

# شناسایی قندهای سطح سلولی بخش مرکزی غده فوق کلیوی در دوران جنینی و نوزادی موش سوری به روش لکتین هیستوشیمیایی

\*دکتر محمد آهی،<sup>۱</sup> دکتر ناهید رحیمی فرد،<sup>۳</sup> دکتر مختار جعفرپور،<sup>۲</sup> دکتر سکینه غفاریان،<sup>۴</sup> دکتر حسن مفیدپور،<sup>۵</sup> مرتضی حسین زاده،<sup>۶</sup> مژگان خلیلی،<sup>۷</sup> دکتر علیرضا فاضل

تاریخ دریافت: ۸۲/۲/۷

تاریخ پذیرش: ۸۴/۷/۱۴

## چکیده

### هدف

انجام این مطالعه جهت شناسایی قند یا قندهای انتهایی شاخص در تکامل قسمت مرکزی غدد فوق کلیوی است. همچنین مشخص نمودن روزهای جنینی یا نوزادی که این قندها به عنوان فاکتور القایی در تکامل نقش دارند، هدف دیگر بررسی است.

### مواد و روش کار

برای بررسی از ۱۲ سر موش ماده و ۴ سر موش نر نژاد BALB/c استفاده شد. جنین ها در روزهای مختلف بارداری و نوزادان تا روز پانزدهم، بعد از فیکس شدن از آنها با روش های معمول بافت شناسی مقاطع در ناحیه غدد فوق کلیوی تهیه شد. تعداد جنین ها و نوزادان طبیعی بررسی شده ۷۸ عدد بود. جهت شناسایی قندهای انتهایی از ردیابهای قندی شامل لکتینهای PNA (Peanut agglutinin)، VVA (Vicia villosa agglutinin)، GSA1-B4 (Grifonia simplicifolia-B4) استفاده شد. لکتین ها بعد از اتصال به قند انتهایی به وسیله رنگ (Diaminobenzidin) DAB شناسایی می شدند.

### نتایج

در روزهای مختلف جنینی از روز سیزدهم تا تولد و تا روز پانزدهم نوزادی، سلولهای بخش مرکزی غده فوق کلیوی فقط با لکتین PNA واکنش دادند. در آزمایش با لکتین های دیگر که از برشهای متعدد و در روزهای مختلف جنینی و نوزادی همانند آزمایش با PNA استفاده شد، هیچ واکنشی در بخش مرکزی غده فوق کلیه مشاهده نگردید.

### نتیجه گیری

یافته های این مطالعه نشان داد که قند انتهایی Gal-GalNAc که ویژه لکتین PNA است، در روزهای تکاملی فوق ظهور می یابد. لذا پیشنهاد می شود که در دوران فوق قند مذکور نقش کلیدی را در تکامل ناحیه مرکزی غده فوق کلیوی به عهده دارد.

**کلمات کلیدی:** لکتین هیستوشیمی، لکتین PNA، ناحیه مرکزی غده فوق کلیوی.

۱- استادیار گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۲۲۰۹۹۵۱۸، اhi\_mohammad@yahoo.com

۲- استادیار پژوهشی، اداره کل آزمایشگاههای کنترل وزارت بهداشت و درمان

۳- استادیار گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

۴- مربی گروه ایمنولوژی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام

۵- مربی دانشکده مامایی و پرستاری، دانشگاه علوم پزشکی ایلام

۶- استادیار گروه علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

## مقدمه

منشأ سلولهای کرومافینی موجود در ناحیه مرکزی غدد فوق کلیوی، سلولهای نورال کرسست است. این سلولها پتانسیل وسیعی در تشکیل بافتهای جنینی دارند که در موارد زیادی تحقیق در زمینه مسیر و مقصد آنها صورت گرفته است. طبق گزارشات ناشی از این تحقیقات، برخی از سلولهای نورال کرسست همراه و هم مسیر با سلول های تشکیل دهنده گانگلیونهای سمپاتیک، مهاجرت کرده و در بخش انتهایی مسیر، همراه اعصاب اسپلانکتیک در ناحیه مرکزی غده فوق کلیوی در طول این فیبرهای عصبی از طریق راههای داخل و مجاور عروقی استقرار می یابند (۲،۱).

در مورد نحوه اجتماع سلولهای ترشح کننده نوروپپتیدها در ناحیه مرکزی غده فوق کلیوی تحقیقات گسترده ای صورت گرفته که به طور عمده با استفاده از روشهای ایمونوهیستوشیمی به نتیجه رسیده است. در این بررسی ها، با استفاده از ردیاب های ویژه همانند آنتی بادی ها، سلولهای کرومافینی ناحیه مرکزی غدد فوق کلیوی مورد بررسی و تحقیق قرار گرفته است (۴،۳).

