

دراسة مقارنة لتحديد طبيعة بروتين عدسة العين في بعض الفقريات العراقية

م.م. شيماء عواد عبد*
زينب انور علي*

أ.د. محمد عبد الهادي غالي*
رغد عبد الباسط حمد**

*قسم علوم الحياة، كلية العلوم للبنات، جامعة بغداد، بغداد، العراق.
** كلية العلوم للبنات، جامعة بغداد، بغداد، العراق.

استلام البحث 2016/5/18
قبول النشر 2016/7/19



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

الخلاصة :

بينت الدراسة الحالية ان العدسة في سمكة البلعوط الملوكي *Chondrostoma regium* شفافة وكروية الشكل وصلبة القوام، بينما تكون في ضفدع الشجر *Hyla arborea savignyi* وسلحفاة المياه العذبة *Clemmys caspia caspia* والبلبل العراقي *Pycnonotus leucotis* والجرذ البني *Rattus norvegicus* شفافة ومحدبة الوجهين لينة ، اما في البلبل فتكون اكثر ليونة. وقد سجل وجود فروق معنوية بين متوسط وزن العدسة والتركيز الكلي للبروتين في عدسات الانواع المدروسة. واطهرت عملية الترحيل الكهربائي لبروتينات عدسة العين وجود حزمة واحدة من البلورين - α وحزمة واحدة ايضاً من البلورين - β في جميع الانواع المدروسة. اما البلورين - γ فقد تمثل بحزمة واحدة تميزت بها بروتينات عدسة سمكة البلعوط الملوكي وضفدع الشجر وسلحفاة المياه العذبة والجرذ البني ، بينما ظهرت حزمة واحدة من البلورين - δ في بروتينات عدسة البلبل العراقي.

الكلمات المفتاحية : العدسة، البلورين، سمكة البلعوط الملوكي، ضفدع الشجر، سلحفاة المياه العذبة، البلبل العراقي، الجرذ البني.

المقدمة :

مؤلفة من الياف [7,6]، والالياف العدسية *lens fibers* هي تراكيب نحيفة وطويلة ومسطحة، تنشأ من خلايا الظهارية العدسية ، ومع نمو ونضج الالياف العدسية فإنها تصبح طويلة جداً ورقيقة وذات تركيب مسطح وتفقد نواها والعضيات الاخرى [4]، وتمتلئ بمجموعة من بروتينات ذائبة في الماء الذي يشكل نحو 90% تسمى بالبلورين *crystalline* [1]، وهذه البروتينات تكون على ثلاثة انواع رئيسية هي : البلورين - α ، والبلورين - β والبلورين - γ [9,8]. ويستبدل البلورين - γ في الطيور وبعض الزواحف بالبلورين - δ [11,10].

اجريت الدراسة لتحديد العلاقة التطورية بين بعض الفقريات العراقية ، من خلال دراسة مدى التشابه والاختلاف في الحزم البروتينية لعدسة العين، والحيوانات التي تم اختيارها تختلف في الصنف الذي تعود اليه، والبيئة، وطبيعة التغذية : وهي سمكة البلعوط الملوكي *Chondrostoma regium* (Heckel, 1843) ، وضفدع الشجر *Hyla arborea savignyi* (Audouin, 1812) ،

العدسة *Lens* عبارة عن تركيب شفاف *transparent*، محدب الوجهين *biconvex*، لاوعائي *avascular* [1]. يقع خلف القرنية *cornea* ، ويرتبط بالجسم الهدبي *ciliary body* عن طريق الرباط المعلق *suspensory ligament* [2]. وتعمل على تركيز الضوء على الشبكية [1]. تنشأ العدسة نتيجة الحث المتبادل بين الحوصلة البصرية *optic vesicle* و الاديم الظاهر *ectoderm* ، تحت الحوصلة البصرية خلايا الاديم الظاهر على النتخن مكونة الوسادة العدسية [3] *Lense Placode*، التي تأخذ بالانغلاق مكونة كرة مجوفة تدعى الحوصلة العدسية *Lense Vesicle*، تستقر الحوصلة العدسية داخل الكوب البصري *optic cup* [4]. تتكون العدسة نسجياً من محفظة العدسة *lens capsule* متجانسة، وظهارة العدسة *lens epithelium* تحت المحفظة تتألف من صف واحد من الخلايا الظهارية المكعبة توجد على السطح الامامي للعدسة فقط [5]، تتميز عدسة الطيور بوجود رفادة حلقيية *Annular pad* في اطراف العدسة

