Archive of SID

دوره ی دوم/ شماره ی ۴/ تابستان ۱۳۸۳

بررسی استریولوژیک کبد در مراحل نخستین دیابت شیرین در موش صحرایی

چکیده

مقدمه: بیشتر بررسی های انجام شده در باره ی اثر بیماری قند بر کبد بر جنبه‌های فیزیولوژی و بیوشیمیایی آن متمرکز بوده و در بررسی های کم شماری که انجام گرفته، به تغییرات ساختار کبد در طی بیماری قند، کمتر توجه شده است. هدف این پژوهش، ارزیابی تغییرات ریخت شناسی کبد، مانند حجم کبد، میانگین حجم بر پایه ی حجم یاخته های کبدی و هسته‌های آنها و نیز حجم سینوزوییدهای کبد در موش های صحرایی دیابتی شده به وسیله ی استرپتوزوتوسین به روش‌های استریولوژیک بوده است. **روش کار:** برای انجام این امر، موش های صحرایی نر به وسیله ی استرپتوزوتوسین دیابتی شده و کبد آنها در هفته‌های چهارم، هشتم و دوازدهم بررسی شد. وزن و حجم کبد اندازه‌گیری گردیده و میانگین حجمی یاخته های کبدی و میانگین حجم هسته ی این یاخته ها بر پایه ی روش "Volume-Weighted Mean Volume" برآورد شد. نسبت حجمی و حجم سینوزوییدهای کبدی به روش شمارش نقطه ای Point Counting محاسبه گشت و برای واکاوی داده ها، از آزمون ANOVA استفاده شد. **یافته‌ها:** یافته ها نشان داد که حجم و وزن کبد و میانگین حجمی یاخته های کبدی در هفته های چهارم و هشتم پس از القای دیابت کاهش یافته و میانگین حجم هسته ی یاخته های کبد در هفته‌های چهارم، هشتم و دوازدهم در حیوانات دیابتی کاهش یافت. حجم مطلق سینوزوییدهای کبدی، به گونه ای معنی دار در هفته ی چهارم کاهش یافته و پس از آن تغییر نکرد. **نتیجه:** از این بررسی می توان نتیجه گرفت که دیابت شیرین، حجم کبد، ریخت شناسی یاخته ها، هسته‌ها و سینوزوییدها را در مراحل نخستین دیابت شیرین در موش صحرایی تغییر می‌دهد.

دکتر علی نورافشان*،
بنفشه اسماعیل زاده**،
دکتر صغری بهمن پور*،
اقدس پوست پسند***،
*دانشیار گروه علوم تشریحی،
**کارشناس ارشد
علوم تشریحی،
***مربی گروه علوم تشریحی،
دانشگاه علوم پزشکی شیراز

نویسنده مسوول:
دکتر علی نورافشان
شیراز، دانشکده پزشکی،
بخش علوم تشریحی
تلفن: ۰۷۱۱-۲۳۰۴۳۷۲
E-mail:
noora@sums.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

کلید واژه‌ها: استریولوژی، دیابت شیرین، کبد، موش صحرایی

مقدمه

دیابت شیرین بر جنبه‌های کارکردی کبد از دیدگاه فیزیولوژی و بیوشیمیایی اثر گذار است، اما به تغییرات ساختاری کبد در این بیماری کمتر توجه شده است. گزارش‌های آسیب شناختی نیز بر مراحل مزمن بیماری قند، مانند گلیکوژنز، کبد چرب و سیروز میکروندولار متمرکز هستند [۱-٤]، اما به تغییرات ساختاری در آغاز بیماری کمتر توجه داشته‌اند. هدف این بررسی، مشخص کردن حجم کبد، میانگین حجم بر پایه ی حجم یاخته (یعنی نمونه برداری و اندازه‌گیری ذرات مورد نظر بر پایه ی حجم ذرات)، یاخته های کبد و هسته‌های آنها در سه ناحیه ی بافت شناسی کبد [۳] یعنی، ناحیه ی Periportal (Z1)، ناحیه ی بینابینی Interstitial (Z2) و ناحیه ی اطراف وریدی Perivenous (Z3) و در پایان، محاسبه ی حجم مطلق سینوزوییدهای کبد در مراحل نخستین بیماری قند با روش‌های استریولوژیک بود.