De falco و همکارانش در سال ۲۰۰۲ با استفاده از آنتی بادی های پلی کلونال به وجود نوروپپتیدهای جدیدی در غدد فوق کلیوی پی بردند (۵). با استفاده از مطالعات لکتین هیستوشیمی جهت شناسایی قندهای انتهایی در زنجیره های گلیکوکونجوگیت های سطح سلولهای اعضای مختلف بدن تحقیقات وسیعی صورت پذیرفته است (۶، ۷، ۸). در این زمینه در مورد سلولهای عصبی و نورو گلیال و نورال کرسست نیز تحقیقاتی صورت گرفته است (۹، ۱۰).

محققین بررسی کرده اند که سلولهای سمپاتیک و سلولهای کرومافینی ناحیه مرکزی غدد فوق کلیوی در ابتدا از یک رده سلولی از نورال کرسست مشتق شده و در بخشی از مسیر تکامل نیز با یکدیگر تفاوتی ندارند، ولی به تدریج با تغییر قندهای انتهایی در زنجیره گلیکوکونجوگیت های سطحی آنها، این رده سلولی به دو گروه متفاوت سلولی یعنی سلولهای سمپاتیک و سلولهای ناحیه مرکزی غدد فوق کلیوی تقسیم می شوند (۱). در این رابطه نقش احتمالی قندهای انتهایی زنجیره های قندی به عنوان گیرنده های فاکتورهای القا کننده تکامل، در بسیاری از سیستم های بیولوژیکی مشخص شده است. به عنوان نمونه، این قندها در تعیین مسیر مهاجرت سلولهای جنسی اولیه نقش کلیدی را ایفا می کنند (۱۱).

لذا قندهای انتهایی به دنبال اتصال به فاکتورهای القایی مرتبط، در محل استقرار نهایی سلولها به عنوان گیرنده های کلیدی در فرایند تکامل سلولی و بافتی دارای نقش مهمی هستند. نقش اخیر در برخی بافتها، از جمله قلب و سلولهای جنسی اولیه مورد تحقیق قرار گرفته است (۱۱، ۱۲). هر چند اندک، در مورد تکامل غدد فوق کلیوی، با استفاده از روش های هیستوشیمی و ایمونوهیستوشیمی تحقیقاتی انجام شده است (۱۳، ۱۴، ۱۵). در مورد شناسایی وجودی قند انتهایی Gal-GalNac در تکامل سلولهای کرومافینی ناحیه مرکزی غدد فوق کلیوی، تا کنون تحقیقی صورت نگرفته است. لذا بر آن شدیم تا با استفاده از لکتین هیستوشیمی این بررسی را به انجام برسانیم.

## مواد و روش کار

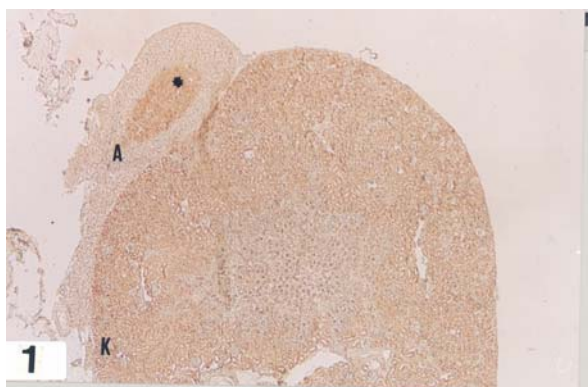
جهت بررسی تکاملی غدد فوق کلیوی، جنین های روزهای ۱۳-۲۰ موش (۱۷، ۱۶) و نوزادان ۱۵-۱ روزه مورد استفاده قرار گرفتند که به طریق زیر به دست آمدند:

موش های نر و ماده دو ماهه با وزن تقریبی ۳۵-۳۰ گرم از نژاد BALB/c با شرایط نگهداری به طور یکسان و استاندارد در اتاق حیوانات انتخاب شدند. در هر قفس سه سر موش ماده و یک سر موش نر، در مجموع ۱۲ سر ماده و ۴ سر نر در نظر گرفته شدند. روز صفر حاملگی با رؤیت پلاک واژینال در ساعات بامدادی تعیین شد. موشهای حامله در روزهای موعود توسط کلروفورم بیهوش شدند و از طریق لاپاراتومی، جنین های آنها خارج گردید. تعداد کل جنین ها و نوزادان طبیعی مورد بررسی قرار گرفته ۷۸ عدد بود. بر طبق روشهای مطالعه شده (۱۱)، جنین ها و نوزادان مورد نظر پس از شستشو در سرم فیزیولوژی، به مدت ۲۴ ساعت در محلول های فیکساتیو فرمالین ۱۰ درصد و B4G (شامل ۶ گرم کلرور جیوه، ۱ گرم استات سدیم و ۰/۰۱ گرم گلو تارالدهید در ۱۰۰ سانتیمتر مکعب محلول PBS حل می شوند) در حرارت آزمایشگاه قرار گرفتند. سپس، بعد از خارج نمودن آنها از محلول فیکساتیو و اعمال آب گیری با درجات مختلف الکل، در محلول گزلیل و پارافین مذاب قرار گرفتند و در جهات مختلف در پارافین قالب گیری شدند. بلوک های به دست آمده با ضخامت ۵ میکرومتر به صورت ممتد (Serial section) برش گردید. از هر روز جنینی و نوزادی تعداد ۲۰ برش تهیه شد. در مورد برشهای بافتی فیکس شده با محلول B4G، پس از قرار دادن به مدت ۳