- التحليل الإحصائي :

أجري تحليل احصائي للعينات لايجاد فروق معنوية بين متوسط وزن العدسة ومتوسط تركيز البروتين في عدسة العين وقورن بين المتوسطات بإستعمال T- test و بإستعمال برنامج التحليل الاحصائي SAS [15].

النتائج :

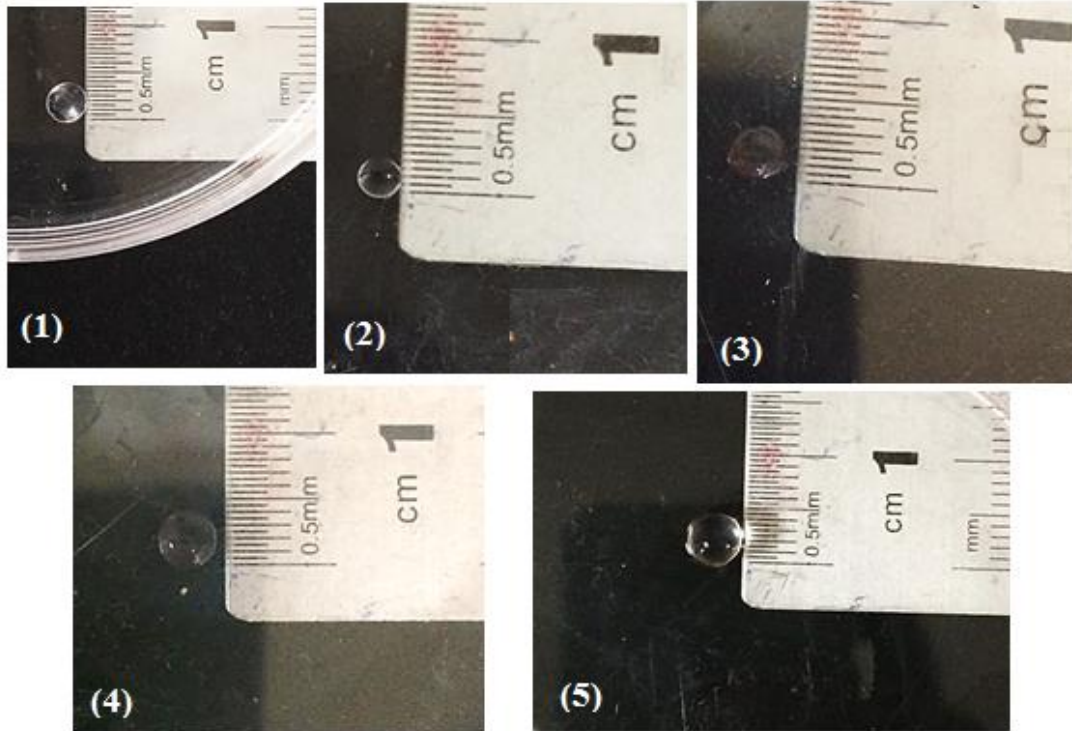
بينت النتائج ان العدسة في سمكة البلعوط الملوكي شفافة وكروية الشكل وصلبة القوام ، بينما اتصفت عدسة ضفدع الشجر و سلحفاة المياه العذبة والبلبل العراقي والجرذ البني بأنها شفافة ومحدبة الوجهين ولينة ، فيما ظهرت عدسة البلبل ذات طبيعة اكثر ليونة (شكل - 1). وقد سجل وجود فروق معنوية بين متوسط وزن العدسة والتركيز الكلي للبروتين في عدسة الانواع المدروسة كما موضح في الجدول (1) ، كما اظهرت النتائج تبايناً في تركيز البروتين بين عدسات الانواع المدروسة (شكل - 2). وبينت نتائج عملية ترحيل عينات بروتين عدسات العين في الانواع المدروسة وجود ثلاثة انواع من الحزم البروتينية على شكل بلورين (شكل -3) : أذ ظهرت حزمة واحدة من البلورين- α في جميع الانواع ، وبلغ وزنها الجزيئي تقريباً ما بين 15- 10 كيلو دالتون في سمكة البلعوط الملوكي، و 22 - 19 كيلو دالتون في ضفدع الشجر، و 15 كيلو دالتون في سلحفاة المياه العذبة، وفي البلبل العراقي 19- 16 كيلو دالتون، اما في الجرذ البني فكان 19 - 17 كيلو دالتون. كما ظهرت حزمة واحدة من البلورين - β في بروتين عدسات الانواع المدروسة وكان وزنها الجزيئي تقريباً ما بين 20 - 18 كيلو دالتون في سمكة البلعوط الملوكي، و 25 كيلو دالتون في ضفدع الشجر، اما في سلحفاة المياه العذبة فبلغ ما بين 23 - 20 كيلو دالتون، ووصل وزنها الجزيئي في البلبل الى تقريباً ما بين 25 - 20 كيلو دالتون، و 22 - 20 كيلو دالتون في الجرذ البني. اما البلورين- γ فقد تمثل بحزمة واحدة في جميع الانواع وبلغ وزنها الجزيئي تقريباً ما بين 18 - 15 كيلو دالتون في سمكة البلعوط الملوكي و ضفدع الشجر، و 19 - 17 كيلو دالتون في سلحفاة المياه العذبة، و 17 - 15 كيلو دالتون في الجرذ البني، بينما ظهر البلورين - δ بحزمة واحدة في البلبل العراقي وكان وزنها الجزيئي 35 كيلو دالتون.

