------ مجلة علوم الرافدين، المجلد 19، العدد 1، ص72-87، 2008 ------

دراسة نسجية وبعض الدراسات النسجية الكيميائية لجدار الكيس العدري في كبد ورئة الإنسان

حمد جنداري جمعة

قسم علوم الحياة

كلية العلوم

جامعة الموصل

(تاريخ الاستلام 2007/5/7 ، تاريخ القبول 2007/11/26)

الملخص

تناولت هذه الدراسة التركيب النسجي والمكونات الكيميائية النسجية لطبقات الأكياس العدرية الاكياس العدرية للمشوكة الحبيبية *Echinococcus granulosus* من أكباد ورئات الإنسان المخمجة طبيعيا. ومن خلال الفحوصات النسجية تبين أن الطبقة الصفائحية تكون على هيئة سلاسل مصفحة متجاورة منبثقة من الطبقة الجرثومية على شكل حرف U وهذا الترتيب للطبقة الصفائحية من النادر الحصول عليه.

تناولت الدراسة المقارنة ايضا التركيب الكيميائي النسجي للطبقتين الصفائحية والجرثومية للأكياس العدرية من أكباد ورئات الإنسان تتكون من مركبات معقدة تمثلت بعديد السكريدات المتعادلة، كلوكوز، بروتينات سكرية، دهون سكرية ومواد ذات طبيعة سكرية glycols ,1، فضلا عن وجود حامض الهيالورونيك، عديد السكريدات المخاطية الكاربوكسيلية وبمستويات متفاوتة في الطبقتين الصفائحية والجرثومية، واحتواء الطبقتين على بروتينات وبخاصة بروتينات مرتبطة. أما الدهون والكالسيوم فوجدت في الطبقة الجرثومية أكثر مما هي عليه في الطبقة الصفائحية.

ولوحظ أن الطبقة الصفائحية تفتقر لوجود الكلايكوجين، في حين اقتصر وجود الكلايكوجين والجسيمات الكلسية Calcareous corpuscles والحمض النووي الديوكسي الريبي DNA على الطبقة الجرثومية.

Histological and some Histochemical Studies on Hydatid Cyst Wall of *Echinococcus granulosus* in Human

Hamad J. Jumaa
Department of Biology
College of Science
Mosul University

ABSTRACT

The present study is concerned with histological structure and histochemical composition of hydatid cyst layers of *Echinococcus granulous* from liver and lungs of naturally infected human being.

Through histological techniques the laminated layer appeared as series of contiguous laminations emerging from germinal layer like U shape such a result is rarely obtained. A comparative study also deals with a histochemical components of both layers of the cyst including neutral carbohydrates glucose, glycoprotein, proteins , lipids , deoxyribonucleic acid and calcium.

The histochemical study of the cyst layers laminated and germinal, has revealed that they consist of complex compounds lik neutral mucopolysaccharids, glucose , glycoproteins, glycolipids and 1, 2 glycols materials, in addition to the more hyaluronic acid, sulphated and carboxylated mucopolysaccharirs with various concentrations in both laminated and germinal layers, with proteins, particularly bound proteins were also observed. It is noticed that the germinal layer contained lipids particularly lipoproteins and phospholipids and calcium more than the laminated layer. It was also observed that the laminated layer lacks glycogen. On the other hand, the germinal layer contains glycogen, as well ascalcareous corpuscles and deoxyridonucleic acid .

المقدمة

يعد داء الأكياس العدرية hydatidosis من الأمراض المتوطنة endemic diseases في القطـر العراقي (Babero and Al – Dabagh, 1963)، وهو من الأمراض المشتركة بين الإنسان والحيـوان، ويؤثر في الجوانب الصحية، وتكمن خطورة الخمج في أن هذا المرض ليس له أعراض سريرية واضحة في بداية الخمج، وتزداد خطورته عندما يكون الخمج في أعضاء الجسم الداخلية المهمة كالدماغ والقلـب والعمود الفقري الكبـد والـرئتين وبحجـوم مختلفـة مـسببة الالام والـضمور فـي تلـك الأعـضاء (Thompson, 1977). والكيس العدري hydatid cyst هو تركيب حوصلي، يمكن ان ينشأ ، أو يتكون في أي عضو من اعضاء جسم الإنسان عدا الشعر والاظافر. ثمة أكثر من 70 نوعا من آكلات الأعشاب تعـد مـضائف وسـطية للـدودة، وهـي تتبـع جـنس المـشوكات *Echinococcus* (Al - Hammoshi, 1998).

إن الدراسات الكيميائية النسجية على درجة من الاهمية في دراسة خمجـات الأكيـاس العدريـة لكونها تؤدي دورا مهما في تمييز وتوضيح المكونات الكيميائية لطبقات جدار الكـيس العـدري، والـذي يتكـون بـدوره مـن طبقتـين رئيـستين، احـداهما خارجيـة وتعـرف بـ " الطبقـة الـصفائحية laminated layer " ، وتتكون في البداية من حبيبات ليفية تنتج اصلا من الطبقة المولدة ، تحـافظ هـذه الطبقـة علـى أنـسجة الطفيلـي مـن ردود فعـل أنـسجة المـصاب، كمـا تفـصله عنهـا (Holcman et al., 1994). ويعتقد أيضا بانها تقلل فعالية الأدوية المضادة (Verheyen, 1982). أما الطبقة الأخرى فداخلية وتعرف بـ " الطبقة المولدة germinal layer "، وهـي مـسؤولة عـن التكـاثر اللاجنسي للطفيلي، وتسيطر أيضا على نفاذية جدار الكيس (Frayha, 1970).

أن معرفة المكونات الكيميائية النسجية لطبقات جدار الكيس العدري تعطي معلومات أولية تـسهم في إيجاد طريقة علاجية جديدة ومتطورة تتداخل مع أيض الطفيلي للقضاء على الاطـوار اليرقيـة لهـذا الطفيلي (Richards , 1984) ، لذلك قمنا بإجراء هذه الدراسة لمعرفة التركيـب النـسجي والكيميـائي النسجي للكيس العدري في كبد الإنسان ورئته ، وذلك من خلال الكشف عن الكاربوهيدرات والبروتينـات والدهون والحامض النووي الرايبي منقوص الأوكسجين DNA والكالسيوم ، وكذلك إجراء المقارنة بـين مكونات طبقتي الكيس وبين أعضاء المضيف نفسه.

المواد وطرائق العمل

مصدر الأكياس العدرية

تم الحصول على 50 عينة من أكياس عدرية من اكباد ورئات مرضى مخمجين طبيعيا بعد إزالتها جراحيا من مستشفى السلام العام ومستشفى نينوى الأهلي للفترة المحصورة من بداية شهر تمـوز 2005 الى نهاية شهر حزيران 2006، ولم تحقن هذه الأكياس باي عقار من قبل الجراح قبل استئصالها لكـي لا يتأثر التركيب الكيميائي لجدار الكيس العدري. وضعت الأكياس في أواني مبردة ، ونقلت الى المختبـر، وأجريت عملية الفحص، وهيئت للتجارب اللاحقة.

