

## دراسة نسيجية مناعية مقارنة لتوزع بعض أنواع السيتوكيراتينات في ظهارة كبد ضفدع الشجر *Hyla savignyi* والسلمحفاة مهمازية الورك *Testudo graeca*

\* د. نهلة ابراهيم

\*\* د. صالح اسماعيل

\*\*\* هبة مزيق

(تاريخ الإيداع 2019/ 10/17. قُبل للنشر في 2019/ 12 / 16)

### □ ملخص □

- هدفت الدراسة الحالية، والتي تعد الأولى من نوعها محلياً وإقليمياً لإجراء مقارنة نسيجية مناعية لظهارة الكبد عند نوعين من الفقاريات: ضفدع الشجر *Hyla savignyi* والسلمحفاة مهمازية الورك *Testudo graeca*. وذلك بتطبيق تقنية التحليل الكيميائي النسيجي المناعي عبر استخدام الأجسام المضادة لـ CK8/18 و CK-cocktail لمعرفة مدى تطور النسيج الحيواني تبعاً لوجود السيتوكيراتين أو غيابه ومدى كثافته في النسيج الكبدي.

- أبدى النسيج الكبدي إيجابية متفاوتة مع الأجسام المضادة لـ CK-cocktail وهذا يؤكد وجود السيتوكيراتين في ظهارة الكبد عند الأنواع المدروسة، أما مع الأجسام المضادة لـ CK8/18 فكانت سلبية تماماً عند ضفدع الشجر وإيجابية عند السلمحفاة مهمازية الورك.

**الكلمات المفتاحية:** دراسة نسيجية مناعية، الكبد، سيتوكيراتين كوكثيل، سيتوكيراتين 8/18، ضفدع الشجر، السلمحفاة مهمازية الورك.

\*أستاذ مساعد - قسم علم الحيوان - كلية العلوم - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

\*\* أستاذ مساعد - كلية طب بشري - جامعة الأندلس الخاصة - سورية

\*\*\*طالبة دراسات عليا(ماجستير) - قسم علم الحيوان - كلية العلوم - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

## An immunohistochemical comparative study of the distribution for some types of cytokeratin in the *Hyla savignyi* and *Testudo graeca* liver's epithelium

\*Dr. Nahla Ebrahim

\*\*Dr. Salh Esmail

\*\*\*Heba Mzik

(Received 17/10 /2019. Accepted 16/ 12 /2019)

### □ ABSTRACT □

-The purpose of this study, which is considered the first of its kind locally and regionally, is to make immunohistochemical comparison for the liver's epithelium in two species of vertebrates: *Hyla savignyi* and *Testudo graeca*, by using immunohistochemical analysis technique, which include using antibodies of CK8/18 and CK-cocktail to determine the development of animal tissues by observing the presence or absence of cytokeratin and its density in these tissues.

-The tissues have showed varying positivity with CK-cocktail antibodies, which confirms the existence of cytokeratin in the liver's epithelium for the studied species, whereas, the tissues have showed completely negativity with CK8/18 antibodies at *Hyla savignyi* and positive at *Testudo graeca*.

**Keywords:** Immunohistochemical study, Liver, CK-cocktail, CK8/18, *Hyla savignyi*, *Testudo graeca*.

---

\*Associated prof., Zoology Department, Faculty of Science, Tishreen University, Lattakia, Syria.

\*\* Associated prof., Faculty of Human Medicine, al andalus university, Syria.

\*\*\*Postgraduate Student, Zoology Department, Faculty of Science, Tishreen University, Lattakia, Syria.

## مقدمة

ينتمي السيتوكيراتين Cytokeratin (CK) لعائلة بروتينات الخيوط المتوسطة Intermediate filaments ضمن سيتوبلاسما الخلايا الظهارية، والتي توجد في جميع الظهارات تقريباً (Heaphy *et al.*,2011). يتراوح قطر الخيوط المتوسطة بحدود (10-14) نانومتر، وتتوسط أقطارها أقطار اثنين من المكونات الرئيسية الأخرى للهيكل الخلوي Cytoskeleton وهي خيوط الأكتين Actin الدقيقة (7 نانومتر) والميوزين Myosin الخيوية (25 نانومتر)، وعلى عكس خيوط الأكتين والميوزين التي تبدي ثباتاً في التركيب الكيميائي، فإن الخيوط المتوسطة تبدي تنوعاً كبيراً في الشكل والتركيب، وذلك بحسب الأنواع والأنسجة الحية (Bershadsky and Vasiliev,2012).