وسلحفاة المياه العذبة *Clemmys caspia caspia* (Gmelin, 1774)، والبلبل العراقي *Pycnonotus leucotis* (Gould, 1836) ، والجرذ البني *Rattus norvegicus* (Bekenhout, 1769) .

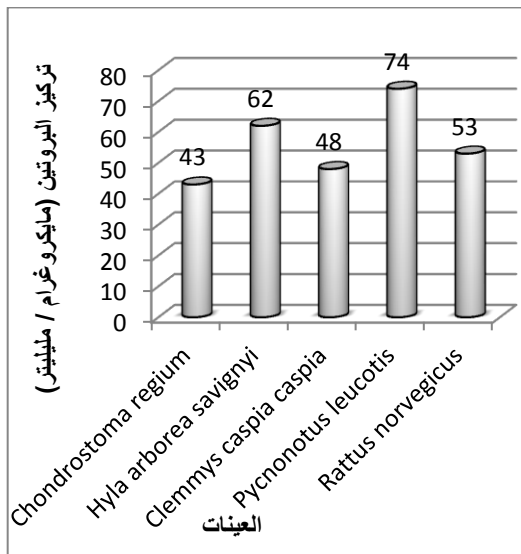
المواد وطرائق العمل :

جُمعت العينات من مناطق مختلفة في محافظة بغداد، واختيرت بحيث تكون سالمة من الامراض والعيوب ، وبواقع 3 حيوانات لكل نوع من الانواع المدروسة. تم تصنيفها وتحديد عمرها التقريبي من قبل متحف التاريخ الطبيعي / جامعة بغداد. خُدرت الحيوانات بإستعمال مادة الكلوروفورم Chloroform، وبعد ذلك قطع رأس الحيوان وأزيل الجلد ومن ثم فصل الفك السفلي وكُسرت عظام الجمجمة، وأُعقب ذلك إزالة مقلة العين من المحجر وقطعت العضلات المرتبطة بها، وقطعت العين بشكل مستعرض وأزيلت العدسة [6]، اما في طائر البلبل العراقي فقد اعتمدت الخطوات السابقة نفسها فضلاً عن إزالة الريش .
- العدسة وإستخلاص البروتين منها:

