

بررسی هیستومتری و آلفا اکتین عضله‌ی صاف (ASMA) در سلول‌های ماهیچه‌ای روده‌ی کوچک شتر

رحمت‌الله فتاحیان دهکردی^{۱*}، فاطمه‌زهرای کیانی^۲ و اسماعیل نصیری^۲

تاریخ دریافت: ۹۶/۶/۱۵

تاریخ پذیرش: ۹۷/۱/۲۱

چکیده

ایمونو راکتیویته آلفا اکتین عضله‌ی صاف (ASMA) همراه با ارزیابی هیستومتری در روده‌ی کوچک شتر بالغ در دو جنس مورد بررسی قرار گرفت. تعداد ۸ نفر شتر از دو جنس نر و ماده در کشتارگاه نجف‌آباد انتخاب و سپس محوطه‌ی شکمی دام‌ها تشریح و روده‌ی کوچک خارج گردید. قطعات ۱ سانتی‌متر از سه بخش روده در فرمالین تثبیت شد و از برخی نمونه‌ها مقاطع بافتی تهیه گردید و مورد رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین و باقی‌مانده با استفاده از آنتی‌بادی آلفا اکتین مورد رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که بلندترین طول کرک روده در ژنوم، بزرگ‌ترین قطر کرک‌ها در ایلئوم و عمیق‌ترین کریپت روده در دئودنوم مشاهده شد. نتایج مورفومتری نشان داد که میانگین ضخامت طبقه‌ی مخاطی و زیرمخاطی در ناحیه‌ی دئودنوم بیشتر از نواحی ژنوم و ایلئوم این اندام است. میانگین ضخامت طبقه‌ی ماهیچه‌ای در هر دو جنس در ناحیه‌ی ژنوم روده کمتر از نواحی دئودنوم و ایلئوم این اندام است. شدت‌های متفاوتی از بیان آلفا اکتین مشاهده شد؛ به طوری که کم‌ترین شدت آلفا اکتین در ژنوم و بیش‌ترین شدت بیان آلفا اکتین عضله‌ی صاف در ایلئوم مشخص گردید. با توجه به کم‌ترین ضخامت لایه‌ی عضلانی در ژنوم به همان نسبت، کم‌ترین شدت بیان آلفا اکتین در این ناحیه مشاهده گردید. بیان آلفا اکتین عضله‌ی صاف در روده‌ی کوچک شتر مشهود بود ولی شدت آن تفاوت نشان داد.

کلمات کلیدی: آلفا اکتین عضله‌ی صاف، ایمونوهیستوشیمی، مورفومتری، روده‌ی کوچک، شتر

مقدمه

دارد (Pekas and Wray 1991). پروتئین‌های مختلفی در ماهیچه‌ی صاف روده وجود دارد که عملکردهای خاصی را انجام می‌دهند، از جمله‌ی این پروتئین‌ها می‌توان به پروتئین اکتین اشاره کرد. اکتین یک پروتئین اسکلت سلولی است که در همه‌ی سلول‌های یوکاریوت‌ها وجود دارد و می‌توان آن را فراوان‌ترین پروتئین‌های موجود در یوکاریوت‌ها به حساب آورد و تا ۵ درصد از کل پروتئین موجود در سلول‌ها را می‌تواند به خود اختصاص دهد. پروتئین اکتین جزو خانواده‌ای از حفاظت‌کننده‌های چند ژنی است. به طور کلی ۳ نوع ایزوفرم اکتین شامل؛ آلفا، بتا و گاما اکتین وجود دارد. اما به طور دقیق‌تر می‌توان

روده اندامی است که نقش فیزیولوژیکی مهمی در بدن دارد؛ به این علت که محل اصلی گوارش و جذب مواد غذایی در بدن است. لوله‌ی گوارش به عنوان یک دیواره‌ای که قابلیت نفوذپذیری بالایی دارد در بدن موجودات زنده فعالیت می‌کند، به این صورت که ذرات ریز و درشت مواد غذایی و مواد معدنی از بافت پوششی دستگاه گوارش عبور کرده و به مصرف سایر سلول‌ها و بافت‌های بدن می‌رسند. دستگاه گوارش همگام با روند تکاملی و رشد موجودات زنده و هم‌زمان با تغییرات سن، دگرگون می‌شود. حرکت نرمال و طبیعی لوله‌ی گوارش به عملکرد صحیح و هماهنگ عصبی-عضلانی بستگی

E-mail: fatahian_1349@yahoo.com (نویسنده‌ی مسئول)

^{۱*} دانشیار گروه علوم پایه، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

^۲ دانشجوی دکتری حرفه‌ای، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

عضله‌ی صاف مشخصه‌ی اختصاصی برای این نوع ماهیچه است؛ اما در ساختارهای دیگری مثل دیواره‌ی رگی، میوفیبروبلاست، مایو اپیتلیال، بافت‌هایی که ماهیچه‌ی صاف دارند و واجد عمل‌کرد انقباضی هستند هم وجود دارد. توزیع پروتئین آلفا اکتین بین لایه‌های ماهیچه‌ی صاف در نواحی مختلف از روده متنوع بوده که این امر بستگی به عملکرد بخش مورد نظر دارد. این مقاله با هدف بررسی پروتئین آلفا اکتین عضله‌ی صاف در ماهیچه‌ی صاف روده‌ی کوچک (دوازدهه، ژژنوم و ایلئوم) در شتر طراحی شد. بنابراین واکنش‌پذیری ایمنی موضعی برای آلفا اکتین عضله‌ی صاف در روده‌ی کوچک شتر آزمایش شده تا الگوی توزیع ملکول‌های ASMA را توضیح دهد. همچنین هیستومتری روده نیز مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش کار

