

المدخل إلى التكوين الجزيئي للأجنة

تأليف

أ.د. أحمد راشد الحميدي

قسم علم الحيوان، كلية العلوم، جامعة الملك سعود

دار جامعة الملك سعود للنشر ، ١٤٤١هـ ، ٢٠١٩م .

ح

فهرسة مكتبة الملك فهد الوطنية أثناء النشر

رقم الإيداع:

ردمك :

جميع حقوق النشر محفوظة. لا يسمح بإعادة نشر أي جزء من الكتاب بأي شكل وبأي وسيلة سواء كانت إلكترونية أو آلية بما في ذلك التصوير والتسجيل أو الإدخال في أي نظام حفظ معلومات أو استعادتها بدون الحصول على موافقة كتابية من دار جامعة الملك سعود للنشر .

مقدمة

الحمد لله رب العلمين الذي علم الإنسان ما لم يعلم، والصلاة والسلام على المبعوث رحمة للعالمين الذي أَرشدنا وهدنا إلى صراطه المستقيم وبه ونستعين.

من المسلم به عمومًا أن التطور في علم الأجنة الجزيئية كان نتيجة للتقدم والتقارب بين مجموعة من العلوم البحثية المختلفة بين علم الخلية الجزيئي، والوراثة الجزيئية، وعلم فسيولوجيا الخلية وعلم الأجنة التجريبي، والكيمياء الحيوية وعلم الأحياء الدقيقة، وغيرها من العلوم التي قامت بدور نشط في تنمية مفاهيم التكوين الجزيئي وأنظمتها والملاحظات التي أدت إلى تطور علم الأجنة الجزيئي، فإن تطور التكوين الجزيئي للأجنة، أكثر تعقيدًا مما يوحي بهذا التقارب نظرًا لتشعب صلاته وعلاقاته بالعلوم الأخرى من استخدام المعدات والأجهزة التي ساهمت بها العلوم الهندسية والفيزيائية والرياضيات والإحصاء وعلوم الحاسب والبرمجيات وغيرها.

فمن علم الخلية ومكوناتها الجزيئية، مع الوصف التركيبي لهياكل جزيئات مكونات الخلية، التي تضرب بجذورها في علم الوراثة نتيجة لاكتشاف المكونات الجزيئية للأحماض النووية المختلفة، وما تلاه من اكتشافات التكوين الجزيئي للجينات والتوصل إلى اكتشاف مرحلة التكاثر الجزيئي للمادة الوراثية الكروموسومات، ثم التعبير عن هذه الجينات بالنسخ من الحمض النووي للكروموسومات (الدنا DNA)

إلى الأحماض النووية المرسلّة (الرنا) (Messenger Ribonucleic Acid mRNA) والتي تحمل الشفرة الوراثية بما تحتويه من متتالية دقيقة للقواعد النيتروجينية حيث يتم ترجمة هذه الشفرة الوراثية بواسطة الريبوسومات في السيتوبلازم إلى متتالية من الأحماض الأمينية التي تتكون منها البروتينات والتي بدورها تتكون من الأنزيمات أو الهرمونات ونواقل ومستقبلات وعوامل النمو المختلفة وغيرها من مكونات البروتينات.

مما سبق يتضح أهمية احتواء المكتبة العربية على كتاب عن التكوين الجزيئي للأجنة؛ نظراً لندرة الكتب باللغة العربية في هذا المجال؛ ولحاجة الباحثين والدارسين في مجال البيولوجيا الجزيئية؛ وللتطور السريع والكثيف للمعلومات في مجال التكوين الجزيئي للأجنة فقد تم تأليف هذا الكتاب؛ ليكون مدخلاً يسهل فهم ومعرفة التكوين الجزيئي لتكوين الأجنة في مختلف طوائف الحيوان، وقد تم تصميم الكتاب على شكل فصول متتالية.

وفيما يلي نبذة عن محتويات فصول الكتاب:

- اشتمل الفصل الأول على أهمية الكتابة في التكوين الجزيئي والتعريف بالتكوين الجزيئي ولمحة تاريخية عن المراحل التي مر بها علم الأجنة من الوصفي، ثم المقارن بين الشعب المختلفة للكائنات الحية، ثم الأجنة التجريبي، ثم الأجنة الجزيئي،
- ثم كان الفصل الثاني عن التكوين الجزيئي لمراحل تكوين الأمشاج كالبويضات والحيوانات المنوية ومراحل نضوجها لأهميتها في التكوين الجنيني ودورها في فهم عملية الخصوبة والعقم والعوامل المرتبطة بها منذ تكوينها في المرحلة الجنينية في المناسل ثم نضوجها بعد البلوغ ودور الهرمونات في ذلك.
- تلا ذلك الفصل الثالث الذي اشتمل على التكوين الجزيئي لعملية الإخصاب بين الحيوان المنوي والبويضة وتكوين أول خلية في الجنين التي تعرف باللاقحة أو الزيجوت، وتم توضيح المكونات الجزيئية من تكوين المستقبلات للحيوانات المنوية على سطح البويضات، ثم تبادل الأيونات على سطح البويضات وداخلها

أثناء عملية ارتباط الحيوان المنوي بالبويضة، وتفاعل نواته مع نواة وسيتوبلازم البويضة، ثم التحام النواة الذكرية في النواة الأنثوية وبداية تكوين المادة الوراثية الأولى لأول خلية في الجنين.

- **بعده الفصل الرابع** عن التكوين الجزيئي لعملية التفليج والانقسامات الخلوية غير المباشرة ودور الجسم المركزي وخيوط المغزل وانفصال الكروموسومات بين الفلجات المتكونة وأهمية توزيع مادة السيتوبلازم بين الخلايا المنقسمة أو المتفلجة ودورها وأهميتها في التمايز الخلوي للجنين فيما بعد.
- **أما الفصل الخامس** فقد خُصصَ للتكوين الجزيئي لعملية التبطين وبداية تكوين الطبقات الجنينية الثلاث في الكائنات الحية المختلفة كاللافقاريات والفقاريات بشكل عام، وبداية عملية التمايز الخلوي ودور العوامل التي تحفز التكوين الجزيئي المبكر للجنين.
- **في حين اشتمل الفصل السادس** على التكوين الجزيئي للفقاريات والتجارب المختلفة التي عملت لفهم التركيب الجزيئي فيها مثل قنفذ البحر أو شوكيات الجلد، ثم في الحشرات كالدورسوفيليا وغيرها، واكتشاف الجينات المكونة لمحور الجسم في اللافقاريات (Hoemo genetic box)، ثم التكوين الجزيئي في بعض الرخويات والديدان الخيطية.
- **أما الفصل السابع** فقد خُصصَ للتكوين الجزيئي في البرمائيات لدورها وأهميتها في فهم الكثير من التكوين الجزيئي للأجنة، واكتشاف متتالية الجينات المكونة لمحور الجسم في الفقاريات (Homeotic gene box)، وتحضير الأحماض النووية والمختلفة، وتصنيع البروتينات.
- **في حين اشتمل الفصل الثامن** على التكوين الجزيئي لجنين الطيور كالدجاج والأسماك

والزواحف بشكل عام؛ للتقارب بين التكوين الجنيني فيها من حيث تكوين الجنين داخل البيض الغزير بالمح ودورة في التكوين الجنيني فيها، وبداية تكوين الأغشية الجنينية التي تحيط بالجنين كالرهل والأغشية الأخرى مثل كيس المح وغشاء الكوريون وغشاء الألتويس أو السجق وأهميتها للتكوين الجنين، والتكوين الجنيني لبعض الأجهزة.

- **والفصل التاسع** خُصص للتكوين الجنيني لجنين الثدييات والتجارب التي عملت عليها وأدت إلى فهم الكثير من العوامل التي تتحكم في مراحل التكوين الجنيني المبكر فسهل وحل مشكلة العقم والخصوبة، ثم عن تعلق الجنين في بطانة الرحم وتكوين المشيمة وعلاقتها بالجنين داخل الرحم، ثم التطور السريع بعد نجاح عملية الاستنساخ فيها، وفهم العوامل المؤدية لنجاحها فيها والتطبيقات العملية عليها التي أدت إلى تطور كبير في فهم تكوين الخلايا الجذعية.
- **أما الفصل العاشر** فقد خُصص لعوامل النمو نظرًا لأهميتها ودوره في عملية التمايز الخلوي على المستوى الجنيني لفهم آلية التأثير وعلاقتها بتكوين الأنسجة وتمايزها والاعضاء للجنين. - ثم الفصل الحادي عشر كان عن التفاعلات بين الخلايا والمادة بين خلوية؛ وذلك نظرًا لأهمية التفاعلات بين الخلايا وخارجها خاصة أثناء مراحل التكوين الجنيني.
- **بعدها كان الفصل الثاني عشر** كان موضوعه عن طرق إدخال الجينات إلى الخلايا، ودورها وأهميتها في إنتاج الأجنة المعدلة وراثيًا.
- **وأخير الفصل الثالث عشر** كان عن المواد المؤكسدة والجذور الحرة ودور مضاداتها الحيوية في التكوين الجنيني، وذلك لأهميتها في فهم العمل التي تلعب دورًا في الحفاظ على خلايا الجنين أثناء أداء وظائفها وخاصة عند نضوج الأمشاج وتكوينها ونمو خلايا الجنين.

وفي آخر الكتاب تم إرفاق قائمة للمراجع والدوريات التي استندنا عليها في جمع المعلومات له.

وقبل الختام فقد سمينا هذا الكتاب المدخل إلى التكويني الجزيئي للأجنة؛ لأنه كما هو معلوم فموضوع البيولوجيا الجزيئية للأجنة كبير ومتشعب، والبحوث فيه لا تكاد تحصى وتزداد يومياً. ولكن ماهي إلا محاولة لتسهيل فهم التكوين الجزيئي في الأجنة؛ لذلك اسميته المدخل إلى التكوين الجزيئي للأجنة في بعض طوائف الحيوان لتساعد الطالب والقارئ والباحث العربي لاستيعاب مواضع التكوين الجزيئي للأجنة.

وفي الختام أعبر عن عميق شكري وامتناني لعمادة البحث العلمي بجامعة الملك سعود والشكر موصول لعميد البحث العلمي السابق أ.د. رشود الخريف الذي تبني فكرة دعم تأليف الكتب وترجمتها في الجامعة، فقد شجعنا ودفعنا لتأليف هذا الكتاب، والشكر موصول أيضاً لمن ساعدنا وسهام في إخراج هذا الكتاب إلى حيز الوجود بين يدي القاري.

والله نسأل التوفيق والسداد

المؤلف

أ.د. أحمد بن راشد الحميدي

محرم ١٤٤١ سبتمبر ٢٠١٩م

المحتويات

.....	مقدمة
.....	الفصل الأول: لمحة تاريخية عن علم الاجنة الجزيئي والمبادئ الأساسية
.....	لليولوجيا الجزيئية
.....	لمحة تاريخية عن تجارب التكوين الجزيئي للأجنة
.....	المبادئ الأساسية لليولوجيا الجزيئية
.....	الحمض النووي (الدنا)
.....	تضاعف الحمض النووي الدنا
.....	نسخ الحمض النووي الريبوزي الرنا
.....	تصنيع البروتين داخل الخلية أو تحصيله
.....	الفصل الثاني: المدخل إلى التكوين الجزيئي للأمشاج
.....	تكوين الخلايا التناسلية الأولية
.....	تكوين المناسل في الأجنة
.....	أولاً: تكوين البويضات
.....	التكوين الجزيئي لمراحل تكوين ونمو البويضات ونضوجها
.....	التكوين الجزيئي لبويضات الهرماتيا
.....	نواة البويضات الحويصلة الجرثومية
.....	دور سيتوبلازم البويضة

.....	نضوج البويضات
.....	الأغشية التي تحيط بالبويضة الناضجة
.....	دور الخلايا الحويصلية
.....	ثانيًا: التكوين الجزيئي للحيوانات المنوية
.....	مرحلة التمايز النطفي
.....	علاقة الهرمونات بتكوين الحيوانات المنوية
.....	علاقة الهرمونات بتكوين البويضات

.....	الفصل الثالث: المدخل إلى التكوين الجزيئي لعملية الإخصاب
.....	أحداث عملية الإخصاب
.....	تفاعل قمة المنية
.....	تفاعل الحويصلات القشرية
.....	زيادة القدرة الإخصابية للحيوانات المنوية
.....	آلية التنشيط الجزيئي للبويضة عند الإخصاب
.....	التغيرات الكيميائية الحيوية المتأخرة لعملية الإخصاب
.....	تحضير الأحماض النووية
.....	تحضير البروتينات
.....	ملخص مراحل أحداث التبادلات الإيونية عند عملية الإخصاب
.....	التكوين الجزيئي للأجنة ونظريات الإخصاب التقليدية

.....	الفصل الرابع: المخل إلى التكوين الجزيئي لمرحلة التفلق
.....	مميزات مرحلة التفلق
.....	أطوار مرحلة التفلق
.....	الاختلاف بين دورة الخلية أثناء الانقسام العادي والتفلق
.....	التغيرات الكيميائية الحيوية أثناء التفلق
.....	تضاعف الحمض النووي أثناء التفلق
.....	تصنيع الأحماض النووية الريبوزية

تصنيع البروتينات أثناء مرحلة التفلج	
تكوين شق الانقسام	
تكوين خرائط المصير	
الفصل الخامس: التكوين الجزيئي لمرحلة التبطين وبداية التمايز الخلوي في الأجنة	
مراحل عملية التبطين في الأجنة	
الحث الجنيني ولتمايز الخلوي	
المنظمات الجنينية	
المنظم الجنيني في جنين البرمائيات	
دور المنظمات الجنينية وتجارب الحث الجنيني	
التركيب الجزيئي لمركز نيوكب	
وظائف المنظم الجنيني	
الفصل السادس: التكوين الجزيئي للأجنة اللافقاريات	
الديدان الخطية	
جينات محور الحسم في الديدان الخطية	
بويضات عديدات الأشواك	
بويضات الرخويات	
بويضات المغلفات القريبات (الأسيديا)	
بويضات الحشرات	
دور خانة الجينات المتماثلة في التكوين الجنيني	
بويضات قنفذ البحر	
تحضير البروتينات في بويضات قنفذ البحر	
الفصل السابع: المدخل إلى التكوين الجزيئي لأجنة البرمائيات	
التكوين الجزيئي لمرحلة التبطين وتكون الطبقات الجنينية الثلاث	

التركيب الجزيئي للمنظم عوامل الشفة الظهرية
 التركيب الجزيئي للمنظم
 تنفس طور المبطنة (الجاسترولة) وطور الأنبوبة العصبية
 طبيعة المادة المحفزة
 مواقع الأحماض النووية الريبوزية وتحضيرها
 الارتباط بين تصنيع الأحماض الريبوزية والتشكل
 الارتباط بين تصنيع الأحماض الريبوزية والتشكل

الفصل الثامن: المدخل إلى التكوين الجنيني المبكر في الزواحف والطيور
 الجهاز التناسلي في ذكور الزواحف والطيور
 الجهاز التناسلي في أنثى الزواحف والطيور
 الإخصاب في الزواحف والطيور
 التفليج في الزواحف والطيور غير الكامل (القرصي)
 تكوين الخط البدائي والتبطين لتكوين المبطنة أو الجاسترولة
 تكوين الحبل الظهري في جنين الطيور
 تكوين الأنبوبة العصبية في جنين الطيور
 تكوين جنين الدجاجة حتى ساعة تحضين
 التكوين الجنيني للطيور حتى ساعة من التحضين
 التكوين الجنيني حتى ساعة من التحضين
 التكوين الجنيني للطيور حتى - ساعة من التحضين
 تكوين الرئتين
 تكوين الأغشية الجنينية الإضافية في الطيور
 المنظمات الجنينية في الطيور
 تصنيع الأحماض النووية في جنين الطيور
 مواقع تصنيع البروتين في جنين الدجاج المبكر

الفصل التاسع: المدخل إلى التكوين الجزيئي لأجنة الثدييات
 مقدمة عن التكوين الجنيني المبكر لجنين الثدييات
 التبويض والإخصاب والتفليج في الثدييات

الدورة الشهرية في المرأة	1
تكوين الأمشاج في الثدييات	2
تكوين البويضات	3
التكوين الجزيئي المبكر لجنين الثدييات	4
الخصائص الحيوية للحيوانات المنوية	5
التفلج وتكوين المفلجة والتبطين في الثدييات	6
التكوين الجزيئي لفترة ما قبل الانغراس	7
المرحلة المبكرة بعد الانغراس	8
كبح الكرموسوم الجنسي (X) في الثدييات	9
الفصل العاشر: المدخل إلى عوامل النمو	10
كيف تؤثر عوامل النمو	11
عوامل النمو الموضعي	12
مجموعة عوامل النمو الليفية	13
مجموعة عوامل النمو الحدود الخلوية	14
مجموعة عوامل نمو الجناح المفقود أو وانت جين	15
مجموعة عوامل نمو التحول الخلوي	16
عوامل نمو موضعية اخرى	17
عوامل نمو الدم أو السيتوكين	18
الفصل الحادي عشر: التفاعلات بين الخلايا والمادة الخلوية أثناء التكوين الجنيني	19
مكونات المادة بين خلوية وتنوعها	20
مستقبلات المادة بين خلوية	21
التفاعلات أثناء التشكل والتميز الخلوي	22
تشكل الأعضاء الطلائية	23

.....	الفصل الثاني عشر: المدخل إلى إدخال الجينات في خلايا الثدييات
.....	أولاً: الطرق الكيميائية لإدخال الجينات إلى الخلايا
.....	خواص بعض النواقل الكيميائية المحضرة
.....	آلية عمل المركبات المحضرة لإدخال الجينات
.....	ثانياً: أنواع الطرق الفيزيائية لإدخال الجينات في الخلايا
.....	ثالثاً: استخدام الفيروسات لإدخال الجينات للخلايا
.....	رابعاً: الحقن المجهرى للنطف
.....	العوامل التي تتحكم في نسبة نجاح حقن الجينات

الفصل الثالث عشر: المواد المؤكسدة والجذور الحرة : ودور مضادتها على نضوج

.....	البويضات ونمو الأجنة
.....	أولاً: مضادات الأكسدة الأنزيمية
.....	ثانياً مضادات الأكسدة غير الأنزيمية
.....	مضادات الأكسدة الهرمونية
.....	تأثير الجذور الحرة على نمو الأجنة
.....	التقنيات المستخدمة في الكشف عن المؤكسدات ونواتج الأكسدة
.....	التقنيات المستخدمة لقياس نواتج أكسدة الأحماض النووية
.....	قياس نواتج أكسدة الدهون
.....	قياس نواتج أكسدة البروتينات
.....	المراجع

الفصل الأول

لمحة تاريخية في علم الأجنة الجزيئي والمبادئ الأساسية للبیولوجيا الجنينية

المقدمة:

إن علم الأجنة مر بمراحل مختلفة من التأسيس والتسميات المختلفة فقد بدأ علم الأجنة من خلال آيات القرآن الكريم الوصفية التي تصف مراحل خلق الانسان، والذي ذكرها القرآن الكريم في وصف مراحل تكوين الأمشاج والنطفة والمضغة والعلاقة في بعض سورة مثل سورة آل عمران والمؤمنون وغيرها، وكذلك ورد في الأحاديث النبوية الشريفة العديدة التي توضح دور الأمشاج ومراحل تكوين جنين الإنسان، ومن خلال الدراسات الوصفية التي أجراها العلماء قبل التاريخ الميلادي، لفهم ومتابعة مراحل النمو المختلفة لأحد أنواع الأجنة مثل كسر بيض الدجاجة المحضن كل يوم بيضة لمتابعة نمو ووصف مراحل تكوين جنين الدجاجة ووصف مراحل نمو جنين الضفدعة وغيرها، فتأسس علم الأجنة الوصفي (Descriptive Embryology).

ثم تمت مقارنة مراحل نمو الأجنة في طوائف الحيوانات المختلفة مثل مقارنة نمو جين قنفذ البحث بجنين الضفدعة، فسمى بعلم الأجنة الوصفي المقارن (Comparative Embryology)، وعندما بدأ الباحثون يجرّون التجارب على الأجنة في بداية القرن التاسع عشر الميلادي؛ ليفسروا ظواهر النمو والتمايز الخلوي لمختلف أجزاء الجنين أو يستخدمون الجنين كمادة للتجربة برز علم الأجنة التجريبي

(Experimental Embryology)، ونتيجة لاكتشاف الحمض النووي في منتصف القرن الماضي ولتطور الأجهزة والمعدات بدأ البحث على المستوى الجزيئي لمختلف مراحل النمو للأجنة فسمى بعلم الأجنة الجزيئي (Molecular embryology) والذي أدى إلى فهم وبروز وتطور عدة تطبيقات مختلفة في مجال الأجنة كتقنية الاستنساخ وحقن الجينات وإنتاج الكائنات الحية المعدلة وراثيًا لشتى الأغراض، ثم تطور تقنيات المساعدة على الإنجاب بإنتاج أطفال الأنابيب، واكتشاف الخلايا الجذعية وتجميد الأمشاج والخلايا والأجنة وحفظها بالتجميد.

لقد حدث تطور كبير خلال العقود الماضية في فهمنا لمسألة كيف يمكن لهذه البويضة الملقحة أن تنتج كائنًا حيًا فيه جميع الأعضاء والأجهزة المختلفة في الشكل والوظيفة ليس على المستوى الشكلي أو الظاهري بل على المستوى الجزيئي، ويرجع الفضل بذلك بعد الله -سبحانه وتعالى- لجهود العلماء والباحثين في مجال العلوم التجريبية في الخلية والوراثة والأجنة والفسولوجيا والكيمياء الحيوية الجزيئية وغيرها من العلوم، وكذلك للتطور الكبير في الأجهزة والتجهيزات التي أدت إلى تقدم كبير وجوهري في فهمنا للتكوين الجزيئي للأمشاج ونضوجها واندماجها من خلال عملية الإخصاب وتفلجها لتكوين المفلجة أو البلاستولة، ثم عملية التبطين أو تكوين الجاسترولة وتكوين الطبقات الجنينية الثلاثة الخارجية (الاكتوديرم) والمتوسطة (الميزوديرم) والداخلية (الاندوديرم) التي تنشأ منها جميع أنسجة وأعضاء الجنين والكائن الحي، ففي كل مرحلة من مراحل التكوين الجنيني هناك أساس له من التكوين الجزيئي الذي يشمل تنشيط الجينات الموجودة في كروموسومات الخلايا، ثم نسخها لشفرتها الوراثية عبر الأحماض النووية المرسلة (mRNA) في النواة، ومن ثم ترجمة هذه الشفرة الوراثية التي تحملها الأحماض النووية المرسلة في السيتوبلازم عبر الريبوسومات والتي تترجمها إلى مختلف أنواع البروتينات، كالبروتينات السكرية (الجليكوبروتين) والبروتينات الدهنية (الليبوبروتين) التي تتركب منها عوامل النمو

والتمايز الخلوي والهرمونات والأنزيمات، والبروتينات التركيبية والتي تدخل في بناء أغشية وهيكـل الخلايا والمستقبلات الخلوية والمادة بين الخلوية المختلفة كالألياف والمادة الغضروفية وبناء العضلات والعظام والبروتينات الناقلة للمواد كالهيموكلوبين والأجسام المضادة وغيرها من مختلف المواد التركيبية للخلايا والأنسجة التي تشكل جسم الجنين أثناء نموه.