وزنت العدسة ، ثم وضعت في انبوبة اختبار حاوية على 2مل من محلول السكروز sucrose ومحلول (Tris , MgCl₂, KCl, pH 7.2) [10] ، بالنسبة لعدسة السمكة فقد احتوت انبوبة الاختبار على 2مل من محلول (Tris - Hcl , pH 6.8) [12]. جونس المحلول، ومن ثم وضعت الانابيب في جهاز الطرد المركزي المبرد Cooling centrifuge لمدة 15 دقيقة وبسرعة دوران 14000 دورة في الدقيقة ودرجة حرارة 6 م. اخذ الراشح من المحلول [محور من 10] .
- تم تحديد تركيز البروتين الكلي في العينات بإستعمال طريقة لوري [محور من 13] .
- استعملت طريقة الترحيل الكهربائي المستعمل فيها جل بولي اكريل اميد بوجود كبريتات دوديسل الصوديوم (SDS-PAGE) sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis لتحليل عينة البروتين وحُدد الوزن الجزيئي لانواع البروتينات الموجودة في عدسة عين كل من الانواع المدروسة [14].



شكل (1) : يوضح شكل عدسة عين في كل من (1) سمكة البعلوط الملوكي ، (2) ضفدع الشجر ، (3) سلحفاة المياه العذبة ، (4) الببلب العراقي ، (5) الجرذ البني

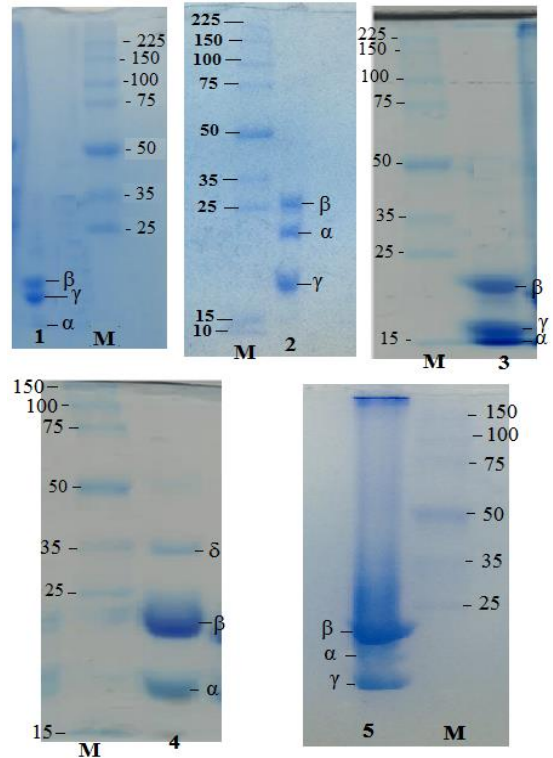


شكل (2) : يوضح تركيز البروتين في عدسة عين الانواع المدروسة

جدول (1) نتائج الفروق المعنوية بين عدسة العين في الانواع المدروسة

تركيز البروتين (مايكروغرام / مليلتر)	وزن العدسة (غم)	العينات
المتوسط \pm الخطأ القياسي	المتوسط \pm الخطأ القياسي	
5.2 \pm 43	0.01 \pm 0.07	<i>Chondrostoma regium</i>
4.5 \pm 62	0.001 \pm 0.02	<i>Hyla arborea savignyi</i>
2.3 \pm 48	0.01 \pm 0.03	<i>Clemmys caspia caspia</i>
4.5 \pm 74	0.01 \pm 0.06	<i>Pycnonotus leucotis</i>
2.3 \pm 53	0.01 \pm 0.08	<i>Rattus norvegicus</i>
4.6*	1.3*	T-test قيمة
(P<0.05) *		