مواد و روش

شمار هفتاد و دو قطعه موش صحرایی نر (Sprague – Dawley) با دامنه ی وزنی ۲۲۰ تا ۲۸۰ گرم ، به طور تصادفی انتخاب شده و دمای محیط و چرخه ی روشنایی و تاریکی محیط آنها در مدت نگهداری ثابت نگاه داشته شد. دیابت شیرین، با تزریق ٦٥ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن از داروی استرپتوزوتوسین (Streptozotocin) [۲] به ۳٦ موش صحرایی ایجاد گشت. ۳٦ موش صحرایی دیگر نیز به عنوان گروه شاهد مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه ی خون از سیاهرگ دمی، پیش از ایجاد بیماری قند خون و نیز، دو روز و دو هفته ی پس از آن گرفته و وضعیت قند خون در آنها بررسی شد. قند خون دو هفته پس از ایجاد دیابت، یعنی زمان تثبیت قند خون در گروه موش‌های دیابتی، بیشتر از ۳۵۰ میلی گرم در دسی لیتر [۵] و در موش‌های شاهد، ۷۵ تا ۱۲۸ میلی گرم در دسی لیتر بود.

آماده سازی بافت

موش های صحرایی گروه شاهد و آزمایش، هر یک، به سه گروه ۱۲ تایی بخش شدند و گروه نخست، دوم و سوم، به ترتیب، در هفته‌های چهارم، هشتم و دوازدهم پس از تزریق استرپتوزوتوسین بیهوش شده و قفسه ی سینه آنها باز شده و از راه بطن چپ، ۵۰۰ میلی لیتر محلول بافر شده ی فرمالدیید (چهار در صد) در مدت ده دقیقه و با فشار ۱۲۰ میلی متر جیوه، به دستگاه گردش خون جاندار وارد شد. برای خروج خون و محلول، دهلیز راست نیز، باز گردید. پس از ثبوت کامل بافت‌ها، کبد آنها بیرون آورده شده و پس از وزن کردن و تعیین حجم به روش شناورسازی

www.SID.ir

Archive of SID

(Immersion)، کبد در محلول فرمالدیید بافر شده گذاشته شد. پس از یک هفته، کبدها به صورت نوارهای باریک برش زده شده و به روش نمونه برداری تصادفی منظم (Systematic Random Sampling)، پنج قطعه از هر کبد برداشته شد. برش‌های یاد شده، که برای محاسبه ی حجم بر پایه ی حجم ذرات ضروری است، به روش Orientator به دست آمد [۱۰-۶]. به طور خلاصه، هر قطعه، در آغاز بر روی مرکز دایره‌ای، که به ۳۶ قسمت برابر تقسیم شده بود، گذاشته شد و پس از انتخاب تصادفی یک عدد، از صفر تا سی و شش در راستای این قطر برش زده شد. سطح برش خورده در مرکز دایره ی دوم که به ۹۷ قسمت نابرابر و بر پایه ی سینوس زاویه ها بخش شده بود قرار گرفت، با انتخاب عددی جدید میان صفر تا نود و هفت، سطح تازه ای در هر قطعه بریده شد. قطعه ها برپایه ی سطح جدید که به دست آمده بود، در پارافین گذاشته شده و قالب گیری گشت و به روش Feulgen PAS [۱۱] رنگ آمیزی شد. در بررسی استریولوژیک، آشکاری مرز هر ذره ضروری است و این روش رنگ آمیزی می‌تواند بی نیاز از روش‌های گران قیمت ایمونوهیستوشیمی، دیواره ی سلول و هسته ی یاخته های کبدی و سینوزوییید ها را نمایان سازد.