لمحة تاريخية عن تجارب التكوين الجزيئي للأجنة:

نشأ علم الأجنة التجريبي الذي تم استخدام الجنين فيه كمادة للتجربة؛ لفهم مراحل التكوين الجنيني وتفسيره ، ومن رواده العالم وليم روكس عام ١٨٨٨ م حيث كان يدمر إحدى الفلجـات للجنين ويترك الأخرى تنمو فتعطي جنين وسميت تجاربه بميكانيكيات النمو، ثم فيما بعد جاء العالم هانس سيمان وطالبته هيلد مانقولد عام ١٩٢٤ م ((Hans Spemann and Hilde Mangold in 1924) وأحدث نقلة في علم الأجنة التجريبي، واكتشف المنظمات الجنينية ((Embryonic organizer ودورها في عملية التحديد والتحفيز الخلوي وفي عام ١٩٣٥ م نال على أثرها جائزة نوبل لاكتشافه المنظمات الجنينية ودورها في التمايز الخلوي في الأجنة. وللمزيد من المعلومات انظر جرونز"، (2004), Grunz .

ثم تم اكتشاف التركيب الجزيئي لأول عوامل النمو من هذه المنظمات الجنينية، وهو عامل النمو للخلايا العصبية (Nerve growth factors NGF) بواسطة الباحث هامبورج عام ١٩٥٦ م، مما أدى إلى نشأة علم الأجنة الجزيئي حيث تم الكشف عن التركيب الجزيئي لهذه العوامل ودورها في التمايز الخلوي والتكوين الجزيئي، وفي عام ١٩٩٥ نال الباحث إدوارد لويس وزملائه جائزة نوبل لاكتشافهم الجينات وعواملها التي تعمل على تكوين محور الجسم في حشرة الدوروسفيلـا وفي الكائنات الحية الفقارية التي سميت بصندوق الجينات المتماثلة (Homeo genetic box and Hox gene)

ولزيد من اللمحة التاريخية عن علم الأجنة التجريبي انظر الحميدي ١٤٣٣هـ.
فكما أن مختلف العلوم مرت بمراحل لتأسيسها وذلك عبر التجارب التي عملها الباحثون فإن الباحثين في علم الأجنة الجزيئي ساهموا في إرساء هذا العلم، وسوف نورد بعض هذه الأسماء للباحثين الذين عملوا التجارب على المستوى الجزيئي للأجنة المختلفة.

لقد قام الباحث ثيودور بوفير عام ١٩٠٢ (١٨٦٢-١٩١٥ Theodor Boveri) بدراسة تأثير النواة والسييتوبلازم على نمو البويضات المخصبة لأجنة قنفذ البحر وذلك بدراسة ومتابعة الجسم المركزي وتكون خيوط المغزل في الفلجيات لمراحل التفلق المختلفة كما أنه كان يحاول أن يلقح جزءاً من بويضات أنواع معينة ويضع عليها حيوانات منوية لأنواع أخرى فوجد أن الكروموسومات تختلف كما وكيفاً عن بعضها.

يعد العالم تومس هانت مورغن (١٨٦٦-١٩٤٥ م Thomas Hunt Morgan) من علماء الوراثة والأجنة إذ يعد هو أول من اقترح أن النمو الجنيني محكوم بواسطة تعبيرات مختلفة للجينات، وقد نال جائزة نوبل لإكتشافه الطفرات في ذبابة الدروسفيللا ودورها في فهم الجينات التي تعبر عن الصفات ودورها في التوارث.

ودرس اوتو وار بيرق ١٩٠٨-١٩١٠م (Otto Warburg) وآخرون ميكانيكية التنفس في خلايا أجنة قنفذ البحر وعُدَّ هو أول من عرف استهلاك الأكسجين في تنفس البويضات والخلايا الجنينية، ودرسته أدت إلى التعرف على أن الإخصاب يعمل على زيادة معدل التنفس الخلوي للبويضات المخصبة، مما أدى إلى اكتشاف أنزيم التأكسد الخلوي أو السييتوكرومي (Cytochrome Oxidase) التي نال على أثرها جائزة نوبل عام ١٩٣١م، ونتيجة لملاحظة الزيادة في استهلاك الأكسجين بعد عملية إخصاب البويضة فقد تم اكتشاف الأنزيمات التنفسية (Cytochromes oxidase / Dehydrogenase / ATPase) بواسطة رنستورم (Rainstorm).

كذلك حاول كل من نيدنهام وكامبير ورابين وافيست وويرمر وريس

(Ress) قياس الأس الهيدروجيني والطاقة المختزلة للبويضات المخصبة، حيث يلعب الأس الهيدروجيني دورًا مهمًا بالتحكم في تصنيع البروتينات أثناء الإخصاب.

ثم جاء البروفيسور إيرنست جست (Ernest E. Just ١٨٨٣-١٩٤١ م) من جامعة هاورد فوصف التغيرات التي تحصل في محيط البويضة أثناء الإخصاب في بويضات قنفذ البحر، كما درس التكاثر العذري مما أدى إلى تفهم العلاقة بين نقطة دخول الحيوان المنوي والتفلج الأول لبويضات الديدان الخيطية.

ثم جاء من بعدهم العالم فرنك ليلي (Frank Lillie) ودرس ميكانيكية الإخصاب، ووجد أن بويضات قنفذ البحر تفرز مواد معنية تعمل على جذب الحيوانات المنوية من النوع نفسه إليها وأن الإخصاب يشمل على تفاعل بين البويضة والمنية.

جوزيف نيدنهام ألف كتابة "الأجنة الكيميائي" ١٩٣١ م في ثلاثة مجلدات عن التركيب الكيميائي لمراحل نمو الجنين، ثم في عام ١٩٤٢ ألف جوزيف نيدنهام كتابة الكيمياء الحيوية والتشكل الجنيني (Biochemistry and Morphogenesis) وكتاب آخر بعنوان الأجنة الكيميائي (Embryologic Chimique) عام ١٩٤٤ م.

العالم باتيزمان (Bautzman) ومساعدوه أوضحوا خلال عام ١٩٣٢ م أن المنظم الميت قادر على أن يحفز تكوين الأنبوبة العصبية في جنين الضفدعة والعلاجوم أو النيوت.

كما قام الباحث جين براكيث (١٩٠٩-١٩٨٨ م) من بلجيكا بدراسة الأجنة على المستوى الجزيئي واهتم بدراسة تكوين الأحماض النووية الريبوزية في مراحل نمو الجنين، فقد ألف جين براكيث وزميلة هنرى إلكسندر عام ١٩٧٦ كتاب "مقدمة في علم الأجنة الجزيئي" ثم أعيدت طباعته في عام ١٩٨٨ م.

في عام ١٩٤٧ م أوضح الباحث «هولتفتر (Holtfreter) أن صدمة صغيرة» غير ميتة من مادة حمضية أو قلووية كافية لعملية تميز خلايا اكتوديرمية إلى نسيج عصبي، لكن كيف تتميز بقية أجزاء الجهاز العصبي بقية مفتوحة للبحث حيث استطاع كل

من تيدمان ويهادا وتوفينن (Toivonen, Yamada, Tiedemann) التعرف على وجود حاثات خاصة مختلفة لمناطق الأنبوبة العصبية، فقد تم عزل بعض عوامل النمو المحفزة للطبقة المتوسطة الميزوديرم (NGF, Mesodermal Inducing Substance MIS)

العالم هانس سبيمان ١٩٢٤م (١٨٦٩-١٩٤١م Hans Spemann) وطالبة الدراسات العليا هيلدي مانقولد (١٨٩٨-١٩٢٤م Hilde Manglod) من جامعة فير بيريق بألمانيا، قاما بفتح جديد في مجال الأجنة التجريبي أدى في وقتنا الحاضر إلى تطور علم الأجنة الجزيئي وذلك باكتشافهما للمنظمات الجنينية في جنين الضفدعة (Embryonic Organizer) التي تعمل على تفسير عمليات التحديد الخلوي (Cell determination) ثم الحث الجنيني (Embryonic Induction) والتمايز الخلوي (Cellular Differentiation) حيث قاما بنقل أجزاء من الشفة الظهرية في جنين الضفدعة وزراعتها في جنين آخر مما أدى إلى تكوين أنبوبة عصبية جديدة وتكوين محور جنين ثانوي، حيث إن خلايا معينة في الجنين تعمل على تحديد مصير خلايا أخرى وتعمل على تمايزها فيما بعد أثناء مراحل معينة من النمو الجنيني، وعلى أثرها نال جائزة نوبل بتاريخ ٢٤/ أكتوبر ١٩٣٥م.

أدت اكتشافات سبيمان إلى كثير من التجارب إلى وقتنا الحاضر إلى معرفة كثير من عوامل النمو (Growth Factor) المختلفة التي تؤدي إلى التمايز الخلوي للأجنة.

أول عوامل النمو التي تم اكتشافها عام ١٩٥٤م بواسطة كل من ريتاليف مونتلكيني (Ritelevi-Montalcini) وفكتور هامبرجر (Victor Hamburger) طالب سبيمان عامل النمو للخلايا العصبية (Nerve Growth Factor NGF) وهو عبارة عن مادة تعمل على تكوين الألياف العصبية من الحبل الشوكي والجهاز العصبي لجنين الدجاجة.

ويعد العالم روس هاريسون (١٨٧٠-١٩٥٩م) (Ross G. Harrison) أول من عمل على نقل وزراعة الأنبوبة العصبية لجنين الضفدعة ونمو المحاور العصبية، وقطبية نمو المحاور والأطراف لجسم الأجنة والتحركات التشكيلية للأجنة. (Morphogenetic Field) وهو يعد من رواد تقنية زراعة الخلايا والأنسجة.

في عام ١٩٦٨م مُنحت جائزة نوبل في الفسيولوجيا أو الطب لروبرت هولاند Robert Holland، جوبند خورانا Ghobind Khorana ومارشال ناينبرج Marshall Nirenberg وذلك لتفسيرهم الشفرة الوراثية ووظيفتها في عملية تصنيع البروتين. ثم تم نشر نتائج وتتالي الحمض النووي للميتوكوندريا البشري بواسطة العالم فريد سانجر Fred Sanger عام ١٩٨١، الذي تقاسم جائزة نوبل عام ١٩٨٠ في الكيمياء الحيوية مع كل من جلبرت بول بيرج Paul Berg Gilbert وولتر Walter لمساهمتها الخاصة في تحديد تتابع القواعد في الأحماض النووية".

كما نال كل من أدورد لويس (Edward Lewis from California Institute of technology) وكريستينا نسلن فولهرد (Christiane Nusslin-Volhard from Univ. of Tubingen) وايريك ويسجس (Eric Wischaus) جائزة نوبل في الفسيولوجيا عام ١٩٩٥م لمكتشفاتهم التي أدت إلى معرفة التركيب الجزيئي للجينات المتماثلة (Homeotic gene) التي تتحكم في تكوين محور الجسم في الأجنة.

يلي ذلك نجاح أول عملية استنساخ في الثدييات وإنتاج النعجة دوالى بواسطة ويلموت وكامبل ١٩٩٧م. ولمزيد من المعلومات عن تطور علم الأجنة الجزيئي كمحور ثالث في البيولوجيا الجزيئية يمكن الرجوع للمرجع (ميشال مورانج Michel Morange 2004).

وقبل الدخول إلى التكوين الجزيئي للأجنة لابد من مراجعة المبادئ الأساسية للبيولوجيا الجزيئية.

المبادئ الأساسية للبيولوجيا الجزيئية

Fundamental principles of molecular biology

كما هو معلوم تحاط كل خلية حيوانية بغشاء خلوي يتركب من طبقة مزدوجة من الدهون الفوسفاتية وبروتينات غشائية وكوليسترول، يحيط الغشاء الخلوي بمادة السيتوبلازم التي تتواجد فيها معظم العضيات الخلوية كالأجسام السبحية أو

الميتوكوندريا والشبكة الأندوبلازمية وجهاز جولجي والحوصلات والفجوات والجسم المركزي والأنبيبات وغيرها، ثم النواة التي تحاط بالغشاء النووي وتركيبه يشبه تركيب الغشاء الخلوي يحتوي على ثغور دقيقة تسمح بعبور المواد بين النواة والستوبلازم، تحتوي النواة على النوية والعصير النووي والمادة والكروماتينة والكروموسومات والأحماض النووية.

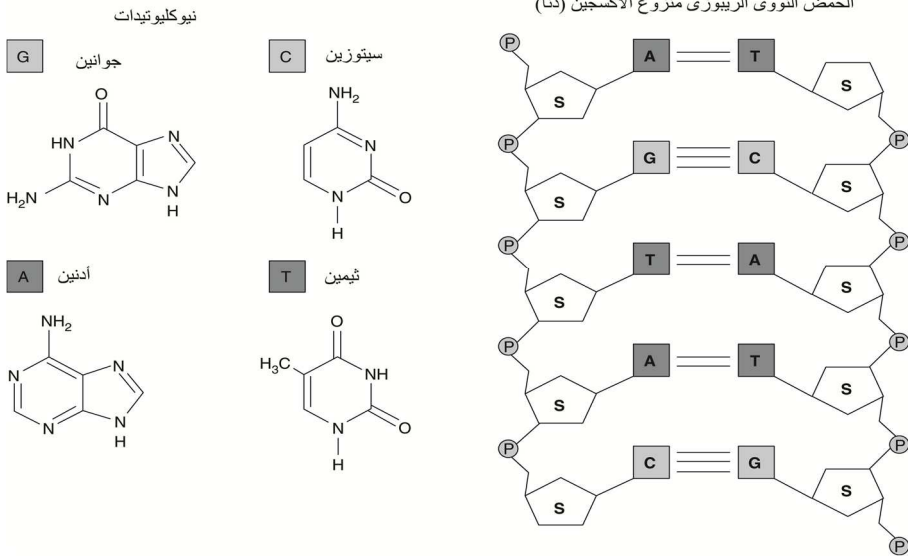
أنواع الأحماض النووية: ١- الحمض النووي منزوع الأكسجين الدنا (DNA) (شكل رقم ١،١) مزدوج الشريط والذي تتكون منه الكروموسومات، ٢- والحمض النووي الريبوزي الرنا (RNA) والذي تتواجد منه عدة أنواع الحمض النووي الريبوزي الناقل (tRNA) والمرسول (mRNA) والريبوسومي (rRNA) وتتركب الأحماض النووية من:

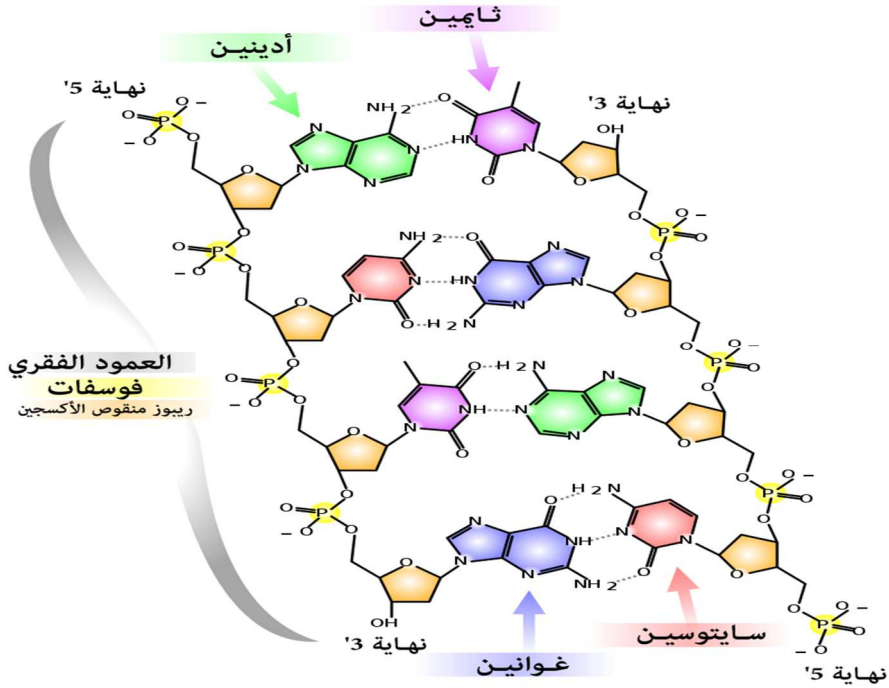
- ١- نيكليوتيدات: مركبات عضوية تحتوي على: قاعدة نيتروجينية. في الدنا (DNA) Adenine A، Adenine C، Cytosine C، Guanine G، Thymine T، في الرنا (RNA) بدل الثيمين يوارسيل (Uracil).
- ٢- سكر: ريبوز منزوع الأكسجين في الدنا (DNA)، وسكر الريبوز في الرنا (RNA).
- ٣- مجموعة فوسفات.

الحمض النووي (الدنا) DNA شكل (١.١):

- عبارة عن شريطين حلزوني مزدوج التركيب مع ازدواج للقواعد النيتروجينية لتكون سلسلتين مكملتين، حيث تقابل القواعد النيتروجينية البيورينية Purines (Guanine G، Adenine A) ثنائية الحلقة البنزينية في جزئي الدنا (DNA) مع القاعدة البيوريميدينية أو البيريميدين's Pyrimidine's (Cytosine C، Thymine T) أحادية الحلقة، ويثبت تركيب شريطي الدنا بواسطة روابط الهيدروجين بين القواعد النيتروجينية المتممة لبعض أي بين البيورينات والمتممة لها من البيريميدينات من الناحية الداخلية

لشريطي الحمض النووي الدنا، بحيث ترتبط (القوانين-مع السيتوسين C=G) بثلاث رابط هيدروجينية، والقواعد (الثايمين-مع الادنين أو A=T) ترتبط مع بعض برابطتين هيدروجينية، كما يحتوي حمض الدنا النووي على سكر الريبوز الخماسي منزوع الأكسجين، ومجموعة ذرات الفوسفات ليكونا عمودًا فقريًا لحمض النووي الدنا (DNA). (انظر الشكل ١.١).





شكل رقم (١.١). تركيب الحمض النووي الدنا (DNA): يتكون من شريطين لإتحاد أزواج القواعد المكتملة في شريط الدنا المزدوج، اثنان من الروابط الهيدروجينية بين الثايمين والأدينين، $A = T$ ، ثلاث روابط هيدروجينية بين السيتوسين والغوانين $G = C$. سلسلتا النيوكليوتيدات العديدة متوازيتان بعكس الاتجاه لكي تسمح بازدياد القواعد. $S =$ سكر الريبوز منزوع الأكسجين، $P =$ مجموعة فوسفات، نهاية 5، 3 = طرفية رقم ذرة الكربون في سكر الريبوز الخاسي.

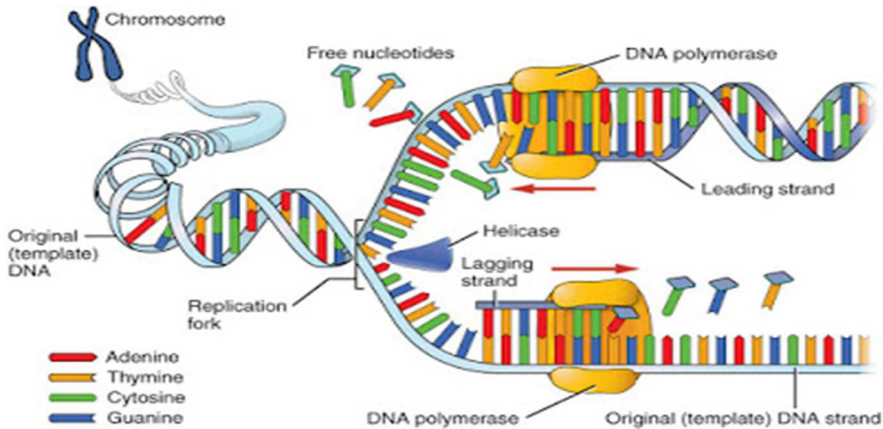
تضاعف الحمض النووي الدنا DNA Replication

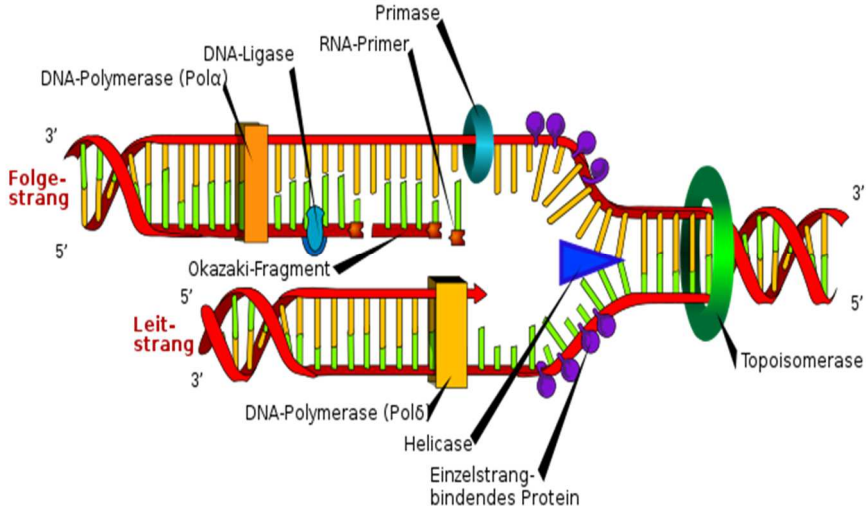
يضاعف الحمض النووي الدنا نفسه بعد عملية الانقسام الخلوي بطريقة التضاعف شبه المحافظة: Semi-conservative replication حيث يعمل كل شريط من الدنا كقالب لتكوين الشريط المكمل له ويمكن تلخيصها على شكل نقاط كالآتي:
انظر الشكل (١.٢):

- ١- تصنع النيكليوتيدات حرة في السيتوبلازم ثم تنتقل إلى البلازما النووية قبل بداية عملية التضاعف.
 - ٢- ينفك حلزون الحمض النووي الدنا المزدوج، ثم تنفك الروابط الهيدروجينية التي تربط سلسلي الدنا معاً، وهذا يجعل القواعد النيتروجينية غير المتممة مكشوفة في كل سلسلة.
 - ٣- يعمل تتابع القواعد غير المتممة كقالب لترتيب النيوكليوتيدات الحرة من البلازما النووية.
 - ٤- يتحرك أنزيم مشكل الحمض النووي بوليميريز الدنا DNA polymerase على طول الأجزاء غير الازدواجية من الدنا فيؤدي إلى ازدواج النيوكليوتيدات المكملة من البلازما النووية مع كل قاعدة مكشوفة. (مثل تركيب لعبة التركيبية أو الليغو).
 - ٥- يربط نفس الأنزيم النيوكليوتيدات معاً ليكون شريط جديد من الدنا الذي يرتبط مع الشريط القديم بروابط هيدروجينية: حيث يكون أنزيم مشكل الدنا البوليميريز روابط هيدروجينية جديدة على الشريط الدنا بالاتجاه 3' strand 5' strand
 - يعمل أنزيم رابط الحمض النووي الدنا DNA ligase على الشريط بالاتجاه من 3' 5'
 - تظهر نقاط تضاعف عديدة على طول الشريط والتي تتحد معاً في النهاية.
- الشكل (١.٢).
- نسخ الحمض النووي الدنا (DNA) إلى حمض ريبيوزي الرنا (RNA) حيث يبدأ شريط الحمض النووي الدنا (DNA) عملية تصنيع نسخة جديدة عن نفسه، وذلك بعد أن يتأكد تماماً من توفر الأعداد اللازمة من جميع الجزيئات المكونة للشريط الجديد بالاستعانة بعدد من الأنزيمات المصممة لهذا الغرض، إن أول خطوات النسخ هي قيام أنزيم التوبوايسوميريز (Topoisomerase) بتحويل شريط الحمض النووي الدنا (DNA) في مكان محدد من شكله اللولبي إلى شكل مستقيم (Unwinding or uncoiling) ومن ثم

