المجلة العراقية للعلوم البيطرية، المجلد ٢٣، عدد إضافي ١، ٢٠٠٩ (٤١-٤٦)
وقائع المؤتمر العلمي الخامس، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل

دراسة نسيجية كيميائية لكربوهيدرات العفج في الجاموس المحلي

مناف محمد صالح و ذكرى فاضل صالح

فرع التشريح، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، الموصل، العراق

الخلاصة

تبين لنا من خلال الدراسة النسجية الكيميائية لجدار العفج احتوائه على عدد من المواد الكاربوهيدراتية المختلفة في الغلالة المخاطية وتحت المخاطية للعَفج. فقط ظهر وجود البروتين السكري المتعادل في الخلايا العمودية الماصة أما الخلايا المبطنة لغدد برونر فتحتوي على بروتين سكري متعادل وبروتين سكري كربو كسيلي أما الخلايا الكاسية فتبين لنا أنها تحتوي على بروتين سكري متعادل وكربوكسيلي وكبريتاتي. وامتازت الخلايا الكاسية باحتوائها على السكريدات السامينية السكرية الكبريتاتية والكربوكسيلية. وتبين من خلال الدراسة عدم وجود الكلايكوجين في جميع التراكيب النسيجية المدروسة.

Histochemical study of carbohydrates in the duodenum of local buffaloes

M. M. Saleh and T. F. Saleh

Department of Anatomy, College of Veterinary Medicine, University of Mosul, Mosul, Iraq

Abstract

Histochemical studies showed that there were different types of carbohydrates present in the duodenal wall of local buffalo. It was also noticed that there was, no glycogen present in any part of the duodenal mucosa and submucosa. Neutral glycoprotein was found in the columnar absorbing cells. Neutral and carboxylated glycoproteins were found in Brunner's glands, neutral, carboxylated and sulphated glycoproteins were found in the goblet cells, while both sulphated and carboxylated glycosaminoglycans were detected in goblet cells only.

Available online at http://www.vetmedmosul.org/ijvs

المقدمة

تعتبر الأمعاء الدقيقة من الأجزاء المهمة من الجهاز الهضمي التي تقوم بعملتي الهضم والامتصاص أضافه إلى حماية مخاطية الأمعاء من الإفرازات المعدية والبنكرياسية حيث تقوم مخاطية الأمعاء بإفراز المخاط (١) وقد وجدت البروتينات السكرية في أربعه عشر نوع من المقدمات (٢) وقد أشار (٣) أن الخلايا الكاسية تحتوي على البروتينات السكرية الكربوكسيله و المتعادلة فقط في الأغنام المحلية والماعز الأسود المحلي بينما لاتحتوي الخلايا الماصة العمودية على أي نوع من الكربوهيدرات, وكذلك لم يلاحظ الكلايكوجين ألا بكميات قليله في الخلايا المبطنة لغدد برونر في عفج الماعز (٣) ولغرض معرفه نوعيه الكربوهيدرات المتواجدة في عفج الجاموس المحلي فقد تم التخطيط لقيام بهذا البحث.

المواد وطرائق العمل

تم استخدام (٥) عينات عفج كاملة من الجاموس المحلي وبعد ذبحها وتنظيفها ثبتت هذه العينات بمثبت الكحول – الفورمالين formalin – alcohol fixative لمدة ٤٨ ساعة(٤)، وبعد ذلك مررت العينات النسيجية بالطرق ألروتينيه وطمرت بشمع البارافين وقطعت بجهاز المشراح الدوار بسمك (٥-٦) ميكروميتر وصبغت بصبغه الهيماتوكسلين الحديدي (٥) لمعرفه التركيب النسيجي العام لغلالة المخاطية لعفج الجاموس وتميز مكونات الاساسيه الخاصة لدراسة و تم استخدام التقنيات الكيمياء النسيجية التالية لبيان محتوى كل جزء من أجزاء العَفج من الكاربوهيدرات، الجدول رقم (١) الذي يبين التفاعلات المختلفة للمواد الكربوهيدراتية مع تقنية الكيمياء النسيجية.

جدول رقم (١): يوضح التفاعلات المختلفة للكاربوهيدرات (4).