تمتد خيوط السيتوكيراتين داخل الخلايا الظهارية Epithelial cells من جهة إلى الجهة الأخرى من الخلية، وتتصل مع خيوط السيتوكيراتين الموجودة في الخلية المجاورة بشكل غير مباشر بواسطة أحد أجهزة الاتصال ما بين الخلايا تدعى بالديسموزم Desmosome حيث يعطي هذا التوزيع للخيوط مقاومة كبيرة لقوى الشد التي تخضع لها النسيج الظهاري، وبالتالي لا تشارك خيوط السيتوكيراتين مباشرة في حركات الخلية كما في خيوط الميوزين والأكتين، بل تؤدي دوراً هيكلياً أساسياً من خلال توفير القوة الميكانيكية للخلايا والأنسجة. يتكوّن السيتوكيراتين من سلاسل بولي بيتيد وله نوعان: الأول حمضي ذو وزن جزيئي منخفض LMW (من CK9 إلى CK20) والآخر أساسي ذو وزن جزيئي عالٍ HM (من CK1 إلى CK8)، حيث يتم الترقيم اعتماداً على قلة الحجم من الوزن الجزيئي العالي إلى الوزن الجزيئي المنخفض، ويوجد عادةً السيتوكيراتين في أزواج غير متجانسة من الوحدات الفرعية الحمضية والأساسية ذات الحجم المماثل، وإن الطفرات التي تضعف هذا الإطار الهيكلي تزيد من خطر تمزق الخلايا وتسبب مجموعة متنوعة من الاضطرابات (Fuchs and Cleveland,1998;Cooper and Hausman,2000;Herrmann *et al.*,2007;Rekhtman and Bishop,2011; Bershadsky and Vasiliev,2012).

إنّ توزيع السيتوكيراتين محدد للغاية ويختلف بحسب الموقع ونوع الظهارة ومدى التمايز (Moll *et al.*,2008). كما أنّ السيتوكيراتين خلال تشكل الورم الخبيث في الخلايا الظهارية يميل للحفاظ على مظهره مما يسمح باستخدامه كعلامة لوجود ورم محتمل (Chu and Weiss,2002;Lane and Alexander,1990).

يتركز وجود خيوط السيتوكيراتين في معظم أنواع الخلايا الحيوانية ولكن ليس في جميعها (Bershadsky and Vasiliev,2012)، حيث تم تأكيد وجود السيتوكيراتين في الجهاز العصبي المركزي لعدة مجموعات من الفقاريات (Markl *et al.*,1989;Franko *et al.*,1987;Godsave *et al.*,1986)، ويبدو أنّ النمط الثاني (الأساسي) من السيتوكيراتين كان أكثر شيوعاً في الأنسجة العصبية (Holder *et al.*,1990;Giordano *et al.*,1990). وفي دراسة (Bodega *et al.*,1995) تبين تطور تعبير النمط الثاني من السيتوكيراتين في الحبل الشوكي عند الفقاريات البالغة المختلفة باستخدام التقنية المناعية immunohistochemical anti-CK، إذ كان تعبير هذا النمط من السيتوكيراتين أقوى في الفقاريات الدنيا، وخاصة البرمائيات عديمة الذنب، منه في الفقاريات العليا، ولم يتم العثور على أي تعبير لهذا النمط من السيتوكيراتين في الزواحف أو الطيور، كما أظهر تعبيراً ضعيفاً في الثدييات. كما درس (Pankov *et al.*,1987) سيتوكيراتين الكبد الفقاري كدراسة مقارنة، لهيكل وتركيب الخيوط المتوسطة المعزولة من كبد ممثلين صفوف الفقاريات المختلفة بواسطة المجهر الإلكتروني والطرائق الكيميائية الحيوية المناعية، بينت هذه الدراسة وجود بروتين واحد فقط من النمط الثاني (الأساسي) للسيتوكيراتين موجود في جميع صفوف الفقاريات، بينما في الفقاريات الدنيا يوجد نوعان أو حتى ثلاثة أنواع من البروتينات من النمط الأول (الحمضي) للسيتوكيراتين تسهم في

تركيب الخيوط المتوسطة للكبد. وفي دراسة (Zourek et al., 2019; زريق وآخرون، 2019) تم تأكيد وجود السيتوكيراتين في الخلايا الظهارية لبعض أجزاء الجهاز الهضمي عند ثلاثة أنواع من الفقاريات الدنيا ( *Scylliorhinus canicula* و *Sparus aurata* و *Salamandra salamandra* ). لكن أي من هذه الدراسات لم تتطرق إلى استخدام السيتوكيراتين في تحديد مدى تطور النسيج إضافة إلى صلات القربى بين الكائنات الحية.

## أهمية البحث وأهدافه

تهدف الدراسة الحالية والتي تعد الأولى من نوعها محلياً وإقليمياً إلى إجراء مقارنة نسيجية مناعية لظاهرة الكبد عند نوعين من الفقاريات (البرمائيات والزواحف) باستخدام CK8/18 و CK-cocktail لمعرفة مدى تطور النسيج الحيوانية بالاعتماد على وجود أو غياب السيتوكيراتين ومدى كثافته في ظهارة الكبد.

## مواد البحث وطرائقه

### 1- المواد:

تم جمع 8 أفراد من كل نوع من مدينة اللاذقية في الفترة ما بين عامي (2017-2018 م):  
 - ضفدع الشجر (*Hyla savignyi*) (Audouin, 1829) من فصيلة: الشرغوفيات Hylidae.  
 - السلحفاة مهمازية الورك (*Testudo graeca*) (Linnaeus, 1758) من فصيلة: السلحفيات Testudinidae.

