دراسة نسجية كيميائية لكربوهيدرات العفج في الابقار المحلية

مناف محمد صالح نيزك صبحي احمد ذكرى فاضل صالح
كلية الطب البيطري / جامعة الموصل

الخلاصة

بينت نتائج الدراسة لمخاطية عفج الابقار ، ان الخلايا الكاسية والخلايا المبطنة لغدد برونر احتواءها على البروتين السكري بانواعه ولكن بتراكيز متفاوتة ، فقد ظهر ان البروتين السكري المتعادل ينتشر في الخلايا الكاسية فقط المتواجده في الثلث الاوسط من العفج بينما انتشر البروتين السكري الكربوكسيلي والكبريتاتي في الخلايا الكاسية و في جميع مناطق العفج ، اما بالنسبة للخلايا المبطنة لغدد برونر فقد اظهرت نتائج الدراسة انهاتحتوي على البروتين السكري المتعادل وبتراكيزعاليه مع كميات ضئيله من البروتين السكري الكربوكسيلي والكبريتاتي. احتوت الخلايا الكاسية وخلايا المبطنة لغدد برونر على متعددالسكريدات المخاطية بنوعيها الكربوكسيلي والكبريتاتي. تبين فقدان مادة الكلايكوجين في جميع مناطق العفج .

المقدمة

يشكل العفج احد الاجزاء المهمة من الامعاء الدقيقة والتي تقوم بعملية الهضم والامتصاص للغذاء ،تبطن بعدة غلالات منها المخاطية وتحت المخاطية العضلية والمصليه (1) .امتاز التركيب النسجي للعفج احتوائه على تراكيب اصبعية تدعى الزغابات والتي تبطن بعدد من الخلايا ومن هذه الخلايا الخلايا الكاسية والتي تلعب دورا اساسيا في فرز عدد من المواد الكربوهيدراتية لتكون طبقة تحمي الظهارة المخاطية للعفج(2). تنتشر في الغلالة تحت المخاطية مجموعة من تراكيب تدعى الغدد تحت المخاطية(غدد برونر) والتي تفرز مواد مخاطية(3) وبالنظر للدور الوظيفي المهم لكل من الخلايا الكاسية والخلايا المبطنة لغدد برونر فقد تم القيام بهذه الدراسه لعفج الابقار المحليه للكشف عن اماكن تواجد وتوزيع المواد الكربوهيدراتيه المتواجده ضمن التراكيب انفة الذكر كانت من اهم اهداف الدراسه .

المواد وطرائق العمل

تم جمع خمس عينات للعفج كاملة للأبقار المحلية والمذبوحة حديثا وبعد تنظيف العينات وإزالة الأنسجة الشحمية منها تم غسل العينات بمحلول الملحي الفسيولوجي ، ثم ثبيت العينات بمحلول (فورمالين الكحولي)ولمدة 24 ساعة (4) تم تقسيم العينات إلى ثلاث أجزاء الثلث الأمامي (1-31)سم والثلث الأوسط (32-64)سم والثلث الخلفي (65-100)سم ثم اخذ النماذج التالية من كل عينة وكما يأتي حيث أخذت النماذج من 1-4 بصورة متتالية ومتتابعة وبطول واحد ونصف سنتمتر من الملتقى البوابي العفجي إما النموذج الخامس فقد اخذ من على بعد4سم من نموذج رقم4 وهكذا لبقية النماذج لحين الوصول إلى نهاية العفج في الثلث الخلفي عند الثنية العفجية الصائمية مررت العينات بمراحل متصاعدة من الكحول الاثيلي لغرض الانكاز(5) أجريت عملية الترويق باستخدام زيت خشب الأرز ولمدة12 ساعة والطمر بشمع البارافين قطعت العينات باستخدام المشراح الدوار للحصول على شرائح شمعية يسمك (5-6 مايكرو متر) تم استخدام التقنيات التالية للكشف عن المواد الكربوهيراتيه المختلفة في الخلايا ألكأسيه والخلايا المبطنة للغدد برونر في معظم أجزاء العفج كما في الجدول رقم (1).

