تحديد تموضع التعدد الشكلي polymorphism للجسيمات الكلسية في الدودة الشريطية *Bothriocephalus acheilognathi*

سندس نذير الكلاك
فرع العلوم الطبية الأساسية، كلية التمريض، جامعة الموصل

الخلاصة

شملت الدراسة الكشف عن تموضع الجسيمات الكلسية بالطريقة الكيميائية النسجية في أنسجة وأعضاء الدودة الشريطية *Bothriocephalus acheilognathi*. وفي هذا الخصوص، أوضحت النتائج الحالية وفرة من التعدد الشكلي للجسيمات الكلسية بهيئة حبيبات وعناقيد وتراكيب بيضوية متموضعة في الوحدات الوظيفية للدودة الشريطية الحالية مثل العضلات الطولية، والنسيج الميزنكيمي ، والأعضاء التكاثرية الأنثوية والذكرية. يستنتج من الدراسة الحالية تباين في تموضع التعدد الشكلي للجسيمات الكلسية ويستدل من توافر وجودها أهميتها بكونها الواجهة لجزء من الوظائف الحيوية والنشاطات الأيضية لضمان بقاء وديمومة الطفيلي في مضيفه.

الكلمات المفتاحية: كيمياء النسج، جسيمات كلسية، تعدد شكلي، ديدان شريطية.

المقدمة

تتعرض الحيوانات الفقرية التي لها أهمية اقتصادية والأخرى التي ليست كذلك للإصابة بأنواع عديدة من الحيوانات الإبتدائية والديدان، وما زالت هذه من أهم أسباب الأمراض البشرية والحيوانية ،إذا تعد سببا" في هلاك الملايين من البشر والحيوانات الداجنة في كل عام في جميع أنحاء العالم.

تعود الدودة الشريطية قيد الدراسة إلى الجنس *Bothriocephalus* وهي من الطفيليات المهمة التي تصيب الأسماك،مثل: الشبوط *Barbus grypus*، والبز *B. esocinus*،والكارب الإعتيادي *Cyprinus carpio*، والكارب العشبي *Ctenopharyngodon idella*هذا وقد شخص النوع *B. acheilognathi* وعدّ كل من النوع *B. opsariichthydis* والنوع *B. gowkongensis* مرادفين له [1]. في ضوء إستعراض البحوث المنشورة المهتمة بشأن جنس الدودة الشريطية قيد الدراسة تبين أن دراسات وأبحاث سواء عالميا" أو محليا" أجريت من العديد من الباحثين شملت محاور بحثية شتى رفدوا من خلالها معلومات ذي قيمة عن تلك الدودة الشريطية، فمنهم من إهتم بالدراسة التصنيفية [2-5]، في حين أخذت المحاور الأخرى لدراسات لاحقة منحا" آخرا" لتشمل دراسات نسجية [6، 7] بينما إتجه أنظار العديد من الباحثين نحو دراسة الجوانب الحياتية لتلك الدودة الشريطية [8-11].

يتضح مما سبق ذكره آنفا" عدم توافر مصادر علمية محلية تعنى بدراسة الجسيمات الكلسية والتعدد الشكلي لها وما يؤول له دورها الوظيفي في حياتية الديدان الشريطية والديدان الطفيلية قاطبة، لذا عدّ ذلك هدفا" مهما" أثار إهتمام الباحثين المعنيين في هذا المضمار. فقد برزت دراسة الكلاك [12] ،أذا عدّت المبحث الأول أفادت فيه تموضع الجسيمات الكلسية في الطور البالغ لأنموذجين من الديدان الشريطية أحادية ومتعددة الحوين. كما أظهرت دراسة لاحقة [13] وفرة الجسيمات الكلسية في مختلف أعضاء دودة مخرّم الكبد العملاق *Fasciola gigantica*. ومن هنا تتضح أهمية صياغة هدف الدراسة الحالية وبلورته في التوصل لنتائج ترفد ما توصل له العديد من الباحثين السابقين في هذا الصدد.

