14(3) 119-126, Autumn 2022

Journal of Animal Environment
(AEJ)
Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

Comparative histological study of lymphatic tissues of native laying hens with increasing age to evaluate the immune response

Ghodrat Saleki [1], Ebrahim Babaahmady [1], Shahnaz Yousefizadeh [2], Nematollah Shakarami [3]*

[1] *Histology and Microbiology Department, faculty of Paraveterinary, Ilam University, Ilam, Iran*
[2] *Department of Laboratory and Clinical Sciences, Faculty of Para veterinary, Ilam University, Ilam, Iran*
[3] *Expert in Pathobiology Research Center, School of Paramedical Sciences, Ilam University, Ilam, Iran*

Key Words
Lymphatic tissue
Immune system
Blood spread
Native laying hen
Histology

Abstract

Introduction: Today, due to population growth and the fact that white meat and eggs are cheap and healthy, the industry for the production of these products is expanding. In the laying and broiler industry, the study of the immune system is considered to assess the body's readiness to fight diseases.

Materials & Methods: In this study, fourteen native laying hens, seven 5-week-olds and, seven 50-week-olds were evaluated to assess the immune system. At the end of the course, after blood sampling, macro examination of thymic lymph nodes, bursa of Fabricius, and spleen were performed. Then the parameters of blood, lymphatic organ weight relative to chicken weight, measurement of lymph follicle diameter, number of follicles were evaluated.

Results: The most abundant cells in birds were red blood cells. Measuring the length and width of a blood cell was no different from its standard. The lymphatic organs of the bursa of Fabricius, thymus, and spleen were histologically devoid of any lesions. The correlation coefficient between the live weight of chickens and the weight of lymphatic organs did not interfere between any of the groups.

Conclusion: The parameters studied can be an indicator of the bird's health, indicating the potential strength of the immune response to common infections on the farm or on the open environment of birds.

* Corresponding Author's email: e.babaahmady@ilam.ac.ir
Received: 20 February 2021; Reviewed: 23 March 2021; Revised: 28 May 2021; Accepted: 6 July 2021
(DOI): 10.22034/AEJ.2021.286530.2531

مقاله پژوهشی

بررسی مقایسه‌ای بافت‌شناسی بافت‌های لنفاوی مرغ‌های تخم‌گذار بومی با افزایش سن جهت ارزیابی پاسخ ایمنی

قدرت سالکی[۱]، ابراهیم باباحمدی[۱]، شهناز یوسفی‌زاده[۲]، نعمت‌الله شاکرمی[۳]*

[۱] گروه بافت‌شناسی و میکروبیولوژی، دانشکده پیرادامپزشکی. دانشگاه ایلام، ایلام، ایران
[۲] گروه علوم آزمایشگاهی و درمانگاهی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران
[۳] مرکز تحقیقات پاتوبیولوژی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

کلمات کلیدی

بافت لنفاوی
بافت‌شناسی
سیستم ایمنی
گسترش خونی
مرغ تخم‌گذار بومی

چکیده

مقدمه: امروزه با توجه به افزایش جمعیت و به‌دلیل ارزان و سالم بودن گوشت سفید و تخم‌مرغ، صنعت تولید این محصولات در حال گسترش روزافزون می‌باشد. در صنعت پرورش مرغ تخم‌گذار وگوشتی، مطالعه دستگاه ایمنی، جهت بررسی میزان آمادگی بدن در مقابله با بیماری‌ها مورد توجه است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه جهت ارزیابی سیستم ایمنی، ۱٤ قطعه مرغ تخم‌گذار بومی، هفت قطعه با سن ۵ هفته و ۷ قطعه با سن ۵۰ هفته بررسی شد. در پایان دوره، پس از خونگیری، بررسی ماکروسکوپی اندام‌های لنفاوی تیموس، بورس فابریسیوس و طحال انجام شدند. سپس پارامترهای خونی، وزن اندام لنفاوی نسبت به وزن مرغ، اندازه‌گیری قطر فولیکول‌های لنفاوی، شمارش تعداد فولیکول‌ها ارزیابی شدند.

نتایج: فراوان‌ترین سلول‌ها در پرندگان، گلبول‌های‌قرمز بودند. اندازه‌گیری‌طول و عرض سلول خونی با استاندارد آن تفاوتی نداشت. اندام‌های لنفاوی بورس فابریسیوس، تیموس و طحال از نظر بافت‌شناسی عاری از هر نوع ضایعه‌ای بودند. اندازه‌گیری قطر فولیکول‌های لنفاوی، شمارش میکروسکوپی تعداد فولیکول‌ها با نمونه‌های گزارش شده، تفاوتی نداشتند. ضریب همبستگی بین وزن زنده مرغ و وزن اندام‌های لنفاوی بین هر یک ازگروه‌ها تداخلی ایجاد نکردند.

