متوفرة على الموقع:http://www.basra-sciencejournal.org

ISSN –1817 –2695

# دراسة كيميائية نسجية لتوزيع الجسيمات الكلسية ودورها في الدودة الشريطية *Amphicotyle heteropleura* (Desind,1850)

سندس نذير حميد الكلاك وبشرى حسن سعيد النعيمي وبثينة حاتم هاشم السبعاوي

*فرع العلوم الطبية الأساسية / كلية التمريض*

*فرع التشريح / كلية طب الموصل*

*جامعة الموصل*

الاستلام 31-5-2011، القبول 22-4-2012

**الخلاصة**

تكشفت نتائج الدراسة الحالية التي تناولت الجوانب الكيميائية النسجية لتوزيع الجسيمات الكلسية Calcareous corpuscles في الدودة الشريطية *Amphicotyle heteropleura* من خلال تقنية vk(Von kossa) .ان توزيع هذه الجسيمات الكلسية كانت بوفرة في الأعضاء الفعالة وذات الايض العالي للدودة مثل الأجهزة التناسلية (الأنثوية والذكرية)،الغدد المحية،العضلات الطولية والنسيج الحشوي. كما اتضح من نتائج الدراسة الحالية وجود تباين في شكل الجسيمات الكلسية والتي أظهرت تعددا شكليا في ذلك، مما يؤدي إلى زيادة في الخلفية المعلوماتية عن تلك الجسيمات وتداخل دورها مع مختلف الفعاليات الايضية ومع عملية التعدين البيولوجي (الحيوي) Biomineralizatiom الذي تؤديه الدودة داخل جسمها لضمان استمرار الدودة الشريطية وديمومة تطفلها في مضيفها.

**الكلمات المفتاحية** :الجسيمات الكلسية،تعدد شكليpolymorphism ،الديدان الشريطية، الديدان المسطحة، كيمياء النسج

## 1- المقدمة

تعد الأسماك مضيفات لعدد كبير من الطفيليات، فمنها ما هو مرضي للأسماك أو قد يكون مرضيا للفقريات من آكلات اللحوم ومن ضمنها الإنسان (1) إذ تصاب الأسماك بمدى واسع من الطفيليات منها الابتدائيات والديدان المسطحة والقشريات (2). حظيت دراسة مختلف الطفيليات وتشخيصها باهتمام كبير من لدن الباحثين، فقد أنجزت العديد من الدراسات وجرى تأليف العديد من الكتب في هذا المجال المتزايد الأهمية منها محيسن(3 و4). تشتمل الديدان

المسطحة كغيرها من الكائنات قدرتها على تكوين متحجرات معدنية، يطلق عليها في الديدان الشريطية بالجسيمات الكلسية، وعلى الرغم من أن الوظيفة الدقيقة لهذه الجسيمات لا تزال غير واضحة بشكل كبير، إلا أنها قد تسهم في بقاء الطفيلي داخل جسم المضيف. وقد وجد أنها تتكون نتيجة ترسبات بؤرية لكميات فائضة من الكالسيوم تقي الطور اليرقي للدودة من عمليات التكلس (5). أجريت دراسات عديدة على هذه التحجرات في أنواع مختلفة من الشريطيات داخل وخارج الجسم الحي نتجت عنها فرضيات عديدة حول مصدر تركيب وطريقة تكوين هذه الجسيمات اذ يعتقد بان هذه الجسيمات تتكون داخل وخارج الخلية، كما تتباين الخلايا بشكل واضح في مواقع تكوين وميكانيكية هذه الترسبات المعدنية(6). وإن دراسة Vargas-Parada, (6) *et al.*, (1999) وجدوا الجسيمات الكلسية في الكيسانيات المذنبة للدودة الشريطية *Teania solium* وكان مصدرها هو داخل خلوي،كذلك تتكون الجسيمات خارج خلوي في أنواع عديدة من الشريطيات في تجويف القناة الابرازية بطريقة مشابهة لما افترض في المثقوبات.

