

دراسة تشريحية نسيجية مناعية للقناة الهضمية للنوع *Scyliorhinus canicula* من الأسماك الغضروفية

د. نهلة ابراهيم*

د. صالح اسماعيل**

سيرين زريق***

(تاريخ الإيداع 2019/ 4/10. قُبِلَ للنشر في 16 /6/ 2019)

□ ملخّص □

قمنا في هذا البحث بدراسة تشريحية نسيجية ومناعية للقناة الهضمية للقرش *Scyliorhinus canicula* من الأسماك الغضروفية، ولاحظنا تميز أجزاء الجهاز الهضمي وملحقاته تشريحياً. احتواء المري على ظهارة مطبقة كاذبة ومهدبة، بينما احتوت ظهارة كل من المعدة والأمعاء على ظهارة بسيطة.

توجد الخلايا المفترزة للمخاط في كل أجزاء القناة الهضمية، تحتوي معدة القرش نوعين من الغدد المعدية. أثبتت الدراسة الكيميائية النسيجية المناعية وجود السيبتوكيراتينات في أجزاء القناة الهضمية للقرش. أكدت المقارنة النسيجية والمناعية مع الفقاريات الأرقى وجود تشابه في القناة الهضمية للقرش. كما أكدت هذه الدراسة على تطور هذا النوع من الفقاريات.

الكلمات المفتاحية: الفقاريات، *Scyliorhinus canicula*، الجهاز الهضمي، الظهارة، السيبتوكيراتين.

* أستاذ مساعد في قسم علم الحياة الحيوانية- كلية العلوم- جامعة تشرين - سورية.

**مدرس في كلية الطب البشري-جامعة الأندلس الخاصة للعلوم الطبية - سورية.

***طالبة دراسات عليا (دكتوراه) - قسم علم الحياة الحيوانية- كلية العلوم- جامعة تشرين- سورية.

Anatomical Immunohistological Study Of The Gastrointestinal Tract Of The Genus *Scyliorhinus* *canicula* Of Cartilaginous Fish

Dr.Nahla Ibraheem *

Dr. Saleh Ismaiel **

Sirin Zoureik ***

(Received 10 /4 /2019. Accepted 16/ 6 /2019)

□ ABSTRACT □

We did the histological and Immunohistochemical study of the digestive tract of the *Scyliorhinus canicula* of cartilaginous fish. we noted the differentiation of the parts of the digestive system and its accessories anatomically. The mucosa lies on pseudostratified and ciliated epithelium, while the epithelium of the stomach and intestine was simple. mucus cells exist in all parts of the gastrointestinal tract. The mucosa of shark's stomach contains two types of glands. immunohistochemical study demonstrated the presence of cytokeratins in the gastrointestinal tract of the shark. The histological and immunological comparison with the higher vertebrates confirmed a similarity in the digestive tract of the shark and these vertebrates. This study confirmed the evolution of this type of vertebrates.

Keywords: vertebrates, *scyliorhinus canicula*, gastrointestinal tract, epithelium, cytokeratin

* Ass. Prof., Department of Animal Biology-Faculty of Sciences, Tishreen University – Syria.

** Lecturer in the faculty of medicine- Al-andalus private university.

*** Ph.D. Student- Department of Animal Biology, Faculty of Sciences, Tishreen University – Syria

المقدمة

درس الباحثان (Morrissey&Slough,2009) الجهاز الهضمي للنوع *Scyliorhinus retifer* من الأسماك الغضروفية، وبيننا أنه يتألف من مري ومعدة، ومعى يحتوي دساماً حلزونياً ليزيد من سطحه، ثم المستقيم. درس الباحثون (Mulley et al.2014). التشابه بين بنكرياس *catshark* وبنكرياس الثدييات فيما يتعلق بتنظيم الأنسولين، وآليات النسخ والإشارة، والهرمونات الببتيدية ومستقبلاتها، كانت النتائج تدعم الأصل الواحد للفقاريات، وإن البنكرياس غدة متميزة نشأت في وقت مبكر في الفقاريات الفكية.

وصف الباحثون (Nagar, khan,1958) البنية النسيجية لأسماك *Lacep* الغضروفية فلاحظوا غياب الخلايا المخاطية في منطقة البلعوم ووجود البراعم الذوقية ليس فقط في منطقة اللسان والبلعوم وإنما في المري أيضاً، غياب الغدد المعدية وعدم تمايز خلاياها إلى حمضية *oxyntic* وببتيدية *peptic*، التشابه النسيجي الوثيق على طول الأمعاء ووجود وفرة في الخلايا المخاطية بالقرب من الفتحة الإخراجية.

درس الباحث (Weisel,1973) أسماك مجداف الماء العذب الغضروفية *Polyodon Spathula* الأكثر بدائية، إذ يمتلك أنبوباً هضماً معقداً له قسمان متميزان هما: المعدة والأمعاء ، وبين وجود الخلايا الظهارية المهديّة في أجزاء كثيرة من الجهاز الهضمي يمكن أن تكون مساعدة في نقل المواد الغذائية ومعالجتها، بالإضافة إلى الأهداب تشمل هذه الأسماك سمات بدائية أخرى في الجهاز الهضمي وهي: عدم التمييز بين المري والمعدة ، وجود الدسام الحلزوني المعوي.

وفي دراسة للباحثين (Chatchavalanch et al.2006) على أسماك *Himantura Signifer* الغضروفية أكد فيها أن المري ذو ظهارة مطبقة عمودية. المعدة ذات ظهارة عمودية مزودة بزغيبات دقيقة *microvilli*، خلاياها ذات نوى بيضوية متوسطة التوضع، وقد تحوي نوعين أو أكثر من الغدد المعدية؛ حيث تختلف الغدد باختلاف شكل الخلايا المكونة لها، إذ تتنوع ظهارة هذه الغدد بين خلايا مكعبة طويلة بنوى بيضوية وسيتوبلازما باهتة، إلى خلايا هرمية كبيرة بنوى دائرية وسيتوبلازما غامقة حبيبية.بينما الأمعاء ظهارتها بسيطة عمودية مؤلفة من خلايا امتصاصية طويلة مزودة بامتدادات من الطبقة المخطط النامية بشكل جيد وعدد من الخلايا الكأسية.