الدراسة النسجية

جمعت عينات من الأعضاء المخمجة من كبد الإنسان ورئته، وقطعت بسمك 1 سم ابتـداءا مـن الطبقة المولدة والصفائحية وجزء من نسيج العضو المخمج. ثبتت العينات في محلول الفورمالين المتعادل المنظم buffered neutral formaline 10 % لمدة 48 ساعة، بعدها غسلت النماذج المثبتـة فـي المـاء الجاري لمدة ساعة واحدة ثم مررت بتراكيز تصاعدية من الكحول الاثيلي ابتـداءا مـن(70 - 100 %) لغرض الانكاز dehydration، أما الطبقة المولدة فقد عوملت بوساطة تراكيز تـصاعدية مـن الكحـول الاثيلي ابتداءا من (15 – 100 %) لرقتها (Luna , 1968). روقت clearing وضعت العينـات فـي مرحلتين من الزايلين xylene مدة كل منهما ساعة واحدة، ثم شربت العينات في شـمع البـرافين النقـي

بدرجة انصهار 60°م تكررت هذه العملية ثلاث مرات كل منها ساعة واحدة في فرن بدرجة 60°م، طمرت النماذج في شمع من النوع المستعمل للتشريب نفسه، وصبت في قوالب شمعية، وقطعت الى شرائح بسمك 5 – 7 مايكروميتر ثم صبغت بصبغة الهيماتوكسلين – الايوسين.

الدراسة الكيميائية النسجية

لدراسة المكونات الكيميائية النسجية، استخدمت العينات المثبتة في محلول الفورمالين المتعادل المنظم (Luna, 1968) كمثبت عام، فضلا عن محلول الفورمالين الكحولي بنسبة 1 فورمالين الى 9 كحول اثيلي 95 % (Humason, 1972)، ثم غسلت العينات المثبتة في المحلول الأول في الماء الجاري لمدة ساعة واحدة، ومررت بسلسلة تصاعدية من الكحول الاثيلي، في حين غسلت العينات المثبتة في المحلول الثاني بالكحول الاثيلي بتركيز 95 %، ثم بتركيز 100 % لغرض الانكاز، وبعدها أجريت التحضيرات المجهرية الأخرى عليها كما وضح سابقا حتى عملية الصبغ، وقسمت التقنيات الكيميائية النسجية لغرض الكشف عن الكربوهيدرات والبروتينات والدهون والحمض النووي الريبي منقوص الأوكسجين DNA و الكالسيوم كما موضح في الجدول (1). وقد أجريت هذه التقنيات حسب Culling وجماعته (1985) و (Pearse, 1985).

النتائج

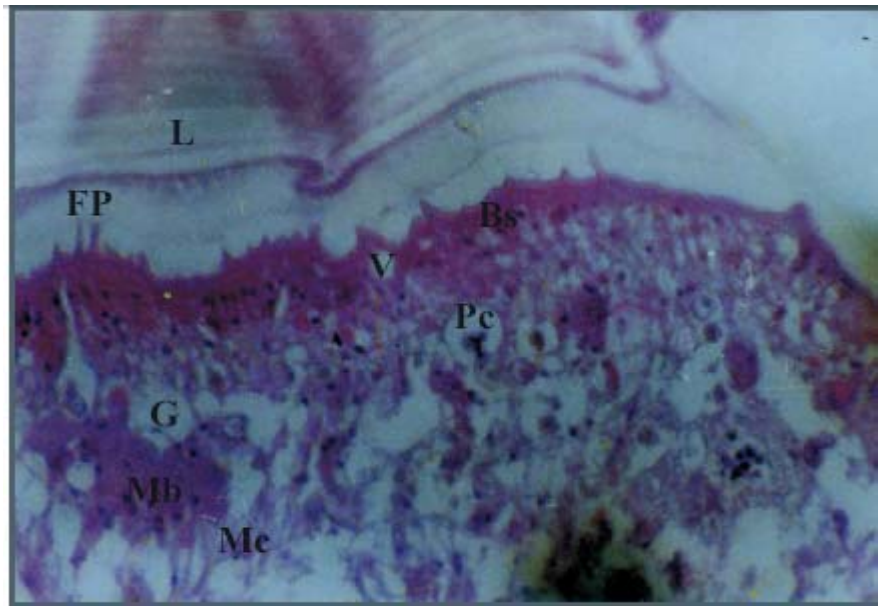
أشارت نتائج الفحص النسجي لمكونات الكيس العدري من أكباد الإنسان ورئاته الى انه مكون من طبقة خارجية تعرف بـ " الطبقة الصفائحية " وهي طبقة غير خلوية سمكية تصطبغ بالصبغة الحامضية تليها طبقة داخلية رقيقة جدا تعرف بـ " الطبقة المولدة " تتكون من جزء قاعدي يشكل طبقة قاعدية داخلية تعرف بـ " المدمج الخلوي القاعدي basal syncytium " تحوي على مواد شبيهة بالألياف وفجوات صغيرة محددة بغشاء صفائحي، وتظهر من الجزء القاعدي بروزات أصبعية الشكل finger like projections عديدة منتظمة محاطة بغشاء صفائحي، اما بالنسبة لدراسة النسج لجدار الكيس العدري، فقد اشارت نتائج الدراسة الحالية الى ان الطبقتين الصفائحية والجرثومية لجذر الكيس العدري للعضوين (الكبد والرئة) في الانسان اظهرت اختلافات في التفاعلات للتقنيات التي استخدمت للطبقتين كليهما وللعضوين كليهما (انظر الجدول 1). فقد اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان الطبقتين الصفائحية والجرثومية للاكياس العدرية من اكباد ورئات الانسان قد اظهرت تفاعلا موجبا شديد التقنية حامض البريوديك – شيف (PAS) للكاربوهيدرات. تمتد داخل الطبقة الصفائحية وتعمل على ربطها بالطبقة المولدة ، ويلي المدمج الخلوي القاعدي طبقة من خلايا متعددة الانوية multinuclear cell layer تتضمن خلايا تكاثرية proliferative (الشكلان 1 , 2).

الجدول 1 : يبين بعض التقنيات الكيميائية النسجية لجدار الكيس العدري المأخوذ من كبد الإنسان ورئته

	التقنية Technique	مصدر الكيس				الأهمية Significance
		الكبد Liver		الرئة Lung		
		الطبقة الصفائحيةL	الطبقة المولدة G	الطبقة الصفائحيةL	الطبقة المولدة G	
A.	الكاربوهيدرات					
1	استلة – PAS حامض البريودك – شيف PAS	+ + + احمر ارجواني	+ + + احمر ارجواني	+ + + احمر ارجواني	+ + + احمر ارجواني	للكشف عن المواد المخاطية الغنية بالكاربوهيدرات
2	استلة - SPA	-	-	-	-	يدل على وجود مجاميع الكايكول الفعالة 1:2glycol ذات الطبيعة السكرية والتي حجبت اثر الاسئلة
3	استلة – صوبنة - PAS	+ + + احمر ارجواني	+ + + احمر ارجواني	+ + + احمر ارجواني	+ + + احمر ارجواني	للتميز بين مجاميع الكاربوكسيل الطرفية والجانبية للمواد المخاطية
4	بيست كارمين	-	+ + + احمر وردي	-	+ + + احمر وردي	للكشف عن وجود الكلايكوجين
5	ازرق الالشيان AB pH 1.0	+ + ازرق	+ ازرق فاتح	+ + ازرق	+ ازرق فاتح	للكشف عن متعدد السكريات المخاطية الحامضية الكبريتية
6	ازرق الالشيان AB pH 2.5	+ + + ازرق دلكن	+ + ازرق	+ + + ازرق دلكن	+ + ازرق	يدل على وجود متعدد السكريات المخاطية الحامضية الضعيفة وحامض الهيالورنيك والسيالوميوسين
7	المثيلة – ازرق الالشيان Ap pH 2.5	-	-	-	-	للكشف عن متعدد السكريات المخاطية الحامضية الكبريتية
8	مثيلة – صوبنة – ازرق الالشيان pH. 2.5	+ + + ازرق دلكن	+ + ازرق	+ + + ازرق دلكن	+ + ازرق	للكشف عن متعدد السكريات المخاطية الحامضية من نوع الكاربوكسيل فقط
9	ازرق التلويدين .TB	+ + + ارجواني محمر	+ + ارجوني محمر	+ + + ارجواني محمر	+ + ارجواني محمر	يدل على وجود glycosaminoglcons ومتعدد السكريات المخاطية الحامضية الكبريتاتية وحامض الهيالورنيك
B.	البروتينات					
1	ازرق البروفينول الزئبقي	+ + + ازرق	+ + ازرق	+ + ازرق	+ + ازرق	للكشف عن البروتينات بصورة عامة
2	تفاعل ننهيدرن – شيف	+ + ارجواني	+ + ارجوني	+ + ارجواني	+ + ارجواني	للكشف مجموعة الامين في البروتينات
C.	الدهون					
1	سودان بلاك B (SBB)	+ اسود رمادي	+ + اسود	+ اسود رمادي	+ + + اسود دلكن	للكشف عن الدهون بصورة عامة
2	اسيتون سودان بلاك B(SBB)	-	+ اسود رمادي	-	+ + اسود دلكن	للكشف عن الدهون المرتبطة
D.	الكالسيوم					
1	الفون كسا	+	+ +	+ / -	+ +	للكشف عن حبيبات الكالسيوم والجسيمات الكلسية
E.	الحمض النووي الريبي منقوص الاوكسجين DNA					
1	تفاعل فولجين	-	+ + احمر قاني	-	+ + + احمر قاني	تدل على وجود الـ DNA في الطبقة المولدة فقط

