Archive of SID

مطالعه هیستولوژیک کبد و طحال گربه کوسه عربی *(Chiloscyllium arabicum)*

پرفروغ، ف.[۱*]؛ سلامات، ن.[۱]؛ موحدی نیا، ع.[۱]

[۱] گروه زیست دریا، دانشکده علوم دریایی و اقیانوسی، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران
Email: f.porforogh67@gmail.com

کبد و طحال در ماهیان اندام‌های مهمی هستند که در سم‌زدایی و خون‌سازی بدن نقش دارند. گربه کوسه عربی *(Chiloscyllium arabicum)* در هندیجان (شمال غربی خلیج‌فارس) ساکن شده است. گزارشی در مورد ساختار بافتی کبد و طحال گربه کوسه وجود ندارد، بنابراین در این مطالعه خصوصیات ساختار بافتی کبد و طحال موردبررسی قرار داده شد. در کل ۳۰ قطعه گربه کوسه صید شد سپس کبد و طحال را برداشته و در محلول ثبوت بوئن فیکس گردید. نمونه‌ها از کل فرایندهای معمول بافت‌شناسی عبور داده شدند و برش‌های ۶-۵ میکرومتری تهیه شد. رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین – ائوزین انجام شد. نتایج نشان می‌دهد کبد کوسه بزرگ‌ترین اندام درونی این ماهی می‌باشد و بسیار چرب است و طحال مانند سایر الاسموبرانش‌ها از پولپ سفید و پولپ قرمز و الیپسوئید تشکیل‌شده است.

کلمات کلیدی: کبد، طحال، *Chiloscyllium arabicum*، خلیج‌فارس.

مقدمه:

گربه کوسه عربی *(Chiloscyllium arabicum)* از رده ماهیان غضروفی و از خانواده بمبک گربه *(Hemiscyllidae)* و جنس گربه کوسه *(Chiloscyllium)* می‌باشد که در آب‌های جنوبی ایران زیست می‌کند (عسگری،۱۳۸۸). این‌گونه از کوسه‌ماهیان تخم‌گذار بوده و جنین صرفاً از زرده تغذیه می‌کند (ستاری،۱۳۸۱). این ماهی عمدتان ساکن صخره‌های مرجانی، تالاب، سواحل صخره، جنگل‌های حرا و مصب رودخانه‌هاست و بین اعماق ۳ تا ۱۰۰ متر به پایین یافت می‌شود. گزارش‌شده است که این گونه‌ها تا ۷۰ سانتی‌متر رشد می‌کنند و بین ۴۵ تا ۵۴ سانتی‌متر بالغ می‌شوند (*Swatipriyanka Sen, 2013*). ماهیان غضروفی ابتدایی‌ترین مهره‌داران هستند به‌واسطه آن‌ها می‌توان ساختار بافتی طحال را شناسایی کرد *(Zapata, 1983)*. طحال یک دستگاه جانبی بزرگ و اندام لنفاوی ثانویه و از مهم‌ترین اندام‌های ایمنی بدن ماهی می‌باشد که شامل تعدادی سلول‌های خون‌ساز و لنفاوی است و در واکنش‌های ایمنی و تشکیل سلول‌های خونی نقش دارد *(Galindo-Villegas & Hosokowa, 2004; Manning, 1994; Zapata et al., 1996)*. معمولاً طحال، رنگ قرمز تیره دارد و غالباً به شکل هرم است. این اندام بر روی معده یا در پشت آن قرار می‌گیرد. اگرچه این اندام بااندام‌های گوارشی در ارتباط است، اما وظیفه‌ی گوارشی به عهده آن نیست و بیشتر در تولید گلبول‌های خونی نقش دارد (ستاری، ۱۳۸۱).

کبد یکی از غدد گوارشی است که از فرورفتگی جیب مانند حفره جنینی رشد می‌نماید (پوستی و صدیق مروستی، ۱۳۷۸). کبد کوسه بسیار بزرگ بوده و وزن آن حدود ۷۵ درصد از احشا می‌باشد *(Zhengbing, 2009)*. کبد کوسه شامل ۶۰-۳۰ درصد چربی می‌باشد که تماماً مورداستفاده قرار نمی‌گیرد. اخیراً شماری از تحقیقات نشان‌دهنده امکان استفاده تجاری از کبد کوسه به‌عنوان منبع از محصولات بهداشتی و اهداف خوراکی بوده‌اند. بااین‌حال، ترکیب چربی‌های کبد کوسه‌ها ممکن است در گونه‌ها، جنس، فصل و دیگر عوامل بیولوژیکی تغییر کنند (*Chamila, 2002*).

