مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۸۷، دوره ۶۳، شماره ۴، ۲۱۴ - ۲۰۹

مطالعه هیستوژنز تیموس گوسفند ماکویی در دوره‌های مختلف رشد فتوسی

رسول شهروز [۱]* شاپور حسن زاده [۱] منصور امین کهریز [۲]

۱) گروه علوم پایه دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه - ایران.

۲) دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه - ایران.

(دریافت مقاله: ۱۷ اردیبهشت ماه ۱۳۸۵، پذیرش نهایی: ۱ مهرماه ۱۳۸۵)

چکیده

جهت مطالعه روند تکاملی غده تیموس از نظر بافت‌شناسی در مراحل مختلف رشد فتوس، از غده تیموس تعداد ۷۵ فتوس سالم گوسفند مقاطع بافتی تهیه، با روشهای H.E، PAS، ورهاف، تولوئیدین بلو، و وان گیسون مورد رنگ‌آمیزی قرارگرفتند. در این مطالعه مشخص گردید که غده تیموس در ماه دوم محتوی کانون‌های لنفوسیتی در حال رشد می‌باشد. در نیمه اول ماه سوم بخش میانی وسیع شده و کورتکس به صورت توده مجتمع لنفوسیتی پیرامون بخش میانی مشاهده گردید. در نیمه دوم ماه سوم لوبولاسیون غده تیموس کامل ترشده و ضخامت لوبول‌ها بیشتر گردیده است. در ماه چهارم لوبول‌های تیموس تا حد زیادی بزرگ شده و تیغه‌های همبندی نازک آنها را از هم جدا می‌سازد. بطور کلی چنین به نظر می‌رسد که بحرانی ترین زمان برای رشد تکاملی تیموس فتوس گوسفند نیمه دوم ماه دوم تا آخر ماه سوم می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: فتوس گوسفند، غده تیموس، هیستوژنز.

مقدمه

سیستم ایمنی شامل اعضا و سلول هایی است که در یک عمل هماهنگ برای حفظ تمامیت بدن در برابر عوامل آسیب رسان خارجی و داخلی اقدام می‌نمایند. این سیستم دارای یک سری ترکیبات ذاتی است که سریع ولی غیراختصاصی عمل می‌کنند و نیز شامل یک سری اجزای اکتسابی می‌باشد، که اختصاصی عمل می‌کنند، ولی برای پاسخ به زمان نیاز دارند. سیستم ایمنی دارای توانایی تمایز بین اجزای سلولی خودی، خودی تغییر یافته، و یا خارجی است. این توانایی ابتدا در دوره رشد تکاملی ظاهر شده و محدود به سلول‌های فاگوسیت کننده است، ولی سپس موقعیکه اجزای ساختاری سیستم ایمنی گسترش یافت، سایر گونه‌های سلولی ظرفیت لازم برای تشخیص را کسب می‌کنند. شناسایی یک ماده خارجی یا آنتی ژن معمولاً با یک پاسخ همراه می‌شود، که شامل فعالیت هماهنگ ترکیبات سیستم ایمنی است. مولکول‌های تأثیر گذار موجود در سطح سلول یا در ترشحات در روند پاسخ ایمنی به عنوان واسطه عمل کرده و به مولکول‌های خارجی، یا با سایر ترکیبات ایجاد کننده واکنش ایمنی متصل می‌شوند، که اغلب به فرم واکنش لیگاند - گیرنده ligand-receptor interaction است. سلول‌های سیستم ایمنی شامل دو دسته ثابت و مهاجر می‌شود. سلول‌های ثابت، سلول‌های مزانشیمی یا پوششی هستند که در یک عضو لنفاوی محدود به شکل داربست بافتی شده اند(مانند، سلول‌های رتیکولری و معرفی کننده‌های آنتی ژن). این سلول‌ها جهت حمایت لازم برای لکوسیت‌ها (بخصوص لنفوسیت‌ها)، در طی مراحل توسعه یا عملکرد، محیط کوچکی را فراهم می‌کنند. سلول‌های غیر ثابت شامل لکوسیت‌ها می‌شوند که در محیط کوچک اختصاصی قرار می‌گیرند(۷). غده تیموس از سومین جیب حلقی منشأ گرفته و دارای بخش‌های سینه ای و گردنی در حیوانات اهلی می‌باشد(۱۶). تیموس گوساله به طور مشخص لوبوله بوده و به رنگ زرد می‌باشد، و تا سن ۸ هفتگی وزن تیموس افزایش می یابد(۱۱). بخش سینه ای با بخش گردنی به وسیله یک تنگه گردنی - سینه ای متصل شده است. این قسمت نواری از پارانشیم است که در قسمت چپ نای از سطح خلفی پشتی به سطح شکمی کشیده می‌شود(۱۶). بخش گردنی تیموس از دو قسمت راست و چپ تشکیل شده و در تماس با سطح شکمی نای، مری، شریان کاروتید و تنه واگوسمپاتیک است(۹).