اندازه‌گیری‌های ریخت شناسی

یک میکروسکوپ نوری از نوع Projecting (Visupan , Austria) در بزرگنمایی ۱۲۵۰ برای انجام محاسبات به کار رفت. نواحی میکروسکوپی با حرکت صفحه ی نگاه دارنده ی لام میکروسکوپ در جهت‌های X و Y، با کمک مقیاس‌های درج شده در لبه‌های صفحه ی میکروسکوپ انتخاب شده و محاسبات با انتخاب ذرات به وسیله ی یک سیستم آزمون نقطه – خط (Point - line Test System) انجام شد [۸،۷].

طول هر قطاع (Intercept) یا "l_0" در مقیاس بافتی محاسبه و حجم با کمک فرمول: $Vv=\frac{\pi}{3}\overline{l_0}^3$ به دست آمد[۱۰-۸].

برای محاسبه ی نسبت حجمی(Vv) سینوزوییدهای کبدی روش شمارش نقطه ای (Point Counting) به کار رفت و یک سیستم آزمون نقطه‌ای برروی بافت قرار گرفته و نسبت نقاطی که بر روی سینوزوییید قرار می‌گیرد [P(sin)] به کل نقاط واقع بر بافت [P (ref)] محاسبه و در پایان با کمک فرمول: Vv = P(sin) / P(ref) نسبت حجمی برآورد شد. حجم مطلق سینوزوییدها با ضرب کردن نسبت حجمی در حجم کل کبد به دست آمد تا ازخطای "Reference Trap" جلوگیری شود [۱۰-۷].

واکاوی آماری

برای مقایسه ی متغیرها در گروه های گوناگون، از آزمون ANOVA ونیز آزمون Student t-Test در سطح معنی دار۰/۰۵= α بهره جویی

www.SID.ir

Archive of SID

گردید. مقدارp گزارش شده مربوط به Student t-Test است.

یافته ها

در پایان آزمایش، همه ی حیوانات دیابتی، دچار کاهش وزن شده بودند. میانگین کاهش، به ترتیب تقریبا" ۵ ، ۴ و ۱۴ درصد در هفته‌های چهارم، هشتم و دوازدهم بود، که به صورت معنی دار، در هفته‌های چهارم و دوازدهم (p<۰/۰۰۱) با گروه شاهد متفاوت بود (جدول ۱). میانگین وزن کبد در موش های صحرایی دیابتی، به ترتیب ۱۵، ۱۲ و ۷ درصد در هفته‌های چهارم، هشتم و دوازدهم کاهش نشان داد، که در هفته های چهارم (p<۰/۰۰۱) و هشتم (p<۰/۰۲) تفاوت معنی‌دار بود (جدول ۱). میانگین حجم کبد در موش های صحرایی دیابتی به ترتیب ۱۵، ۱۳ و ۶ درصد در هفته‌های چهارم، هشتم و دوازدهم کاهش یافت، که در هفته‌های چهارم (p<۰/۰۰۱) و هشتم (p<۰/۰۷) تفاوت معنی‌دار بود (جدول ۱). چهار هفته پس از القای دیابت میانگین حجم یاخته های کبدی تقریبا ۳۰ درصد، در ناحیه یZ1 (p<۰/۰۰۱)، ۳۱ درصد، در ناحیه ی Z2 (p<۰/۰۰۱) و ۲٤ درصد ی در ناحیه ی Z3 (p<۰/۰۰۲) در موش های صحرایی دیابتی کاهش یافت، که این اختلاف در هر سه ناحیه معنی‌دار بود (جدول ۲). میانگین حجم یاخته های کبدی ۱٤، ۱۹ و ۲٤ درصد، به ترتیب در نواحیZ2، Z1

جدول ۱: میانگین وزن بدن (گرم)، وزن کبد (گرم)، حجم کبد (میلی لیتر)، حجم مطلق سینوزوییدهای کبد (میلی لیتر) و انحراف معیار آنها در موش‌های صحرایی شاهد و دیابتی