أنواع الكاربوهيدرات		PAS	Best Carmine	Alacian Blue 1	Alcian Blue 2.5	Toluidine Blue	مثيلة وصوبنه	PAS & A.B. 2.5
الكلايكوجين		+	+	-	-	-	-	-
GAG glycosamino glycans	الكبريتاتي GAGs	-	-	+	+	+	-	-
	كربوكسيلي GAGc	-	-	-	+	+	-	-
	المخاط المتعادل	+	-	-	-	-	-	+
البروتين السكري	المخاط الكربوكسيلي	+	-	-	+	-	+	+
	المخاط الكبريتاتي	+	-	+	+	-	-	+

النتائج

أظهرت نتائج الدراسة النسيجية الكيميائية لمخاطية جدار العَفج في الجاموس المحلي احتواء الخلايا المبطنة للمخاطيه على مواد كربوهيدراتية مختلفة، وقد تم تقسيم جدار العَفج اعتماداً على تواجد غدد برونر إلى ثلاث مناطق حيث أن الثلث الأول احتوى على عدد كبير من تجمعات غدد برونر في حين احتوى الثلث الأوسط على تجمعات اقل عدداً إما في الثلث الأخير فقد تميز باختفاء غدد برونر نهائياً وكانت نتائج الدراسة كما يأتي:

عند صبغ الغلالة المخاطية المبطنة لجدار العفج بصبغة إلباس الكحولي (PAS) أظهرت الخلايا الماصة العمودية نتيجة متوسطة التفاعل لهذه الصبغة في الثلث الأول من جدار العَفج في حين كان تفاعل الخلايا الماصة العمودية ضعيف في الثلثين الأخيرين من جدار العَفج وكما في جدول (٢).

أظهرت الخلايا الكاسية نتيجة جيدة التفاعل لصبغة ألـ (PAS) الكحولي حيث كانت في الثلث الأول من العَفج شديدة التفاعل وكما موضح في جدول (٢) في حين كانت في الثلثين الأخريين متوسطة التفاعل لهذه الصبغة وكما في جدول (٢).

في حين أظهرت الخلايا المبطنة لغدد برونر نتيجة موجبة التفاعل لصبغة (PAS) وكما في صورة (١) حيث كان التفاعل شديداً في الثلث الأول وأقل شده في الثلث الأوسط كما في جدول (٢).

تم معاملة جميع الخلايا المبطنة لجدار العَفج في مناطق العَفج المختلفة بصبغة Best carmine حيث أعطت نتيجة سالبة التفاعل لهذه الصبغة وهذا يدل على أن خلايا المبطنة لجدار العَفج لاتحتوي على مادة الكلايكوجين وبما إن الخلايا المختلفة كانت موجبة التفاعل لصبغة البأس الكحولي (PAS)

جدول (٢) استجابة التراكيب النسيجية المختلفة لعفج الجاموس المحلي للتقنيات المستخدمة في الدراسة.

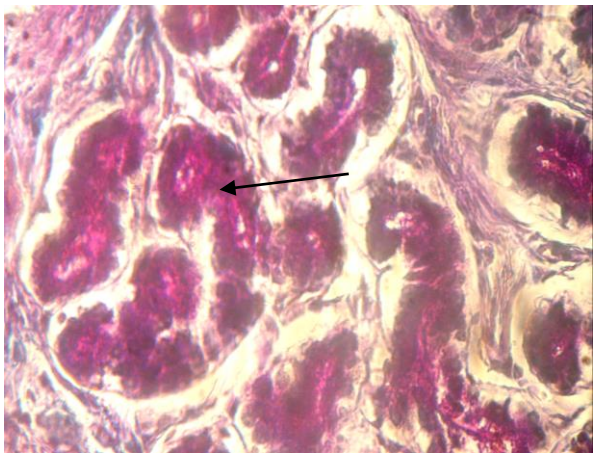
صبغه		الثلث الأول	الثلث الثاني	الثلث الثالث
PAS	الخلايا الكاسيه	+	±	±
		+	+	+
		+	+	+
		+	+	+
		±	++	++
		+	+	+++
		---	++	+++
Bestcarmine	الخلايا المبطنة لغدد برونر	---	-	-
A-B2,5		---	+	++
A-B1		---	-	-
T-B		---	-	-
مثليه وصوبنه		---	+	+
PAS-A-B2,5		---	+	++
Bestcarmine	الخلايا الكاسيه	-	-	-
A-B2,5		-	-	-
A-B1		-	-	-
T-B		-	-	-
PAS-, A-B2,5		±	±	+
PAS		+	+	+++
Bestcarmine	الخلايا المبطنة لغدد برونر	-	-	-
A-B2,5		+	+	+
A-B1		+	+	+
T-B		+	+	+
مثليه وصوبنه		±	++	++
PAS-A-B2,5		+	+	+++
PAS		---	++	+++
Bestcarmine		---	-	-
A-B2,5		---	+	++
A-B1		---	-	-
T-B		---	-	-
مثليه وصوبنه		---	+	+
PAS-A-B2,5		---	+	++