تیموس شامل لوبهایی است که هرکدام به وسیله کپسولی از بافت همبند احاطه می‌شوند، تیغه‌های نازک همبندی ایجاد لوبولاسیون ناقصی را می‌کنند. هرلوبول دارای بخش میانی medulla است که به وسیله قشر cortex احاطه شده است. داربستی که داخل لوبول‌ها لنفوسیت‌ها را در خود جای می‌دهد، شامل سلول‌های پوششی رتیکولری epithelioreticular cells با هسته بزرگ و کمرنگ و تخم مرغی شکل است، که زواید میله ای شکل آن‌ها به وسیله اتصالی‌های دسموزومی به یک دیگر متصل شده اند. این سلول‌ها در محیط اطراف لوبول‌ها و در فضای اطراف عروق، لایه‌ای از سلول‌های پوششی پهن و طویل را تشکیل می‌دهند. در ناحیه قشری لنفوبلاست‌ها و لنفوسیت‌های با اندازه‌های متوسط با تقسمات میتوزی، لنفوسیت‌های کوچکی را تولید می‌کنند که در عمق کورتکس تمایز می‌یابند. ماکروفاژها در مجاورت بخش میانی لنفوسیت‌های مرده و معیوب را فاگوسیته می‌نمایند. بخش قشری محتوی اجتماع فشرده‌ای از لنفوسیت‌های در حال رشد می‌باشد(۷). تیموس محیط سلولی و هورمونی مطلوبی را جهت رشد سلول‌های شایسته ایمنی نوع T فراهم می‌آورد(۳). در بخش میانی جمعیت لنفوسیتی کم بوده و سلول‌های پوششی رتیکولری دور هم جمع شده و تشکیل اجسام تیموسی یا هاسال Thymic or Hassal's corpuscles را می‌دهند، که این اجسام ۲۰ تا ۱۰۰ میکرومتر قطر دارند(۱). شریان‌ها در بافت

*)نویسنده مسؤول: تلفن: ۰۹۱۴۳۴۸۲۴۳۶ نمابر: ۰۴۴۱-۲۷۷۱۹۲۶ Email: r.shahrooze@mail.urmia.ac.ir

همبند کپسول و تیغه‌های همبندی انشعاب یافته و بین نواحی قشری و میانی مویرگ‌های قوسی شکل را در ناحیه قشری ایجاد می‌کنند. این مویرگ‌ها و زواید سلول‌های پوششی رتیکولری سد خونی تیموسی Thymus Barrier-Blood را تشکیل می‌دهند. وریدچه‌های پس مویرگی venules Postcapillary در مدولا مجاور کورتکس نسبت به ماکرومولکول‌ها و لنفوسیت‌ها قابل نفوذ هستند(۲). مطالعه روی تیموس اردک نشان داد که سلول‌های آندوکرینی داخل تیموس در مدولا و ناحیه قشری وجود دارند، که در بلوغ و عمل کرد لنفوسیت‌های T شرکت دارند(۱۲). تماس نزدیک بین سلول‌های پوششی کورتکس و تغییرات در فاکتورهای محلول در محیط تیموس (لنفوکین‌ها و هورمون‌های تیموسی) گسترش، تمایز و بلوغ انواع مختلف لنفوسیت‌های T را تحت تأثیر قرار می‌دهند(۱۸). تمام سلول‌های تیموسی قادرند سیتوکین‌ها را به طور خود به خودی یا پس از تحریک تولید نمایند. این مواد اساساً به وسیله سلول‌های پوششی تیموسی و تیموسیت‌ها آزاد می‌شوند(۲۳). سلول‌های شبیه APUD در تیموس غازها به وسیله میکروسکوپ الکترونی یافت شده‌اند، این سلول‌ها ترشح کننده هورمون‌های پلی پپتیدی هستند(۱۳). از عصاره تیموس گوساله یک خانواده از پلی پپتیدها حاصل می‌شود که تیموزین راکتین ۵ reactin-5 Thymosin(Tr5) نامیده می‌شود. تیموزین موجب بلوغ تیموسیت‌های اولیه و سلول‌های T نارس می‌شود(۱۸). نقص خود به خودی و تجربی ستیغ عصبی در جنین سگ موجب ارگانوژنز غیر طبیعی تیموس می‌شود. تشکیل اولین جسمک‌هاسال در سگ روز ۳۸ تعیین گردید، در حالی که در فتوس انسان در بخش دوم سومین ماه قمری جسمک‌هاسال شروع به تشکیل می‌کند(۵).

مواد و روش‌های کار

در این مطالعه جهت بررسی تغییرات هیستولوژی پوست جنین میش در طی مراحل مختلف رشد جنینی تعداد ۷۵ فتوس از کشتارگاه ارومیه جمع آوری شد. سن جنین‌ها پس از اندازه گیری از ناحیه فرق سر تا کپل یا مقعد Crown- Romp or Anus(C.R) طبق فرمول زیر بدست می‌آید.