### 2- الطرائق:

تم الحصول على عينات الدراسة حية للمحافظة على بنية الكبد، ثم نقلت إلى مختبر كلية العلوم حيث جرى تخديرها باستخدام الكلوروفورم Chloroform، وبعد تشريح هذه الحيوانات عُزل الكبد وتم حفظه في محلول الفورمول 10% Formalin لمدة 24 ساعة على الأقل قبل اعداده للدراسة النسيجية. تم تحضير المقاطع النسيجية في قسم التشريح المرضي- مشفى تشرين، حيث اعتمدت طريقة (Dabbs, 2018) في تحضير النسيج ومعاملتها بالكواشف المناعية وهي CK-cocktail و CK8/18. مع العلم أن CK-cocktail أو AE1/AE3 عبارة عن مزيج من جسمين مضادين مختلفين، AE1 يكشف عن السيتوكيراتين (الحمضي) ذي الوزن الجزيئي العالي 10,14,15,16 وأيضاً السيتوكيراتين ذي الوزن الجزيئي المنخفض 19، أما AE3 فيكشف عن السيتوكيراتين (الأساسي) ذي الوزن الجزيئي العالي 1,2,3,4,5,6 وأيضاً السيتوكيراتين ذي الوزن الجزيئي المنخفض 7,8. بينما CK8/18 أو cam 5.2 عبارة عن أجسام مضادة تتعرف على السيتوكيراتين 8 و 18.

## النتائج والمناقشة

### 1. النتائج:

#### 1- ضفدع الشجر *Hyla savignyi*:

#### Morphological description of liver للكبد الوصف المورفولوجي

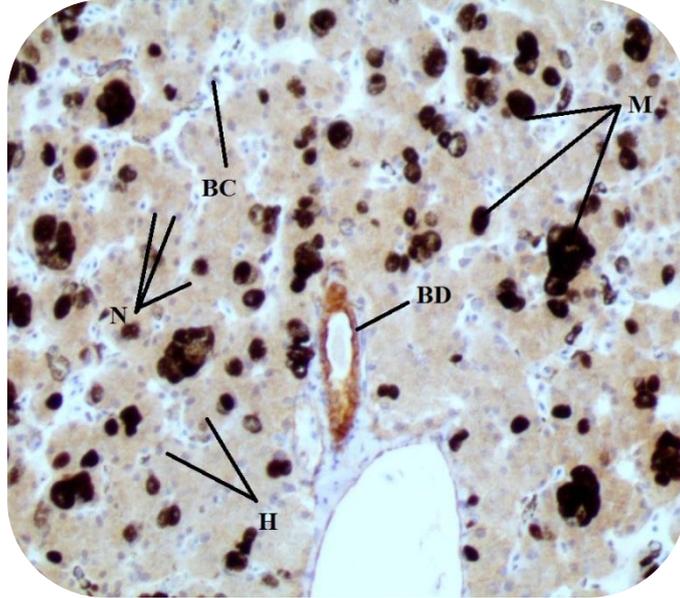
يقع الكبد عند ضفدع الشجر في التجويف البطني بالقرب من القلب والرئتين، لونه بني داكن، يتكون من فصين أيمن وأيسر، الفص الأيسر أكبر قليلاً من الفص الأيمن، ويتميز بوجود شق في طرفه السفلي. المرارة كبيرة تتوضع أسفل الفص الأيمن الشكل (1).



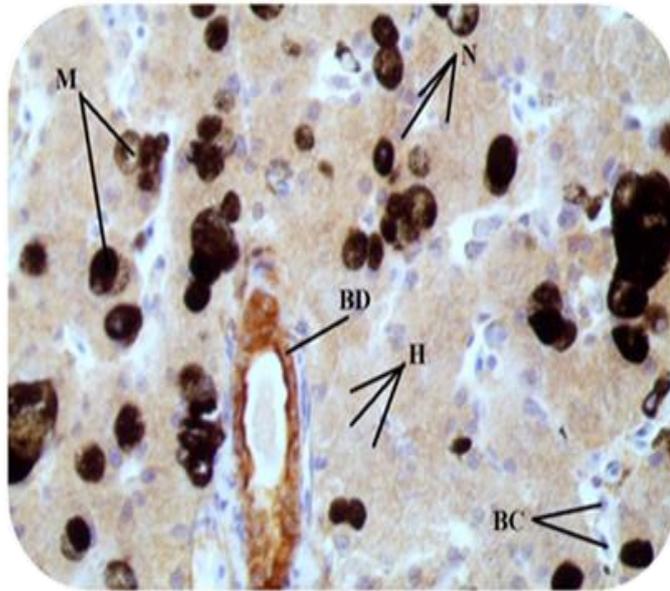
الشكل (1): يوضح أحشاء ضفدع الشجر *Hyla savignyi*: 1- الرئة Lung. 2- القلب Heart. 3- الفص الأيسر من الكبد Left lobe. 4- الفص الأيمن من الكبد Right lobe. 5- المرارة Gall bladder.