أكد الباحثان (Morrissey&Slough,2009) في دراستهما أن أمعاء القرش *Scyliorhinus retifer* تبدو مختلفة تماماً عن الأمعاء البشرية تشريحياً، ولكن المقارنة النسيجية تظهر أنواع الخلايا نفسها الموجودة في كلا العضوين، مما يدل على أن أمعاء القرش والأمعاء البشرية متشابهة بأنواع الخلايا المؤلفة لها، تطورت إلى أشكال مختلفة أكثر ملاءمة للكائن، أظهرت النتائج أن الأنسجة الهضمية للقرش تظهر تشابه للأنسجة الهضمية للفقاريات الأخرى الأرقى منها.

في دراسة للباحثين (Gonçalves et al., 2019) ذكروا فيها أن منشأ الهضم الخارجي في الحيوانات التوالي *metazoan* رافقه تعديلات بنوية ووظيفية على القناة الهضمية، وقد بلغت هذه التعديلات ذروتها في اختلاف بنية الجهاز الهضمي الجديد وخصوصاً معدة الفقاريات الفكية، وكل ما هو مطلوب لتنوع اختلافها كعوامل النمو والنسخ وكل العوامل المطلوبة لتطوير ظهارة المعدة، ومن أجل الحصول على الآليات القديمة القادرة على توليد هذه البنية في الفقاريات الفكية، لذلك تتبعوا تنامي القناة الهضمية عند القرش *Scyliorhinus canicula* من الأسماك الغضروفية؛ حيث احتفظت هذه الحيوانات بميزات متعددة الأشكال من الفقاريات الفكية بما في ذلك تمايز معدي كبير.

تظهر نتائجهم أن تطور الغدد المعدية حدث بعد الفقس بوقت قريب، وتدلُّ آليات النمو على أن أصل المعدة موجود في الجد المشترك للأسماك العظمية والغضروفية. يؤدي الاختلاف الخلوي في منطقة المعدة الى تكوين طبقات من الخلايا والتي تميز هذه البنية عند البشر.

السيبتوكيراتينات بروتينات ليفية تشكل إحدى الخيوط المتوسطة Intermediate Filaments في سيتوبلازم الخلايا الظهارية، توفر الدعم الهيكلي للهيكل الخلوية وتلعب دور في الوظائف الخلوية المختلفة (كالتمايز)، تتكون من سلاسل بولي ببتيدية ، وهي نوعان: النوع I أو السيبتوكيراتينات الأساسية ، والنوع II أو السيبتوكيراتينات الحمضية، تساعد الخلايا على مقاومة الإجهاد الميكانيكي. إن التعبير عن هذه الـ cytokeratins داخل الخلايا الظهارية محدد بشكل خاص لأعضاء أو أنسجة معينة. وبالتالي يتم استخدامها سريريا لتحديد خلية المنشأ من الأورام البشرية المختلفة، (Herrmann et al., 2007).

كانت معظم الدراسات تهدف إلى التأكد من وجود السيبتوكيراتينات في الأسماك والبرمائيات؛ ومنها دراسات (Markel & Franke, 1988) اللذين أكدا في دراستهما وجود 14 نوعاً من السيبتوكيراتينات في خلايا ظهارية مختلفة؛ وهذا ما يظهر التنوع الكبير لنماذج السيبتوكيراتين في الأنواع السمكية، وإن أبسط أنواع الكيراتين موجودة في الخلايا الكبدية؛ وخلصا إلى نتيجة إن التنوع في السيبتوكيراتين نشأ في الفقاريات الدنيا كالأسماك لكن التعبير النسيجي للسيبتوكيراتين الحقيقي حدّد عبر تطور الفقاريات.

درس (Bunton, 1993) نسيجاً مختلفة عند بعض الثدييات، ونوعين من الأسماك مستخدماً مضادات السيبتوكيراتين نفسها، وخلص إلى أن هناك تنوعاً في النتائج ما بين الثدييات والأسماك وحتى ما بين نوعي السمك، وهذا التنوع ربما يشير إلى اختلافات في المولدات المناعية للسيبتوكيراتينية في النسيج وفي الكيمياء الحيوية؛ مما يطرح اقتراح إمكانية جيدة لاستخدام الأبحاث المولدة للسرطان في الأسماك في التشخيص الكيميوخلوي المناعي immunocytochemistry حيث إن ظهور الأورام في الأسماك مؤشر للتلوث البيئي، أو جعل الأسماك نموذجاً بديلاً في الأبحاث المولدة للسرطان carcinogenesis research ؛ لابتكار طرق إضافية لاستخدامها في تشخيص الأورام.

أثبت (Giordane et al., 1989) أن سيبتوكيراتين سمكة *Carassius auratus* مشابهة بالبنية للسيبتوكيراتين 8 الموجود في الإنسان؛ وهذا ما يدل على أن واحداً على الأقل من سيبتوكيراتينات الثدييات موجود كبروتين متميز في مرحلة مبكرة من تطور الفقاريات.

كما أكد الباحثون (Fushs and Marchuk, 1983; Quax et al., 1984 Balcarek and) أن السيبتوكيراتين كما هو الحال في الثدييات فإنه موجود أيضاً عند الزواحف والطيور والبرمائيات والأسماك.

Ck7 من النمط II يظهر بشكل خاص في الظهارة البسيطة التي تبطن أجزاء جهاز الهضم والغدد والأوعية الدموية (ظهارة بسيطة) وغالباً ما يترافق مع ck20.

Ck20 نمط I من البروتينات الخلوية الرئيسية في الخلايا المعوية الناضجة والخلايا الكأسية يوجد بشكل خاص في مخاطية المعدة والأمعاء (Moll et al., 1993).

أجريت دراسة تطور التعبير عن النمط الثاني من السيبتوكيراتينات في الحبل الشوكي للفقاريات البالغة المختلفة باستخدام تقنية immunohistochemical anti-CK. الكيمياء النسيجية المناعية بمضادات

الكيراتين، كان التعبير للنمط السيتوكيراتيني الثاني أقوى في الفقاريات الدنيا، وخاصة البرمائيات، منه في الفقاريات الأعلى. (Bodega et al.,1995).