يقوم أنزيم آخر يسمى أنزيم فك الحلزونه الهيليكيس (helicase enzyme) بفتح الشريط من أحد جانبيه ليفصل السلسلتين الجانبيتين بما تحملان من أحرف أو شفرة وراثية عن بعضهما البعض لينتج ما يسمى شوكة النسخ (Replication fork) ومن ثم تقوم بروتينات رابطة على شكل سلسلة أحادية (Single stranded binding proteins) بالالتصاق بالسطح الخارجي للسلاسل الجانبية للشريط المفتوح لتمنعه من الانغلاق على نفسها حين إتمام عملية النسخ، ومن ثم تتولى أنزيمات أخرى بناء السلسلتين الجديدتين وتثبيت متممة القواعد النيتروجينية عليهما حيث تكون الأحرف للقواعد النيتروجينية الجديدة على كل سلسلة مكملية للأحرف القديمة المرتبطة بإحدى السلسلتين القديمتين. إن عملية النسخ لا تتم من أي مكان على الشريط بل تبدأ من أماكن محددة تسمى بدايات النسخ (Replication origins)، ويستطيع شريط الحمض الريبوزي البادئ (RNA primer) التعرف عليها تبعاً للشفرة المكتوبة عليها، إن عملية بناء سلسلة شريط دنا جديدة يجب أن تتم باتجاه ثلاثة إلى خمسة (٣'-٥') أي أن عملية ربط جزئي الفوسفات لا تتم إلا ابتداء من ذرة الكربون الثالثة من جزئي السكر الريبوز الخماسي، وبما أن سلسلتي شريط الدنا القديم أحدهما لها اتجاه خمسة إلى ثلاثة (٥'-٣') وهي السلسلة الأصلية فإن عملية بناء سلسلة مكملية جديدة تتم بشكل طبيعي وسهل باستخدام إنزيم مشكل الحمض النووي البوليميريز (Polymerase). إن السلسلة الجديدة تتم بشكل متصل وبدون تأخير؛ ولذلك فقد سميت السلسلة السابقة (Leading strand) وتتحد هذه السلسلة الجديدة مع السلسلة القديمة مكونة شريط دنا جديد لهذا الجزء من الشريط، أما السلسلة المكملية القديمة فإن اتجاهها هو من ثلاثة إلى خمسة (٣'-٥') وهو عكس الاتجاه المطلوب لبناء سلسلة جديدة عليها؛ ولذا فإن عملية بنائها تحتاج لعدة خطوات وعدة أنزيمات لإتمامها وتحتاج كذلك لوقت أطول؛ ولذا تسمى السلسلة المتأخرة (Lagging strand). إن عملية بناء السلسلة الجديدة في هذه الحالة لا بد وأن تتم بالاتجاه المعاكس للاتجاه الذي تتم

فيه عملية فتح شريط الدنا القديم وقد تمكن العالم الياباني أوكازاكي (Okazaki) من كشف سر عملية النسخ هذه، وفي هذه العملية يقوم أنزيم مشكل الحمض النووي الدنا برايميز الدنا (DNA primase) من تحديد مكان معين على السلسلة المكتملة القديمة بعد أن يكون قد تم فتحها بطول كاف ومن ثم يبدأ إنزيم البوليميريز (polymerase) ببناء قطع بطول محدد من السلسلة المكتملة الجديدة تسمى قطع أوكازاكي (Okazaki fragments). ومن ثم يقوم أنزيم ربط الدنا أو لقيز الدنا (DNA ligase) بربط هذه القطع ببعضها البعض لينتج سلسلة متصلة تتحد مع السلسلة المكتملة القديمة منتجة شريط آخر من الدنا، ومن الواضح أن كل من شريطي الدنا الجديدين يحتوي كل منهما على سلسلة دنا قديمة وأخرى جديدة، إن الأنزيمات المختلفة التي تقوم بعملية نسخ الشريط الوراثي هي عبارة عن جزيئات ثلاثية الأبعاد تحتوي على تجاويف بأبعاد محددة تتسع للسلسلة الجانبية للشريط وما تحمله من أحرف وراثية، أما الخطوة الأخيرة من خطوات نسخ الشريط فهي لف كل من الشريطين الجديدين ثم فصلهما عن بعضهما البعض، وهذا يتطلب فك الشريط القديم عن الأسطوانات البروتينية أو الهيستونات التي سبق وأن لف عليها واستخدامها لللف أحد الأشرطة الجديدة بينما يلزم وجود ٣٠ مليون هيستون جديد لللف الشريط الجديد الثاني.





شكل (١.٢). تضاعف الحمض النووي الدنا (DNA)

ينفك حلزون الدنا النووي المزدوج بواسطة أنزيم فك الحلزونه (Topoisomerase)، ثم تنكسر الروابط الهيدروجينية التي تربط سلسلي الدنا معاً، وهذا يجعل القواعد النيتروجينية غير المتممة مكشوفة في كل سلسلة، يعمل تتابع القواعد غير المتممة كقالب لترتيب النيوكليوتيدات الحرة من البلازما النووية، وبمساعدة أنزيم المنشئ (Primase) والمحرّض لنسخ الحمض النووي (RNA-primer) يتحرك أنزيم مشكل الحمض النووي بوليميريز ال دنا DNA polymerase على طول الأجزاء المنفكة من الإزدواجية من الدنا فيؤدي إلى تركيب النيوكليوتيدات المتممة لها من القواعد النيتروجينية، يربط نفس الأنزيم النيوكليوتيدات معاً ليكون شريط جديد من الدنا، الذي يرتبط مع الشريط القديم بروابط هيدروجينية: يكون أنزيم مشكل الدنا البوليميريز روابط هيدروجينية جديدة على الشريط 3'-5'.

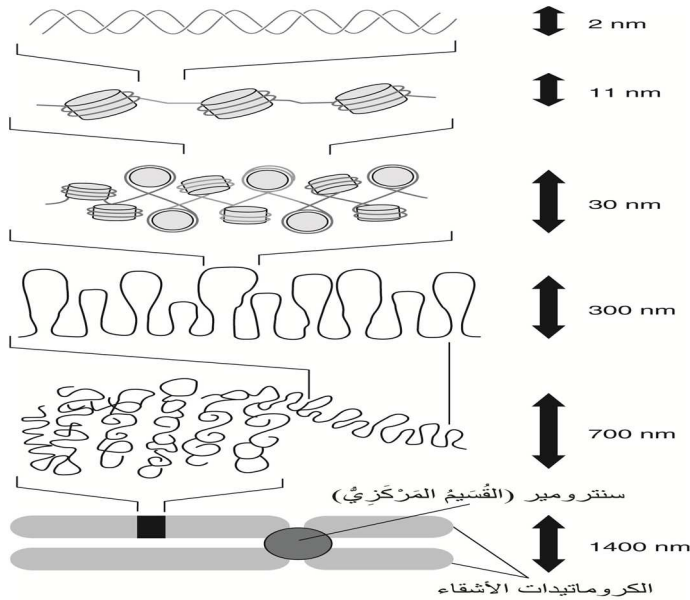
- يعمل أنزيم رابط الحمض النووي الدنا DNA ligase على الشريط بالاتجاه من 5' -3'

- تظهر نقاط تضاعف عديدة على طول الشريط والتي تتحد معاً في النهاية.
- الحمض النووي الدنا (DNA) بعد نسخة يحمل أو يلف على "سقالة Scaffolding" من البروتينات الهستونية Histones والتي تغلف بروتينات غير هستونية Non-histones لتكون مادة الكروماتين Chromatin، الهستونات هي بروتينات قاعدية والتي ترتبط بالحمض النووي الدنا وتغلفه في صورة جسيمات نووية Nucleosomes، يتضمن تنظيم التعبير الجيني على أستله وإزالة أستله الهستونات Histone acetylation and deacetylation، كما يوجد اثنان من المركبات المعقدة والمعتمدة على مخزون الطاقة بالخلية ثلاثي أدنيني الفسفات (ATP) تعمل على إعادة التنظيم وأنزيمات ناقلة لمجموعة الأستيل Acetyltransferase التي تفضل ارتباط الطرفيات النشطة وتعمل على تثبيت ترتيب الكروماتين.

يتوزع الدنا (DNA) خلال البلازما النووية حول تجمعات كروية من الهستونات Histones ليكون جسيمات نووية (نيوكليوسومات) Nucleosomes التي ترتبط على طول شريط الدنا مثل حبات الخرز، ثم تتجمع مكونة ألياف الكروماتين ذات قطر ٣٠ نانومتر تقريباً، تلتف الجسيمات النووية بدرجة عالية داخل الألياف في تركيب أسطواني أو لولبي ليكون الكروماتين، وتقوم الصفيحة النووية بتكوين نقاط تثبيت للكروموسومات أثناء الطور البيني Interphase من دورة الخلية شكل رقم (١.٣). الكروماتين النشط أو الكروماتين الحقيقي Euchromatin أقل كثافة، بينما الكروماتين غير النشط أو الكروماتين غير الحقيقي Heterochromatin أكثر كثافة، قبيل وأثناء الانقسام الخلوي يتحول الكروماتين في صورة الكروموسومات.

كل نواة خلية جسدية تحتوي على العدد نفسه من الكروموسومات و العدد نفسه من الجينات أو بما يسمى بمبدأ تساوي المادة الوراثية (Genomic equivalent) وبناءً على مبدأ التساوي في المادة الوراثية فكل الخلايا مثلاً تحتوي على المادة الوراثية لهرمون الأنسولين وكذلك الهيموقلوبين لكن لماذا لا يوجد الهيموقلوبين إلا في خلايا الدم

الحمراء في حين أن الانسولين لا يوجد إلا في خلايا بيتا في البنكرياس مثلاً، إنه من خلال الأدلة المعتمد على الأجنة لتساوى المادة الوراثية هو اختلاف التعبير الجيني التمايزي (Differential gene expression) التي تنص على الآتي: إن نواة كل خلية جسدية تحتوي على جميع المادة الوراثية التي كانت موجود في البويضة المخصبة أسي كل حمض النووي الموجود في كل خلية متساوي، وأن في كل خلية تمايز هناك نسبة قليلة فقط من المادة الوراثية أو الجينات هي التي تكون نشطة وتعبّر عن نفسها في هذه الخلايا المتمايزة لتؤدي وظيفة النسيج المعين.



شكل رقم (١.٣). حجم أجزاء الكروموسوم ومستويات تغليف الكروماتين من الأسفل إلى الأعلى: شكل الكروموسوم الكامل ١٤٠٠ نانومتر (nm)، ثم جزء مكبر من أحد شريطي الكروموسوم مكثف (الكروماتيدة ٧٧٠ نانومتر)، ثم بعدة تكبير لجزء من مقطع في كروموسوم تمتد (٣٠٠ نانومتر)، يليه تكبير للفة من الجزء الممتد من الكروموسوم (٣٠٠ نانومتر)، جزء مكبر للسابق يوضح مادة الكروماتين أو اللفة* (جزء الشريط الدنا ملتف على الهستون بروتين، ١١ نانومتر)، ثم شريط الحمض النووي الدنا المزدوج الممتد بين ال هستونات ٢ نانومتر). • تحتوي كل لفة من شريط حلزون الدنا المزدوج على ١٠ من القواعد المزدوجة.

إن الجينات غير النشيطة أو غير المستعملة في كل خلية متميزة هي موجودة ولم يتم التخلص منها أو تدميرها، وتحفظ بالقدرة على إمكانية أن يتم تنشيطها في بعض الحالات.

تحتوي كل خلية في الثدييات حوالي ١.٨ متر من الدنا ١٠٪ منها فقط يتم تشفيرها ثم ترجمتها إلى بروتينات معينة، مازال الجزء غير المشفر من الدنا يحمل المعلومات الوراثية التي من المحتمل أن تعمل في آليات التحكم المنظمة للمورثات او الجينات.

فالمورثات أو الجينات Genes: هي الوحدات الأساسية للوراثة في الكائنات الحية، وضمن هذه المورثات يتم تشفير المعلومات المهمة لتكوين أعضاء الجنين أثناء بداية مراحل تكوين أعضاء الجنيني فتعرف بالجينات التركيبية (Structural genes) ثم الجينات الوظيفية (Functional genes) التي تعبر عن الوظائف العضوية الحيوية لكل خلية أو عضو في الكائن الحي.

تتواجد المورثات عادة ضمن المادة الوراثية الحمض النووي الريبوزي منزوع الأكسجين الدنا (DNA) أو في بعض الحالات النادرة في الحمض النووي الريبوزي الرنا (RNA). بالتالي فإن هذه المورثات هي التي تحدد تشكيل وتركيب وتطور وسلوكيات الكائن الحي. فالمورثة هي قطعة من إحدى سلسلتي حمض الدنا تحتل موضعاً معيناً على هذه السلسلة، وتحدد المورثة بعدد النيوكليوتيدات الداخلة في تركيبها ونوعها وترتيبها، وهي قابلة للتغير نتيجة الطفرات التي قد تحدث فيها.

تتحكم الجينات في تكاثر الخلايا وفي وظائفها اليومية المستمرة، كما تحكم الجينات وظائف الخلية بتحديد المواد التي تركبها في داخل الخلية، من تحديد الهيكل والبنيات والإنزيمات و المواد الكيميائية التي ستتولد فيها بشكل أساسي، تحوي المورثات المعلومات الأساسية لبناء البروتينات والإنزيمات والمواد الحيوية اللازمة لبناء أعضاء الجسم، وإنتاج المواد (البروتينات والإنزيمات) في الأعضاء المختلفة لتقوم بوظائفها، كما أنها تحمل الساعة البيولوجية التي يتطور بها الكائن الحي من

بويضة مخصبة إلى تكوين الأعضاء إلى مرحلة الطفولة ثم البلوغ والنضج والشيخوخة. في نهاية عام ١٩٨٠م تم التأكيد أن تعبير كل جين يمكن تنظيمه على عدة مستويات أي كل نوع من أنواع الخلايا تحضر أو تصنع مجموعة بروتينات معينة، مثل نسخ الجينات التمايزية أي على مستوى التمايز الخلوي (Differential gene transcription) التي تحدد أي جينات نووية يتم نسخها أو التعبير عنها إلى حمض نووي ريبوزي رنا (RNA) عملية الاختيار النووي للحمض النووي الريبوزي الرنا (RNA) (Selective nuclear RNA processing) تنظم أي أحماض نووية ريبوزية تم نسخها ويمكن أن تدخل إلى السيتوبلازم وتصبح الحمض النووي المرسل (mRNA). عملية الاختيار لترجمة الأحماض النووية المرسل (Selective messenger RNA translation) تنظم أي أحماض نووية مرسلية يمكن ترجمتها في السيتوبلازم إلى بروتينات عملية التحور للبروتينات المصنعة (Differential protein modification) التي تحدد أي بروتينات يسمح لها بالبقاء أو بادئ وظيفة معينة في الخلية.

نسخ الحمض النووي الريبوزي الرنا (RNA Transcription):

نظرًا لأن الدنا كله تقريبًا يوجد في نواة الخلية، ونظرًا لأن معظم وظائف الخلية تجري في السيتوبلازم، فلا بد من وجود وسائل لجينات النواة للتحكم في حدوث العمليات الجزيئية الخلوية في سيتوبلازم الخلية، ويتحقق ذلك بتوسط نوع آخر من الأحماض النووية وهو الحمض الريبوزي النووي (الرنا RNA) الذي يتحكم الدنا في النواة بتكوينه، وتتحول الرموز في هذه العملية التي تسمى نسخ الحمض النووي الريبوزي RNA transcription من الدنا (DNA) إلى رنا، ثم ينقل الرنا (RNA) من النواة إلى السيتوبلازم حيث يتحكم في تصنيع البروتين، ويتم تجميع جزئي الرنا (RNA) من النويدات المنشطة باستعمال أحد شريطي الدنا (DNA) كقالب خلال عملية نسخ الحمض النووي الريبوزي الرنا (RNA)؛ حيث تتم عملية تجميع جزئي الرنا بتأثير

إنزيم بوليميرز الرنا (RNA Polymerase)؛ وهو أنزيم كبير جدًا ذو خواص وظيفية ضرورية لتكوين جزئي الرنا (RNA)؛ وهذه الخواص هي:

١- يوجد في شريط الـ DNA وأمام الجين النشط أو الذي سوف يتم التعبير عن نشاطه مباشرة عمل منشى النسخ أو المحرّض Promoter ، ويوجد أنزيم مشكل الحمض النووي الريبوزي أو بوليميرز الرنا (polymerase) بنية تكميلية مناسبة تعرف على هذا المحرض وتلتصق به، وهذه هي خطوة ضرورية لبدء تكوين جزئي الرنا.

٢- يتم التفاف حوالي لفتين من حلزون الدنا -DNA ، وتفصل الأجزاء غير الملتفة من شريطي الدنا (DNA).

٣- ويتحرك بعد ذلك أنزيم مشكل الحمض النووي الريبوزي أو البوليميرز RNA (polymerase) على طول شريط الدنا -DNA ، ويفك أو يفصل شريطي الدنا -DNA مؤقتًا في موقع الجين النشط، كل مرحلة من مراحل حركته، وعندما يتحرك متقدمًا يتكوّن جزئي الرنا -RNA حسب الخطوات التالية:

٤- يتم أولاً تكوين روابط هيدروجينية بين قواعد شريط النا -DNA ونيوكليوتيدات حمض الرنا -RNA المناسبة لها في داخل نواة الخلية.

٥- ومن ثم يقطع أنزيم مشكل الحمض النووي الريبوزي أو البوليميرز الرنا -RNA جذرين من جذور الفوسفاتية الثلاثة واحدًا كل مرة بعيدًا عن كل من هذه النيوكليوتيدات محرراً بذلك كميات كبيرة من الطاقة من الروابط الفوسفاتية عالية الطاقة المقطوعة.

وتستعمل هذه الطاقة لتكوين روابط تساهمي covalent linkage للفوسفات الباقية على النيوكليوتيده مع سكر الريبوز على نهاية جزئي الرنا -RNA المتنامي.

١- عندما يصل أنزيم مشكل الحمض النووي البوليميرز (polymerase) إلى نهاية الجين النشط من جزء DNA فإنه يواجه نسقًا جديدًا من النيوكليوتيدات الدنا -DNA يسمى النسق المنهي للسلسلة -terminating sequence chain ، فيسبب بذلك انقطاع

أنزيم مشكل الحمض النووي الريبوزي أو البوليميرز بعيداً عن شريط الدنا - DNA. ومن ثم يتمكن أنزيم مشكل الحمض النووي أو البوليميراز من الالتصاق في محل آخر لاستعماله مرة بعد أخرى لتكوين جزيئات جديدة من الرنا.

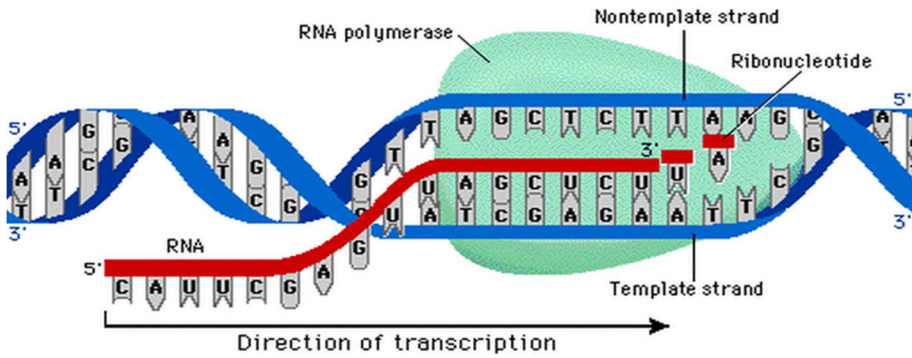
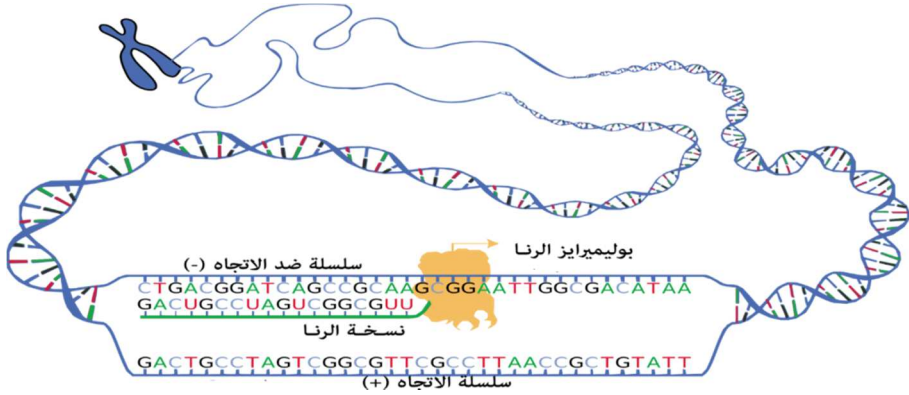
٢- عندما يتم تكوين شريط جديد من الرنا RNA تنقطع روابطه الهيدروجينية مع قالبية من الدنا template الـ DNA لأن شريط الـ DNA التكميلي له طاقة ربط أعلى، فترخي شريط الرنا - RNA الجديد وتعيد ربط شريطي الدنا - DNA. وهذه الطريقة يطلق جزئي الـ RNA إلى داخل النواة. (Dawkins. 1989 and 1977)

٣- ولا بد لجزيئات الرنا - RNA التي تطلق إلى النواة من أن تعامل ثانية قبل انتقالها إلى سيتوبلازم الخلية، ويعود سبب ذلك إلى أن الرنا - RNA المنسوخ حديثاً يحوي العديد من نسق جزيئات النيوكلييدات الرنا - RNA غير المرغوب فيها (Williams 2001) والتي يقع بعضها عند نهايتي شريط الرنا - RNA، ولكن البعض الآخر منها يقع في وسط شريط الرنا - RNA. وتكون هذه المواد غير المرغوب فيها أكثر من ٩٠ بالمئة من مجموع شريط الرنا - RNA كما أن هناك سلسلة من الإنزيمات الموجودة ضمن النواة لها القدرة على قطع هذه النسق غير المرغوب فيها وتعيد بعد ذلك وصل شريط الرنا RNA وتسمى هذه العملية باسم وصل الرنا RNA أو RNA splicing، ويصبح الرنا - RNA عند ذاك جاهزاً لتكوين البروتينات شكل (١.٤).

أنواع الأحماض النووية الريبوزية الرنا - RNA الثلاثة: هناك ثلاثة أنواع مختلفة من الرنا - RNA يقوم كل منها بدور مستقل ومختلف عن النوعين الآخرين في تكوين البروتين، وهي:

١- الحمض النووي الريبوزي المرسل أو الرنا - mRNA المرسل messenger RNA؛ وهو الذي يحمل الشفرة الجينية إلى سيتوبلازم الخلية للتحكم في تكوين البروتينات [١٦].

٢- الحمض النووي الناقل الرنا - tRNA الناقل transfer RNA؛ وهو الذي ينقل الأحماض الأمينية المنشطة إلى الريبوسومات لاستعمالها في تركيب جزيئات البروتين.