المواد وطرائق العمل

جمعت 60 سمكة من أسماك البز *Barbus esocinus* المصطادة حديثا" من نهر دجلة المار بمدينة الموصل شمال العراق. جلبت الأسماك إلى المختبر بعدها فتحت بطونها ونزعت الأمعاء منها ووضعت في أوان خاصة هيأت لهذا الغرض إحتوت على محلول ملحي فسلجي0.85%. فتحت الأمعاء وجرى البحث عن طفيلياتها من الديدان الشريطية. وجدت الدودة الشريطية *B. acheilognathi* بأعداد كبيرة بعضاً منها ملتصقة بالغشاء المخاطي المبطن لأمعاء المضيف، فصلت عن الغشاء المخاطي وأزيلت بوساطة فرشاة صغيرة وجمعت بمعدل 30 أنموذجا" حيا" وغسلت بالماء المقطر لإزالة بقايا الغشاء المخاطي العالق بها. ثبتت الديدان الشريطية بالفورمالين المنظم المتعادل 10% وطمرت في قوالب شمع البارافين. حضرت المقاطع العرضية النسجية بعد أن قطعت بالمشراح الدوار microtome بسمك 7 مايكرومتر. إستخدمت تقنية Von Kossa (Vk) للكشف عن عنصر الكالسيوم وما يترافق عن وجوده تشكيل للجسيمات الكلسية في النسيج الحي [14]. حملت المقاطع النسجية ببلسم كندا وفحصت مجهريا".

النتائج

إتضح من تتبع المقاطع النسجية المتفاعلة مع تقنية VK وفرة من الجسيمات الكلسية متموضعة في أنسجة وأعضاء الدودة الشريطية قيد الدراسة وبدت الجسيمات بأحجام متباينة وتعدد شكلي على هيأة حبيبات متناثرة وأخرى متجمعة على شكل عناقيد clusters، كما شوهدت تراكيب بيضوية في داخل الأنسجة وعلى طول إمتداد الشريط الجسمي strobila (الصور 1-6). ففي منطقة الرؤيس لوحظ الشكل العنقودي في النسيج الميزنكيمي والعضلات الطولية وبأعداد ضئيلة في أجسام السايتونات cytons وخلايا تحت جدار الجسم، ولم يلحظ أي تجمع لعنصر الكالسيوم والجسيمات الكلسية في جدار جسم الدودة الشريطية قيد الدراسة (الصورة 1). ونتيجة لفحص المقاطع النسجية المتسلسلة للقطع غير الناضجة تبين توافر الأشكال الثلاث للجسيمات الكلسية في أنسجة كل من تحت جدار الجسم والعضلات الطولية والنسيج الميزنكيمي والبراعم التكاثرية gonad anlagen، كما شوهدت في منطقة القطع الناضجة (الصور 2-4) وفرة من التعدد الشكلي للجسيمات الكلسية وبأحجام متباينة في أنسجة كل من تحت جدار الجسم والعضلات الطولية والنسيج الميزنكيمي وأجسام السايتونات والأعضاء التكاثرية مثل المبيض، وجدار الرحم، وكيس الذؤابة، والخصى فضلا" عن الغدد المحية والقناة الإبرازية، في حين أظهرت القطع الحبلى (الصورة 5، 6) أعدادا" ضئيلة من الحبيبات الكلسية متناثرة في النسيج الميزنكيمي وكذلك في العضلات الطولية وخلايا تحت جدار الجسم والكيس الرحمي، وشوهدت كميات وفيرة من الشكل العنقودي للجسيمات في المبيض والغدد المحية والبيوض.