- لايوجد تفاعل ± تفاعل ضعيف + تفاعل متوسط ++ تفاعل قوي +++ تفاعل شديد.

دلالة على أن هذه الخلايا تحتوي على البروتين السكري كما في جدول (٢)، ولغرض معرفة نوعية البروتين السكري هل هو مخاط لعابي كربوكسيلي أو كبريتاتي أو متعادل فقد تم معاملة هذه الخلايا بملون الالشيان الازرق (ph1,2.5), وإخضاعها لعمليتي المثيلة والصوبنه.

أظهرت نتائج الدراسة أن الخلايا الماصة العمودية أعطت نتيجة سالبة التفاعل لصبغة الاليشاين الزرقاء (ph2.5, 1) كما في جدول ٢ وهذا دليل على أن هذه الخلايا لاتحتوي على بروتين سكري كربوكسيلي أو كبريتاتي. كما بينت نتائج الدراسة أن الخلايا الماصة العمودية أعطت تفاعلاً موجباً مع صبغة

الـ(PH2,5) ,PAS -AB الكحولي مما يدل على أنها تحتوي على بروتين سكري متعادل فقط كما في جدول (٢).

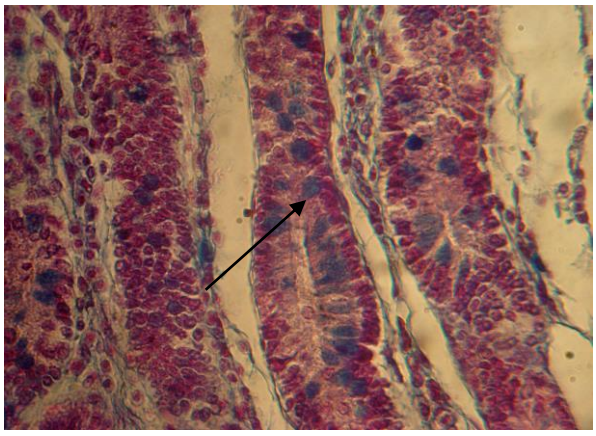


صورة (١) مقطع عرضي للجزء الامامي لعفج الجاموس توضح غدد برونر تفاعل موجب لملون PAS. ٣٧٠X.

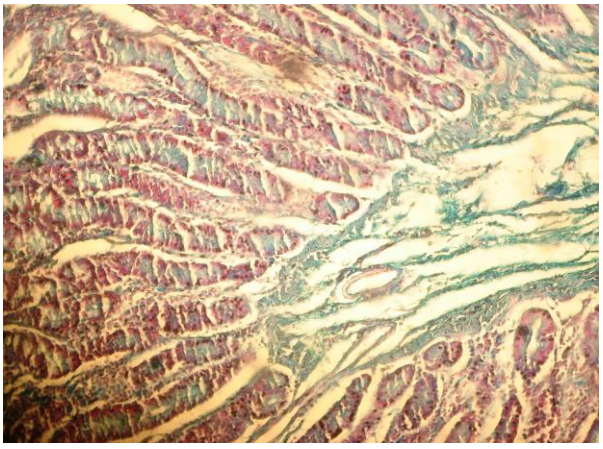
أظهرت نتائج الدراسة أن الخلايا الكاسية أعطت تفاعلاً موجباً مع صبغة الاليشاين الزرقاء (PH2.5) صورة (٢) وبعد عمليتي المثيلة والصوبنة تبين احتواء الخلايا الكاسية على بروتين سكري كربوكسيلي كما في صورة (٣) وجدول (٢). وبالأخص في الثلثين الأماميين من العفج. حيث أن الخلايا الكاسية بعد المثيلة اختفت منها الجذور الكربوكسيلية والكبريتاتية وبعد الصوبنة فقد أعيدت الجذور الكبروكسيلية فقط. بينما أوضحت نتائج الدراسة أن الخلايا الكاسية أعطت تفاعلاً موجباً متوسط مع صبغة الاليشاين الزرقاء عند الأس الهيدروجيني (١) كما في صورة (٤) وجدول (٢) وهذا يدل على أن الخلايا الكاسية تحتوي على بروتين سكري كبريتاتي وبنسبة اقل من البروتين السكري الكربوكسيلي.