بحث و نتیجه‌گیری: پارامترهای مورد بررسی می‌تواند شاخصی از سلامتی پرنده باشدکه نشان‌دهنده قدرت احتمالی پاسخ ایمنی در برابر عفونت‌های رایج در مزرعه یا محیط آزاد زندگی پرندگان است.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: e.babaahmady@ilam.ac.ir

تاریخ دریافت: ۲ اسفند ۱۳۹۹؛ تاریخ داوری: ۳ فروردین ۱٤۰۰؛ تاریخ اصلاح: ۷ خرداد ۱٤۰۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۵ تیر ۱٤۰۰
(DOI): 10.22034/AEJ.2021.286530.2531

مقدمه

تأمین پروتئین حیوانی مورد نیاز تغذیه انسان یکی از اهداف مهم بخش کشاورزی است و در این میان صنعت مرغداری تخم‌گذار نقش به‌سزایی دارد (۱). سیستم ایمنی پرندگان و عملکرد طبیعی آن به وجود سلول‌های مشتق شده از مغز استخوان که در اندام‌های لنفاوی اولیه ایجاد می‌شوند، بستگی دارد. لنفوسیت‌های B در کیسه فابریسیوس و لنفوسیت‌های T در تیموس متمایز می‌شوند. در حجم زیاد، رشد و بلوغ لنفوسیت‌های B در کیسه فابریسیوس پرندگان اتفاق می‌افتد و از نظر رشد و بلوغ مانند لنفوسیت‌های B در مغز استخوان پستانداران است (۲). تیموس، اندامی کوچک و پرکار است که محل تکثیر و تولید لنفوسیت‌های T می‌باشد. تیموس سه زیر مجموعه از سلول‌های T، یعنی لنفوسیت‌های T کمکی، لنفوسیت‌های T سیتوتوکسیک و لنفوسیت‌های T سرکوبگر ایجاد کرده که هر کدام نقش خود را در پاسخ‌های ایمنی هومورال و سلولی ایفا می‌کنند (۳). علاوه بر اندام‌های لنفاوی اولیه، اندام‌ها و بافت‌های لنفاوی ثانویه نیز وجود دارند که به‌طور استراتژیک در بدن پرنده پخش می‌شوند، که باعث تقویت سیستم ایمنی می‌شوند. اندام طحال تنها اندام لنفاوی ثانویه کپسول‌دار موجود در پرندگان است که باعث ایجاد پاسخ ایمنی به آنتی‌ژن‌های موجود در جریان خون پرندگان می‌شود (۴). وجود سلول‌های B و تولید مشخص آنتی‌بادی IgY، IgM و IgA در بافت‌های لنفاوی مرتبط با مخاط، ظاهراً با غلظت استروژن ارتباط دارند (۵). در مصونیت ذاتی پرندگان مانند پریتونیت ناشی از کاراجینین در پرندگان، نتایج نشان‌دهنده افزایش نفوذپذیری عروقی بود. در دو تا چهار ساعت ابتدایی، در اگزودا لکوسیت‌های چندهسته‌ای و در ۴۸-۲۴ ساعت بعد سلول‌های تک‌هسته‌ای غالب هستند. بیش‌ترین تجمع سلول‌های چندهسته‌ای و تک‌هسته‌ای به‌ترتیب بعد از ۴ و ۲۴ ساعت اتفاق افتاد (۶). مصونیت تطبیقی در پرندگان، مکانیسم‌های ایمنی هومورال و ایمنی واسط سلولی را هم درگیر می‌کند. درحالی‌که ایمنی هومورال به‌ویژه به آنتی‌ژن‌های ایمنی خارج سلولی پاسخ می‌دهد و ایمنی واسطه سلولی به آنتی‌ژن‌های داخل سلولی مثل ویروس‌ها و باکتری‌های داخل سلولی پاسخ می‌دهد (۷). با توجه به اهمیت دستگاه لنفاوی مرغ‌های بالغ و جوجه‌ها، لازمه داشتن پادتن‌های ضروری جهت نگه‌داری سیستم ایمنی بدن و محافظت در برابر میکروب‌های گوناگون و ایجاد طول عمر کافی در زندگی، وجود اندام‌های لنفاوی اولیه و ثانویه سالم می‌باشند. این اندام‌ها به‌طور فیزیولوژیکی قادر به تولید ایمونوگلوبولین هستند و از وقوع هر نوع آسیب و اختلالی در بدن پرنده جلوگیری می‌کنند. از همین رو جهت فراهم نمودن زمینه‌ای برای مطالعات هیستوپاتولوژی و آشنایی بیش‌تر با سلامت سیستم ایمنی پرندگان، بررسی و مطالعه بافت‌شناسی اندام‌های لنفاوی آن‌ها ضروری به‌نظر می‌رسد و توانایی شناخت میکروب‌های بیماری‌زا را در این گونه از جانوران بالا می‌برد(۳). آگاهی از مورفولوژی طبیعی اندام‌ها و بافت‌های لنفاوی اولیه و ثانویه و هم‌چنین تمام سلول‌های خونی مربوط به پاسخ ایمنی، یک ابزار تحلیلی مورفومتریک مهم برای تعیین شدت پاسخ ایمنی در این اندام‌ها است. سیستم ایمنی بدن پرندگان از سلول‌ها، مولکول‌ها، اندام‌ها و بافت‌های لنفاوی اولیه و ثانویه، تشکیل شده است. مطالعه حاضر با هدف توصیف ساختارهای هیستومورفولوژیکی بافت خون و بافت‌های لنفاوی مرغ نژاد بومی انجام شد. با توجه به اهمیت دستگاه لنفاوی مرغ‌های بالغ و جوجه‌ها و بافت خون، لازمه داشتن پادتن‌های ضروری از قبیل ایمونوگلوبولین‌های A، M، Y جهت نگه‌داری سیستم ایمنی بدن و سالم بودن بافت خون، محافظت در برابر میکروب‌های گوناگون و ایجاد طول عمر کافی در زندگی پرنده، وجود اندام‌های لنفاوی اولیه و ثانویه سالم می‌باشند تا خون به‌عنوان یک بافت با اهمیت، حرکت سیال خود را در دیگر بافت‌ها داشته باشد. این اندام‌ها به‌طور فیزیولوژیکی قادر به تولید ایمونوگلوبولین هستند و از وقوع هر نوع آسیب و اختلالی در بدن پرنده جلوگیری می‌کنند. هدف از این مطالعه، توصیف و مقایسه بافت‌شناسی ساختار قسمت‌های مختلف دستگاه لنفاوی جوجه و مرغ بالغ و بافت خون در سنین مختلف دوران رشد بود. تحقیقات بافت‌شناسی در اغلب موارد به‌طور مستقیم و غیرمستقیم نقش قابل ملاحظه‌ای را در تشخیص، سبب‌شناسی و پیشگیری از بیماری‌ها داشته است. شناخت هرچه بیش‌تر دستگاه لنفاوی در گونه مرغی، زمینه‌ای برای مطالعات هیستوپاتولوژی فراهم می‌نماید و راه را برای تشخیص بیماری‌های مربوطه آسان می‌سازد.