المناقشة

في ضوء نتائج الفحص المجهري للمقاطع النسجية المتفاعلة مع تقنية VK للدودة الشريطية قيد الدراسة يتضح وجود وفرة من عنصر الكالسيوم تمثلت بأشكال ثلاث للجسيمات الكلسية مكمونة في الأنسجة والأعضاء الفعالة مثل الجهازين التناسلي والإبرازي فضلا" عن النسيج الميزنكيمي والعضلات الطولية. إتفقت هذه النتيجة مع ما أوردته عدد من الدراسات السابقة التي تمحورت حول الكشف عن تموضع الجسيمات الكلسية وبينت وظائفها الحيوية في الديدان الطفيلية [15، 16]. فوجود عنصر الكالسيوم في النسيج الحيواني الحي وما يرافقه من تكوين للجسيمات الكلسية له دلالات بيولوجية مهمة، إذ تساهم تلك الجسيمات في عملية التعدين البيولوجي (الحيوي) biomineralization التي تحدث في أنواع الكائنات الحية جميعها ومنها الديدان المسطحة، وقد ذكرت العديد من المراجع العلمية إن المعادن (ومنها الكلسيوم المشكل للجسيمات) تتكون خارج الخلايا كما في المخرّمات [17]، في حين سجلت داخل خلايا الوحدات الوظيفية في الديدان الشريطية [12، 13، 18، 19]. إن إختفاء عنصر الكالسيوم والجسيمات الكلسية في جدار جسم الدودة الشريطية قيد الدراسة يعود إلى ما أكدته الأبحاث التي عنيت بالتحري عن ذلك في الديدان الطفيلية. فقد أفادت دراسة Etges and Marinakis [20] إحتواء جدار جسم الأطوار اليرقية على تراكيب معدنية صغيرة يشكل عنصر الكالسيوم 50% من محتواها الكلي، ظهرت متجمعة مع بعضها وشكلت الجسيمات الكلسية التي إستقرت فيما بعد في النسيج الميزنكيمي بعد إجتيازها جدار الجسم. كما أشارت دراسة Kwa [21] لتواجد كتل من تراكيب معدنية متجمعة بشكل حبيبات في النسيج الميزنكيمي، في حين كشفت دراسة Swiderski and Thach [22] تكوين الجسيمات الكلسية في الطبقة الميزنكيمية، و تتفق مع دراسة الكلاك [12] أيضا، إذ وجدت أشكال متعددة من الجسيمات الكلسية في الطبقة الميزنكيمية لنوعين من الديدان الشريطية. إن تموضع الجسيمات الكلسية في خلايا النسيج الميزنكيمي للدودة الشريطية قيد الدراسة يدل على دور فاعل للجسيمات في تنظيم الفعاليات الوظيفية والفسلجية في داخل الخلايا الميزنكيمية. إن ما يدعم التفسير الحالي هو ما أوضحته الأبحاث والدراسات حول المحتوى المعدني للجسيمات الكلسية والمتمثل بالمواد العضوية والمواد غير العضوية ودورها الفاعل في الوظائف الحيوية [16،23، 24].

إن فقدان الديدان الشريطية لجهازي الهضم والدوران لايعني التوقف في بعض الوظائف الحيوية انما تتوافر دعائم وظيفية مهمة مناطة إليها مهام فسلجية تساهم في الوظائف الحيوية من خلال تداخلاتها مع الوحدات الوظيفية لأجل إستكمال فسلجة أجسامها ونظرا" لما يكتنف بعض جوانبها من غموض فقد

تستدعي تفسيرا" بشأن ذلك، ومن هنا لفت إنتباه الكثير من الباحثين في هذا المجال ليغدو واحدا" من المواضيع المهمة في علم الطفيليات ألا وهو التقصي عن تموضع الجسيمات الكلسية ودراسة فاعلية دور مكمونها المعدني في تنظيم الوظائف الفسلجية والحيوية، وبهذا الصدد خلصت العديد من الدراسات والأبحاث إلى الكشف عن الجسيمات الكلسية وما يؤول له الدور الوظيفي في حياتية الديدان الشريطية، فقد عدت الجسيمات الكلسية مساعدات الإنزيم coenzyme في عملية تثبيت غاز ثاني أوكسيد الكربون الذي تحتاج الية يرقة الديدان المسطحة عند دخولها معدة وأمعاء مضيفاتها ودور المحتوى المعدني في آلية إنتقال الطفيلي وإستقراره في موطنه الطبيعي [25].