گروه‌های مورد بررسی	شمار	وزن بدن	وزن کبد	حجم کبد	حجم مطلق سینوزوییدها
گروه شاهد	۱۲	۲۵۵/۷۵±۴۱/۶	۹/۷۵±۰/۲۵	۹/۰۳±۰/۲۱	۲/۱۱±۰/۲۹
گروه دیابتی: ۴ هفته پس از دیابتی شدن	۱۲	۲۱۵/۵۰±۳۷/۲*	۸/۳۰±۰/۲*	۷/۷۰±۰/۱۹*	۱/۸۱±۰/۱۷*
گروه شاهد	۱۲	۲۸۹/۲۵±۵۵/۳	۱۰/٦٦±۰/۵۳	۹/٦۹±۰/۳۰	۲/۰۵±۰/٤۲
گروه دیابتی: ۸ هفته پس از دیابتی شدن	۱۲	۲۷٦/۸۳±۷۸/۷	۹/٤۲±۰/۳۸‡	۸/٤۲±۰/۳۹†	۱/۸۱±۰/٤٤
گروه شاهد	۱۲	۳۳۸/۷۵±۳٤/۷	۱۱/۲۸±۰/٦٤	۱۰/۱٤±۰/۵۲	۲/۰۹±۰/۳۹
گروه دیابتی: ۱۲ هفته پس از دیابتی شدن	۱۲	۲۸۸/٦٦±۵۱/۹*	۱۰/۵۱±۰/٤۷	۹/۵۰±۰/٤۳	۲/۳۵±۰/٦۷

*: p < ۰/۰۰۱ ‡ : p < ۰/۰۲ †: < p = ۰/۰۰۷

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲: میانگین حجم بر پایه ی حجم (میکرومتر مکعب) وانحراف معیار یاخته‌های کبدی در سه ناحیه ی بافتی(Z1 , Z2 , Z3) در موش‌های صحرایی شاهد و دیابتی

گروه‌های مورد بررسی	حجم یاخته های کبدی در ناحیه ی Z1	حجم یاخته های کبدی در ناحیه ی Z2	حجم یاخته های کبدی در ناحیه یZ3
گروه شاهد	۵۷۳۱/۶۸±۲۴۳/۳۱	۴۰۷۴/۲۶±۱۵۸/۱۲	۲۵۰۱/۶۵±۱۳۴/۳۲
گروه دیابتی: ۴ هفته پس از دیابتی شدن	۳۹۷۷/۶۰±۱۳۰/۶۶$	۲۷۹۶/۹۸±۱۲۸/۰۷$	۱۹۰۰/۶۲±۱۰۲/۹۹*
گروه شاهد	۵۶۷۷/۲۵±۵۵۸/۲۹	۴۳۶۲/۵۲±۲۹۴/۸۷	۳۳۶۳/۲۶±۲۶۲/۹۳
گروه دیابتی: ۸ هفته پس از دیابتی شدن	۴۸۸۰/۷۲±۲۱۲/۵۴	۳۵۴۵/۵۱±۱۷۱/۵۱ Δ	۲۵۷۳/۳۵±۸۶/۸۹□
گروه شاهد	۶۱۴۲/۸۴±۲۱۵/۶۴	۴۰۱۲/۹۵±۱۲۲/۳۸	۲۶۶۶/۶۰±۷۶/۷۴
گروه دیابتی: ۱۲ هفته پس از دیابتی شدن	۵۳۱۱/۳۴±۱۸۸/۱۹+	۳۸۰۳/۶۷±۸۲/۵۶	۲۷۱۰/۳۷±۲۸۰/۹۱

