

## بررسی استریولوژیک کبد در مراحل نخستین دیابت شیرین در موش صحرائی

### چکیده

دکتر علی نورافشان\*،  
بنفشه اسماعیل زاده\*\*،  
دکتر صغری بهمن پور\*،  
اقدس پوست پسند\*\*\*،  
\*دانشیار گروه علوم تشریحی،  
\*\*کارشناس ارشد  
علوم تشریحی،  
\*\*\*مری گروه علوم تشریحی،  
دانشگاه علوم پزشکی شیراز

نویسنده مسوول:  
دکتر علی نورافشان  
شیراز، دانشکده پزشکی،  
بخش علوم تشریحی  
تلفن: ۰۷۱۱-۲۳۰۴۳۷۲  
E-mail:  
noora@sums.ac.ir

**مقدمه:** بیشتر بررسی های انجام شده در باره ی اثر بیماری قند بر کبد بر جنبه های فیزیولوژی و بیوشیمیایی آن متمرکز بوده و در بررسی های کم شماری که انجام گرفته، به تغییرات ساختار کبد در طی بیماری قند، کمتر توجه شده است. هدف این پژوهش، ارزیابی تغییرات ریخت شناسی کبد، مانند حجم کبد، میانگین حجم بر پایه ی حجم یاخته های کبدی و هسته های آنها و نیز حجم سینوزوئیدهای کبد در موش های صحرائی دیابتی شده به وسیله ی استریوتوزوتوسین به روش های استریولوژیک بوده است. **روش کار:** برای انجام این امر، موش های صحرائی نر به وسیله ی استریوتوزوتوسین دیابتی شده و کبد آنها در هفته های چهارم، هشتم و دوازدهم بررسی شد. وزن و حجم کبد اندازه گیری گردیده و میانگین حجمی یاخته های کبدی و میانگین حجم هسته ی این یاخته ها بر پایه ی روش "Volume-Weighted Mean Volume Point Counting" برآورد شد. نسبت حجمی و حجم سینوزوئیدهای کبدی به روش شمارش نقطه ای ANOVA استفاده شد. محاسبه گشت و برای واکاوی داده ها، از آزمون ANOVA استفاده شد. **یافته ها:** یافته ها نشان داد که حجم و وزن کبد و میانگین حجمی یاخته های کبدی در هفته های چهارم و هشتم پس از القای دیابت کاهش یافته و میانگین حجم هسته ی یاخته های کبد در هفته های چهارم، هشتم و دوازدهم در حیوانات دیابتی کاهش یافت. حجم مطلق سینوزوئیدهای کبدی، به گونه ای معنی دار در هفته ی چهارم کاهش یافته و پس از آن تغییر نکرد. **نتیجه:** از این بررسی می توان نتیجه گرفت که دیابت شیرین، حجم کبد، ریخت شناسی یاخته ها، هسته ها و سینوزوئیدها را در مراحل نخستین دیابت شیرین در موش صحرائی تغییر می دهد.

## بررسی استریولوژیک کبد در مراحل نخستین دیابت شیرین در موش صحرایی

**کلید واژه‌ها:** استریولوژی، دیابت شیرین، کبد، موش صحرایی

### مقدمه

در مدت نگهداری ثابت نگاه داشته شد. دیابت شیرین، با تزریق ۶۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن از داروی استریپتوزوتوسین (Streptozotocin) [۲] به ۳۶ موش صحرایی ایجاد گشت. ۳۶ موش صحرایی دیگر نیز به عنوان گروه شاهد مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه ی خون از سیاهرگ دمی، پیش از ایجاد بیماری قند خون و نیز، دو روز و دو هفته ی پس از آن گرفته و وضعیت قند خون در آنها بررسی شد. قند خون دو هفته پس از ایجاد دیابت، یعنی زمان تثبیت قند خون در گروه موش‌های دیابتی، بیشتر از ۳۵۰ میلی گرم در دسی لیتر [۵] و در موش‌های شاهد، ۷۵ تا ۱۲۸ میلی گرم در دسی لیتر بود.