شكل رقم (١.٤). يوضح مرحلة نسخ الحمض النووي الرنا من الدنا (Transcription)

يوضح الشكل جزءاً من الكروموسوم النشط الذي سوف يتم نسخه، حيث تنفك الحلزانه بين شريطي الدنا بواسطة انزيم فك الحلزانه وتنفصل القواعد النيتروجينية لشريطي الدنا (DNA) عن بعضها البعض في منطقة الجين النشط لنسخ الحمض النووي الريبوزي الرنا (RNA) وذلك بمساعدة إنزيم مشكل الحمض النووي الريبوزي (RNA Polymerase)، عن طريق تركيب القواعد النيتروجينية المتممة لها على شريط نسخ الرنا إلى أن يصل إلى نهاية منطقة النسخ، ثم ينفصل الرنا عن الدنا، ثم يعود شريطي الدنا بالاتصاق مره أخرى بعد انتهاء عملية النسخ Transcription من الدنا إلى الرنا.

من الدنا DNA ←←←←← إلى الرنا RNA ←←←←← إلى بناء البروتين
النسخ Transcription ← الترجمة Translation ← بناء البروتين

٣- الحمض النووي الريبوزي الريبوسومي الرنا - rRNA الريبوسومي ribosomal rRNA؛ وهو الذي يكون الريبوسومات باتحاده مع حوالي ٧٥ بروتيناً مختلفاً، والريبوسومات هي البنيات الفيزيائية والكيميائية التي تعمل على قراءة الشفرة الوراثية المحمولة على الحمض الريبوزي (mRNA) المرسل لكي يتم بناء جزيئات البروتين عليها فيما بعد.

تصنيع أو تحضير البروتين داخل الخلية: Protein synthesis

تتطلب عملية تحضير أو تصنيع البروتين في الخلايا ثلاث عمليات:

- ١- عملية نسخ الحمض النووي الريبوزي Transcription من الدنا إلى الرنا المرسل (mRNA) والذي يحمل الشفرة الوراثية وتتم العملية في النواة.
- ٢- ثم عملية الترجمة (Translation) للشفرة الوراثية أو الكودون إلى صيغة الأحماض الأمينية فكل ثلاث قواعد نيتروجينية متتالية تشفر لحمض أميني واحد (انظر الجدول ١.١) وبما أنه كل شفرة تتكون من ثلاث حروف من اسم القواعد النيتروجينية، فيكون هنالك ٦٤ شفرة أو كودونا ممكناً، تشفر للعشرين حمض أميني المعروفه التي تتكون منها جميع البروتينات، الأمر الذي يعطي أكثر من شفرة واحدة لكل حمض، وهناك بعض الشفرات الأخرى مثل شفرة البداية التي تتكون من ثلاث قواعد نيتروجينية (ادنين - يوراسيل وقوانين AUG). كما توجد ثلاث شفرات أو كودونات تعرف بشفرات التوقف أو 'بلا معنى' تشير إلى نهاية المنطقة المشفرة للحمض الريبوزي المرسل (mRNA) وهذه الشفرات حسب تسلسل حروف القواعد النيتروجينية هي (TAA ، TGA و TAG). في حال وجود شفرة أو كودون التوقف في سلسلة mRNA فإن كل الكودونات التي توجد بعد كودون الإيقاف لا يتم ترجمتها في سلسلة tRNA.
- كما تحتاج إلى الريبوسومات والحمض النووي الريبوزي الناقل (tRNA) للأحماض الأمينية، وتتم العملية في السيتوبلازم.

٣- ثم عملية بناء البروتين من الأحماض الأمينية: وتمر بثلاث مراحل: أ-مرحلة البداية Initiation ثم ب-الاستطالة Elongation ثم ج-الانتهاء Termination من بناء البروتين.

من أجل البدء في عملية بناء البروتين داخل الخلية لا بد من توفر الأمور التالية:
 أ) يجب توفير المواد الأولية لتحضير البروتين: حيث يشترك أكثر من ١٠٠-مركب في هذه العملية التي تتضمن أهم العناصر الداخلة في عملية بناء البروتين.
 ب) تواجد الحمض النووي الريبوزي المرسل (mRNA) الذي يحمل المعلومات الوراثية من حمض الدنا DNA الموجود في الكروموسومات إلى سطح الريبوسوم.
 ج) توفر الحمض النووي الريبوزي الناقل (tRNA) يحتوي على القواعد الثلاث المسماة بمقابل الشفرة أو المتمة.

د) توفر انزيم امينو أسيل الحمض الريبوزي النقل (tRNA acyle) والذي يعمل على اتحاد الحامض الأميني بالحمض النووي الريبوزي الناقل t RNA.

هـ) الريبوسومات: Ribosomes التي تنظم ترجمة عملية بناء البروتين وتحفيزها.
 و) عامل الابتدء: Initiation عبارة عن بروتين يعمل على تجمع معقد الابتدء ويتضمن الحمض الريبوزي الناقل tRNA وريبوسوم.

ز) عامل الاستطالة: Elongation هو بروتين سيتوبلازمي يعمل على ربط الأحماض الأمينية الموجودة على الأحماض الريبوزية الناقلة tRNAs بالريبوسومات النشطة.

ح) عامل الانتهاء: Termination إعطاء إشارات من قبل الشفرات الثلاثة الفارغة حيث يقوم عامل الانتهاء بتحرير سلسلة متعدد الببتيد من الرنا tRNA الناقل والمراسل من الريبوسوم

ط) مخزون الطاقة الخلوي ثلاثي أدنين الفسفات: ATP يزود الطاقة أثناء عملية نقل الحامض الإميني وربطة بالرنا الناقل tRNA.

ي) مخزن الطاقة الخلوي ثلاثي القوانين: GTP يزود الطاقة أثناء بداية التفاعل وأثناء الاستطالة.

(ك) توفر كمية كبيرة من الأحماض الإمينية العشرين المعروفة الجدول (١.١).

Protein synthesis: فيما يلي مراحل تصنيع أو تحضير البروتين

أولاً: عملية نسخ الحمض النووي الريبوزي (mRNA): Transcription من الحمض النووي الدنا (DNA)، حيث يعمل الجين النشط الموجود على الكروموسوم بالتعبير عن شفرته الوراثية من الحمض النووي الدنا (DNA) بنسخ الشفرة الوراثية من الحمض النووي الدنا (DNA) إلى الحمض النووي الريبوزي المرسل (mRNA) والتي تحصل في نواة الخلية وقد تم شرحها سابقاً.

ثانياً مرحلة الترجمة: Translation تتم في السيتوبلازم حيث ينتقل الحمض النووي الريبوزي المرسل (mRNA) والحامل للشفرة الوراثية لتصنيع البروتين المعين حيث تشفر كل ثلاث قواعد نيروجينية متتالية على الحمض النووي المرسل لحمض (mRNA) عند ارتباطه الريبوسومات، وبمساعدة الحمض النووي الريبوزي الرنا الناقل (tRNA) والذي يحمل كل جزئي واحد حمض أميني واحد بناء على متمم الشفرة الموجودة عليه، تصطف الريبوسومات على الحمض النووي المرسل (mRNA) لقراءة الشفرة الوراثية الموجودة عليه، وتتسع كل ريبوسومة واحدة إلى ثلاث خانات في آن واحد (E,P,A) ليثبت عليها جزيئات من الحمض النووي الريبوزي الرنا الناقل (tRNA) أثناء ترجمة الشفرة وبناء البروتين، الشكل (١.٥).

ثالثاً بناء البروتين: إن عملية بناء البروتين تشمل ثلاث مراحل:

١ - مرحلة البداية **Initiation**: تبدأ عملية الابتداء عند قراءة الشفرة الوراثية الموجودة على الحمض النووي الريبوزي المرسل (mRNA) والتي عادة تكون في بداية كل حمض نووي مرسل بشفرة البداية التي تتكون من ثلاث قواعد نيروجينية (ادين - يوراسيل وقوانين AUG) تشفر للحمض الأميني الميثيونين، فلذلك تعرف بشفرة البداية (methionine, mRNA, met). كما تحتاج إلى اشتراك المكونات التالية الماغنيسيوم ومخزون الطاقة القوانين ثلاثي الفسفات والحمض النووي

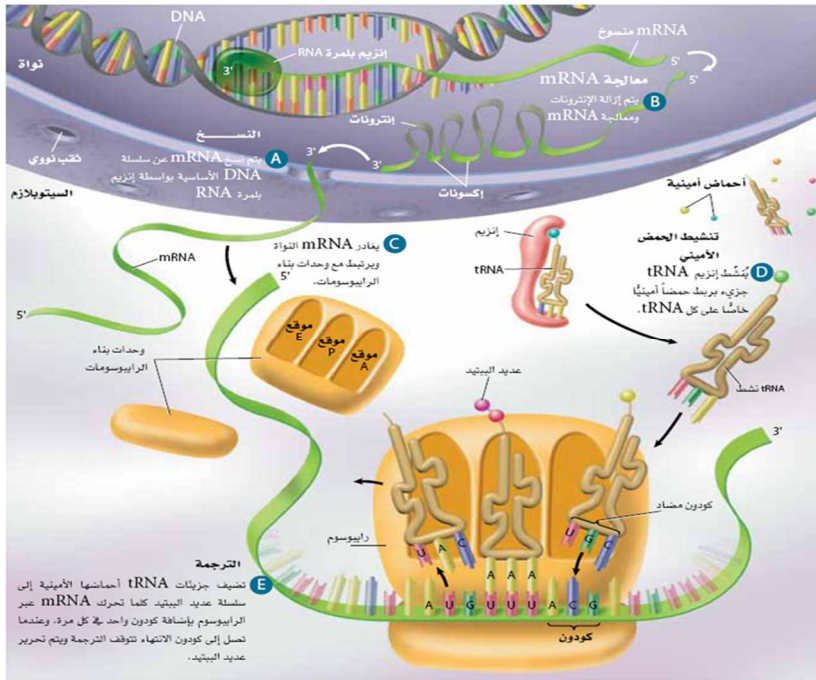
الريبوزي الناقل (tRNA-,GTP,2+M) مع وحدتي الريبوسوم الكبيرة والصغيرة، وعامل الإبتداء، إن بناء سلسلة متعددة الببتيد تبدأ باستخدام الميثيونين الموجود في السيتوبلازم ويكون الإبتداء من الحامض الأميني الميثيونين نفسه المحمول على الحامض الريبوزي الناقل tRNA الحامل للميثيونين يكون بالصيغة tRNA-met يتحد tRNA- met بمساعدة مخزون الطاقة القوانيني ثلاثي الفوسفات (GTP) و تتحد أيضاً مع عامل الإبتداء فيتكون معقد يتحد مع موقع خاص في الوحدة الفرعية للريبوسوم tRNA-Met. يرتبط mRNA مع معقد الريبوسوم بطريقة حيث إن الشفرة الثلاثية AUG للميثيونين ثم جلبها إلى الشفرة المتممة tRNA-met بمساعدة مخزون الطاقة الخلوي أدينين ثلاثي الفوسفات ATP والذي يحتك مع الوحدة الصغيرة للريبوسوم (S40) لتكوين الشكل الوظيفي الكامل للريبوسوم، إن الريبوسوم الكاملة ذات الحجم (S80) يتكون من نوعين من مواقع الاتحاد tRNA peptidyl المسمى P وهما يقومان بعملية الاستطالة (شكل ١.٥).

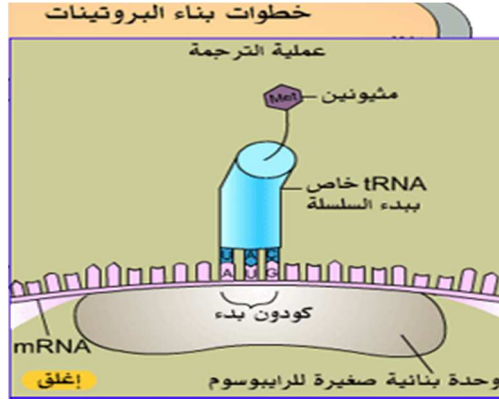
٢- مرحلة الاستطالة -Elongation: في هذه المرحلة يتقدم الحامض الرنا الناقل RNA الثاني حاملاً الحامض الأميني الثاني والمنشط على سبيل المثال الفينيل ألانين فيدعى tRNA ، phe يرتبط هذا المعقد عن طريق مقابل الشفرة وهي متتالية القواعد النيتروجينية الثلاثة (أدينين AAA) مع شفرة الحامض المرسل mRNA وهي متتالية القواعد النيتروجينية الثلاثة (يوراسيل UUU) مع الموقع A الريبوسوم ويسمى هنا الموقع ارتباط الحامض الأميني الثاني باسم موقع الأمينو اسيل للريبوسوم، وتحتاج عملية الاتحاد إلى بروتين سيتوبلازمي يدعى عامل الاستطالة وكذلك إلى طاقة تستمد من تحلل مخزون الطاقة (ثلاثي الفوسفات القوانين GTP) ويتم بعد ذلك تكوين رابطة الببتيد بتفاعل مجموعة الأمين للحامض الأميني مع tRNA-phe مع مجموعة الكاربوآسيل في الحامض الأميني

الأول الميثيونين، فيحصل في هذا التفاعل انفلات في الرابطة التي بين الحمض الأميني الميثيونين مع الحمض الريبوزي الناقل tRNA-met بواسطة أحد انزيمات وحدة الريبوسوم المسمى أنزيم مكون الرابطة الببتيدية Synthetase peptidyl وينجم عن هذا التفاعل ارتباط الحمضين الأمين مع بعض (met- phe) ثم إزالة tRNA الناقل للميثيونين من موقع الريبوسوم P أما tRNA-phe-met فإنه يتحرك من الموقع A إلى الموقع P على الريبوسوم، ويحتاج هذا التفاعل إلى طاقة من جزيئة من مخزون الطاقة (القوانين ثلاثي الفوسفات GTP) وفي الوقت نفسه يكون mRNA المرسل قد تحرك أيضًا بالنسبة موقع الريبوسوم حيث يصبح موقع A خاليًا ومعرضًا للاتحاد tRNA ناقل ثالث، وبذلك فإن عملية الاستطالة تتكرر إلى أن تأتي عملية الانتهاء، الشكل (١.٥).

٣- مرحلة الانتهاء **Termination**:- في هذه المرحلة يأتي دور شفرات التوقف وهي إحدى ممتالية القواعد النيتروجينية الثلاثة (UAA,UAG,UGA) وتسمى الشفرات الفارغة وهي لا تخص إضافة أحماض أمينية جديدة وإنما تدل على إنهاء سلسلة متعددة الببتيد تتجه شفرة التوقف نحو الموقع A من الريبوسوم وفي هذه الحالة لا يوجد tRNA الناقل يملك شفرة مقابلة عوضًا عن ذلك فإن الموقع A يمتلئ بعامل بروتيني يدعى عامل التحرر الذي يسبب الانزيم الرابطة الببتيدية Synthetase Piptidal أن يحلل ما بين الحامض الأميني الأخير في متعدد الببتيد مع الحمض الريبوزي RNA الناقل له محررًا وبذلك تتكون سلسلة متعدد الببتيد، أما الحمض النووي الريبوزي الناقل tRNA والحمض الريبوزي المرسل فإنهما يتركان معقد الريبوسوم، وبالتالي فإن الريبوسوم نفسه يتفكك إلى وحدتين هما الصغيرة الحجم وكبيرة الحجم ٤٠ (S40 ' S-60)، وأن البروتين المتحرر بعد عملية الانتهاء يكون حاوي على الميثيونين في الطرف النيتروجيني وهو أول حامض أميني يُبتدأ به في عملية الترجمة ففي هذه الحالة إما أن يبقى مرتبطًا مع سلسلة متعددة الببتيد وأن

يجذب عن طريق انزيم محلل، وفي الواقع أن هناك عددًا من الأحماض الأمينية على شكل بيتيد صغير تحذف من متعدد الببتيد الأم بواسطة الأنزيمات المحللة ويسمى الببتيد الصغير بالببتيد الموجه وظيفته توجيه البروتين إلى موقع معين في الخلية أو النسيج ، وهناك عدة أنواع من هذه البروتينات المنتجة والتي إما أن تكون للاستعمال داخل الخلية كإنزيم أو عامل محفز، أو عامل نمو، أو بروتين لبناء غشاء الخلية، أو داخل عضيات الخلية وغيرها أو للخلايا الغذائية كالهرمونات والعامل المحفزة لنمو الخلايا وغيرها، وتتم عملية إنتاج الشكل النهائي للبروتين أو التغليف للبروتين في جهاز جولجي إما بإضافة السكر أو الدهون له.

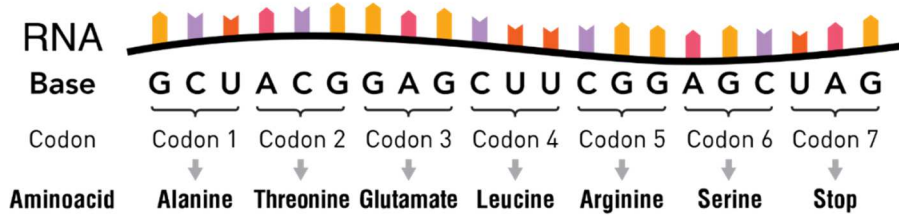




شكل رقم (١.٥). يوضح مراحل تحضير وبناء البروتين في الخلية:

تشتمل مرحلة تحضير البروتين عملية نسخ الحمض الريبوزي المرسل (mRNA) من الحمض النووي الدنا (DNA) (Transcription) في النواة ثم انتقال الحمض الريبوزي المرسل الحامل للشفرة الوراثية إلى سيتوبلازم الخلية حيث تتم ترجمة الشفرة الوراثية (Translation) التي يحملها بواسطة كل من الريبوسومات والحمض الريبوزي الناقل وبمساعدة مخزون الطاقة وبعض الأنزيمات حيث يحمل الحمض الناقل (tRNA) الحمض الأميني إلى الريبوسوم حسب قراه الشفرة الوراثية حيث تتم عملية بناء البروتين (Protein synthesis) بمراحله الثلاث مرحلة البداية (Initiation) شفرة البداية تبدأ بحمض الميثيونين ثم مرحلة الاستطالة (Elongation) والتي تتم بربط الحمض الأميني الأول الميثيونين بالذي يليه ثم الذي يليه، حتى نهاية قراه الشفرة الوراثية الموجودة على الحمض الريبوزي المرسل والتي تنتهي بشفرة النهاية (Termination) (انظر الشرح في المتن).

الشفرة الوراثية: (كودونات mRNA والأحماض الأمينية)													
القاعدة الثانية في الكودون													
القاعدة الأولى في الكودون	U			C			A			G			القاعدة الثالثة في الكودون
	U	UUU UUC UUA UUG	فيل ألانين Phe ليوسين Leu	UCU UCC UCA UCG	سيرين Ser	UAU UAC UAA UAG	تيروسين Tyr كودون التوقف Stop	UGU UGC UGA UGG	سيسيتين Cys كودون التوقف Stop تريوتوفان Trp	U C A G			
	C	CUU CUC CUA CUG	ليوسين Leu	CCU CCC CCA CCG	برولين Pro	CAU CAC CAA CAG	هستيدين His جلوتامين Gln	CGU CGC CGA CGG	أرجينين Arg	U C A G			
	A	AUU AUC AUA AUG	إيزولوسين Ile ميثيونين (كودون البدء) Met	ACU ACC ACA ACG	ثريونين Thr	AAU AAC AAA AAG	أسبرجين Asn ليسين Lys	AGU AGC AGA AGG	سيرين Ser أرجينين Arg	U C A G			
	G	GUU GUC GUA GUG	فالين Val	GCU GCC GCA GCG	ألانين Ala	GAU GAC GAA GAG	حمض الأسباريك Asp حمض الجلوتاميك Glu	GGU GGC GGA GGG	جليسين Gly	U C A G			



الجدول (١.١): يوضح ترجمة الشفرة الوراثية أو الكودون لتصنيع البروتين: تتكون كل شفرة من ثلاث قواعد نيروجينية متتالية لترجمة الأحماض الأمينية وعددها عشرون حمض أميني مع شفرة البداية (AUG) والتي تشفر للحمض الأميني الميثيونين (Met)، وثلاث شفرات توقف لإنهاء مرحلة بناء البروتين أي ليس لها ترجمة لأي حمض أميني أو تعد فارغة.

والرسم أسفل الجدول توضح الشفرة الوراثية فكل ٣ قواعد نيروجينية على الحمض النووي المرسل (mRNA) تشفر أو كود لحمض أميني واحد.

التركيب الجزيئي للمورثات او الجينات: Molecular structure of genes

والسؤال الذي يتبادر إلى الذهن كيف يمكن للجينات نفسها أن تعطي أنواعاً مختلفة من الخلايا!

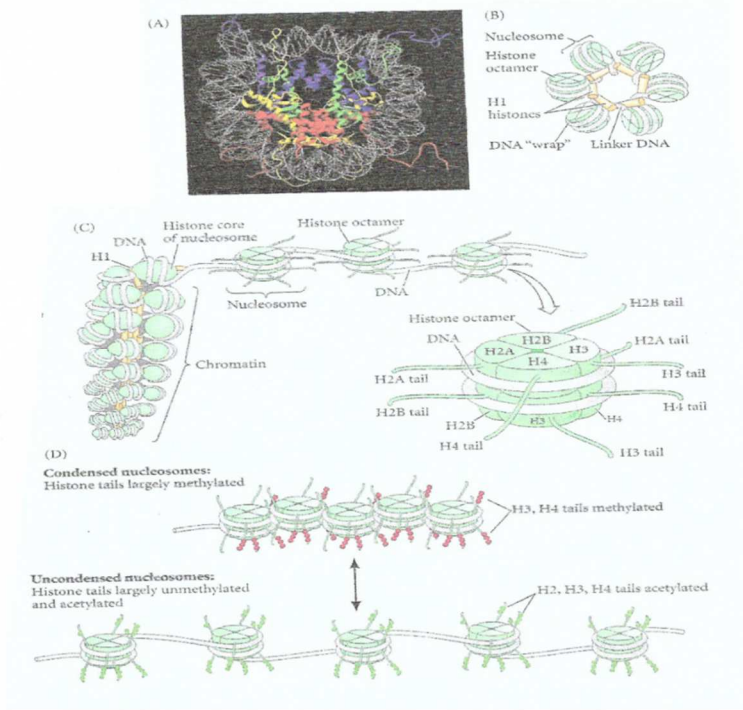
إن المادة الوراثية في الخلايا حقيقية النواة أو المادة الكروماتينية (Chromatin) فيها تتكون من الحمض النووي الدنا مع بروتين حيث يشكل البروتين نصف وزن المادة الكروماتينية ويتكون بشكل كبير من الهستون بروتين، يكون النيوكليوسوم (Nucleosome) الوحدة الأساسية من تركيب المادة الكروماتينية (انظر الشكل رقم ١-٦ أ، ب). تتكون وحدة النيوكليوسوم من بروتين رباعي (الهستون ٢ أ، الهستون ٢ ب، والهستون ٣ وال هستون ٤، H4، H3، H2B، H2A) محاطة بلفتين من الحمض النووي الدنا تحتوي على ١٤٧ قاعة نيروجينية للدنا تقريباً، يرتبط الهستون رقم ١ ب ٦٠-٨٠ رابطة قاعدة نيروجينية للدنا بين كل وحدة نيوكليوسوم، وهناك ما يقارب ١٤ نقطة اتصال بين حمض النووي للدنا مع الهستونات، وفي غالب الأحيان يبدو النيوكليوسوم مطوي بشكل متين يسمى بالشكل المحكم (Solenoids) والذي يكون ثابت بواسطة الهستون رقم ١، وهذا التركيب المحكم والمعتمد على الربط بالهستون رقم ١ يثبت نسخ الجينات في الخلايا الجسدية والذي يثبت عوامل النسخ ونشاط الأنزيم المشكل للأحماض النووية الريبوزية (RNA polymerase) ويمنعها من الوصول للجينات.

