره‌خوار توسط Aylward و همکاران انجام شد، **سلول‌های ترشح‌کننده موسین خنثی در نواحی پیلور معده و پروگزیمال روده در همه گونه‌ها مشاهده شد** (Aylward et al., 2019)



❖ در مطالعه ایمونوهیستوشیمی صورت گرفته، توزیع سلول‌های **گاسترین** به این صورت بود که؛ در **ناحیه بدنه بیشترین مقدار** و در ناحیه پیلور کم‌ترین مقدار را داشتند. این مشاهدات با نتایجی که در سایر گونه‌ها گزارش شده‌است، در تضاد است.

• در واقع، در جوندگان، خرگوش، خوک، سگ و گربه، سلول‌های گاسترین به **آنتروم پیلور** محدود می‌شود (Karam & Leblond, 1993)

• همچنین گزارش شده‌است که در مارمولک چمن (Lee & Ku, 2004) و قورباغه چروکیده (Ku et al., 2003)، سلول‌های گاسترین مثبت به **غدد پیلور** محدود می‌شوند.

• علاوه بر این در حشره‌خوار آسیایی که نوعی پستانداران است و در خارپشت کره‌ای، بیشترین مقدار گاسترین در **پیلور** گزارش شده است (Kitamura et al., 1990 & Lee et al., 1991)



❖ بیان بالای گاسترین در بدنه معده خارپشت سینه سفید جنوبی را می توان به **غدد اصلی معدی با تعداد زیاد سلول های جداری** که در این ناحیه قرار داشت، نسبت داد.

❖ رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی در این مطالعه نشان داد که ژن **SOX9** در بدنه بیشتر از فوندوس یا قسمت پیلور بیان می شود.

• در معده طبیعی انسان در **بدنه** و **پیلور**، بیان ژن **SOX9** به ترتیب به صورت **کم** و **متوسط** گزارش شده است (Sashikawa Kimura et al., 2011).



• در مطالعه دیگری، بیان **SOX9** مزودرمی در ناحیه پیلور و ناحیه خلفی معده در جنین ۷.۵ هفته ای انسان تشخیص داده شده است (Sashikawa Kimura et al., 2011)

• در مطالعه‌ای که بر روی دستگاه گوارش جوجه‌ها انجام شد، نشان دادند که بیان صحیح **SOX9** در طی تکامل جوجه، به هماهنگی سیگنال‌دهی بین اندودرم و مزودرم کمک می‌کند و این فعل و انفعالات اپیتلیالی - مزانشیمی منجر به مورفوژنز خاص اندام و تمایز مناطق مختلف دستگاه گوارش می‌شود. (Theodosiou & Tabin, 2005)

• همچنین، فاکتورهای **SOX** در بسیاری از فرآیندهای رشد، مانند تمایز مردانه، اسکلت‌زایی، نوروژنز، و رشد ستیغ عصبی نقش دارند و در این فرایندها بنیادی شدن سلول، سرنوشت سلولی و تمایز را کنترل می‌کنند (Akiyama & Lefebvre, 2011; Guth & Wegner, 2008; Haldin & LaBonne, 2010; Jakob & Lovell-Badge, 2011; Kashimada & Koopman, 2010; Lefebvre et al., 2007; Uchikawa et al., 2011; Wegner, 2010).

❖ با توجه به اینکه بیان بالای **SOX9** در ناحیه بدنه دیده می‌شود، می‌توان گفت توانایی تکثیر سلول‌های پوششی ناحیه‌ی بدنه در مقایسه با سایر نواحی معده در خارپشت بیشتر است.



❖ اگرچه میزان بیان **سروتونین** در غدد معدی کم بود، اما این ژن در ناحیه **بدنه** بیش از سایر نواحی بیان شد.

• این یافته با مشاهداتی که در مطالعه بر روی سلول‌های **غدد درون ریز معده خرگوش** انجام شده است، مطابقت دارد. محققین این مطالعه نشان دادند که غدد معده در کاردیا، فوندوس و پیلور واکنش ایمنی کمی برای سروتونین نشان دادند. (Türk et al., 2019)

• همچنین بیان سروتونین در معده گراز وحشی (Dall'Aglio et al., 1998)، موش‌های بدون مو (KU et al., 2002)، انواع تشی، تشی کاکلی (Timurkaan et al., 2005) و موش‌های ddN (Lee et al., 2010) **متوسط** گزارش شده است.