جدول رقم (1) : التقنيات المستخدمة في الدراسة وتفاعلها مع كل نوع من انواع الكربوهيدرات

المواد الكربوهيدراتية		Alcoholic PAS	Best carmine	Diastase alcoholic PAS	Alcian blue \PH2.5 MS	Alcian blue PH1	Toludine blue
الكلايكوجين		+ ve	+ ve	− ve	− ve	− ve	− ve
البروتين السكري glycoprotein	المخاط المتعادل	+ ve	− ve	+ ve	− ve	− ve	− ve
	المخاط اللعابي الكربوكسيلي	+ ve	− ve	+ ve	+ ve	− ve	− ve
	المخاط اللعابي الكبريتاتي	+ ve	− ve	+ ve	+ ve	+ ve	− ve
متعدد السكريدات المخاطي	الكربوكسيلي	− ve	− ve	− ve	+ ve	− ve	+ ve
	الكبريتاتي	− ve	− ve	− ve	+ ve	+ ve	+ ve

Culling(1985)

– للتفريق بين البروتين السكري الكاربوكسيلي والكبريتاتي تم استخدام عمليتي المثيله والصوبنه بعد تقنية الاليشيان ذات الاس الهيدروجيني2.5 (6)Alcian blue ph 2.5 \MS

النتائج

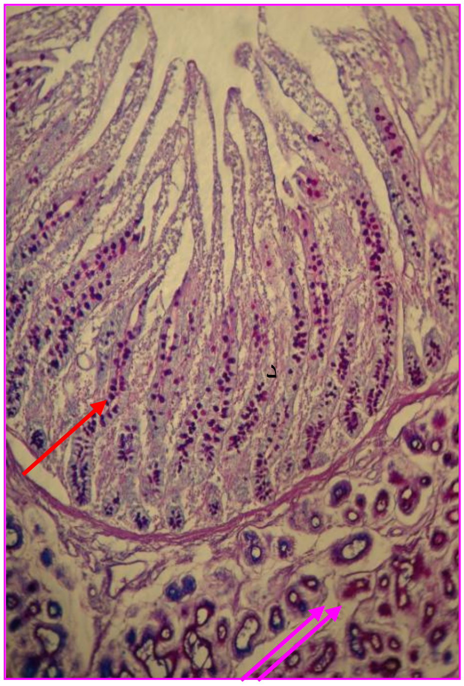
أوضحت نتائج الدراسة النسيجية الكيميائية لظهارة مخاطية عفج الابقار المحلية بأنها تتألف من أربع غلالات وهي المخاطية وتحت المخاطية والعضلية والمصلية (صورة1) ، تميزت الظهارة المخاطية باحتوائها على تراكيب اصبعية تدعى الزغابات ، تبطن الزغابات بعدد من الخلايا وهي الخلايا العمودية الماصة والخلايا الكاسية وخلايا بانث . اما في الغلالة تحت المخاطية فقد لوحظ تجمعات من غدد برونر ،تبين أنها تبدأ من مسافة 1−2 ملم وتستمر لغاية مسافة 60 سم من طول العفج واعتمادا على عدد تجمعات وانتشار الغدد تم تقسيم العفج الى ثلاث مناطق وهي الثلث الامامي،الثلث الاوسط و الثلث الخلفي و كانت استجابة الخلايا الكاسية والخلايا المبطنة لغدد برونر متباينه التفاعل للتقنيات النسيجيه المختلفه .عوملت العينات مع ملون الباس الكحولي (PAS) واستجابت الخلايا الكاسية للملون المذكور وكانت نتيجة التفاعل ايجابيه مما يدل على احتواءها على البروتين السكري والكلايكوجين ولكن شدة التفاعل اختلفت مابين المناطق المختلفة ،تراوحت بين قويه الى شديدة في الثلث الامامي ،الخلفي والاوسط على التوالي جدول(2) صورة(2) .وا ظهرت الخلايا المبطنه للغدد برونر نتيجة ايجابيه ايضا لهذا الملون وكانت شدة التفاعل شديده في الثلث الامامي بينما كانت شدة التفاعل قويه في الثلث الأوسط كما في الجدول (2) ، صورة (2) .ولغرض التاكد من تواجد الكلايكوجين في الخلايا الكاسية وخلايا المبطنة للغدد برونر تم معاملة الخلايا بملون البيست كارمين لم تظهر جميع الخلايا المدروسة ولجميع المناطق أي تفاعلا للملون المذكور.ولبيان انواع البروتين السكري فقد تم استخدام عدة تقنيات منها ؛للكشف على البروتين السكري الكربوكسيلي في كل من الخلايا الكاسية وخلايا المبطنة للغدد برونر ،عوملت بتقنية الالشيان الازرق ذي الاس الهيدروجيني (2,5) بعد عمليتي المثيله والصوبنة (، استجابت الخلايا الكاسية لهذه التقنيه وكانت شدة التفاعل قويه وخاصة في الثلثين الامامي والاوسط بينما كانت متوسطه في الثلث الخلفي