در تحقیق حاضر ۸ نفر شتر بالغ (از هر دو جنس، ۵ نر و ۳ ماده) مورد استفاده قرار گرفتند. با مراجعه به کشتارگاه نجف‌آباد به محض کشتار دام‌های مورد نظر، پوست ناحیه‌ی شکم و عضلات زیرین آن برش داده شد. روده‌ی کوچک در شرایط *in situ* در معرض دید و بررسی قرار گرفت. روده‌ها از محل اتصال دو ناحیه‌ی پایلور و ابتدای سکوم به طور کامل جدا گردید. از نواحی مختلف روده: دئودنوم، ژژنوم و ایلئوم قطعاتی به ابعاد ۰/۵ سانتی‌متر انتخاب شد و بلافاصله در محلول ثبوتی فرمالین بافر مرک (آلمان) ۱۰ درصد قرار گرفتند. نمونه‌های انتخاب شده به آزمایشگاه هیستوپاتولوژی جهت انجام امور مطالعاتی توسط میکروسکوپ متقل گردیدند. نمونه‌ها طی چند مرحله توسط محلول نمکی بافر فسفات $\text{pH}=7/2$ به منظور پاک‌سازی ذرات ریز از موضع، شسته شدند (به منظور تمیز شدن بافت). قبل از برش بافت وضعیت پرزهای قسمت‌های مختلف روده‌ی کوچک با استفاده از لوپ بررسی شد و اختلاف بارزی در

گفت که ۶ ایزوفرم متمایز رشته‌ی اکتین شامل؛ آلفا اکتین اسکلتی، آلفا اکتین قلبی، آلفا و گاما اکتین‌های ماهیچه‌ی صاف دیواره‌ی رگی و امعا و احشا، بتا و گاما اکتین‌های سیتوپلاسمی توصیف شده‌اند که شناخته شده‌ترین این‌ها آلفا اکتین ماهیچه‌ی صاف می‌باشد. ایزوفرم‌های مختلف اکتین به طور گسترده‌ای بیان شده‌اند اما همیشه در انقباض سلولی درگیر نمی‌شوند (Geiger et al. 1981, Weisbrodt 1987). در واقع پروتئین اکتین باعث عملکرد انقباضی و اسکلت‌بندی سلولی در سلول‌های مختلف می‌شود، همچنین انجام اعمال مختلف سلولی دیگر مثل چسبندگی و حرکت را هم برعهده دارد (Gunning et al. 1983, Guo et al. 2009, Springer et al. 2002). با وجود این که بتا اکتین به طور غیرافتراقی در همه‌ی سلول‌های یوکاریوت‌ها یافت می‌شود، آلفا اکتین اسکلتی، آلفا اکتین قلبی و آلفا اکتین ماهیچه‌ی صاف، ایزوفرم‌های اصلی اکتین در این نوع بافت‌ها هستند و عملکرد انقباضی در ماهیچه‌ی اسکلتی و قلبی بر عهده‌ی آلفا اکتین می‌باشد. فعالیت انقباضی در ماهیچه‌ی صاف بر عهده‌ی آلفا و گاما اکتین و در سلول‌های غیرعضلانی بر عهده‌ی اکتین سیتوپلاسمی شامل (بتا و گاما اکتین) است (Jani et al. 1992). با این که ایزوفرم‌های مختلف اکتین به هم شبیه هستند اما توسط زنجیره‌ی آمینو اسیدی خودشان که با ژن‌های مختلف کد گذاری شده‌اند با هم تفاوت دارند و هر کدام از این ایزوفرم‌ها عملکرد متنوعی دارند (Eurell and Frappier 2013, Kanamori et al. 1996). آلفا اکتین ماهیچه‌ی صاف در ماهیچه‌ی صاف طبیعی و بالغ گاهی به صورت موقت در هنگام رشد ماهیچه‌ی قلبی و اسکلتی بیان می‌شود. ایزوفرم‌های مختلف اکتین در راستای رشد و تکامل سلول‌های عضلانی و همین طور سلول‌های غیرعضلانی که فعالیت انقباضی دارند بیان می‌شوند. به عنوان مثال بیان آلفا اکتین عضله‌ی صاف در طول روند تکاملی اتفاق می‌افتد و تا سنین بزرگ‌سالی حفظ شده و تحت شرایط مختلف از جمله بیماری‌ها قرار می‌گیرد (Berseth 1996, Yamamoto et al. 1996). آلفا اکتین

قرار گرفته و فعالیت ایمنی با استفاده از DAB+ (داکو، دانمارک) نشان داده شد. بیان آلفا اکتین بر اساس شدت آن و با مقایسه‌ی بین بخش‌های متفاوت روده، مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌های حاصل در نرم‌افزار آماری SPSS-16 وارد شده و با استفاده از روش آماری one way ANOVA و استفاده از آزمون مقایسه‌ای توکی و T آزمون مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