## نتایج

در روزهای مختلف جنینی (۲۰-۱۳) و نوزادی (۱۵-۱) موش، سلولهای کرومافینی در ناحیه مرکزی غده فوق کلیوی با لکتین PNA واکنش نشان دادند. این واکنش از روز سیزدهم با شدت نسبتاً کم در مقایسه با روزهای بعدی، شروع شد. در روز سیزدهم تعداد کمی از سلولهای کرومافینی به صورت نشان دار با لکتین PNA دیده شدند. به تدریج در روزهای بالاتر واکنش شدیدتر شده و تعداد سلولهایی که با لکتین PNA نشان دار شده بودند بیشتر شدند.

بیشترین حد چه از نظر تعداد سلولهای نشاندار با PNA و چه از نظر شدت واکنش در روز ۱۵ نوزادی قابل رؤیت بود (تصویر ۱) و تمرکز سلولهای کرومافینی که در بخش مرکزی غده فوق کلیوی که با لکتین PNA واکنش داده اند مشهود است. غیر از واکنش با سلولهای کرومافینی که در بخش مرکزی غده متمرکز شده اند، هیچ سلولی که با این لکتین در ناحیه قشری واکنش داده باشد دیده نمی شود (تصویر ۱).

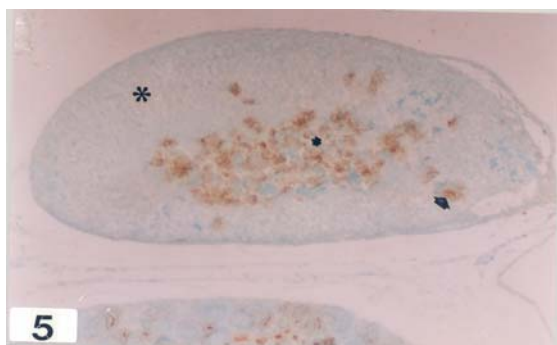


تصویر ۱: برش طولی از کلیه (K) و غده فوق کلیوی (A) نوزاد ۱۵ روزه موش (M15) که در معرض لکتین PNA قرار گرفته است. در غده فوق کلیه، واکنش در ناحیه مرکزی (ستاره) مشاهده می گردد. نواحی قشری غده به لکتین واکنشی نشان نداده اند. بزرگنمایی  $\times 40$ ، (M15/PNA).

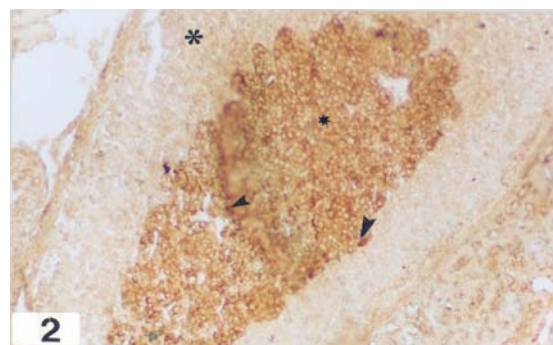
نواحی غشا و اورگانل های داخل سلولی تحت واکنش با لکتین در ناحیه مرکزی غده فوق کلیوی قابل رؤیت شده است و چنانچه ملاحظه می شود سلول ها با لکتین PNA واکنش شدیدتری داده اند. در عین حال در این ناحیه، برخی سلولهای تکامل یافته نیز دیده می شوند که شدت واکنش آنها با PNA کم و یا هیچ است (تصویر ۲).