أعطت الخلايا الكاسية تفاعلاً موجباً شديداً مع صبغة PAS-AB (PH2.5) في الثلث الأمامي للعفج وتفاعلاً متوسط الشدة في الثلث الخلفي للعفج دلالة على احتواء الخلايا لكاسية على بروتين سكري متعادل أيضا.

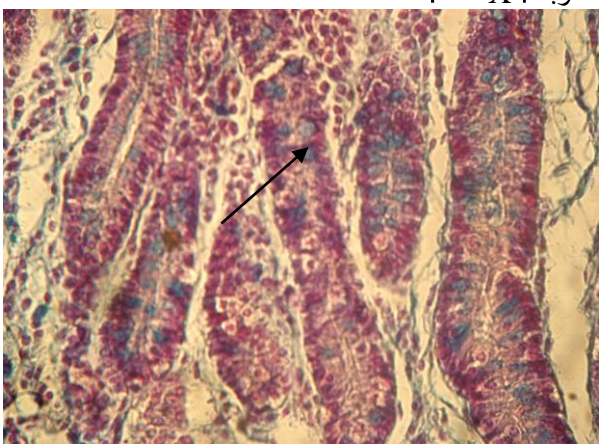
أوضحت نتائج الدراسة أن الخلايا المبطنة لغدد برونر أعطت تفاعلاً موجباً قوياً مع صبغة الاليشاين الزرقاء (pH2.5) كما في صورة (٥) وجدول (٢)، وبعد عمليتي المثيلة والصوبنة اتضح لنا احتواء الخلايا المبطنة لغدد برونر على بروتين سكري كربوكسيلي وخاصة في الثلثين الإمامين من العفج. كما في جدول (٢). أعطت الخلايا المبطنة لغدد برونر تفاعلاً سالباً مع صبغة الاليشاين الزرقاء (PH1) كما في جدول (٢). مما يدل على عدم احتواء الخلايا المبطنة لغدد برونر على بروتين سكري كبريتاتي.



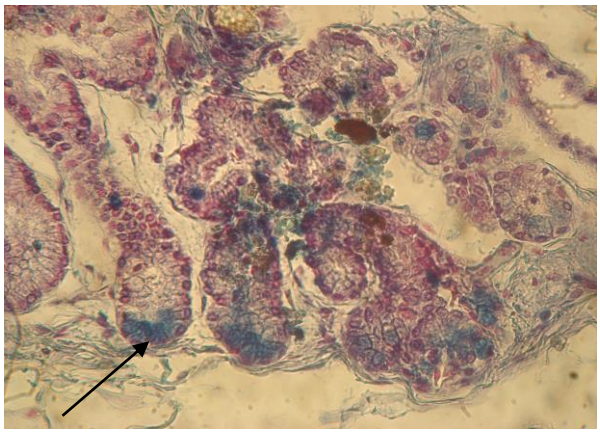
صورة (٢) مقطع عرضي لطويقات ليبركن في الجزء الامامي للعفج يوضح ان الخلايا الكاسية موجبة التفاعل لملون الالشيان الازرق٢,٥ ph و Nuclear fast red.X ٣٧٠.



صورة (٣) المثيلة والصوبنة في الخلايا الكأسية احتواء الخلايا الكاسية على المخاط اللعابي الكربوكسيلي بعد عمليتي المثيلة والصوبنة. ١٣٥X.