### آماده سازی بافت

موش های صحرایی گروه شاهد و آزمایش، هر یک، به سه گروه ۱۲ تایی بخش شدند و گروه نخست، دوم و سوم، به ترتیب، در هفته‌های چهارم، هشتم و دوازدهم پس از تزریق استریپتوزوتوسین بیهوش شده و قفسه ی سینه آنها باز شده و از راه بطن چپ، ۵۰۰ میلی لیتر محلول بافر شده ی فرمالدئید (چهار در صد) در مدت ده دقیقه و با فشار ۱۲۰ میلی متر جیوه، به دستگاه گردش خون جاندار وارد شد. برای خروج خون و محلول، دهلیز راست نیز، باز گردید. پس از ثبوت کامل بافت‌ها، کبد آنها بیرون آورده شده و پس از وزن کردن و تعیین حجم به روش شناورسازی

دیابت شیرین بر جنبه‌های کارکردی کبد از دیدگاه فیزیولوژی و بیوشیمیایی اثر گذار است، اما به تغییرات ساختاری کبد در این بیماری کمتر توجه شده است. گزارش‌های آسیب شناختی نیز بر مراحل مزمن بیماری قند، مانند گلیکوژنز، کبد چرب و سیروز میکروندولار متمرکز هستند [۴-۱]، اما به تغییرات ساختاری در آغاز بیماری کمتر توجه داشته‌اند. هدف این بررسی، مشخص کردن حجم کبد، میانگین حجم بر پایه ی حجم یاخته (یعنی نمونه برداری و اندازه‌گیری ذرات مورد نظر بر پایه ی حجم ذرات)، یاخته های کبد و هسته‌های آنها در سه ناحیه ی بافت شناسی کبد [۳] یعنی، ناحیه ی (Z1) Periportal، ناحیه ی بینابینی (Z2) Interstitial و ناحیه ی اطراف وریدی (Z3) Perivenous و در پایان، محاسبه ی حجم مطلق سینوزوئیدهای کبد در مراحل نخستین بیماری قند با روش‌های استریولوژیک بود.

### مواد و روش

شمار هفتاد و دو قطعه موش صحرایی نر (Sprague – Dawley) با دامنه ی وزنی ۲۲۰ تا ۲۸۰ گرم، به طور تصادفی انتخاب شده و دمای محیط و چرخه ی روشنایی و تاریکی محیط آنها

علی خورافشان، جنفشه اسماعیل زاده، صغری بهمن پور، اقدس پوست پسند

برای انجام محاسبات به کار رفت. نواحی میکروسکوپی با حرکت صفحه ی نگاه دارنده ی لام میکروسکوپ در جهت های X و Y، با کمک مقیاس های درج شده در لبه های صفحه ی میکروسکوپ انتخاب شده و محاسبات با انتخاب ذرات به وسیله ی یک سیستم آزمون نقطه - خط (Point - line Test System) انجام شد [۸،۷].

طول هر قطاع (Intercept) یا " $l_0$ " در مقیاس بافتی محاسبه و حجم با کمک فرمول:  
$$V_v = \frac{\pi}{3} \bar{l}_0^3$$
 به دست آمد [۸-۱۰].

برای محاسبه ی نسبت حجمی ( $V_v$ ) سینوزویدهای کبدي روش شمارش نقطه ای (Point Counting) به کار رفت و یک سیستم آزمون نقطه ای بر روی بافت قرار گرفته و نسبت نقاطی که بر روی سینوزوئید قرار می گیرد [P(sin)] به کل نقاط واقع بر بافت [P(ref)] محاسبه و در پایان با کمک فرمول:  
$$V_v = P(\sin) / P(\text{ref})$$
 نسبت حجمی برآورد شد. حجم مطلق سینوزویدها با ضرب کردن نسبت حجمی در حجم کل کبد به دست آمد تا از خطای "Reference Trap" جلوگیری شود [۷-۱۰].

