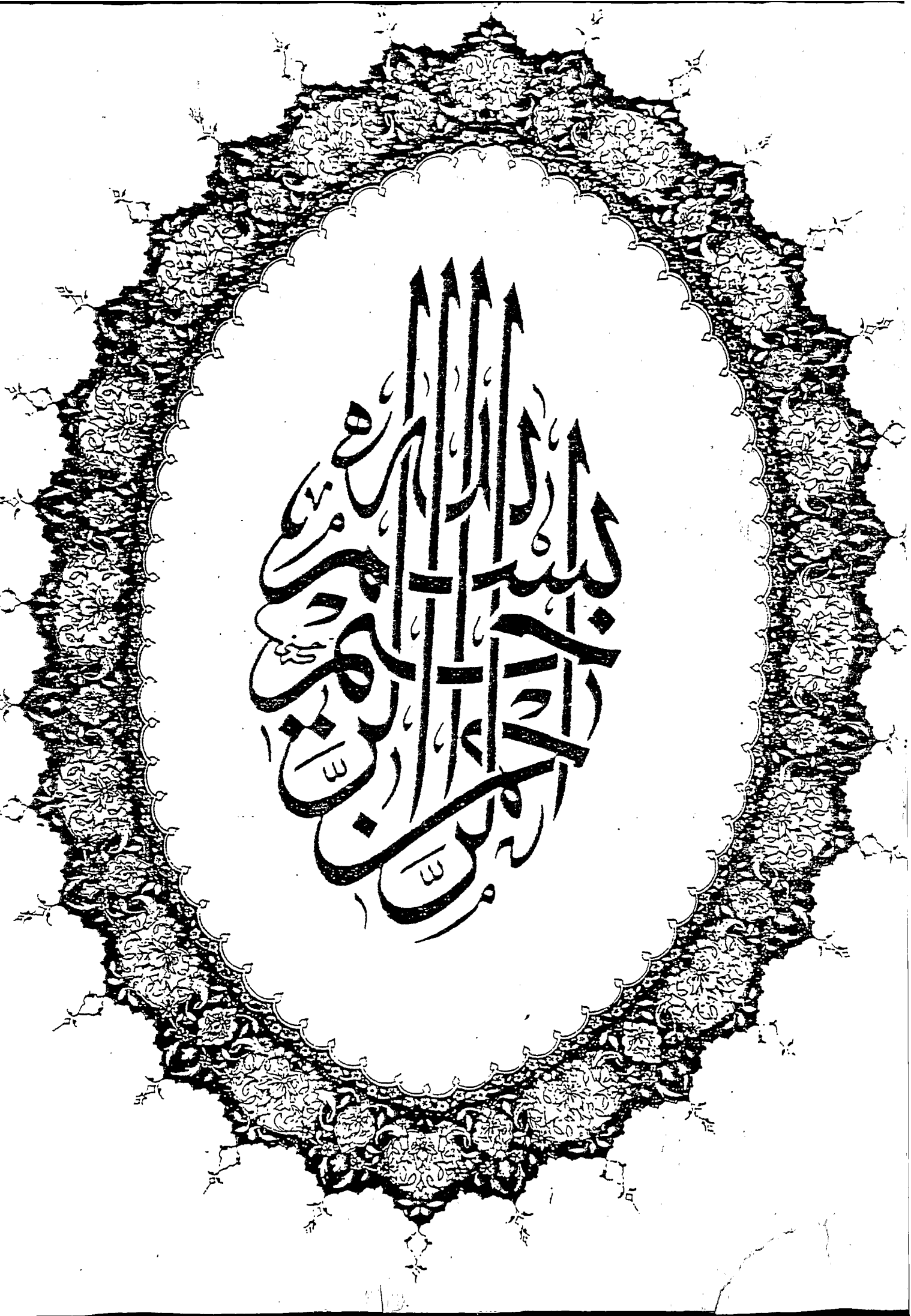


بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ
الْحَمْدُ لِلَّهِ الَّذِي
خَلَقَ الْمَوَدَّعَةَ
وَالْحَيَاةَ وَالْمَوْتَ
وَالْحَيَاةَ وَالْمَوْتَ
وَالْحَيَاةَ وَالْمَوْتَ