نتایج

روده‌ی کوچک به سه بخش تقسیم شده بود؛ دئودنوم، ژژنوم و ایلئوم. اگر چه نواحی مذکور از لحاظ بافت-شناسی مشابه بودند، ولی اختلافات کمی نیز قابل تشخیص بود. مطالعات میکروسکوپی نشان داد که به منظور افزایش مساحت سطحی لومن روده، سطح لومن تغییر شکل یافته بود و یکسری چین‌ها (فولدها) در سرتاسر مخاط روده‌ی کوچک قابل مشاهده بودند. با بررسی سه ناحیه‌ی روده، مشخص گردید که طول چین‌های مذکور به طور فزاینده‌ای دارای تغییرات چشم-گیری از سمت دئودنوم به سمت ایلئوم بودند. مطابق جدول ۱، بلندترین طول کرک روده در ژژنوم مشخص شد ($P < 0/05$) و بزرگ‌ترین قطر کرک‌ها در ایلئوم قابل مشاهده بود ($P < 0/05$). کرک‌ها در انتها به کرپت‌های روده منتهی می‌شدند و عمیق‌ترین کرپت روده در دئودنوم مشاهده شد ($P < 0/05$). مخاط به وسیله‌ی بافت پوششی استوانه‌ای ساده حاوی سلول‌های جذبی و جامی پوشیده شده بود. لایه‌ی عضلانی ضخیمی در داخل دیواره‌ی روده گسترش یافته بود (جدول ۱).

بین ساختار سطحی (بررسی اولیه) پرزها بین بافت‌های موجود مشاهده نشد.

پس از گذشت ۲۴ ساعت، محلول فرمالین تعویض و نمونه‌ها در فرمالین تازه قرار داده شدند. بعد از این که نمونه‌ها در مدت ۴۸ ساعت ثابت شدند، توسط دستگاه آمادش بافتی، فرمالین‌زدایی، آب‌گیری و شفاف‌سازی شدند. سپس نمونه‌ها پارافین‌دهی شده و قالب‌های پارافینه‌ی بافت‌های مورد نظر به دست آمد. در مرحله‌ی بعد توسط دستگاه میکروتوم دوار از نمونه‌ها مقطع‌گیری صورت پذیرفت. به این صورت که از هر قالب، برش‌های بافتی به ضخامت $5 \mu\text{m}$ تهیه گردید. برش‌های بافتی به دست آمده جهت بررسی، با روش معمول هماتوکسلین-ئوزین، رنگ‌آمیزی شدند و سپس به وسیله‌ی میکروسکوپ نوری (المپوس) و میکرومتر چشمی در برش‌های عرضی قطر کرک، طول کرک و عمق کرپت در سه ناحیه‌ی فوق (دئودنوم، ژژنوم و ایلئوم) بررسی شدند.

برای ایمونوهیستوشیمی (IHC) نمونه‌ها از روده‌ی کوچک شتر در هر دو جنس انتخاب شدند. ایمن‌سازی با استفاده از روش پیشنهادی Gamba و همکارانش در سال ۲۰۰۴ برای رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی ASMA انجام شد (Gamba et al. 2004). به طور خلاصه، بافت‌های حاوی پارافین، با ضخامت ۳ میکرومتر، قبل از بازیابی آنتی‌ژن، در زایلل و الکل پارافین‌زدایی و آب‌گیری شدند. در همه موارد، آنتی‌بادی‌های مونوکلونال اولیه (ASMA Dako، دانمارک) مورد استفاده قرار گرفتند. پراکسیداز اندوژنوس با استفاده از پراکسید هیدروژن ۵ درصد در متانول مهار شد. برای بازیابی آنتی‌ژن ASMA، برش‌ها در بافر با pH 7.6 شسته شدند. برش‌ها در بافر سیترات

جدول ۱: مقایسه میانگین \pm انحراف معیار قطر و طول کرک و عمق کریپت بخش‌های مختلف روده شتر

ناحیه	جنس	کرک				کریپت	
		قطر μm	درصد*	طول μm	درصد*	عمق μm	درصد*
دئودنوم	نر	$^{d}95/22 \pm 4/7$	۳۰/۶۱	$^{b}325/34 \pm 9/3$	۳۰/۲۸	$^{e}237/58 \pm 7/6$	۳۶/۴۲
	ماده	$^{d}92/83 \pm 5/1$	۲۸/۸۱	$^{b}318/16 \pm 10/7$	۳۰/۲۶	$^{e}228/47 \pm 7/6$	۳۵/۷۳
ژژنوم	نر	$^{d}93/18 \pm 5/5$	۲۹/۹۵	$^{a}417/26 \pm 10/2$	۳۸/۸۳	$^{e}205/29 \pm 6/4$	۳۱/۴۷
	ماده	$^{d}98/03 \pm 4/2$	۳۰/۴۳	$^{a}405/47 \pm 9/7$	۳۸/۵۷	$^{e}199/58 \pm 7/1$	۳۱/۲۱
ایلئوم	نر	$^{e}122/65 \pm 4/1$	۳۹/۴۳	$^{b}331/71 \pm 8/4$	۳۰/۸۷	$^{f}209/45 \pm 5/9$	۳۲/۱۰
	ماده	$^{e}131/28 \pm 5/4$	۴۰/۷۵	$^{b}327/46 \pm 7/3$	۳۱/۱۵	$^{f}211/27 \pm 4/8$	۳۳/۰۴

حروفی که با هم مشابه ندارند (a, b)، نشان دهنده وجود اختلاف آماری معنی‌دار ($P < 0/05$) در نواحی مختلف در هر ستون می‌باشد. * نسبت درصد در هر سه ناحیه محاسبه گردیده است.