دقیقه در محلول لوگول جهت نمودن رسوبات جیوه، به صورت تصادفی بعضی برشها با روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین-اوتوزین (H & E) رنگ شدند و با میکروسکوپ نوری جهت سنجش کیفیت مراحل تهیه برش های انجام شده و رؤیت ساختمان بافت شناسی غده فوق کلیوی با استفاده از منابع موجود (۱۶) مورد بررسی قرار گرفتند. در مرحله بعد، برش های مطلوب انتخابی می بایست در معرض لکتین ها قرار گیرند. در جهت انجام این هدف لکتین های (Vicia villosa agglutinin) VVA، قند اتصالی اختصاصی: ان استیل گالاتوز آمین، GalNac و (Peanut agglutinin) PNA، قند اتصالی اختصاصی: گالاتوز N-استیل گالاتوز آمین Gal-GalNac و (Griffonia simplicifolia- B4) GSA1- B4، قند اتصالی اختصاصی: گالاتوز Gal (۱۸)، که از طریق هلال احمر جمهوری اسلامی ایران از شرکت شیمیایی Sigma خریداری و به کار گرفته شدند. تمام این لکتین ها با آنزیم HRP (Horse radish peroxidase) کونژوگه بوده و جهت رقیق سازی در ۵ سانتیمتر مکعب بافر PBS (محلول بافر فسفات) که حاوی ۰/۰۲ گرم کلرور منگنز، ۰/۰۲ گرم کلرور منیزیم و ۰/۰۵ گرم کلرور کلسیم بود، در pH= ۷/۲ حل شدند. در نتیجه غلظت لکتین در این محلول ۱۰ میکروگرم در میلی لیتر شد. جهت انجام برش ها ابتدا به روش معمول بافت شناسی آب دهی شدند و سپس در مورد برش های فیکس شده با محلول B4G، به مدت ۳ دقیقه در محلول لوگول قرار گرفتند. سپس بعد از شستشو با آب مقطر، جهت خنثی نمودن پراکسیداز موجود به مدت ۱۰-۵ دقیقه لام ها در محلول آب اکسیژنه ۱ در صد در متانول قرار گرفت. بعد از یک ساعت شستشو در محلول PBS، در اتاقک مرطوب به مدت ۲ ساعت لام ها در معرض لکتین قرار داده شد. بعد از شستشو با محلول PBS، برش ها به مدت ۱۰ دقیقه در محلول PBS حاوی DAB (Diaminobenzidin) گذاشته شد. محلول ذکر شده با غلظت ۰/۰۳ گرم DAB در PBS بوده و به ازاء هر ۱۰۰ سی سی محلول ۲۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه به آن اضافه شد. در مرحله بعد، پس از شستشوی برش ها با آب جاری به مدت ۱۰-۵ دقیقه، جهت ایجاد رنگ زمینه، لام ها ۵ دقیقه در محلول ۱ درصد رنگ آلسین بلو در pH= ۲/۵ قرار داده شد و بعد از طی مراحل معمول بافت شناسی، لام ها چسبانده شده و برای بررسی با میکروسکوپ نوری آماده شدند (۱۱).

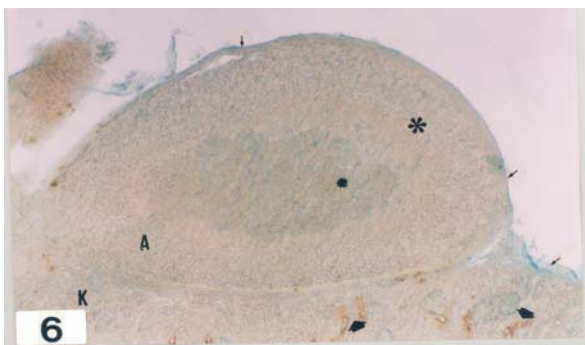
## شناسایی قندهای سطح سلولی بخش مرکزی غده فوق کلیوی



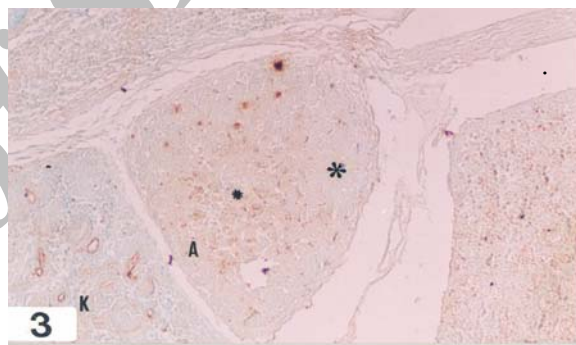
تصویر ۵: برش طولی از غده فوق کلیوی نوزاد ۳ روزه موش (M3) که در معرض لکتین PNA قرار گرفته است. ناحیه مرکزی (ستاره کوچک) واکنش زیادی با لکتین داده است. در عین حال در ناحیه قشری (ستاره بزرگ) سلول هایی در حال مهاجرت به ناحیه مرکزی غده می باشند (فلش). بزرگنمایی ۲۰۰×، (M3/PNA).