مواد و روش‌ها

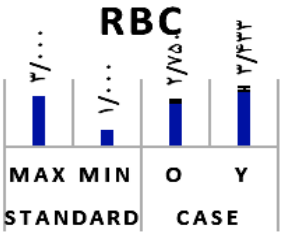
برای انجام این مطالعه تحقیقی از ۱۴ قطعه مرغ تخم‌گذار بومی روستاهای حاشیه شهر ایلام (۷ قطعه با سن ۵ هفته و ۷ قطعه با سن ۵۰هفته) استفاده شد. طیور در محلی در حاشیه شهر ایلام گروه‌بندی و نگه‌داری شدند و به‌صورت آزاد و سنتی به آب و غذا دسترسی داشتند. در پایان دوره آزمایش جهت اخذ نمونه خون، مقدار دو میلی‌لیتر خون از وریدبالی گرفته شد و پس از جمع‌آوری نمونه خون، به لوله شیشه‌ای با محلول ضدانعقاد (EDTA ۵٪) منتقل شد (۸). در مرحله بعد، در آزمایشگاه هیستولوژی گروه دامپزشکی دانشگاه ایلام، لام گسترش خونی تهیه و پس از آن حیوانات با داروی آرام‌بخش اتر اتیلیک، آسان‌کشی شدند و سپس برای انجام کالبدگشایی و جدا کردن نمونه بافتی با استفاده از روش Zander و Mallinson (۸) و به‌روش دررفتگی دهانه لگن و نکروپسی مرغ‌ها، مجموعه اندام‌های لنفاوی به

عنوان نمونه برداشته شد که برای انجام این کار، مرغ را در حالت خوابیده به پشت قرارگرفت و از مقعد مرغ تا گوشه منقار، برش صورت گرفت، پوست و عضله را کالبد شکافی کرده و حفره شکمی و سینه‌ای باز شد و در معرض دید قرار گرفت. پس از بررسی ماکروسکوپی، نمونه‌ها از تیموس، کیسه فابریسیوس و طحال برداشته شد. به‌منظور مطالعات میکروسکوپی نمونه‌هایی با ضخامت یک سانتی‌متر تهیه و با غوطه‌وری در فرمالین خنثی شده ۱۰ درصد تثبیت شدند. پس از ۲۴ ساعت، فرمالین نمونه‌ها تعویض و جهت تهیه مقاطع بافتی میکروسکوپی، به آزمایشگاه بافت‌شناسی منتقل شدند. پس از انجام روش‌های متداول تهیه مقاطع بافت‌شناسی شامل آبگیری نمونه‌ها با استفاده از غلظت‌های صعودی الکل اتانول ۵۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰ و ۱۰۰، شفاف‌سازی آن‌ها با گزیلول و آغشتگی و قالب‌گیری با پارافین، از هر نمونه برش‌هایی به ضخامت ۶ میکرومتر با استفاده از دستگاه میکروتوم دورانی تهیه گردید. سپس برش‌های آماده شده، به روش رنگ‌آمیزی عمومی هماتوکسیلین-ائوزین، رنگ‌آمیزی شده و پس از چسباندن لامل و مونته کردن، پارامترهای ریخت‌سنجی اندام‌ها در هر اسلاید، با کمک میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفت. در هر یک از نمونه‌های دو گروه مورد مطالعه، پارامترهای مورد ارزیابی، بافت خون، وزن اندام لنفاوی نسبت به وزن مرغ، اندازه‌گیری قطر فولیکول‌های لنفاوی، شمارش تعداد فولیکول‌ها بودند. توسط نرم‌افزار Metrics True Chrome نمونه‌ها مورد عکس‌برداری و آنالیز تصویر قرار گرفتند (۹). درنهایت برای معنی‌داری بین میانگین‌های دو نمونه از آزمون Hotelling- Williams t- test در نرم‌افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرارگرفتند (۱۰). سپس از ضریب همبستگی پیرسن برای برآورد ضریب همبستگی استفاده شد.

نتایج

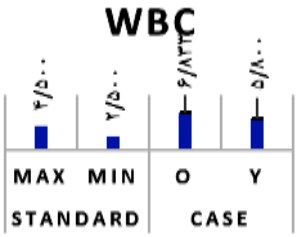
سلول‌های خونی: شکل کلی عناصر خونی تهیه مقاطع شده در دو گروه مرغ‌های بالغ و جوان با بزرگ‌نمایی میکروسکوپی تجزیه و تحلیل شدند. طول و عرض سلول‌های گلبول قرمز به‌عنوان فراوان‌ترین سلول‌ها در دو گروه، ۱۱×۷ میکرومتر و دارای هسته بیضوی شکل با جایگاه مرکزی با کروماتین متراکم، کمی بازوفیل و سیتوپلاسم کمی ائوزینوفیل بود. میانگین گلبول‌های قرمز به‌دست آمده در گروه جوان ۳/۴۳ درصد و در گروه بالغ ۲/۷۵ درصد اندازه‌گیری شدند (جدول و شکل ۱). میانگین گلبول‌های سفید به‌دست آمده در گروه جوان ۵/۸ درصد و در گروه بالغ ۶/۸۳ درصد اندازه‌گیری شد. (جدول و شکل ۲).