#### الدراسة الكيمائية النسيجية المناعية للكبد Immunohistochemical study of the liver

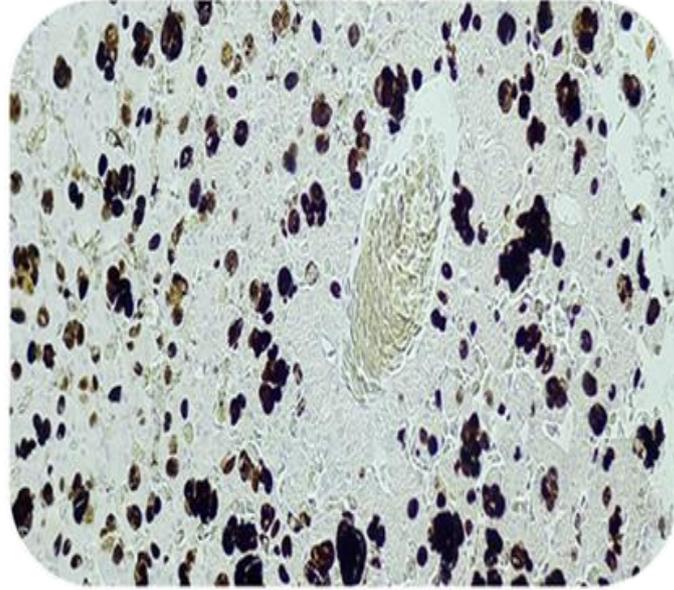
بينت الدراسة النسيجية لكبد ضفدع الشجر *Hyla savignyi*، باستخدام الأجسام المضادة لسيتوكيراتين كوككتيل anti-cytokeratin cocktail تلوّناً شديداً (+3) للقناة الصفراوية Bile duct، وتلوّناً متوسطاً (+2) لسيتوبلازما الخلايا الكبدية Hepatocytes، وظهور كل من نوى كريات الدم الحمراء Blood cells ونوى Nuclei الخلايا الكبدية بلون بنفسجي دليل على عدم تلوّنها بالسيتوكيراتين كوككتيل الشكل (2,3). أما عند استخدام الأجسام المضادة لسيتوكيراتين 8/18 فكان التلوّن سلبياً تماماً للنسيج الحشوي الكبدى الشكل (4,5).



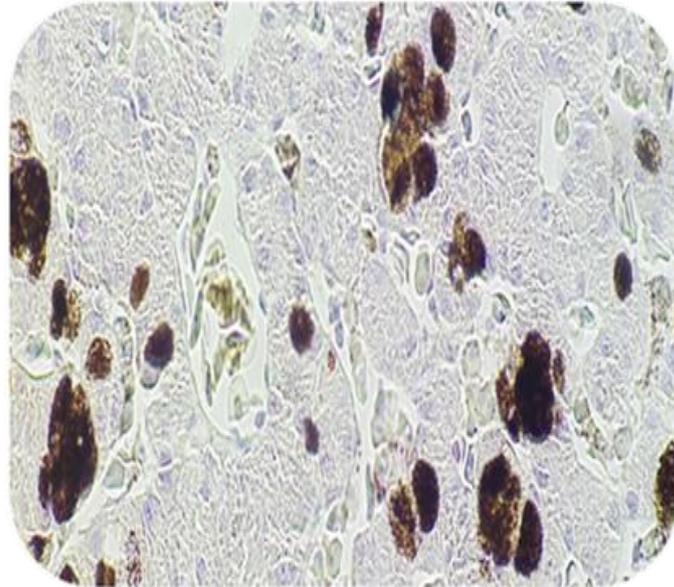
الشكل (2): مقطع عرضي في كبد ضفدع الشجر *Hyla savignyi* يوضح تلون سيتوبلاسما الخلايا الكبدية (H) والقناة الصفراوية (BD) بالسيتوكيراتين كوكتيل وعدم تلون كل من نوى الخلايا الكبدية (N) ونوى كريات الدم الحمراء (BC). البالعات الملانينية (M) (cytokeratin cocktail  $\times 100$ ).



الشكل (3): مقطع عرضي في كبد ضفدع الشجر *Hyla savignyi* يوضح: الخلايا الكبدية (H)، القناة الصفراوية (BD)، نوى الخلايا الكبدية (N)، كريات الدم الحمراء (BC)، البالعات الملانينية (M). (cytokeratin cocktail  $\times 200$ ).



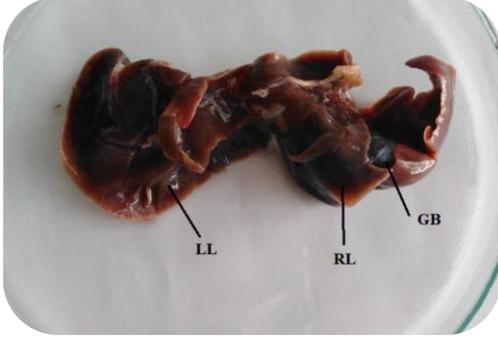
الشكل (4): مقطع عرضي في كبد ضفدع الشجر *Hyla savignyi* يوضح عدم تلون النسيج الكبدي (CK 8/18 ×100).



الشكل (5): مقطع عرضي في كبد ضفدع الشجر *Hyla savignyi* يوضح عدم تلون النسيج الكبدي (CK 8/18 ×400).

2- السلحفاة مهمازية الورك *Testudo graeca*  
الوصف المورفولوجي للكبد Morphological description of liver

يتوضع الكبد عند السلحفاة في التجويف البطني بشكل مستعرض بالنسبة إلى المحور الطولي للجسم، لونه بني داكن. يتألف الكبد من فصين: فص أيمن Right lobe وفص أيسر Left lobe. الفص الأيسر أكبر قليلاً من الفص الأيمن. تتوضع المرارة أسفل الفص الأيمن الشكل (6,7).



الشكل (7): يوضح كبد السلحفاة *Testudo graeca*:  
الفص الأيسر (LL) الفص الأيسر Left lobe (RL). الفص الأيمن  
Right lobe (GB). المرارة Gall bladder.