الفرق بين الكروماتين النشط والكروماتين الساكن: الهستونات ودورها كمفتاح للنسخ: إن الهستونات أساسية؛ لأنها مسئولة عن تمكن أو منع النسخ للجينات (انظر الشكل ١.٦).

فالتثبيط أو التنشيط يبدو أنه محكوم بواسطة محور طرفية الهستون ٣ وال هستون ٤ بواسطة مجموعة الميثيل المثلثة (CH3) أو مجموعة الاستلة (COCH3) بشكل عام استلة الهستون (Histone acetylation)، فإضافة مجموعة الاستيل سالبة الشحنة

يحيد الشحنة الموجبة لليسين ويفكك الهستون، هذا ينشط النسخ، والأنزيم المسمى بأنزيم أستلة الهستونات (Histone acetyltransferases) يضع مجموعة الأسيتيل على الهستون (خاصة على جزئي الليسين في الهستون رقم ٣ ، ٤) مما يؤدي إلى تفكك النيوكلسوم ويجعله كأجزاء مفككة بشكل سهل، وكما هو متوقع فإن إزالة الأستلة يعمل على ثبات النيوكلسوم ومنع النسخ للجينات.

أما مثلثة الهستون (Histone methylation) فهي إضافة مجموعة الميثيل (CH₃) إلى بروتين الهستون بواسطة أنزيم مثلثة الهستون أو ناقل الميثيل (Histone methyltransferases) والذي إما يؤدي إلى ينشط أو يثبط النسخ للجينات بالاعتماد على الأحماض الأمينية المنشطة أو المثبطة حسب وجود مجموعة الميثيل أو الأسيتيل في الحيز كمثال فاستلة طرفية الهستون رقم ٣ و ٤ مع إضافة ثلاث مجاميع ميثيل على الحمض الأميني الليسين (Lysine) على الموقع ٤ للهستون رقم ٣ فهذا مرتبط بتنشيط نسخ المادة الكرماتينية، وفي المقابل فإن فقدان الأستلة في طرفية الهستون رقم ٣ و ٤ ومثلثة الحمض الأميني الليسين على موقع ذرة الكربون رقم ٩ للهستون رقم ٣ (H3K9 حيث K هنا تعنى موقع الليسين) والتي هنا غالباً ترتبط بموضوع تثبيط الكروماتين، وبالطبع فإن مثلثة الليسين في الموقع ٩ و ٢٧ و ٢٠ (H3K20، H3K27، H3K9) حتماً تعنى أن الكروماتين مثبط بشكل عالٍ. (شكل ١.٣). وكمثال على ذلك فإن تنشيط جينات محور الجسم (Hox gene) الأمامي والخلفي، ففي المرحل المبكرة للنمو الجنيني فإن جينات محور الجسم (Hox gene) تكون مثبطة بواسطة الهستون رقم ٣ بالموقع رقم ٩ لليسين (the lysine at position 27 on histone 3 has 3 methyl groups, H3K27 me3) بواسطة ٣ مجاميع مثيلية (Trimethylation).



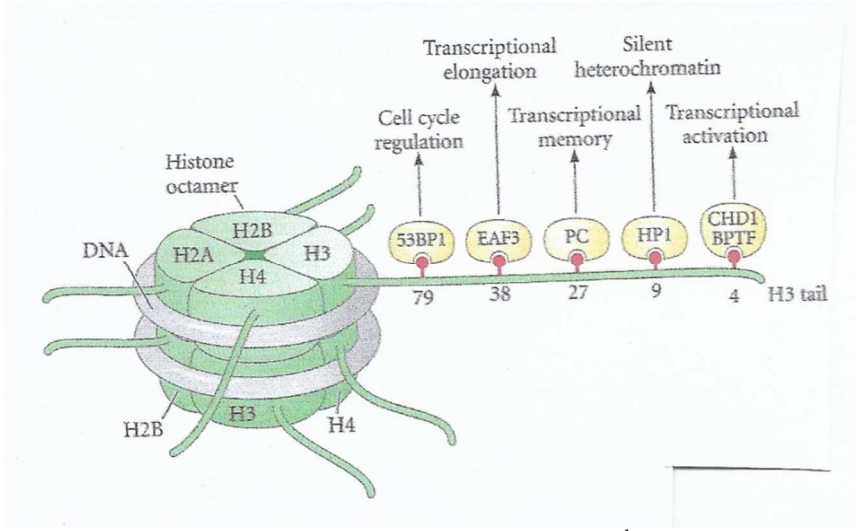
شكل (١.٦) تركيب المادة الكروماتينية والنيوكليوسوم في الخلايا حقيقية النواة :

الشكل (أ) (A) المادة الكروماتينية كما ترى بواسطة أشعة إكس البلورية على قوة تبين ١.٩ أنقستروم (By X-ray crystallography at resolution of 1.9A) فالهستون رقم ٢ و ٢ب يبدو لونها أصفر وأحمر في الصورة، في حين أن الحمض النووي يبدو باللون الرمادي بالصورة ملتف على كتلة البروتين الهستونات، طرفية الهستون الممتدة من كتلة الهستونات هي مواقع إضافة مجموعة الأسيتات للهستون، والتي قد تؤدي إلى تثبيت أو تفكيك التركيب للنيوكليوسوم.

الشكل (ب) (B) يوضح رسم للهستون رقم ١ لتركيب وحدة النيوكليوسوم، والتي تتكون من ١٤٧ زوج من القواعد النيتروجينية تقريباً من جزئي الحمض النووي الدنا الذي يحيط برباعية من الهستونات وتقريباً بـ ٦٠-٨٠ قاعدة نيتروجينية.

الشكل (ج) (C) عبارة عن مجسم لتنظيم النيوكليوسوم بشكل محكم في تركيب الكروماتين، تمتد طرفية الهستونات من وحدة النيوكليوسوم والتي تسمح بارتباط المجاميع الكيميائية.

الشكل (د) (D) يوضح تركيب النيوكليوسوم المكثف بواسطة مجموعة الميثيل بشكل ثابت لمنع المشي من الارتباط لعملية نسخ الجينات، في حين أن الأسلة فإنها تسمى أو تفكك التكثف للنيوكليوسوم وتجعله عرضة لنشاط انزيم عامل مشكل الحمض النووي رقم ٢ و (DNA to RNA Polymerase II) والذي يعمل على نسخ الجينات النشطة من الحمض النووي الدنا (DNA) إلى الحمض النووي الريبوزي الرنا (RNA)، عن ديفي ومساعدوة (A after Davey et al.)



الشكل (١٠٦ ب) مثلثة الهستون أو إضافة مجموعة الميثيل للهستون رقم ٣. طرفية الهستون رقم ٣ تمتد من النيوكليوسوم ويمكن أن يحصل لها إضافة مجموعة الميثيل المثلثة أو إضافة مجموعة الاستيل الأستلة، فهنا فالحمض الأميني للهستون رقم ٣ وهو الليسين يمكن أن يحصل له مثلثة بإضافة مجموعة الميثيل عند الموقع رقم ٤، ٣٨، ٧٩ من الأحماض الأمينية للبروتين مع تنشيط الجين، في حين أن مثلثة الليسين عند الموقع رقم ٩ للحمض الأميني على البروتين و٢٧ يؤدي إلى عملية التثبيط. A after Kouzarides and Berger 2007, from Developmental

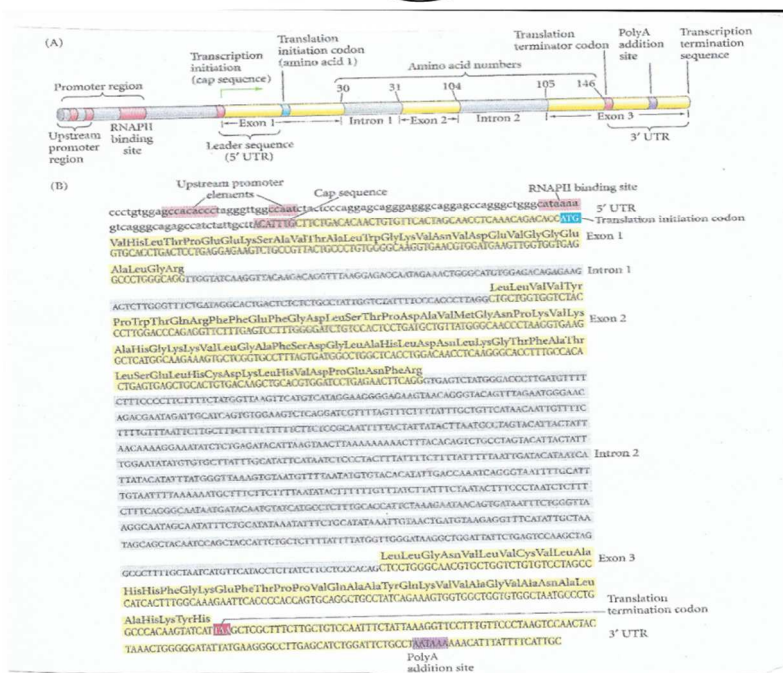
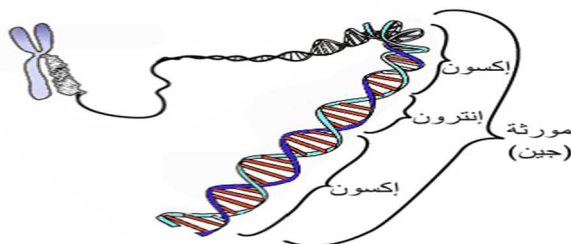
(Biology book by Gilbert 10th ed 2014)

- ١- الجينات Genes = الوحدات الوظيفية الأساسية للDNA
 - ٢- المحاور أو الإكسونات Exons = تحتوي الشفرة لتتابع الأحماض الأمينية في البروتين تتابع التشفير (تسلسل الترميز) Coding sequence
 - ٣- الفواصل أو الإنترونات Introns = مناطق غير مشفرة بين المحاور الإكسونات
 - ٤- الشفرة Codon = مجموعة من ثلاث قواعد نيكليوتيدية والتي تشفر لحمض أميني واحد.
 - ٥- معقد المنشط المساعد لناقل مجموعة الأستيل في الهستونات
 - ٦- معقد الكابح المساعد لإنزيم إزالة أستلة الهستونات
- مثيلة البروتامينات Protamines والهستونات هي مكون حاسم في عملية البصمة: وجد ارتباط بين متلازمة بيكويز-ويديمان Beckwith-Wiedemann و التحوير الجيني لـ Lit 1 & H 19 أثناء الإخصاب خارج الجسم (DeBaum et al., 2003).

تركيب المحاور والفواصل للجينات : Exons and Introns of Genes :

إن الجينات مكونة من محاور وبين كل محور وآخر هناك فواصل، فالمحاور هي مناطق النشطة للتعبير الجيني في الحمض النووي الدنا حيث يتم نسخ الحمض الريبوزي الرنا في منطقة المحور، بينما الفواصل (Intron) فهي مناطق غير نشطة للتعبير الجيني، أي لا يتم نسخ الحمض النووي الريبوزي الرنا في هذه المناطق من الحمض النووي الدنا أي لا تكون نشطة أو خاملة أو لا يوجد عليها مناطق لتشفير للقواعد النيتروجينية والتي تشفر للأحماض الأمينية للبروتينات.

فالشكل (١.٧) يوضح مثالاً لنموذج تركيب محاور أو إكسونات وفواصل أو انترونات جينات نسخ بروتين هيموجلوبين الدم الذي يتركب من الآتي: البداية تعرف بمنطقة المنشئ (Promoter region) وتتكون من بداية منطقة المنشئ (Uptream promoter region)، وموقع أنزيم مشكل الحمض النووي الريبوزي الرنا الثاني (RNA Plemarase II site)، تليه منطقة بداية النسخ أو متتالية البداية (Transcription imitation)، ثم المحور الأول (Exon1) يُشفّر إلى المتتالية القائدة (Leader Sequence cap sequence)، ثم منطقة بداية شفرة الترجمة للأحماض الأمينية للمحور الأول (5' UTR Translation amino acid 1 imitation codon). يليه المنطقة الفاصلة أو الانترون الأول، ثم المحور أو الاكسون الثاني، بعده المنطقة الفاصلة الثانية ثم المحور الثالث، عند منطقة النهاية تكون الشفرة الأخيرة أو النهائية (Translation termination codon)، بعدها منطقة إضافة طرفية عديد الأدينين (Poly A addition site). ثم نهاية ترتيب الشفرة للنسخ (Transcription termination sequence) عند الطرفية ٣' غير المشفرة أو غير مترجمة (3' Untranslated region, 3'UTR).



الشكل (١٠٧). يوضح مثال لنموذج تركيب محاور أو إكسونات وفواصل أو إنترونات جينات نسخ :
 كمثال بروتين هيموجلوبين الدم الذي يتركب من الآتي: البداية تعرف بمنطقة المنشئ (Promoter region) التي تتكون من بداية منطقة المنشئ (Upstream promoter region)، وموقع أنزيم مشكل الحمض الريبوزي الرنا الثاني (RNA Plemarase II site)، تليه منطقة بداية النسخ (Transcription imitation, cap sequence)، ثم المحور الأول (Exon1) الذي يشفر إلى المتتالية القيادية (Leader Sequence 5' UTR)، ثم منطقة بداية شفرة الترجمة للأحماض الأمينية للمحور الأول (amino acid 1, Translation imitation codon)، يليه المنطقة الفاصلة أو الانترون الأول، ثم المحور أو الاكسون الثاني، بعده المنطقة الفاصلة الثانية ثم المحور الثالث، عند منطقة النهاية تكون الشفرة الأخيرة أو النهائية (Translation termination codon)، بعدها منطقة إضافة طرفية عديد الأدينين (Poly A addition site)، ثم نهاية ترتيب الشفرة للنسخ (Transcription termination sequence) عند الطرفية 3' غير المشفرة أو غير مترجمة (3' Untranslated region, 3'UTR).

(After Lawn *et al.* 1980 from Developmental Biology book by Gilbert 10th ed 2014)

الفصل الثاني

التكوين الجزيئي للأمشاج

The Molecular Biology of Gametogenesis

إن التكاثر الجنسي في الكائنات الحية يعتمد بشكل رئيس على تكوين الأمشاج (البويضات والحيوانات المنوية) والتي تندمج مع بعضها البعض خلال عملية الإخصاب لتكون اللاقحة أو الزيجوت وهي أول خلية للكائن الحي، فكل خلية في جسم الكائن الحي والتي تتكاثر بالتزاوج أو جنسياً، أصلها البويضة المخصبة والتي تتكون منها جميع خلايا الجنين وفيما بعد الكائن الحي. فكل خلية في الكائن الحي سواء الجسدية أو الجنسية (أو أمهات الأمشاج) تحتوي على العدد الثنائي من الكروموسومات نفسه، وكما هو معلوم فإن هذا العدد الثنائي للكروموسومات ($2n$ - n) يتم اختزاله أثناء تكوين الأمشاج في المناسل من خلال الانقسام الاختزالي الذي يحصل للخلايا الجنسية لتنتج الأمشاج لتصبح كل خلية مشيجية بها نصف عدد الكروموسومات أو أحادية المجموعة الصبغية (n - $n-1$)، هذه الأمشاج سواء الذكرية أو الأنثوية أصلها ليس من المنسل إنما أصلها من الخلايا التناسلية الأولية (Primordial germ cells PGCs) والتي تنشأ أصلاً خارج المنسل في المراحل المبكرة للتكوين الجنيني ثم تهاجر إلى المنسل غير المتمايز، لكن كيف وأين تكونت هذه الخلايا التناسلية الأولية؟ ونظراً لأهمية هذه المرحلة في تكوين الكائن الحي خاصة من الناحية الجزيئية فسوف يتم في هذا الفصل توضيح التكوين الجزيئي لها.

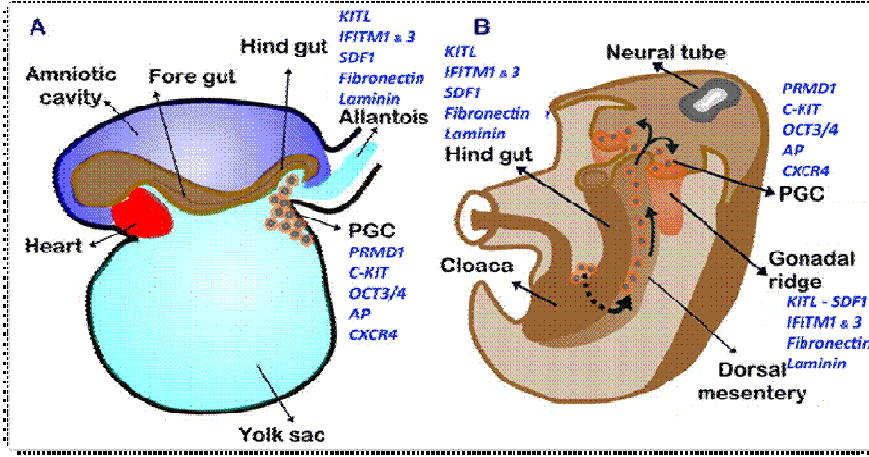
تكوين الخلايا التناسلية الأولية: (PGCs) Primordial Germ Cells

منشأها:

تنشأ الخلايا التناسلية في البرمائيات في المنطقة البطنية الخلفية للميزوديرم الجانبي، بينما في الطيور فإنها تنشأ من الطبقة السفلية للرهل البدائي (Hypoblast of the Proamion) أمام منطقة الرأس وتبدأ في الظهور بعد ٥٦ ساعة من تحضين بيض الدجاج يكون عددها قليلاً ثم تزداد في اليوم الثالث من التحضين، أما في الثدييات فإنها تنشأ من خلايا الطبقة الداخلية (الأندوديرمية) في منطقة عنق كيس المح للجنين حيث تعمل كل من الجينات (AP/CXR4، OCT3/4، C-KIT، PRMD1) على تكوينها وهجرتها الشكل (١، ٢). تظهر الخلايا التناسلية الأولية في اليوم الثامن من عمر الجنين في الفأر ويكون عددها ~١٠٠٠ خلية ثم تزداد إلى ٥٠٠٠ خلية في اليوم ١٢، بينما في جنين الإنسان يكون عددها بضع مئات في الأسبوع الثالث بعد الإخصاب للبويضة، ثم تزداد إلى ٧ مليون خلية بعد ٥ أشهر، (الحمدي وأبوطربوش ١٤١٥هـ) الشكل (٢، ٢).

هجرتها:

تهاجر الخلايا التناسلية الأولية من خلال الحركة الأميبية في الفراغات بين الخلوية إلى أن تصل إلى تيار الدم ثم تستقر في المنسل غير المتمايز شكل (٣، ٢). وذلك عن طريق بعض المستقبلات على سطحها والتي تتوافق أو ترتبط مع خلايا نسيج المنسل، وفي حال عدم وصولها إلى المنسل قد تنمو في هذا النسيج الذي وصلت إليه، وفيما بعد قد تنتج بها يعرف سرطان الخلايا التناسلية الأولية (Teratoma). هناك عدة دراسات على العوامل التي تتحكم في هجرة هذه الخلايا التناسلية وكيف تتعرف على المنسل لتستقر فيه حيث تصدر المناسل مواد جذابة (كمستقبلات تتواءم مع المستقبلات على سطح الخلايا التناسلية والأولية (شكل ٤، ٢ أ)، وقد قمنا بتجربة

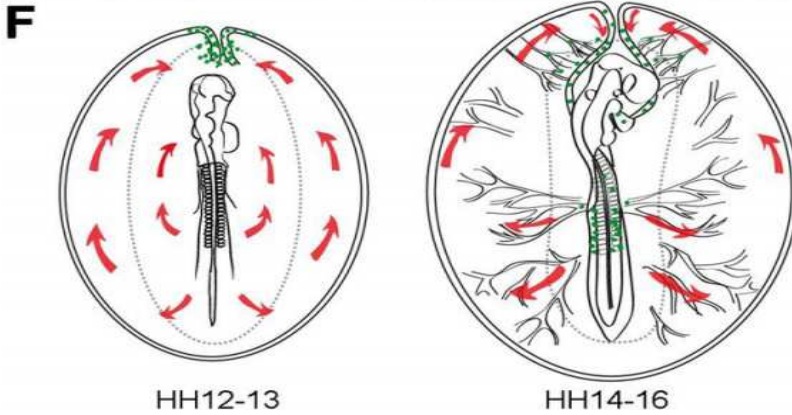


شكل رقم (١، ٢). رسم لمواقع نشأ الخلايا التناسلية الأولية (PGCs) في المراحل المبكر للأجنة:
 أ) في جنين الثدييات تنشأ في منطقة عنق كيس المح والجينات التي تتحكم في نشأتها وهجرتها، كل من الجينات (PRMD1, C-KIT, OCT3/4, AP/CXCR4) (كيس المح = yolk sac، القلب = Heart، تجويف الرحم = Amniotic cavity، المعى الأمامي = Fore gut، المعى الخلفي = Hind gut، PGCs = الخلايا التناسلية الأولية، Neural tube = الأنبوبة العصبية، Gonadal ridge = العرف المنسلي) من الموقع: [www. Bey ondlthedish](http://www.Beyondthedish.wordpress.com) .(wordpress. Com

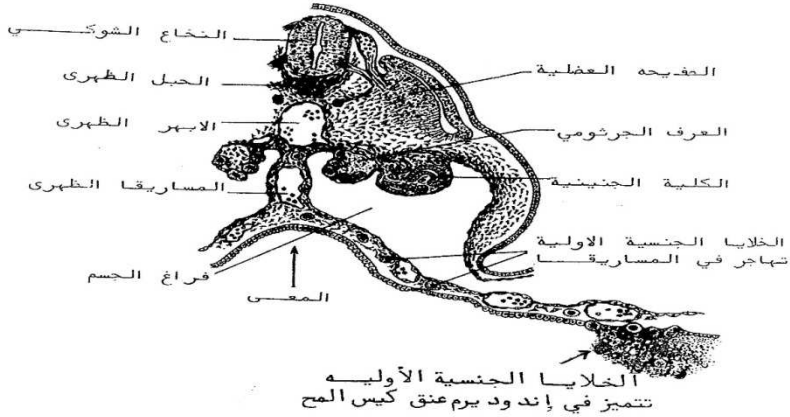
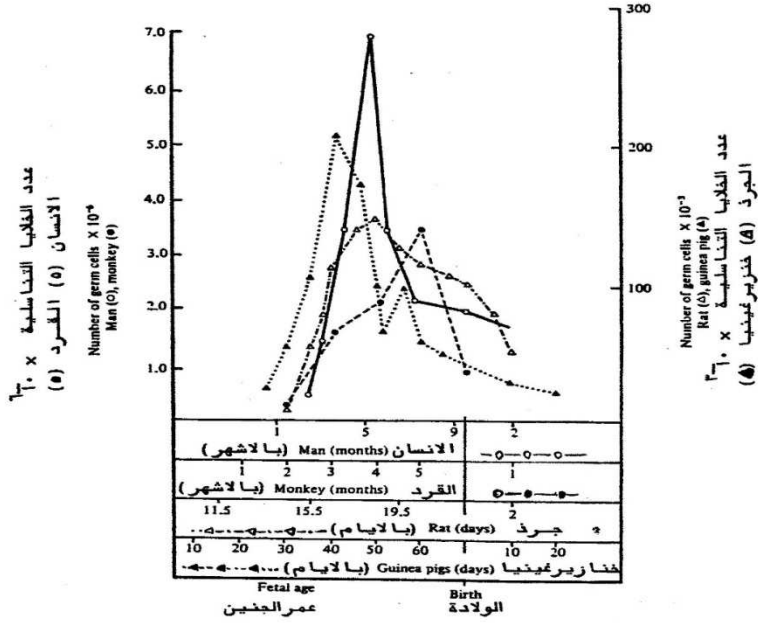
ب) تنشأ الخلايا التناسلية الأولية في جنين الطيور من منطقة الرحم البدائي أمام منطقة الرأس. (لون الخلايا التناسلية الأولية أخضر والأسهم تشير إلى الدورة الدموية وطريق هجرتها في جنين الدجاج عمرة ٥٦ ، ٧٢ ساعة بعد التخصين تقريبا).