جدول(2) وصورة(3) وصورة(4) مما يدل على احتواءها على البروتين السكري الكربوكسيلي بينما كانت استجابة الخلايا المبطنة للغدد برونر لهذه التقنية قويه خاصة في الثلث الامامي حيث تواجد البروتين السكري الكربوكسيلي في بداية قنوات الغدد ونهايتها صورة(3) وصورة(4).ولغرض الكشف على البروتين السكري الكبريتاتي فقد عوملت العينات بتقنية الالشيان الأزرق ذو الأس الهيدروجيني (1) فقد أعطت الخلايا الكاسية نتيجة ايجابيه لهذه التقنيه وكانت شدة التفاعل شديده وفي جميع المناطق صورة (5) وجدول(2)، بينما أظهرت الخلايا المبطنه للغدد برونر تفاعلا قويا للتقنيه المذكوره في الثلثين الامامي والاوسط لعفج الابقارصورة(5) وجدول(2) ، وللكشف عن البروتين السكري المتعادل استخدمت تقنيه الباس الكحولي مع خميرة الدايستيز المقترنه مع الاليشيان الزرقاء ذي الاس الهيدوجيني (2.5) ،أظهرت الخلايا الكأسيه المتواجده ضمن جدار الثلث الاوسط من العفج لونا احمرا عند استخدام التقنيه انفة الذكر بينما لم تظهر الخلايا الكاسيه المتواجده ضمن جدار الثلثين الامامي والخلفي للعفج أي تفاعل ، مما يؤكد تواجد كميات لابأس بها من البروتينات السكريه المتعادله في الخلايا المذكوره في الثلث الاوسط فقط صورة(6) وجدول(2)كما اظهرت الخلايا المبطنه للغدد برونر لونا احمرا للثلثين الامامي والاوسط مما يؤكد تواجد كميات كبيرة من البروتينات السكريه المتعادله خاصة في الثلث الأمامي لعفج الأبقار صورة(3).للكشف عن متعدد السكريدات المخاطية تم استخدام ملون التوليدين الازرق وملاحظة التغاير اللوني في كل من الخلايا الكاسية والخلايا المبطنة للغدد برونرفقد اعطت الخلايا الكاسية تغاير لونيا قويا في الثلث الامامي من العفج وتفاعلا متوسطا في الثلث الاوسط من العفج في حين لم تظهر الخلايا أي تغاير لونيا في الثلث الخلفي من العفج مما يدل على احتواء الخلايا الكاسيةعلى متعدد السكريدات المخاطية بنوعيها وبكميات كبيرة في الثلث الامامي من العفج وبكميات متوسطه في الثلث الاوسط وخلوها من متعدد السكريدات المخاطية في الثلث الخلفي من العفج جدول(2) وصورة(7) .وأعطت خلايا المبطنة للغدد برونر تغايرا لونيا قويا لملون التوليدين الأزرق لثلث الأوسط من العفج وتغايرا لونيا متوسط في الثلث الأمامي ،مما يدل احتواء خلايا هذه الغدد على متعدد السكريدات المخاطية بنوعيها و بكميات كبيرة خاصة في الثلث الأوسط من العفج صورة (7) .

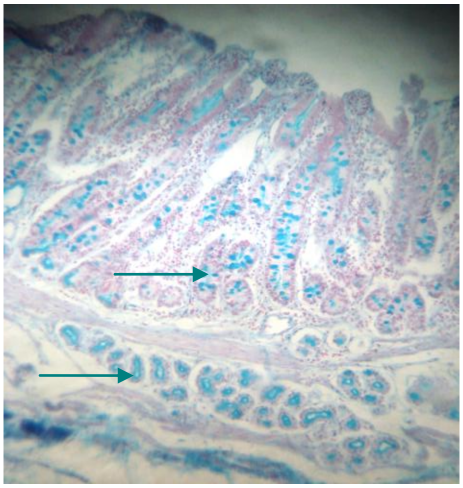
جدول (2)يوضح نتائج التفاعلات المختلفة لكل الخلايا الكاسية وخلايا المبطنة لغدد برونر مع مختلف التقنيات المستخدمة