التفاعل - ، سالب ؛ ± ، موجب ضعيف ؛ + ، موجب ؛ + + ، متعادل في قوة التفاعل ؛ + + + موجب قوي

وأظهرت النتائج أيضا ان الطبقتين محاطة بطبقة من نسج ضام ليفيfibrous connective tissue والطبقة البرانية adventitia ترتشحه خلايا التهابية متمثلة بالخلايـا وحيـدة النـواة والخلايـا اللمفيـة Lymphocyte والبلعمات macrophage والخلايا البلازمية plasmocytes والعدلات الحية والميتة، كمـا بين الفحص النسجي أن وجود الكيس في الكبد يسبب ضمور الخلايا الكبدية مع وجود آفات مـن التغيـر الدهني. ولوحظ أيضا وجود ورم حبيبي خمجي infectious granuloma، (الشكل 3). أما فـي الرئـة فانه يسبب وهطا في الاسناخ الرئوية collapse مع توسع في عدد من القصيبات الهوائية bronchietasis كما بينت نتائج الفحص النسجي للبحث الحالي تكوين الطبقة الصفائحية على هيئة سلاسل مصفحة ليفيـة متجاورة منبثقة من الطبقة المولدة على شكل حرف U، (الشكل 4).

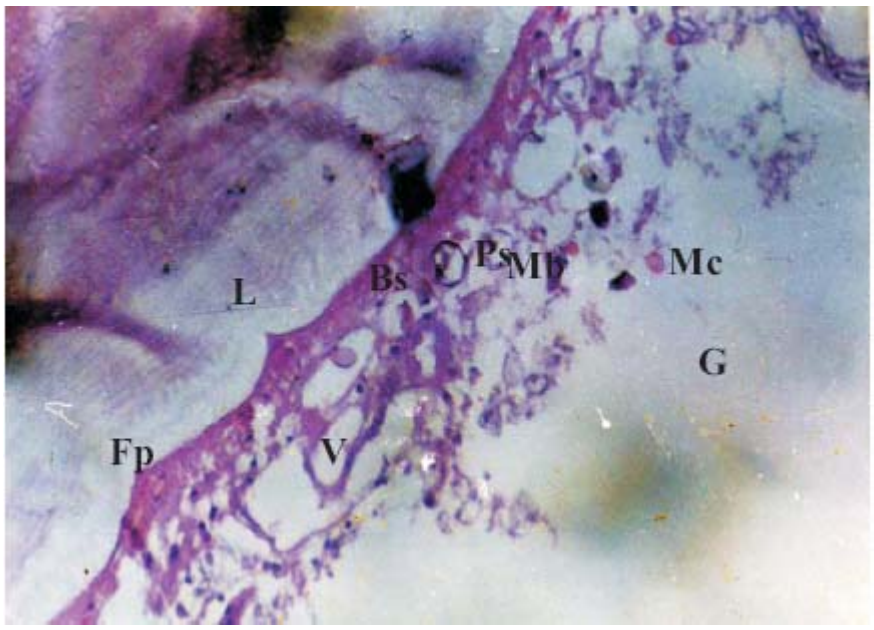


الشكل 1 : مقطع في طبقات الكيس العدري من كبد الانسان. المثبت، الفورمالين المتعادل المنظم، الصبغة هارس هيماتوكسيلين-ايوسين. قوة التكبير (400x)

L : الطبقة الصفائحية V : فجوات G : الطبقة الجرثومية Mc : خلايا عضلية
Bs : المدمج الخلوي القاعدي Mb : حزم عضلية Fp : البروزات الاصبعية Pc : خلايا تكاثرية

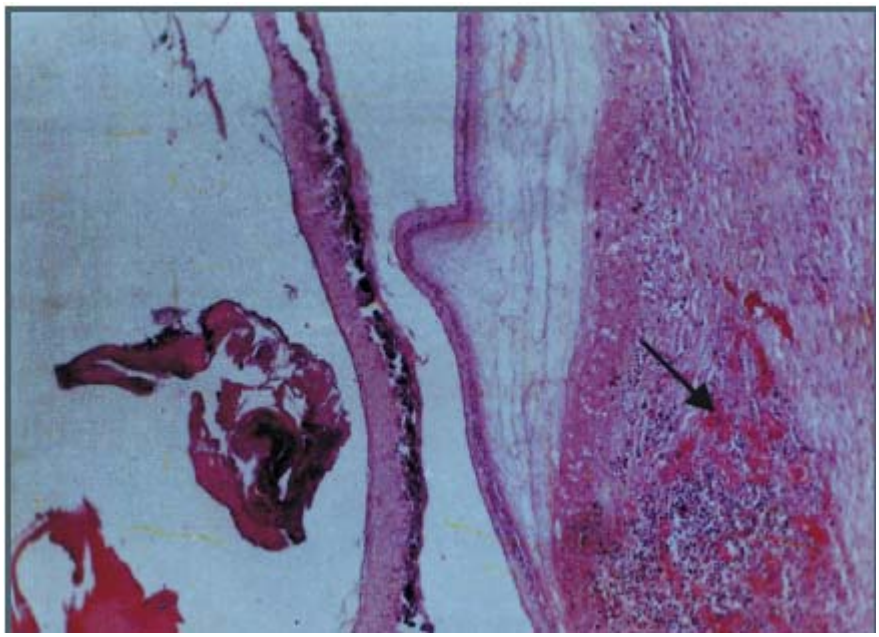
اما بالنسبة لدراسة كيمياء النسج لجدار الكيس العدري، فقد اشارت نتائج الدراسة الحالية الـى ان الطبقتين الصفائحية والجرثومية لجدار الكيس العدري للعضوين (الكبد والرئة) في الاسـنان اظهـرت اختلافات في التفاعلات للتقنيات التي استخدمت للطبقتين كليهما وللعضوين كليهما (انظر الجـدول 1). فقد اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان الطبقتين الصفائحية والجرثومية للاكياس العدرية من اكباد ورئـات الانسان قد اظهرت تفاعلا موجبا شديدا لتقنية حامض البريوديك – شيف (PAS) للكاربوهيدرات حيـث اصطبغت باللون الأحمر الارجواني Magenta، (الشكل 5) ولغرض تمييز المادة المخاطية من المـواد المخاطيـة موجبـة التفاعـل مـع تقنيـة PAS، اسـتخدمت عمليـة الاسـتلة ثـم تبعتهـا صـبغة

acetylation – PAS فكانت نتيجة التفاعل سالبة، في حين اظهر تفاعل الـ PAS بعد الأستلة والصوبنة تفاعلا موجبا شديدا وكان اللون احمر ارجوانيا.