بیش‌تر از ناحیه‌ی ژژنوم و ایلئوم این اندام است ($P < 0/05$). کم‌ترین میانگین ضخامت طبقه‌ی زیرمخاطی در ژژنوم مشاهده شد. تفاوت‌های موجود در میانگین ضخامت این طبقه در نواحی مورد مطالعه از لحاظ آماری معنی‌دار نبودند ($P > 0/05$). میانگین ضخامت طبقه‌ی ماهیچه‌ای در هر دو جنس در ناحیه‌ی ژژنوم روده بیش‌تر از نواحی دئودنوم و ایلئوم این اندام و در ناحیه‌ی ایلئوم روده کم‌تر از ژژنوم بود ($P < 0/05$).

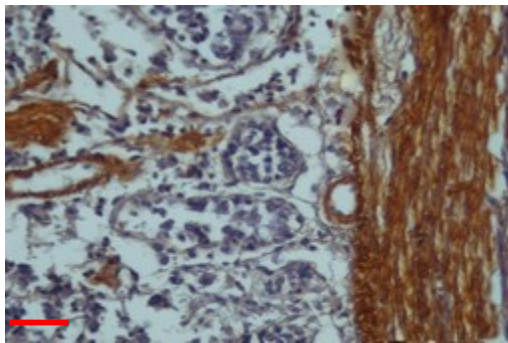
یافته‌های مورفومتریک حاصل از مطالعه‌ی روده‌ی کوچک در بخش‌های متفاوت دئودنوم، ژژنوم و ایلئوم در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج این مطالعه نشان می‌دهند که میانگین ضخامت طبقه‌ی مخاطی در هر دو جنس در ناحیه‌ی دئودنوم بیش‌تر از نواحی ژژنوم و ایلئوم این اندام است ($P < 0/05$). یافته‌های حاصل از این مطالعه همچنین نشان می‌دهند که در هر دو جنس، میانگین ضخامت طبقه‌ی زیر مخاطی در ناحیه‌ی دئودنوم روده

جدول ۲: مقایسه میانگین \pm انحراف معیار ضخامت طبقه‌های مخاطی، زیرمخاطی، ماهیچه‌ای و کل دیواره روده‌ی شتر

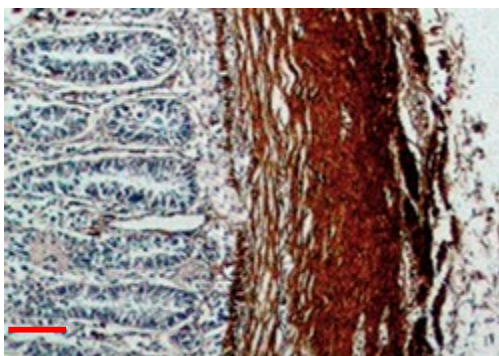
ناحیه	جنس	طبقه‌ی مخاطی		طبقه‌ی زیر مخاطی		طبقه‌ی ماهیچه‌ای		ضخامت کل دیواره μm
		ضخامت μm	درصد	ضخامت μm	درصد	ضخامت μm	درصد	
دئودنوم	ماده	$352 \pm 48/3$	۳۰/۷	$231/2 \pm 19/9$	۲۰/۱۵	$562/8 \pm 51/7$	۴۹/۱	۱۱۴۶
	نر	$336 \pm 39/6$	۲۹/۵	$245/1 \pm 29/5$	۲۱/۵	$556/6 \pm 43/5$	۴۸/۹	۱۱۳۷/۷
ژژنوم	ماده	$296 \pm 51/3$	۲۸/۲	$223/3 \pm 19/2$	۲۱/۳	$527/1 \pm 37/6$	۵۰/۳	۱۰۴۶
	نر	$265 \pm 62/5$	۲۶/۲	$227/4 \pm 16/1$	۲۲/۴	$518/7 \pm 30/1$	۵۱/۳	۱۰۱۱/۱
ایلئوم	ماده	$235 \pm 65/7$	۲۱/۱	$245/3 \pm 10/1$	۲۲/۱	$630/7 \pm 42/6$	۵۶/۷	۱۱۱۱
	ماده	$287 \pm 54/1$	۲۴/۹	$258/2 \pm 21/9$	۲۲/۴	$606/5 \pm 32/2$	۵۲/۶	۱۱۵۱/۷

دو جنس بیان آلفا-اکتین ماهیچه‌ی صاف را در لایه‌های ماهیچه‌ی مخاطی و ماهیچه‌های حلقوی داخلی و طولی خارجی از خود نشان داد. لایه‌ی تونیکا مدیا در دیواره‌ی

نمونه‌های روده‌ی کوچک شتر در هر دو جنس الگوهای مختلفی از بیان آلفا-اکتین ماهیچه‌ی صاف با استفاده از روش ایمونوهیستوشیمی در سلول‌های ماهیچه‌ی صاف را نشان داد. نتایج ایمونوهیستوشیمی در



تصویر ۲: رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی برای آلفا اکتین عضله صاف در ژژنوم؛ نشان دهنده بیان آلفا اکتین در بخش عمده‌ای از عضلات داخلی حلقوی و خارجی طولی است. در لایه بافت پیوندی سست زیر مخاط در دیواره رگ‌های خونی علائم آلفا اکتین عضله صاف مشخص است. تصویر به گونه‌ای طراحی شده است که لایه‌های عضلانی در سمت راست قرار داشته باشند، (IHC، $\times 40$ ، $\text{bar}=10 \mu\text{m}$).