Toludine blue	Alcain blue 1	Alcain blue 2.5	Disteasea-PAS-alcain2.5	PAS	bestcarmine	اجزاء العفج	
++	+++	++	−−	++	−	خلايا الكاسية	الثلث الامامي
+	++	++	+++	+++	−	خلايا غدد برونر	
+	+++	+	++	+++	−	خلايا الكاسية	الثلث الاوسط
++	++	+	++	++	−	خلايا غدد برونر	
_	+++	+	_	++	−	خلايا الكاسية	الثلث الخلفي
						اختفاء غدد برونر	

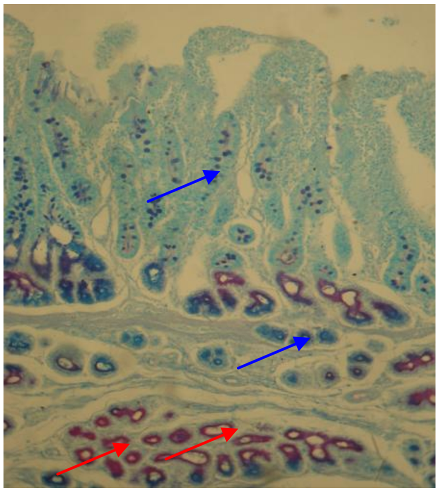
صورة (1) البينان النسجي لعفج (أ) الغلالة المخاطية (ب) الغلالة تحت المخاطية (ج)الغلالة العضلية(د) الغلة المصلية مصبوغة بصبغة هيموتوكسلين -ايوسين(45X)



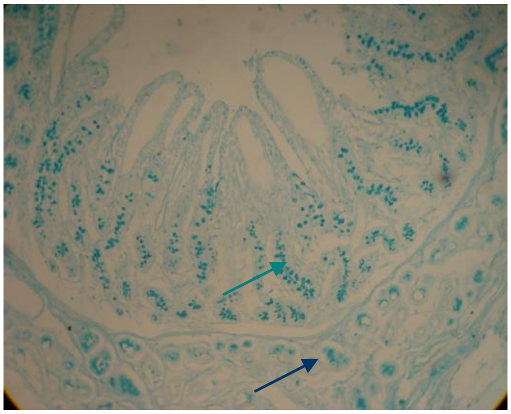
صورة(2)توضح الخلايا الكاسية موجبة التفاعل (→)وخلايا غد د برونر موجبة التفاعل(⇒) لصبغة الباس الكحولي (X 110)



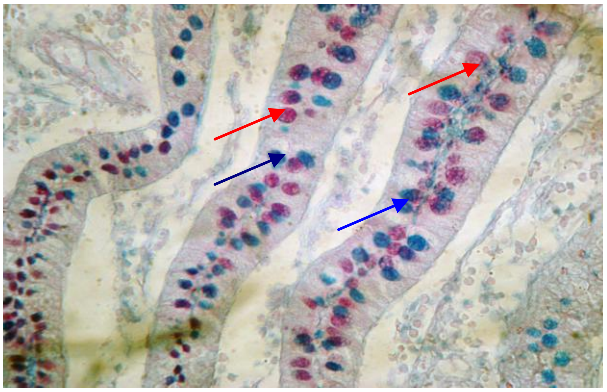
صورة (3) توضح خلايا الكاسية وخلايا غدد برونر موجبة التفاعل لصبغة الالشيان الأزرق ذوا لاس الهيدروجيني 2,5 (⟵) وخلايا غدد برونر موجبة التفاعل لخميرة الدايستاز (110X)



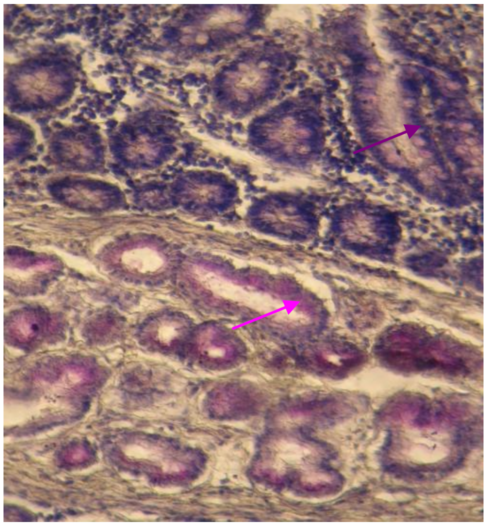
صورة (4) توضح الخلايا الكاسية (⟵) وخلايا غدد برونر (⟵)احتوائه على البروتين السكري الكربوكسيلي بعد عمليتي المثيلة والصوبنة(120 X)