(۱۷+Y)۱/۲=سن فتوس میش بر حسب روز(۱)

(Y=طول فتوس بر حسب سانتیمتر)

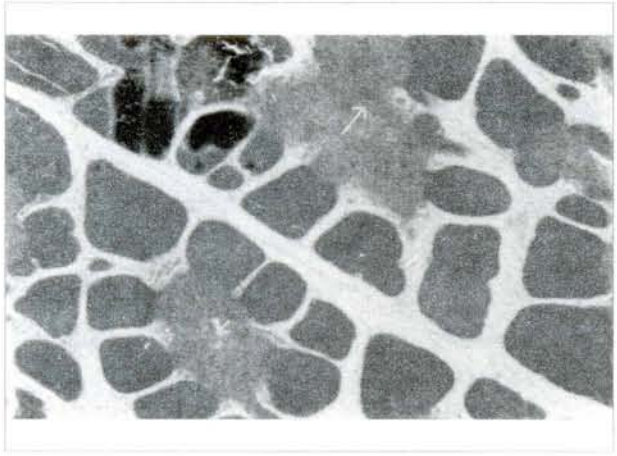
سپس فتوس‌ها براساس سن بدین ترتیب طبقه بندی شدند: تعداد ۱۵ فتوس در ماه دوم، و تعداد ۱۰ فتوس در نیمه اول و تعداد ۱۰ فتوس در نیمه دوم هر کدام از ماه‌های سوم و چهارم و تعداد ۲۰ فتوس در ماه پنجم قرار گرفتند. نمونه‌های بدست آمده را در ظرف حاوی محلول فرمالین ۱۰ درصد نمکی قرار داده و به آزمایشگاه منتقل نموده و نمونه برداری از ناحیه سینه ای و گردنی صورت گرفته و نمونه‌ها به مدت یک هفته در محلول ثبوتی قرار داده شدند. پس از عبور نمونه‌ها از مراحل مختلف پاساژ بافت(شستشو، آبگیری، شفافیت، و آغشتگی)قالب گیری در پارافین و برش بافت، مقاطع بافتی به ضخامت ۵-۷ میکرومتر تهیه شدند. روش‌های رنگ آمیزی بکار رفته عبارتند از هماتوکسیلین-ائوزین hematoxylin-eosin برای مطالعه بافت شناسی عمومی، وان گیسون Van Giessons staining method برای مطالعه رشته‌های کلاژن، ورهاف Verhoeff staining method برای مطالعه رشته‌های الاستیک، که این رشته‌ها به رنگ تیره (سیاه) و رشته‌های کلاژن به رنگ قرمز و عضلات زرد رنگ مشاهده می‌شوند. رنگ آمیزی تولوئیدین بلو toluidine blue برای مطالعه ماست سل‌ها در تیموس، که در این رنگ آمیزی دانه‌های ماست سل‌ها به رنگ بنفش مایل به قرمز مشاهده می‌شود. رنگ آمیزی پاس periodic acid schieff (PAS)، جهت مطالعه رشته‌های رتیکولری مورد استفاده قرار گرفت(۱۰).

نتایج

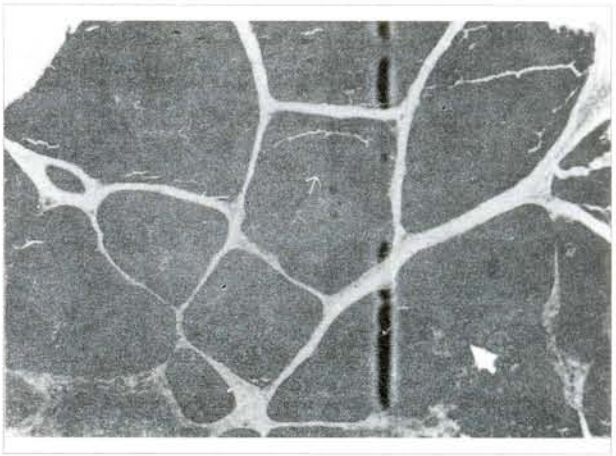
مشاهدات در ماه دوم نشان داد که بافت تیموس در حال تشکیل از نوع مزانشیمی و آمیخته با سلول‌های پوششی رتیکولری می‌باشد. این سلول‌ها با هسته بیضی شکل و یوکروماتیک و سیتوپلاسم ستاره ای شکل با زواید سلولی نامنظم بوده که تا حدودی در میکروسکوپ نوری قابل تشخیص می‌باشند. مقاطعی از عروق خونی در حد مویرگ یا وریدچه نیز در کپسول پیرامون تیموس در حال شکل گیری وجود دارد. سلول‌های کوچکتر در بین سلول‌های پوششی رتیکولری وجود دارند، که به نظر می‌رسد آنها سلول‌های مزانشیمی موجود در این بافت بوده که با هسته کوچک تر و نسبتاً تیره رنگ با سیتوپلاسم نامنظم در پیرامون هسته مشخص می‌شوند. در بعضی نواحی کانون هایی از تجمع لنفوسیتی وجود دارد، که علائمی از تقسیم میتوز نیز در برخی از سولهای موجود در این نواحی مشاهده می‌شود. در مجموع، سلول‌های پوششی رتیکولری و مزانشیمی ایجاد یک داربست مشبک را می‌نمایند، که لنفوسیت‌ها در آن جای گزین شده اند. در کانون‌های تجمع لنفوسیت‌های در حال رشد، هسته سلول‌های لنفوسیتی کوچک و متراکم بوده ولی تمامی سلول‌ها دارای هسته یک اندازه نمی باشند، و قدری بزرگ تر به نظر می‌رسند. کانون‌های تجمع لنفوسیتی به وسیله بافت همبند سست از هم جدا شده اند که به نظر می‌رسد این بافت از جنس استرومای خود عضو می‌باشد، که بدین ترتیب تیغه‌های بین لوبولی مشخص می‌شوند. در حدفاصل چندین کانون تجمع لنفوسیتی یک ناحیه روشن وسیع به عنوان مدولا در حال شکل گیری است(تصویر۲). در بعضی نواحی کانون‌های صورتی رنگ مشاهده می‌شود، و چنین به نظر می‌رسد که در این نواحی سلول‌های پوششی رتیکولری در حال تجمع دور یکدیگر بوده و علائمی از تشکیل جسمک‌های‌هاسال را نشان می‌دهد، ولی در این مرحله اجسام‌هاسال مشخص در بخش مدولا مشاهده نگردید. در بعضی نواحی سلول‌های با هسته پیکنوزه شده و دانه دانه مشاهده می‌شود، که چنین به نظر می‌رسد این سلول‌ها در حال از بین رفتن بوده و این نشان دهنده فعالیت ماکروفاژها در این مرحله از رشد فتوسی می‌باشد. عروق خونی در بیشتر نواحی توسط بافت همبند بین لوبولی در بین کورتکس و مدولا قرار می‌گیرند.