إن عدم الوضوح الكامل لأهمية هذه الجسيمات حدا بعدد من الباحثين إلى دراسة التركيب الكيميائي لها ووجدوا من خلال دراستهم تباينا كبيرا في التركيبة الكيميائية، اذ وجد(7)(2008) Mario, *et al.*, أن هذه الجسيمات تشكل ما يقارب 40% من الوزن الجاف للدودة الشريطية *Mesocestoides corti* كما أشارت الدراسة نفسها (اعتمد فيها على انحراف الأشعة السينية) بان المكونات المعدنية الرئيسة للجسيمات تشتمل على الشكل المائي لكاربونات الكالسيوم وكاربونات الكالسيوم المائية الأحادية. في حين أشار Park, *et al.*,(2005)(8) إلى احتواء هذه الجسيمات على أنواع عديدة من المكونات البروتينية ومواد أخرى ذي فعالية بروتينية للطور اليرقي Spargana للدودة الشريطية *Spirometra erinacei* . ولأهمية معدن الكالسيوم في حياة الديدان الشريطية وعلى الرغم من أن هناك بحوثا عديدة تناولت هذا الموضوع من جوانب مختلفة شملت مواقع ووظيفة وطريقة تكوين الجسيمات الكلسية (9–13) إلا انه لازالت الأبحاث مستمرة تدعم ما توصل إليه الباحثون السابقون اذ اتضح من خلال البحث والتقصي في هذا الموضوع، عدم توافر مصادر علمية محلية كافية تعنى بدراسة الجسيمات الكلسية والتعدد الشكلي لها وما يؤول له دورها الوظيفي في حياتية وتطور الديدان الشريطية والديدان الطفيلية قاطبة، باستثناء ما قامت به الكلاك (14)(2001) عدت المبحث الأول فأفادت فيه تموضع الجسيمات الكلسية في الطور البالغ لأنموذجين من الشريطيات Monozoic and polyzoic ، وتوافرت دراسة أخرى استدل من نتائجها وفرة الجسيمات الكلسية المكونة في مختلف أعضاء الدودة الكبدية *Fasciola gigantica* أنجزت من الكلاك وآخرين (2006)(15)، في حين خلصت دراسة الكلاك (2010)(16) وجود وفرة من التعدد الشكلي للجسيمات الكلسية في الدودة الشريطية *Bothriocephalus acheilognathi* .من هنا تعين من خلال الدراسات الجارية في أعلاه، لابد من صياغة هدف الدراسة الحالية ليضيف مصدرا علميا حديثا في هذا المجال.

**2- المواد وطرائق العمل**

جمعت 30 سمكة من اسماك الحمري *Barbus luteus* المصطادة حديثا من منطقة سد الموصل في محافظة نينوى شمال العراق. جلبت الأسماك إلى المختبر ونزعت الأمعاء منها ووضعت في أوان خاصة هيئت لهذا الغرض احتوت عل محلول ملحي فسلجي 0.6%، فتحت الأمعاء للبحث عن الديدان الشريطية *A. heteropleura* وأزيلت بوساطة فرشاة صغيرة، وجمعت بمعدل 20 أنموذجا حيا وغسلت بالماء المقطر من بقايا

الغشاء المخاطي العالقة بها. ثبتت الديدان الشريطية بالفورمالين المنظم المتعادل 10% وطمرت بقوالب شمع البارافين، حضرت المقاطع الطولية والعرضية النسيجية بعد أن قطعت بسمك 7 مايكرون باستخدام المشراح الدوار Microtome، استخدمت تقنية Von Kossa (VK) للتقصي عن عنصر الكالسيوم وتكوينه للجسيمات الكلسية في النسيج الحي وحسب ما ورد في(17).