لا تعدّ الكيراتينات معقدة فقط من حيث أنماط التعبير الخاصة بها داخل نوع حيواني معين ولكن أيضا فيما يتعلق بتطورها ضمن الصفوف الفقارية ، كما وتعدّ دلالات جزئية واثولوجية ممتازة ، وقد أظهرت الدراسات المناعية على أسماك lamprey, shark, trout, zebrafish العظمية والغضروفية أن للأسماك نظاماً تعبيرياً معقداً للكيراتينات. (Schaffeld and markl,2004)

قام الباحث (Alibardi,2002) بدراسة كيميائية مناعية حول توضع الكيراتينات في بشرة الأسماك والبرمائيات باستخدام مضادات الكيراتين، وأكد انه في الأسماك الغضروفية والعظمية كان التلون بالكيراتينات الحامضية AE1 والقاعدية AE3 إيجابيا وبقوة، ونمط توزعها كان موحداً في جميع طبقات البشرة . تم العثور في الضفادع على AE1 بنحو رئيس في الطبقات القاعدية بينما AE3 صبغ البشرة بالكامل.

قام الباحثان (Fuchs and Marchuk,1983) بتتبع الأصول التطورية الشبيهة بالكيراتينات لجينومات حقيقيات النوى، وأكد أن هذه البروتينات قد تطورت لتشكل الخيوط المتوسطة التي تشكل هيكل الخلية الجلدية للفقاريات، وقد جرى تمييز نوعين من الكيراتينات في خلايا البشرة في الفقاريات من الأسماك الى الانسان، على مستوى البروتين وعلى مستوى ال DNA ؛ هاتين الفئتين من الكيراتين I ، II تم حفظهما بشكل منسق خلال تطور الفقاريات؛ مما يشير الى الدور الرئيس الذي يلعبه كلا النمطين من الكيراتين.

بين الباحثان (Rahman and Sharma, 2014) أن مخاطية مري السلاحف من نوع *Pangshura tentoria* مطبقة مؤلفة من نمطين من الخلايا: الكبيرة الكأسية، والأصغر حجماً إسطوانية مهدبة، بينما كانت مخاطية معدة السلاحف بسيطة، إذ لوحظ فيها نوعان من الغدد: غامقة التلون حبيبية تدعى الغدد الحبيبية والثانية فاتحة التلون، وكلاهما من النمط الأنبوبي البسيط. أما مخاطية المعى عند السلاحف فهي بسيطة تحتوي ثلاثة أنواع من الخلايا: ظهارية عمودية ذات نواة بيضوية قاعدية التوضع ، خلايا كأسية قليلة العدد مقارنة بالخلايا العمودية وخلايا داخلية الإفراز endocrine cells.

أهمية البحث وأهدافه

تكمن أهمية البحث في استخدام تقانة كيمياء النسيج المناعية باستعمال مضادات السيتوكيراتينات، ومقارنة النتائج مع الدراسة التشريحية والنسجية للقناة الهضمية لسماك القرش لتبيان مدى تطوره ، ويهدف الى:

- دراسة تشريحية لجهاز الهضم عند القرش.
- دراسة نسيجية لأجزاء القناة الهضمية.
- استخدام مضادات السيتوكيراتين لمعرفة وجود السيتوكيراتين أو غيابه في ظهارة القناة الهضمية.
- تحديد درجة تطور القرش من خلال الدراسة النسيجية والنسجية المناعية.

المواد البحث وطرائقه

أجريت الدراسة في مخابر كلية العلوم وقسم التشريح المرضي في مشفى تشرين الجامعي. جمعت الأسماك حية من منطقة بانياس لضمان عدم تخرب الظهارة ، أُجري التشريح مباشرة واستئصال الأعضاء المراد دراستها نسيجياً، وحفظها بالفورمول 10% لثلاثة أيام.

وقد اعتمدت طريقة (أبو عاقلة ، 1999) للدراسة النسيجية في معالجة العينات، ونزع الماء منها باستخدام تراكيز متدرجة تصاعدياً من الكحول الإيثيلي، وتنقيتها بالكزابلول، ثم غمرها بالبارافين ضمن قوالب خاصة. أجريت المقاطع النسيجية بسماكة 4 ميكرون في قسم التشريح المرضي- مشفى تشرين الجامعي؛ وذلك باستخدام المقطاع النسيجي (Meditome A 550)، ثم عولجت المقاطع وفقاً للطرائق المعتمدة تمهيداً لتلوينها بالهيماتوكسيلين - ايوزين. بعد ذلك، درست المقاطع النسيجية مجهرياً باستخدام مجهر ضوئي مجهز بكاميرا رقمية لتحري الفوارق النسيجية وإجراء الدراسة المقارنة على مختلف أجزاء جهاز الهضم.

للدراسة المناعية: اتبعت الخطوات السابقة نفسها ولكن باستخدام الملونات المناعية وهي السيتوكيراتين:

كوكتيل ، 7، 20. Dabbs(2018)

الكوكتيل عبارة عن AE1: ck 10,15,16,17,18,19 , AE31,2,3,4,5,6,7,8.

النتائج والمناقشة

الدراسة التشريحية Anatomical study :

يتكون جهاز الهضم عند القرش الشكل (1) من مرٍ ومعدة وأمعاء ذات الدسام الحلزوني لزيادة سطح الامتصاص، مع وجود للغدد الملحقة: الكبد المؤلف من فصين، حيث يمتد الفص الأيمن على طول الأحشاء؛ وذلك لأنه يفرز مادة دهنية من أجل الطفو في أثناء السباحة، عوضاً عن الكيس السباحي الذي يغيب عند كافة الأسماك الغضروفية (ابراهيم & شلقة 2008)، (ابراهيم واخرون 2009).

أما البنكرياس الذي يأخذ شكل حرف H يتوضع بين الجزء البوابي الرفيع للمعدة والأمعاء القصيرة ضمن الغشاء الواصل بينهما.