$: p < ۰./۰۰۱ □ : p < ۰/۰۱

* : p < ۰/۰۰۲ + : p < ۰/۰۰۸ Δ : p < ۰/۰۲

وZ3 در هفته ی هشتم پس از القای دیابت کاهش یافت و این اختلاف، در نواحی Z2 (p<۰/۰۲) و Z3 (p<۰/۰۱) معنی‌دار بود (جدول ۲). میانگین حجم یاخته های کبد در هفته ی دوازدهم پس از القای دیابت، ۱۴ و ۵ درصد در نواحی Z1 و Z2 کاهش و دو درصد، درZ3 افزایش یافت، که این اندازه ها تنها در ناحیه ی Z1 معنی‌دار بود (p<۰/۰۰۸) (جدول ۲). میانگین حجم هسته ی یاخته ها ۹، ۱۸ و۲۰ درصد در نواحی Z1، Z2 و Z3، چهار هفته پس از دیابت کاهش یافت و این تغییرات در نواحی Z2 (p<۰/۰۴) و Z3 (p<۰/۰۲) معنی دار بود (جدول۳). میانگین حجم هسته‌های یاخته های کبد به گونه ای معنی‌دار (p<۰/۰۰۱) در هر سه ناحیه ی کبدی هشت هفته پس از القای دیابت کاهش یافت (جدول۳). میانگین حجم هسته ی یاخته ها به گونه ای معنی دار، به ترتیب، ۱۸، ۱۵ و ۱۳ درصد در نواحی Z1 (p<۰/۰۰۱)، Z2 (p<۰/۰۲) و Z3 (p<۰/۰۴) پس از ۱۲ هفته کاهش یافت (جدول ۳). حجم مطلق سینوزوییدهای کبد به گونه ای معنی دار (p<۰/۰۰۱)، تنها در هفته ی چهارم پس از آغاز دیابت کاهش یافت.

بحث

بررسی کنونی، با استفاده از روش های استریولوژی، نشان می دهد که حجم و وزن کبد و حجم نسبی و مطلق سینوزوییدها و میانگین حجم بر پایه ی حجم یاخته های کبد و هسته‌های آنها

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳: میانگین حجم بر پایه ی حجم (میکرومترمکعب) و انحراف معیار هسته ی یاخته های کبدی در سه ناحیه ی بافتی(Z3 , Z2 , Z1) موش‌های صحرایی شاهد و دیابتی

گروه‌های مورد بررسی	حجم هسته ی یاخته های کبدی در ناحیه Z1	حجم هسته ی یاخته های کبدی در ناحیه ی Z2	حجم هسته ی یاخته های کبدی در ناحیه ی Z3
گروه شاهد	۲۳۸/۹٤±۱۲/۱٤	۲۰۳/۷۸±۱۵/٦٦	۱٤۳/٦٤±۳/٦۳
گـروه دیـابتی: ۴ هفتـه پس از دیابتی شدن	۲۱٦/۸۵±۲۵/٤۹	۱٦٦/۵۷±٦/۵۹$	۱۱۵/۸۹±۹/۶*
گروه شاهد	۲٤۹/۰۰±۹/٦۸	۲۰۹/۰۸±۹/٤۲	۱۸۱/۲٤±۷/۸۹
گروه دیابتی: ۸ هفته پس از دیابتی شدن	۱۹۱/۸±۹/۶ Δ	۱٦۲/۵۷±۵/۷۶ Δ	۱٤۰/۱۰±٤/۷ Δ
گروه شاهد	۲۵٤±۹/۱٦	۲۱۲/۷٤±۱۲/٤۱	۱۵٦/۸۱±۸/۰۹
گـروه دیـابتی: ۱۲ هفتـه پس از دیابتی شدن	۲۰۹/۸±۷/۲۵ Δ	۱۸۱/۲۱±۵/۱۹*	۱۳٦/۵٤±٤/۸۶$