- سلول‌های سروتونین مثبت در ناحیه معده‌ی یک سری از گونه‌های مختلف پستانداران و غیرپستانداران از جمله خوک‌آهوی طلایی (Agungpriyono et al., 2000)، لاک پشت گوش سرخ (Ku et al., 2001)، موش C57BL/6 (Ku et al., 2003)، موش Balb/c (al., 2004)، خفاش حشره‌خوار (Santos et al., 2008)، نوعی گوزن شاخ دار هندی (Adnyane et al., 2011)، به میزان فراوانی گزارش شده‌است.

- روی هم رفته، توزیع سلول‌های واکنش پذیر سروتونین در نواحی معده پستانداران و غیر پستانداران تنوع وابسته به گونه را نشان می‌دهد.

❖ سلول‌های واکنش‌گر **گلوکاگون** در قسمت‌های مختلف معده خارپشت سینه سفید جنوبی بسیار کم بودند. با این حال، میزان بیان آن در **بدنه** در مقایسه با فوندوس یا پیلور کمی بیشتر بود.



• به طور مشابه، بیان گلوکاگون در **غدد معده خرگوش** به میزان خیلی کمی گزارش شده است (Türk et al., 2019).

• همچنین در مطالعات قبلی، تعداد سلول‌های گلوکاگون مثبت در کاردیا و فوندوس سنجاب درختی کره‌ای (Lee et al., 1991)، در پیلور و فوندوس نوعی خوک آهو (Agungpriyono et al., 2000)، لاک پشت گوش سرخ (Ku et al., 2001)، موش C57BL/6 (Ku et al., 2003)، خفاش حشره‌خوار (Santos et al., 2008)، موش ddN (Lee et al., 2010)، به **میزان کم** گزارش شده است.

• در خارپشت کره‌ای سلول‌های ترشح‌کننده گلوکاگون به ندرت در نواحی پیلور و فوندوس دیده شدند و در ناحیه کاردیا شناسایی نشدند (Lee et al., 1991)



- این یافته‌ها نشان می‌دهد که توزیع و فراوانی نسبی سلول‌های غدد درون ریز در بدنه، فوندوس و پیلور خارپشت سینه سفید جنوبی تقریباً مشابه گزارشاتی است که در سایر گونه‌های پستاندار و غیر پستاندار با عادات غذایی یکسان ارائه شده‌است، اما تفاوت‌های بین گونه‌ای بایستی در نظر گرفته شوند. این تفاوت‌ها می‌تواند در درک تکامل دستگاه گوارش به موازات تکامل گونه‌ها و منابع تغذیه‌ای مفید باشد.

نتیجه گیری



- بر اساس یافته‌های پژوهش حاضر، معده خارپشت سینه سفید جنوبی از نوع غده‌ای ساده بوده و مخاط آن به طور کامل توسط یک اپیتلیوم استوانه‌ای ساده پوشیده شده است. از نظر بافت‌شناسی، معده را می‌توان به سه قسمت کاردیا، فوندوس و پیلور با توجه به غدد معده تقسیم کرد. مخاط کاردیا حاوی غدد ترشح‌کننده موکوس با رنگ آمیزی PAS مثبت و PAS منفی بودند. مخاط فوندوس مجاور اسفنکتر کاردیا حاوی غدد ترشح‌کننده موکوس بود و به سمت بدنه به دو ناحیه روشن و تیره تقسیم می‌شد. این نواحی و بدنه معده حاوی غده معدی اصلی بودند که به طور فعال در ترشح اسید و آنزیم نقش داشتند. این غدد حاوی سلول‌های PAS مثبت در قسمت‌های قاعده خود بودند. غدد پیلور PAS منفی بودند. در واکنش به آلشین بلو، تمام غدد معده منفی بودند، اما سلول‌های اپیتلیال واکنش متوسطی به خصوص در ناحیه پیلور نشان دادند. ژن‌های SOX و گاسترین در بدنه و غدد فونددیک بیان بیشتری داشتند. بیان سروتونین و گلوکاگون در نواحی مختلف معده بسیار کم بود. از دیدگاه مقایسه‌ای، نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که معده خارپشت سینه سفید جنوبی احتمالاً شباهت‌های بیشتری با معده سگ داشته باشد.