الشكل (1) أجزاء الجهاز الهضمي لسماك القرش *S.canicula*

كانت الاختلافات في الأنبوب الهضمي عند القرش مميزة كما هو الحال عند الأسماك الغضروفية، إذ نذكر المعدة المتطاولة على شكل حرف U، والمؤلفة من الجزء الفؤادي الأنبوبي العريض والجزء البوابي الأنبوبي الرفيع الضيق، يتبعها مع قصير، تشكل مخاطيته انتشاءات حلزونية لتزيد من مساحة المعى اللازمة لإتمام عملية الهضم ومن ثم الامتصاص وتجميع الفضلات. هذا بالإضافة الى الكبد الطويل الذي أمتد في

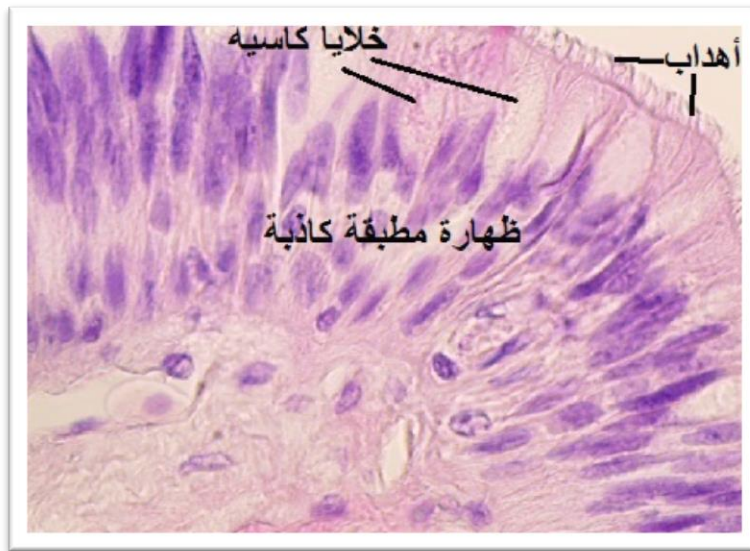
جوف الحيوان، وتمايز البنكرياس كعضو مستقل. (Mulley et al.2014)، (Morrissey&Slough,2009).

الدراسة النسيجية Histological study :

تتشابه البنية النسيجية لجدار أنبوب الهضم لسماك القرش مع البنية النسيجية لأنبوب هضم الفقاريات الأخرى، من حيث وجود الطبقات الجدارية الأربع، وهي: الطبقة المصلية Serosa، والطبقة العضلية muscular، والطبقة تحت المخاطية submucosa، والطبقة المخاطية mucosa، اللمعة. وتتوافق هذه النتائج مع دراسات سابقة حول الجهاز الهضمي عند الفقاريات، والتي أظهرت تشابهاً كبيراً في بنية القناة الهضمية (Smith, et al 2000); (ابراهيم، 2008،

1- البنية النسيجية للمري :

أظهرت نتائج الدراسة النسيجية لجدار المري كما هو مبين في الشكل (2) أنه مبطن بطبقة من نسيج طلائي مطبق كاذب مهدب، مع وجود الخلايا الكأسية (غولبت) موزعة في ظهارة المري، كما تظهر المفرزات المخاطية في لمعة المري.



الشكل (2) مقطع عرضي في مري سمك القرش S.canicula

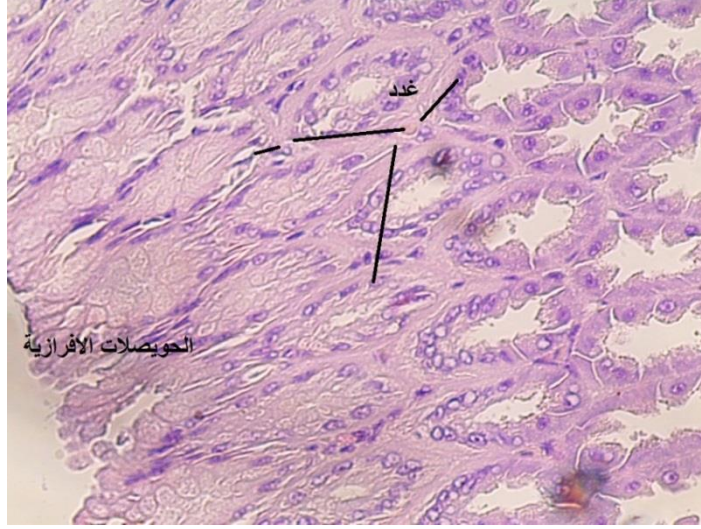
تُظهر أنه مبطن بطبقة من نسيج طلائي مطبق كاذب مهدب. نلاحظ الأهداب في الطبقة السطحية وكذلك توزع الخلايا الكأسية فيها. ت X40.

إن نتائج الدراسة تتوافق مع نتائج العديد من الدراسات الأخرى التي أجريت على الأسماك العظمية مع عدد من الفقاريات الدنيا المتشابهة بالنمط الغذائي، والتي بينت بنية مشابهة لجدار أنبوب الهضم؛ إذ لاحظنا ظهارة مطبقة كاذبة مهدبة في القرش وهذا قريب من دراسات (Weisel,1973)، ودراسة الباحثين (Chatchavalanch et al.2006) في وجود الأهداب cilia وتطبيق الظهارة في الأسماك الغضروفية.

ولدى مقارنة ذلك مع ظهارة مري الزواحف ممثلة بسلفحة الماء العذب كانت مختلفة مع البنية النسيجية لمري الأنواع المدروسة.

-بنية مخاطية جدار المعدة-

تميزت الطبقة المخاطية بظهارتها البسيطة الإسطوانية simple cylindrical epithelium ذات نوى متوضعة في الثلث السفلي وتتخللها الخلايا الفاتحة اللون المخاطية. أما الغدد المعدية الأنبوبية tubular glands الشكل (3) فعبارة عن انخماصات للظهارات السطحية ضمن هذه الطبقة.



الشكل (3) مقطع عرضي في معدة سمك القرش *S.canicula*

تبين بطانة المعدة وتوزع الغدد المعدية (قوة التكبير X20)