تأثير مادة التماكسوفين على هجرة الخلايا التناسلية الأولية في جنين الطيور حيث يستخدم التماكسوفين لعلاج سرطان الثدي بتعطيله لتكوين الأنسيبات الدقيقة في الخلايا وبالتالي منع انقسامها أو تحرك الخلايا السرطانية، فقد استخدم عقار التماكسوفين بغية إنتاج أفراد عقيمة أو بما يعرف العقم الكيميائي (المطيري ١٤٢٠هـ، المطيري والحميدي ٢٠٠١م). وفيما بعد يمكن أن تستخدم هذه الأجنة لنقل خلايا تناسلية أخرى من جنين آخر إليها بغية عمل دراسات تطبيقية فيما بعد للاستفادة من

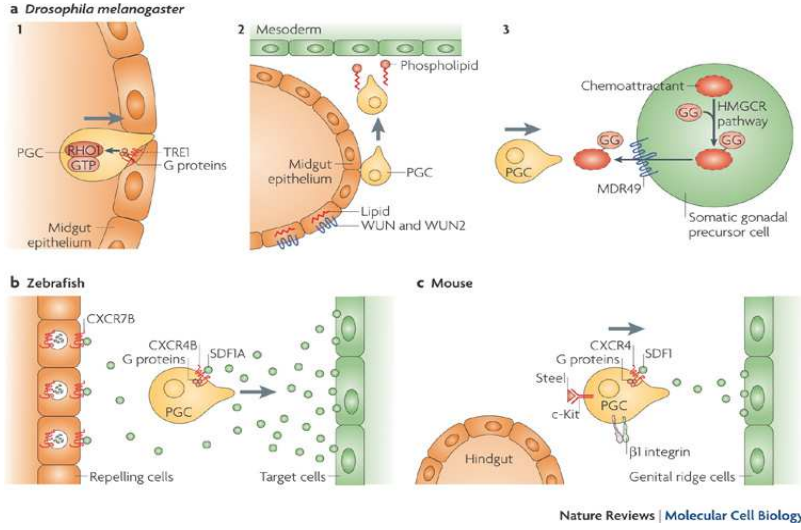
ظاهرة هجرة وإحلال الخلايا التناسلية لجنين بدل جنين آخر سواء عن حقن جينات معينة في هذه الخلايا التناسلية الأولية ثم نقلها إلى الجنين لكي تنتج في المستقبل بعد بلوغها وعند تكاثرها أفرادًا معدلة وراثيًا مثل إنتاج بيض دجاج قليل الكوليسترول وغيره من التطبيقات الجزيئية، أو للمساهمة في حفظ الأنواع المهددة بالانقراض بإحلال خلايا تناسلية لجنين طائر الحباري ونقلها إلى جنين الدجاج بعد التخلص من الخلايا التناسلية الأولية لديه بواسطة بعض المواد مثل البيوسولفان أو غيرها والتي تمنع هجرة خلايا التناسلية الأولية ثم نقل الخلايا التناسلية الأولية لجنين طائر الحباري عن طريق تيار الدم تيار الدم في المراحل المبكرة لجنين الدجاج (عمره أقل من ٧٢ ساعة تحضين)، لكي تسقر في المنسل بحيث ينتج دجاج يحمل خلايا تناسلية لطائر الحباري، وعند تزواج أفراد الدجاج الحامل لأمشاج الحباري ينتج بيض يحتوي على جنين حباري حيث تم عمل ذلك في دولة الامارات العربية المتحدة، الشكل (٤، ٢ب).



شكل رقم (٢، ٢) يوضح منحنيات لعدد الخلايا الجنسية أثناء المرحلة الجنينية وبعد الولادة في الإنسان، القرد، الجرذ، خنزير غينيا (من كتاب التكاثر في الثدييات ١، ترجمة الحميدي و ابوطربوش ١٤١٥هـ).



شكل رقم (٢, ٣). رسمة لقطاع في منطقة جذع الجنين للتدريبات توضح هجرة الخلايا التناسلية الأولية (PGCs) من موقع تكونها في منطقة عنق كيس المح إلى المنسل في الجنين. (الخلايا التناسلية الأولية (PGCs)، في منطقة الاندوديرم لعنق كيس المح ثم هجرة الخلايا التناسلية الأولية عبر الأوعية الدموية إلى العرف الجرثومي أو الحيد التناسلي (Gonadal ridge).



شكل رقم (٤، ٢، أ، ب). رسم يوضح العوامل التي تساعد على هجرة الخلايا التناسلية الأولية (PGC) واستقرارها في النسل لأجنة الكائنات الحية (أ) - حشرة الدورسيفيلا، ب- السمكة المخططة، ج- الفأر). من الموقع الالكتروني (www.Nature reviews)



مركز أبحاث إدارة المحميات الطبيعية التابع لدائرة أعمال رئيس الدولة ينجح في تلقيح فرخ حبارى من بيض الدجاج الأبيض

شكل رقم (٤، ٢، ب). مخطط لإنتاج الحبارى من بيض الدجاج المنزلي عن طريق نقل الخلايا التناسلية الأولية لجنين الحبارى إلى جنين الدجاج في مراحل مبكرة من التكوين الجنيني للحفاظ على الحيوانات المهددة بالانقراض في دولة الامارات.

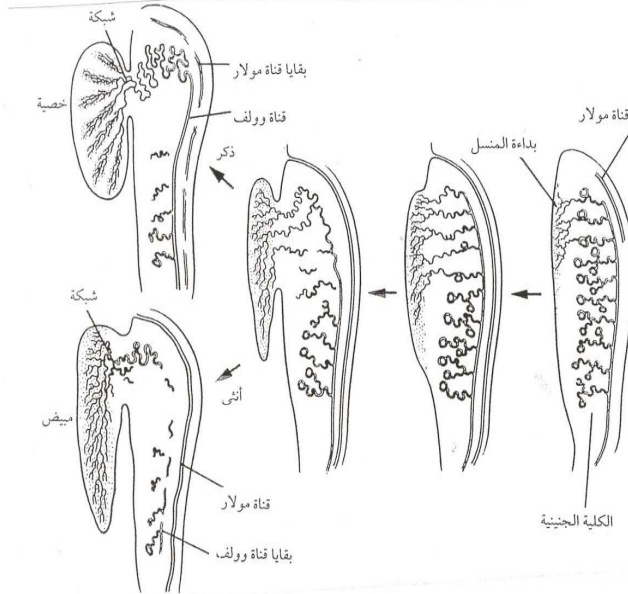
تكوين المناسل في الأجنة: نشأة المناسل:

تنشأ المناسل في الفقاريات من الطبقة المتوسطة (الميزوديرم) حيث يتكون المنسل كبروز صغير من الكلية الجنينية يعرف بالحيد التناسلي أو العرف الجرثومي (Germinal or genital ridge)، ثم يبدأ انفصل عن الكلية الجنينية بالتدرج (في الفأر في اليوم ١٠ وفي الإنسان الأسبوع ٦ من الحمل) حيث تعمل كل من الجينات التالية (KITL، SDF1، IFITM1، and 3fibronectin laminin) على انفصال نسيج المنسل أو العرف الجرثومي (Gonadal ridge) عن الكلية الجنينية (شكل ١، ١ أ)، ثم بعد ذلك تهاجر إليه الخلايا التناسلية الأولية في مرحلة مبكرة من التكوين الجنيني، وفي المرحل المبكرة من التكوين الجنيني يكون المنسل غير متميز (Undifferentiated gonad) ويتكون من منطقتين قشرة سميكة خارجية (Cortex) ومنطقة اللب داخلية (Medulla)، وتنتشر في منطقة لب المنسل حبال جنسية أولية (Primitive Sex Cords) (شكل ١، ٥).

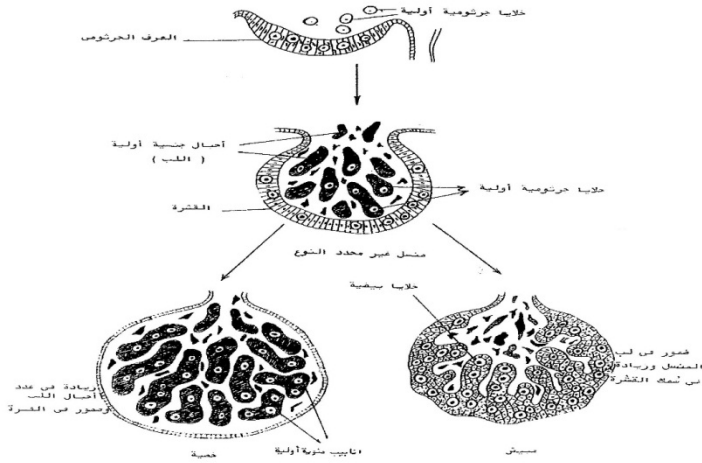
تمايز المنسل في الجنين:

وكما هو معلوم فإن جنس الجنين يكون قد تحدد من بداية إخصاب البويضة، فإذا كان تركيب جنس الجنين ذكر (XY) أي أن البويضة أخصبت بحيوان منوي يحتوي الكرموسوم واي (Y) والذي يحتوي على جين (Sry) لينتج عامل محدد للخصية (Testes determining factor TDF) (Hiramatsu et.al 2009) فيتحول المنسل غير المتميز إلى خصية؛ لذلك فإن قشرة المنسل غير المتميز تضمر ويزداد لب المنسل، وتنمو الحبال الجنسية (Sex cords) في اللب لتكون الأنابيب المنوية (Seminiferous tubules)، وتتحول الخلايا التناسلية الأولية المهاجرة للمنسل إلى أمهات المني (Spermatogonia)، مع ملاحظة حدوث تلاشي لقناة مليرين (Mullerian duct) وبقاء قناة ولف لتكون الوعاء الناقل (Vas deference) في الذكر، وذلك نتيجة لإفراز الجنين الذكر هرمون مضاد لقناة مليرين (Anti-Mullerian hormone AMH) وأحد عوامل تحول النمو-بيتا

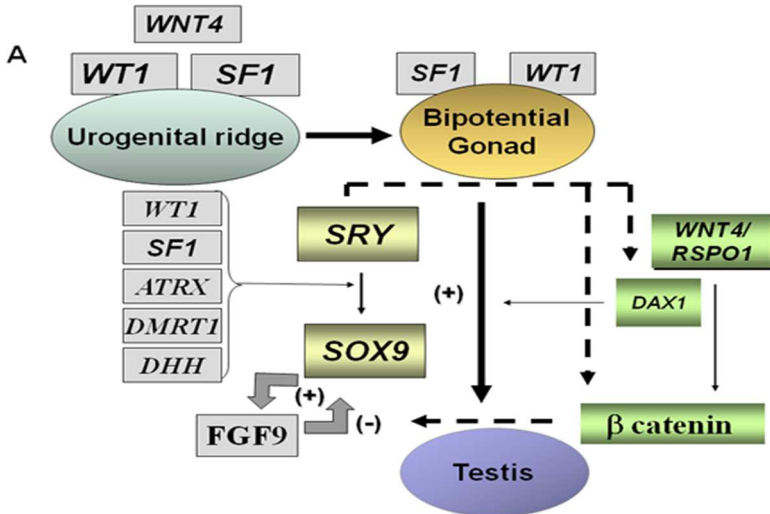
(TGF- β) والذي يعمل على تلاشي قناة مليرين في الذكر، كما تفرز الخصية الهرمون الآخر وهو التستاسترون الذي يعمل على بقاء قناة وولف ((Wolffian duct)، أما إذا كان تركيب جنس الجنين أنثى (XX) أي أن البويضة أخصبت بحيوان منوي يحمل الكرموسوم الجنسي إكس (X)، فإن سمك قشرة المنسل تزداد في الحجم ويضمرب المنسل مما يؤدي إلى تلاشي الحبال الجنسية وعدم تكون الأنبيبات المنوية، وتتحوّل الخلايا التناسلية الأولية المهاجرة إلى المنسل إلى أمهات البيض (Oogonia). ويتحوّل المنسل غير المتمايز إلى مبيض، مع ملاحظة بقاء قناة مليرين والتي سوف تكون قناة البيض في الأنثى، وذلك لعدم وجود الجين المحدد للخصية (SRY) أو الكرموسوم واي (Y) ووجود الكروموسومين (XX) التي تحمل جينات تكوين المبيض (FOX12، WNT4، RSPO1). (Kashimada and Koopman 2010). (شكل ٢-٥-أ، ب، ج).



شكل رقم (٥، ٢). رسم يوضح انفصال المنسل من الكلية الجنينية، في الجنيني الأنثى يتحوّل المناسل غير المتمايز إلى المبيض وبقاء قناة مولار وتلاشي قناة وولوف، بينما في الجنيني الذكر يتحوّل المنسل غير المتمايز إلى خصية وبقاء قناة وولف وتلاشي قناة مولار.



شكل رقم (٥، ٢ ب) رسم يوضح هجرة الخلايا التناسلية الأولية إلى المنسل غير المتمايز، وتمايزه: إلى مبيض بنمو قشرة المنسل وضمور لبه، أو إلى خصية بنمو لب المنسل وضمور قشرة المنسل.



شكل رقم (٥، ٢ ج). مخطط يوضح العوامل أو الجينات التي تتحكم في تكوين العرف الجرثومي وتمايز المنسل إلى الخصية. (الجينات التي تعمل على تكوين الجهاز البولي التناسلي في الجنين هي: (WT1;WNT4; SF1)، والجينات التي تكون المنسل غير المتمايز (WT1; SF1) والجينات التي تحول المنسل إلى خصية (SR;SOX9).

أولاً تكوين البويضات Oogenesis

لقد مضى الزمن الذي كانت تعد فيه البويضات من الخلايا الساكنة أو غير النشطة في المبيض، التجارب والبحوث الجزيئية أظهرت بأنها على المستوى الجزيئي تكون نشطة جداً خاصة فيما تقوم به من تحضير وتصنيع للمواد بداخلها، لا يقتصر تكوين البويضات على تجمع المواد الغذائية فيها والتي يتم استهلاكها أثناء تكوين الجنين حتى يصبح قادراً على التغذية فيما بعد، ولكنها تعد مرحلة مهمة من حيث النشاط الجزيئي المكثف حيث يتم تصنيع عدد كبير من الجزيئات المهمة (مثل البروتينات والريبوسومات والأحماض النووية وغيرها من نشاط لبعض الجينات المهمة في هذه المرحلة) والتي سوف يكون لها أهمية في مرحلة لاحقة من عملية النمو. فهذا العمل ليس اعتباطياً أو لا شعورياً إنما هي الغريزة الإلهية للكائنات الحية جعلت هذه الأم تهتم بجنينها حتى قبل أن يتكون فهي تعد وتحضر وتصنع كل ما يلزم له ليكون كائناً حياً بقدره الله.

مراحل الانقسامات التي تمر بها تكوين البويضات:

ملخص المراحل التي تمر بها تكوين البويضات من حيث الانقسامات الخلوية في المبيض موضحة في الشكل (٦, ٢) والذي يلخص المراحل التي تمر فيها تكوين الأمشاج، من الانقسامات غير المباشرة أو الميتوتية أثناء تكاثر الخلايا التناسلية الأولية (Primordial germ cells PGCs) والتي تكون خارج المنسل أثناء المرحلة الجنينية للكائن الحي ليصل عددها إلى بضع الآلاف تقريباً، ثم تتوقف عن الانقسام أو التكاثر الخلوي حيث تهجر هذه الخلايا من موقع تكوينها إلى المنسل غير المتميز في المراحل الأولية أثناء تكوين الجنين، وعند استقرارها في المنسل تتحول إلى أمهات البيض (Oogonia) والتي تتكاثر في العدد عن طريق الانقسام الميتوتي ليصل عددها إلى بضع ملايين، ثم تنمو وتكبر في الحجم قليلاً لتتحول إلى البويضات الابتدائية (Primary Oocytes) والتي

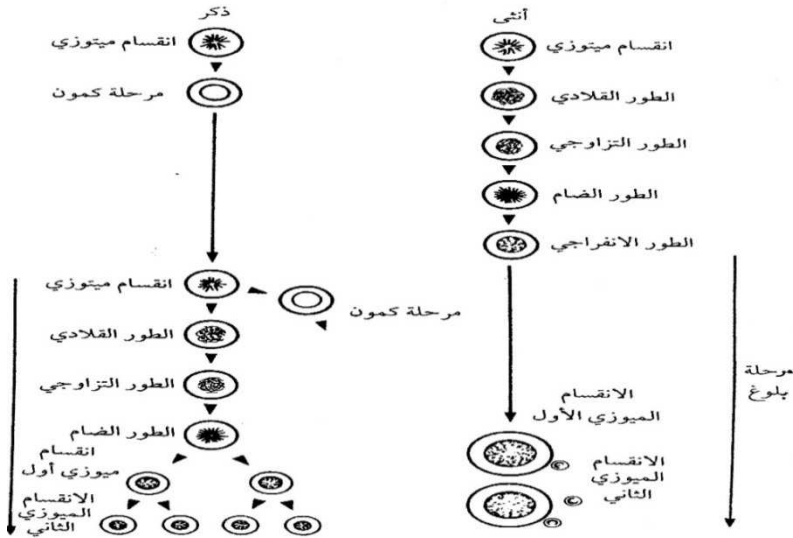
تدخل الانقسام الاختزالي الأول ثم تتوقف ولا تكمل الانقسام الاختزالي الأول (Meiosis MI) إلا قبيل التبويض (Ovulation) عند بلوغ الأنثى، ثم تكمل الانقسام الاختزالي الثاني (MII) عند الإخصاب في معظم بويضات الفقاريات (الحميدي وأبوتربوش ١٩٩٥م).

التكوين الجزيئي لمراحل تكوين ونمو البويضات ونضوجها: Oogenesis stages

كما أسلفنا فإن أمهات البيض التي في مبيض الأنثى تنشأ من الخلايا الجرثومية أو التناسلية الأولية (PGCs) المهاجرة إلى المنسل غير المتميز حيث تستقر في قشرة المنسل (المبيض) وتتحوّل إلى أمهات البيض (Oogonia) وتتكاثر في العدد بواسطة الانقسام غير المباشر (تصل إلى ~٧ مليون خلية تقريباً في الثدييات)، ثم تكبر أمهات البيض في الحجم قليلاً وتتحوّل معظمها إلى البويضات الابتدائية (Primary Oocytes)، وأثناء المرحلة الجنينية معظم البويضات الابتدائية التي في المبيض تدخل الانقسام الاختزالي الأول، ثم تدخل البويضات الابتدائية في مرحلة كمون وهي في المرحلة التمهيدية (الطور الضام) (Pachitene) للانقسام الاختزالي الأول في معظم الفقاريات وتتوقف عن إكمال الانقسام الا عند البلوغ.

بعد البلوغ (وقبيل عملية التبويض أو خروج البويضة من المبيض) فإن البويضات تكون تحت تأثير الهرمونات التناسلية من الغدة النخامية والبويضات التي تجهز مستقبلات لهذه الهرمونات هي التي سوف تستأنف إكمال الانقسام الاختزالي الأول وسوف تستعد للخروج من المبيض لذلك تكبر البويضات الابتدائية في الحجم ثم تكمل الانقسام الاختزالي الأول (حيث ينفصل كل كروموسوم عن مثيلة) لتعطي خليتين: خلية كبيرة تعرف بالبويضة الثانوية (Secondary Oocytes) وخلية صغيرة تعرف بالجسم القطبي الأول (First Polar body 1st PB) كل واحدة تحتوي على نصف عدد الكروموسومات (1n)، بعد عملية التبويض ونزول البويضة إلى قناة البيض

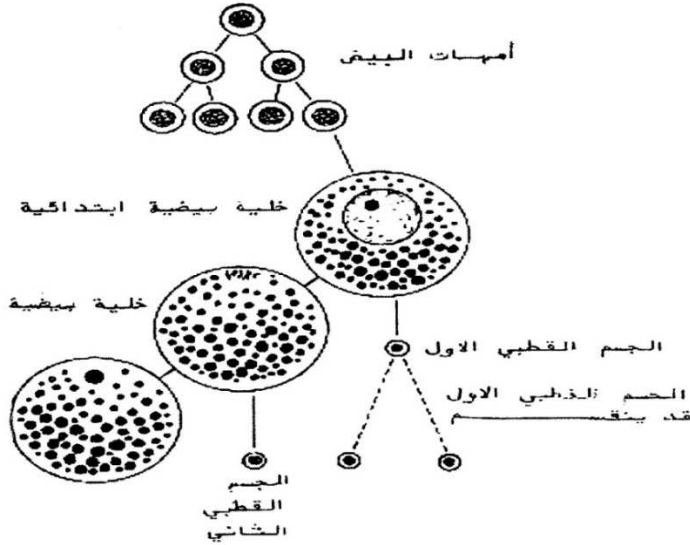
(وأثناء الإخصاب في معظم إناث الفقاريات) تكمل البويضة الثانوية الانقسام الاختزالي الثاني (حيث تنفصل الكروماتيدات عن بعض) لتعطي خليتين واحدة كبيرة تعرف بالخلية البيضية (Ovum) أو بالطليلة البويضية (Ootid) وخلية صغيرة تعرف بالجسم القطبي الثاني (Second 2nd PB polar body)، كما أن الجسم القطبي الأول قد يكمل الانقسام الاختزالي الثاني ليعطي خليتين صغيرتين (وكل خلية بها نصف عدد الكروماتيدات 1 ن، 1n) شكل (٦، ٢).



شكل رقم (٦، ٢) أ) يوضح المراحل التي تمر بها تكوين الأمشاج في الذكر والأنثى خلال المرحلة الجنينية وعند البلوغ. خلال مرورهما بالانقسامين الخليين غير المباشر والانقسام الاختزالي.

تبدأ عملية النمو في البويضات بعد آخر مرحلة تضاعف للمادة الوراثية حيث يصل فيها محتوى الحمض النووي للكروموسومات (DNA) إلى ضعفين العدد (4n)، يبدأ الانقسام الاختزالي في البويضات الابتدائية وتكون صغيرة الحجم نسبياً، ثم تنمو وتزداد في الحجم دون زيادة في الحمض النووي (DNA) وكروموسوماتها لاتزال في

الطور الانفراجي (Deplotene) من المرحلة التمهيدية للانقسام الاختزالي الأول (Meiosis I).



شكل رقم (٦، ٢ ب). مراحل انقسام أمهات البيض ودخولها الانقسام الاختزالي كل خلية ابتدائية تنتج بويضة و٣ أجسام قطبية.