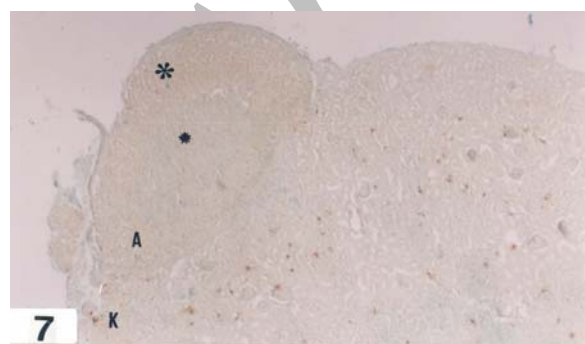
تصویر ۲: غده فوق کلیوی با بزرگنمایی بیشتر نسبت به تصویر ۱. سلولها در ناحیه قشری (ستاره بزرگ) هیچ واکنشی با لکتین PNA نداده اند. بیشتر سلول های موجود در ناحیه مرکزی غده (ستاره کوچک)، واکنش زیادی با لکتین PNA داده اند (سرفلش). بزرگنمایی ۲۰۰×، (M15/PNA).



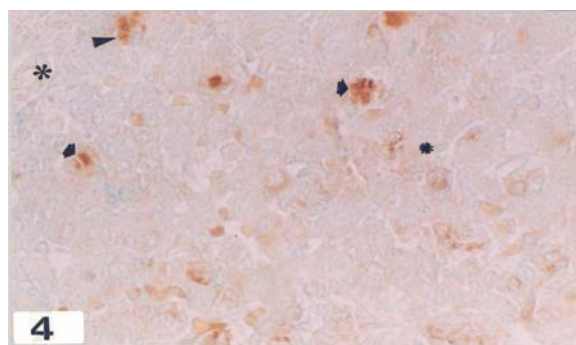
تصویر ۶: برش طولی از کلیه (K) و غده فوق کلیوی (A) نوزاد ۱۵ روزه موش (M15) که در معرض لکتین VVA قرار گرفته است. در کلیه، در بعضی نقاط واکنش نسبی به چشم می خورد (سرفلش ها). ولی در مورد غده فوق کلیوی، هیچ واکنش قابل ملاحظه ای دیده نمی شود. در ناحیه مرکزی غده فوق کلیوی (ستاره کوچک)، در بیشتر نقاط سلولها با رنگ زمینه آسین بلو واکنش داده اند. در تصویر، کپسول اطراف غده فوق کلیوی در امتداد با کپسول احاطه کننده کلیه است (فلش ها). بزرگنمایی ۱۵۰×، (M15/VVA).



تصویر ۳: برش طولی جنین ۱۴ روزه موش (m14) که در معرض لکتین PNA قرار گرفته است. فوق کلیه (A) در بالای کلیه (K) قابل مشاهده است. ناحیه مرکزی (ستاره کوچک) واکنش بیشتری را با لکتین PNA در مقایسه با ناحیه قشری (ستاره بزرگ) نشان می دهد. بزرگنمایی ۱۵۰×، (M14/PNA).



تصویر ۷: برش طولی از کلیه (K) و غده فوق کلیوی (A) نوزاد ۱۵ روزه موش (M15) که در معرض با لکتین GSA1-B4 قرار گرفته است. بطوریکه ملاحظه می شود ناحیه مرکزی غده فوق کلیوی (ستاره کوچک) هیچ واکنشی با لکتین فوق نداده است. بزرگنمایی ۱۰۰×، (M15/GSA1-B4).



تصویر ۴: بخشی از غده فوق کلیوی در تصویر شماره ۳ با بزرگنمایی بیشتر. سلولهایی تحت واکنش با لکتین PNA در ناحیه قشری دیده می شوند که در حال مهاجرت از این ناحیه (ستاره بزرگ) به ناحیه مرکزی (ستاره کوچک) غده می باشند (سرفلش). برخی از سلولها در مناطق گلژی و سطح سلولی خود شدیداً با لکتین واکنش داده اند (فلش). بزرگنمایی ۴۰۰×، (M14/PNA).