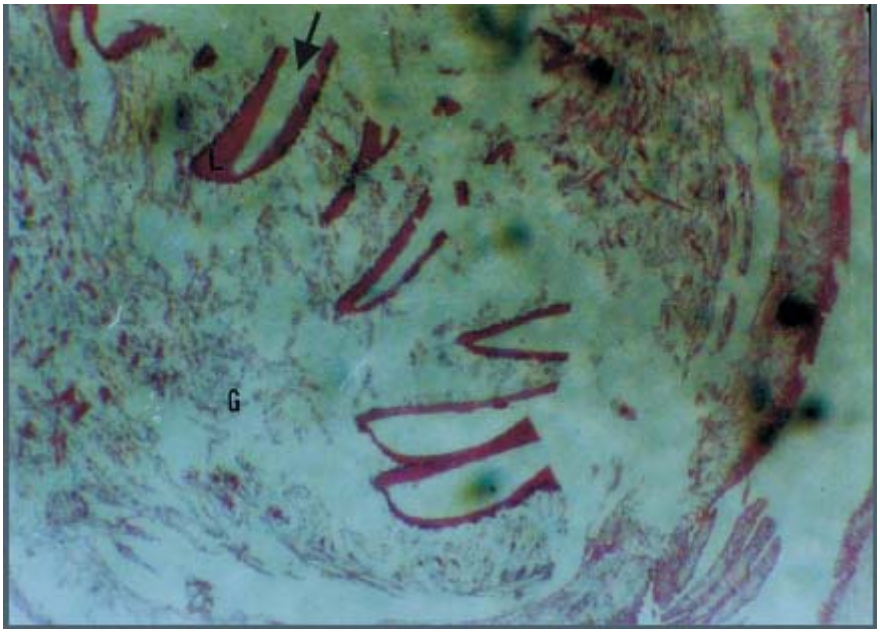


الشكل 2 : مقطع في طبقات الكيس العدري من رئة الانسان. المثبت، الفورمالين المتعادل المنظم، الصبغة هارس هيماتوكسيلين-ايوسين. قوة التكبير (400x)

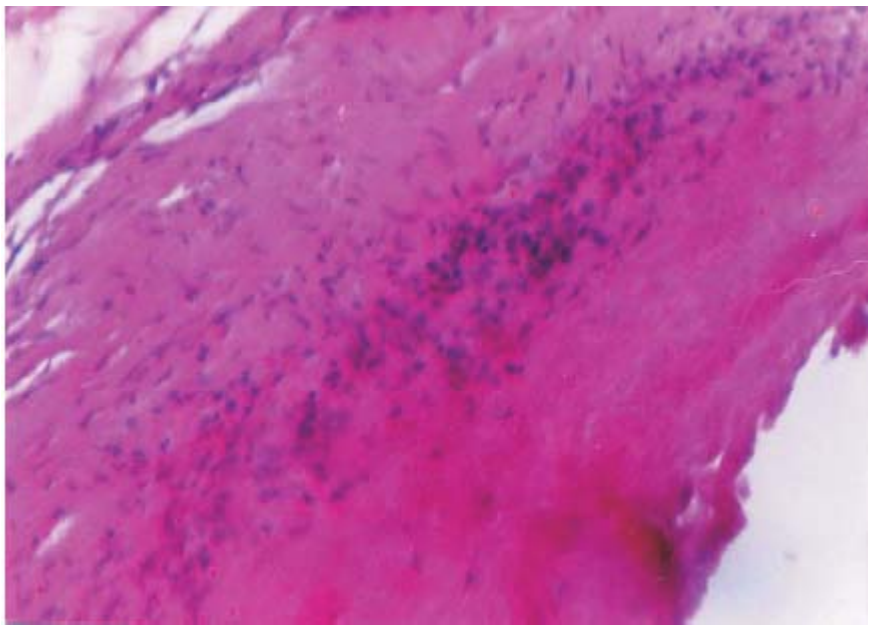
L : الطبقة الصفائحية V : فجوات G : الطبقة الجرثومية Mc : خلايا عضلية
Bs : المدمج الخلوي القاعدي Mb : حزم عضلية Fp : البروزات الاصبعية
Pc : خلايا تكاثرية



الشكل 3 : مقطع كيس عدري من كبد الانسان يوضح الورم الحبيبي (Granuloma) (الـسهم) المثبـت، الفورمالين المتعادل المنظم، الصبغة ديلافيلدهيماتوكسيلين-ايوسين. قوة التكبير (100x)



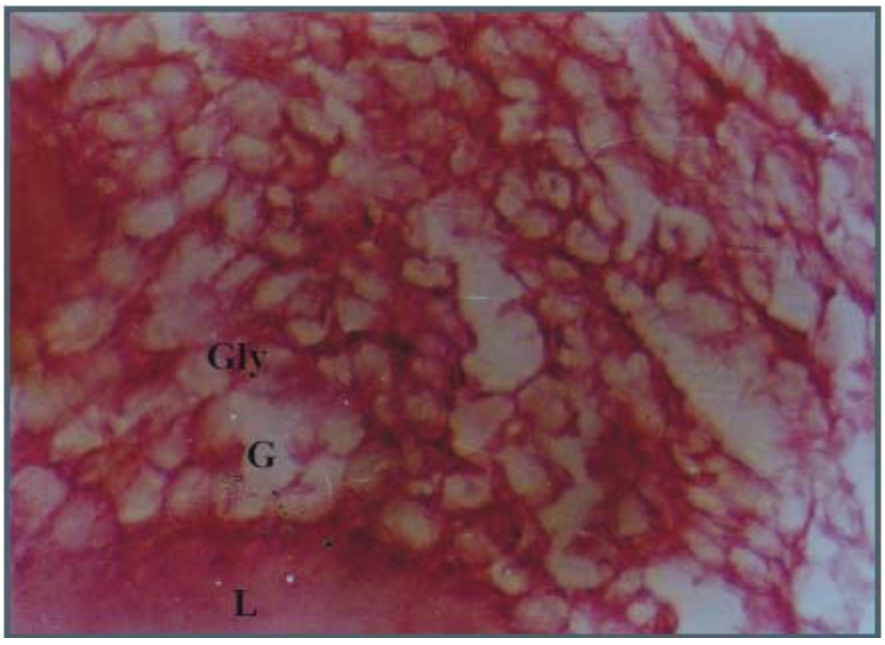
الشكل 4 : مقطع في الطبقة الجرثومية (G) لكيس عدري من رئـة الانـسان يوضـح تكـوين الطبقـة الصفائحية من الطبقة الجرثومية على شكل حرف (U) (السهم) المثبت، الفورمالين المتعـادل المنظم، الصبغة هارس هيماتوكسيلين-ايوسين. قوة التكبير (100x)



الشكل 5 : مقطع في الطبقة الصفائحية (L) لكيس عدري من كبد الانسان المثبت، الفورمالين المنضب المتعادل. التقنية ، حامض البريوديك-شيف. قوة التكبير (400x)