نمو البويضة أو زيادة حجم البويضة:

إن الزيادة في حجم البويضات الإبتدائية يرجع إلى عمليتين:

- ١- تصنيع داخلي أو ذاتي (Auto-synthesis) من البويضة نفسها لجزيئات متعددة من الأحماض النووية الريبوزية (RNA) المختلفة، والريبوسومات والهستونات والبروتينات المشكلة والأنزيمات المحللة والمشكلة للمادة الكروماتينية وللأحماض النووية، والسكريات المتعددة كالنشا الحيواني أو الجليكوجين، والدهون، وغيرها من المكونات للأغشية ومترجمات المكونات الأمية في السيتوبلازم للبويضة.
- ٢- دخال مواد خارجية (Hetrosynthesis) من كبد الأم: كبروتينات الملح أو

(الفيتولوجين)، والكليسترون، وبروتينات حاملة الفيتامينات، ومن الخلايا الحويصلية: عوامل التغذية وبروتينات الأغشية المغلفة للبويضة والهرمونات، ثم من قناة البيض: بروتينات زلال البويضة وبروتينات الأغشية وعديدات التسكر المخاطية، وغلاف البويضة كالقشرة الكلسية، انظر الشكل (٧، ١).

سيتوبلازم البويضات:

يظهر سطح الغشاء البلازمي للبويضة العديد من الخملات محاورها من الأكتين تعمل على زيادة المساحة السطحية للغشاء، تمتد لتصل إلى الخلايا الحويصلية المحيطة بالبويضة، تعمل الخملات على زيادة عبور البروتينات المحيية من الدم عبر الخلايا الحويصلية إلى البويضة عن طريق عملية الشرط (Pinocytosis)، تحت الغشاء توجد الحبيبات القشرية (Cortical granules) (تلعب دورًا في عملية الإخصاب) والحبيبات الصبغية (عبارة عن فضلات عملية أيض البروتين). الاختيارية لنفاذ بروتينات المح عبر غشاء الخلوي للبويضة يرجع لوجود مستقبلات خاصة لتبادل البروتينات حيث تعرف هذه البروتينات ببادئات بروتينات المح (الفيتولوجين Vitelogenin) التي تصنع في كبد الأم نتيجة للتحفيز الهرموني ثم تنتقل إلى البويضة عبر تيار الدم ثم عبر الخلايا الحويصلية، فالبروتينات المحيية تعمل على النمو الحجمي للبويضات، وصفائح المح أكثر انتشارًا في القطب الخصري للبويضة، بينما الريبوسومات وحبيبات الجليكوجين وقطرات الدهون تتناقص في العدد كلما اتجهنا من القطب الحيواني إلى القطب الخصري، وعند عمل التجربة حيث زرعت بويضات كاملة النمو (قبل زيادة الحجم) في وجود البروتينات وهرمون الأنسولين فإن حجمها يصل إلى الضعف خلال ٢-٣ أسبوع.



شكل رقم (٧، ٢ أ). مخطط يوضح المواد التي تتكون ذاتيًا داخل البويضة والمواد التي تخزن فيها تصنع خارجها من كبد الأم والخلايا الحويصلية المحيطة بالبويضة في المبيض وقناة البيض.

١ - المواد التي تصنع من خارج البويضة Heterosynthesis من الكبد تحت تأثير هرمون الاستروجين (E2) {تتضمن بروتينات المح، الكليسترون وبروتينات ناقلة للفيتامينات} . من الخلايا الحويصلية حول البويضة تحت تأثير الهرمون المحفز لنمو الخلايا الحويصلية (FSH) {وتتضمن عوامل نمو، بروتينات غلافية، هرمونات} ، ثم من قناة البيض تحت تأثير هرمون الاستروجين (E2) {وتتضمن بياض أو زلال البويضة بروتينات غلافية سكريات مخاطية عديدة}.

٢ - المواد التي تصنع من داخل البويضة Auto synthesis: تشمل الريبوسومات، الهيستونات، عوامل مشكلة للكروماتين، أنزيمات مشكلة للأحماض النووية، أنزيمات محللة، مكونات الغشاء، أحماض نووية مرسلة أمية (MmRNA) مكونات للترجمة الجزيئية.

التكوين الجزيئي لبويضات البرمائيات:

البويضات في مرحلة قبل تكوين المح في البرمائيات فيها كمية قليلة من الريبوسومات وتصنع كمية قليلة من جزيئات الأحماض النووية الريبوسومية كبيرة الحجم ($rRNAs = 28S \text{ and } 18S$) لكنها تحضر بشكل نشط الأحماض النووية الريبوسومية صغيرة الحجم مثل الأحماض النووية الريبوزية الناقلة ($tRNA, 5S$) حيث تندمج الأحماض النووية الصغيرة مع بروتينات المح وهي أصغر من الريبوسومات، ثم تركز البويضة على تصنيع الأحماض الريبوزية ($RNA; 28S-18S$) كذلك تصنيع البروتينات يكون ضعيفاً في المرحلة المبكرة لنمو البويضات وتزداد أثناء تكوين المح لكنها تقل من القطب الحيواني للقطب الخصري حسب تدرج توزيع الريبوسومات شكل (٨، ١٢).

قبل مرحلة تكوين المح تصنع بويضات البرمائيات العديد من الأحماض النووية المرسلية ($mRNA$) ٣-٥٪، ثم تخزن بشكل غير نشط خلال فترة تكوين المح، وهذا ينطبق أيضاً على هستونات الأحماض النووية المرسلية التي ليس لها أهمية في مرحلة البويضات النامية فهناك ما يقارب ٢٠٠٠٠ نوع مختلف من الأحماض النووية المرسلية ($mRNA$).

إن بداية فترة تكوين المح هي علامة واضحة في نقطة محور البويضة حيث يتوقف تحضير الأحماض النووية المرسلية ($mRNA$) ويبدأ تحضير الأحماض النووية الريبوسومية ($rRNA$). وتحضير الأحماض النووية الريبوزية الصغيرة الناقلة ($tRNA; 5S-RNA$) لا يثبط أثناء تكوين المح، وغالبية الريبوسومات (٩٨٪) لا ترتبط بعملية تصنيع البروتينات في البويضة النامية، فإذا ما تم حقن بويضات الضفدعة بأحماض نووية مرسلية خاصة بالتشفير لهيموقليين دم أرنب فإنها تصنع بروتين الهيموقليين لعدة أيام (قوردن وزملائه). هذا يدل على أن معظم ريبوسومات البويضة غير مبرمجة أي أنها حرة في عملية الارتباط بأي أحماض نووية ريبوزية (RNA) كذلك حتى لو كان هذا البروتين إفرازي فإنه سيتم إفرازه من البويضة حتى وإن كان هناك إضافة سكريات له، ومعظم

الأحماض النووية المرسلّة تحتوي على طرفية عديد الأدينين (Poly A) للتثبيت انظر شكل (١٠, ٢). بينما التي ليس لها طرفية كالتّي تشفر للهستونات ليس لها قدرة على الثبات.

تصنع البويضات العديد من الأنزيمات ذات الأهمية اللاحقة فيما بعد كالأنزيم الخاص بتصنيع الكولاجين والذي لا يتواجد في بويضة البرمائيات قبل عملية التبطين أو طور الأنبوبة العصبية، أي أن الأنزيم تم تصنيعه في البويضة قبل تواجده مادته التي يعمل عليها، والبويضة تخزن الكثير من أنواع المواد التي تحتاج إليها اثناء النمو المبكر للجنين، وهي تحتاج إلى الطاقة لتصنيع جزيئات جديدة وبناء تراكيب وعضيات فهي تحتوي على ميتوكوندريا أو أجسام سبكية، بأعداد كثيرة أكثر مما تحتاجه عملية تكوين البويضات، هذه الميتوكوندريا بالإضافة لما تحتويه من أنزيمات تنفسية فإنها تحتوي على حمض نووي (DNA) حلقي يصل طوله إلى ٥ ميكرون ووزنه الجزيئي ١٠ مليون دالتون، يعمل على نسخ للأحماض النووية الريبوزية الريبوسومية الكبيرة (55S-rRNA) الخاصة بالميتوكوندريا، كما أن الحمض النووي للميتوكوندريا (DNA) لديه القدرة على أن يستنسخ نفسه بشكل مستقل عن الحمض النووي الخاص بالكروموسومات في نواة البويضة، مما يؤدي إلى زيادة في عدد الميتوكوندريا، هذه الزيادة تحدث قبل عملية تكوين المح حيث يستنسخ الحمض النووي (DNA) الخاص بالميتوكوندريا ١٦-١٧ مرة، ١٢ مرة منها تحدث قبل تكوين المح؛ لذلك فإن بويضة البرمائيات الصغيرة بالحجم تحتوي على ما يقارب ٥٠٠, ٠٠٠ ميتوكوندريا وأكثر من ٥٠٪ من الأحماض النووية صغيرة الحجم (5S- RNA) وربما كل (mRNA) التي تتواجد في البويضة كاملة النمو. (Brachet and Alexander 1988)

تكوين المح (Vitelogenesis):

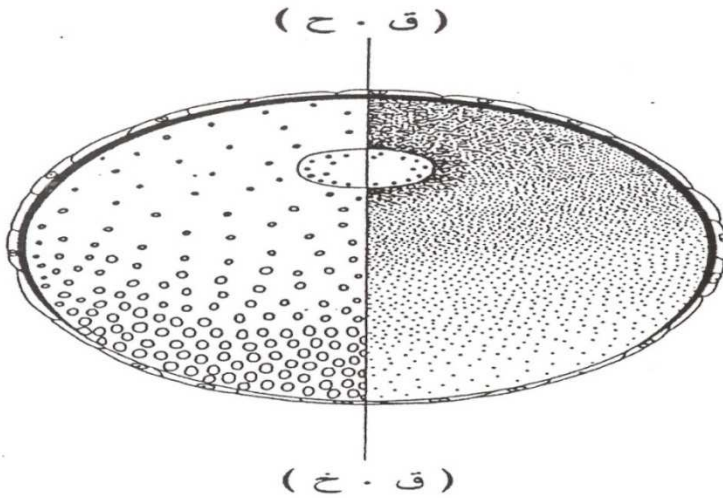
تكوين المح يحدث بشكل متماثل في معظم إناث الكائنات الحيوانية وبكميات كبيرة نوعاً ما عدا الثدييات الولودة بشكل قليل جداً نظراً؛ لأن جنين الثدييات ينمو

داخل رحم الأم، يبدأ تكوين المح في الحشرات مثلاً عندما يحفز مخ الحشرة الجسم النخامي لكي يفرز هرمون اليفع أو النضوج (Juvenile Hormone) الذي بدوره يحفز الجسم الدهني (Fat body) في الحشرة لكي يصنع بروتين المح أو الفتيولوجين (Vitellogenin) من الجسم الدهني ثم ينتقل إلى البويضة في مبيض الحشرة (شكل ٨, ١ ب) في الصراصير، على سبيل المثال يمكن تحفز عملية تكوين المح (Vitellogenesis) بحقن هرمون اليفع أو النضوج في الإناث غير الناضجة. وبالمقارنة لتكوين المح في البرمائيات، يحفز سرير المهاد أسفل المخ عن طريق إفرازه للهرمون المنبه لإفراز الهرمونات المحفزة للمنسل (Gonadotrophin releasing hormone GnRH) في الفص الأمامي للغدة النخامية، لكي تفرز الغدة النخامية الهرمون المحفز لنمو الحويصلات (FSH) (Follicle stimulating hormone) الذي بدوره يحفز الخلايا الحويصلية حول البويضة بالمبيض لكي تفرز هرموناتها الجنسية الأنثوية الأستروجين (Estrogen hormone E2)، حيث يعمل هرمون الأستروجين على تنبيه الكبد لكي يصنع بروتينات المح أو الفتيولوجين، ثم ينتقل المح فيما بعد إلى المبيض عن طريق تيار الدم إلى الخلايا الحويصلية لكي يتم تشربه بواسطة البويضة ويترسب فيها على شكل صفائح محية (Yolk droplets) (شكل ٨, ١ ب ج).

إن عملية تشكيل صفار البيض عن طريق المواد الغذائية التي ترسب في البويضات يساهم في عملية التكاثر، فالخلل في تكوينه يمكن أن يؤدي إلى العقم أو عدم الخصوبة أو خلل في نمو الاجنة داخل البويضة، وفي البعوض المصاب الملاريا أو البلازموديوم قد يحور تكوين المح بواسطة الطفيل مما يؤدي إلى قلة الخصوبة (Fecundity) في البعوضة.

كيميائياً يتكون صفار البيض من بروتين ودهون فسفاتيه ودهون متعادلة مع كمية قليلة من الجليكوجين أو النشا الحيواني، يتم تصنيع صفار البيض في كبد الأنثى الأم بشكل قابل للذوبان. ثم خلال التداول بالدورة الدموية يتم نقله بواسطة

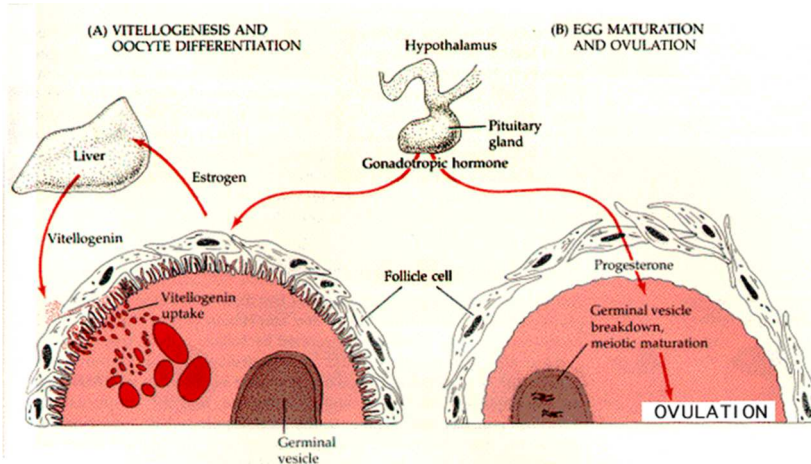
بروتينات ناقلة للمح في الدم إلى الخلايا الحويصلية التي تحيط بالبويضة الناضجة، ويودع على شكل صفائح أوكريات محية في سيتوبلازم البويضة، بعدها تقوم الميتوكوندريا وجهاز جولجي بتحويل النموذج القابل للذوبان من صفار البيض إلى حبيبات أو صفائح محية غير قابلة للذوبان، وفي الثدييات فإن تكوين المح أو الفيتلوجينين (بروتين المح) وهو البروتين الرئيس يتم إفرازه بواسطة جين القطب الخضري (Vit gene) ويتم تنظيمه بواسطة هرمون الأستروجين، يتكون المح في الثدييات من دهون (الدهون الثلاثية والكوليسترول وغيرها...) وبروتين المح أو الفيتلوجينين بشكل رئيس.



شكل رقم (٨، ٢ أ). يوضح مقارنة بين درجة توزيع الريبوسومات (يمين) والصفائح المحية (يسار) داخل بويضة البرمائيات. (ق.ح = قطب حيواني، ق.خ = قطب خضري).



شكل رقم (٨، ٢ ب). يوضح ترسب المح في بويضات البرمائيات مقارنة ببويضة الحشرات. حيث يتم تكوين المح في الجسم الدهني للحشرات أو في كبد الام للصفدة تحت تأثير الهرمونات التناسلية من الغدة النخامية، والهرمونات الجنسية من المنسل ثم ينتقل المح عبر الأوعية بواسطة نواقل لبروتينات المح عبر الخلايا الحويصلية ثم يتم ترسيبه بالبويضة.



شكل رقم (٨، ٢ ج). رسم بين مرحلة تكوين المح بالبويضة وتمايزها ومرحلة نفوج البويضة (Ova maturation) وقيل مرحلة التبويض (Ovulation) وعلاقة الهرمونات والخلايا الحويصلية بذلك.

(ب) نواة البويضات: الحويصلة الجرثومية: Germinal Vesicle (GV)

المكونات الرئيسة لنواة البويضة الكبيرة:

(أ) الغشاء النووي Nuclear membrane (ب) الكروموسومات (الأجسام الصبغية)
Chromosomes (ج) النويات Nucleoli (د) السائل النووي Nuclear sap.

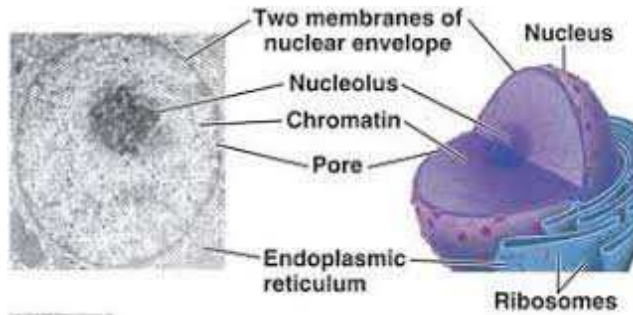
(أ) الغشاء النووي The Nuclear membrane

يتكون الغشاء النووي في البويضات من طبقتين كما في الخلايا العادية لكنه أسمك قليلاً، فهو يحتوي على العديد من الثغور تدعى بمعقدات الثغور النووية (Nuclear pore complexes) لها أشكال مثمثة متراصة من الليفيات الدقيقة ذات سداده مركزية، تحتوى على الأحماض النووية الريبوزية (RNA) سعة هذه الثغور (60nm) وتبقى ثابتة خلال مرحلة تكوين البويضات إلا أن الأعداد تزداد بشكل كبير، ترتبط معقدات الثغور النووية مع بعضها بواسطة مواد مسامية على شكل صفائح تتركب من بروتين واحد يتم تصنيعه وإضافة الفسفور له بشكل مستمر، سرعة انتقال الأحماض الريبوزية الريبوسومية مثل (rRNA 28S,18S) عبر ثغور الغشاء النووي حوالي $\sim 300,000$ جزء خلال كل ثانية، فالخاصية النفاذية الاختيارية للغشاء النووي تمرر كل ما تحتاجه النواة وكذلك من النواة إلى السيتوبلازم بغض النظر عن حجم الجزيئات التي تعبر من خلال الثغور، وأن هذه الخاصية النفاذية تعود إلى روابط خاصة بمكونات النواة وليس لنفاذية الغشاء، فالأحماض النووية الصغيرة والكبيرة بالحجم (مثل 28S-rRNA;mRNA) تسلك تغيراً كيميائياً حيويًا أو شكليًا حال عبورها الغشاء النووي شكل (٩, ٢).

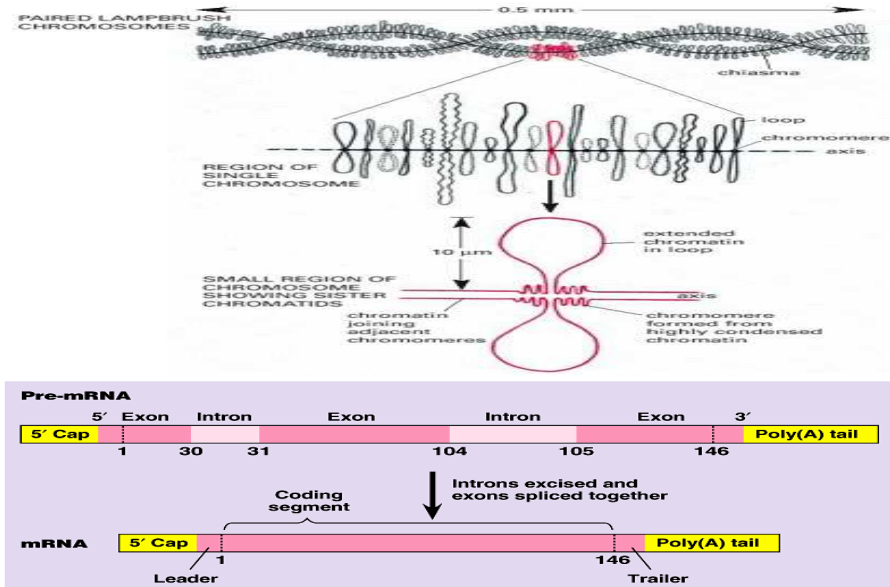
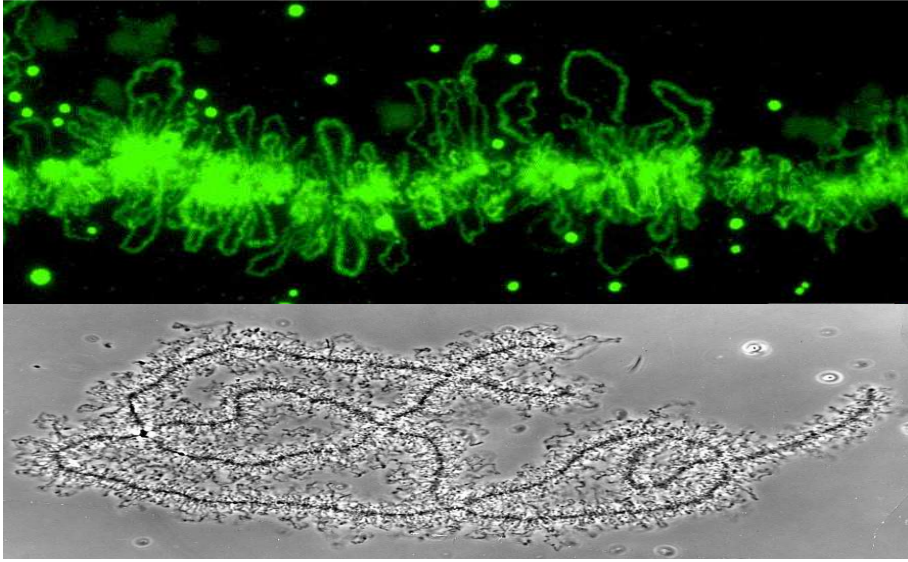
(ب) الكروموسومات (الأجسام الصبغية)

أثناء الطور اليرقي للصفدة معظم البويضات التي في مبيضها تكون في الطور الضام (Pachytene) من الانقسام الاختزالي الأول، وخلال مرحلة تكوين المح ونمو البويضة (بعد بلوغ الأنثى) تمتد الكروموسومات لتكون ما يسمى بالكروموسومات

الفرشائية (Lamp brush chromosomes) الغنية بالعصير النووي، تتقدم في طور الانقسام لكي تصل إلى الطور الانفراجي (Deplotene) وتكون الكروموسومات في أزواج مترابط فيما بينها في مناطق العبور (Crossing over)، والشكل الفرشائي للكروموسومات يعود لظهور لفات جانبية تظهر من جانب وتختفي من جانب حسب آليات الجين فاللفة مجموعة من الجينات وتكون مكثفة وواضحة في بويضة الضفدعة النامية. انظر الشكل (١٠، ٢). فالحمض النووي للكروموسومات (DNA) الذي في اللفات يتم نسخة إلى حمض نووي مرسل (mRNA) حيث يمتد أنزيم بلمرة الحمض النووي على اللفات (RNA polymerase) وعند معاملة الكروموسومات بأنزيم محلل للحمض النووي (Deoxyribonuclease) تتحطم اللفات. ٢، ٠٪ فقط من الحمض النووي (DNA) للكروموسومات الفرشائية يتم تشفيره أو نسخة للأحماض المرسلة (mRNA) ٣٠٪ فقط من ترتيبها يتم نسخة، والأحماض النووية الريبوزية (RNA) مع البروتينات تكون البروتين النووي الريبوزي (Ribonucleoproteins RNP) في نهاية عملية تكوين البويضات تتكثف الكروموسومات الفرشائية ويقل نشاطها.