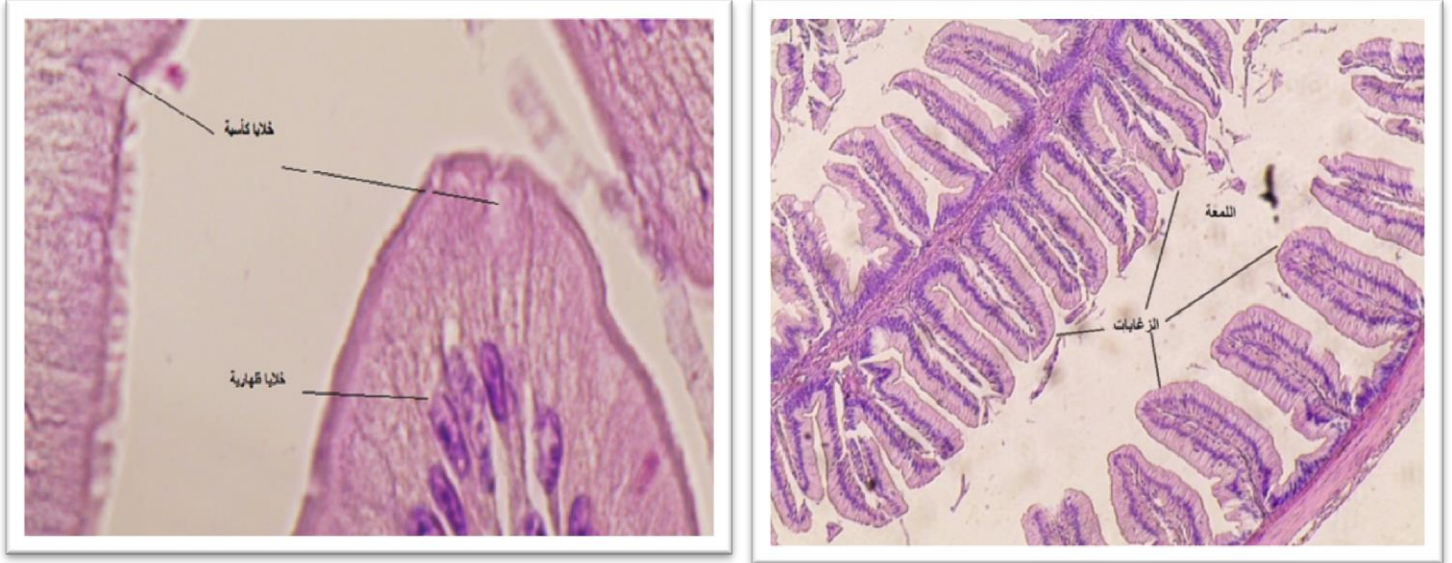
أما بالنسبة إلى وجود نوعين من الغدد مختلفة التلون عند القرش، فقد تشابه مع بعض الدراسات للأسماك العظمية؛ إذ لاحظت (زريق، 2009) عند *B.boops* وبالتلون العام (الهيماتوكسيلين-أيوزين) فرقاً بسيطاً في حدة تلون نوعين من الخلايا، إحداهما أقل تلوناً من الأخرى وقد تكون المفرزة للحمض، كما أشار (Arellano et al., 2001) إلى ظهور خلايا فاتحة وغامقة في الغدد المعدية للنوع *Soleasenegalensis* تأكيداً لما جاء به العالم (Smith, 1989) أنه من المعتقد أن الغدد المعدية للأسماك تفرز الببسينوجين والحمض معاً. كما لاحظنا وجود الخلايا الكأسية المفرزة للمخاط، وهذا ما أكده الباحث (Sinha, 1993) أنه من السهل ملاحظة الخلايا المفرزة للمخاط في الظهارة السطحية للغدد المعدية.

أكد الباحثون في دراسة (Chatchavalanch et al., 2006) على أسماك *Himantura Signifer* الغضروفية أن المعدة قد تحوي نوعين أو أكثر من الغدد المعدية؛ حيث تختلف الغدد باختلاف شكل الخلايا المكونة لها و تنتوع ظهارة هذه الغدد بين خلايا مكعبة طويلة بنوى بيضوية وسيتوبلاسما باهتة، إلى خلايا هرمية كبيرة بنوى دائرية وسيتوبلاسما غامقة حبيبية، وهنا تتفق هذه الدراسة مع دراستنا. إلا أنهم وفي البحث نفسه لاحظوا أن المعدة ذات ظهارة عمودية مزودة بزغيبات دقيقة microvilli، لم نلاحظ في دراستنا وجود الطبقة المخطط على سطح الخلايا الظهارية المعدية للقرش.

لوحظ في مخاطية معدة السلاحف نوعان من الغدد غامقة التلون حبيبة تدعى الغدد الحبيبية وفاتحة التلون، وكلاهما من النمط الأنبوبي البسيط، وهذا ما لاحظناه عند القرش.

2- بنية مخاطية جدار المعي:

أظهرت الدراسة النسيجية لمخاطية جدار المعي ظهارة معوية مؤلفة من نسيج طلائي بسيط تتخلله الخلايا الكأسية، ووجود الطبقة المخطط striated border. أظهرت الدراسة النسيجية المبينة في الشكل (4) لمقطعين عرضيين في معي سمك القرش أنه مبطن بنسيج طلائي عمودي بسيط، كما تميز بوجود الدسام الحلزوني الذي يغطي بحافتين من الطبقة المخاطية التي تملك زغابات قصيرة تمتد في لمعة المعي؛ مما يساعد على زيادة سطح الامتصاص في معي الأسماك الغضروفية.



الشكل (4): مقطع عرضي في معي سمك القرش *S.canicula*

تبين الزغابات المعوية في الدسام الحلزوني وظهارة المعي (1x10 في اليمين، 40X في اليسار) أشار الباحثون (Mai et al.,2005) في دراستهم على أسماك *Pseudosciana crocea* العظمية أن ظهارة المعي بسيطة عمودية مهدبة تتخللها خلايا كأسية. وهنا نختلف معهم في تسمية خلايا الأمعاء بالمهدبة وإنما هي مزودة بطبقة من ال microvilli أو ال striated border فلهذه الزوائد في الأمعاء وظيفة امتصاصية لا حركية.

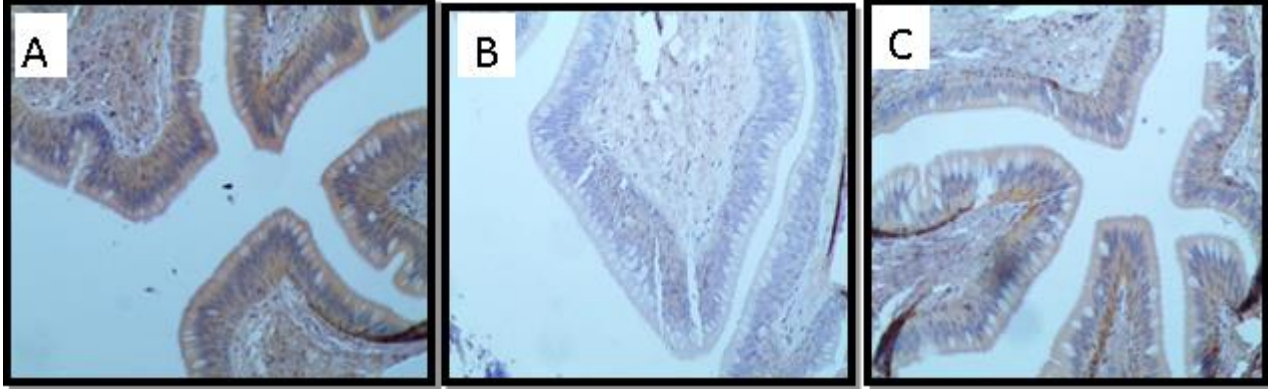
مخاطية المعي عند السلاحف بسيطة الخلايا الظهارية عمودية ذات نواة بيضوية قاعدية التوضع ، خلايا كأسية قليلة العدد وهذه البنية مشابهة لما هو موجود في معي القرش