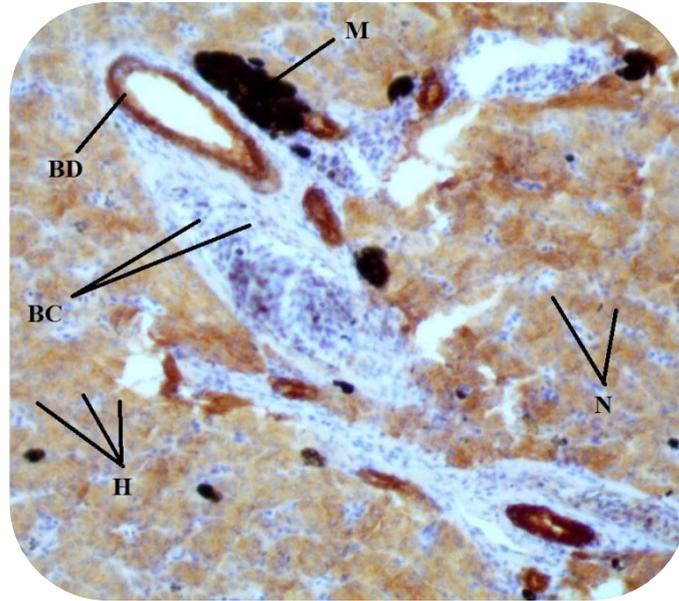


الشكل (6): يوضح أحشاء السلحفاة *Testudo graeca*:  
1- الفص الأيسر من الكبد. 2- الفص الأيمن من الكبد.  
3- القلب. 4- الأمعاء الغليظة. 5- الأمعاء الدقيقة.

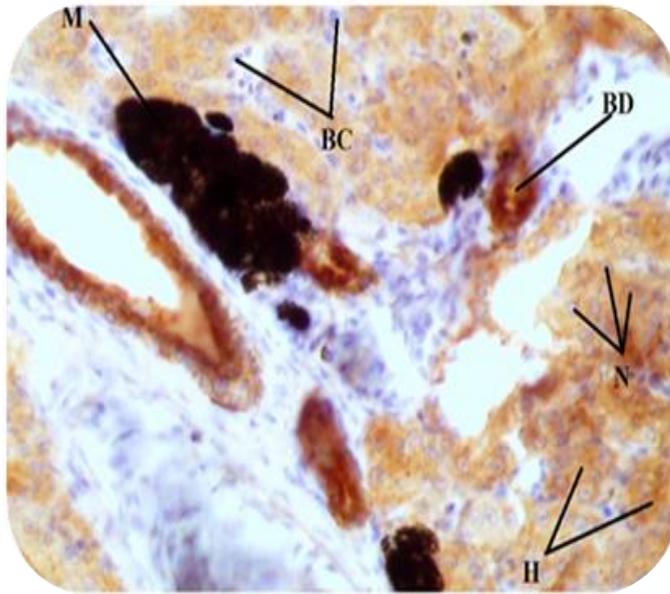
#### الدراسة الكيميائية النسيجية المناعية للكبد Immunohistochemical study of the liver

أظهرت الدراسة النسيجية لكبد السلحفاة مهمازية الورك *Testudo graeca* باستخدام الأجسام المضادة لسيبتوكيراتين كوكتيل cytokeratin cocktail تلوّناً شديداً جداً (+4) للأقنية الصفراوية Bile ducts وتلوّناً شديداً (+3) لسيبتوبلازما الخلايا الكبدية Hepatocytes الذي يكون أكثر مقارنة مع تلوّن سيبتوبلازما الخلايا الكبدية عند الضفدع، وعدم تلوّن النسيج الضام وظهارة الأوعية الدموية، وظهور كل من نوى Nuclei الخلايا الكبدية ونوى كريات الدم الحمراء Blood cells بلون بنفسجي يدل على عدم تلوّنها بالسيبتوكيراتين كوكتيل، الشكل (8,9). أما عند استخدام الأجسام المضادة لسيبتوكيراتين 8/18 ظهر تلوّن إيجابي واضح لكل من سيبتوبلازما الخلايا الكبدية (+3) والأقنية الصفراوية (+4)، وكان تلوّن النسيج الضام سلبياً، وكذلك نوى الخلايا الكبدية سلبية التلوّن تظهر بلون بنفسجي الشكل (10,11).

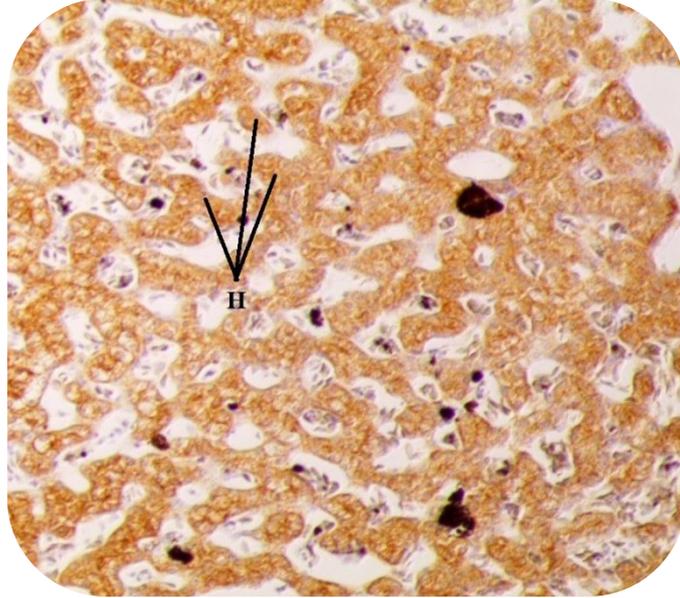
نلخص النتائج المتعلقة بتوزع CK-cocktail و CK8/18 في كبد الأنواع المدروسة في الجدول (1).