### واکاوی آماری

برای مقایسه ی متغیرها در گروه های گوناگون، از آزمون ANOVA و نیز آزمون Student t-Test در سطح معنی دار  $\alpha = 0.05$  بهره جویی

(Immersion)، کبد در محلول فرمالدئید بافر شده گذاشته شد. پس از یک هفته، کبدها به صورت نوارهای باریک برش زده شده و به روش نمونه برداری تصادفی منظم (Systematic Random Sampling)، پنج قطعه از هر کبد برداشته شد. برش های یاد شده، که برای محاسبه ی حجم بر پایه ی حجم ذرات ضروری است، به روش Orientator به دست آمد [۶-۱۰]. به طور خلاصه، هر قطعه، در آغاز بر روی مرکز دایره ای، که به ۳۶ قسمت برابر تقسیم شده بود، گذاشته شد و پس از انتخاب تصادفی یک عدد، از صفر تا سی و شش در راستای این قطر برش زده شد. سطح برش خورده در مرکز دایره ی دوم که به ۹۷ قسمت نابرابر و بر پایه ی سینوس زاویه ها بخش شده بود قرار گرفت، با انتخاب عددی جدید میان صفر تا نود و هفت، سطح تازه ای در هر قطعه بریده شد. قطعه ها برپایه ی سطح جدید که به دست آمده بود، در پارافین گذاشته شده و قالب گیری گشت و به روش Feulgen PAS [۱۱] رنگ آمیزی شد. در بررسی استریولوژیک، آشکاری مرز هر ذره ضروری است و این روش رنگ آمیزی می تواند بی نیاز از روش های گران قیمت ایمونوهیستوشیمی، دیواره ی سلول و هسته ی یاخته های کبدي و سینوزوئیدها را نمایان سازد.

### اندازه گیری های ریخت شناسی

یک میکروسکوپ نوری از نوع Projecting (Visupan, Austria) در بزرگنمایی ۱۲۵۰

( $p < 0/001$ ) و هشتم ( $p < 0/02$ ) تفاوت معنی دار بود (جدول ۱). میانگین حجم کبد در موش های صحرایی دیابتی به ترتیب ۱۵، ۱۳ و ۶ درصد در هفته های چهارم، هشتم و دوازدهم کاهش یافت، که در هفته های چهارم ( $p < 0/001$ ) و هشتم ( $p < 0/07$ ) تفاوت معنی دار بود (جدول ۱). چهار هفته پس از القای دیابت میانگین حجم یاخته های کبدی تقریباً ۳۰ درصد، در ناحیه ی Z1 ( $p < 0/001$ )، ۳۱ درصد، در ناحیه ی Z2 ( $p < 0/001$ ) و ۲۴ درصد ی در ناحیه ی Z3 ( $p < 0/002$ ) در موش های صحرایی دیابتی کاهش یافت، که این اختلاف در هر سه ناحیه معنی دار بود (جدول ۲). میانگین حجم یاخته های کبدی ۱۴، ۱۹ و ۲۴ درصد، به ترتیب در نواحی Z1، Z2،

گردید. مقدار p گزارش شده مربوط به Student t-Test است.

### یافته ها

در پایان آزمایش، همه ی حیوانات دیابتی، دچار کاهش وزن شده بودند. میانگین کاهش، به ترتیب تقریباً ۵، ۴ و ۱۴ درصد در هفته های چهارم، هشتم و دوازدهم بود، که به صورت معنی دار، در هفته های چهارم و دوازدهم ( $p < 0/001$ ) با گروه شاهد متفاوت بود (جدول ۱). میانگین وزن کبد در موش های صحرایی دیابتی، به ترتیب ۱۵، ۱۲ و ۷ درصد در هفته های چهارم، هشتم و دوازدهم کاهش نشان داد، که در هفته های چهارم