اللهم صل على محمد و آل محمد

هدیه به روح پدرم که مراقبت کار و نیت عمل بود

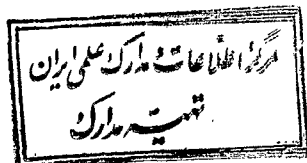
و با تشکر از مادرم که دعایش وسیله راهم بود

و با سپاس از برادرم که قوت کارم بود

و با تشکر فراوان از همسر و فرزندانم که رنج

زندگی را برای ما تحمل کردند تا راه هموار گردد

دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده علوم پزشکی



پایان نامه دکتری تخصصی (Ph.D)
بافت و جنین شناسی

اثرات رژیم غذایی حاوی روغن ماهی و
روغن ذرت و روغن پنبه دانه هیدروژنه بر روی
کبد خرگوش های ماده باردار و بچه های آنان

باقر مینایی زنگی

استاد راهنما
جناب آقای دکتر منصور جمالی زواره ای

۳ تیر ۱۳۷۲

(۱)

۱۷۳۵۹

اللَّهُمَّ صَلِّ عَلَى فَاطِمَةَ وَأَبِيهَا وَبَعْلِهَا وَبَنَوِهَا بِعَدَدِ مَا أَحَاطَ بِهِ عِلْمُكَ
بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

قدردانی و سپاس گزاری
خلاصه

I	۱- شرحی کوتاه از متد و روش کار
II	۲- چکیده‌ای از نتایج و بحث
	- فصل اول
	- مقدمه
۱	
۴	- مروری بر کبد و چربی‌ها
۴	- چربی‌ها در بدن
۵	۱- دخالت در ساختمان سلول‌ها
۵	۲- تولید کننده انرژی لازم برای سلول‌های تشکیل دهنده بافت‌های بدن
۵	۳- نقش محافظتی چربی از بدن
۵	۴- خواص تغییر پذیری چربی‌ها
۷	- چربی‌ها (لیپیدها)
۸	- انواع چربی‌ها (لیپیدها)
۹	- متابولیسم چربی‌ها (لیپیدها)
۱۲	- بیوسنتز چربی‌ها (لیپیدها) در هپاتوسیت
۱۴	- بافت‌شناسی کبد
۱۶	- مورفولوژی هپاتوسیت در کبد سالم
۱۹	- مورفولوژی اولترا استراکچر هپاتوسیت در کبد سالم
۲۶	- سینوزوئیدهای کبدی
۲۶	- فضای پورت
۲۷	- دستگاه رگی داخل کبدی
۲۸	- لبول‌های پورتال
۲۸	- آسینی کبد
۲۹	- هیستوفیزیولوژی کبد
۳۱	- پاتولوژی کبد در رابطه با چربی
۳۴	- پاتولوژی کبد چرب