www.SID.ir

Archive of SID

گربه کوسه عربی *(C. arabicum)* از گونه‌های بومی خلیج‌فارس است، به دلیل اهمیت اکولوژیک این‌گونه و همچنین با توجه به اینکه مطالعات بسیار محدودی درزمینه شناسایی ساختار بافتی اندام‌های مختلف کوسه‌ماهیان صورت گرفته، انجام مطالعه حاضر ضروری به نظر می‌رسد. لذا در این راستا، مطالعه حاضر باهدف بررسی هیستولوژیک طحال و کبد گربه کوسه عربی صورت گرفت.

مواد و روش‌ها:

عملیات نمونه‌برداری در آبان ماه ۱۳۹۴ از بندر هندیجان با صید ۳۰ قطعه کوسه‌ماهی عربی با میانگین وزنی ۱۷۳/۶۷ ±۶۷۲/۵ کیلوگرم و میانگین طولی ۴/۸۸ ±۵۷/۱ سانتی‌متر به‌صورت زنده انجام گرفت. در هر بار نمونه‌برداری پس از بی‌هوش کردن کوسه‌ها، وزن هر کوسه‌ماهی به‌وسیله ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم و طول کل بدن با استفاده از تخته بیومتری با دقت ۱ میلی‌متر اندازه‌گیری و ثبت و همچنین جنس هر کوسه‌ماهی با مشاهده ظاهری و کالبدگشایی ثبت می‌گردید. با برش در ناحیه شکمی از سمت باله دمی به‌طرف سر و برداشتن یک‌طرف از عضلات و ایجاد دید مناسب به سطح داخلی شکم کوسه‌ماهی کبد و طحال خارج گردید و با ذکر کد نام کوسه‌ماهی در ظروف شیشه‌ای دربدار حاوی محلول ثبوت بوئن قرار داده شد. نمونه‌ها طبق روش‌های معمول بافت‌شناسی و به کمک دستگاه هیستوکینت (مدل *RX- 11B, Tissue tek rotary, Japon*) تحت برنامه زمان‌بندی‌شده آبگیری، شفاف‌سازی و پارافینه شده و سپس به کمک دستگاه میکروتوم (مدل *LEICA- RM2245*) مقاطعی باضخامت ۵ میکرون از آن‌ها تهیه شد. مقاطع بافتی تهیه‌شده با استفاده از روش‌های هماتوکسیلین- ائوزین *(H&E)* رنگ‌آمیزی شدند. مقاطع رنگ‌آمیزی شده با استفاده از میکروسکوپ نوری بررسی و تصاویر مناسب توسط لنز *Dinolite* نصب‌شده بر روی میکروسکوپ مجهز به سیستم رایانه‌ای و نرم‌افزار *Dino capture* گرفته شد.

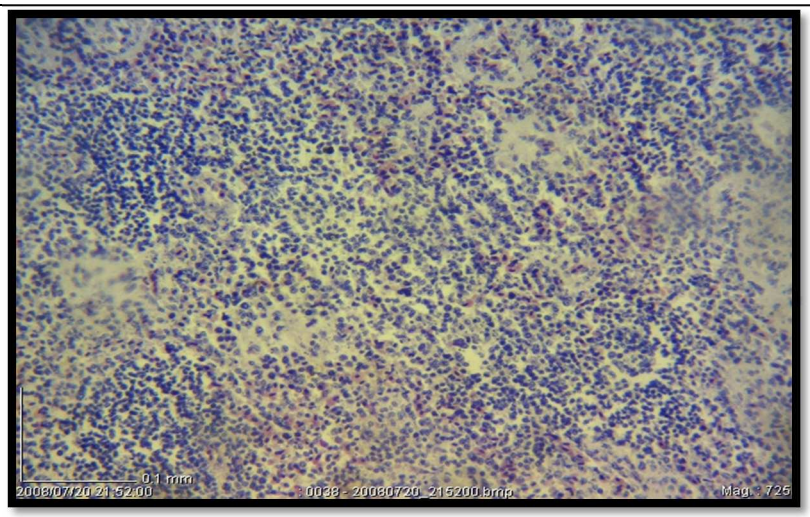
نتایج:

طحال، به‌صورت عضوی هرمی کشیده بزرگ قهوه‌ای مایل به خاکستری دیده شد. در طحال دو بخش مشخص شامل پولپ سفید و پولپ قرمز مشاهده شد. سلول‌های لنفوسیت، پلاسما سل، ماکروفاژ و رتیکولر در ساختمان پولپ سفید دیده شدند. سلول‌های لنفوسیت دارای یک هسته تیره گرد که در اطراف آن‌ها سیتوپلاسم دیده نشد، سلول‌های پلاسما سل بیضی‌شکل و دارای یک هسته در یک‌طرف سلول، ماکروفاژها سلول‌های بزرگی که دارای یک هسته گرد بنفش و سیتوپلاسم فراوان صورتی و سلول‌های رتیکولر که سلول‌های زمینه هستند دارای هسته روشن با هستک مشخص مشاهده شدند. بافت لنفوئیدی در سراسر طحال بوده و از فولیکول‌های لنفی و بافت لنفوئیدی منتشری به نام غلاف‌های لنفوئیدی اطراف شریانی[3] *(PALS)* تشکیل‌شده است. ندولهای لنفاوی با اشکال مختلفی در ساختمان پولپ سفید وجود دارد که اکثراً کروی شکل یا بیضی‌شکل می‌باشند. این ندول‌ها یا فولیکول‌ها عمدتاً از لنفوسیت‌هایی تشکیل‌شده‌اند که عروق سرخرگی را در برمی‌گیرند. پولپ سفید به دلیل وجود لنفوسیت‌های فراوان در ندول‌های لنفاوی و نیز طناب‌های لنفاوی ازنظر میکروسکوپیک از پولپ قرمز تیره‌تر و بنفش‌تر است. طناب‌های لنفاوی تجمع لنفوسیت‌ها می‌باشند. تجمعات لنفاوی که عمدتاً از لنفوسیت‌ها تشکیل‌شده‌اند در پولپ قرمز نیز دیده می‌شوند. سینوزوئیدهای خونی بیشترین ساختارهای تشکیل‌دهنده پولپ قرمز می‌باشند. این سینوزوئیدها ساختمان‌های نامنظمی دارند که سلول‌های اندوتلیالی ظریفی در دیواره آن‌ها وجود دارد.

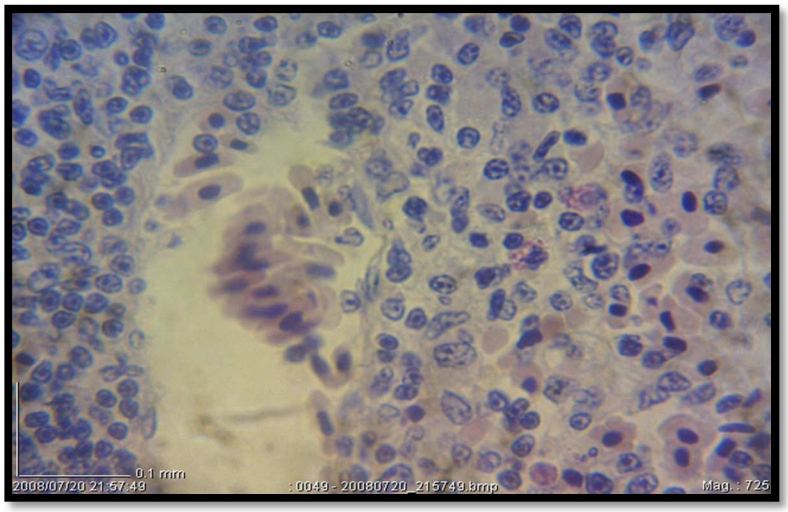
3-Periarterial Lymphatic Sheaths

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱- تصویر بافت‌شناسی طحال *Chiloscyllium arabicum* بارنگ آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین.