## 3- النتائج

اتضح من تتبع المقاطع النسجية للدودة الشريطية *A. heteropleura* المتفاعلة مع تقنية (VK) وفرة الجسيمات الكلسية والتي تباينت في أشكالها وأحجامها وبدت بتعدد شكلي باختلاف الأنسجة والأعضاء (الجدول 1) و(الصور 1-7). لوحظ في منطقة الرؤيس وفرة من التجمعات العنقودية من الجسيمات في النسيج الحشوي وأعداد كبيرة من الحبيبات الكلسية متناثرة في جليد وأجسام خلايا البشرة cytons، ونتيجة تتبع توزيع الجسيمات الكلسية في قطع الشريط الجسمي تبين أن هناك تعددا شكليا في أنسجة القطع غير الناضجة والناضجة والحبلى، كانت على هيئة حبيبات متناثرة وأخرى على شكل تجمع عنقودي Cluster وكذلك شوهدت بشكل تجمعات في داخل الأنسجة مع توافر تلك الجسيمات في جليد وأجسام خلايا البشرة والعضلات الطولية والنسيج الحشوي (الصورة1و2). كما لوحظ وفرة من التعدد الشكلي وبأحجام مختلفة في أنسجة الأعضاء التكاثرية والبيوض والقناة الابرازية (الصور4-7)، في حين أظهرت القطع الحبلى أعدادا ضئيلة من الجسيمات الكلسية متناثرة في النسيج الحشوي. شوهدت كميات وفيرة من الشكل العنقودي للجسيمات في المبيض والغدد المحية (الصورتان3 ،4 ).

**جدول(1): مواقع وتركيز وأشكال الجسيمات الكلسية في أنسجة وأعضاء الدودة الشريطية *Amphicotyle heteropleura***

| أنسجة وأعضاء الدودة الشريطية | التركيز | الأشكال |
|---|---|---|
| الجليد Tegument | +++ | حبيبات متناثرة على طول الشريط الجسمي |
| خلايا البشرة(السايتونات)Cytons | +++ | أشكال متناثرة وتجمعات كثيفة على طول الشريط الجسمي |
| العضلات الطولية | ++++/ في القطع الناضجة<br>+++/في القطع الحبلى | حبيبات متناثرة وتجمعات على شكل عناقيد في القطع الناضجة والحبلى |
| النسيج الحشوي | ++/في القطع الناضجة<br>+++/في القطع الحبلى | حبيبات متناثرة في القطع الناضجة(تجمعات كثيفة+وحبيبات متناثرة) والشكل العنقودي في القطع الحبلى |
| الغدد المحية | ++++ | تجمعات متناثرة في القطع الحبلى وتجمعات عنقودية في القطع الناضجة |
| القناة الابرازية | ++ | تجمعات عنقودية في جدار القناة |
| الدهليز التناسلي | ++ | تجمعات عنقودية في جدار الدهليز |
| التفرعات الرحمية | ++++ | حبيبات متناثرة وحبيبات متجمعة وتجمعات عنقودية |
| البيوض | +++ | |
| المبيض | +++ | تجمعات عنقودية |
| الخصى | ++ | حبيبات متناثرة مختلفة الأشكال |
| كيس الذوّابة | ++ | حبيبات متناثرة مختلفة الأشكال |