الدراسة المناعية Immonohistochemical study:

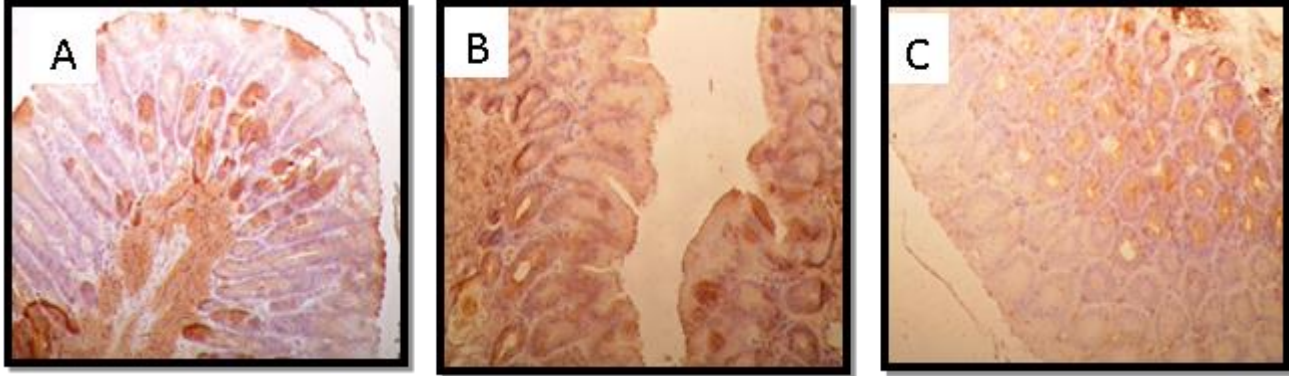
أظهر مري القرش *S.canicula* إيجابية معتدلة الشكل (5)؛ حيث تلونت سيتوبلاسما الخلايا الظهارية بشكل معتدل بالنسبة إلى السيتوكيراتين كوكنتيل، وخفيف بالنسبة إلى السيتوكيراتين 7، ومعتدل بالنسبة إلى السيتوكيراتين 20؛ حيث تلونت قاعدة الخلايا الظهارية أكثر من قماتها.

أبدت معدة القرش *S.canicula* تلوناً معتدلاً بالنسبة إلى السيتوكيراتين كوكتيل الشكل (6) على القطب القمي للخلايا السطحية وفي بعض الخلايا الغدية، وكان التلون معتدلاً أيضاً بالنسبة إلى السيتوكيراتين 7 على القطب القمي للخلايا السطحية وخلايا الغدد، كما كان التلون جيداً بالنسبة إلى السيتوكيراتين 20 أيضاً على السطح القمي للخلايا.

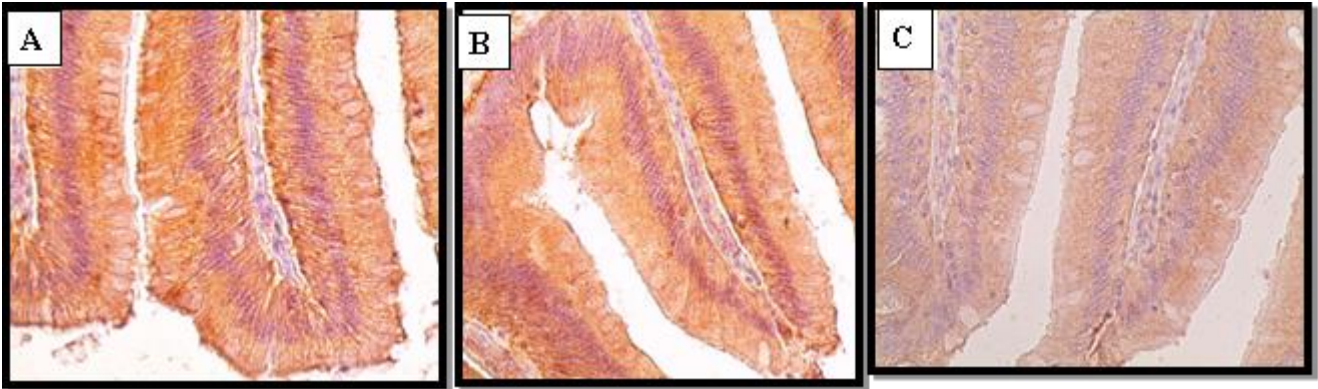
نلاحظ في الشكل (7) أن معي القرش *S.canicula* أبدى إيجابية مقبولة وتلوناً كاملاً للخلايا الظهارية، بالنسبة إلى السيتوكيراتين كوكتيل، وكذلك الأمر بالنسبة إلى التعامل مع السيتوكيراتين 7، 20.



الشكل (5) تلوّن مري القرش *S.canicula* بالسيتوكيراتين (A) كوكتيل، (B) 7، (C) 20.



الشكل (6) تلوّن معدة القرش *S.canicula* بالسيتوكيراتين (A) كوكتيل، (B) 7، (C) 20.



الشكل (7) تلوّن معي القرش *S.canicula* بالسيتوكيراتين (A) كوكتيل، (B) 7، (C) 20.

من خلال النتائج يتبين لنا وجود السيٲوكيراتين بنحو جيد في ظاهرة مري الأسماك الغضروفية، والغريب التلون ب ck7 مع أن مري هذه الأسماك ذو ظاهرة مطبقة كاذبة، وهو يميز الظاهرة البسيطة (Moll et al. 1990)، ولكن هنا نتأكد من دراسة (Schaffeld and markl,2004) المناعية على بعض الأسماك العظمية والغضروفية، وقد أكدوا فيها أن للأسماك نظاماً تعبيرياً معقداً للكيراتينات. وأما بالنسبة إلى المعدة والأمعاء فوجود السيٲوكيراتين 7 فيها طبيعي حيث إن ظاهرتها بسيطة.