۴۵	- مورفولوژی هپاتوسیت های خرگوش هائی که تحت رژیم غذایی همراه با روغن بوده اند
۴۸	- مورفولوژی اولتراستراکچر هپاتوسیت در کبد نوزاد خرگوش
	- فصل دوم
۶۰	روش و مدت کار
۶۰	- آناتومی کبد در خرگوش
۶۹	- توضیحاتی در رابطه با مرحله کوپلینگ
۷۱	مرحله تغذیه
۷۸	- نحوه تهیه غذای مورد نظر
۸۰	- مرحله زایمان
۸۶	- کالبد گشائی و هپاتکتومی
۸۸	- فیکسه کردن
۸۹	- مرحله آب گیری
۹۰	- قالب گیری با پارافین
۹۰	- برش بافت ها
۹۰	- رنگ آمیزی
۹۸	- تهیه نمونه برای میکروسکوپ الکترونی
	- فصل سوم
۱۰۱	۱- بررسی کبد خرگوش های مادر که به عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شده اند
۱۰۲	۲- بررسی کبد خرگوش های مادر که تحت رژیم غذایی ۱۰٪ روغن ذرت بوده اند
۱۰۵	۳- بررسی خرگوش های مادر که تحت رژیم غذایی ۱۰٪ روغن ماهی بوده اند
۱۰۸	۴- بررسی خرگوش های مادر که تحت رژیم غذایی ۱۰٪ روغن پنبه دانه هیدروژنه بوده اند
۱۱۱	I: بررسی کبد خرگوش نوزاد که به عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شده اند
۱۱۱	:از دیدگاه میکروسکوپ نوری
۱۱۳	:از دیدگاه میکروسکوپ الکترونی ترانس میشن (T.E.M)
۱۱۵	II: بررسی کبد خرگوش نوزاد از گروه ذرت
۱۱۶	:از دیدگاه میکروسکوپ نوری
۱۱۷	:از دیدگاه میکروسکوپ الکترونی ترانس میشن T.E.M
۱۲۰	III: بررسی کبد خرگوش نوزاد از گروه ماهی
۱۲۱	:از دیدگاه میکروسکوپ نوری
۱۲۲	:از دیدگاه میکروسکوپ الکترونی ترانس میشن T.E.M
۱۲۵	IV: بررسی کبد خرگوش نوزاد از گروه پنبه دانه هیدروژنه
۱۲۵	:از دیدگاه میکروسکوپ نوری

۱۲۶

از دیدگاه میکروسکوپ الکترونی ترانس‌میشن *T.E.M*

- فصل چهارم

بحث

۱۳۰

- کبد و اعمال آن

۱۴۳

- بررسی اثرات روغن ۱۰٪ ذرت بر روی کبد خرگوش مادر

۱۴۶

- بررسی اثرات روغن ۱۰٪ ماهی بر روی کبد خرگوش مادر

۱۴۸

- بررسی اثرات روغن ۱۰٪ پنبه‌دانه بر روی کبد خرگوش مادر

- مقایسه اثرات روغن‌های ۱۰٪ ذرت، ۱۰٪ ماهی، ۱۰٪ پنبه‌دانه هیدروژنه نسبت به گروه شاهد در بافت

۱۵۰

کبد خرگوش مادر

۱۵۴

II- سلول کوپفر

۱۵۸

III- فضای بینابینی

۱۵۹

IV- دیواره سینوزوئیدها

۱۶۱

- بررسی کبد خرگوش نوزاد در گروه شاهد

۱۶۳

از دیدگاه میکروسکوپ نوری

۱۶۳

از دیدگاه میکروسکوپ الکترونی ترانس‌میشن *T.E.M*

۱۶۳

- بررسی اثرات روغن ۱۰٪ ذرت در کبد خرگوش نوزاد

۱۶۳

از دیدگاه میکروسکوپ نوری

۱۶۶

از دیدگاه میکروسکوپ الکترونی ترانس‌میشن

۱۶۹

- بررسی اثرات روغن ۱۰٪ ماهی در کبد خرگوش نوزاد

۱۶۹

از دیدگاه میکروسکوپ نوری

۱۷۲

از دیدگاه میکروسکوپ الکترونی ترانس‌میشن *T.E.M*

۱۷۵

- بررسی اثرات روغن ۱۰٪ پنبه‌دانه در کبد خرگوش نوزاد

۱۷۵

از دیدگاه میکروسکوپ نوری

۱۷۷

از دیدگاه میکروسکوپ الکترونی ترانس‌میشن *T.E.M*

۱۸۹

- بررسی سلول کوپفر از دیدگاه میکروسکوپ الکترونی ترانس‌میشن *T.E.M* در کبد خرگوش‌ها نوزاد

۱۹۱

سلول ذخیره کننده چربی

۱۹۴

- بررسی مورفولوژی *Pit cell* در کبد خرگوش نوزاد

-

- استنتاج

-

- خلاصه

-

- ضمیمه

-

- رفرنس

قدردانی و سپاس

با سپاس فراوان از استاد راهنمای عزیز که نه تنها به عنوان یک محقق بلکه به عنوان یک پدر اینجانب را در راه رسیدن به مقصود یاری کردند.