جدول ۱: میانگین وزن بدن (گرم)، وزن کبد (گرم)، حجم کبد (میلی لیتر)، حجم مطلق سینوزوئیدهای کبد (میلی لیتر) و انحراف معیار آنها در موش های صحرایی شاهد و دیابتی

| گروه های مورد بررسی                   | شمار | وزن بدن      | وزن کبد    | حجم کبد    | حجم مطلق سینوزوئیدها |
|---------------------------------------|------|--------------|------------|------------|----------------------|
| گروه شاهد                             | ۱۲   | ۲۵۵/۷۵±۴۱/۶  | ۹/۷۵±۰/۲۵  | ۹/۰۳±۰/۲۱  | ۲/۱۱±۰/۲۹            |
| گروه دیابتی: ۴ هفته پس از دیابتی شدن  | ۱۲   | ۲۱۵/۵۰±۳۷/۲* | ۸/۳۰±۰/۲*  | ۷/۷۰±۰/۱۹* | ۱/۸۱±۰/۱۷*           |
| گروه شاهد                             | ۱۲   | ۲۸۹/۲۵±۵۵/۳  | ۱۰/۶۶±۰/۵۳ | ۹/۶۹±۰/۳۰  | ۲/۰۵±۰/۴۲            |
| گروه دیابتی: ۸ هفته پس از دیابتی شدن  | ۱۲   | ۲۷۶/۸۳±۷۸/۷  | ۹/۴۲±۰/۳۸‡ | ۸/۴۲±۰/۳۹† | ۱/۸۱±۰/۴۴            |
| گروه شاهد                             | ۱۲   | ۳۳۸/۷۵±۳۴/۷  | ۱۱/۲۸±۰/۶۴ | ۱۰/۱۴±۰/۵۲ | ۲/۰۹±۰/۳۹            |
| گروه دیابتی: ۱۲ هفته پس از دیابتی شدن | ۱۲   | ۲۸۸/۶۶±۵۱/۹* | ۱۰/۵۱±۰/۴۷ | ۹/۵۰±۰/۴۳  | ۲/۳۵±۰/۶۷            |

\*:  $p < 0/001$  ‡:  $p < 0/02$  †:  $p = 0/007$

جدول ۲: میانگین حجم بر پایه ی حجم (میکرومتر مکعب) وانحراف معیار یاخته‌های کبدی در سه ناحیه ی بافتی (Z1, Z2, Z3) در موش‌های صحرایی شاهد و دیابتی

| حجم یاخته های کبدی در ناحیه ی Z3 | حجم یاخته های کبدی در ناحیه ی Z2 | حجم یاخته های کبدی در ناحیه ی Z1 | گروه‌های مورد بررسی                   |
|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------------|
| ۲۵۰۱/۶۵±۱۳۴/۳۲                   | ۴۰۷۴/۲۶±۱۵۸/۱۲                   | ۵۷۳۱/۶۸±۲۴۳/۳۱                   | گروه شاهد                             |
| ۱۹۰۰/۶۲±۱۰۲/۹۹*                  | ۲۷۹۶/۹۸±۱۲۸/۰۷ <sup>§</sup>      | ۳۹۷۷/۶۰±۱۳۰/۶۶ <sup>§</sup>      | گروه دیابتی: ۴ هفته پس از دیابتی شدن  |
| ۳۳۶۳/۲۶±۲۶۲/۹۳                   | ۴۳۶۲/۵۲±۲۹۴/۸۷                   | ۵۶۷۷/۲۵±۵۵۸/۲۹                   | گروه شاهد                             |
| ۲۵۷۳/۳۵±۸۶/۸۹ <sup>□</sup>       | ۳۵۴۵/۵۱±۱۷۱/۵۱ <sup>Δ</sup>      | ۴۸۸۰/۷۲±۲۱۲/۵۴                   | گروه دیابتی: ۸ هفته پس از دیابتی شدن  |
| ۲۶۶۶/۶۰±۵۷۶/۷۴                   | ۴۰۱۲/۹۵±۱۲۲/۳۸                   | ۶۱۴۲/۸۴±۲۱۵/۶۴                   | گروه شاهد                             |
| ۲۷۱۰/۳۷±۲۸۰/۹۱                   | ۳۸۰۳/۶۷±۸۲/۵۶                    | ۵۳۱۱/۳۴±۱۸۸/۱۹ <sup>+</sup>      | گروه دیابتی: ۱۲ هفته پس از دیابتی شدن |