در بررسی ما نیز سلولهای کرومافینی ناحیه مرکزی غدد فوق کلیوی به لکتین PNA واکنش نشان دادند. با توجه به واکنش این لکتین با قند انتهایی Gal-GalNAc و همچنین واکنش آن با سلولهای کرومافینی ناحیه مرکزی غدد فوق کلیوی (۱)، مشخص می شود که قند انتهایی مذکور در ناحیه مرکزی غدد فوق کلیوی وجود دارد و همانطور که در تصاویر ۳ و ۴ و ۵ نشان داده شده، واکنش سلولهای کرومافینی که از قشر غده عبور کرده و در ناحیه مرکزی آن متمرکز و مستقر می شوند، به صورت تدریجی، در این ناحیه افزایش می یابند. به بیان دیگر این مسئله گویای مهاجرت تدریجی این سلولها از بیرون غده به طرف قشر آن و بالاخره مستقر شدن در ناحیه مرکزی است (تصاویر ۱ الی ۵). از جهتی با توجه به تصویر ۲، در اثر تکامل تدریجی و استقرار کامل، بعضی از سلولها واکنش به لکتین PNA را از دست داده اند یا واکنش آنها به لکتین ضعیف تر شده است. این مطلب می تواند احتمالا به دلیل ماسک شدن این قند توسط اسید سیالیک و یا تغییر شکل فضایی و یا تغییر قند انتهایی و همچنین تغییر قند ما قبل آخر باشد (۱۸، ۲۰، ۲۱). لذا نقش القا کنندگی و گیرنده عناصر القایی مؤثر در تکامل برای قند انتهایی Gal-GalNAc با توجه به اینکه در بعضی سلولها واکنش کم و یا هیچ به لکتین PNA مشاهده می شود، متصور است. زیرا ابتدا که سلولها در ناحیه قشری هستند، مقدار آن (با توجه به واکنش با لکتین PNA) کم، و سپس به تدریج با مستقر شدن در ناحیه مرکزی تعداد آن افزایش می یابد. این افزایش احتمالا با تکامل کامل سلول تا عدم وجود واکنش تدریجا تغییر پیدا کرده به طوری که ممکن است به جای آن، قند انتهایی دیگری فعال شده باشد. لذا به همین دلیل بعضی سلولهای تکامل یافته مرکزی، هیچگونه واکنشی را که دلیل بر وجود این قند انتهایی در آنها باشد، با لکتین PNA نشان نداده اند. در تصویر شماره ۴ سیتوپلاسم سلول مشخص شده با فلش، به شدت با لکتین PNA واکنش نشان داده است. با توجه به اینکه قندهای انتهایی در دستگاه گلژی به زنجیره گلیکوکونجوگیت ها اضافه می شوند، لذا این واکنش اورگانل سلول بیشتر مربوط به دستگاه گلژی آن می باشد. در این بررسی، چنانچه اشاره شد، از لکتین های مورد استفاده،

جهت مشخص نمودن مهاجرت تدریجی سلولهای نورال کرست به ناحیه مرکزی غدد فوق کلیوی در حال تکامل، تصاویر ۳ و ۴ و ۵ که مربوط به اثر لکتین PNA بر جنین ۱۴ روزه و نوزاد ۳ روزه موش می باشند نشانگر این روند تدریجی است. در آزمایش با سایر لکتین های که مورد بررسی قرار گرفتند، واکنش عمده ای در غده فوق کلیوی دیده نشد و در نمونه های تحت تأثیر، سلول ها بیشتر با رنگ زمینه آلسین بلو مشخص شدند. در تصویر ۶ واکنش اندک ناحیه مرکزی غده فوق کلیوی با لکتین VVA مشهود بوده و همانطور که در تصویر ۷ مشخص می باشد، ناحیه مذکور با لکتین GSA1-B4 واکنش نداده است.

## بحث و نتیجه گیری

منشأ سلولهای کرومافینی مستقر در ناحیه مرکزی غدد فوق کلیوی از سلولهای نورال کرست است. در این روند برخی از سلولهای نورال کرست که متعهد به ساختن سیستم سمپاتیکو کرومافینی هستند، در حین مهاجرت به سمت مقاصد نهایی خود، مسیرهای متفاوتی را انتخاب می کنند. در مقطعی از مسیر، سلولهای سمپاتیک و کرومافینی که ابتدا در کنار هم قرار داشته و مسیر مشابهی را طی کرده اند از هم متمایز شده و گیرنده های متفاوتی در سطح سلولی آنها ظاهر می گردند. بخش کرومافینی، به مقصد مرکز غدد فوق کلیوی و اجسام کاروتید و سایر اجسام کرومافینی موجود در بدن، از مسیرهای مشخصی عبور می کنند (۱) و در این روند مهاجرتی، از قبل در لوله عصبی، سلولهای نورال کرست برنامه دار می گردند و در انجام آن ژنهای هومئوباکس نقش ایفا می کنند (۱۹). در تحقیقات به عمل آمده، محققین از لکتین PNA جهت شناسایی سلولهای کرومافینی ناحیه مرکزی غدد فوق کلیوی استفاده کرده اند. در مطالعه مذکور نشان داده شده که در سطح سلولهای کرومافینی، با وجود گیرنده از نوع گالاکتوز، آنها به لکتین PNA متصل می شوند، ولی به دلیل عدم وجود چنین گیرنده هایی در سطح سلولهای سمپاتیک، لکتین PNA به آنها اتصال نمی یابد و این در حالی است که هر دو نوع سلول در بخش عمده ای از مسیر مهاجرتی دارای مسیری مشابه بوده اند (۱).

نوزادی چنانچه در تصویر ۵ مشهود است، این سلول های واکنش دهنده در ناحیه قشری نیز دیده می شوند.