و همچنین با تشکر از زحمات استادان محترم جناب آقای دکتر شریعت شمس تربقانی و آقای دکتر رضازاده که به عنوان مشاور در این رساله این حقیر را یاری کردند.

و همچنین استادان ناظر جناب آقای دکتر حسینی ریاست محترم دانشکده پزشکی تربیت مدرس و آقای دکتر رخشان ریاست محترم بخش پاتولوژی بیمارستان لقمان الدوله و خانم ایروانلو پاتولوژیست و عضو هیئت علمی دانشکده پزشکی تهران کمال تشکر را می‌نمایم.

و همچنین از آقای آبرون و آقای بابایی به سبب تهیه مقدمات اولیه رساله تشکر می‌نمایم.

از خانم صغری جمشیدیان در دانشکده پزشکی تهران و آقای دکتر کیهانی و خانم احمدیان و خانم جمشیدی مسئولین محترم آزمایشگاه میکروسکوپ الکترونی IBB کمال تشکر را دارم که امکانات لازم جهت تهیه گرید را برای اینجانب احیاء کردند.

و از آقای دکتر ذولفقاری ریاست مرکز تحقیقات دارویی و خانم شهلا امینی مسئول بخش میکروسکوپ الکترونی تشکر می‌کنم به سبب کمکهایی که در جهت تهیه عکس‌های میکروسکوپ الکترونی نموده‌اند.

و با تشکر از همه کسانی که مرا در این راه کمک و یاری کردند.

با تشکر

باقر مینایی زنگی

- خلاصه:

قبلاً در رابطه با اثرات و چگونگی اختلالات مورفولوژیکی اثرات روغن‌ها بر روی بافت‌های بدن در ایران کار نشده بود، لذا این پروژه برای اولین بار به بررسی چگونگی اثرات تغذیه روغن، بر روی بافت کبد خرگوش پرداخته است.

۱- شرحی کوتاه از متد و روش کار:

برای شروع تحقیقات در این زمینه از خرگوش بعنوان یک حیوان آزمایشگاهی استفاده شد. چهار دسته خرگوش ماده انتخاب شد که سه دسته از این خرگوش‌ها را تحت رژیم روغن ماهی ۱۰٪ و روغن پنبه دانه هیدروژنه ۱۰٪ و روغن ذرت ۱۰٪ بطور جداگانه و یک دسته دیگر را از همان جیره غذایی معمولی انستیتو پاستور تحت رژیم قرار دادیم. این خرگوش‌های ماده را، در طول رژیمی که داشتند با نر قرار داده و پس از ۳۵-۳۰ روز تعدادی از آنها بچه دار شدند.

سپس این بچه‌ها و مادر آنها را بدون هیچگونه رژیم خاصی تا دو ماهگی تحت رژیم غذایی معمولی که هیچگونه روغنی به آن اضافه نشده است: در Box های جدا از هم قرار دادیم. هنگامی که ۸ هفتهگی بچه‌ها پایان گرفت خرگوش‌های نوزاد ماده را تشریح کرده و از کبد آنها اتوپسی تهیه کردیم که این اتوپسی‌ها هم برای بررسی از دیدگاه میکروسکوپ نوری و هم برای بررسی از دیدگاه میکروسکوپ الکترونی آماده شد. و از مادرها هم برای بررسی و چگونگی تغییرات بافت کبدی اتوپسی تهیه شد که از دیدگاه میکروسکوپ نوری این تغییرات مورفولوژی مشخص گردد.