وذلك بفضل سمك العدسة وتركيب البلورين [21].
 اظهرت النتائج وجود فروق معنوية بين متوسط وزن العدسة في الانواع المدروسة، وهذا دليل على اختلاف حجم العدسة بين الانواع المدروسة ، ومتوسط التركيز الكلي للبروتين بين الانواع ، فكلما زاد وزن العدسة ، ومتوسط التركيز الكلي للبروتين زادت الفروق المعنوية بين الانواع المدروسة . أن البلورين عبارة عن مجموعة من البروتينات مسؤولة عن شفافية العدسة وتشكل نحو 90% من البروتينات الذائبة في عدسة العين [22]. يقسم البلورين الى ثلاثة اجزاء هي: α - ، β - ، و γ - توجد في جميع اصناف الفقريات ، لكن البلورين γ - ينخفض وجوده او ينعقد في الطيور ، والبلورين δ - يوجد في بعض الزواحف والطيور فقط [23]. يحافظ البلورين α - على معامل الانكسار في العدسة ويمنع تكوين مجاميع كبيرة للضوء المبعثر داخلها [24]. وقد اظهرت نتائج الترحيل الكهربائي لبروتينات عدسة عين كل من سمكة البلعوط الملوكي ، وضفدع الشجر ، وسلحفاة المياه العذبة ، والبلبل العراقي ، والجرذ البني وجود حزم من انواع البلورين وبأوزان جزيئية مختلفة بين الانواع مقارنة بالشريط القياسي المستعمل في عملية الترحيل، وهذه النتائج لانتشابه مع الاوزان الجزيئية لأنواع بروتين البلورين في الدراسات [6,10,25,26] ، وقد يعود السبب الى الاختلاف في النوع والعمر وبيئة الحيوان . وتكون هذه البروتينات مسؤولة عن الخصائص البصرية ومن ثم فإنها تنتظم بشكل حزم كثيفة للحد من الضوء النافذ المبعثر [11]. وقد اشارت دراسة [12] الى إن صلابة عدسة سمكة *Monopterus albus* و *Danio rerio* يعود الى قلة البلورين α - مقارنة بـ β - و γ - . وهذا مشابه لنتائج الدراسة الحالية ، ان وجود البلورين γ - يعطي صلابة لعدسة سمكة البلعوط الملوكي . وليونة عدسة الطيور دليل على الكمية الكبيرة للبلورين ، كما ان وجود نوع δ - في العدسة يعطي ليونة اكبر للعدسة [27]، فيما تتميز عدسة البلبل العراقي بليونتها لانفرادها بوجود البلورين نوع δ - الذي يعطيها هذه الخاصية وانعدام نوع γ - ومن ثم سهولة التكيف البصري السريع لها .



شكل (3): يوضح الترحيل الكهربائي لانواع البروتين في عدسات عين كل من (1) سمكة البلعوط الملوكي، (2) ضفدع الشجر، (3) سلحفاة المياه العذبة، (4) البلبل العراقي ، (5) الجرذ البني، (M) marker المناقشة:

اوضحت النتائج ان العدسة في الانواع المدروسة تكون شفافة، لكنها تختلف في درجة صلابتها، إذ تكمن الوظيفة البصرية للعدسة في عمل بروتينات عدسة العين على تركيز الضوء على الشبكية Retina [16]. تكون عدسة سمكة البلعوط الملوكي كروية وصلبة، وهذا يماثل عدسة سمكة الجري الاسيوي *Silurus triostegus* وسمكة الخشني *Liza abu* [17] ، بينما تكون عدسة ضفدع الشجر وسلحفاة المياه العذبة والبلبل العراقي والجرذ البني محدبة الوجهين، وعدسة البلبل العراقي تكون اكثر ليونة من عدسة ضفدع الشجر وسلحفاة المياه العذبة والجرذ البني، ان تحذب ومرونة عدسة الطيور يسهل التكيف السريع لها [18]، وتعطي الطير القدرة على تكوين صورة اكثر وضوحاً عند النظر من مسافات مرتفعة [19]. تختلف عدسات العين في الفقريات في الحجم والشكل واسلوب تنظيم الصورة، فبعض الحيوانات ذات عدسات كروية للحصول على درجة عالية من انكسار الضوء، وقد تكون العدسة ببيضوية او مسطحة [20]. التكيف للرؤية Visual accommodation في البيئة المائية يختلف عن بيئة اليابسة، اذ تعمل عدسة الحيوانات البرية على تركيز الصورة على الشبكية، فيما تعمل عدسة الاسماك على انكسار معظم الضوء