عدّت الجسيمات تراكيب متميزة في المراحل اليرقية والبالغة للديدان الشريطية ولها مهام حيوية خاصة [16]، بينما أكدت بعض الدراسات [15، 25، 26] أنها تراكيب منظمة وأشارت إلى دورها في تنظيم فعالية المواد العضوية وغير العضوية وإخماد مفعول النواتج الأيضية المتواجدة في الخلايا الميزنكيمية وخلايا جدار الجسم بطرحها إلى المحيط الخارجي. كما أفادت عدد من الدراسات التي عنيت بهذا الصدد لأهميتها في ديمومة الطفيلي في مضيفاته من خلال حمايته من عملية التكلس غير الطبيعي، حيث عدّت هنا بمثابة مكثف محرقي focal condensation للكالسيوم النافذ والمفرط في جسم الطفيلي [15، 27] في حين أفادت دراسة أخرى [19] توافر عنصر الكلسيوم وخزنه في العديد من الديدان الشريطية بشكل جسيمات كلسية وبينت تلك الدراسة دور الجسيمات الكلسية في الخلايا الفعالة والعضلات المتقلصة، وأناطت للكالسيوم الدور المفتاحي للعديد من منظمات الإنزيمات الخاصة بأيض وبناء الكلايكوجين والبروتين في الديدان الشريطية.

وأن التغيير الحاصل في الكلسيوم المتوافر في الطفيلي سوف يؤدي إلى تغيير في فعالية الإنزيمات والعمليات الحيوية الأيضية. هذا ومن جهة ثانية فقد أوضح Thompson and Lymbery [28] تأدية الجسيمات الكلسية لدور مناعي وذلك بتشكلها عوامل مستضدة مقترنة بها، فضلا" عن دور الكميات الوفيرة من البروتينات في محتواها المعدني في معظم الوظائف الحيوية. وتعقيبا" على ما ذكر في أعلاه، يعدّ الكالسيوم ضروريا" للعديد من الوظائف الحيوية في جسم الطفيلي مثل التقلص العضلي والتوصيل العصبي [23]، ولهذا إستنتج من النتائج الحالية توافره في الأعضاء التكاثرية للدودة الشريطية قيد الدراسة، إذ يؤدي دورا" مهما" في تنشيط عدد من الإنزيمات التي تزداد فاعليتها وتأدية مهامها الحيوية في مثل هذه الأعضاء الفعالة، من خلال دور الكلسيوم في نقل الأيونات في أثناء عملية آلية إنزيم الأسيتايل كولين أستريز في توصيل النبضات الحسية لتفعيل نقل التيار العصبي وإستمراره في الشريط الجسمي لإنجاح العملية التكاثرية وفسلجتها. إن هذه النتيجة تتفق مع دراسة الكلاك [12]. ومن جهة أخرى ربما يسهم الكالسيوم بدور فاعل في العملية التغذوية للديدان الشريطية بغياب الجهاز الهضمي من خلال توافر إنزيم الفوسفاتيز القاعدي في المحتوى المعدني للجسيمات الكلسية، فضلا" عن توافره في أنسجة الديدان الشريطية وهذا ما اكدته دراسة الكلاك [12] إذ خلصت تلك الدراسة إلى توافر الأنزيم في نوعين من الديدان الشريطية أحادية ومتعددة الحوين.