++: متوسط التفاعل

+++/++++: شديدة التفاعل

## 4- المناقشة

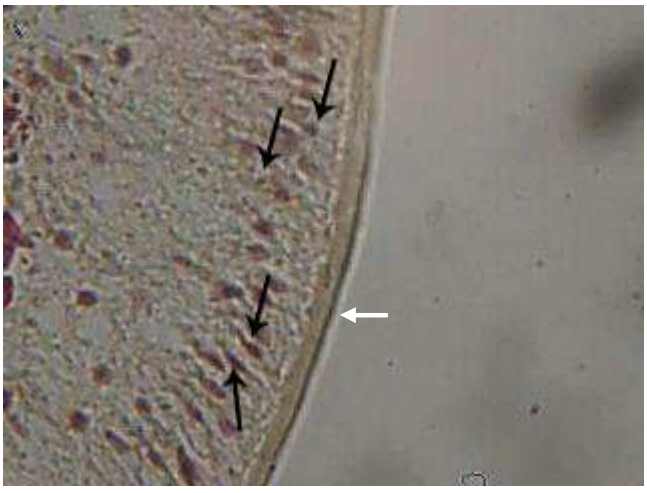
إن وجود عنصر الكالسيوم وتكوينه للجسيمات الكلسية له دلالات مهمة في الأنظمة البيولوجية للكائنات الحية ومنها الديدان المسطحة، أوضحت نتائج الدراسة الحالية عن وفرة الجسيمات الكلسية مكنونة في أنسجة وأعضاء الدودة الشريطية المتمثلة بالأجهزة الابرازية والأجهزة التناسلية فضلا عن النسيج الحشوي والغدد المحية ،مما يشير إلى دور هذه الجسيمات في تنظيم فعاليات تلك الأنسجة لبقاء وديمومة الطفيلي في مضيفه. كما شهد جليد الدودة وخلايا البشرة وجود الجسيمات الكلسية وعلى امتداد الدودة واتفقت نتائج الدراسة الحالية مع دراسة(11) اذ وجد زيادة خطية في عدد الجسيمات الكلسية في البشرة وفي المنطقة الجانبية للقناة الابرازية المسؤولة عن التنظيم الازموزي،حيث اعتقد بأن هذه الجسيمات تفرز من قبل الخلايا الحشوية ثم تصبح ضامرة مكونة جسيمات حرة إذ إن للخلايا الحشوية ألفة خاصة للارتباط بعنصر الكالسيوم(18).

عدت الجسيمات الكلسية تراكيب متميزة في المراحل اليرقية والأطوار البالغة في انسجة الديدان الشريطية(8،13،19). وأفادت عدد من الدراسات التي عنيت بهذا الصدد لأهميتها في ديمومة الطفيلي في مضيفاته لفترة طويلة على الرغم من وجود الاستجابة المناعية،إذ تمنع هذه الجسيمات عملية التكلس منذ الأطوار اليرقية للطفيليات. إن وجود الأطوار اليرقية وتطورها داخل معي مضيفاتها يكون محفوفا بالمخاطر لذلك كان لابد لهذه الديدان الشريطية أن توجه وسائلها الدفاعية من اجل البقاء على قيد الحياة طوال فترة النمو، لذلك تؤدي هذه الجسيمات دورا حاسما في الالتصاق الخلوي، وفي عملية الترميم والتنظيم الذي تعانيه الطفيليات في المراحل المختلفة من التطور، كما قد تعمل هذه الجسيمات على إعادة تنظيم الظروف المرضية المحيطة بها داخل معي مضيفاتها (6). وعليه توصي الدراسة الحالية إلى مزيد من الدراسات اللاحقة بشأن هذه الجسيمات للديدان الطفيلية وبأطوارها البالغة واليرقية قاطبة لغرض التفهم الأفضل لوظيفة الجسيمات، والوقوف على ماهية آلياتها. إن الإجابة على هذا التساؤل بالطبع ذات أهمية علمية لما توفره من معلومات أكاديمية وبأوجه مختلفة ربما تعد لبنة مهمة لاكتشاف طرائق دوائية علاجية للعديد من الأمراض الناجمة عن تلك اليرقات والأطوار البالغة.