صورة (5) توضح خلايا الكاسية (⟵) وخلايا غدد برونر(⟵)موجبة التفاعل لصبغة الالشاين الازرق ذو الاس الهيدروجيني (1) (90X)



صورة (6) توضح الخلايا الكاسية موجبة التفاعل لخميرة الدايستاز(→) وخلايا موجبة التفاعل لصبغة الالشيناين الازرق ذوالاس الهيدرجيني 2,5 (→) (460X)



صورة (7) توضح خلايا الكاسية (→) وخلايا غدد برونر (→) موجبة التفاعل مع صبغة التوليدين الأزرق(160X)

المناقشة

بينت نتائج الدراسة النسيجية الكيميائية للخلايا الكاسية المتواجدة ضمن جدار المناطق المدروسه لعفج الابقار،احتواءها على تراكيز عاليه من البروتينات السكريه الكبريتاتيه وتراكيز متوسطه من البروتينات السكريه الكاربوكسيليه ،بينما تواجدت كميات لأبأس بها من البروتينات السكرية المتعادلة في الثلث الاوسط لعفج الابقار وهذه الحقيقة لاتتفق مع ما توصل اليه (7) في الجاموس و (8) في الثور الامريكي والقطط المحلية فقد اكد كلاهما إن توزيع كل من البروتينات السكرية المتعادلة والكربوكسيليه والكبريتاتيه كانت بتراكيز متماثلة في أجزاء العفج المختلفة بينما بينت(9) في الأغنام والماعز المحلي و(10-11) في حيوان الزيبو والكوالا انتشار البروتينات السكريه الكربوكسيليه والمتعادلة مع انعدام البروتينات السكرية الكبريتاتيه إما في الخراف الكبيرة القرون فقد لاحظ(9)انتشار البروتينات السكرية الكربوكسيليه والمتعادلة بكميات كبيرة وبنسب متساوية مع تواجد كميات قليلة من البروتينات السكرية الكبريتاتيه ، وتبين من خلال

هذه النتائج إن هناك اختلافا واضحا مابين الحيوانات فمن المعتقد أن طبيعة الأكل أو نوعيتها لها تأثير على طبيعة تواجد تلك الأنواع من البروتينات في الخلايا ألكأسيه لم يتم العثور في دراستنا على مادة الكلايكوجين في الخلايا الكاسية المبطنة لعفج الأبقار وهذا يتفق مع ما توصل اليه جميع الباحثين في دراسات مختلفة (7-9). امتازت الخلايا الكاسية بقدرتها على التغاير اللوني واعطائها نتيجه ايجابيه مع ملون التولدين الازرق مما يدل على احتواها على متعدد السكريدات المخاطيه بنوعيها الكربوكسيليه والكبريتاتيه وتتفق هذه الحقيقة مع ماتوصل اليه كل من (7)في الجاموس و(12) في القطط بينما في دراسته عفج حيوان الكنغر تواجد متعدد السكريدات المخاطيةالكربوكسيليه فقط اما (9) لم تعثر على كلا النوعين من متعدد السكريدات المخاطية في الخلايا الكاسية لعفج الاغنام والماعز الاسود المحلي .وقد بين (13) ان زيادة تواجد البروتين السكري الكبريتاتي بكميات كبيرة يدل على علاقة بزيادة فاعلية مقاومة الظهارة المخاطية.امتازت الخلايا المبطنة للغدد برونر احتواءها على البروتينات السكرية وبشكل خاص البروتينات السكريه المتعادله حيث تكون هي السائدة في معظم مناطق العفج مع كميات قليلة من البروتينات السكريه الكربوكسيليه والكبريتاتيه وهذا لايتفق مع ماتوصل اليه كل من(7) في الجاموس و(11) في الماعز الجبلي و(12)في الزيبو الذين وجدوا ان خلايا الغدد برونرتحتوي على كل من البروتينات السكريه المتعادلة والكربوكسيليه مع انعدام الكبريتاتيه ، ووجدت(9) في الأغنام والماعز الأسود المحلي و(8) في اللبائن احتواء الخلايا المبطنه لغدد برونر على البروتينات السكريه المتعادله فقط بينما وجد (13) في الابقار البروتينات السكريه المتعادلة بكميات كبيرة مع كميات قليلة من البروتينات السكرية الكربوكسيليه إما في الثور الأمريكي فقد أكد(8)إن جميع الأنواع المذكورة منتشرة وبنسب متساوية،إما في الجمال فقد وجد (14) انتشار كل من البروتينات السكرية الكربوكسيليه والكبريتاتيه في الخلايا المبطنة للغدد برونر مع كميات قليلة جدا من البروتينات السكرية المتعادلة ، تميزت الخلايا المبطنة لغدد برونر لعفج الأبقار المدروسة بقدرتها على التغاير اللوني عند معاملتها بملون التوليدين الأزرق مما يدل على احتواءها متعدد السكريدات المخاطية في خلايا الغدد ولم تتوفر بحوث علميه تتفق مع هذه الحقيقة في حيوانات أخرى من قبل باحثين أخريين ماعدا ماتوصل إليه(16) في الأرنب الذي وجد إن خلايا المبطنة لتلك الغدد تظهر تغايرا لونيا لملون التوليدين الأزرق.