جدول و شکل ۱: گلبول‌های قرمز



RBC		
۳/۴۳۳	Y	Case
۲/۷۵۰	O	
۱/۰۰۰	Min	Standard
۳/۰۰۰	Max	

جدول و شکل ۲: گلبول‌های سفید



WBC		
۵/۸۰۰	Y	Case
۶/۸۳۳	O	
۲/۵۰۰	Min	Standard
۴/۵۰۰	Max	

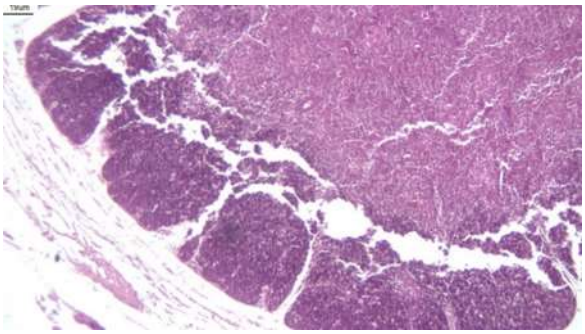
هم‌چنین میانگین هماتوکریت به‌دست آمده در گروه جوان ۳۷/۱۶ درصد و در گروه بالغ ۵۲/۵ درصد اندازه‌گیری شدند. میانگین هموگلوبین در گروه جوان ۱۶/۳۳ گرم در هر دسی‌لیتر و میانگین هموگلوبین در گروه بالغ ۲۳/۶۶ گرم در هر دسی‌لیتر به‌دست آورده شدند. هتروفیل‌ها دارای هسته چند قطعه‌ای، گرانول‌های حاوی کروماتین تغلیظ شده و سیتوپلاسم کروی و بیضوی شکل بودند و میانگین آن‌ها در گروه جوان ۶۴/۱۶ درصد و در گروه بالغ ۷۵/۱۶ درصد بودند که لکوسیت‌های موجود در خون را تشکیل می‌دادند. ائوزینوفیل‌ها، دارای هسته و سیتوپلاسم چند قطعه‌ای هتروکروماتین دانه‌دار و گرانول‌های آبی رنگ بودند. درصد میانگین ائوزینوفیل‌ها در گروه جوان ۱/۳۳ و در گروه بالغ ۱ بود. حضور بازوفیل‌ها مشاهده نشد. مونوسیت‌ها، دارای هسته‌های محیطی در سیتوپلاسم، بیضوی شکل و با کروماتین سست و سیتوپلاسم آبی دیده شدند. میانگین درصد آن در خون گروه جوان تقریباً ۰/۶۶ و میانگین درصد آن در گروه بالغ ۱/۸۳ بود. لنفوسیت‌ها دارای هسته‌ای مرکزی در سیتوپلاسم، کروماتین متراکم و به‌طور کم یا ملایم رنگ‌آمیزی شده بودند. درصد لنفوسیت‌ها در خون گروه جوان ۳۳ درصد و در گروه بالغ ۲۲ درصد بودند. ترومبوسیت‌ها حاوی هسته‌ای هستند که کل سیتوپلاسم را اشغال کرده و به‌صورت گروهی و تجمع یافته در خون دیده شدند. در جدول ۳، مقایسه بین میانگین‌های عناصر خونی در دو گروه جوان و بالغ نشان داده شده است. مطابق جدول ۳، بین تمام فراسنجه‌های خونی بین دو گروه تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید. فقط بین هموگلوبین در دو گروه تمایل به معنی‌داری دیده شد.

جدول ۳: مقایسه میانگین‌های بین عناصر خونی در دو گروه مرغ جوان و بالغ

فراسنجه‌های خونی	P.Value*
گلبول‌های سفید	۰/۶۹
گلبول‌های قرمز	۰/۷۱
هموگلوبین	۰/۰۹
لنفوسیت‌ها	۰/۳۳
نوتروفیل	۰/۲۸
مونوسیت	۰/۳۲
ائوزنوفیل‌ها	۰/۵۱

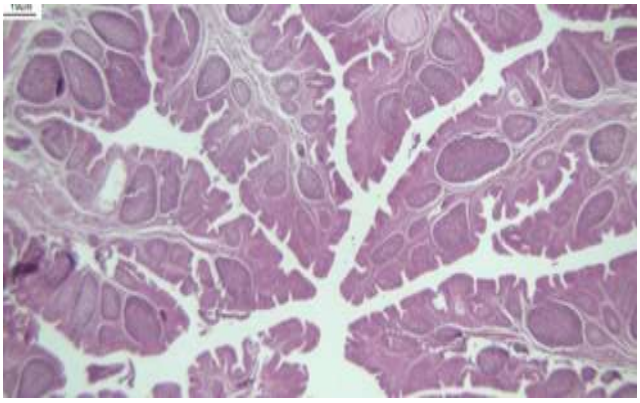
* اعداد بالای ۰/۰۵ نشان‌دهنده عدم معنی‌داری بین میانگین‌ها می‌باشند.

اندام تیموس: از نظر ماکروسکوپی، تیموس دارای رنگ مایل به سفید، قوام ناپایدار، شکننده، ترد و با قطر تقریباً ۰/۵ سانتی‌متر بود. در بررسی میکروسکوپی، کپسولی از بافت همبند متراکم که بافت تیموس را که به لوب‌های مختلف تقسیم می‌کند، احاطه کرده بود. بیرونی‌ترین منطقه به نام ناحیه قشری که غنی از لنفوسیت‌ها و در مقایسه با ناحیه مرکزی، دارای شبکه گسترده‌ای از رگ‌های خونی بود (شکل ۳). در یکی از پرندگان، تیموس کاهش تدریجی سلول‌ها را در منطقه قشری و مرکزی نشان داد.