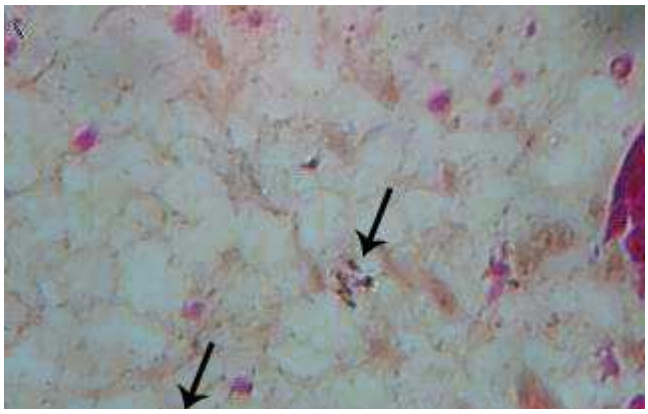
ومما تقدم يمكن أن يستدل على وجود علاقة وثيقة بين هذه الجسيمات وفسلجة الطفيلي وتطوره على الرغم من إن ميكانيكية تشكيلها تبدو متباينة اعتمادا على الحالات الايضية والصفات المميزة لكل نوع من الكائنات الحية(20 و21) وظهورها في تعدد شكلي في الديدان الطفيلية(14–16). وتعقيبا على أهمية هذه الجسيمات في نمو وتطور الطفيلي،وعدم الوضوح الكامل في وظيفتها، مما يتطلب اهتماما متزايدا لدراسة مكنونها المعدني ونسبها في الديدان الشريطية قاطبة تبعا لاختلاف مضايفها وغذائهم،فقد أشير إلى تباين نسب العناصر الكيميائية في الجسيمات الكلسية بمختلف الديدان الشريطية(22) . ،بينما أظهرت دراسة Von Brand and Nylen, (9)(1970) عدم وجود البروتين في الجسيمات الكلسية للدودة الشريطية *T. taniaeformis* أما (12) فقد تمكن من عزل بروتين الجسيمات الكلسية للطور اليرقي للدودة *T. solium*، وطالما كانت استنتاجات البحوث الحديثة مصادر مهمة مما أثار اهتمام العديد من الباحثين المعنيين بدراسة الجسيمات الكلسية واتجهت الأنظار منذ فترة ليست ببعيدة نحو دراسة مضمون تلك الجسيمات،فقد بين(7) Mario, *et al.*, (2008) أن جسيمات الدودة الشريطية *Mesocestoides corti* تشكل ما يقارب 40% من الوزن الجاف للدودة ، وبتقنية انحراف الأشعة السينية اثبتوا أن المكونات المعدنية الرئيسة لتلك الجسيمات تشتمل على الشكل المائي لكاربونات الكالسيوم وكاربونات الكالسيوم المائية

الأحادية،بينما أظهرت نتائج دراسة Park, *et al.*, (2005)(8) احتواء الجسيمات الكلسية على أنواع عديدة من المكونات البروتينية فضلا عن مواد أخرى ذي فعالية بروتينية للطور اليرقي للدودة *Spirometra erinacei*. لذا توصي الدراسة الحالية الى دراسات وافية لفهم الصفات الحيوية والصفات الجزيئية للجسيمات الكلسية.