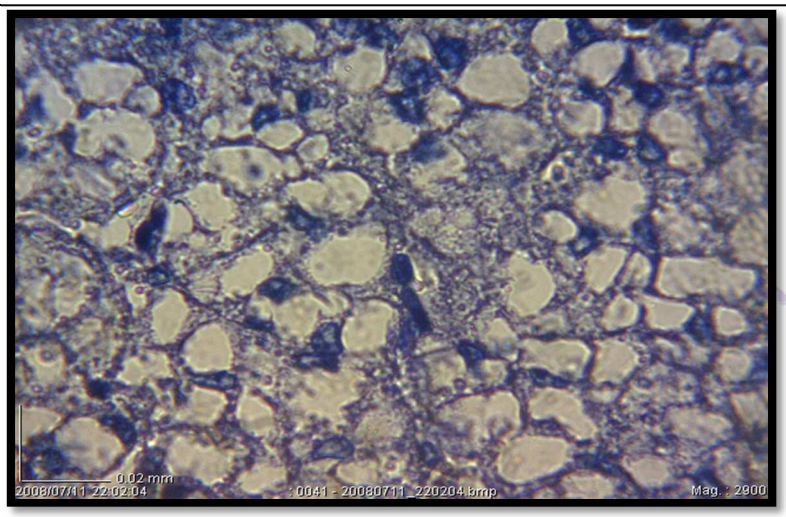


شکل ۲- تصویر غلاف‌های لنفوئیدی اطراف شریانی *Chiloscyllium arabicum (PALS)* رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین.

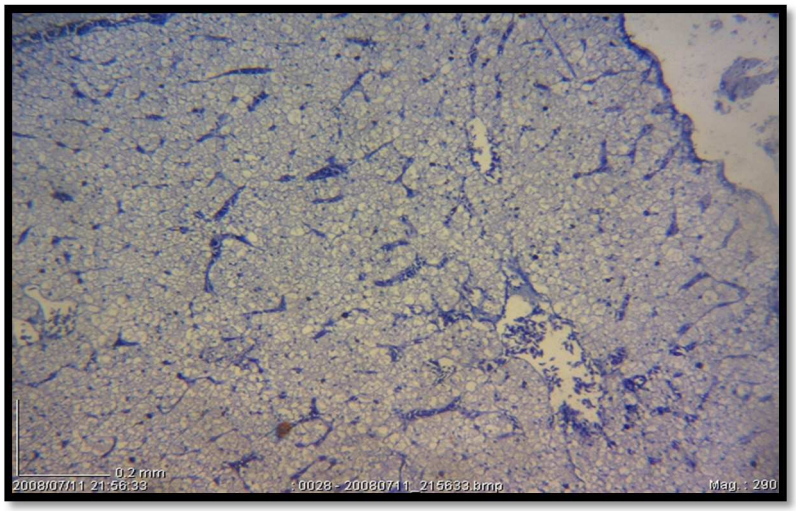
هپاتوسیت‌ها سلول‌های کبدی چندضلعی و دارای یک هسته کروی و مقدار زیادی لیپید که این لیپیدها هسته را از مرکز سلول خارج کرده در پارانشیم کبد گربه کوسه عربی دیده شدند. نواحی رنگ نشده از هپاتوسیت‌ها توسط رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین نشان‌دهنده مناطق حاوی لیپید می‌باشد (شکل ۳). درون کبد سرخرگ و سیاهرگ مرکزی وجود دارد که سلول‌های کبدی به‌صورت ستونی در اطراف این سیاهرگ مرکزی دیده شدند (شکل ۴).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳- سلول‌های هپاتوسیت کبد *Chiloscyllium arabicum* رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین.



شکل ۴- سرخرگ و سیاهرگ کبد *Chiloscyllium arabicum* رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین.

بحث:

ساختار بافتی طحال گربه کوسه عربی همانند سایر الاسموبرانش‌ها از سه منطقه آشکار پولپ سفید، پولپ قرمز و الیپسوئید که قبلاً توسط *(Phisalix 1885; Maximow 1923; Fey 1965; Kanesada1965; Fange & Nilsson 1985)* گزارش‌شده بود تشکیل‌شده است. طحال گربه کوسه عربی به علت تجمع سلول‌های لنفوسیت، ماکروفاژ نقش مهمی در پاسخ‌های ایمنی دارد که با گزارش‌های *Morrow (1978), Morrow et al (1982) and Zapata (1980)* موافق می‌باشد. کبد گربه کوسه عربی بسیار چرب بوده و بر روی آب شناور بود. *Bone* و همکاران در (۱۹۹۵) در این راستا گزارش نمودند که کوسه‌ها کیسه شنا ندارند و از کبد به‌عنوان اندام هیدروستاتیک برای اعمال فیزیولوژی استفاده می‌کنند زیرا کبد کوسه مکان اصلی ذخیره چربی‌هاست. نتایج مشاهدات میکروسکوپی ساختار کبد گربه کوسه عربی نشان داد که هپاتوسیت‌های کبد دارای هسته‌های کروی با یک هستک تیره برجسته می‌باشند، روش‌های رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین ساختارهای واکوئلی در سلول‌های کبدی را نشان می‌دهد که به دلیل وجود لیپید می‌باشد، سلول‌های کوپفر در میان اندوتلیوم سینوزئید پیدا شدند،

www.SID.ir

Archive of SID

اندازه این سلول‌ها کوچک و تعداد آن‌ها کم بود. *Seyrafi* و همکاران در (۲۰۰۹) چنین ساختاری را در *shark catfish* گزارش نمودند.