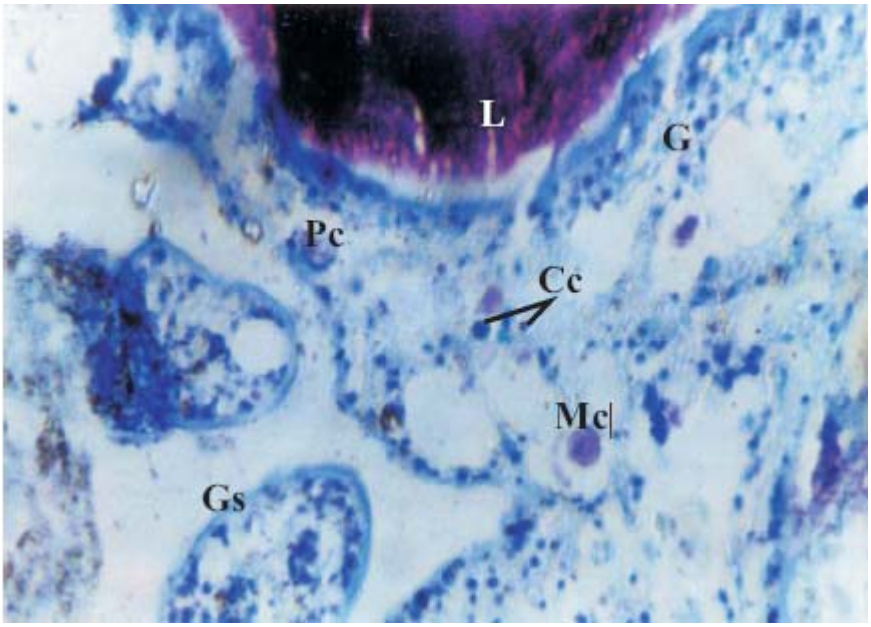
كما أشارت النتائج الى أن الطبقة الصفائحية أظهرت تفاعلا سالبا مع تقنية بيست كـارمين علـى العكس من الطبقة المولدة اذ ظهرت تفاعلا موجبا شديدا مع هذه التقنيـة وكـان اللـون احمـرا ورديـا (الشكل 6) ولتمييز المادة المخاطية الحامضية الحاوية على الكبريت من المادة المخاطية الحامضية غير

المكبرتة، استخدمت تقنية ازرق الالشيان Alcian blue ذات الاس الهيدروجيني (pH 1.0) إذ ظهـرت الطبقة الصفائحية للأكياس تفاعلا معتدلا مع هذه التقنية واصطبغت بلون ازرق، في حين اظهرت الطبقـة المولدة تفاعلا موجبا مع هذه التقنية اذ اصطبغت بلون ازرق فاتح دلالة على وجـود المـادة المخاطيـة الكبريتاتية، وعند استخدام تقنية ازرق الالشيان عند (pH 2.5) اصطبغت المادة المخاطية في الطبقـة الصفائحية للأكياس باللون الازرق الداكن اذ اظهرت تفاعلا موجبا شديدا أما الطبقـة المولـدة وخاصـة الجزء القاعدي منها أظهرت تفاعلا موجبا معتدلا اذ اصطبغت بلون ازرق (الشكل 7)، وعلى العكـس من التفاعل السالب الذي اظهره كل من الطبقتين الصفائحية والمولدة مع عمليـة المثيلـة methylation تبعتها (AB pH 2.5)، في حين أظهرت الطبقتان تفاعلا موجبا شديدا عند استخدام عملية المثيلة وتبعتها عملية الصوبنة saponification وصبغة ازرق الالشيان اذ اعطت لونا ازرقا داكنا، كما اظهرت الطبقـة الصفائحية للأكياس تغايرا لونيا metacromasia موجبا شديدا وبلون ارجواني محمر مـع تقنيـة ازرق التلويدين، في حين اظهرت الطبقة المولدة تفاعلا معتدلا اذ اصـطبغت الخلايـا الخازنـة للكلايكـوجين والجسيمات الكلسية بلون ارجواني محمر.



الشكل 6 : مقطع لكيس عدري من كبد الانسان. المثبت، الكحول 95%: فورمـالين ، التقنيـة ، بيـست كارمين. قوة التكبير (100x)

L : الطبقة الصفائحية Gly : كلايكوجين G : الطبقة الجرثومية



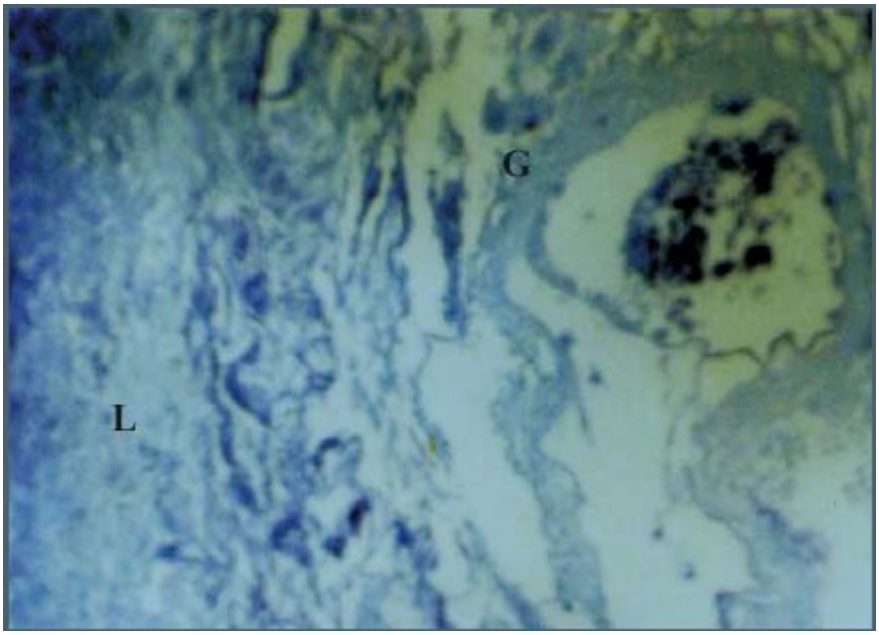
الشكل 7 : مقطع لكيس عدري من رئة الانسان. المثبت، الفورمالين المتعادل المـنظم، التنقيـة ، ازرق التوليدين. قوة التكبير (100x)