\$:  $p < 0/001$

□:  $p < 0/01$

\*:  $p < 0/002$

+:  $p < 0/008$

Δ:  $p < 0/02$

هشت هفته پس از القای دیابت کاهش یافت (جدول ۳). میانگین حجم هسته ی یاخته ها به گونه ای معنی دار، به ترتیب، ۱۸، ۱۵ و ۱۳ درصد در نواحی Z1 ( $p < 0/001$ ), Z2 ( $p < 0/02$ ) و Z3 ( $p < 0/04$ ) پس از ۱۲ هفته کاهش یافت (جدول ۳). حجم مطلق سینوزویدهای کبد به گونه ای معنی دار ( $p < 0/001$ ), تنها در هفته ی چهارم پس از آغاز دیابت کاهش یافت.

### بحث

بررسی کنونی، با استفاده از روش های استریولوژی، نشان می دهد که حجم و وزن کبد و حجم نسبی و مطلق سینوزویدها و میانگین حجم بر پایه ی حجم یاخته های کبد و هسته‌های آنها

و Z3 در هفته ی هشتم پس از القای دیابت کاهش یافت و این اختلاف، در نواحی Z2 ( $p < 0/02$ ) و Z3 ( $p < 0/01$ ) معنی دار بود (جدول ۲). میانگین حجم یاخته های کبد در هفته ی دوازدهم پس از القای دیابت، ۱۴ و ۵ درصد در نواحی Z1 و Z2 کاهش و دو درصد، در Z3 افزایش یافت، که این اندازه ها تنها در ناحیه ی Z1 معنی دار بود ( $p < 0/008$ ) (جدول ۲). میانگین حجم هسته ی یاخته ها ۹، ۱۸ و ۲۰ درصد در نواحی Z1, Z2 و Z3، چهار هفته پس از دیابت کاهش یافت و این تغییرات در نواحی Z2 ( $p < 0/04$ ) و Z3 ( $p < 0/02$ ) معنی دار بود (جدول ۳). میانگین حجم هسته‌های یاخته های کبد به گونه ای معنی دار ( $p < 0/001$ ) در هر سه ناحیه ی کبدی

### بررسی استرپتوزویک کبد در مراحل نخستین دیابت شکرین در موش صحرایی

جدول ۳: میانگین حجم بر پایه ی حجم (میکرومتر مکعب) و انحراف معیار هسته ی یاخته های کبدی در سه ناحیه ی بافتی (Z1, Z2, Z3) موش های صحرایی شاهد و دیابتی

| گروه های مورد بررسی                   | حجم هسته ی یاخته های کبدی در ناحیه Z1 | حجم هسته ی یاخته های کبدی در ناحیه Z2 | حجم هسته ی یاخته های کبدی در ناحیه Z3 |
|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| گروه شاهد                             | 238/94 ± 12/14                        | 203/78 ± 15/66                        | 143/64 ± 3/63                         |
| گروه دیابتی: 4 هفته پس از دیابتی شدن  | 216/85 ± 25/49                        | 166/57 ± 6/59 <sup>\$</sup>           | 115/89 ± 9/6*                         |
| گروه شاهد                             | 249/00 ± 9/68                         | 209/08 ± 9/42                         | 181/24 ± 7/89                         |
| گروه دیابتی: 8 هفته پس از دیابتی شدن  | 191/8 ± 9/6 <sup>Δ</sup>              | 162/57 ± 5/76 <sup>Δ</sup>            | 140/10 ± 4/7 <sup>Δ</sup>             |
| گروه شاهد                             | 254 ± 9/16                            | 212/74 ± 12/41                        | 156/81 ± 8/09                         |
| گروه دیابتی: 12 هفته پس از دیابتی شدن | 209/8 ± 7/25 <sup>Δ</sup>             | 181/21 ± 5/19*                        | 136/54 ± 4/86 <sup>\$</sup>           |