- [10] Thomson, I.; Wilkinson, C. E.; Burns, A. T. H.; Truman, D. E. S. and Clayton, R. M. 1978. Characterization of chick lens soluble proteins and the control of their synthesis. *Exp. Eye Res.* 26: 351 – 362.
- [11] Piatigorsky, J. 2003. Gene sharing, lens crystallins and speculations on an eye/ear evolutionary relationship. *Integr. Comp. Biol.* 43(4):492 – 499.
- [12] Lin, Yi – R.; Mok, H. K.; Wu, Y. H.; Liang, S. S.; Hsiao, C. C.; Huang, C. H. and Chiou, S. H. 2013. Comparative proteomics analysis of degenerative eye lenses of nocturnal rice eel and catfish as compared to diurnal zebrafish. *Molecular Vision*, 19:623-637.
- [13] Lowry, O. H.; Rosebrough, N. J.; Farr, A. L.; and Randall, R. J. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265 – 275.
- [14] Walker, J. M. 2002. The protein protocols handbook, 2nd ed., Humana press. pp:57 – 72.
- [15] Nisbet, R.; Elder, J. and Miner, G. 2009. Handbook of statistical analysis and data mining applications, Academic press. pp: 62 – 374.
- [16] Galvan, I.; Erritzoe, J.; Wakamatsu, K. and Moller, A. P. 2012. High prevalence of cataracts in birds with pheomelanin-based colouration. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 162: 259.
- [17] Al-jumaily, I. S. A. 2008. Comparative morphological and histological study of the eye in two species of Iraqi freshwater fishes (*Silurus triostegus* Heckel and *Liza abu* Heckel). Ph.D. thesis. College of science for women – Baghdad university. pp:67- 69.
- المصادر:
- [1] Mescher, A. L. 2013. Junqueira's basic histology text and atlas, 13th ed., McGraw Hill. Pp 489 – 494.
- [2] Martini, F. H. and Nath, J. L. 2009. Fundamentals of anatomy & physiology. 8th ed., Benjamin cummings. Pp574 – 576.
- [3] Gilbert, S. F. 2010. Developmental biology. 9th ed., Sinauer associates, Inc. pp: 359 – 365.
- [4] Ross, M. H. and Pawlina, W. 2011. Histology a text and atlas with correlated cell and molecular biology, 6th ed., MPS Limited, AMacmillan. pp:898 – 916.
- [5] Treuting, P. M. and Dintzis, S. M. 2012. Comparative Anatomy and Histology A Mouse and Human Atlas, 1st ed., Elsevier Inc. pp:395 – 417.
- [6] Al-juboori, sh. A. A. 2014. Comparative morphological and histological study of the eye in two species of Iraqi birds (*Falco tinnunculus* L. and *Streptopelia decaocto* F.). Master thesis, College of science for women – Baghdad university. pp:59-85.
- [7] Al-hamdany, A. M. T. A. 2012. Comparative anatomical, histological with developmental study at light and electron microscope level of eye and alimentary canal for three species of birds which differ in nutrient nature. Ph.D. thesis, College of education – University of Mosul.
- [8] Chiou, S. H.; Huang, C. H.; Lee, I. L.; Wang, Y. T.; Liu, N. Y. ; Tsay, Y.G.; Yu-Ju Chen, Y. J. 2010. Identification of in vivo phosphorylation sites of lens proteins from porcine eye lenses by a gel-free phosphoproteomics approach, *Molecular Vision* ; 16: 294.
- [9] Slingsby, C.; Wistow, G.J. and Clark, A. R. 2013. Evolution of crystallins for a role in the vertebrate eye lens. *Protein science*, 22: 367.