L : الطبقة الصفائحية Gs : خلايا خازنة للكلايكوجين

G : الطبقة الجرثومية Cc : جسيمات كلسية

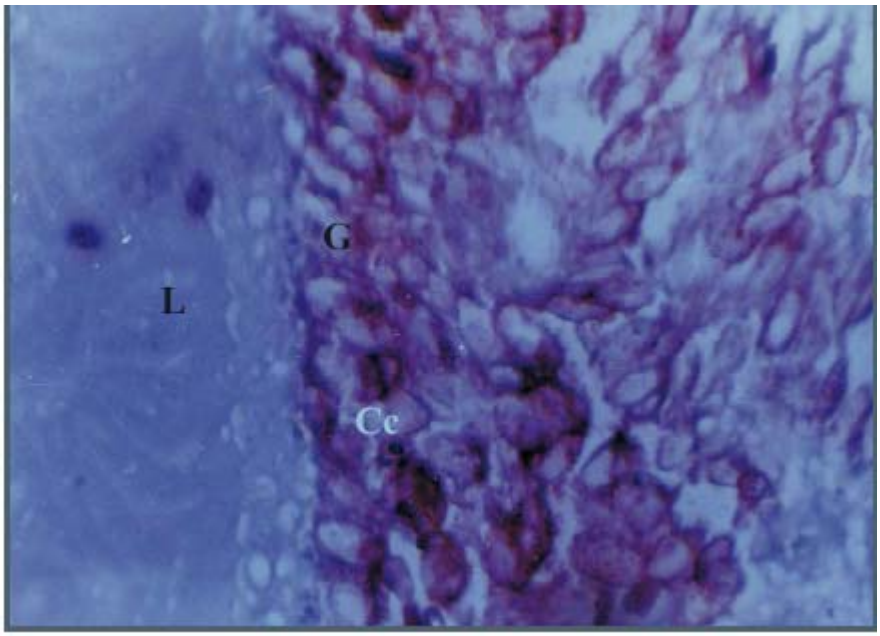
Pc : خلايا تكاثرية Mc : خلايا عضلية

أما بالنسبة لتقنيات الكشف عن البروتينات، فقد أظهرت الطبقتان الصفائحية والمولدة تفاعلا معتدلا مع تقنيـة ازرق البروموفينول الزئبقي وأعطت لونا ازرقا دلالة على وجود البروتينات (الشكل 8)، كما أظهرت الطبقان تفاعلا معتدلا مع تقنية تفاعل ننهيدرن شيف واعطت لونا ارجوانيا دلالة علـى وجـود البروتينات المرتبطة. ولغرض الكشف عن الدهون فقد أظهرت الطبقتان الـصفائحية والمولـدة للكـيس تفاعلات مختلفة مع تقنية سودان بلاك – B – وكذلك تقنية استيون سودان بلاك – B – دلالة على وجـود الدهون بصور متفاوتة في هاتين الطبقتين (الشكل 9). ولغرض الكشف عن الكالسيوم فقد تم اسـتخدام تقنية الفون كوسا اذا ظهرت الطبقتان تفاعلات متفاوتة مع هذه التقنية دلالة على وجود ترسبات الكالسيوم على شكل حبيبات سوداء. (الشكل 10)، وقد وجدت الجسيمات الكلسية في الطبقة المولـدة للأكيـاس فقط . ولغرض الكشف عن الحامض النووي الرايبي منقوص الأوكسجين DNA فقد تم اسـتخدام تقنيـة تفاعل فولجين التي اظهرت الـ DNA في الطبقة المولدة فقط، اذ لوحظ اصطباغ النـواة بلـون احمـر قان. كذلك اشارت النتائج الموجبة الشديدة للطبقة المولدة للأكياس العدرية في رئة الإنسان عند اسـتخدام هذه التقنية الى احتوائها على الـ DNA بكميات كبيرة (الشكل 11) بينما اظهرت الطبقة المولدة للكيس في الكبد تفاعلا معتدلا دلالة على وجود الـ DNA بمستويات معتدلة في هذه الطبقة (الشكل 12).



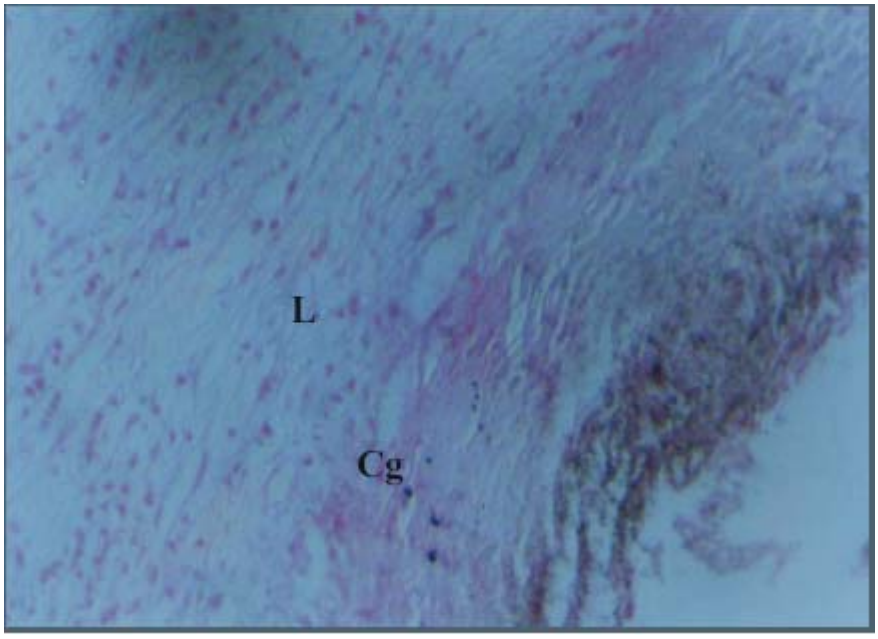
الشكل 8 : مقطع لكيس عدري من رئة الانسان. المثبت، الفورمالين المتعادل المـنظم، التنقيـة ، ازرق البروموفينول الزئبقي. قوة التكبير (200x)

L : الطبقة الصفائحية G : الطبقة الجرثومية



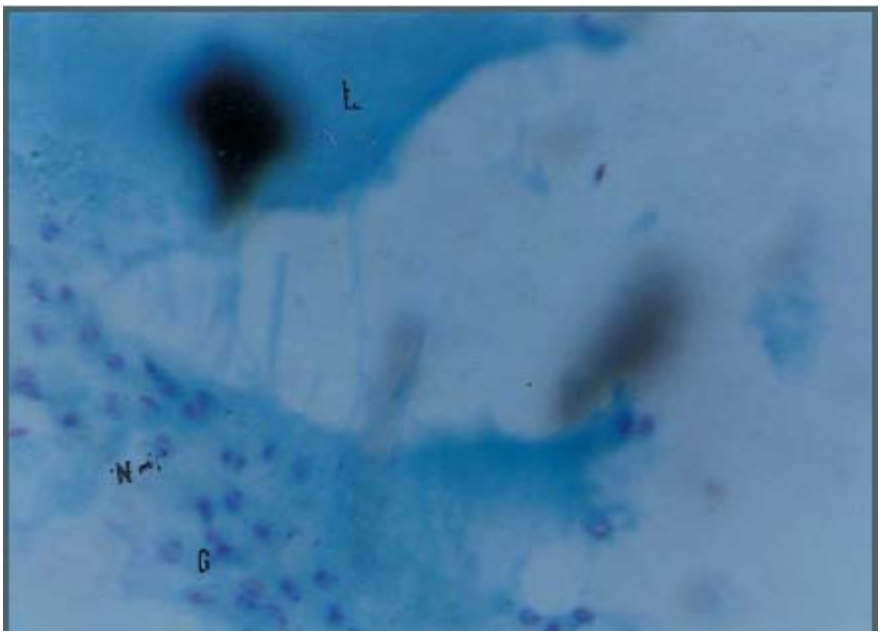
الشكل 9 : مقطع لكيس عدري من رئة الانسان. المثبت، الفورمالين المتعادل المنظم، التنقيـة ، سـودان بلاك -B- . قوة التكبير (400x)