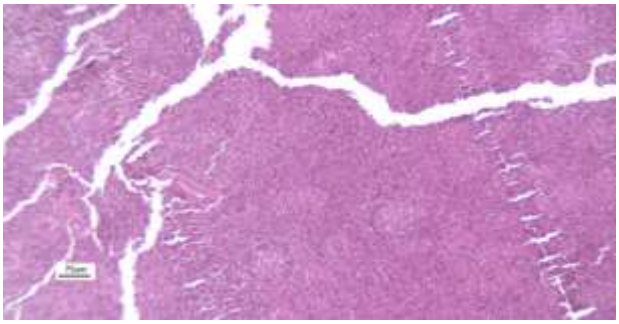
شکل ۳: بافت پوششی اندام تیموس گروه بالغ. تصویر میکروسکوپی برش عرضی. رنگ‌آمیزی H&E. لنز ۴X

کیسه فابریسیوس: از نظر ماکروسکوپی، کیسه فابریسیوس، اندامی کیسه‌ای بوده که در ناحیه پشتی یعنی در قسمت نهایی مقعدی مرغ واقع شده است. در یکی از پرندگان مورد معاینه، کیسه فابریسیوس تاول زده بود و قطر آن تقریباً ۱/۰سانتی‌متر بود. از نظر میکروسکوپی، بورس فابریسیوس از یک بافت پوششی استوانه‌ای ساده پوشیده شده و توسط بافت همبند سست و با میزان کمی رشته‌های کلاژنی و نشت و نفوذ فراوان لنفوسیت‌ها و برخی سلول‌های پلاسما پشتیبانی شده بودند (شکل ۴).



شکل ۴: بافت پوششی کیسه فابریسیوس. گروه بالغ. تصویر میکروسکوپی برش عرضی. رنگ‌آمیزی H&E. لنز ۴X

طحال: طحال از نظر ماکروسکوپی به‌رنگ قهوه‌ای مایل به قرمز و تقریباً به طول ۱/۵ سانتی‌متر و قطر ۰/۵ سانتی‌متر بود. با بررسی میکروسکوپی، کپسول طحال از بافت همبند متراکم، که از آن تیغه‌هایی به‌داخل بافت طحال نفوذ کرده و غنی از سینوزوئیدها، ماکروفاژها و گلبول‌های قرمز که مربوط به پولپ قرمز است، تشکیل شده و هم‌چنین مناطق مربوط به تجمع لنفوسیت‌ها، به‌خصوص در اطراف شریان‌های کوچک مشاهده شد. در بعضی از قسمت‌ها، مناطق واضح‌تری مربوط به مراکز جوانه‌زنی طحال دیده شد که توسط لنفوسیت‌هایی با هسته‌های کاملاً رنگ شده احاطه شده بودند. این تجمع لنفوسیت‌ها در نزدیکی مجرای شریانی، مربوط به پولپ سفید می‌باشند (شکل ۵).



شکل ۵: بافت پوششی اندام طحال از گروه بالغ. تصویر میکروسکوپی برش عرضی.رنگ آمیزی H&E. لنز ۴X

ضریب همبستگی: ضریب همبستگی بین وزن زنده مرغ و وزن اندام‌های لنفاوی و وزن اندام‌ها به دو گروه جوان و بالغ در جداول ۴ و ۵ آورده شده است.

جدول ۴: ضریب همبستگی بین وزن زنده مرغ و وزن اندام‌های لنفاوی و وزن اندام‌ها در گروه جوان

متغیرهای مرتبط	ضریب همبستگی
وزن زنده مرغ و وزن تیموس	۰/۹
وزن زنده مرغ و وزن طحال	۰/۹۴
وزن زنده مرغ و وزن کیسه فابریسیوس	۰/۸۴
وزن تیموس و وزن طحال	۰/۸۸
وزن تیموس و وزن کیسه فابریسیوس	۰/۷۵
وزن طحال و وزن کیسه فابریسیوس	۰/۸

جدول ۵: ضریب همبستگی بین وزن زنده مرغ و وزن اندام‌های لنفاوی و وزن اندام‌ها در گروه بالغ

متغیرهای مرتبط	ضریب همبستگی
وزن زنده مرغ و وزن تیموس	۰/۹۲
وزن زنده مرغ و وزن طحال	۰/۹۷
وزن زنده مرغ و وزن کیسه فابریسیوس	۰/۸۵
وزن تیموس و وزن طحال	۰/۹۱
وزن تیموس و وزن کیسه فابریسیوس	۰/۷۸
وزن طحال و وزن کیسه فابریسیوس	۰/۸۳