در نیمه اول ماه سوم تیغه‌های همبندی رتیکولری در بین لوبول‌های

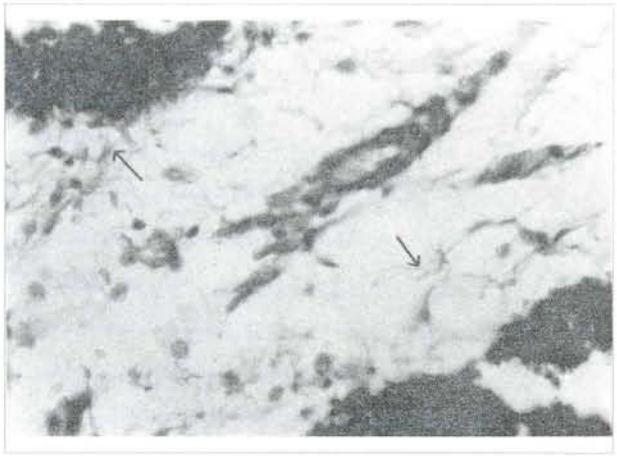
تصویر۱- بخش های سینه ای و گردنی غده تیموس (فلش های بلند و کوتاه)، در فتوس چهار ماهه گوسفند.



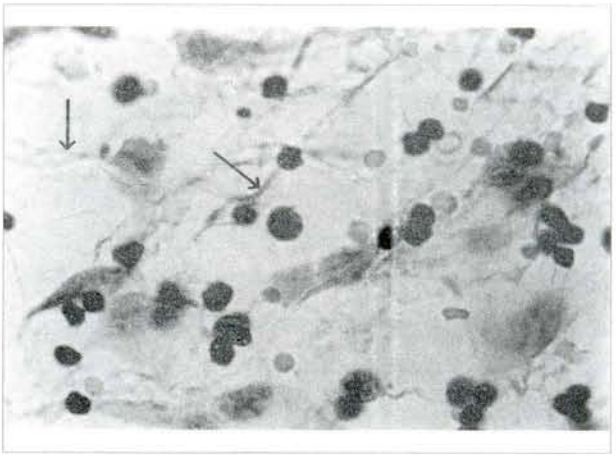
تصویر۲- غده تیموس فتوس در نیمه اول ماه سوم، تیغه‌های بین لوبولی ضخیم (سر فلش) و کورتکس کوچک می باشد، و یک جسمک‌هاسال (فلش کوتاه) در بخش میانی مشاهده می گردد. رنگ آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین درشت نمایی ۱۰۰X.



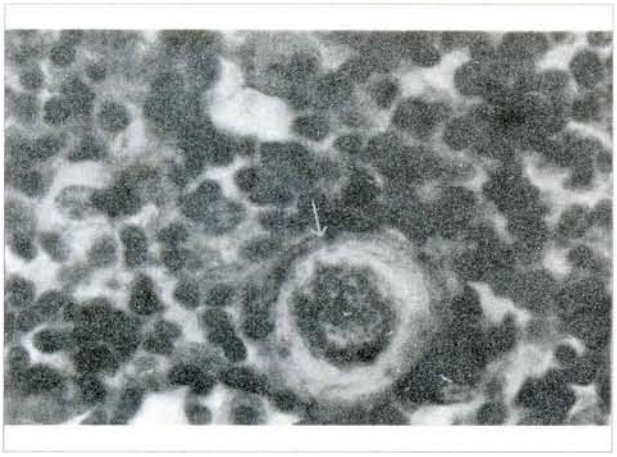
تصویر۳- غده تیموس در نیمه اول ماه چهارم، کورتکس رشد فراوانی کرده (فلش نازک و کوتاه) و بخش میانی را احاطه نموده است و نیز تیغه های بین لوبولی (فلش نازک و بلند) نازک تر گردیده اند. رنگ آمیزی هماتوسیلین - ائوزین، درشت نمایی ۱۰۰X.



تصویر۴- غده تیموس در نیمه دوم ماه سوم، تیغه بین لوبولی محتوی رشته‌های کلاژن نوع یک و نازک به رنگ قرمز روشن (فلش) مشاهده می شوند. رنگ آمیزی وان گیسون، درشت نمایی ۱۰۰۰X.