مما تقدم يمكن أن يستدل على وجود علاقة وثقى بين هذه الجسيمات وفسلجة الطفيلي وتطوره ،إذ تسهم الجسيمات الكلسية في العمليات المبكرة للتمييز(للتكشف) والنمو في الديدان الطفيلية. ومن الجدير بالملاحظة أن ميكانيكية تشكيل الجسيمات الكلسية بدت متباينة إعتمادا" على الحالات الأيضية والصفات المميزة لكل نوع من الكائنات الحية [27، 29] فضلا" عن الموقع التصنيفي لكل طفيلي حتى ضمن النوع الواحد وكمية الكالسيوم المتوافر في غذاء المضيفات وعلى الموقع الطبيعي لتوطن الطفيلي. وعليه فلابد من إجراء دراسات وافية وبأوجه مختلفة لغرض التفهم الأفضل والتوصيف الوظيفي للتعدد الشكلي للجسيمات الكلسية ومكنونها المعدني ودورها في حياتية الديدان الطفيلية قاطبة.

المصادر

1. Pool, D.W. and Chubb, J.C. (1985). A critical scanning electron microscope study of the scolex of *Bothriocephalus acheilognathi* Yamaguti, 1934, with a review of the taxonomic history of the genus *Bothriocephalus* parasitizing cyprinid fishes. Syst. Parasitol., 7: 199-211.
2. Mhaisan, F.T.; Ali, N.M.; Abul-Eis, E.S. and Kadim, L.S. (1990). Parasitological investigation on the grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) of Babylon fish farm, Hilla, Iraq. Iraqi J. Biol. Sci., 10: 89-97.
3. Rahemo, Z.I. and Al-Kallak, S.N. (1998). Parasitic fauna of the freshwater fish, *Barbus luteus* from Tigris river passing through Hammam Al-Alil, Mosul, Iraq. Acta Parasitol. Turc., 22(3): 330-333.
4. Matey, B.I.K.; Warburton, M.L. and Fisher, R.N. (2000). *Bothriocephalus acheilognathi* infection of fish in southern California. http://wildfishsurvey.fws.gov
5. Crystal, H. and Kenneth, P. (2005). Survey of specific fish pathogens in free-ranging fish from Devils lake, North Dakota. http://www.fisheries.org/fhs/bbinspection.htm
6. محمد، شهاب أحمد (1995). دراسات على الديدان الشريطية التي تتطفل في بعض الأسماك العظمية في نهر دجلة، أطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة الموصل: 128 صفحة.
7. الكلاك، سندس نذير؛ ياسين، أسرار إسماعيل وأحمد، نجوى محفوظ (2004). التركيب النسجي للدودة الشريطية *Bothriocephalus acheilognathi* Yamaguti, 1934 المتطفلة في أسماك المياه العذبة (البز) *Barbus esocinus*. مجلة علوم الرافدين، 15(4): 78-86.
8. الكلاك، سندس نذير (1992). دراسة مقارنة للجهاز العصبي لثمانية أنواع من الديدان الشريطية. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل: 115 صفحة.
9. الكلاك، سندس نذير (1998). الجهاز العصبي للدودة الشريطية *Bothriocephalus acheilognathi* (Cestoda: Pseudophyllidea). مجلة دراسات (العلوم الطبية والحياتية)، 25(2): 157-163.
10. النفطجي، منى طاهر محمد (2006). دراسة نسجية وكيموحيوية لبعض الديدان الشريطية في مضائف فقرية مختلفة. أطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة الموصل: 224 صفحة.
11. الكلاك، سندس نذير؛ السبعاوي، بثينة حاتم والحيالي، فاطمة قاسم (2008). دراسة كيميائية نسيجية للكشف عن تموضع المحتوى البروتيني للدودة الشريطية *Bothriocephalus acheilognathi* (Cestoda: Pseudophyllidea, Bothriocephalidae). مجلة تكريت للعلوم الصرفة، 13(3): 97-107.
12. الكلاك، سندس نذير (2001). دراسات مظهرية ونسيجية وكيميائية لأنموذجين من الديدان الشريطية المتطفلة في الأسماك. أطروحة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة الموصل: 198 صفحة.