بحث

فراوان‌ترین سلول‌ها در پرندگان، گلبول‌های قرمز هستند. قطر سلول‌های گلبول قرمز تقریباً ۱۲ میلی‌متر است که با اندازه‌گیری کردن آن با نتایج تصویر یک، تقریباً هم‌خوانی دارد. مقدارسلول‌های قرمز و سفید طبق جداول و شکل‌های ۱ و ۲ در محدوه مینیمم و ماکزیمم استاندار هستند و در مطالعه خون‌شناسی، شمارش کامل سلول‌های خونی، ارزیابی گلبول‌های سفید و قرمز و تجزیه و تحلیل مورفولوژیکی خون مرغ خانگی صورت گرفت که در مطالعات خون‌شناسی، مقادیر شمارش کامل خون، لکوگرام و تجزیه و تحلیل مورفولوژیکی مورد بحث و مشاوره قرار گرفته بودند با نتایج این تحقیق هم‌خوانی دارند (۱۱). اندازه‌گیری گلبول‌های سفید و شکل کلی عناصر خونی تهیه مقاطع شده در دو گروه مرغ‌های بالغ و جوان با H&E با بزرگ‌نمایی میکروسکوپی تجزیه و تحلیل شدند که با توجه به نتایج به‌دست آمده، همه عناصر در محدوده استاندارد هستند. شمارش هتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها و تعیین نسبت هتروفیل به لنفوسیت در خون پرندگان به‌عنوان یک شاخص مطمئن برای مشخص شدن وجود عوامل میکروبی و بیماری‌زا در بدن است وهرچه‌قدر این نسبت بیش‌تر باشد، به‌همان مقدار سطح ایمنی بالا بوده و احتمال مقاومت در مقابل عوامل بیماری‌زا بهبود می‌یابد (۱۲). هتروفیل‌ها دارای هسته چند قطعه‌ای، گرانول‌های حاوی کروماتین تغلیظ شده و سیتوپلاسم کروی و بیضوی شکل بودند. ائوزینوفیل‌ها، هسته و سیتوپلاسم چندلوبوله هتروکروماتین دانه‌دار شده و گرانول‌هایی دارند که به رنگ آبی درآمده است. مونوسیت‌ها، دارای هسته‌های محیطی در سیتوپلاسم، بیضوی شکل و با کروماتین سست و سیتوپلاسم آبی ارائه می‌شوند. لنفوسیت‌ها دارای هسته‌ای مرکزی در سیتوپلاسم، کروماتین متراکم و به‌طور کم یا ملایم رنگ‌آمیزی شده بود. ترومبوسیت‌ها حاوی هسته‌ای هستند که کل سیتوپلاسم را اشغال کرده و به‌صورت گروهی و تجمع یافته در خون دیده شدند. بازوفیل‌ها، اگرچه درخون محیطی پرنده کمیاب‌تر از ائوزینوفیل‌هااست، اما پس از مهاجرت هتروفیل‌ها در حالت‌های التهابی ظاهر می‌شوند. به‌طور معمول، بازوفیل‌های پرنده، شبیه نمونه‌های پستانداران بوده، اما تنوع در ظاهر بازوفیل‌ها، در بین گونه‌های مختلف پرندگان رخ می‌دهد. این یافته‌ها با مطالب به‌دست آورده هم‌خوانی دارند (۱۳). مطالعات بافت‌شناسی تیموس، وجود ناحیه قشری و مغزی را با حضور یک کپسول بافت همبند نشان داد، که با یافته‌های Glick (۱۴) و Ciriaco و همکاران (۴) توصیف شده بودند، هم‌خوانی دارد. اطلاعات مربوط به تغییرات ساختاری و عملکردی در تکامل اندام‌های پرندگان کمیاب و پراکنده هستند، اما در جوجه‌ها این تغییرات با از دست دادن تدریجی در منطقه قشری از سه ماهگی شروع به تظاهر می‌کنند. با این‌حال، در یکی از حیوانات کالبدشکافی شده، به خوبی حضور یک منطقه قشری منظم مشاهده شد، درحالی‌که در دیگری، تیموس مورد تحلیل کامل قرار گرفته بود و با بافت چربی جایگزین شده بود. این نشان می‌دهد که حتی در بین جوجه‌های هم سن و هم نژاد، تحلیل تیموس نیز در بین پرندگان به شکل ناهمگن اتفاق می‌افتد. اما برای تأیید این فرضیه باید با یافته‌های دیگران مقایسه شود. تیموس و کیسه فابرسیوس اندام‌هایی هستند که مسئول بلوغ لنفوسیت‌های B و T می‌باشند، اما علی‌رغم تحلیل کیسه‌فابرسیوس با افزایش سن، جوجه‌ها مقادیر طبیعی لکوسیت‌ها را برای پرندگان غیرآلوده نشان دادند که مجموعاً ۴۸۵۰ لکوسیت در میلی‌مترمکعب بود (۴). کیسه فابریسیوس دارای یک بافت پوششی استوانه‌ای ساده و بافت همبند سست و پر از سلول‌های لنفوسیت و سلول‌های پلاسما بودند، اما وجود بافت لنفاوی مرتبط با بافت پوششی تشخیص داده نشد. این نتیجه به‌دلیل کمی تحلیل این بافت بود. این نتایج با نتایج مطالعه Ciriaco و همکاران (۴) هم‌خوانی دارد. بنابراین اگر در بافت‌های اولیه و ثانویه لنفاوی جمعیت سلول‌های لنفاوی و کاهش کپسول و پارامترهای دیگر مطالعه شود، تولید سلول‌های B و T کم می‌شوند و نقص در سیستم ایمنی بدن ایجاد می‌شود. در مورد ارزیابی بافت‌شناسی کیسه فابریسیوس که یک اندام کیسه‌ای است، توسط چین‌های داخلی که از ۱۲ تا ۱۴ چین تشکیل شده است و از یک‌سری فولیکول‌های لنفاوی و چارچوبی از بافت همبند تشکیل شده است. هر چین با