قندهای انتهایی به عنوان گیرنده های سطح سلولی در تکامل سلولهای کرومافینی ناحیه مرکزی غدد فوق کلیوی نقش کلیدی دارند (۱). این گیرنده ها هستند که اگر در معرض عناصر القا کننده تکامل قرار بگیرند، نوع ماده القا کننده اختصاصی خود را انتخاب کرده و موجب القا تکاملی سلول در جهت خاصی می گردند. بسته به اینکه چه نوع قند انتهایی متصل به گلیکوکونجوگیت سطح سلولی فعال و آزاد باشد، ماده القایی اختصاصی آن قند به سطح سلول متصل می گردد. این اتصال در محل قند انتهایی ویژه به عنوان گیرنده خاص صورت می گیرد. بدین ترتیب نوع تکامل و جهت دیفرانسیاسیون سلولی مشخص می گردد. لازم به توضیح است که قندهای مذکور در تکامل دیگر اعضاء جنینی نیز در زمان های مختلف دارای نقش تعیین کننده می باشند (۱۱، ۱۲) و چنانچه در تصاویر دیده می شود اعضاء جنینی مجاور به غده فوق کلیوی نیز مثل کبد و کلیه در روزهای مختلف تکاملی با لکتین در واکنش هستند و بررسی آنها مورد بحث ما نمی باشد. بررسی نتایج ما پیشنهاد کننده این فرضیه است که در سلولهای کرومافینی موجود در ناحیه مرکزی غده فوق کلیوی گیرنده های دی ساکارید Gal-GalNAc احتمالاً به عنوان گیرنده عناصر القایی تکامل، در تمایز این سلولها نقش ایفا می کنند.

### تشکر و قدردانی

از همکاری و خدمات سرکار خانم فریبا متجدد مسئول آزمایشگاه گروه علوم تشریحی دانشکده پزشکی مشهد و سرکار خانم نسرین کیهان پور سرپرست آزمایشگاه تحقیقاتی بافت و سلول دانشکده پیراپزشکی شهید بهشتی و جناب آقای همیتان کارشناس آزمایشگاه بافت شناسی و جناب آقای یزدان بیگ محمدی کارشناس آزمایشگاه آناتومی دانشکده پزشکی ایلام که ما را در کارهای تکنیکی این پژوهش مساعدت نموده اند، به این وسیله قدردانی و تشکر به عمل می آید.

فقط لکتین PNA با سلولهای کرومافینی ناحیه مرکزی غدد فوق کلیوی واکنش شدیدی داشت و با دیگر لکتین ها واکنش ندادند، لذا بیشتر سلولهای مرکزی با رنگ زمینه آلیسین بلو رنگ گرفتند. در این مورد دو نمونه مربوط به لکتین های VVA و GSA1-B4 ضمیمه تصاویر می باشد (تصاویر ۶، ۷).

در مورد موقعیت استقرار غده فوق کلیوی نسبت به کلیه زیرین خود اظهار نظر شده است که هر غده فوق کلیوی در عین حال که به فاسیای کلیه چسبیده است، به توسط بافت فیروزه ای از آن قابل جدا شدن می باشد (۲۲). این مسئله در اعمال جراحی و برداشت غدد فوق کلیوی خیلی مهم است. در این مورد یافته های ما نیز با توجه به تصویر ۶ نمایانگر این مهم می باشد.

در تحقیق دیگری وجود این ارتباط بین سلولهای کرومافینی ناحیه مرکزی غده فوق کلیوی و گانگلیون آورتیکورنال با دستگاه سمپاتیک از نظر بیشترین تعداد سلولهای مرتبط، در سگمان های T6-T11 ذکر شده است (۸۱-۷۹ در صد)، که توسط اعصاب اسپلانکنیک به یکدیگر مرتبط می گردند (۲۲، ۲۳). این ارتباط از نظر عملی در هفته اول نوزادی صورت می گیرد (۲۴). در جستجویی که ما انجام دادیم، سلولهای کرومافینی را در روز سیزدهم جنینی در داخل غده فوق کلیوی مشاهده نمودیم. لذا با توجه به اینکه این سلولها در ناحیه مرکزی غده به تدریج در حین تکامل تا موقع تولد بر تعدادشان افزوده می شود و واکنش تدریجی به لکتین PNA این موضوع مهاجرت تدریجی رو به ازدیاد را تأیید می نماید، لذا می توان احتمال داد که با تکامل عصب دهی ناحیه مرکزی غده فوق کلیوی در هفته اول نوزادی، سلولهای کرومافینی نیز در این ناحیه به بیشترین حد خود رسیده و یا نزدیک شده اند، زیرا به طوری که در تصویر ۱ و ۲ ملاحظه می شود در روز پانزدهم نوزادی دیگر اثری از سلول های مهاجرت کننده تحت اثر PNA در ناحیه قشری غده فوق کلیوی دیده نمی شود و این در حالیست که در روز سوم