13. الكلاك، سندس نذير؛ السبعاوي، بثينة حاتم وحميد، ساهرة إدريس (2006). دراسة عن الجسيمات الكلسية في الدودة الكبدية (*Fascoila gigantica* (Platyhelminthes: Trematoda في محافظة نينوى، شمال العراق. مجلة التربية والعلم 18(2): 52-64.

14. Luna, L.G. (1968). Manual of histological staining methods, 3rd ed. McGraw-Hill Book Co., New York: 258pp.

15. Chung, K.B.; Kong, K.; Cho, Y. and Yong, H.J. (2003). Purification and localization of a 10KDa calcareous corpuscles binding protein of *Spirometra mansoni* plerocercoid. Parasitol. Res., 89: 235-237.

16. Park, Y.K.; Park, J.H.; Sang-Mee, G.U.K.; Shin, E.H. and Chai, J.K. (2005). A new method for concentration of proteins in the calcareous corpuscles separated from the spargana of *Spirometra erinacei*. Kor. J. Parasitol., 43(3): 119-122.

17. Martin, W.E. and Bils, R.F. (1964). Trematode excretions: Formation and fine structure. J. Parasitol., 50: 337-344.

18. Nieland, M.L. and VonBrand, T. (1969). Electron microscopy of cestode calcareous corpuscles formation. Exp. Parasitol., 24: 279-289.

19. Das, B.; Tandon, V. and Saha, N. (2006). Effect of isoflavone from *Flemingia vestita* (Fabaceae) on the Ca^{+2} homeostasis in *Raillietina echinobothrida*, the cestode of domestic fowl. Parasitol. Int., 55: 17-21.

20. Etges, F.J. and Marinakis, V. (1991). Formation and excretion of calcareous bodies by the metacestode (Tetrathyridium) of *Mesocestoides vogae*. J. Parasitol., 77(4): 595-602.

21. Kwa, B.H. (1972). Studies on the sparganum of *Spirometra crinacei*. I: The histology and histochemistry of the scolex. Int. J. Parasitol., 2: 23-28.

22. Swiderski, Z. and Thach, V. (1997). Differentiation and ultrastructure of the paruterine organs and paruterine capsules in the nematotaeniid cestode *Nematotaenia dispar* (Goeze, 1782) Lühe 1910, a parasite of amphibians. Int. J. Parasitol., 22(6): 635-644.

23. Cheng, T.C. (1986). General parasitology. Acad. Press Inc., New York: 965pp.

24. Rodrigues, J.; Ferreira, H.; Farias, S. and Zaha, A. (1997). A protein with a novel calcium-binding domain associated with calcareous corpuscles in *Echinococcus granulosus*. Biochem. Biophys. Res. Commun., 237: 451-456.

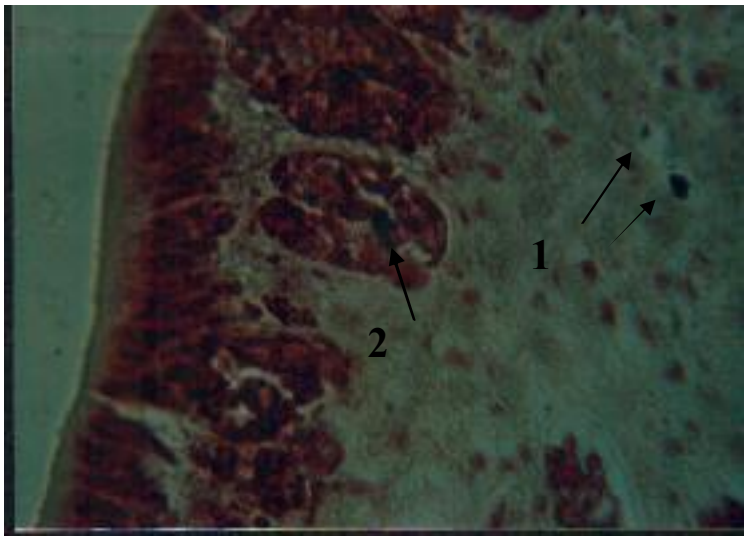
25. Slais, J. (1973). Functional morphology of cestode larvae. Adv. Parasitol., 11: 395-480.