این تکنیک‌ها عبارت بودند از تکنیک رنگ آمیزی هماتوکسین و ائوزین، دوم رنگ آمیزی تری کروم و سوم رنگ آمیزی پریود یک اسید شیف است و چهارم رنگ آمیزی ریتکولین و آخرین رنگ آمیزی استفاده از تکنیک رنگ آمیزی سودان بلاک است.

۲- چکیده‌ای از نتیجه و بحث:

چربی ماده‌ای که نه تنها می‌تواند در درن سلول بلکه در فضای بین سلولی دیده شود، هم می‌تواند آواد و هم بصورت ترکیب با مواد دیگر باشد. ترکیبی است که قابلیت حلالیت دارد و هم می‌تواند غیر قابل حل گردد و بصورت یک ماده کلوئیدی در آب دیده شود.

وقتی اثرات روغن‌ها را بر روی کبد خرگوش که حیوانی است از گروه B کرانیاتا *B, Craniata* و یا مجموعه‌داران و در فوق رده *Tetrapoda* و از گروه *Mammalia* می‌باشد، بررسی شد مورفولوژی گوناگونی را در هیاتوسیت‌ها از اثرات سه روغن مذکور دیده شد. پس بطور خلاصه می‌توان نتیجه گرفت، از دیدگاه میکروسکوپ نوری تغییرات در کبد خرگوش مادر که تحت تأثیر روغن (ذرت ۱۰٪، ماهی ۱۰٪، پنبه دانه ۱۰٪) قرار گرفته‌اند عبارت است از:

I- بهم خوردن حدود لبولی کبد

II- بهم خوردن شکل رشته‌ای هیاتوسیت در یک لبول کبدي

III- تجمع داخل سلولی چربی بصورت ماکرووزیکول

IV- گشادی سینوزوئیدها

V- فیروزه شدن فضای پورت همراه با انفیلترای سلول‌های آماسی منونوکلتر

در مورد کبد خرگوش نوزاد از دیدگاه میکروسکوپ نوری تغییراتی دیده نشد ولی از دیدگاه میکروسکوپ الکترونی هیاتوسیت کبد خرگوش نوزاد هر ۳ گروه، تغییرات ارگانلی سلول دیده شد که این تغییرات عبارتند از:

I: وجود وزیکول‌های بسیار ریز در سیتوپلاسم سلول که در واقع اینها میکرووزیکول‌های چربی بودند

II: گشادی (SER (smooth Endoplasmic Reticulom)

III: عدم جابجایی دستگاه گلژی (Golgi)

IV: افزایش تعداد پراکسی‌زوم‌ها

V: افزایش اندازه لیزوزم

VI: متورم شدن میتوکندری

VII: جدا شدن RER (Rough Endoplasmic Reticulom) از میتوکندری.

VIII: وجود سلول‌های ذخیره‌کننده چربی (Fat storing cell) در میان سلول‌های کبدي که از وزیکول‌های کوچک و بزرگ چربی پر شده است.

IX: وجود Pitcell در میان سلول‌های کبدي که برای اولین در این پروژه در خرگوش گزارش می‌گردد.

اللَّهُمَّ صَلِّ عَلَى مُحَمَّدٍ وَآلِ مُحَمَّدٍ

فصل اول

مروری بر کبد و چربی‌ها

مقدمه:

کبد بزرگترین عضوی است که در بدن مستقر و در متابولیسم موادی چون پروتئین، کربوهیدراتها و لیپید نقش بسیار مهمی را ایفا می کند.

درک خصوصیات تشریحی کبد از نظر ماکروسکوپی و بررسی تک تک سلولهای کبدی و دیگر اجزای آن از دیدگاه میکروسکوپی برای شناخت بافت کبد و چگونگی عمل آن در بدن مهم می باشد.