منابع:

۱- تاکاشیما، اف.، هایپا، ت.، ۱۹۹۵. اطلس بافت شناسی ماهی. ترجمه: پوستی، ا.، صدیق مروستی، ع.، ۱۳۷۸. انتشارات دانشگاه تهران. ۱۵۴-۱۴۹ صفحه.

۲- ستاری، م.، ۱۳۸۱. ماهی‌شناسی (۱) تشریح و فیزیولوژی. انتشارات نقش مهر با همکاری دانشگاه گیلان، ۴۶۶-۳۱۰ صفحه.

۳- عسگری، ر.، ۱۳۸۸. ماهی‌شناسی سیستماتیک. انتشارات سروا، ۷ صفحه.

4- Bone, Q., Marshall, N.B., Blaxter, J.H.S., (1995). Biology of Fishes. second ed. Chapman and Hall, London, pp. 79–86.

4- Fange, R. & Nilsson, S. 1985. The fish spleen: structure and function.- Experientia 41: 152-158.

5- Fey, F. 1965. Hamatoligische untersuchungen der blutbildeneden Gewebe niederer Wirbe1tiere.- Folia haemat. 84: 122-146.

6- Galindo-Villegas, J. & Hosokawa H. (2004). Immunostimulants: Towards temporary prevention Internacional de Nutrición Acuícola, L. E. Cruz Suárez, D. Ricque Marie, M. G. Nieto López, D.

7- Jayasinghe C, Gotoh, N., Wada, S. 2002. Variation in lipid classes and fatty acid composition of salmon shark (Lamna ditropis) liver with season and gender; Comparative Biochemistry and Physiology Part B, 134 : 287–295.

8- Kanesada, A. (1965). A phylogenetical survey of haemocytopoietic tissues in submammalian vertebrates.-Bull. Yamaguchi med. School 4: 1-22.

9- Manning, M.J. (1994). Fishes. In: Immunology: A Comparative Approach, R.J. Turner (Ed.), 69-100, John Wiley & Sons Ltd., ISBN 0471944009, Chichester, UK.

10- Maximow, A. (1923). Untersuchungen uber Blut und Bindege webe. X. Uber die Blutbildung bei den Selachiern im erwachsenen und embryonalen Zustanden.-Arch. mikrosk. Anat. 97: 62S717.

11- Morrow, W. J. W. (1978). The immune response of the dogfish Scyliorhinus canicula L. Ph.D. Thesis, Plymouth Polytechnic, U.K.

12- Morrow, W. J. W., Harris, J. E. & Pulsford, A. (1982). Immunological responses of the dogfish to cellular antigens.-Acta zool., Stockh. 63: 153-159.

13- Nakanishi (Eds.), 1-62, Academic Press, ISBN 0-12-350439-2, San Diego, California,
of diseases in marine fish. In: Avances en Nutrición Acuícola VII. Memorias del VII Simposium

14- Phisalix, C. (1885). Recherches sur I'anatomie et la physiologie de la rate chez les 1cthyopsides.- Archs Zool. exp. gen. 2. Sir., 3: 369467.

15- Seyrafi, R., Najafi, GH. R., Rahmati-Holasoo, H., Hajimohammadi, b., Shamsadin, A. S. (2009). Histological stady of hepatopancreas in Iridescent shark catfish(pangasius hypophthalmus. Animal and veterinary Advances 8(7): 1305- 1307.

16- Swatipriyanka Sen, D., Sangeetha, B., KamaliaKiran, R. and Zala, M.S. (2013). Egg case of Arabian carpet shark, Chiloscyllium arabicum from Gujarat. Marine Fisheries Information Service; Technical & Extension Series, 218: 14-15. USA.

17- Villarreal, U. Scholz & M. Gonzalez (Eds.), 279-319, 16-19 Noviembre (2004), Hermosillo, Sonara, México.

Zapata, A. (1980). Ultrastructure of elasmobranch lymphoid tissue. I . Thymus and spleen.-Dev. comp. Imrnunol. 4: 459-472.

Zapata, A. (1983). Phylogeny of the fish immune system.-Bull. Inst. Pasteur 81: 165-186.

www.SID.ir