استطعنا في الأسماك الغضروفية التمييز بين المري والبنكرياس تشريحياً، ويبقى الدسام الحلزوني المعوي الذي يميز الأسماك الغضروفية عن غيرها من الكائنات الحية، وهل هو فعلا صفة بدائية أم تكيفية ؟.

لكن دراسة الباحثين (Morrissey&Slough,2009) على أمعاء القرش *Scyliorhinus retifer*، التي تبدو مختلفة تماماً عن الأمعاء البشرية، ولكن المقارنة النسيجية تظهر أنواع الخلايا نفسها الموجودة في كلا العضوين مما يدل على أن أمعاء القرش والأمعاء البشرية هي من النمط الخلوي ذاته، التي تطورت إلى أشكال مختلفة أكثر ملائمة للكائن ، أظهرت النتائج أن الأنسجة الهضمية للقرش تظهر تشابهاً للأنسجة الهضمية للفقاريات الأخرى، وهنا يجيب هذان الباحثان عن تساؤلنا ليثبتنا أن الشكل المورفولوجي للمعي عند القرش ووجود الدسام الحلزوني هو صفة تكيفية؛ وبما أن البنية النسيجية مطابقة للبنية النسيجية في معي الانسان نسقط عن معي القرش الصفة البدائية.

من خلال المقارنة مع دراسة الباحثين (Rahman and Sharma, 2014) لمخاطية القناة الهضمية للسلاحف والتي تتبع لصف الزواحف الأرقى في السلم التطوري، نلاحظ التقارب بين الأسماك الغضروفية والزواحف ، كما أكدت دراسة الباحثين (Gonçalves et al., 2019) على القناة الهضمية عند القرش *Scyliorhinus canicula* من الأسماك الغضروفية؛ حيث احتفظت هذه الحيوانات بميزات متعددة الأشكال من الفقاريات الفكية، بما في ذلك تمايز خلوي معدي كبير، إذ تظهر نتائجهم أن تطور الغدد المعوية حدث بعد الفقس بوقت قريب، وتدل آليات النمو على أن أصل المعدة موجود في الجد المشترك للأسماك العظمية والغضروفية. يؤدي الاختلاف الخلوي في منطقة المعدة الى تكوين أنماط من الخلايا، والتي تميز هذه البنية عند البشر.

يوجد السيٲوكيراتين 7 حتماً في الظاهرة البسيطة، وإن وجوده في مري القرش ربما لأنه من سيٲوكيراتينات النمط الثاني المميزة للفقاريات الدنيا بحسب (Bodega et al.,1955).

Ck20 من نمط I من البروتينات الخلوية الرئيسية في الخلايا المعوية الناضجة والخلايا الكأسية، ويوجد بشكل خاص في مخاطية المعدة والأمعاء (Moll et al., 1990) ولقد لاحظنا وجوده في معدة القرش وأمعائه ومريه.

لقد تعاملت أجزاء جهاز هضم القرش بإيجابية مع السيٲوكيراتين كوكتيل، وهذا يؤكد وجود السيٲوكيراتين في ظاهرة الفقاريات الدنيا؛ وتضاف نتائج دراستنا إلى نتائج الباحث (Alibardi,2002) ، حيث قام بدراسة كيميائية مناعية حول توضع الكيراتينات في بشرة الأسماك باستخدام مضادات الكيراتين، وأكد أنه في الأسماك الغضروفية والعظمية كان التلون بالكيراتينات الحامضية AE1 والقاعدية AE3 إيجابياً ويقوة، ونمط توزيعها كان موحداً في جميع طبقات البشرة .

أما بالنسبة إلى تطور القرش بحسب توزيع هذه الكيراتينات فنرجح أنه متطور نسيجياً بحسب توزيع السيٲوكيراتين 7 في ظاهرتة، فقد أكدت المراجع أن السيٲوكيراتين 7 مميز للظاهرة البسيطة، وهذه الدراسات قد أجريت على الفقاريات العليا والإنسان بالتحديد، فكان إيجابياً في كل أجزاء الجهاز الهضمي، ومرافقاً مع ال ck20 الذي يعدّ مميزاً للخلايا المعوية والمعوية من ظاهرة جهاز الهضم؛ فهو يوجد في معدة سمك القرش وأمعائه. وخلاصة نتائجنا تتوافق مع دراسة

(Moll *et al.* 1990)، التي تعرف Ck7 بأنه من النمط II الذي يظهر بشكل خاص في الظهارة البسيطة التي تبطن أجزاء جهاز الهضم والغدد والأوعية الدموية (ظهارة بسيطة)، وغالبا ما يترافق مع ck20، الذي يتبع للنمط I من البروتينات الخلوية الرئيسية في الخلايا المعوية الناضجة والخلايا الكأسية، ولذلك يوجد بشكل خاص في مخاطية المعدة والأمعاء.

الاستنتاجات والتوصيات

نستنتج من الدراسة تطور سمك القرش من الناحية التشريحية والنسيجية والمناعية ، وأن الدراسات النسيجية والمناعية يمكن اعتبارها ذات موثوقية لإثبات تطور الفقاريات. ونوصي بزيادة عدد الأنواع المدروسة ضمن الصف أو الرتبة الواحدة لإعطاء تأكيد أكبر للنتائج. واستخدام المعيار النسيجي والمعيار الكيمو خلوي المناعي immunocytochemistry في الدراسات الأكاديمية لمقارنة التطور في الفقاريات المختلفة.

المراجع العربية

1. ابراهيم، نهلة ؛ شلفة، مها ، (2007-2008)، النسيج و التشريح المقارن. كلية العلوم ،جامعة تشرين.
2. ابراهيم، نهلة ؛ شلفة، مها ؛ منصور،كاترين (2009-2008) التشريح المقارن (عملي) كلية العلوم ، جامعة تشرين.
3. ابراهيم، نهلة ؛ شلفة، مها ؛ منصور،كاترين، (2009-2008) التشريح المقارن والتطور ، كلية العلوم، جامعة تشرين.
4. ابراهيم، نهلة ،2008، دراسة نسيجية للقناة الهضمية للخفاش *Pipistrillus kuhli*. مجلة جامعة تشرين، المجلد 30 ، عدد 4 ، ص 45-59.
5. أبو عاقلة أحمد (1999) التحضير النسيجي المجهرى ، منشورات دار المستقبل -عمان ، الطبعة الأولى ص (3-162).
6. زريق، سيرين، دراسة تشريحية ونسيجية مقارنة للجهاز الهضمي عند ثلاثة أنواع من الأسماك البحرية السورية لفصيلة Sparidae لتحديد درجة القرى فيما بينها، رسالة ماجستير، 2009