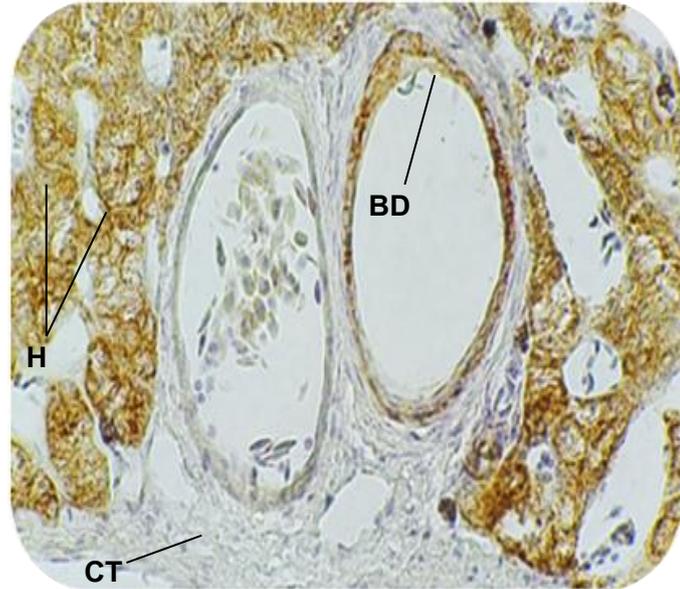
الشكل (8): مقطع عرضي في كبد السلحفاة *Testudo graeca* يوضح تلوّن سيتوبلازما الخلايا الكبدية (H) والقناة الصفراوية (BD) بالسيتوكيراتين و عدم تلوّن كل من نوى الخلايا الكبدية (N) ونوى الكريات الدم الحمراء (BC). البالعات الملانينية (M) (cytokeratin cocktail  $\times 100$ ).



الشكل (9): مقطع عرضي في كبد السلحفاة *Testudo graeca* يوضح: الخلايا الكبدية (H)، القناة الصفراوية (BD)، نوى الخلايا الكبدية (N)، الكريات الدم الحمراء (BC)، البالعات الملانينية (M) . (cytokeratin cocktail  $\times 200$ ).



الشكل (10): مقطع عرضي في كبد السلحفاة *Testudo graeca* يوضح تلوّن إيجابي لسيتوبلازما الخلايا الكبدية (H) (CK 8/18 × 100).



الشكل (11): مقطع عرضي في كبد السلحفاة *Testudo graeca* يوضح تلوّن إيجابي لسيتوبلازما الخلايا الكبدية (H) والقناة الصفراوية (BD) وعدم تلوّن النسيج الضام (CT). (CK 8/18 × 400).

الجدول (1) توزع CK-cocktail و CK8/18 في سيتوبلازما الخلايا الكبدية والأقنية الصفراوية لكبد الأنواع المدروسة.

| CK8/18           |                            | CK-cocktail      |                            | الأنواع المدروسة      |
|------------------|----------------------------|------------------|----------------------------|-----------------------|
| القناة الصفراوية | سيتوبلازما الخلايا الكبدية | القناة الصفراوية | سيتوبلازما الخلايا الكبدية |                       |
| -                | -                          | +++              | ++                         | <i>Hyla savignyi</i>  |
| ++++             | +++                        | ++++             | +++                        | <i>Testudo graeca</i> |

\*++++ = تلون شديد جداً، +++ = تلون شديد، ++ = تلون متوسط (معتدل)، + = تلون خفيف، - = تلون معدوم.