پیشنهادات



- بررسی سایر مارکرهای ایمونوهیستوشیمی در سلول‌های معده خاریشت
- بررسی غدد نواحی مختلف معده در سطح میکروسکوپ الکترونی گذاره
- مطالعه سیستم اعصاب خودمختار معده در خاریشت

Microanalysis of the stomach of southern white-breasted hedgehog (*Erinaceus concolor*): Histological, histochemical, immunohistochemical, and scanning electron microscopic studies

Maryam Almasi¹ | Nader Goodarzi² 

¹Faculty of Veterinary Medicine, Razi University, Kermanshah, Iran

²Department of Basic Sciences and Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Razi University, Kermanshah, Iran

Correspondence

Nader Goodarzi, Department of Basic Sciences and Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Razi University, Kermanshah, Iran.
Email: n.goodarzi@razi.ac.ir

Funding information

Razi University.

Review Editor: Paul Verkade

Abstract

This study was designed to provide more detailed knowledge on the stomach histochemistry and immunohistochemistry in the southern white-breasted hedgehog (*Erinaceus concolor*). Two animals were used in the present work. Periodic acid Schiff's (PAS) and Alcian blue were used for histochemical purposes. SOX9, gastrin, serotonin, and glucagon markers were traced immunohistochemically. The mucosa was extremely folded in the fundus with numerous opening of glands. The body and pylorus mucosa were almost smooth and equipped with gastric gland openings. A simple columnar epithelium covered the stomach entirely. Cardiac glands region was mucus secreting with both positive and negative reactions to PAS. Fundic mucosa was contained cardiac glands near to the cardia, and toward the body it was divided into the light and dark zones. These zones and body contained proper gastric gland, which constituted of parietal, chief, and mucous neck cells. These glands contained PAS-positive cells on their basal portions. The pyloric glands were mucus secreting but negative for PAS. All gastric glands were Alcian blue-negative, but epithelium showed moderate reaction especially in the pylorus. SOX and gastrin were express highly in the body and fundus. The expression of serotonin and glucagon was rare. Comparatively, some similarities between the stomach of hedgehog and dog can be assumed. The present findings provide additional information concerning the histochemical characteristics and endocrine cells distribution in the stomach of the southern white-breasted hedgehog (*Erinaceus concolor*). Further detailed studies are required to enhance the current knowledge on histophysiology of the digestive system in this species as a pet and exotic animal.

Highlights

- The stomach was simple glandular type.
- The fundus was divided into light and dark zones similar to the dog.
- The proper gastric glands were periodic acid Schiff's positive at their basal parts.

KEYWORDS

gastrin, hedgehog, serotonin, stomach

مقاله مستخرج

در پایان از استاد بزرگوارم جناب آقای دکتر نادر گودرزی که راهنمایی این پایانامه را به عهده داشته‌اند، به پاس زحمات بی‌شائبه‌شان در طی انجام این تحقیق سپاسگزاری می‌نمایم.

همچنین از اساتید بزرگوار خانم دکتر طیبه محمدی و آقای دکتر پویا پورنقی که زحمت داوری و تصحیح این پایانامه را به عهده داشتند کمال سپاس را دارم.

از استاد عزیز و بزرگوارم خانم دکتر سیاوش حقیقی که در طول تحصیل، وجودشان مایه دل‌گرمی من بود، سپاس گزارم.

با سپاس فراوان از مادر و پدر عزیزم:

آنان که ناتوان شدند تا ما به توانایی برسیم... موهایشان سپید شد تا ما روسفید شویم... و عاشقانه سوختند تا گرمابخش وجود ما و روشنگر راهمان باشند.

با سپاس فراوان از خواهر و برادرم که همواره وجودشان شادی بخش و مایه آرامش من بود.

از دوستان عزیزم و دوست مهربانم غزل کیوان فرد، که در سخت‌ترین لحظات این مسیر با کمک‌های بی‌دریغ خود همراهم بودند نهایت تقدیر و تشکر را دارم.





سپاس از توجه و همراهی شما بزرگواران