- [23] De Jong, W. W.; Hendriks, W.; Mulders, J. W. M. and Bloemendal, H. 1989. Evolution of eye lens crystallins: the stress connection. *Trends Biochem Sci*, 9(14):365-8.
- [24] Horwitz, J.; Bova, M. P.; Ding, L. L.; Haley, D. A. and Stewart, P.L. 1999. Lens α – crystalline: function and structure. *eye*. 13, 403.
- [25] Aminlari, M.; Gholami, S.; Parhizgari, Gh. and Ranjbar, S. 2006. Comparison of optic lens proteins among animals at different stages of development, *Iranian Journal of Veterinary Research*, University of Shiraz, 7(1): 1.
- [26] Sher, M.; Hameed, A.; Noreen, S.; Fayyaz – ur – Rehman, M.; Hussain, M. A. and Bukhari, S. N. 2015. Extraction, purification and characterization of the crystalline protein of cataractous eye lens nucleus. *Analyst*, 140(18): 6392.
- [27] Stevens, L. 2004. *Avian biochemistry and molecular biology*, 1st ed., Cambridge university press .155pp.
- [18] Jezler, P. C. O. C.; Braga, M. B. P.; Perlmann, E.; Squarzoni, R.; Borella, M. I.; Barros, P. S. M.; Milanelo, L. and Antunes, A. 2010. Histological analysis of eyeballs of the striped owl *Rhinoptynx clamator*. *Microscopy: Science, Technology, Applications and Education*. pp:1047 – 1054.
- [19] Jones, M.P.; Pierce, K.E. and Ward, D. 2007. Avian vision: A review of form and function with special consideration to birds of prey. *J. Exotic. Pet. medicine*. 16 (2): 69 – 87.
- [20] Gali, M. A. and Dauod, H. A. M. 2014. *Comparative anatomy of chordates*, 2nd ed., Dar Al – Doctor the administrative and economic Sciences, pp: 807 – 823.
- [21] Kardong, K. V. 2012. *Vertebrates Comparative Anatomy, Function, Evolution*, 6th ed., McGraw – Hill. pp 681 – 690.
- [22] Mohanty, B.P.; Bhattacharjee, S. and Das, M. K. 2011. Lens proteome map and α –crystalline profile of the catfish *Rita rita*. *Indian journal of biochemistry & biophysics*. 48: pp: 35 – 41.

A comparative study to determine the native eye lens protein in the some types of Iraqi vertebrates

*Prof. Dr. Mohammed A. Gali**
*Raghad A. Hamad***

*Assist. Lecturer Shaimaa A. Abid**
*Zainab A. Ali**

*Department of Biology, College of Science for Women, University of Baghdad, Baghdad, Iraq.

** College of Science for Women, University of Baghdad, Baghdad, Iraq.

Received 18/5/2016

Accepted 19/7/2016

Abstract:

This study showed that the lens in baloot muluki fish *Chondrostoma regium* is transparent, spherical shape, and solid in textures, while in the tree frog *Hyla arborea savignyi*, freshwater turtles *Clemmys caspia caspia*, white-eared bulbul *Pycnonotus leucotis* and brown rat *Rattus norvegicus* are transparent, soft and biconvex, it is very soft in white-eared bulbul. There are many significant differences have been recorded between the average weight lens and the total concentration of the protein in the lens all studied animals. Electrical migration process for lens proteins showed that there is one bundle of crystalline α and one bundle also crystalline β in all studied species, either crystalline γ may represent one bundle characterized the lens proteins in baloot muluki fish, tree frog, freshwater turtles, and brown rat, while one bundle from crystalline δ appeared in lens proteins of the white - eared bulbul.

Key words: lens, crystalline, baloot muluki fish, tree frog, freshwater turtles, white-eared bulbul, brown rat