REFERENCES

1. ALIBARDI, L, 2002, *Immunocytochemical localization of keratins, associated proteins and uptake of histidine in the epidermis of fish and amphibians.* Acta Histochem,104(3):297-310.
2. ARELLANO, J.M., STORCH,V. SARASQUETE,C., *Histological and histochemical observations in the stomach of the Senegal sole , Solea senegalensis.*Histopathol,16,2001 ,511-521.
3. BALCAREK, M. J. AM D COWAN, N. J. ,1985, *Structure of the mouse glial fibrillary acidic protein gene: implications for the evolution of the intermediate filament multigene family.* Nucl. Acids Res. 13,5527-5543.
4. BODEGA, G; SUÁREZ, I; RUBIO, M; FERNÁNDEZ, B,1995 , *Type II cytokeratin expression in adult vertebrate spinal cord".* Tissue Cell. Oct;27(5):555-9.
5. BUNTON,T.E.,1993,*The Immunocytochemistry of Cytokeratin in Fish Tissues.* vet pathol 30: 418-425
6. CHATCHAVALVANICH,K ; MARCOS ,R ; THONGPAN, A ; POONPIROM,J; ROCHA, 2006. *Histology of the digestive tract of the freshwater stingray Himantura signifer Compagno and Roberts, 1982 (Elasmobranchii, Dasyatidae).*Anat Embryol ,211, 507–518
7. DABBS, D, J., 2018, *Diagnostic Immunohistochemistry.* 5th Edition ,Theranostic and Genomic Applications,.
8. FRAIL , D. E., MUDD , J. AN D MERLIE, J. P. (1990). *Nucleotide sequence of an intermediate filament cDNA from Torpedo californica.* Nucl. Acid Res., 18, 1910.
9. FUCHS, E ; MARCHUK, D, 1983, *Type I and type II keratins have evolved from lower eukaryotes to form the epidermal intermediate filaments in mammalian skin.* Biochemistry Proc., Natl.Acad.Sci. USA Vol. 80, pp: 5857-5861,.
10. GIORDANO, S., GLASGOW, E., TESSER , P. AN D SCHECHTER, N (1989). *A type II keratin is expressed in glial cells of the goldfish visual pathway.* Neuron 2 , 1507-1616
11. GONÇALVES,O; FREITAS,R; FERREIRA,P; ARAÚJO,M; ZHANG,G; MAZAN,S; COHN,M,J.; CASTRO,C; WILSON,J,M.,2019, *Molecular ontogeny of the stomach in the catshark Scyliorhinus canicula.* Scientific reports, 9:586, 1-10.
12. HERRMANN, H; BÄR, H. ; KREPLAK, L. ; STRELKOV, S,V. ; AEBI, U,2007 , *Intermediate filaments: from cell architecture to nanomechanics.* Nat. Rev. Mol. Cell Biol., 8 (7) pp:562–73,July.
13. HERRMANN, H; FOUQUET, B; AND FRANKS , W, (1989), *Expression of intermediate filament proteins during development of Xenopus laevis.n. Identification and molecular characterization of desmin,* Development, 105 , 299-307.
14. MAI, K; YU, H; MA, H; DUAN, Q; GISBERT, E; ZAMBONINO-INFANTE, J; CAHU, C, *A histological study on the development of the digestive*

system of *Pseudosciaena crocea* larvae and juveniles, *Journal of Fish Biology* 67(4),2005, 1094-1106.

15. MARKL, J. ; FRANKS , W. W. ,1988, *Localization of cytokeratins in tissues of the rainbow trout: fundamental differences in expressio pattern between fish and higher vertebrates*. *Differentiation* 39 , 97-122.

16. MOLL, R; ZIMBELMANN R ; GOLDSCHMIDT, M,D.; KEITH, M. ; LAUFER, J. ; KASPER, M; KOCH, P,J.; FRANKE, W,W. , 1993, *The human gene encoding cytokeratin 20 and its expression during fetal development and in gastrointestinal carcinomas*. *Differentiation*, 53 (2): 75–93,June.

17. MORRISSEY, J, E.; SLOUGH,L,2009, *Histology of the Digestive System of Scyliorhinus rotifer*. the Chain Catshark.semantic scholar.

18. MULLEY,J,F.;HARGREAVES,A,D.;HEGARTY,M,J.;HEL LER,R,S.;SWAIN,M,T.,2014, *Transcriptomic analysis of the lesser spotted catshark (Scyliorhinus canicula) pancreas, liver and brain reveals molecular level conservation of vertebrate pancreas function*. *BMC Genomics*, 15:1074

19. NAGAR,H,K.; KHAN,W,M.,1958 ,*The anatomy and histology of the alimentary canal of Mastacembelus armatus (Lacep)*. Springer, Volume 47, 173-187

20. QUAX, W. , VA N DEN HEUVEL , R., EGBERTS, W. V , QUAX-JEUKEN , Y. AN D BLOEMENDAL , H. (1984). *Intermediate filament cDNAs from BHK-21 cells : demonstration of distinct genes for desmin and vimentin in all vertebrate classes*. *Proc. natn. Acad. Sci. U.SA.* 81 , 5970-5974.

21. RAHMAN,M,S.& SHARMA,D,K.,2014 , *Morphometric, Anatomical and histological features of Gastrointestinal Tract (GIT) of Freshwater Turtle, Pangshura tentoria International*. *Journal of Scientific & Engineering Research*, Volume 5, Issue 7, ,90-94.

22. SCHAFFELD, M; MARKL, J, 2004, *Fish Keratins Methods*. *Cell Biology* Volume 78, Pages 627-671.

23. SINHA, G.M.,1993 , *Histo-morphology of the alimentary canal in Indian fresh water teleosts*. *Advan Fish Rec.*, I, 302-365.

24. SMITH,L,S.,1989 , *Digestivefunctions in teleost fishes*. fish nutrition ,2nd ed. (Halver J.E.,ed.), Academic press, London, 331-421.

25. WESTERN,J,R.; JENNINGS, J,B.,1970 ,*Histochemical demonstration of hydrochloric acid in the gastric tubules of teleosts using in the vivo Prussian blue technique*.*Comp.Biochem ,Physiol*, 35, 879-884.