$: p <۰/۰۴ *: p < ۰/۰۲ Δ : p < ۰/۰۰۱

در هفته‌های چهارم، هشتم و دوازدهم در موش های صحرایی دیابتی شده به وسیله ی استرپتوزویسین تغییر می کند. بررسی های Carnovale و همکاران [۱۲] نشان داد که استرپتوزوتوسین اثر موقتی بر کارکرد دستگاه کبدی – صفراوی دارد، که در روز پانزدهم پس از آزمایش ناپدید می شود. بنابراین، انتخاب استرپتوزوتوسین برای القای دیابت راه مناسب بررسی اثر دیابت است [۱۲]. بررسی کنونی نشان می دهد که، کاهش معنی دار حجم و وزن کبد در پایان هفته ی چهارم و هشتم پس از دیابت دیده می شود و این امر ممکن است به دلیل کاهش اندازه ی گلیکوژن یا ساخت کلسترول کبدی در یاخته های کبدی در مراحل حاد دیابت باشد [۱۵-۱۳]. افزایش وزن و حجم کبد که در مراحل مزمن دیابت دیده می شود، احتمالاً به دلیل ته نشست گلیکوژن یا متامورفوز چربی است [۱]. میانگین حجم بر پایه ی حجم یاخته های کبدی به روش Point–Sampled Intercept در نواحی گوناگون آسینوس‌های کبد انجام شد. واحد کارکرد کبد یا لوبول داسی شکل به سه ناحیه بخش می شود (نواحی Z1 ، Z2 و Z3)، که اساس آن برای جریان خون از سیاهرگ پورتال (Portal) به سوی سیاهرگ مرکز لوبولی است. بیشترین کاهش حجم در هفته ی چهارم و در هر سه ناحیه دیده می شود و در هفته ی دوازدهم، تنها یاخته های Z1 تغییرات معنی دار نشان می‌دهند. در یاخته هایZ1 ، ساخت گلیکوژن و تجزیه ی آن رخ می دهد. این ناحیه نیز، جای سوخت و ساز پروتئین و تشکیل پروتئین‌های

www.SID.ir

Archive of SID

پلاسماست. فعالیت یاخته های ناحیه ی Z3 ذخیره ی گلیکوژن و تشکیل رنگدانه‌ها و چربی است. یاخته های ناحیه ی Z2 در کارکرد این دو ناحیه شریک می‌شوند. بنابراین، بیشترین اثر در یاخته های ناحیه Z1 ی دیده می شود، که نقشی مهمتر در ساخت گلیکوژن دارد. در پایان آزمایش، یاخته های Z2 و Z3 نسبت به گروه شاهد تغییری چشمگیر نداشتند، که احتمالا" این امر به دلیل ته نشست گلیکوژن یا متامورفوز چربی است، که در مراحل مزمن رخ می دهد[۱۷-۱٤]. متغیر دیگر مورد بررسی، حجم هسته ی یاخته های کبدی بود. ممکن است تغییرات در هسته های یاخته ها به این علت باشد که، هسته‌ها مسوول اصلی ساخت RNA و پروتئین سازهای بعدی هستند. بیان شده است که در یاخته های غیر میتوزی، حجم هسته با اندازه ی DNA و سطح فعالیت آنها مربوط است [۱۹،۱۸،۱۰]. حتی، در یاخته هایی که میتوز یک رخداد طبیعی است (مانند یاخته های کبدی موش صحرایی)، تغییرات در حجم هسته بدون تغییر درPloidy، با تغییر در ساخت پروتئین و فعالیت هسته مربوط است. بنابراین، ممکن است تغییر در ساخت پروتئین، به تغییرات در فعالیت سوخت و سازی منجر گردد [۱۹،۱۸]. بنابراین، ممکن است تغییر در حجم هسته به دلیل کاهش فعالیت سوخت و سازی در این یاخته ها و هسته‌های آنها باشد زیرا، میزان کافی انسولین و گلوکاگون برای ساخت پروتئین کبدی ضروری است. مناسب بودن سطح انسولین برای نگهداشت حالت طبیعی شبکه ی اندوپلاسمی خشن در ساخت پروتئین ترشحی ضروری است. در جانوران که سطح انسولین در آنها ناچیز است، شبکه ی اندوپلاسمی خشن کم شده و تکثیر شبکه اندوپلاسمی صاف انجام می‌گیرد و از اندازه اتصال اسیدهای آمینه به زنجیره پروتئینی کاسته می‌شود. از این مطلب می توان چنین نتیجه گرفت که بیماران مبتلا به دیابت شیرین، در پروتئین سازی نارسایی دارند و کاهش حجم هسته، به دلیل سطح پایین انسولین و در پی آن، کاهش فعالیت سوخت و سازی هسته است.