## 2. المناقشة:

تمثل نتائجنا أول دراسة نسيجية مناعية محلية وإقليمية مقارنة للسيتوكيراتين كوكتيل وسيتوكيراتين 8/18 في ظاهرة الكبد عند الضفدع (*Hyla savignyi*) والسلفحاة (*Testudo graeca*). فبالمقارنة مع كثرة البيانات المتوفرة عن بروتينات الخيوط المتوسطة في الفقاريات العليا فإن المعلومات عن تنوع هذه البروتينات وتعبيرها في البرمائيات والزواحف تعد قليلة جداً. بيّنت النتائج أن كل من سيتوبلازما الخلايا الكبدية وخلايا الأقنية الصفراوية في الأنواع المدروسة أبدت إيجابية متفاوتة مع CK-cocktail، أما عند معالجتها بـ CK8/18 نلاحظ أنها تلوّنت بوضوح عند السلفحاة مهمازية الورك على عكس ضفدع الشجر الذي كان تعبيرها تجاه CK8/18 سلبي تماماً. تضاف نتائج دراستنا لنتائج الباحثين: (Bunton,1993) الذي قام بإجراء مقارنة نسيجية مناعية بين كبد نوعين من الأسماك Striped bass و Medaka مع كبد أربع أنواع من الثدييات (Cat، Hedgehog، Ground hog، Sloth bear) باستخدام CK-cocktail، حيث وجد أن سيتوبلازما الخلايا الكبدية عند كل من Ground hog و Sloth bear أبدت إيجابية متفاوتة مع CK-cocktail على عكس Cat، Hedgehog، Striped bass و Medaka الذين أبدوا سلبية واضحة، بينما خلايا الأقنية الصفراوية تلوّنت بشدة بـ CK-cocktail عند كل من Cat، Hedgehog، Ground hog و Striped bass وتلوّن معتدل عند Sloth bear وتلوّن خفيف عند Medaka. وفي دراسة لـ (Zourek et al.,2019) قاموا بإجراء دراسة مقارنة لتوزع بعض أنواع السيتوكيراتين (CK7,CK20,CK-cocktail) في الخلايا الظهارية لبعض أجزاء الجهاز الهضمي عند ثلاثة أنواع من الفقاريات الدنيا (*Scyliorhinus canicula* و *Sparus aurata* و *Salamandra salamandra*)، وأكدوا على تلوّن نسج كل من المري والمعدة والمعوي بـ CK-cocktail بنسب متفاوتة كان أشدها في مري *Sparus aurata* وأقلها في معوي *Salamandra salamandra* ومعدة ومعوي *Scyliorhinus canicula*. وفي دراسة أخرى لـ (زريق وآخرون، 2019) أثبت وجود السيتوكيراتين في أجزاء القناة الهضمية للقرش *Scyliorhinus canicula* من خلال إجراء دراسة كيميائية نسيجية مناعية باستخدام الأجسام المضادة للسيتوكيراتين. كما أن (Alibardi,2002) قام بدراسة كيميائية مناعية حول توضع الكيراتين في بشرة الأسماك والبرمائيات باستخدام الأجسام المضادة للكيراتين، وأكد أنه في الأسماك الغضروفية والعظمية كان التلوّن بالكيراتين الحامضي AE1 والأساسي AE3 إيجابي بشدة ونمط التوزع كان

موحداً في جميع طبقات البشرة، أما عند البرمائيات عديمة الذنب (*Rana esculenta* و *Bufo viridis*) فقد تم العثور على AE1 بشكل رئيسي في الطبقات القاعدية بينما AE3 لَوْن البشرة بشكل كامل. وفي دراسة لـ *Philautus annanalii* باستخدام الأجسام المضادة للسيٲوكيرائين كوكتيل، إذ بيّن أن التفاعل المناعي للسيٲوكيرائين هو الأقوى في الصفوف المتوسطة إلى الخلايا القاعدية للبشرة، بينما أظهر ما تبقى من البشرة (أي طبقة الخلايا السطحية) تفاعلاً مناعياً ضعيفاً. كما درس (Maurizii et al.,2000) تنظيم وتوصيف الهيكل الخلوي الكيرائيني في جريب المبيض عند السحلية *Podarcis sicula* ، حيث تم في هذه الدراسة التحليل المقارن باستخدام الوسم المناعي SDS-PAGE والوسم المناعي بواسطة الأجسام المضادة CK8, CK18, CK19 لكل من جريبات المبيض والأمعاء في هذه السحلية، حيث بيّنت هذه الدراسة أيضاً أن جريب مبيض هذا الزاحف يحوي على أشكال من الكيرائين من مثيلات CK8,CK18 من الثدييات وعدم وجود CK19. من خلال دراستنا والدراسات السابقة نوّكد وجود السيٲوكيرائين في البرمائيات والزواحف، لكن من الصعب علينا مقارنة تطور هذه الفقاريات اعتماداً على توزع CK-cocktail و CK8/18 لتحديد أي الفقاريات المدروسة أكثر تطوراً مع أننا نرجح من خلال هذه الدراسة أن السلفاة مهمازية الورك هي الأكثر تطوراً بحسب توزّع وغزارة CK-cocktail و CK8/18 في ظهارة كبدها. أما في كبد الضفدع فكان CK-cocktail إيجابي بنسب متفاوتة و CK8/18 كان سلبياً.

## الاستنتاجات والتوصيات:

### 1- الاستنتاجات:

- ترجّح هذه الدراسة أن كبد السلاحف (الزواحف) أكثر تطوراً من كبد الضفدع (البرمائيات) بالاعتماد على السيٲوكيرائين كوكتيل.
- ترجّح هذه الدراسة بالاعتماد على السيٲوكيرائين 8/18 أن كبد السلاحف (الزواحف) أكثر تطوراً من كبد الضفدع (البرمائيات).

### 2- التوصيات:

- استخدام أجهزة أكثر دقة كالمجهر الإلكتروني.
- استخدام تقانات حديثة كتقانة RAPD في دراسات البيولوجيا الجزيئية.
- اجراء دراسات نسيجية مناعية مقارنة باستخدام السيٲوكيرائين على أعضاء أخرى كالمناسل والكلى والبنكرياس ومقارنتها مع نتائج دراستنا لإثبات عملية التطور.
- اجراء دراسات نسيجية مناعية مقارنة باستخدام السيٲوكيرائين على حيوانات من صفوف أعلى كالطيور والثدييات ومقارنتها مع نتائج دراستنا للتحقق من عملية التطور.