\$: p < 0/04

\*: p < 0/02

Δ: p < 0/001

مزمین دیابت دیده می شود، احتمالاً" به دلیل ته نشست گلیکوژن یا متامورفوز چربی است [1]. میانگین حجم بر پایه ی حجم یاخته های کبدی به روش Point-Sampled Intercept در نواحی گوناگون آسینوس های کبد انجام شد. واحد کارکرد کبد یا لوبول داسی شکل به سه ناحیه بخش می شود (نواحی Z1, Z2, و Z3)، که اساس آن برای جریان خون از سیاهرگ پورتال (Portal) به سوی سیاهرگ مرکز لوبولی است. بیشترین کاهش حجم در هفته ی چهارم و در هر سه ناحیه دیده می شود و در هفته ی دوازدهم، تنها یاخته های Z1 تغییرات معنی دار نشان می دهند. در یاخته های Z1، ساخت گلیکوژن و تجزیه ی آن رخ می دهد. این ناحیه نیز، جای سوخت و ساز پروتئین و تشکیل پروتئین های

در هفته های چهارم، هشتم و دوازدهم در موش های صحرایی دیابتی شده به وسیله ی استرپتوزویسین تغییر می کند. بررسی های Carnovale و همکاران [12] نشان داد که استرپتوزوتوسین اثر موقتی بر کارکرد دستگاه کبدی - صفراوی دارد، که در روز پانزدهم پس از آزمایش ناپدید می شود. بنابراین، انتخاب استرپتوزوتوسین برای القای دیابت راه مناسب بررسی اثر دیابت است [12]. بررسی کنونی نشان می دهد که، کاهش معنی دار حجم و وزن کبد در پایان هفته ی چهارم و هشتم پس از دیابت دیده می شود و این امر ممکن است به دلیل کاهش اندازه ی گلیکوژن یا ساخت کلسترول کبدی در یاخته های کبدی در مراحل حاد دیابت باشد [13-15]. افزایش وزن و حجم کبد که در مراحل

برای نگهداشت حالت طبیعی شبکه ی اندوپلاسمی خشن در ساخت پروتئین ترشحی ضروری است. در جانوران که سطح انسولین در آنها ناچیز است، شبکه ی اندوپلاسمی خشن کم شده و تکثیر شبکه اندوپلاسمی صاف انجام می گیرد و از اندازه اتصال اسیدهای آمینه به زنجیره پروتئینی کاسته می شود. از این مطلب می توان چنین نتیجه گرفت که بیماران مبتلا به دیابت شیرین، در پروتئین سازی نارسایی دارند و کاهش حجم هسته، به دلیل سطح پایین انسولین و در پی آن، کاهش فعالیت سوخت و سازی هسته است.

نشان داده شده است که، در مراحل مزمن دیابت، به دلیل ته نشست ذرات درون هسته ای، سطح مقطع هسته افزایش می یابد [۲]. متغیر دیگر مورد بررسی، حجم سینوزوییدها بوده، که در هفته ی چهارم کاهش یافته است. شاید دلیل این امر آن باشد که سینوزوییدها مجاورتی نزدیک با یاخته های پارانشیم کبد دارند و با کاهش حجم یاخته ها، سینوزویید نیز، کوچک تر می گردد. در پایان، می توان نتیجه گرفت که، دیابت شیرین در مراحل آغازین می تواند تغییرات ساختاری در کبد ایجاد کند.

### نتیجه گیری

دیابت شیرین، حجم کبد، ریخت شناسی یاخته ها، هسته ها و سینوزویید های کبد را در مراحل نخستین دیابت در موش صحرایی تغییر می دهد.