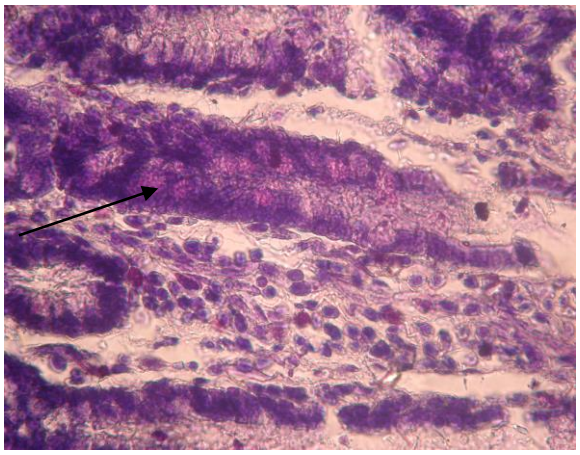
صورة (٤) مقطع عرضي في الجزء الأمامي للعفج يوضح عدداً قليلاً من الخلايا الكاسية موجبة التفاعل بملون الالشيان الأزرقph1. ٤٥٠X.



صورة (٥) مقطع عرضي في الثلث الأوسط من العفج. يوضح التفاعل الموجب لبعض الخلايا المبطنة لغدد برونر لملون الالشيان الازرقph2.5.X ٣٧٠.

أظهرت نتائج الدراسة أن الخلايا المبطنة لغدد برونر أعطت تفاعلاً موجباً قوياً مع صبغة البأس الكحولي – مع الالشاين الأزرق (PH 2,5) وخاصة في الثلث الأمامي للعفج وتفاعلاً متوسط الشدة في الثلث الاوسط من العفج دلالة على أن الخلايا المبطنة لغدد برونر تحتوي على بروتين سكري متعادل.

كما بينت الدراسة إن كلا من الخلايا ألماصه ألعموديه والخلايا ألمبطنه لغدد برونر كانت سالبه التفاعل مع ملون التوليدين الازرق بينما أعطت الخلايا ألكاسيه تغاير لونيا واضحا لهذه ألصبغه صورة (٦) جدول (٢) مما يؤكد على احتواها على متعدد السكريات المخاطي ومن جدول (٢) فان الخلايا ألكاسيه كانت موجبه التفاعل لصبغتي AB (PH1,2,5) فان الخلايا ألكاسيه تحتوي على كلا النوعين من متعدد السكريات المخاطي الكربوكسيلي والكبريتاتي.



صورة (٦) التغاير اللوني في الخلايا الكاسية. ٤٥٠X.

المناقشة

للتعرف على وجود المواد الكاربوهيدراتية الموجودة في عَفج الجاموس المحلي فقد تم استخدام صبغات خاصة مختلفة. إذ بينت نتائج الدراسة انه عند المعاملة بصبغة ألباس الكحولي (PAS) أظهرت جميع الخلايا المبطنة لمخاطية العفج تفاعلاً موجباً مع الصبغة وتم استخدام صبغة للـ (Best Carmine) وهي صبغة خاصة بالكلايكوجين ولكن أظهرت جميع الخلايا تفاعلاً سالباً مع تلك الصبغة مما يدل على أن الغلالة المخاطية المبطنة لجدار العَفج خالية من الكلايكوجين، وهذه النتائج خلاف ماذكرته (٣) من وجود الكلايكوجين بكمية قليلة في غدد برونر في الثلث الأوسط من عَفج الماعز الأسود المحلي. وكانت نتائجنا مطابقة مع ماذكرته الباحثة نفسها فيما يخص الأغنام المحلية، وخلو عَفج الأغنام المحلية وفي جميع اجزائه من الكلايكوجين. كما أشار (٦) إلى أن الكلايكوجين يكون متواجداً في العَفج والصائم وبتراكيز عالية في المراحل الجنينية لأجنة الماعز، كما أشار المصدر نفسه إلى أن الكلايكوجين يكون موجوداً في العَفج والصائم وبتراكيز عالية في أجنة الإنسان.