26. Mackiwicz, J.S. and Ehrenpris, M.B. (1980). Calcareous corpuscles distribution in caryophyllid cestodes: Possible evidence of cryptic segmentation. Proc. Helminthol. Soc. Wash., 47: 1-7.

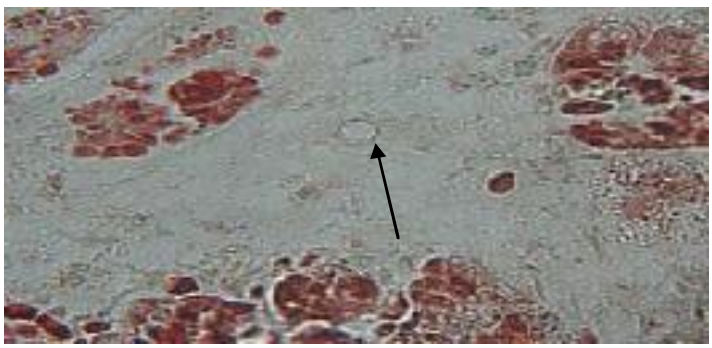
27. Vargas-Parada, L.; Merchant, M.T.; Willms, K. and Laclette, J.P. (1999). Formation of calcareous corpuscles in the lumen of excretory canals of *Taenia solium* cysticerci. Parasitol. Res., 85: 88-92.

28. Thompson, R.C. and Lymbery, A. (1995). *Echinococcus granulosus* and hydatid disease. CBA Int. Wallinford, Oxon: 476pp.

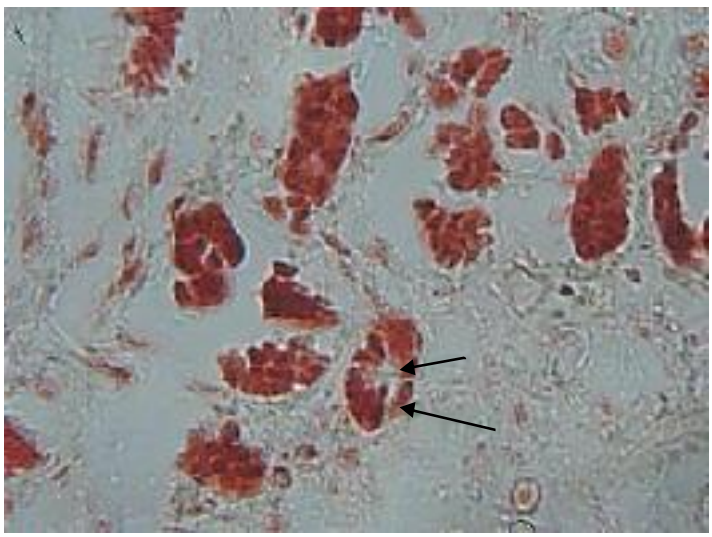
29. Chowdhury, N. and Rycke, P.H. (1977). Structure, formation and function of calcareous corpuscles in *Hymenolepis microstoma*. Z. Parsitenked., 53: 159-169.



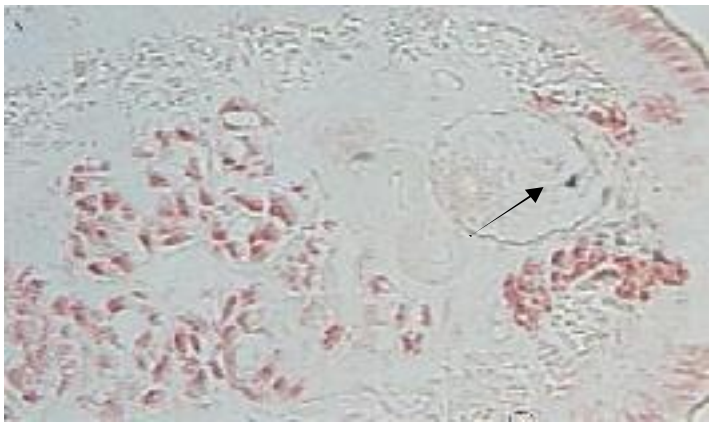
صورة (1): مقطع عرضي للدودة الشريطية *B. acheilognathi* تتضح فيها الجسيمات الكلسية في النسيج الميزنكيمي (1) والغدد المحية (2) (100x).