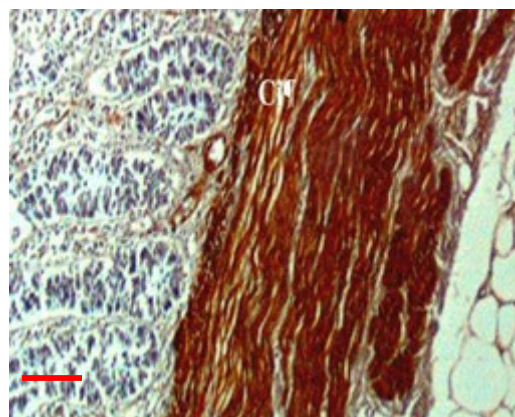


تصویر ۳: رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی برای آلفا اکتین عضله صاف در ایلئوم؛ نشان دهنده بیان آلفا اکتین در بخش عمده‌ای از عضلات داخلی حلقوی و خارجی طولی است. تصویر به گونه‌ای طراحی شده است که لایه‌های عضلانی در سمت راست قرار داشته باشند، (IHC، $\times 20$ ، $\text{bar}=1 \mu\text{m}$).

بحث

مطالعه‌ی حاضر تغییرات هیستومورفومتریک روده‌ی کوچک شتر را در دو جنس نر و ماده نشان داد و تفاوتی از نظر هیستومورفومتری بین دو جنس مشاهده نشد. مطالعه‌ی حاضر نشان داد که اختلاف آشکاری بین قطر و طول کرک و همچنین عمق کریپت در بین سه ناحیه

رگ‌های خونی نیز بیان آلفا-اکتین ماهیچه‌ی صاف را در هر دو جنس از خود نشان دادند. در دئودنوم (به صورت مقایسه با سایر بخش‌ها)، همانند ایلئوم و ژژنوم بیان آلفا-اکتین ماهیچه‌ی صاف در سرتاسر لایه‌های ماهیچه مخاطی و ماهیچه‌ی حلقوی داخلی و طولی خارجی همراه با دیواره‌ی رگ‌های خونی مشاهده گردید. ولی شدت آن نسبت به قطعه ایلئوم کم-تر بود در حالی که شدت آلفا-اکتین ماهیچه‌ی صاف در مقایسه با ژژنوم از بیان بیش‌تری برخوردار بود. در ژژنوم کم‌ترین شدت بیان آلفا-اکتین ماهیچه‌ی صاف مشاهده گردید. به هر حال لایه‌ی ماهیچه مخاطی و لایه‌های ماهیچه‌ای عرضی داخلی و طولی خارجی بیان آلفا-اکتین ماهیچه‌ی صاف را از خود نشان دادند هر چند که شدت آن در نسبت ارایه‌ی بیان آن در بخش‌های مختلف روده‌ی کوچک اختلافات آشکاری را نشان می‌داد (تصاویر ۱ تا ۳).



تصویر ۱: رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی برای آلفا اکتین عضله صاف در دئودنوم؛ نشان دهنده بیان آلفا اکتین در بخش عمده‌ای از عضلات داخلی حلقوی و خارجی طولی و در دیواره‌ی رگ‌های خونی است. تصویر به گونه‌ای طراحی شده است که لایه‌های عضلانی در سمت راست قرار داشته باشند، (IHC، $\times 20$ ، $\text{bar}=1 \mu\text{m}$).

اختلافی مشاهده نگردید. در یافته‌های هیستومورفومتریک مشخص شد که ضخامت طبقه‌ی مخاطی از سمت دئودنوم به سمت ژژنوم کاهش نامحسوسی یافته است؛ هر چند این کاهش معنی‌دار نبود. در مطالعه‌ی Lesson و همکاران در سال ۱۹۸۸ مشخص گردید که چین‌های مخاطی در روده‌ی انسان از سمت دئودنوم به سمت ژژنوم توزیع چشم‌گیری داشته و تغییرات محسوسی را در ضخامت این دو ناحیه‌ی روده ایجاد کرده است. آن‌ها نشان دادند که در ایلئوم کم‌ترین مقدار چین‌های مخاطی و به دنبال آن کم‌ترین ضخامت مخاط در ایلئوم مشاهده گردید. این در حالی است که در مطالعه‌ی حاضر مخاط در ژژنوم به سمت ایلئوم تغییر مشخصی نیافته بود. در مطابقت با یافته‌ی حاضر، Hasanzadeh و Orojee در سال ۲۰۰۳ در گاومیش نشان دادند که چین‌های مخاطی ایلئوم و به دنبال آن ضخامت این ناحیه تغییر محسوسی نسبت به دو بخش دئودنوم و ژژنوم نداشته است و از نسبت یکسانی پیروی کرده است. طبقه‌ی زیر مخاطی در بخش دئودنوم در دو جنس نر و ماده از لحاظ کمی مقادیر بیش‌تری را به خود اختصاص داده بود. اگر چه اختلاف معنی‌داری بین سه بخش دئودنوم، ژژنوم و ایلئوم در ضخامت لایه‌ی زیرمخاط مشاهده نگردید ولی از سمت دئودنوم به سمت ژژنوم و ایلئوم کاهش مشخصی در ضخامت این لایه مشاهده گردید. عضله‌ی مخاطی در هر سه ناحیه‌ی روده به شکل دو لایه‌ی خارجی و داخلی محرز بود. ضخامت بیش‌تر لایه‌ی زیر مخاط در دئودنوم نسبت به ژژنوم و ایلئوم می‌تواند به وجود غدد زیر مخاط دئودنوم مربوط باشد. در توجهی به مطلب اخیر به علت در معرض بودن این ناحیه از روده (دئودنوم) به اسید معده غدد بیش‌تری برای خنثی‌سازی اسیدیته کیموس احتیاج است. و فور این غدد در این ناحیه می‌تواند تا حدی ضخامت زیر مخاط را تحت تأثیر قرار دهد. این غدد در بیش‌تر گونه‌ها از محل اتصال معده به روده آغاز شده و تا فواصل مختلفی از روده‌ی کوچک کشیده می‌شود (Junqueira et al. 1983).