نشان داده شده است که، در مراحل مزمن دیابت، به دلیل ته نشست ذرات درون هسته‌ای، سطح مقطع هسته افزایش می‌یابد [۲]. متغیر دیگر مورد بررسی، حجم سینوزوییدها بوده، که در هفته ی چهارم کاهش یافته است. شاید دلیل این امر آن باشد که سینوزوییدها مجاورتی نزدیک با یاخته های پارانشیم کبد دارند و با کاهش حجم یاخته ها، سینوزویید نیز، کوچک تر می‌گردد. در پایان، می‌توان نتیجه گرفت که، دیابت شیرین در مراحل آغازین می‌تواند تغییرات ساختاری در کبد ایجاد کند.

نتیجه گیری

دیابت شیرین، حجم کبد، ریخت شناسی یاخته ها، هسته ها و سینوزییدهای کبد را در مراحل نخستین دیابت در موش صحرایی تغییر می دهد.

www.SID.ir

Archive of SID

سپاسگزاری

نویسندگان از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شیراز و معاونت پژوهشی دانشکده پزشکی شیراز، که با تصویب طرح ۷۹-۱۱۲۹ امکان اجرای این بررسی را فراهم آورده اند، سپاسگزاری می کنند.

A Stereological Study on the Liver in the Early Stages of Streptozotocin-Induced Diabetes Mellitus in Rats

*A. Noorafshan, Ph.D. *,*
*B. Esmaiel- Zadeh, M.Sc. **,*
*S. Bahmanpoor, Ph.D. *,*
*A. Poostpasand, M.Sc. ***,*
**Associate Professor of Anatomy,*
***M.Sc. of Anatomy,*
****Instructor of Anatomy, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran*

Correspondence:
A. Noorafshan
Department of Anatomy, School of Medicine, Shiraz, Iran
Tel: *+98-711-2304372*
E-mail:
noora@sums.ac.ir

Background: Diabetes mellitus is associated with an increased risk of certain complications including those involving the liver. However, most studies have focused on the biochemical, physiological and qualitative pathologic alterations of the liver in diabetes and the quantitative aspects of liver structure has received less attention. The aim of this study was to evaluate the quantitative changes in liver volume, volume-weighted mean volume of hepatocytes and their nuclei, and proportional and absolute volumes of liver sinusoids in streptozotocin-induced diabetic rats, using stereological methods. **Materials and Methods:** Streptozotocin was injected to male rats and their livers were removed after 4, 8 and 12 weeks. Liver volume and weight were measured and uniform isotropic random sections of the liver were obtained using the orientator method and stained with Feulgen periodic acid schiff. Microscopic fields were chosen and volume-weighted mean volume of the hepatocytes and their nuclei were estimated using the point-sampled intercepts method in three histological zones of the liver acini. Proportional and absolute volumes of liver sinusoids were measured using point counting. **Results:** The results showed that liver volume and weight and mean volume of the hepatocytes were mainly decreased 4 and 8 weeks after diabetes induction. The mean volume of hepatocytes nuclei decreased at 4, 8 and 12 weeks in diabetic rats. The absolute volume of liver sinusoids decreased 4 weeks after diabetes induction but no significant differences were noted after 8 and 12 weeks. **Conclusion:** From this study it can be concluded that induced diabetes mellitus in rats can alter liver volume, morphology of hepatocytes and their nuclei and sinusoids in the early stages of the disease.