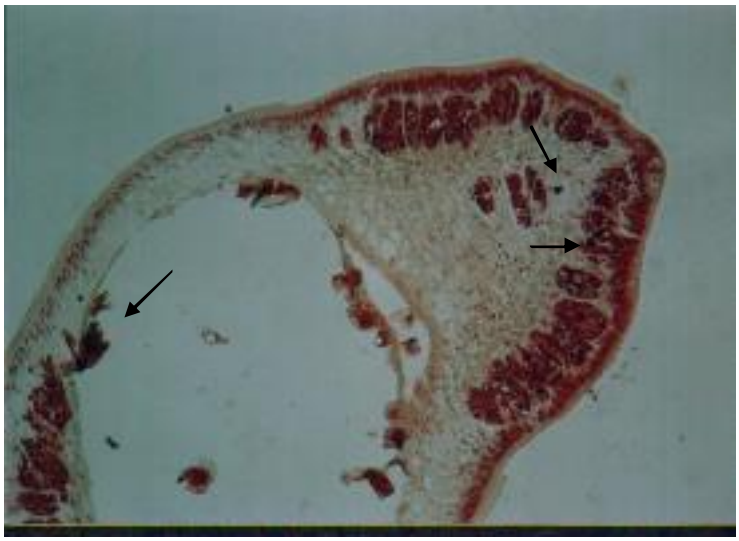
صورة (2): مقطع عرضي في القطعة الناضجة للدودة الشريطية *B. acheilognathi* تتضح فيها الجسيمات الكلسية في القناة الابرازية (السهم) (100x).



صورة (3): مقطع عرضي في القطعة الناضجة للدودة الشريطية *B. acheilognathi* تتضح فيها الجسيمات الكلسية في الخصى (السهمان) (100x).



صورة (4): مقطع عرضي في القطعة الناضجة للدودة الشريطية *B. acheilognathi* تتضح فيها الجسيمات الكلسية في الرحم (السهم) (100x).



صورة (5): مقطع عرضي في القطعة الحبلى للدودة الشريطية *B. acheilognathi* تتضح فيها الجسيمات الكلسية في البيوض (الأسهم) (100x).

صورة (6): مقطع عرضي في القطعة الحبلى للدودة الشريطية *B. acheilognathi* تتضح فيها الجسيمات الكلسية في البيضة (السهم) (400x).

IBN AL- HAITHAM J. FOR PURE & APPL. SCI. VOL.23 (3) 2010

Determination of Polymorphism Location of the Calcareous Corpuscles in the Tapeworm *Bothriocephalus acheilognathi*

S. N. Al-Kallak
Basic Medical Sciences, College of Nursing, University of Mosul

Abstract

This research includes the histochemical study of the cestode, *Bothriocephalus acheilognathi* in order to determine location and concentration of the polymorphism of the calcareous corpuscles in different tissues and organs of the above mentioned cestode. In general, it was noticed abundance polymorphism in calcareous corpuscles, which appeared in the shape of spread clusters, oval structures and floats in location in biological units such as longitudinal muscles, mesenchymal tissue and reproductive organs. The present research indicated various polymorphisms in calcareous corpuscles. Furthermore, the polymorphism in calcareous corpuscles indicates their importance as they ensure survival and continuation of the parasite in its host.

Key words: Histochemistry, Calcareous corpuscles, Polymorphism, Cestodes .