المصادر

1. Dyce ,K,M .Sack, W,O,. Wensing, C,J(2010) ".Text book of veterinary anatomy". Fourth Edition. Saunder An imprint Elsevier.,pp,129
2. Smirnov, A., E. Tako, P. R. Ferket, and Z. Uni.(2006) Mucin gene expression and mucin content in the chicken intestinal goblet cells are affected by in ovo feeding of carbohydrates". Poult. Sci. 85. 669–673.
3. Samuelson,D,A.(2007). Text bookof veterinary histology. saunders Elsevier.pp;341.
4. Culling ,FA, Allsion, Fand BT ".Cellular pathology technique".4TH ed .London, Butter worths company,1985 .pp,214.
5. Luna, L, G. "Manual Histologic staining methods of the armed forces institute of pathology ".3rd ed .London. McGraw-Hill Book company. (1968). pp: 76,94
6. Drury R,A.W .Wallington,E,A.1980. Carletone histological technique oxford ,new York oxford university press pp;237-242
7. Saleh, M,M. Saleh, T,F. (2009). Histochemical study of carbohydrates in the duodenum of the local buffalo. Iraq. j. vet. S. Vol 23..No1;41-46.

8. Smcher.U,Duku,M.Katoh,M. JonsJ . Krasuse,W,J.(2004).Histochemical similarities of mucin produce by burners gland and pyloric gland ; A comparative study.Anat.Rec;278-289.
9. Ahmad,N,S.(2006) DISTRIBUTION OF CARBOHYDRATE IN THE WALL OF DUODENUM OFNATINE SHEEP AND GOAT.Iraq.J.vet.S.397-410.
10. Krause WJ.1981 Morphology and Histochemical observation on duodenal glands of eight wild ungulate species. A. J. Anato.; (162): 167-181
11. Nogueira JC and Godinho HP.(1981) Histology and mucosubstance histochemistry of duodenal suckling prepuberal and puberal zebus. Anat. Anz. 149: 437-445.
12. Krause WJ, and Schmacher U.(1994) Molecular anatomy of an endodermal gland: investigation of Mucous glycoprotein and cell turnover in Brunner's gland of didelphis verginiana using lectin 5 and PCNA Immuoreactivity. J. of Cell Biochem .
13. Specian, R,D. Oliver, M,G. (1991) Functional biology of intestinal gobelt cell. Am.J.Phys .260; 183-193.
14. Verdiglione R, Mammola CL, Filottoto U. (2002). Glyconconjugate histochemistry of bovine Brunners gland .Annalas anatomy .;184.61-69.
15. Takehana K,EErdunchaolou, Ueda, H. kobayashi A ,Iwsa K, SouK (2002) . Ahistochemical study of camel (camelus bactrianus) Duodenal glands .J.vet.Med . Sci. 2002. 62.4.449-452
16. Jenning ,G, M. Florey ,H,W. Autoradiographic (1965) observation on the mucus cell of the stomach and intestoine .Quarterly Journal of Expermenatal physiology ..41;131-132

Abstract

The histochemical study of the mucosa duodenum of bovine will be obtain found glycoprotein in the goblet cell and the cell of the Brunner’s gland . the percentage of the carboxylated and sulphtaed glycoprotein increase of the goblet cell but the neutral glycoprotein were noticed in the middle part of the duodenum .in the cell of brunners neutral glycoprotein will be dominate but the carboxlylated and sulphated glycoprotein its very little found in these cell. The glycosaminoglycans were be noticed in the goblet cell and cell the of the brunners gland of the bovine . no glycogen present at any part of the duodenum .