تصویر۵- غده تیموس در نیمه دوم ماه سوم، تیغه بین لوبولی دارای رشته‌های رتیکولری بسیار ظریف (فلش) می باشد. رنگ آمیزی PAS، درشت نمایی ۱۰۰۰X.



تصویر۶- غده تیموس در نیمه دوم ماه چهارم، جسمک‌هاسال (فلش بلند) و هسته سلول های پوششی رتیکولری (فلش کوتاه) مشاهده می گردد. رنگ آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین، درشت نمایی ۱۰۰۰X.

قشری تا ناحیه میانی کشیده شده و محتوی عروق خونی می‌باشند. اگرچه ضخامت کورتکس در این مرحله قدری افزایش می‌یابد، ولی هنوز لوبول‌ها کوچک هستند، در حالی که بخش میانی وسعت فراوانی را نشان می‌دهد. اجاسام‌هاسال در این مرحله به طور مشخص در ناحیه میانی قابل مشاهده می‌باشند. اجسام تیموسی یاهاسال از حدود ۶۵ تا ۷۰ روزگی ظاهر می‌شوند. در این مرحله تیغه‌های بین لوبولی در عمق بیشتری نفوذ کرده اند، و هنوز وسیع به نظر می‌رسند. تراکم لنفوسیت‌ها در ناحیه سطحی کورتکس زیاد بوده‌طوری که ایجاد لایه بنفش دانه‌ای و یک نواخت را می‌نماید. در نیمه دوم ماه سوم لوبولاسیون کامل تر شده و ضخامت لوبول‌ها بیشتر شده، و تیغه‌های همبندی نازک لوبول‌ها را از هم جدا می‌سازد. در این مرحله کورتکس محتوی لنفوسیت‌های کوچک بوده که ایجاد اجتماع متراکم سلولی می‌نمایند. مدولا نیز افزایش ضخامت پیدا کرده و اجسام‌هاسال بزرگی در ناحیه مدولا مشاهده می‌شوند، که بعضی از آنها محتوی سلول‌های هیالینه شده در وسط می‌باشند، که رنگ صورتی به خود گرفته اند(تصویر ۶). به نظر می‌رسد که با رشد بیشتر تیموس تعداد سلول‌های پوششی رتیکولری نیز افزایش یافته و اجسام‌هاسال نیز از نظر تعداد افزایش می‌یابند و ماکروفاژها با هسته بیضی شکل و سیتوپلاسم محتوی اجرام ریز فاگوسیته شده در عمق کورتکس یا بخش مدولا مشاهده گردیدند. تیغه‌های همبندی بین لوبولی تا ناحیه مدولا کشیده شده اند، و ضخامت آنها در ناحیه کورتکس زیاد و به طرف مدولا کاهش می‌یابد. از نظر هیستولوژی رشد تیموس در ناحیه گردنی بیشتر از ناحیه سینه ای است. در این مرحله از رشد فتوسی نشان داده شد که رشته‌های کلاژن و رتیکولری در تیغه‌های بین لوبولی (تصاویر شماره: ۴ و ۵) و مدولا ظاهر می‌گردند. رشته‌های الاستیک در تیموس مشخص نگردید، ولی در پیرامون عروق خونی به صورت رشته‌های بسیار ظریف و جود داشته اند. در نیمه اول ماه چهارم لوبول‌ها تا حد زیادی بزرگ شده اند، قسمت قشری لوبول‌ها در کنار یکدیگر قرار گرفته و به وسیله تیغه‌های همبندی نازک از هم جدا می‌شوند، ولی بخش میانی بصورت ادامه دار از یک طرف به کورتکس و از طرف دیگر به بافت همبندی تماس پیدا می‌کند. کورتکس رشد یافته، و تیغه‌های بین لوبولی محتوی عروق خونی در قسمت کورتکس کاملاً نازک شده و کورتکس را به طور ناقص تقسیم می‌کنند(تصویر ۳). عروق خونی در مجاورت بخش میانی مشاهده می‌شوند. پیرامون وریدچه‌ها در این ناحیه لنفوسیت‌های فراوانی قرار دارند که احتمالاً از این طریق وارد گردش خون عمومی می‌شوند. اندازه لوبول‌های تیموس در نیمه دوم ماه چهارم به حداکثر رشد خود رسیده و تمام قسمت‌های تیموس را تقریباً پر نموده است. لنفوسیت‌های داخل کورتکس کاملاً کوچک و فشرده به نظر می‌رسند. تیغه‌های همبندی رتیکولری در بین لوبول‌ها نسبت به سایر قسمت‌های رشد یافته تیموس باریک به نظر می‌رسند، و محتوی عروق خونی هستند. در ماه پنجم تغییر قابل بیان نسبت به ماه چهارم در تیموس مشاهده نگردید، ولی تعداد کثیری ماست سل با دانه‌های متاکروماتیک پراکنده در سیتوپلاسم این سلول‌ها در ناحیه مدولا مشاهده گردید.