L : الطبقة الصفائحية Cc : جسيمات كلسية G : الطبقة الجرثومية



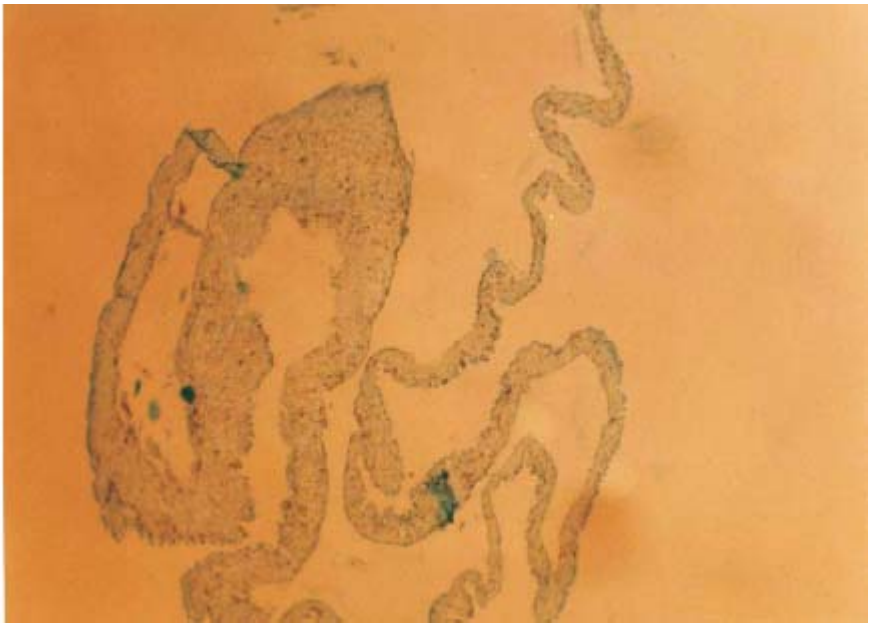
الشكل 10 : مقطع لكيس عدري من رئة الاغنام. المثبت، الفورمالين المتعادل المنظم، التنقية ، الفون كّسا للكشف عن الكالسيوم . قوة التكبير (400x)

L : الطبقة الصفائحية Cg : حبيبات الكالسيوم



الشكل 11 : مقطع لكيس عدري من كبد الانسان. المثبت، الفورمالين المتعادل المنظم، التنقيـة ، تفاعـل فولجين . قوة التكبير (1000x)

L : الطبقة الصفائحية N : النواة G : الطبقة الجرثومية



الشكل 12 : مقطع في الطبقة الجرثومية لكيس عدري من رئة الانسان. المثبـت، الفورمـالين المتعـادل المنظم، التنقية ، تفاعل فولجين . قوة التكبير (400x).

N : النواة.

المناقشة

جـاءت نتـائج الفحـص النـسجي للدراسـة الحاليـة مـشابهة لمـا توصـل اليـه Qing وجماعته (1988) و Qing وجماعته (1992) فقد اظهرت النتائج أن الطبقة المولدة للأكيـاس في الإنسان متطورة جدا وقد يرجع السبب الى كون خصوبة هذه الأكياس عالية جدا لذلك تكون في حالـة أيضية مستمرة وتكون خلاياها متجددة. كما اشارت نتائج البحث الحالي الى أحاطة الكيس العدري بطبقـة من نسيج ليفي مكونا طبقة خارجية برانية ترتشحها خلايا التهابية اذ تتعرض الأنسجة المحيطـة بـالكيس العدري الى تغيرات عديدة منها التغيرات الدهنية وضمور هذه الأنسجة وأن هذا الضمور يطلـق عليـه بالضمور الضغطي pressure atrophy لأنه ينـتج عـن ضـغط الكـيس العـدري علـى الأنـسجة (Al - Kannany, 1988). وقد اظهرت النتائج أن اصل تكوين الطبقة الصفائحية هو الطفيلي ذاته اذ تنشا على هيئة سلاسل صفائحية متجاورة تنبعث من الطبقة المولدة بشكل حرف (U) وهذا يتفق مع ما اشار إليه (Holcman and Heath, 1997) و (Jumaa et al., 2001). إذ اقترحوا ظهور ثلاث أنواع مـن حويصلات سايتوبلازمية في ظهارة الطبقة المولدة للطور اليرقي وتستمر بالزيادة في العدد والحجم وتميل باستمرار الى طبقة الهيولي المحببة بحيث يصبح الهيكل الخلوي على هيئة نبيبات دقيقة microtubulars وتبـدأ بإضـافة الطبقـة الـصفائحية علـى شـكل سلاسـل مـن صـفائح متجـاورة مـن حـرف (U) ويشترك في هذا التكوين الطور البدائي للاستجابة المناعية للمضيف ، وعد هذا الترتيـب للطبقـة الصفائحية ظاهرة فريدة في البحث الحالي.

أمـا بالنـسبة لنتـائج الفحوصـات الكيميائيـة النـسجية فقـد أشـارت الـى ان التفاعـل بـين الطبقتـين الـصفائحية والمولـدة وصـبغة حـامض البريوديـك – شـيف (PAS) كانـت موجبـة التفاعـل وقـد جـاءت مـشابهة لمـا اشـار إليـه كـل مـن (Richards (1984 ; Al – Kannany et al ., (2004) ; Al-Kannany (1988) . وكان التفاعل سالبا بعد إجراء الأسـتلة التي تبعتها الصوبنة ثم صبغة الـ PAS، حيث دلت هذه النتيجة على أن جدار الكيس العـدري يحتـوي على المادة المخاطيـة الغنيـة بالكاربوهيـدرات وان حمـض البريوديـك عامـل مؤكـسد لمجموعـة (glycol 2 و 1) في المادة الكاربوهيدراتية. أن عدم تفاعل الطبقة الصفائحية مع صبغة بيست كـارمين وتفاعل الطبقة المولدة مع هذه الصبغة دل على وجود دورة ايضية خلوية في الطبقة المولدة وعدم وجوده في الطبقة الصفائحية ويعزى السبب الى وجود الكلايكوجين في الطبقة المولدة تحتاج الـى الكلايكـوجين كمصدر ضروري للطاقة للقيام بالفعاليات الأيضية وإدامة حيوية الكيس العدري. كما أن تفاعل الطبقتـين الصفائحية والمولدة مع صبغة ازرق الالشيان عند (pH 1.0) دل على وجود متعدد السكريات المخاطية الحامضية الكبريتاتية sulphated acid mucoplysaccharide وبصورة متفاوتة بالنسبة للمضيف نفـسه وبين المضيفين، أما ازرق الالشيان عند (pH 2.5) فان الجدار يحتوي على المواد المخاطية الكبريتاتية ذات الحامضية الضعيفة وحامض الهيالورنيك hyaluronic وسيالوميوسين sialomucins وهـذه النتـائج تتفـق مـع مـا ذكرتـه Al-Kannay (1988) بالنـسبة للطبقـة الـصفائحية ومـع Qing وجماعته (1988) و Jumaa وجماعته (2001) بالنسبة للطبقة المولـدة واشـارت التفـاعلات الموجبة الشديدة والمتعادلة للطبقتين مـع ازرق التلويـدين الـى وجـود glycosaminglycons متعـدد السكريات المخاطية الحامضية الكبريتاتية وحمض الهيالورنيك بمستويات عالية إذ أظهرت تغـايرا لونيـا قويا مع هذه التقنية.