یک اپیتلیوم کاذب پوشانده می‌شود، در عوض هر فولیکول از ناحیه قشری و ناحیه میانی ساخته می‌شود که توسط سلول‌های اپی‌تلیال تمایز نیافته از هم جدا می‌گردند. لنفوسیت‌ها و لنفوبلاست‌ها در قشر فولیکولار دیده می‌شوند و در ناحیه میانی، لنفوسیت‌ها، سلول‌های رتیکولواپیتلیال و ماکروفاژها یافت می‌شوند. به‌علاوه، در بعضی موارد فضاهای تو خالی و بقایای سلولی وجود دارند که محصول مرگ ماکروفاژها است. بافت‌شناسی طحال وجود کپسولی ملتحمه را نشان داد که به پارانشیم اندام نفوذ کرده و تیغه‌های کوچکی را تشکیل می‌دهد. وجود پولپ سفید متشکل از یک شریان تیغه‌ای که به شریان‌های مرکزی فولیکولار منشعب می‌شود و درگیرغلاف لنفوئید اطراف رگ شریانی است، یک مرکز جوانه‌زنی در مجاورت غلاف لنفوئید اطراف رگ شریانی را ایجاد می‌کند که شبیه همان مواردی است که توسط Yasuda و همکاران توصیف شده بود (۱۵). پولپ قرمز از سینوزوئیدها، رشته‌های سلولی، ماکروفاژها، گرانولوسیت‌ها، سلول‌های پلاسما و سلول‌های بینابینی تشکیل شده است (۱۵). در جدول ۴ ضریب همبستگی بین وزن زنده مرغ و وزن اندام‌های لنفاوی را در گروه جوان نشان می‌دهد، با مشاهده به این‌که بیش‌ترین مقدار، مربوط به وزن زنده مرغ و وزن طحال است و کم‌ترین مقدار مربوط به وزن زنده مرغ و وزن کیسه فابریسیوس است. همبستگی وزن اندام‌ها با یکدیگر، مشاهده شده است که بیش‌ترین مقدار بین تیموس و طحال و کم‌ترین مقدار بین کیسه فابریسیوس و تیموس به‌دست آمد که با یافته‌های حاضر، هم‌خوانی دارد (۱۶). در جدول ۵ همبستگی بین وزن زنده مرغ و وزن اندام‌های لنفاوی را در گروه بالغ نشان می‌دهد، با مشاهده به این‌که بیش‌ترین مقدار، مربوط به وزن زنده مرغ و وزن طحال است و کم‌ترین مقدار مربوط به وزن زنده مرغ و وزن کیسه فابریسیوس است. همبستگی وزن اندام‌ها با یکدیگر، مشاهده شده است که بیش‌ترین مقدار بین تیموس و طحال و کم‌ترین مقدار بین کیسه فابریسیوس و تیموس به‌دست آمد که با یافته‌های حاضر هم‌خوانی دارد (۱۷). علاوه بر اندام‌ها و عناصر خونی که در تولید و تنظیم سلول‌های ایمنی یعنی B و T فعالیت دارند، اندام‌های دیگری که در محافظت از پرنده در مقابل بیماری‌ها، همکاری دارند، شامل لوزه‌های سکال در مخاط و زیر مخاط، مناطق چین‌دار، عضلات اعضای بدن، سلول‌های اپی‌تلیال و غدد لنفاوی غیرکپسوله که به‌طور پراکنده، توزیع شده‌اند (۱۸). غدد لنفاوی بدون کپسول در دفاع موضعی در برابر تکثیر میکروارگانیسم‌های ساکن مهم هستند. انقباض کم معده و روده با تجمع این میکروارگانیسم‌ها، باعث شده که این اندام‌ها، حاوی مقدار قابل توجهی بافت لنفاوی باشد (۱۸). وجود اندام‌های غدد لنفاوی و سلول‌های پلاسماتیک در منطقه ایلئوم پرندگان تشخیص داده شد (۱۹). در مشاهدات سیستم تولیدمثل مرغ، هم‌زمان با مطالعات انجام شده، غدد لنفاوی دیگر در تخمدان با حضور سلول‌های پلاسماتیک در استرومای مخاط وجود داشت (۵). در ناحیه غدد لنفاوی، وجود سلول‌های پلاسما در استرومای غدد لنفاوی تشخیص داده شد و تولید ایمونوگلوبولین‌ها در این منطقه و نقش آن‌ها در دفاع موضعی توضیح و اثبات شد (۲۰). وجود سلول‌های پلاسما، در این مناطق مسئول رسوب عناصر در تخم‌مرغ هستند. اندام‌های لنفاوی ثانویه احتمالاً عملکرد حفظ سلول‌های لنفوسیتی را در خون برعهده دارند، زیرا حیوانات مورد مطالعه دارای مقادیر طبیعی گلبول‌های سفید خون بود. بافت لنفاوی با حضور لنفوسیت‌ها و سلول‌های پلاسما در بافت‌بینابینی مشاهده شد. در این بافت، لنفوسیت‌ها و سلول‌های پلاسما در استروما وجود داشت. اندام‌های لنفاوی مرتبط با مخاط در ناحیه لوزه‌های سکال و ایلئوم مشاهده شد (۵).

استفاده از تکنیک‌های آزمایشگاهی برای تجزیه و تحلیل خون، ابزاری ضروری است که اطلاعات ارزشمندی را در زمان تأیید تشخیص بالینی در پرندگان فراهم می‌کند، به‌دلیل تفاوت مقادیر مختلف سلول‌های خونی، شرایط طبیعی ویژه‌ای وجود دارد که باعث تغییر غلظت سلول‌های خونی در این نوع پرندگان می‌شود. پارامترهای طبیعی در شمارش خون، مطالعه بافت‌شناسی و وزن اندام‌های لنفاوی دو رده سنی می‌تواند شاخصی از سیستم ایمنی و سلامتی خوب پرنده باشد. خون و عناصر خونی و میزان آن‌ها در دو رده سنی در محدوده استاندارد پرندگان سالم بود. اندام‌های لنفاوی جوجه‌ها و مرغان بومی در دو رده سنی که عاری از هر نوع عامل بیماری‌زا باشند، بسته به سن و طول زندگی و تغذیه آزاد و جیره علمی دارای پاسخ ایمنی مختلفی هستند و در مقابل میکروب‌ها آنتی‌بادی تولید می‌کنند و در تولید سلول‌های B و T دچار نقص و کاستی نمی‌شوند و به سلامت آن‌ها کمک می‌کند.