بحث

مطالعه هیستولوژی تیموس نشان داد که این عضو به طور اولیه در داخل یک بافت مزانشیمی آمیخته با سلول‌های پوششی رتیکولری توسعه می‌یابد. این سلول‌ها با هسته بیضی شکل و یوکروماتیک و زواید سلولی نامنظم مشخص می‌شوند(۷). تیموس به طور مقدماتی در فتوس روز ۱۳ در موش‌های رت به صورت تجمع یکنواخت از سلول‌های پوششی رتیکولری اولیه تشکیل می‌شود، و به تدریج این سلول‌ها به نوع مخصوص کورتکس و مدولا تمایز می‌یابند. در کورتکس سلول‌های پوششی رتیکولری حمایت کننده استروما در روزهای ۱۴ و ۱۵ به صورت دو نوع سلول متفاوت از نظر ساختاری ظاهر می‌شوند. در همان زمان سلول‌های پوششی حمایت کننده، شاخی شده و واکوئول دار در بخش مدولا ظاهر می‌شوند. این سلول‌ها اجسام‌هاسال را به وجود می‌آورند(۲۲). لوبول‌های تیموس به نظر می‌رسد که در همان ابتدا پیرامون بخش میانی به صورت کانون‌های تجمع لنفوسیتی ظاهر می‌شوند. این لنفوسیت‌ها از مغز استخوان منشاء گرفته و تحت حمایت سلول‌های پوششی رتیکولری که سلول‌های داربستی تیموس می‌باشند دچار تقسیمات میتوزی گردیده و بر تعداد آن‌ها افزوده می‌گردد، که مطابق اظهارات Mukamoto و همکاران در سال ۲۰۰۰، می‌باشد(۱۵). براساس اظهارات Sinkoora و همکاران در سال ۲۰۰۰، تیموس فتوس خوک به وسیله دو هجوم متوالی پیش سازهای خونساز در طی دوره فتوسی اشغال می‌شود، و هجوم پیش سازهای تیموسیتی منقطع می‌باشد. لوبول‌ها در ابتدا کوچک بوده و بافت همبندی بین آنها وسعت زیادی دارد(۲۱). چنین به نظر می‌رسد که بخش مدولا شامل داربست پوششی رتیکولری و مزانشیمی از جنس تیغه‌های بین لوبولی بوده که بخش‌های قشری تیموس با جای گزین شدن لنفوسیت‌های غیر متمایز در قسمت‌های حاشیه ای آن توسعه می‌یابند. این نحوه رشد تیموس منجر به پیدایش ساختار بافتی مخصوص به آن می‌گردد، بدین معنی که بخش قشری لوبول‌ها که در کانون‌های مجزا رشد نموده اند به وسیله تیغه‌های بین لوبولی از یک دیگر مجزا شده ولی بخش میانی که از همان ابتدا به طور یک دست و ادامه دار به طور مشترک در بین لوبول‌ها باقی مانده، و بدین ترتیب لوبولاسیون در تیموس ناقص می‌باشد، که این موضوع مطابق با اظهارات Dellman و Eurell در سال ۱۹۹۸، می‌باشد(۷). همچنین در این مطالعه مشخص گردید که در ماه دوم از رشد جنینی تیموس فاقد اجسام‌هاسال بوده و در ماه سوم این اجسام در بخش میانی ظاهر گردیده و تعداد و ضخامت آنها نیز افزایش می‌یابد. اجسام‌هاسال شامل تجمعی از سلول‌های پوششی رتیکولری می‌باشند که تعداد این سلول‌ها با رشد اجسام‌هاسال افزایش می‌یابد، و معمولاً سلول‌هایی که در وسط واقع شده اند دچار دژنراسیون هیالینه می‌گردند، که با نتایج تحقیقات Prakash و Chandra در سال ۱۹۹۹، در فتوس گاومیش مطابقت دارد(۱۷). در خوکچه هندی اجسام‌هاسال به طور اولیه در روزهای ۳۵-۴۵ آبستنی مشاهده شدند. آنها به وسیله لنفوسیت‌های متوسط و بزرگ احاطه شده اند.