مختلف روده وجود دارد. به نحوی که در دئودنوم بیش‌ترین عمق کریپت، در ژژنوم بیش‌ترین طول کرک و در ایلئوم بیش‌ترین قطر کرک مشاهده گردید. در همین راستا اختلاف معنی‌داری بین دو جنس نر و ماده در نواحی مختلف و فاکتورهای ذکر شده در روده‌ی کوچک وجود نداشت. فاکتورهای مورد بررسی شامل قطر و طول کرک و همچنین عمق کریپت بود که بیش‌ترین آن مربوط به فاکتور قطر کرک در ناحیه‌ی ایلئوم بود. این مقدار به ترتیب ۳۹/۴۳ و ۴۰/۷۵ میکرومتر، در جنس نر و ماده مربوط به قطر کرک‌های ایلئوم می‌شد. کم‌ترین درصد فاکتورهای مذکور نیز مربوط به قطر کرک‌های دئودنوم در دو جنس نر و ماده به ترتیب ۳۰/۶۱ و ۲۸/۸۱ میکرومتر بود. در اغلب بخش‌های کارآی روده، واحد عملکردی گوارشی شامل دو ساختار منحصر به فرد کرک و کریپت روده‌ای می‌باشد؛ تأیید بر این مدعا زمانی است که چروکیدگی کرک‌ها در برخی نواحی روده‌ی کوچک سبب کاهش سطح جذب فعال در آن‌ها می‌شود. در روند تکاملی و همزمان با افزایش سن، می‌توان شاهد افزایش قطر و طول کرک‌ها بود؛ Vigueras و همکاران در سال ۱۹۹۲ به وضوح این تغییرات را گزارش کردند. Lu و همکاران در سال ۲۰۰۵ در مطالعه‌ی نشان دادند که نسبت ضخامت به طول کرک‌ها در دئودنوم بیش‌تر از ایلئوم است و این نسبت در دو جنس و در سنین مختلف تفاوت معنی‌داری ندارد. روده‌ی کوچک، به ویژه کریپت‌ها و کرک‌های جذب‌کننده‌ی بافت پوششی، نقش برجسته‌ای در هضم و جذب مواد غذایی دارند (Wang and Peng 2008). بنابراین افزایش در عمق کریپت‌ها، طول و ضخامت کرک‌ها سبب افزایش سطح جذب مخاط روده‌ای می‌شود.

مشاهدات مورفومتریک نشان داد که ضخامت کل دیواره‌ی روده در قسمت ابتدایی آن یعنی دئودنوم و نازک‌ترین ضخامت دیواره در قسمت انتهایی آن، ایلئوم، می‌باشد. با این وجود و با توجه به جدول ۲، بین دو جنس نر و ماده در زمینه‌ی فاکتور ضخامت کل دیواره

در سلول‌های تنظیم کننده‌ی ضربان قلب (pacemaker) جستجو کرد. ژن آلفا اکتین عضله‌ی صاف در اوایل مراحل تکامل فعال بوده است و به عنوان مشخصه‌ای مهم برای تمایز سلول‌های عضله‌ی صاف در نظر گرفته شده است. امروزه مشخصه‌ی ساختاری خاص اکتین راهی برای تولید ژن‌های اکتین خاص در نظر گرفته می‌شود (Fatigati and Murphy 1984). از آن جایی که دسته‌جات رشته‌های ماهیچه‌ای در عضله‌ی صاف بیش‌تر نمایان هستند، آلفا اکتین عضله‌ی صاف می‌تواند در عملکردهای انقباضی عضله‌ی صاف مطرح باشد (Gamba et al. 2004). کاهش سطح بیان آلفا اکتین در عضله‌ی صاف فرایندهای انقباضی سلولی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. همان‌طور که گفته شد، سلول‌های ماهیچه‌ی صاف روده‌ی کوچک در طول روده‌ی کوچک حاوی ملکول‌های ASMA بود، اما توزیع ASMA در بین ساختمان‌های عضلانی صاف در سه ناحیه‌ی مورد بررسی در تحقیق حاضر متفاوت بود. همچنین در مطالعه‌ی حاضر، دیواره‌ی عضلانی رگ‌های خونی (از لحاظ شدت) بیان آلفا-اکتین ماهیچه‌ی صاف را از خود نشان دادند که در هر سه قسمت روده مشهود بود. محققان نشان داده‌اند که اکسترا (extera) اکتین در سرخ‌رگ‌ها، به علت محتویات بسیار بالای آلفا-اکتین ماهیچه‌ی صاف در این رگ‌ها می‌باشد. این امر می‌تواند ناشی از تولید نسبت بالای آلفا-اکتین گاما در این رگ‌های خونی می‌باشد (Schildmeyer et al. 2000).