منابع

1. **Taslimi, F., Karimi, K. and Askari, G., 2013.** Impressionability of efficiency and egg quality of commercial laying flocks of Tehran and Alborz province from some managerial factors including geographic location, education of farm managers, diet management, light source and diseases. Journal of Animal Environment. 5(3): 53-64. (In Persian)

Arrington, Lesllie H Sobin. Spanish version edited and translated by Clara S. Haffess, Forabel G. Mullick. 253 P.

10. **Olson, K.M., VanRaden, P.M., Tooker, M.E. and Cooper, T.A., 2011.** Differences among methods to validate genomic evaluations for dairy cattle. J. Dairy Sci. 94: 2613-2620.

11. **Campbell, T.W., 2004.** Veterinary Hematology of Birds Hematology and Clinical Chemistry. In: Thrall.

12. **Seifdavati, J., Seyfzadeh, S., Ramazani, M., Bakhshayesh, S., Abdi benamar, H. and Seyedsharifi, R., 2019.** Effect of in-ovo injection oil-extracted propolis on hatchery performance, number of blood cell count and carcass characteristics of broiler chicks. Journal of Animal Environment. 11(2): 133-138. (In Persian)

13. **Lumeij, J.T., 1996.** Biochemistry and sampling. In: Benyon, P.H., ed. Manual of raptors, pigeons and waterfowl. Gloucestershire. British Small Animal Veterinary Association. 63-67.

14. **Glick, B., 1986.** Immunophysiology. In: Sturkie, P.D., Avian Physiology, Editorial: Springer-Verlag, Nueva York, Berlín, Heidelberg, Tokio. 4: 87-101.

15. **Yasuda, Y., Kasuya, K., Nishihira, J., Sasaki, Y., Tsuchida, A., Aoki, T. and Koyanagi, Y., 2002.** Induction of cell arrest by transfection of macrophage migration inhibitory factor antisense plasmid. International Journal of Molecular Medicine. 10: 463-467.

16. **Grieve, D.B., 1991.** The causes and evaluation of immunosuppression. XII Latin American Congress of Poultry, Ecuador.

17. **Canfield, P.J., 1998.** Practical Laboratory Medicine. Comparative cell morphology in the peripheral blood film

2. **Otsubo, Y., Chen, N., Kajiwara, E., Horiuchi, H., Matsuda, H. and Furusawa, S., 2001.** Role of bursin in the development of B lymphocytes in chicken embryonic Bursa of Fabricius. Dev. Comp. Immunol. 25(5-6): 485-493.

3. **Scott, T.R., 2004.** Our current understanding of humoral immunity of poultry. Poult. Sci. J. Vol. 83(4): 574-579.

4. **Ciriaco, E., Pínera, P., Díaz-Esnal, B. and Laura, R., 2003.** Age-related changes in the avian primary lymphoid organs (thymus and bursa of Fabricius). Microsc. Res. Tech. 62: 482-487.

5. **Zheng, W.M., Izaki, J., Furusawa, S. and Yoshimura, Y., 2000.** Localization of immunoglobulin G gamma-chain mRNA-expressing cells in the oviduct of laying and diethylstilbestrol-treated immature hens. Gen. Endocrinol. Comp. 120(3): 345-352.

6. **Hara, C.M., Klein Júnior, M.H., Moraes, J.R.E. de., Moraes, F.R. de and Paulillo, A.C., 1994.** Kinetic of vascular and cellular alterations in the carrageenin-induced peritonitis in *Gallus gallus*. Effect of steroidal and non-steroidal antiinflamatory drugs. Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci. 31(3-4): 173-180.

7. **Erf, G.F., 2004.** Cellular immunity in poultry. Poult. Sci. 83(4): 580-590.

8. **Zander, D.Y. and Mallinson, E., 1991.** Principles of disease prevention: diagnosis and control. In Disease of Poultry, Ninth Edition. Ames, IA: Iowa State University. 3-44.

9. **AFIP. 2009.** Institute of Pathology of the Armed Forces of the United States of America. Histotechnological Methods. Edited by Ednna B. Propnet, BobMilis, Jacquelyn B.

from exotic and native animals. (On line). The University of Sydney New South Wales. (Australia): December Available at: http://www.ava.com.au/avj/9812/9812.htm.

18. **Kitagawa, H., Shiraishi, S., Imagawa, T. and Uehara, M., 2000.** Ultrastructural characteristics and lectin-binding properties of M cells in the follicle-associated epithelium of chicken caecal tonsils. J. Anat. 197(4): 607-616.

19. **Befus, A.D., Johnston, N., Leslie, G.A. and Bienenstock, J., 1980.** Gut-associated lymphoid tissue in the chicken. I. Morphology, ontogeny, and some functional characteristics of Peyer's patches. J. Immunol. 125(6): 2626-2632.

20. **Khan, M.Z., Hoshimoto, Y., Iwami, Y. and Iwanaga, T., 1997.** Postnatal development of B lymphocytes and immunoglobulin-containing plasma cells in the chicken oviduct: studies on cellular distribution and influence of sex hormones. Vet. Immunol. Immunopathol. 56(3-4): 329-338.