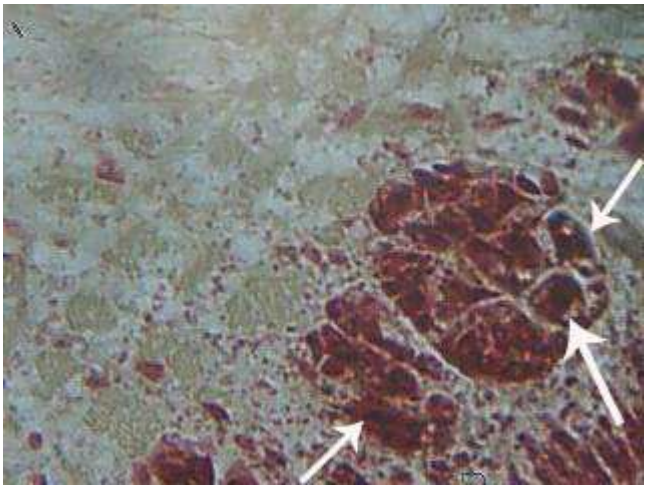
تتباين الجسيمات الكلسية في أشكالها وأحجامها(23) وفي هذا الخصوص أظهرت نتائج الدراسة الحالية تعددا شكليا للجسيمات الكلسية للدودة ربما يكون هذا ناتجا عن العمليات الايضية وفسلجة الأنسجة والأعضاء فضلا عن طبيعة مضمون مكنونها الحيوي وقد يكون مختلفا تبعا لما تتطلبه فسلجة النسيج وقابلية تكيف الطفيلي وتطوره الذي يخضع له باختلاف المضيف أو البيئة، لهذا بدت الغدد المحية والأعضاء التكاثرية بتوافر مختلف من الجسيمات الكلسية،مما يعكس دور وجود المعادن في مثل هذه الأعضاء الفعالة ،إذ يؤدي الكالسيوم دورا في تنشيط عدد من الأنزيمات التي تزداد فعاليتها بوجوده ويعمل على تنظيم نأدية مهامها الحيوية(24)، وإذ لابد من التمحيص والانتباه من لدن الباحثين نتيجة النقص الحاصل في أجهزة الديدان الشريطية مثل جهازي الدوران والهضم، فهذا لا يعني توقف في بعض الوظائف الحيوية بل لابد من توافر دعائم وظيفية مهمة كالجسيمات الكلسية تناط لها مهام فسلجية تسهم في الوظائف الحيوية(16) قد يكون هذا التوضيح مقبولا لتفسير وجودها. وإن محتواها الحيوي من المواد العضوية وغير العضوية ربما يعد مخزونا إضافيا فضلا عما هو متوافر من المحتوى الكيميائي الحيوي الأساس المتواجد في خلايا وأنسجة الديدان الطفيلية من جهة أخرى.وعليه توصي الدراسة الحالية بإجراء دراسات موسعة لفهم تركيبة ووظيفة الجسيمات الكلسية ودورها الحيوي حتى ضمن النوع الواحد في حياتية الديدان الطفيلية.



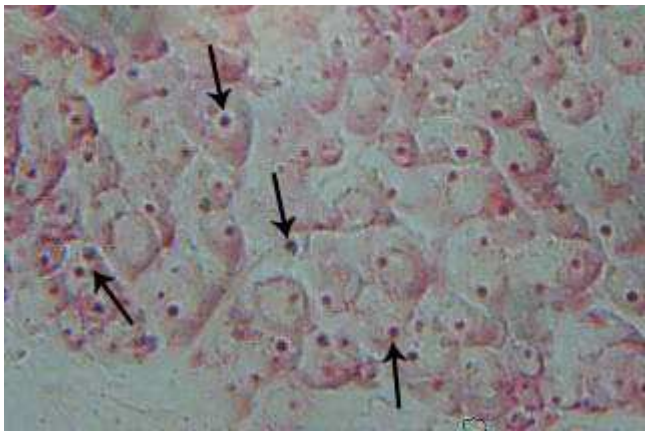
**صورة (1) : مقطع عرضي للدودة الشريطية *Amphicotyle heteropleura* يبين الجسيمات الكلسية في الجليد (السهم الأبيض) وخلايا تحت البشرة (السهم الأسود) (40x)**



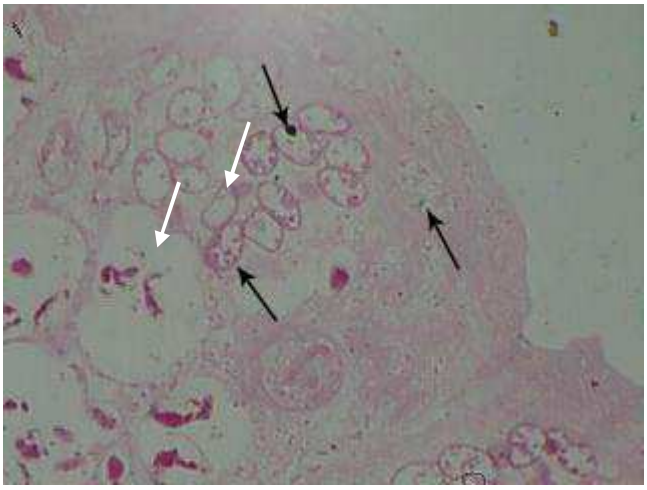
**صورة (2) : مقطع عرضي للدودة الشريطية**
***Amphicotyle heteropleura*** **تبين الجسيمات الكلسية في النسيج الحشوي (40x)**