وللتعرف على أنواع البروتين السكري (البروتين السكري المتعادل، البروتين السكري الكربوكسيلي والبروتين السكري الكبريتاتي) تم استخدام ملون الPAS المقترن بملون الالشيان الأزرق وملون الالشيان الأزرق ذي الأس الهيدروجيني (٢,٥) وملون الالشيان الأزرق ذي الأس الهيدروجيني (١)، (٤) وقد تم الكشف عن هذه المادة في الخلايا الماصة العمودية، الخلايا الكاسية والخلايا المبطنة لغدد برونر.

أظهرت نتائج الدراسة أن الخلايا الماصة العمودية أعطت نتيجة سالبة التفاعل عند استخدام ملون الالشيان الأزرق ذي الأس الهيدروجيني (١، ٢,٥) وهذا دليل على أن هذه الخلايا لاتحتوي على بروتين سكري كربوكسيلي أو كبريتاتي وبما أن الخلايا الماصة العمودية أعطت تفاعلاً موجباً مع صبغة الـ

PAS اتضح لنا أن الخلايا الماصة العمودية تحتوي على بروتين سكري متعادل فقط. بينما ذكرت (٣) أن الخلايا الماصة العمودية الموجودة في عَفج الأغنام المحليه والماعز الأسود أبدت تفاعلاً سالباً مع جميع تقنيات الكيمياء النسيجية مما يدل على عدم تواجد الكربوهيدرات في الخلايا الماصة العمودية في عَفج كل من الحيوانين. وبينما أشار (٧) أن الخلايا الماصة العمودية المتواجدة في عَفج الحملان تحتوي على بروتين سكري متعادل بنسبة كبيرة وبروتين سكري كربوكسيلي بنسبة اقل كما تحتوي هذه الخلايا الماصة العمودية على نسبة قليلة من البروتين السكري الكبريتاتي.

أعطت الخلايا الكاسية تفاعلاً موجباً مع ملون الالشيان الأزرق2.5ph وبعد عمليتي المثيلة والصوبنة اتضح احتواء الخلايا الكاسية على بروتين سكري كربوكسيلي وبالأخص في الثلثين الإمامين من العفج.

كما بينت النتائج أن الخلايا الكاسية أعطت تفاعلاً موجباً ضعيفاً مع ملون الالشيان الأزرق (ph1). دلالة على أنها تحتوي على بروتين سكري كبريتاتي وبنسبة اقل من البروتين السكري الكربوكسيلي . كما أعطت الخلايا الكاسية تفاعلاً موجباً شديداً مع صبغة الـ PAS الكحولي في الثلث الأمامي للعفج وتفاعلاً متوسط الشدة في الثلث الخلفي للعفج دلالة على أنها تحتوي على بروتين سكري متعادل أيضا.

في حين أكدت (٣) أن هناك تفاوتاً في تركيز المواد الكربوهيدراتية المتواجدة في جميع مناطق العَفج في الماعز الأسود والأغنام المحلية. حيث أشارت الباحثة إلى وجود البروتينات السكرية الكربوكسيلية في الخلايا الكاسية وبكميات كبيرة وخاصة في الثلث الأمامي من عَفج الأغنام ألمحليه، بينما تواجدت البروتينات السكرية المتعادلة في الخلايا الكاسية وبكميات متوسطة وفي جميع المناطق ولكلا الحيوانين مع ملاحظة انه لاتوجد بروتينات سكرية كبريتاتية في الخلايا الكاسية وفي المناطق كافة للعَفج ولكلا الحيوانين.بينما ذكر (٨) أن الخلايا الكاسية المتواجدة في عَفج الغزال ابيض الذيل يحتوي على بروتينات سكرية متعادلة وبروتينات سكريه كبريتاتية وبنسبة اقل توجد البروتينات السكرية الكربوكسيلية.

وتحتوي الخلايا الكاسية الموجودة في عَفج الخراف كبيرة القرون على نسبة عالية ومتساوية من البروتين السكري المتعادل والكربوكسيلي كما تحتوي على كمية قليلة من البروتين السكري الكبريتاتي(٨) وهذا يتطابق مع ماموجود في دراستنا ماعدا الاختلاف في نسبة التواجد.