در پایان چنین استنباط می‌شود که وجود آلفا-اکتین ماهیچه‌ی صاف در سه بخش بالایی روده به اثبات می‌رسد ولی شدت آن در بخش‌های مختلف دارای تفاوت‌های آشکاری است. بنابراین، همچنان که ایمونوهیستوشیمی نشان داد، نتایج حاصل از مطالعه‌ی حاضر مشخص کرد که رنگ‌پذیری آلفا-اکتین ماهیچه‌ی صاف در بخش‌های مختلف متفاوت بوده و در طول روده‌ی کوچک در دستگاه گوارش می‌تواند بیان متفاوتی را نشان دهد.

در پارامتر لایه‌ی عضلانی، یافته‌ها نشان داد که ضخامت این لایه از بخش میانی روده نازک‌تر از سایر نواحی بوده و با نفوذ آن به ایلئوم بر ضخامت این لایه افزوده می‌گردد اما این افزایش غیر معنی‌دار بود. بنابراین چنین می‌توان تصور کرد که کاهش ضخامت لایه‌ی عضلانی در بخش (ژژنوم) قبل از انتهای روده (ایلئوم) سبب یک ایستایی نسبی مواد غذایی در این بخش شده تا این که بهترین جذب رخ دهد.

آلفا-اکتین ماهیچه‌ی صاف (هر دو لایه) در تمام بخش‌های روده قابل رویت بود و در هر دو جنس مشاهده گردید. ولی همان‌طوری که نتایج نشان داد، شدت‌های متفاوتی از بیان آلفا-اکتین ماهیچه‌ی صاف در سه قسمت روده مشاهده گردید. در مقام مقایسه با ضخامت لایه‌های عضلانی در طول روده‌ی کوچک، بیان آلفا-اکتین ماهیچه‌ی صاف در مطابقت با تغییرات مشاهده شده از شدت‌های مشابهی همسو با این تغییرات، برخوردار بود. وانگهی کم‌ترین شدت بیان آلفا-اکتین در ژژنوم و بیش‌ترین شدت در ایلئوم مشاهده گردید و این در حالی است که در دژنوم حالت بینابینی مشاهده گردید. ماهیچه‌هایی که معمولاً در حال استراحت هستند (نظیر آنچه که در مری و روده‌ها مشاهده می‌گردد) اساساً حاوی گاما-اکتین می‌باشند. در مقابل ماهیچه‌هایی که نقش اصلی انقباضی را بازی می‌کنند (نظیر آنچه در رگ‌ها و اسفنکتر پائینی مری است) حاوی مقادیر بیش‌تری از آلفا-اکتین ماهیچه‌ی صاف می‌باشند (Fatahian Dehkordi et al. 2016, Fatahian Dehkordi et al. 2015, Perrin Gamba and Ervasti 2010, Schildmeyer et al. 2000). و همکاران در سال ۲۰۰۴ نشان دادند که حداقل بیان آلفا-اکتین ماهیچه‌ی صاف در لایه‌ی ماهیچه‌ای عرضی داخلی در روده‌ی کوچک و ماهیچه‌ی مخاطی وجود دارد. به نظر می‌رسد که واکنش‌پذیری برای آلفا-اکتین ماهیچه‌ی صاف در بخش‌های داخلی‌تر لایه‌ی ماهیچه‌ای عرضی ممکن است به‌طور خاص به عملکرد و ویژگی‌های انقباض ارتباط داشته باشد. اثبات این فرضیه را می‌توان

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از خانم دکتر برادران (مسئول آزمایشگاه در اصفهان) جهت انجام رنگ‌آمیزی ایمونوهیستوشیمی و کمک به انجام این تحقیق تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع

- Berseth, C.L. (1996). Gastrointestinal motility in the neonate. *Clinics in Perinatology*, 23(2): 179-190.
- Eurell, J.A. and Frappier, B.L. (2013) *Dellmann's textbook of veterinary histology*. 6th ed. John Wiley & Sons. P: 210.
- Fatahian Dehkordi, R.A.; Baghai, R. and Rahimi, R. (2016). Morphometric properties and distribution of alpha-actin in the smooth muscle cells (ASMA) of the small intestine during development in chicken. *Journal of Applied Animal Research*, 44(1): 492-497.
- Fatahian Dehkordi, R.A.; Daryalal, Y. and Lajmieri, E. (2015). Expression of alpha-smooth muscle actin as special and morphometric assessment in the small intestine during the postnatal development in hamster. *Journal of Histotechnology*, 38(2): 45-50.
- Fatigati, V. and Murphy, R.A. (1984). Actin and tropomyosin variants in smooth muscles. Dependence on tissue type. *Journal of Biological Chemistry*, 259(23): 14383-14388.
- Gamba, E.; Carr, N. and Bateman, A. (2004). Deficient α smooth muscle actin expression as a cause of intestinal pseudo-obstruction: fact or fiction? *Journal of Clinical Pathology*, 57(11): 1168-1171.
- Geiger, B.; Dutton, A.H.; Tokuyasu, K.T. and Singer, S.J. (1981). Immunoelectron microscope studies of membrane-microfilament interactions: distributions of alpha-actinin, tropomyosin, and vinculin in intestinal epithelial brush border and chicken gizzard smooth muscle cells. *Journal of Cell Biology*, 91(3): 614-628.
- Gunning, P.; Ponte, P.; Okayama, H.; Engel, J.; Blau, H. and Kedes, L. (1983). Isolation and characterization of full-length cDNA clones for human alpha-, beta-, and gamma-actin mRNAs: skeletal but not cytoplasmic actins have an amino-terminal cysteine that is subsequently removed. *Molecular and Cellular Biology*, 3(5): 787-795.
- Guo, D.C.; Papke, C.L.; Tran-Fadulu, V.; Regalado, E.S.; Avidan, N.; Johnson, R.J. et al. (2009). Mutations in smooth muscle alpha-actin (ACTA2) cause coronary artery disease, stroke, and Moyamoya disease, along with thoracic aortic disease. *The American Journal of Human Genetics*, 84(5): 617-627.
- Hasanzadeh, S. and Orojee, S. (2003). Gross Morphology, Histology and Histomorphometry of the ileum in river buffalo. *Buffalo Journal*, 19(3): 273-282.
- Jani, P.U.; McCarthy, D.E. and Florence, A.T. (1992). Nanosphere and microsphere uptake via Peyer's patches: observation of the rate of uptake in the rat after a single oral dose. *International Journal of Pharmaceutics*, 86(2-3): 239-246.
- Junqueira, L.C.; Carneiro, J. and Kelly, R.O. (1983). *Basic histology*. 6th ed., London, Prentice Hall International. Pp: 282-311, 346.
- Kanamori, Y.; Ishimaru, K.; Nanno, M.; Maki, K.; Ikuta, K.; Nariuchi, H. et al. (1996). Identification of novel lymphoid tissues in murine intestinal mucosa where clusters of c-kit⁺ IL-7R⁺ Thy1⁺ lympho-hemopoietic progenitors develop. *Journal of Experimental Medicine*, 184(4): 1449-1459.
- Lesson, T.; Lesson, C. and Paparo, A. (1988). *Text and atlas of histology*. 1st ed., Orlando, Florida, USA, W. B. Saunders Co. Pp: 434-463.
- Lu, X.; Zhao, J. and Gregersen, H. (2005). Small intestinal morphometric and biomechanical changes during physiological growth in rats. *Journal of Biomechanics*, 38(3): 417-426.
- Pekas, J.C. and Wray, J.E. (1991). Principal gastrointestinal variables associated with metabolic heat production in pigs: statistical cluster analyses. *The Journal of Nutrition*, 121: 231-239.
- Perrin, B.J. and Ervasti, J.M. (2010). The actin gene family: function follows isoform. *Cytoskeleton*, 67(10): 630-633.
- Schildmeyer, L.A.; Braun, R.; Taffet, G.; Debiase, M.; Burns, A.E.; Bradley, A. et al. (2000). Impaired vascular contractility and blood pressure homeostasis in the smooth muscle α -actin null mouse. *The FASEB Journal*, 14(14): 2213-2220.

- Springer, M.L.; Ozawa, C.R. and Blau, H.M. (2002). Transient production of α -smooth muscle actin by skeletal myoblasts during differentiation in culture and following intramuscular implantation. *Cell Motility and the Cytoskeleton*, 51(4): 177-186.
- Viguera-Villaseñor, R.M.G.; Cravioto, C.; Hernández-González, J.; Castañeda, R.R. and César, J. (1992). Cambios cuantitativos de la mucosa gástrica de la rata durante el primer año de vida. *Acta Médica*, 28: 17-24.
- Wang, J. and Peng, K. (2008). Developmental morphology of the small intestine of African ostrich chicks. *Poultry Science*, 87(12): 2629-2635.
- Weisbrodt, N.W. (1987). Motility of the small intestine. in: Johnson LR(ed.). *Physiology of the gastrointestinal tract*. Raven Press, New York. 631-663.
- Yamamoto, Y.; Kubota, T.; Atoji, Y. and Suzuki, Y. (1996). Distribution of alpha-vascular smooth muscle actin in the smooth muscle cells of the gastrointestinal tract of the chicken. *Journal of Anatomy*, 189(3): 623- 630.

Study of the histometry and Smooth Muscle Alpha Actin (ASMA) in smooth muscles of the small intestine of camel

Fatahian Dehkordi, R.A.¹; Kiani, F.Z.² and Nasiri, I.²

Received: 06.09.2017

Accepted: 10.04.2018

Abstract

Immunoreactivity of alpha-smooth muscle actin (ASMA), along with histometric values was evaluated in camel small intestine in both sexes. A total of 8 camels (both sexes male and female) were selected from Najaf Abad slaughterhouse and then the abdominal cavity was dissected and the small intestine was removed. The one cm fragment from three parts was fixed in formalin and from some specimens sections were prepared and stained with hematoxylin-eosin and the remainder were immunohistochemically stained with alpha actin antibodies. The results showed that there are the longest villi of the intestine in jejunum, the largest diameter of the villi in the ileum and the deepest crypt of the intestine in the duodenum. Morphometric results showed that the mean of the thickness of the mucous and submucosal layer in the duodenal region was more than the jejunum and ileum this organ. The mean thickness of the muscular layer in both sexes in the intestinal jejunum region is less than the duodenum and ileum this organ. Different intensities of alpha-actin expression were observed, as the lowest alpha-actin intensity in jejunum and the highest intensity of α -actin expression of smooth muscle in ileum was observed. Due to the lowest thickness of the muscle layer in jejunum, the lowest expression of alpha-actin in this region was observed. The expression of smooth muscle alpha-actin in the small intestine of the camel was evident, but its severity was different.

Key words: Alpha Smooth Muscle Actin, Immunohistochemistry, Morphometry, Small intestine, Camel

1- Associate Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

2- DVM Student, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

Corresponding Author: Fatahian Dehkordi, R.A., E-mail: fatahian_1349@yahoo.com