پلاسماست. فعالیت یاخته های ناحیه ی Z3 ذخیره ی گلیکوژن و تشکیل رنگدانه ها و چربی است. یاخته های ناحیه ی Z2 در کارکرد این دو ناحیه شریک می شوند. بنابراین، بیشترین اثر در یاخته های ناحیه Z1 دیده می شود، که نقشی مهمتر در ساخت گلیکوژن دارد. در پایان آزمایش، یاخته های Z2 و Z3 نسبت به گروه شاهد تغییری چشمگیر نداشتند، که احتمالاً این امر به دلیل ته نشست گلیکوژن یا تمامورفوز چربی است، که در مراحل مزمن رخ می دهد [۱۷-۱۴]. متغیر دیگر مورد بررسی، حجم هسته ی یاخته های کبدی بود. ممکن است تغییرات در هسته های یاخته ها به این علت باشد که، هسته ها مسوول اصلی ساخت RNA و پروتئین سازهای بعدی هستند. بیان شده است که در یاخته های غیر میتوزی، حجم هسته با اندازه ی DNA و سطح فعالیت آنها مربوط است [۱۰، ۱۸، ۱۹]. حتی، در یاخته هایی که میتوز یک رخداد طبیعی است (مانند یاخته های کبدی موش صحرایی)، تغییرات در حجم هسته بدون تغییر در Ploidy، با تغییر در ساخت پروتئین و فعالیت هسته مربوط است. بنابراین، ممکن است تغییر در ساخت پروتئین، به تغییرات در فعالیت سوخت و سازی منجر گردد [۱۸، ۱۹]. بنابراین، ممکن است تغییر در حجم هسته به دلیل کاهش فعالیت سوخت و سازی در این یاخته ها و هسته های آنها باشد زیرا، میزان کافی انسولین و گلوکاگون برای ساخت پروتئین کبدی ضروری است. مناسب بودن سطح انسولین

دانشکده پزشکی شیراز، که با تصویب طرح  
۷۹-۱۱۲۹ امکان اجرای این بررسی را  
فراهم آورده اند، سپاسگزاری می کنند.

سپاسگزاری

نویسندگان از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه  
علوم پزشکی شیراز و معاونت پژوهشی

## A Stereological Study on the Liver in the Early Stages of Streptozotocin-Induced Diabetes Mellitus in Rats

**Background:** Diabetes mellitus is associated with an increased risk of certain complications including those involving the liver. However, most studies have focused on the biochemical, physiological and qualitative pathologic alterations of the liver in diabetes and the quantitative aspects of liver structure has received less attention. The aim of this study was to evaluate the quantitative changes in liver volume, volume-weighted mean volume of hepatocytes and their nuclei, and proportional and absolute volumes of liver sinusoids in streptozotocin-induced diabetic rats, using stereological methods. **Materials and Methods:** Streptozotocin was injected to male rats and their livers were removed after 4, 8 and 12 weeks. Liver volume and weight were measured and uniform isotropic random sections of the liver were obtained using the orientator method and stained with Feulgen periodic acid schiff. Microscopic fields were chosen and volume-weighted mean volume of the hepatocytes and their nuclei were estimated using the point-sampled intercepts method in three histological zones of the liver acini. Proportional and absolute volumes of liver sinusoids were measured using point counting. **Results:** The results showed that liver volume and weight and mean volume of the hepatocytes were mainly decreased 4 and 8 weeks after diabetes induction. The mean volume of hepatocytes nuclei decreased at 4, 8 and 12 weeks in diabetic rats. The absolute volume of liver sinusoids decreased 4 weeks after diabetes induction but no significant differences were noted after 8 and 12 weeks. **Conclusion:** From this study it can be concluded that induced diabetes mellitus in rats can alter liver volume, morphology of hepatocytes and their nuclei and sinusoids in the early stages of the disease.

A. Noorafshan, Ph.D. \*,  
B. Esmaili-Zadeh,  
M.Sc. \*\*,  
S. Bahmanpoor,  
Ph.D. \*,  
A. Poostpasand,  
M.Sc. \*\*\*,  
\*Associate Professor of  
Anatomy,  
\*\*M.Sc. of Anatomy,  
\*\*\*Instructor of  
Anatomy, Shiraz  
University of Medical  
Sciences, Shiraz, Iran

**Correspondence:**  
A. Noorafshan  
Department of  
Anatomy, School of  
Medicine, Shiraz, Iran  
Tel: +98-711-2304372  
**E-mail:**  
noora@sums.ac.ir