كان تفاعل الخلايا المبطنة لغدد برونر تفاعلاً موجباً قوياً مع ملون الالشيان الأزرق 2.5ph وبعد عمليتي المثيلة والصوبنة اتضح لنا احتواء الخلايا الكاسية على بروتين سكري كربوكسيلي وخاصة في الثلثين الامامين من العفج. كما أعطت الخلايا المبطنة لغدد برونر تفاعلاً سالباً مع ملون الالشيان الأزرق ph1 . وبما أن غدد برونر أعطت تفاعلاً موجباً مع صبغة الـ PAS الكحولي وخاصة في الثلث الأمامي للعفج وتفاعلاً متوسط الشدة في الثلث الأوسط والخلفي للعفج فهذا يدل على أنها تحتوي على بروتين سكري متعادل. وفي جميع مناطق تواجدها حيث تتطابق نتائجنا مع ماذكره (٨) في عَفج الماعز الجبلي ومشابهة كذلك لما موجود في عفج حيوان الزيبو (٩). بينت الباحثة (٣) احتواء غدد برونر في عَفج الأغنام المحلية والماعز الأسود المحلي على مادة البروتين السكري المتعادل في جميع المناطق ولكلا الحيوانين وخاصة في الثلث الأمامي لعَفج الماعز أما في اللبائن فقد ذكر (١٠) احتواء غدد برونر على بروتين سكري متعادل بينما في الثور الأمريكي فتحتوي هذه الخلايا على بروتين سكري متعادل، كربوكسيلي وكبريتاتي بنسبة متساوية.

أظهرت نتائج دراستنا انه باستخدام ملون التولودين الأزرق يمكن التعرف على مادة السكريدات السامينية السكرية في جدار العَفج، ولم تعط كل من الخلايا الماصة العمودية والخلايا المبطنة لغدد برونر تغايراً لونياً مع هذه الصبغة، أما الخلايا الكاسية فقد أعطت تغايراً لونياً واضحاً مع هذا الملون وفي جميع مناطق تواجدها مما يدل على احتواء الخلايا الكاسية على سكريدات سامنيه سكرية وتتفق نتائجنا مع ما موجود في الخلايا الكاسية لعَفج القطط المحلية والفئران (١١) بينما أكدت الباحثة (٣) عدم وجود مادة السكريدات السامينية السكرية في أي جزء من أجزاء العَفج في الأغنام والماعز المحلي.

المصادر

1. Krause WJ. Brunner glands a structural, histochemical and pathological profile. Ytochem.. (2000). 35(4): 259-367.
2. Nogueira JC and Godinho HP. Histology and mucosubstance histochemistry of duodenal suckling prepuberal and puberal zebus. Anat. Anz. (1981). 149: 437-445.
٣. صبحي احمد نيزك. توزيع المواد الكربوهيدراتيه في جدار عفج الأغنام والماعز المحلية. المؤتمر العلمي الرابع كليه الطب البيطري/٢٠٠٦;٢٩٥-٤١٠.
4. Culling FA, AllisonF and BarrT.. Cellular pathology technique. 4th ed. London. Better Worth company, 1985. pp: 212-214.
5. Luna. Manual histologic staining. 3rd ed. USA. McGraw Hill company, , 1968.pp:164-173.
6. Tiwari GP and Ramkrishna W. Prental intestinal histology and histochemistry in the goat. Acta. Anat. 1979; 105, 151-156.
7. Pedini V, Sacocco P. Radaelli G, FagiolioO. and Ceccarell. Carbohydrate histochemistry of alimentary canal of the she drum, Umbrina Cirrosa. L. Anat. Histol. Embryol. 2001 ; 30(6): 345-349.
8. Krause WJ. Morphology and Histochemical observation on duodenal glands of eight wild ungulate species. A. J. Anato. 1981; (162): 167-181.
9. Nogueira JC, Godinho HP Histology and mucosubstance histochemistry of duodenal suckling prepuberal and puberal zebus. Anat. Anz;1981; 149: 437-445.
10. Smacher U. Duku M, Katoh M, Jorns J, Krause WJ. Histochemical similarities of mucin produced by Brunner's gland and pyloric glands : A comparative study. Anat. Rec.1984; pp: 278-289.
11. Krause WJ, and Schmacher U. 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 ,1994.