به نظر می‌رسد که اجسام‌هاسال محل بلوغ لنفوسیت‌های بخش میانی حداقل در خوکچه هندی می‌باشند(۱۹). مطالعه هیستوژنز تیموس در موش‌ها نشان داد که رشد سلول‌های استرومایی و لنفوسیتی به طور خود به خودی صورت می‌گیرد. در روز ۱۷ از رشد فتوسی، تیموس اولیه محتوی سلول‌های غیر متمایز و لنفوبلاست‌ها بود. در نواحی قشری تجمع لنفوبلاست‌ها باعث شد که سلول‌های پوششی کشیده شده و به شکل ستاره‌ای در آیند(۱۴). تیغه‌های همبندی بین لوبولی از جنس بافت همبند سست بوده که در آن مقاطع عروق خونی فراوان و پلاسماسل‌ها مشاهده می‌شوند(۲). در روز ۱۷ از رشد غده تیموس در موش‌های رت، حالت لوبولاسیون به وسیله بافت همبند منشاء گرفته از کپسول و محتوی عروق خونی مشاهده گردید، و نواحی تکثیر تیموسیت‌ها از روز ۲۱ در کورتکس درست در زیر کپسول همبندی مشاهده شدند(۸). عروق خونی تا عمق تیغه‌ها نفوذ کرده و از این طریق در بین بخش قشری و میانی قرار می‌گیرند. در این ناحیه فقط مویرگ‌های حاصله از شریانچه‌ها به بخش کورتکس ادامه می‌یابند. وریدچه‌های پس مویرگی که در بین ناحیه قشری و میانی مشاهده می‌شوند اغلب دارای آندوتلیوم برجسته ای می‌باشند، و این نشان می‌دهد که احتمالاً از این ناحیه لنفوسیت‌های بالغ وارد سیستم گردش خون می‌شوند(۷). لنفوسیت‌هایی که در قسمت سطحی کورتکس قرار گرفته اند به طور فشرده در کنار هم قرار دارند، طوری که ایجاد زمینه یک نواخت و دانه دانه و بنفش رنگ را می‌نمایند. این لنفوسیت‌ها مستقل از آنتی ژن و تحت حمایت سلول‌های پوششی رتیکولری تقسیمات میتوزی را انجام داده و تعداد بسیار زیادی از این سلول‌ها تولید می‌شوند، که در روند رشد آنها آنتی ژنهای اختصاصی سطحی مربوط به لنفوسیت‌های T ظاهر می‌گردد. حدود ۹۰درصد لنفوسیت‌های در حال تکامل به وسیله ماکروفاژهای موجود در عمق کورتکس که توسط هسته‌های بیضی شکل و یوکروماتیک و نسبتاً کوچکتر از سلول‌های پوششی رتیکولری که در این مطالعه مشخص گردیدند، شناسایی و فاگوسیته می‌شوند(۷). مطالعه بر روی تیموس مرغ نشان داد، که تخلیه تدریجی سلول‌هایی که دچار مرگ برنامه‌دار (Apoptosis) می‌شوند، با مشاهده اولیه ماکروفاژهای تیموسی مطابقت دارد(۲۰). تعداد لنفوسیت‌های بالغ که به بخش میانی می‌رسند حدود ۵ تا ۱۰درصد کل لنفوسیت‌های تولید شده در بخش کورتکس را شامل می‌شود، و این باعث شده جمعیت لنفوسیتی موجود در بخش میانی کاهش یافته، و این قسمت در رنگ آمیزی روشن دیده شود. سلول‌های پوششی رتیکولری که تعداد آنها کمتر از تیموسیت‌ها است در پارانشیم مدولا مشاهده می‌شوند، که این یافته با نتایجی که Parkash وChandra در سال ۱۹۹۹، در فتوس گاومیش بدست آوردند مطابقت دارد(۱۷). مطالعه با رنگ آمیزی‌های اختصاصی نشان داد که رشته‌های کلاژن و رتیکولری در تیغه‌های بین لوبولی ومدولا در اواخر ماه سوم ظاهر می‌گردد. لنفوسیت‌ها، سلول‌های مزانشیمی، سلول‌های پوششی رتیکولری، سلول‌های رتیکولری، فیبروبلاست‌ها و گلبول‌های قرمز در تیغه‌های بین لوبولی مشاهده شدند. کپسول و تیغه‌های همبندی بین لوبولی واکنش مثبت به رنگ آمیزی PAS نشان می‌دهند، و این نشان دهنده حضور رشته‌های رتیکولری در این ناحیه می‌باشد. رشته‌های الاستیک در تیموس مشخص نگردید، و فقط به صورت رشته‌های بسیار ظریف در بعضی نواحی در پیرامون عروق خونی مشاهده شدند، که در فتوس گاومیش نیز این حالت مشاهده شده است(۱۷). وجود ماست سل‌ها در تیموس، تأیید کننده ارتباط این سلول‌ها با تیموس می‌باشد که در مراحل آخر دوره فتوسی تعداد کثیری ماست سل با دانه‌های متاکروماتیک پراکنده در سیتوپلاسم سلول‌های بخش مدولا مشخص شد. این یافته نشان می‌دهد که احتمالاً ماست سلها در دوران فتوسی در مرحله ای از رشد تکاملی خود در تیموس جای گزین می‌شوند، که این یافته با اظهارات Dellman وCarithers در سال ۱۹۹۵، مطابقت دارد(۶). در غده تیموس فتوس سگ اولین ماست سل‌ها در روز ۳۵ آبستنی مشاهده شدند، در بافت همبند بین لوبولی تعداد بیشتری وجود داشتند، تعداد آنها در کورتکس کمتر ولی در مدولا و در پیرامون اجسام‌هاسال کمی بیشتر بود(۵).

References

1. Arthur, G. H., Noakes, D. E., Pearson, H. (1989) Veterinary Reproduction and Obstetrics. (6th ed.), Baillier. Tindal. London.UK. pp. 117.
2. Banks, W. J. (1992) Aplied Veterinary Histology, (3rd ed.), Mosby Year Book, St. Louis, London,UK. pp. 289-292.
3. Bodey, B., Bodey, B. Jr., Siegel, S. E., Kaiser, H. E. (2000) The role of the reticulo-epithelial (RE) cell network in the immuno-neuroendocrine regulation of intrathymic lymphopoiesis. Anticancer Res. 20:1871-88.
4. Bodey, B., Calvo, W., Prummer, O., Fliedner, T. M., Borysenko, M. (1987) Development and histogenesis of the thymus in dog. A light and electron microscopical study. Dev Comp Immunol. 11:227-238.
5. Bodey, B., Kaiser, H. E. (1997) Development of Hassall's bodies of the thymus in humans and other vertebrates (especially mammals) under physiological and pathological conditions: immunocytochemical, electronmicroscopic and in vitro observations. In Vivo. 11:61-85.
6. Dellmann, H. D., Carithers, J. R. (1995) Cytology and Microscopic Anatomy. Williams and Wilkins, Baltimore. USA. pp. 202.
7. Dellmann, H. D., Eurell, J. A. (1998) Textbook of Veterinary Histology, (5th ed.), Williams and Wilkins, Baltimore. USA. pp. 128-147.