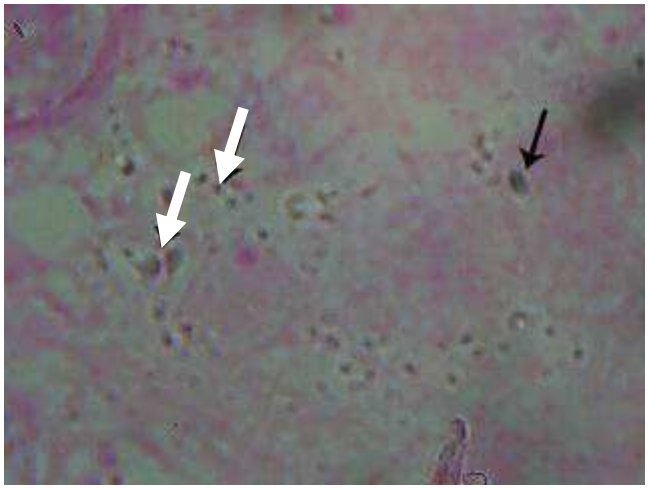
**صورة (3): مقطع عرضي للدودة الشريطية** ***Amphicotyle heteropleura***
**يبين الجسيمات الكلسية في الغدد المحية (40x)**



**صورة (4): مقطع عرضي للدودة الشريطية** ***Amphicotyle heteropleura***
**يبين الجسيمات الكلسية في المبيض (40X)**



**صورة (5): مقطع طولي للدودة الشريطية *Amphicotyle heteropleura* يبين الجسيمات الكلسية في الخصى(السهم الأسود) وكيس الذؤابة (السهم الأبيض)(40x)**



**صورة (6): مقطع طولي للدودة الشريطية *Amphicotyle heteropleura* يبين الجسيمات الكلسية في الدهليز التناسلي(السهم الأبيض) والقناة الابرازية (السهم الأسود) (40x)**

صورة (7): تبين الجسيمات الكلسية في بيوض الدودة الشريطية *Amphicotyle heteropleura (40x)*

**5-المصادر**


**1- Siam** MA., Salem GH., Ghoneim NH., Micheal S.A. and EI. Refay M.A.H.(1994). Cryptosporidium in ectotherus and human contact. A ssiut Vet Med J.,32: 126-130

**2- Fattohy** Z. I.(1975). Studies on the parasite of certain Teleostean Fishes from the river Tigris-Mosul. Iraq. MCS. Thesis College of Science. University of Mosul. Iraq.

**3- محيســـن**، فرحـــان ضـــمد(1983). أمـــراض وطفيليـــات الأســـماك.مطبعـــة جامعـــة البصرة:227 ص

**4-Roberts** R.J. (2003). Fish Pathology. Bailliere tindal books. London.

**5-Osanai** A.and Kamiya H. (2005). Properties and functions of cestode Calcareous corpuscles. Hirosaki Med. J., 56 (2/4): 37-44.

**6-Vargas-Parada** L. and Laclette J.P.(1999). Role of the Calcareous corpuscles in cestode physiology: a review. Rev. Latinoam Microbiol.41 (4):303-307.

**7-Mario** S.P.,Chalar C.,Dauphin Y.,Massard P.,Pradel Ph. And Marin M.(2008). Monohydrocalcite in Calcareous corpuscles of *Mesocestoides corti*. Exp. Parasitol.,118(1):54-58.