## المراجع:

- ❖ زريق، سيرين؛ ابراهيم، نهلة و اسماعيل، صالح. 2019. دراسة تشريحية نسيجية مناعية للقناة الهضمية للنوع *Scyliorhinus canicula* من الأسماك الغضروفية. مجلة جامعة طرطوس للبحوث والدراسات العلمية. سلسلة العلوم الأساسية، المجلد (الثالث)، العدد (الثاني).
- ❖ ALIBARDI, L. 2002, *Immunocytochemical localization of keratins, associated proteins and uptake of histidine in the epidermis of fish and amphibian*. *Acta histochemical*, vol. 104, N° 3, 297-310.
- ❖ BERSHADSKY, A.D., and VASILIEV, J.M. 2012, *Cytoskeleton*. Springer Science & Business Media.
- ❖ BODEGA, G; SUAREZ, I; RUBIO, M and FERNANDEZ, B. 1995, *Type II cytokeratin expression in adult vertebrate spinal cord*. *Tissue and Cell*, vol. 27, N° 5, 555-559.
- ❖ BUNTON, T, E. 1993, *The immunocytochemistry of cytokeratin in fish tissues*. *Veterinary Pathology*, vol. 30, N° 5, 418-425.
- ❖ CHAKRABORTI, S; NAG, T, C; DAS, D; SANYAL CHATTERJEE, T and DE, S, K. 2014, *Cytokeratin localization in toe pads of the anuran amphibian *Philautus annandalii* (Boulenger, 1906)*. *Tissue and Cell*, vol. 46, N° 3, 165-169.
- ❖ CHU, P, G and WEISS, L, M. 2002, *Keratin expression in human tissues and neoplasms*. *Histopathology*, vol. 40, N° 5, 403-439.
- ❖ COOPER, G, M and HAUSMAN, R, E. 2000, *The cell: a molecular approach*. ASM press Washington, DC, vol. 10.
- ❖ DABBS, D, J. 2018, *Diagnostic Immunohistochemistry: Theranostic and Genomic Applications*. edition (5) Elsevier.
- ❖ FRANKO, M, C; GIBBS, C, J; RHOADES, D, A and GAJDUSEK, D, C. 1987, *Monoclonal antibody analysis of keratin expression in the central nervous system*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 84, N° 10, 3482-3485.
- ❖ FUCHS, E and CLEVELAND, D, W. 1998, *A structural scaffolding of intermediate filaments in health and disease*. *Science*, vol. 279, N° 5350, 514-519.
- ❖ GIORDANO, S; HALL, C; QUITSCHKE, W; GLASGOW, E and SCHECHTER, N. 1990, *Keratin 8 of simple epithelia is expressed in glia of the goldfish nervous system*. *Differentiation*, vol. 44, N° 3, 163-172.
- ❖ GODSAVE, S, F; ANDERTON, B, H and WYLIE, C, C. 1986, *The appearance and distribution of intermediate filament proteins during differentiation of the central nervous system, skin and notochord of *Xenopus laevis**. *Development*, vol. 97, N° 1, 201-223.
- ❖ HEAPHY, C, M; SUBHAWONG, A, P; HONG, S; GOGGINS, M, G; MONTGOMERY, E, A; GABRIELSON, E; NETTO, G, J; EPSTEIN, J, I; LOTAN, T, L and WESTRA, W, H. 2011, *Prevalence of the alternative lengthening of telomeres*

*telomere maintenance mechanism in human cancer subtypes. The American journal of pathology*, vol.179, N° .4, 1608-1615.

❖ HERRMANN, H; BÄR, H; KREPLAK, L; STRELKOV, S, V and AEBI, U. 2007, *Intermediate filaments: from cell architecture to nanomechanics. Nature reviews Molecular cell biology*, vol.8, N° .7, 562-573.

❖ HOLDER, N; CLARKE, J, D, W; KAMALATI, T and LANE, E, B. 1990, *Heterogeneity in spinal radial glia demonstrated by intermediate filament expression and HRP labelling. Journal of neurocytology*, vol.19, N° .6, 915-928.

❖ LANE, E, B and ALEXANDER, C, M. 1990, *Use of keratin antibodies in tumor diagnosis. Seminars in cancer biology*, vol.1, N° .3, 165-179.

❖ MARKL, J; WINTER, S and FRANKE, W, W. 1989, *The catalog and the expression complexity of cytokeratins in a lower vertebrate: biochemical identification of cytokeratins in a teleost fish, the rainbow trout. European journal of cell biology*, vol.50, N° .1, 1-16.

❖ MAURIZII, M. G; ALIBARDI, L and TADDEI, C. 2000, *Organization and characterization of the keratin cytoskeleton in the previtellogenic ovarian follicle of the lizard Podarcis sicula Raf, molecular reproduction and development*, vol.57, N° .2, 159-166.

❖ MOLL, R; DIVO, M and LANGBEIN, L. 2008, *The human keratins: biology and pathology. Histochemistry and cell biology*, vol.129, N° .6, 705-733.

❖ PANKOV, R, G; USCHEWA, A, A; TASHEVA, B, T and MARKOV, G, G. 1987, *Vertebrate liver cytokeratins: a comparative study. Biochemistry and Cell Biology*, vol.65, N° .6, 547-557.

❖ REKHTMAN, N and BISHOP, J, A. 2011, *Quick reference handbook for surgical pathologists. Springer.*

❖ ZOUREIK, S; IBRAHEM, N and ISMAIEL, S. 2019, *A Comparative Study on the Distribution of Some Cytokeratins in Specific Parts of the Digestive System Epithelium in Three Lower Vertebrate Species. SSRG International Journal of Agriculture & Environmental Science*, vol.6, N° .1, 56-61.