## References

1. Katz D. M., White M. E., Hall A. K., 1995, Lectin binding distinguishes between neuroendocrine and neuronal derivatives of the sympathoadrenal neural crest, *J. Neurobiology*, 26: 241-52.
2. Bogdanova T. I., Debelenko L.V., 1989, Ultrastructure of human adrenal glands at various periods of prenatal morphogenesis, *Arkh. Ant. Gistol. Embriol.*, 96: 69-76.
3. Orezza A. A., Villar M. J., Gonzalez Nicolini V. G., Hokfelt T., Tramezzani J. H., 1998, Neuropeptide Tyrosine-like immunoreactivity (NPY-LI) in ganglion neurons in the adrenal gland of the flat snake, *Bicell.*, 22: 85-91.
4. Fernandez V. J., Rodinguez S. F., Versategui C., Cardoba M. F., Romero A., Decastro J. M., 1993, Immunocytochemical distribution of serotonin and neuropeptide Y(NPY) in mouse adrenal gland, *Histol. Histopathol.*, 8: 509-520.
5. De Falco M., Laforgia V., Valiante S., Virgilio F., Varano L., Deloca A., 2002, Different pattern of expression of five neuropeptides in the adrenal gland and kidney of two species of frog, *Histochem.*, 34: 21-26.
6. Smolkova O., Zavadka A., Barkstone P., Lutsyk A., 2001, Cellular heterogeneity of rat vascular endothelium as detected by HPA and GSI lectin- gold probes, *Med. Sci. Monit.*, 7: 659-668.
7. Salvetti N. R., Ricci N., Dallard B. E., Lorente J. A., Iguzquiza I., Ortega H. H., 2000, Lectin histochemical and cytometrical evaluation of the Corpus luteum of the rat at the end of pregnancy, *Anat. Histol. Embryol.*, 29: 129-34.
8. Perfumo C. J., Mores N., Armocida A. D., Piffer I. A., Massone A. R., Itagaki S., 1998, Histochemical and lectin histochemical studies on nasal mucosa of Pigs with or without respiratory diseases, *J. Vet. Med. Sci.*, 60: 1024-3.
9. Schill J., Cervos-Navarro J., 1998, Lectin histochemistry of mixed gliomas demonstrating an intermediate cell type, *Histol. Histopathol.*, 13: 73-9.
10. Plaez B., Blazquez J. L., Pastor F. E., Sanchez A., Amat P., 1999, Lectin histochemistry and ultrastructure of microglial response to monosodium glutamate-mediated neurotoxicity in the arcuate nucleus, *Histol. Histopathol.*, 14: 165-74.
11. Fazel A. R., Schulte B. A., Thompson R. P., Spicer S. S., 1987, Presence of a unique glycoconjugate on the surface of rat primordial germ cells during migration, *Cell. Differ.*, 21: 199-211.
12. Fazel A. R., Sumida H., Schulte B. A., Thompson R. P., 1989, Lectin histochemistry of the embryonic heart: fucose-specific lectin binding sites in developing rats and chicks, *Am. J. Anat.*, 184: 76-84.
13. Mamet J., Peyronnet J., Roux J. C., Cottet-Emard J. M., 2002, Long-term Prenatal hypoxia alters maturation of adrenal medulla in rat, *Pediatr Res.*, 51: 207-14.
14. Boglione L., Bondone C., Gattolin A., Levi A. C., 2001, The development of the suprarenale gland: Surgical and anatomical considerations, *Panminerva Med.*, 43: 33-7.
15. Barinov E. F., Sulaeva O. N., 2001, Mechanisms of adrenal embryogenesis, *USP Fiziol Nauk*, 32(2): 99-112.
16. Kaufman M. H., *The atlas of mouse development*, Academic press, NY, 1992, 160-334.
17. Kaufman M. H., Bard J. B. L., *The anatomical basis of mouse development*, Academic Press, NY, 1999, 220-223.
18. Vliegenthart J. F. G., Montreuil J., Schachter H., *Glycoproteins II*, Elsevier, London, 1997, 403-155.
19. Murphy M., Bartlett P. F., 1993, Molecular regulation of neural crest development, *Mol. Neurobiol.*, 7: 111-135.
20. Varky I., *Diversity in the sialic acid*. *Glycobiology 2*, Mosby, Philadelphia, 1992, 25-40.
21. Schauer R., 1985, Sialic acids and their role as biological masks, *TIBS*, 357-60.
22. Williams P. L., Bannister L. H., Berr Y., *Gray's anatomy*, 28th ed., Churchill livingstone, NY, 1995, 1900-1905.
23. Jensen I., Poliwsky P., Liewellyn-Smith I., Minson J., Chambers J., 1992, Sympathetic preganglionic neurons projecting to the adrenal medulla and aorticorenal ganglion in the rabbit, *Brain Res.*, 586:125-9.
24. Lau C., Franklin M., Mckarthy L., Pylypi W. A., Rose L. L., 1996, Thyroid hormone control of preganglionic innervation of the adrenal medulla and chromaffin cell development in the rat, An ultrastructural morphometric and biochemical evaluation, *Brain Res. Dev.*, 44:109-17.