8. Duijvestijn, A. M., Sminia, T., Kohler, Y.G., Janse, E. M, Hoefsmit, E. C. (1984) Ontogeny of the rat thymus micro-environment: development of the interdigitating cell and macrophage populations. Dev Comp Immunol. 8:451-60.
9. Gerchent, H. (1979) Animal tissue techniques, (4th ed.), W.H. Freeman and company Sanfrancisco. pp. 137-138.
10. Getty, R. (1975) Sisson and Grossman's The Anatomy of the Domestic Animals, (5th ed.) Vol 1. W. B. Saunders Company, Philadelphia. USA. pp. 181, 1064.
11. Hlansy, J., Pindak. J., Schwub, J. (1997) Thymus development in calves kept under normal feeding regimen. Stocarstov. 51: 15-21.
12. Kim, J. M., Lee, J. H., Ku Sae, K., Lee Hyeung, S. (1998) Immunohistochemical study on the endocrine cells of the thymus of the duck. Anas Platyrhynchos, Korean J. Vet. Res. 38: 246-257.
13. Li Yu, G., Xin Cho, A., Li chu, X., Chen Yuan, Y., Liu Jin, Q. (1999) Ultrastructure of the APUD- like cells in the thymus of goose. Chinese J. Vet. Sci., 19: 178-180.
14. Moraux, M. A., Scheiff, J. M., Haumont, S. (1989) Thymus histogenesis in C3H mice. Thymus. 12:89-109.
15. Mukamoto, M., Kodama, H.(2000) Regulation of early chicken thymocyte proliferation by transforming growth factor - β from thymic stromal cells and thymocytes. Vet. Immunol. Immunopathol. 77: 121-132.
16. Nickel, R., Schummer, A., Seiferle, E. (1981) Anatomy of the Domestic Animals. Vol. 3. Verlag Paul Parey, Berlin. Germany. pp. 283-292.
17. Prakash, A., Chandra, G. (1999) Histomorphological observations on the medulla of the prenatal thymus of buffalo (*Bubalus bubalis*). Indian J. Vet. Anatomy., 11: 19-23.
18. Ruckbusch, Y., Phaneuf, L. P., Dunlop, R. (1991) Phisiology of Small and Large Animals. B. C. Decker. Inc, Phialdelphia. USA. pp.548-552.
19. Senelar, R., Escola, M. J., Escola, R., Serrou, B., Serre, A. (1976) Relationship between Hassall's corpuscles and thymocytes fate in guinea-pig foetus. Biomedicine. 24:112-22.
20. Sevcikova, Z., Nagyova, P., Ojeda, F., Skardova, I., Levkut, M. (2000) Medular thymus structure and density in the chicken after experimental gamma irradiation. Acta Vet. Borno. 69: 139-142.
21. Sinkora, M., Sinkora, J., Rehakova, Z., Bulter, J. E. (2000) Early ontogeny of thmucytes in pigs: Sequential colonization of the thymus by T cell progenitors. J. Immunol. 165: 1832-1839.
22. Vicente, A., Varas, A., Sacedon, R., Zapata, A. G. (1996) Histogenesis of the epithelial component of rat thymus: an ultrastructural and immunohistological analysis. Anat. Rec. 244:506-19.
23. Yarilin, A. A., Belyakov, I. M. (2004) Cytokines in the Thymus: Production and biological effects. Current Medicinal Chemistry. Vol 11. pp. 447-464.

J.Vet.Res. 63, 4:209-214, 2008

HISTOLOGICAL STUDY OF THYMUS IN MAQUEE SHEEP FETUS

Shahrooz, R.[1]*, Hasanzadeh, S.[1], Aminkahriz, M.[2]

[1] *Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Urmia, Urmia-Iran.*

[2] *Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine, University of Urmia, Urmia-Iran.*

(Received 7 March 2007 , Accepted 22 September 2008)

Abstract:

For developmental study of thymus in different stages of fetal period, from thymus glands of 75 healthy fetuses. histological sections were prepared and stained by H&E, PAS, Verhoeff, Toluidine blue and Van Geisson's methods. This study revealed that, the infiltration and accumulation of lymphocytes in thymus takes place at second month. Medullae were expanded and cortices were seen as accumulation of lymphocytes around them at first half of third month. There were progression in the thymus lobulation and the thicknesses of lobules was increased at second half of the third month. At the fourth month of development, the sizes of thymic lobules were reached to their maximum diameter, but the trabeculae became very thin. In overall, it seems that the most critical period of thymus development in sheep fetus was second half of second month till the end of third month.

Key words: sheep fetus, thymus gland, histogenesis.

***Corresponding author's email: r.shahrooze@mail.urmia.ac.ir, Tel: 09143482436, Fax: 0441-2771926**