www.SID.ir

Archive of SID

Keywords: Stereology, Diabetes mellitus, Liver, Rat

منابع

[1]De Maria N, Coantoni A, Van Thiel DH: The liver and endocrine function. In: Kenneth L, eds. ***Principles and practice of endocrinology and metabolism***. 3rd ed. Philadelphia, USA: Lippincott Williams and Wilkins, 2001;1870-85.
[2]Doi K, Yamanouchi J, Kume E, et al.: Morphologic changes in hepatocyte nuclei of streptozotocin (SZ) induced diabetic mice. ***Exp Toxicol Pathol*** 1997;49(3-4):295-9.
[3]Herbst M: Glycogenous hepatonuclear inclusions in the aged mouse: An electron microscopic study of the histogenesis of nuclear inclusions. ***Pathol Eur*** 1976;11:69-79.
[4]Silverman JF, O'Brein KF, Long S, et al.: Liver pathology in morbidly obese patients with and without diabetes. ***Am J Gastroentrol*** 1990; 85(10):1349-55.
[5]Dehghani GA, Sotoodeh M, Omrani GR: Trophic effects of vanadium on beta-cells of STZ–induced insulin dependent diabetic rats and evidence for long term relief of diabetes mellitus. ***Indian J Med Res*** 1999;110:70-5.
[6]Cruz-Orive LM, Weibel ER: Recent stereological methods for cell biology: A brief survey. ***Am J Physiol*** 1990;258:48-56.
[7]Gundersen HJ, Bendtsen TF, Korbo L, et al.: Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. ***APMIS*** 1988;96(5):379-94.
[8]Gundersen HJ, Bagger P, Bendtsen TF, et al.: The new stereological tools disector, fractionator, nucleator and point sampled intercepts and their use in pathological research and diagnosis. ***APMIS*** 1988;96(10):857-81.
[9]Mattfeldt T, Mall G, Gharehbaghi H, et al.: Estimation of surface area and length with the orientator. ***J Microsc*** 1990;159:301-17.
[10]Sorensen FB, Kristensen IB, Grymer F, et al.: DNA- index and sterelogical estimation of nuclear volume in primary and metastatic malignant melanomas: A comparative study with analysis of heterogeneity. ***APMIS*** 1990;98: 61-70.
[11]Kiernan JA: Methods for nucleic acids and carbohydrate histochemistry. In: Kiernan JA, eds. ***Histological and histochemical methods, theory and practice.*** 2nd ed. Oxford, England: Pergamon Press Ltd, 1992:137-8.
[12]Carnovale CE, Rodriguez Garay EA: Reversible impairment of hepatobiliary function nduced by streptozotocin in the rat. ***Experientia*** 1984;40(3):248-50.
[13]Hardman JG, Limbird LE, Goodman Gilman A: ***Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics.*** 10th ed, New York, USA: McGraw-Hill 2001:1399.
[14]Foster KJ, Griffith AH, Dewbury K, et al.: Liver disease in patients with diabetes mellitus. ***Postgrad Med J*** 1980;56(661):762-72.
[15]Katz NR: Metabolic heterogeneity of hepatocytes across the liver acinus. ***J Nutr*** 1992;122:843-9.
[16]Zimmerman HJ, Macmurray FG, Rappaport H, et al.: Studies of the liver in diabetes mellitus, structural and functional abnormlities. ***J Lab Clin Med*** 1950;36: 912-21.

www.SID.ir

Archive of SID

[17]Kume E, Ohmachi Y, Itagaki S, et al.: Hepatic changes of mice in subacute phase of streptozotocin (SZ)-induced diabetes. ***Exp Toxicol Pathol*** 1994;46 (4-5): 368-74.
[18]Christie GS, Le Page RN: Enlargement of liver cell nuclei: Effect of dimethylnitrosamine on size and deoxyribonucleic acid content. ***Lab Invest*** 1961; 10:729-43.
[19]Henrique RMF, Monteiro RAF, Rocha E, Mrini-Abreu MM: A stereological study on the nuclear volume of cerebellar granular cells in aging rats. ***Neurobiol Aging*** 1997;18(2):199-203.

www.SID.ir