جریان خون دو گانه کبد که شامل سیستم وریدی باب *Portal Venous System*، کبد را به یک صافی *Filter* در سر راه تخلیه وریدی اکثر احشا شکمی مبدل ساخته است.

لذا ساختمان هیستولوژیکی کبد نه تنها در سطح سلولها و ماکروسکوپیکی، بلکه در سطح بین این دو نیز از نظر بالینی اهمیت دارد (Sheila Sherlock 1988).

درک بسیاری از اختلالات کبدی و تظاهرات آن، تنها با مطالعه سلولهای کبدی میسر می باشد. زیرا سلولهای کبدی نقش بسیار مهمی را در رویدادهای عمومی متابولیکی ایفا می کنند.

کبد نقش اساسی در برقراری هومئوستازی متابولیکی در بدن ایفا می کند لذا کبد از ظرفیت ذخیره ای قابل ملاحظه ای نسبت به بافت های دیگر بدن برخوردار است. آسیب خفیف سلولی و یا حتی متوسط ممکن است تغییرات قابل توجه ای را در فعالیت متابولیکی ایجاد کند.

بطور کلی اعمال بیوشیمیائی کبد در بدن عبارتند از:

۱- متابولیسم حد وسط اسیدهای آمینه و کربوهیدراتها،

۲- سنتز و تجزیه پروتئین ها و گلیکوپروتئین ها،

۳- متابولیسم و تجزیه داروها و هورمون ها،

۴- تنظیم متابولیسم چربی و کلسترول.

از آنجائی که بسیاری از اعمال کبدی ممکن است به درجات متفاوتی در فرد فرد حیوانات فرق کند حتی اگر در یک رده هم باشد لذا هیچ بررسی به تنهایی قادر به سنجش وضعیت کلی کارکرد کبد نمی باشد.

هنگامی که حیوان تحت رژیم غذایی که در آن روغن می باشد قرار گیرد متابولیسم اسیدهای چرب حاصل از این رژیم به عهده کبد می باشد. بیشتر اسیدهای چرب توسط کبد برداشته شده و به تری گلیسیرید استریفیه می شود. بیشتر تری گلیسیرید تولید شده در کبد جهت صدور به بافت های دیگر می باشد. اما برای ترشح باید از طریق ترکیب با آپوپروتئین به لیپوپروتئین مبدل شود و سپس از هپاتوسیت ترشح گردد. (Harper's 1988)

افزایش ورود اسیدهای چرب حاصل از رژیم غذایی می تواند باعث بوجود آمدن یک کبد چرب گردد. در واقع می تواند تغییرات چربی را در هپاتوسیت ها بوجود آورد. زیاد شدن اسیدهای چرب در کبد که یا به علت تشدید سنتز و یا کاهش اکسیداسیون اسید چرب می باشد ممکن است موجب افزایش تولید تری گلیسیرید گردد (Harrison's 1991).

این اسیدهای چرب که باعث تجمع تری گلیسیرید و همچنین فسفولیپید است می تواند بر روی ارگانهای هپاتوسیت ها اثر بگذارد (William E.M. Lands 1990).

پس بطور کلی مشخص می گردد که سلول های کبدی مهمترین و اساسی ترین و فعال ترین سلولهای بدن به شمار می روند، که واکنش های مختلف متابولیسمی را صورت داده، بطوری که سوخت و ساز بدن در اصل، در کبد صورت می گیرد.

آنزیم های مختلف و هورمون های گوناگون در آن یا وجود داشته و یا در جهت فعالیت حیاتی آن نقش بسیار فعالی را دارد. لذا تمام راه های متابولیسمی مواد مختلف در کبد صورت می گیرد، همچون گلیکولیز، سیکل کربس، سیکل پنتوزفسفات، لیپوژنز، گلیکوژنزیس، گلیکولیز و غیره را دارد.