**8-Park** Y.-K., Park J.-H., Park S.-M., GuK E.-H. S. and Jong-Yil Ch.(2005). A new method for concentration of proteins in the Calcareous corpuscles separated from the spargana of *Spirometra erinacei*. Korean J Parasitol.43(3):119-122.

9-**Von Brand** T. and Nylen M. (1970).Organic matrix of Cestode Calcareous corpuscles. Exp. Parasitol., 28(3):566-576.

10-**McCullough** J.S., Fairweather J. (1987) The structure, composition, formation of

possible functions of Calcareous corpuscles in *Trilocularia acanthiaevulgaris* Olsson 1867 (Cestoda, Tetrphyllidea). Parasitol. Res., 74(2):175-182.

11-**Etges** F.J. and Marinakis V. (1991). Formatio and excretion of Calcareous bodies by the Metacestode (Tetrathyridium) of *Mesocestoides vogae*. J.Parasitol. 77(4):595-602.

12-**Yang** H-J. (2004). Immunoblot finding of Calcareous corpuscles binding proteins in cyst fluid of *Taenia solium* metacestodes. Korean J. of Parasitol.,42(3):141-143.

13-**Pedini** V., Diaferia M., Verones F., Dall Aglio C., Merca Pascucci L. and Scocco P.(2009).Ultrastructural details of Tetrathyriaia of *Mesocestoides* spp. form a naturally infected. Applied. Animal Res., 36(1): 974-1844

.

**14- الكلاك**، سندس نذير (2001). دراسة مظهرية ونسيجية وكيميائية لأنموذجين من الديدان الشريطية المتطفلة في الأسماك، أطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة الموصل.

**15- الكلاك**، سندس نذير، السبعاوي ، بثينة حاتم وحميد، ساهرة إدريس(2006). دراسة عن الجسيمات الكلسية في الدودة الكبدية ( Platyhelminthes: *Fasciola* (Trematoda *gigantica* في محافظة نينوى، شمال العراق، مجلة التربية والعلم 18(2):25-46.

**16- الكلاك**، سندس نذير (2010). تحديد تموضع التعدد الشكلي للجسيمات الكلسية في الدودة الشريطية *Bothriocephalus acheilognathi* .مجلة ابن الهيثم للعلوم الصرفة والتطبيقية،23 (3) : 1-7.

17- **Luna** L.G.(1968).Manual of histological staining Methods.3rd., McGraw-Hill Book company, New York, 258pp.

**18-** Baldwin J. L. ,Berntzen A. and Brown B. (1978). *Metacestoides corti*: cation concentration in Calcareous corpuscles of Tetrathyridia grown in vitro. Exp. Parasitol., 44: 190-196.

**19-Valkounova** J. (1985). Morphology and histochemistry of the cysticercoid of *Coronacanthus omissus* (Baeret Joyeux, 1843)(Hymenolepididae).F ollia Parasitol.,32:139-143.

**20- Choudhury** N. and Rycke P. H. (1977).Structure formation and function of Calcareous corpuscles in *Hymenolepis microstoma*. Z. Parasitenked.,53:159-169.

**21- Pawlowski** I.,Yap K. and Thompson R. (1988). Observation in the possible origin, formation and structure of Calcareous corpuscles in taeniid cestodes. Parasitol. Res., 74:293-296.

**22- Von Brand** T., Nylen M., Scott D. and Martin G. (1965). Observation on Calcareous corpuscles of larval *Echinicoccus granulosus* of various geographic origin.

Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.)120:383-285.

23- **Yang** H.J.(2000).Separation of Calcareous corpuscles from plerocercoids of *Spirometra mansoni* and their binding proteins.Parasitol. Res. 86:781-782.

24- **Vargas-Parada** L., Marie T. M., Kaethe W. and Laclette J.P. (1999) Formation of Calcareous corpuscles in the lumen excretory canals of *Taenia solium* cysticerci. Parasitol. Res., 85(2):88-92.