**Keywords:** Stereology, Diabetes mellitus, Liver, Rat

منابع

- [1]De Maria N, Coantoni A, Van Thiel DH: The liver and endocrine function. In: Kenneth L, eds. *Principles and practice of endocrinology and metabolism*. 3<sup>rd</sup> ed. Philadelphia, USA: Lippincott Williams and Wilkins, 2001;1870-85.
- [2]Doi K, Yamanouchi J, Kume E, et al.: Morphologic changes in hepatocyte nuclei of streptozotocin (SZ) induced diabetic mice. *Exp Toxicol Pathol* 1997;49(3-4):295-9.
- [3]Herbst M: Glycogenous hepatonuclear inclusions in the aged mouse: An electron microscopic study of the histogenesis of nuclear inclusions. *Pathol Eur* 1976;11:69-79.
- [4]Silverman JF, O'Brein KF, Long S, et al.: Liver pathology in morbidly obese patients with and without diabetes. *Am J Gastroentrol* 1990; 85(10):1349-55.
- [5]Dehghani GA, Sotoodeh M, Omrani GR: Trophic effects of vanadium on beta-cells of STZ-induced insulin dependent diabetic rats and evidence for long term relief of diabetes mellitus. *Indian J Med Res* 1999;110:70-5.
- [6]Cruz-Orive LM, Weibel ER: Recent stereological methods for cell biology: A brief survey. *Am J Physiol* 1990;258:48-56.
- [7]Gundersen HJ, Bendtsen TF, Korbo L, et al.: Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. *APMIS* 1988;96(5):379-94.
- [8]Gundersen HJ, Bagger P, Bendtsen TF, et al.: The new stereological tools disector, fractionator, nucleator and point sampled intercepts and their use in pathological research and diagnosis. *APMIS* 1988;96(10):857-81.
- [9]Mattfeldt T, Mall G, Gharehbaghi H, et al.: Estimation of surface area and length with the orientator. *J Microsc* 1990;159:301-17.
- [10]Sorensen FB, Kristensen IB, Grymer F, et al.: DNA- index and stereological estimation of nuclear volume in primary and metastatic malignant melanomas: A comparative study with analysis of heterogeneity. *APMIS* 1990;98: 61-70.
- [11]Kiernan JA: Methods for nucleic acids and carbohydrate histochemistry. In: Kiernan JA, eds. *Histological and histochemical methods, theory and practice*. 2<sup>nd</sup> ed. Oxford, England: Pergamon Press Ltd, 1992:137-8.
- [12]Carnovale CE, Rodriguez Garay EA: Reversible impairment of hepatobiliary function nduced by streptozotocin in the rat. *Experientia* 1984;40(3):248-50.
- [13]Hardman JG, Limbird LE, Goodman Gilman A: *Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*. 10<sup>th</sup> ed, New York, USA: McGraw-Hill 2001:1399.
- [14]Foster KJ, Griffith AH, Dewbury K, et al.: Liver disease in patients with diabetes mellitus. *Postgrad Med J* 1980;56(661):762-72.
- [15]Katz NR: Metabolic heterogeneity of hepatocytes across the liver acinus. *J Nutr* 1992;122:843-9.
- [16]Zimmerman HJ, Macmurray FG, Rappaport H, et al.: Studies of the liver in diabetes mellitus, structural and functional abnormalities. *J Lab Clin Med* 1950;36: 912-21.

- [17]Kume E, Ohmachi Y, Itagaki S, et al.: Hepatic changes of mice in subacute phase of streptozotocin (SZ)-induced diabetes. *Exp Toxicol Pathol* 1994;46 (4-5): 368-74.
- [18]Christie GS, Le Page RN: Enlargement of liver cell nuclei: Effect of dimethylnitrosamine on size and deoxyribonucleic acid content. *Lab Invest* 1961; 10:729-43.
- [19]Henrique RMF, Monteiro RAF, Rocha E, Mrini-Abreu MM: A stereological study on the nuclear volume of cerebellar granular cells in aging rats. *Neurobiol Aging* 1997;18(2):199-203.