کبد از مهمترین بافت های بدن است که نقش تنظیم مواد موجود در خون و دیگر سلول ها را دارا می باشد. پس مشخص می گردد که کبد نه تنها در متابولیسم مواد از جمله لیپیدها نقش بسیار مهمی دارد بلکه می تواند در اثر تغییر ویسکوزیته پلاسمای خون شدیداً صدمه ببیند و این قدرت را هم دارد که به محض اینکه عامل آزار قطع گردد، سریعاً دوباره به حالت اولیه برگردد، اگر آزار خیلی پیشرفته نباشد.

لذا با توجه به نظر (آرمین ۱۳۴۵) که در کتاب خود عنوان می کند به علت متابولیسم های گوناگون در یک هپاتوسیت کبدی که در لبول های کبدی با همکاری های بسیار نزدیک سلول ها انجام می گیرد در حالت سلامتی، کبد دارای (سینترژیسم عملی) می باشد. و این از مهم بودن این غده در بدن می باشد.

: Literature Review

قبل از اینکه به موضوع اصلی، یعنی تأثیرات روغن پرداخته شود. لازم است مروری بر کبد و چربی داشته باشیم، که این عبارت است از:

- چربی ها در بدن:

در بسیاری از بافت های پستانداران چربی دیده می شود (Harper's 1988) بخصوص در بافت چربی که از مجموع سلول هائی تشکیل شده است که تمام سیتوپلاسم آن دارای تجمع داخل سلولی چربی می باشد.

نوع چربی جمع شده در لیپوسیت ها از نوع چربی خنثی می باشد که اسم دیگر آن تری گلیسیرید می باشد.

اعمال فیزیولوژی چربی در بدن پستانداران گوناگون می باشد و لکن بطور کلی این اعمال عبارتند از:

۱- دخالت در ساختمان سلول ها

از جمله موادی که در ساختمان غشاء سلولی و ارگانل های آن سهیم است لیپید می باشد. که این لیپیدها شامل: تری گلیسیرید، فسفولیپید، کلسترول است، گاهی اوقات این چربیها بصورت اجسامی بنام اجسام میلینی در سیتوپلاسم سلول مشاهده می گردد. لیپید نه تنها در بافت عصبی بصورت میلین، بلکه در دیواره غشاء میتو کندری، میکروزوما، هسته سلولی و دیگر ارگانل هائی که توسط یک دیواره

محاط شده باشند، مشاهده می گردد.

۲- تولیدکننده انرژی لازم برای سلول های تشکیل دهنده بافت های بدن

حاصل یک گرم سوخت و ساز چربی، چیزی حدود ۹ کالری انرژی حرارتی می باشد (Harper's 1988).

اگر همین مقدار قند یا پروتئین بسوزد چیزی حدود ۴ کالری انرژی تولید می کند. پس چربی ها یکی از مهمترین ذخایر بدن محسوب می شوند زیرا چربی برعکس گلوئیدها محدود نمی باشند (Guyton 1985).

یکی دیگر از خصوصیات چربی این است که در سوخت و ساز متابولیکی، باقیمانده حاصل از سوخت و ساز ندارند. در صورتی که حاصل سوخت و ساز پروتئین اوره و یا اسیداوریک را بجا می گذارد. (Harper's 1988)

۳- نقش محافظتی چربی از بدن

چربی در بدن عاملی جهت حفظ بدن در مقابل ضربه و یا تغییر درجه حرارت بدن می باشد. چربی، یکی از بافت هائی است که در جذب سموم دخالت دارد فرضاً در بافت مغز که چربی زیادی دارد، مهمترین مکان در جهت جذب داروهای بیهوشی مثل اتروکلوروفرم می باشد (Harper's 1988).

۴- خواص تغییر پذیری چربی ها

یکی از خصوصیات بارز چربی ها تبدیل و تغییر آنها به مواد دیگر می باشد. با توجه به ساختمان خاصی که دارند می توانند تبدیل به ترکیبات استروئیدی مثل هورمونهای پروژسترون، تستوسترون، کورتیزول، آلدسترون گردند و یا در