أما بالنسبة للبروتينات فقد اشارت التفاعلات الموجبة المتعادلة للطبقتين الصفائحية والمولدة مـع تقنيات ازرق البروموفينول الزئبقي وتفاعل ننهيدرن – شيف الى وجود البروتينات المرتبطة بمـستويات متعادلة كما موضح في (الشكل 8). وهذه النتائج مماثلة لما اشار إليـه Qing وجماعتـه (1988) أن سبب عدم ظهور أي اختلافات في شدة التفاعل للطبقتين قد يعزى الى عمـر الخمـج وهـذا مـا أكـده Mettrick و Cannon (1970) من أن نفاذية أغشية الكيس يمكن ان تتعلق بعمر الخمج وفيما يخـص الدهون فقد أظهرت الطبقتان الصفائحية والمولدة اختلافات ضمنية بين طبقتي الكيس نفسه وبين أعـضاء المضيف تجاه التقنيات اسود السودان بلاك – B – وأسيتون اسود السودان بلاك – B - مـشيرة لوجـود دهون مرتبطة bound lipids وخاصة بروتينات دهنية lipoproteins ودهون مفـسفرة phospholipids بشدة كبيرة وخاصة في الطبقة المولدة للكيس في رئة الإنسان، أن سبب الاختلاف يعود الى قابلية اليرقات المختلفة على تصنيع الدهون أو قد تعزى الى ان الدهون تتجمع بصورة رئيسية في منـاطق متخصـصة ومميزة أيضيا وهي مناطق اتصال محافظ الحـضنة brood capsule إذ توصـل البـاحثون (1970)

Frayha و Vercelli – Retta وجماعته (1975) الى وجود دورة أيضية خلوية في الطبقة المولـدة وأن الدهون المحولة الى استرات الدهون والتي تؤخذ من المضيف يمكن تجزئتها في الطبقة المولدة، لذا يظهر بان جميع المواد الداخلة الى تجويف الكيس والتي تخرج منه تتحور ايضيا الى حد ما في هـذه الطبقـة. وأعطت تقنية الفون كوسا اختلافات ضمنية في وجود الكالسيوم بين طبقات الكيس نفسه وبـين أعـضاء المضيف نفسه، واظهرت تفاعلات البحث الحالي أيضا وجود مركبات الكالـسيوم كفوسـفات الكالـسيوم وكاربونـات الكالـسيوم اكثـر مـن ايونـات الكالـسيوم بحـد ذاتهـا اذ وجـدت جـسيمات كلـسية calcareous corpuscles في الطبقة المولدة ولم تلاحظ في الطبقة الصفائحية (الشكل 10).

أن سبب الاختلاف قد يعزى الى الاختلاف في عمر الخمج وهذا قد يرتبط بدوره بسلالة الطفيلي، ويمكـن ان يعـزى الـسبب الـى موقـع الكـيس فـي جـسم المـضيف والـى نـوع المـضيف (Sanchez and Sanchez, 1971).

أما فيما يخص الحامض النووي الريبي منقوص الأوكسجين DNA فقد اشـارت تقنيـة تفاعـل فولجين الى عدم وجود الـ DNA في الطبقة الصفائحية في حين أشارت النتائج الموجبة القويـة للطبقـة المولدة في رئات الإنسان مع تقنية تفاعل فولجين لاحتوائها على الحـامض النـووي الرايبـي منقـوص الاوكسجين بمستويات كبيرة ، وأظهرت الطبقة المولدة للأكيـاس مـن كبـد الإنـسان تفـاعلا معتـدلا مؤكدة وجـود الـ DNA بمـستويات متعادلـة فـي هـذه الطبقـة وجـاءت هـذه النتـائج متفقـة مع Qing وجماعته (1992)، ان سبب الاختلافات في الطبقة المولدة للأكياس تجاه هـذه التقنيـة بـين أعضاء المضيف نفسه قد يعزى الى كون الطبقة المولدة في مراحل مختلفة من النمو أو الى اختلاف بـين سلالات الطفيلي.

REFERENCES

Al-Hammoshi, M.H. 1998. Effect of constant temperatures on the viability and survival time of protoscoleces of Echinococcus granulosus M.Sc. Thesis, Coll. Sci. Univ., Mosul .

Al-Kennany, E.R.A. 1988. Histopathological and histochemical changes in mice experimentally infected with hydatid cyst of Echinococcus granulosus. M.Sc. Thesis, Coll. Vet. Med., Univ. Baghdad.

Al-Kennany, E.R.A.; Jumaa, H.J. and Al-Hayyali, F.Q. 2004. Histopathological and Histochemical study of liver in rabbits Expermintery infected with Emeria stiedia . Raf. Jour. Sci. 15 (4): pp.10 – 12 .

Babero, B.B. and Al-Dabagh M.A. 1963. The zoonosis of animal parasites in Iraq, XII. The dog as a reservoir for human cestode infection. J. Fac. Med. Baghdad, 5(4): pp.49-158.

Culling, G.F.A.; Allison, R.T. and Barr, W.T. 1985. Cellular pathology techniques, 4th ed., Butte-Worth, London.

Frayha, G.J., 1970. Studies on hydatid disease in Lebanon. Lebanon Med. J., 23, pp.135-150.

Holcman, B. and Heath, D.D. 1997. The early stages of Echinococcus granulosius development. Acta. Tropica, 64: pp.5-17.

Holcman, B. Heath, D.D. and Shaw, R.J. 1994. Ultra structure of oncosphere and early stages of metacestode development of Echinococcus granulosus. Int. J. Parasitol. 24: pp.623-635.

Humason, G.L. 1972. Animal tissue techniques. 3rd ed., San Francisco, W.H. Freeman.

Jumaa, H. J.; Al - Kennany, E.R.A and Al-Hayyali F.K. 2001. Histological and Histochemical study of Hydatid cyst wall of Echinococcus Gronulosus from sheep and cattle Naturally Infected. Iraqi J. Veter. Sci. 14 (1): pp.39–56.

Luna, L.G. 1968. Manual of histological staining methods of the armed forces institute of pathology, 3rd ed., New York: McGraw-Hill Book Company, pp. 38 – 76.

Mettrick, D.F. and Cannon, C.E.C. 1970. Ibid, 61, 229-243. Cited by Artin H.I. 1982. Quantitative analysis of nucleic acids, carbohydrates and proteins from different developmental stages of the free-living nematode caenorhabditis (Nematoda: Rhabditidae) in different media. M.Sc. Thesis. Univ. of Mosul.

Pearse, A.G.E. 1985. Histochemistry theoretical and applied. 4th ed., Vol. 1.2 Analytical Technology, Churchill Livingstone, Edinburg.

Qing, Y.Y.; Wei, Z.C. and Tong, W.J. 1992. Observation on the histology and histochemistry of secondary Echinococcus granulosus cyst. End. Dis. Bull. 5 (3): pp.17–20 .

Qing, Y.Y.; Wei, Z.C. and Tong, W.J.; Jie, C.J. and Lin Z.W. 1988. Further observation and histochemistry of development Echinococcus granulosus cyst in NIH mice. End. Dis. Bull. 3 (2): pp.43- 46.

Richards, K.S. 1984. Echinococcus granulosus equines the histochemistry of the laminated layer of the hydatid cyst. Folia Histochemica Cytobiologia, 22: pp.3-21.

Sanchez, F.A. and Sanchez, A.C. 1971. Estudi ode algunas propiedades Fisicay components quimcos del lipuidoy pared germinativa de quistes hidatidosis. Revistia America de parasitologia, 31: pp.347-66.

Thompson, R.C. 1977. hydatidosis in Great Britain (Review article) helminthol. Abstr. 64 (10): pp.837-861.

Vercelli-Retta, J.; Reissen, N.J.; Hozano, W. and Siri, A.M. 1975. Histochemistry and histoenzymology of the hydated cyst of Echinococcus granulosus. Part 1. The germinal membrane. Z. Parasitenked, 48: pp.15-23, Verheyen, 1982.

Verheyen, A. 1982. Echinococcus granulosus: The influence of mebendazole therapy on the ultrastructural morphology of the germinal layer of hydatid cysts in human and mice. Z. Parasitenked, 67: pp.55-65.