شكل رقم (٢، ٩). صورة ورسم للنواة توضح النواة والغشاء النووي مزوج الطبقة (غشاء النواة الداخلي والخارجي) Two membrane of nuclear envelope، النواة Nucleolus، المادة الكروماتينية في السائل النووي Chromatin الثغور النووية (Nuclear pore مثمنة الشكل)، الشبكة الأندوبلازمية الخشنة Endoplasmic reticulum متصلة بالنواة، وعليها الريبوسومات Ribosomes.



شكل رقم (١٠، ٢). صور ورسومات لشكل الكروموسومات الفرشائية في البويضات النامية في المبيض تظهر اللفات النشطة لنسخ الحمض النووي المرسل والمغلف بعدديد الأدينين (PolyA)

ج) النويات (Nucleoli)

عدد النويات قليل في بويضات اللافقاريات، وفي البرمائيات واحدة كبيرة ونويات صغيرة عددها كثير قد يصل إلى (١٠٠٠ نوية).

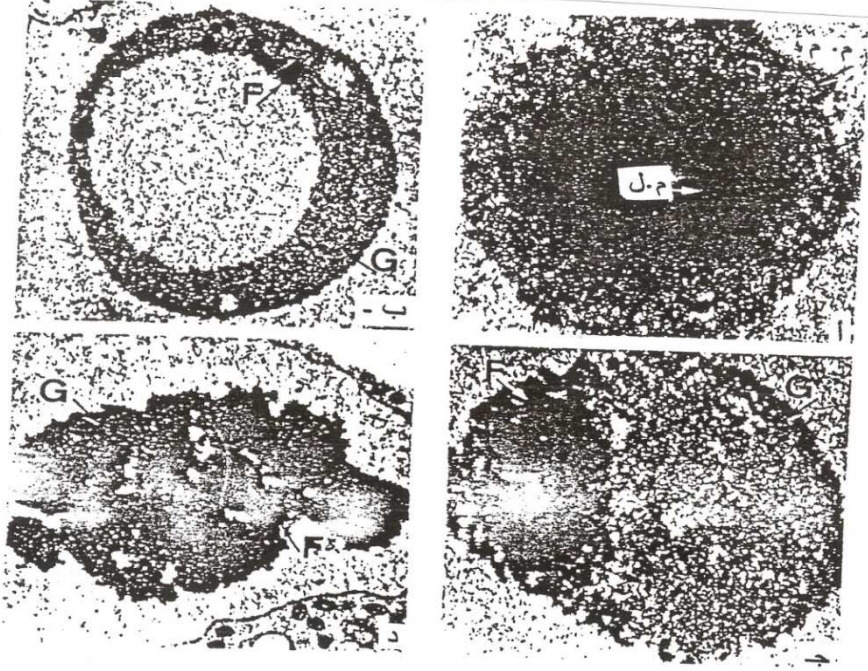
تركيب النويات: في المركز ليفي وحبيبي حول المحيط لكنها في البويضة ما قبل تصنيع المح تكون النويات ألياف فقط وتفقد الجزء الحبيبي، فالجزء المحب يتكون من أحماض نووية ريبوزية ذات جسيمات هي بادئات لريبوسومات السيتوبلازم شكل (١١، ٢).

نوية بويضات نجم البحر تحتوي على ٧٪ من الأحماض الريبوزية (RNA) تشبه الأحماض النووية الريبوسومية (rRNA) باحتوائها على كمية كبيرة من القواعد النيتروجينية الجوانين (G) والسيتوسين (C).

الأحماض النووية الخاصة بالنويات هي الأكبر حجماً (~٣ مليون دالتون تقريباً) وهي بادئات الأحماض الريبوسومية مثل (28S-18S rRNA) وهي خاصة بريبوسومات السيتوبلازم، بقية أجزاء النوية يتكون من بروتينات فوسفاتية قاعدية هي بادئات لبروتينات الريبوسومات واحتمال أنها من بروتينات السيتوبلازم أصلاً، من هذه البروتينات هي أنزيمات متخصصة لتحضير الأحماض النووية مثل الأنزيم الأول المحضر للحمض النووي (RNA Polymerase-1) والذي يساهم في تصنيع الأحماض الخاصة بالنويات والأحماض الريبوزية الريبوسومية (Nucleolar and rRNA) انظر الأشكال (١٢، ٢)، (١٣، ٢)، (١٤، ٢).

الحمض النووي المنظم للنويات (Nucleolar organizer DNA): خاص بالنويات شكل (١٥، ١)، لا يمكن الكشف عنه بالطرق الخاصة بالكشف عن الأحماض النووية (DNA) للنواة. فهو يعمل على تكوين سلاسل من الأحماض النووية الريبوزية (RNA) الخاصة بالنويات، فهناك ما يقارب ٤٥٠ جين لريبوسومات المنظمات النووية للنويات، ويتم تضخيم جينات الأحماض الريبوسومية في منطقة الغطاء للنويات (Cap)

والتي تكون موجودة في مرحلة الطور الضام من تكوين البويضات، حيث يتم مضاعفتها عدة مرات، لكن لا يحصل نسخ لها إلا في مرحلة تكوين المح.



شكل رقم (١١، ٢). صورة التركيب الليف والمحب للنويات في بويضات البرمائيات (ل = ليفي)، م = محب

Structure for Ribosomal RNA:

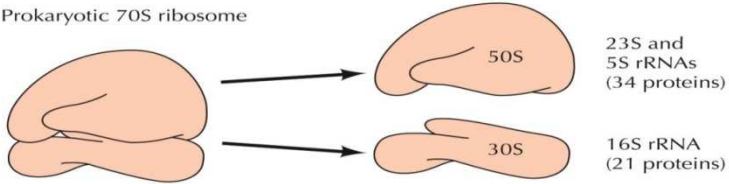
		Eukaryotes	Bacteria
	Total	80S size	70S size
	LSU	60S	50S
	SSU	40S	30S
	LSU rRNA	5.8S, 28S	5S, 23S
	SSU rRNA	18S	16S

transcribed intragenic spacer regions (important for fungi)

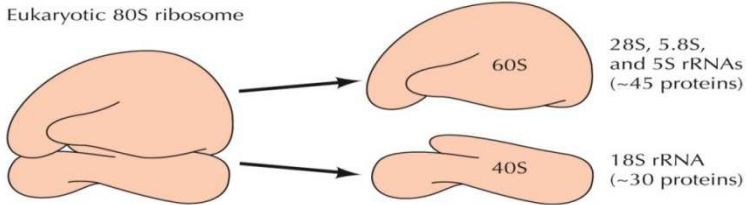
18S	ITS1	5.8S	ITS2	28S

(A)

Prokaryotic 70S ribosome



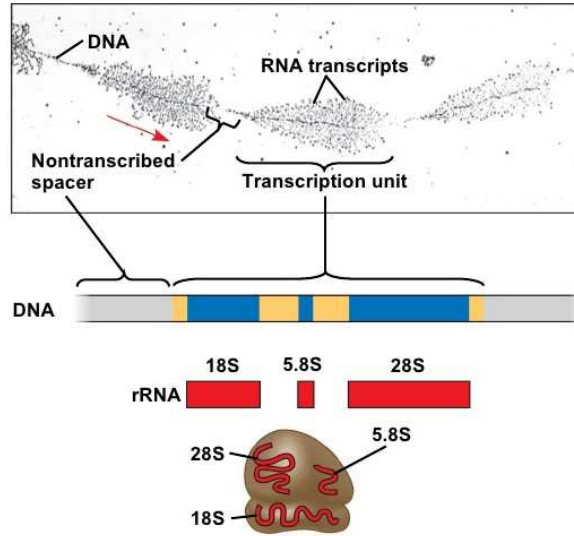
Eukaryotic 80S ribosome



THE CELL, Fourth Edition, Figure 8.4 (Part 1) © 2006 ASM Press and Sinauer Associates, Inc.

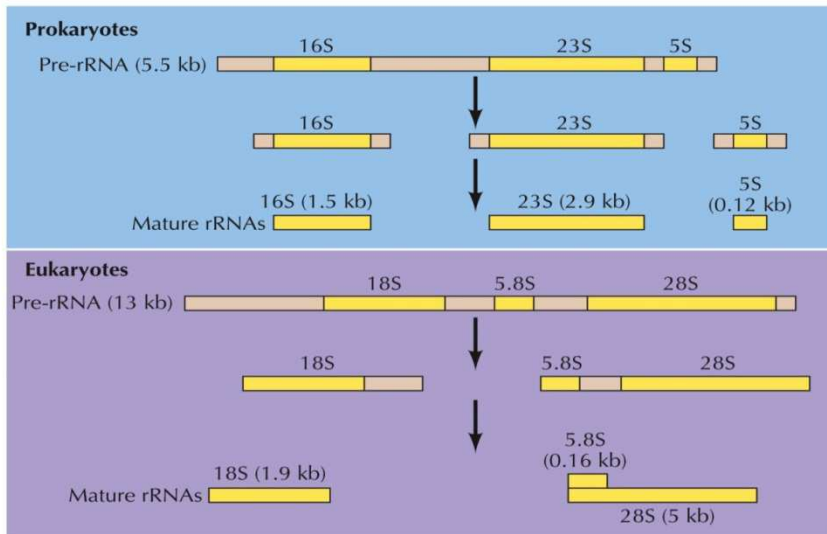
شكل رقم (١٢, ٢). رسم لـ الريبوسومات المكونة من فصين: فص كبير (حجم 60S:50) وفص صغير (30S, 40S) والأحماض النووية الريبوسومية الصغيرة والكبيرة المكونة لها في بدائية النواة وحقيقة النواة.

21-10a



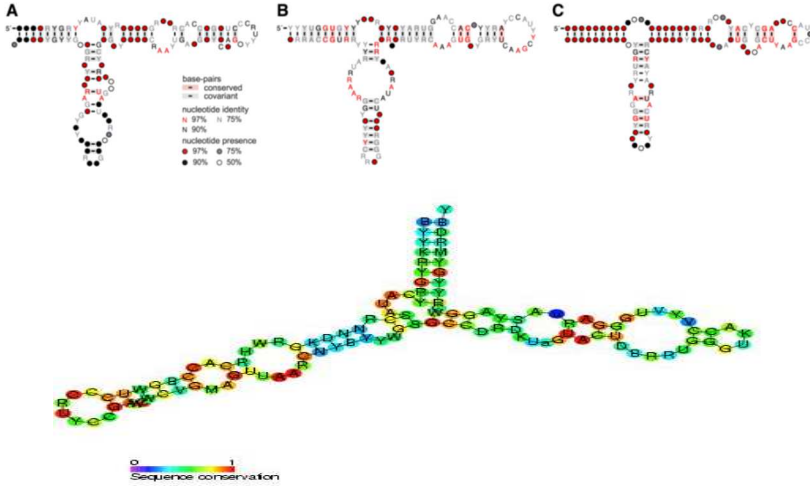
(a) Part of the ribosomal RNA gene family

Copyright © 2008 Pearson Education, Inc., publishing as Pearson Benjamin Cummings

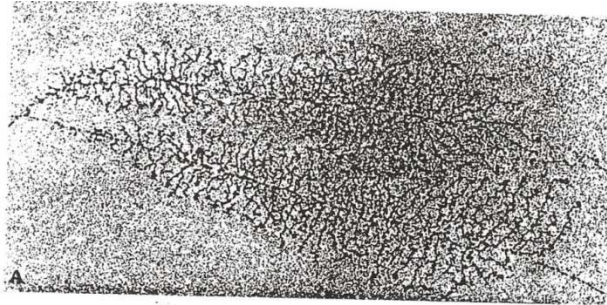


THE CELL, Fourth Edition, Figure 7.42 © 2006 ASM Press and Sinauer Associates, Inc.

شكل رقم (١٣، ٢) أ- جزء من عائلة الحينيات المكونة للريوسومات ونسخها من الحمض النووي ب-مرحل تكوين الاحماض النووية الريوسومية المختلفة في الخلايا بدائية النواة وحقيقة النواة.



شكل رقم (١٤, ٢). رسم لتركيب الاحماض النووية الريبوسومية الصغيرة .



شكل رقم (١٥, ٢). منطقة المنظم للنويات لنسخ الإحماض النووية الريبوسومية في البويضات.

تحتوي بويضة الضفدعة أثناء تكوين المح على (2×10^7) من جينات الأحماض النووية الريبوزية للريبوسومات الصغيرة (5S-rRNA) مقارنة بالخلايا الجسدية التي تحتوي على ٩٠٠ نسخة فقط؛ لذلك يصل تفخيم جينات الريبوسومات إلى ٢٠٠٠ مرة في حين أن النويات تزداد من ٢ - ١٢٠٠ مرة، لكن ليس هناك تصنيع للأحماض الريبوزية الريبوسومية (rRNA) إلا عند مرحلة تكوين المح.

ونسخ منطقة الحمض النووي المنظم للنويات (rDNA) موضحة كما في الشكل (١٤، ٢). لكن لا يكون هناك تفخيم للجينات التي تشفر لبروتينات الريبوسومات والأحماض النووية الريبوزية الريبوسومية الصغيرة (5S-rRNA)، حيث لا تقع جينات الأحماض الريبوسومية الصغيرة على الحمض المنظم (rDNA) بل على الكروموسومات. والأحماض النووية الريبوزية الريبوسومية الصغيرة (5S-rRNA) بها ١٢٠ قاعدة نيروجينية ووزنها ٤٠,٠٠٠ دالتون) شكل (١٣، ١) يتم نسخها بواسطة أنزيم بلمرة الأحماض النووية رقم ٣ (RNA polymerase III)، وعامل النسخ الخاص بهذه الأحماض الصغيرة يختفي عندما تصل البويضة مرحلة النضوج ويغيب في الخلايا الجسدية، مما يفسر لماذا لا تكون جينات ريبوسومات الأحماض الصغيرة في المبيض لا تكون نشطة في البويضات الملقحة وكذلك الخلايا الجسدية.

د) السائل النووي:

العصير أو السائل النووي يحتوي على العديد من البروتينات المختلفة (٧٠) بروتين سيتوبلازمي بالإضافة لبروتين مشكل النواة (Cryophilic)، بروتين الأكتين يشكل تجمعاً في مركز النواة، ويشكل هلام النواة اللزج له دور في الحفاظ على التركيب الفرشائي للكروموسومات، والبروتين الرئيس للحويصلة الجرثومية هو البلازما النووي ويشكل ١٠٪ من العصير النووي، والبروتين الخاص بالنواة مهم فهو يكون عامل مشكل النواة (Nucleosome assembly factor) وله دور في تحول مادة الحمض النووي إلى مادة كروماتينية.

تحتوي الحويصلة الجرثومية (نواة البويضة الناضجة) على ٨٠-٩٠٪ من مجموع أنزيم البلمرة ألفا (DNA Polymerase- α)، كذلك أنزيمات البلمرة للأحماض النووية الريبوزية الأول والثاني والثالث (RNA Polymerase I;II;III) تكون كثيرة في الحويصلة الجرثومية لبويضات الضفدعة، ويحتوي السائل النووي على كميات قليلة من الأحماض النووية الخليطة، فهو خليط معقد من نواتج النسخ الأولية وقطع من عملية تصنيع بادئات الأحماض الريبوزية وجزيئات من الأحماض المرسله منتهية وأحماض ريبوسومية وأحماض ناقلة وكمية بسيطة من الأحماض النووية الصغيرة (mRNA; rRNA; tRNA; SnRNA)

وقد أجريت العديد من التجارب على بويضة الضفدعة من جنس زينوبوس وذلك لكبر حجمها وسهولة التعامل والمتابعة والكشف عنها في المعمل ولا تحتاج إلى أجهزة مكلفة، فهي مفضلة لدراسة ترجمة الأحماض النووية المرسله (mRNA)، حيث تتم ترجمة حتى البروتينات الإفرازية أو الغدية (كالأنسولين والأميونوكلوبولين)، كذلك حقن جين معين في الحويصلة الجرثومية لبويضة الضفدعة (جين الألبومين) يؤدي إلى نسخ الجين على (mRNA) ثم ترجمته فيها حيث يتم إفرازه منها، كذلك حقن جين الريبوسومات فقد تم نسخها فيها، وتحتوي الحويصلة الجرثومية على عوامل تشكل الكروماتين (Chromatin-assembly factor CAF) والتي تعيد تشكل جزئي الحمض النووي المعالج (cDNA) أو المحقون بواسطة البلازميد (Plasmid DNA) يتم ترتيبه في النيوكلوسوم وينسخ بدون فواصل، فالعوامل الرئيسة في تشكل النيوكلوسوم هي: ١- أنزيم نظير طرفية الحمض النووي رقم ١ (DNA-topo-Isomerase I) يعمل على تفاعل الحمض النووي مع الهستونات. ٢- البلازما النووي لبروتين النواة (Nucleoplasmin) والذي يجعل النيكلوسومات لا تذوب في سائل النواة.

دور سيتوبلازم البويضة :

لقد حقن الباحث قوردين وزملائه نواة خلية مخ في البويضة بعد إزالة نواتها بمراحل مختلفة:

- ١- في بويضة كاملة النمو فإنها انتفخت وصنعت أحماض نووية (RNA).
 - ٢- وفي بويضة خلال مرحلة عملية النمو عندما حقنها بنواة خلية مخية فإن مادتها الكروماتينية تتكثف، وقد تكون كروموسومات وخيوط مغزل وتستعد للانقسام ولا تصنع أحماض نووية (RNA).
 - ٣- في حين أنه عند حقن نواة الخلية المخية في بويضة غير مخصبة يتوقف تصنيع الأحماض الريبوزية (RNA) وتبدأ تصنيع الحمض النووي (DNA).
- وهذا يدل على توجيه السيتوبلازم للنواة حتى لو كان الحقن لنواة خلية سرطانية حيث أمكن تصنيع ثلاثة بروتينات من نواة خلايا السرطانية هيلا ((Hela من البويضة.

إن سيتوبلازم البويضة يحتوي على عوامل تعيد البرمجة: أحدها يعمل على إعادة تنشيط الجينات الساكنة (والتي عادة تكون نشيطة في مرحلة البويضة)، والعامل الثاني يعمل على تثبيط الجينات النشطة في النواة البالغة، فحقن نواة بالغة في البويضة في مرحلة الحويصلة الجرثومية تجعلها تصنع أحماض نووية صغيرة (5S-RNA) والتي لا تصنع إلا في البويضات المبيضة ولا تصنع في الخلايا البالغة، مما يشير إلى أن نواة هذه البويضات ربما تحتوي على عامل (ربما بروتين) يستطيع أن يعيد تنشيط الجينات المثبطة في الخلايا البالغة.

تبدأ مرحلة نضوج البويضات مع التقدم في مراحل الانقسام الاختزالي حتى تصل مرحلة الإخصاب.

نضوج البويضة: Ova Maturation

أولاً: التغيرات الشكلية التي تحدث أثناء نضوج البويضة:

تكسر مادة الحويصلة الجرثومية (GVBD) Germinal Vesicle Break Down

تبدأ عملية التكسر في الغشاء النووي (GVBD) من جهة القطب الخصري ثم تتجه للقطب الحيواني، يتبعها تكثف الكروموسومات الفرشائية وترتبط بخيوط المغزل وتتلاشى النويات تاركة المنظمات النووية تتلاشى فيما بعد، كلاهما خيوط المغزل والمنظمات النووية تتحرك جهة القطب الحيواني ثم يتبعها عملية الانقسام الاختزالي الأول وخروج الجسم القطبي الأول.

كما يحصل تحفيزاً لعملية نضوج البويضات حيث يتم تحفيز عملية نضوج البويضات في معظم الفقاريات بواسطة الهرمونات، ففي البرمائيات المحفز هو هرمون البروجسترون الذي يتم إفرازه من الخلايا الحويصلية بالمبيض تحت تأثير الهرمونات التناسلية التي تفرز من الغدة النخامية بعد بلوغ الأنثى، لقد وجد أن بعض المواد الأخرى يمكن أن تحفز عملية نضوج البويضات مثل (كلوريد اللانثيوم والبروبانول والأنسولين) حيث تعمل على تشكيل روابط مع الكالسيوم وتزيد من الكالسيوم الحر في السيتوبلازم، فقد لوحظ تدفق أيونات الكالسيوم عند إضافة البروجسترون للبويضة، كما أن أيونات الماغنيسيوم وأيونات البوتاسيوم تستطيع أن تحفز النضوج.

ثانياً التغيرات الكيميائية:

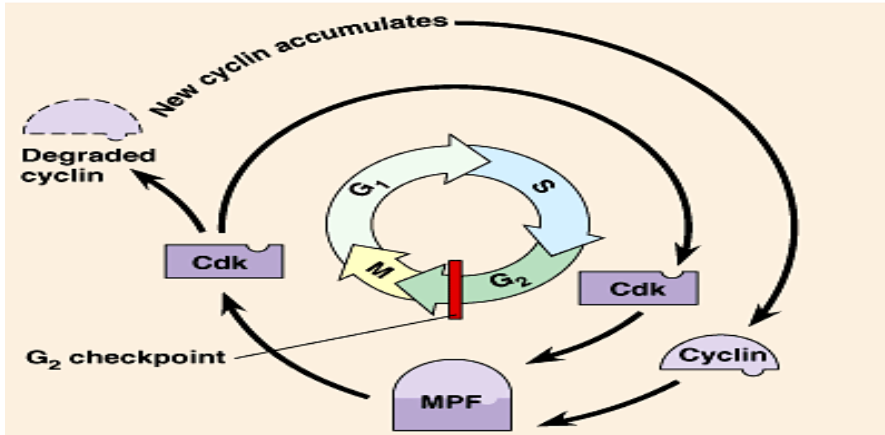
تكون هناك زيادة سريعة لمحتوى أيونات الكالسيوم الحر (Ca^{++}) في البويضة، وتنشط أنزيم الأدين الحلقى الخاص بالغشاء (Adenylate cyclase) الذي بدوره يصنع أحادي فوسفات الأدين (cAMP) من ثلاثي أدين فسفات (مخزون الطاقة) (ATP)، يهبط محتوى إحدى فوسفات الأدين (cAMP) بشكل حاد بعد ١٥-٦٠ ثانية من

إضافة البروجسترون ثم يعود لمستواه بعد ساعة، بعد تقريباً ٦-٨ ساعات من إضافة البروجسترون لبويضات الضفدعة يتوقف تصنيع الأحماض النووية الريبوسومية (rRNA) عندما تظمحل النوويات، كذلك الحمض النووي للمنظمات النووية (rDNA) لا ينسخ ولا يتضاعف. المعاملة بالبروجسترون تحفز الزيادة في استهلاك الأكسجين وتصنيع البروتين في بويضات الضفدعة زينوبس، وهذه الزيادة في تصنيع البروتين هي زيادة عددية وليس نوعية (من ٦٠٠ بروتين ٥ فقط تزداد خلال مرحلة النضوج، فهناك تصنيع لبروتينات مختارة من المستونات الثاني أ، ب والرابع (H2A;H2B;and H4)، حيث تزداد المستونات من ٢٠-٥٠ مرة بينما المستون رقم ١ يبقى دون تغير؛ لذا فإن تحضير البروتين وإنتاج الطاقة مطلوبة للمرحل المبكرة للنضوج، إلا أن تكسر الحويصلة الجرثومية لا يتطلبها فيما بعد، ليس هناك تحضير للحمض النووي (DNA) عدا الموجود بالميتوكوندريا، وتزداد المحصلة الكلية لنشاط أنزيم بلمرة الحمض النووي الفا (DNA Polymerase- α)، حيث تزداد أربع مرات خلال مرحلة النضوج، وهذا البناء والزيادة في تصنيع المستونات تحتاجها البويضة أثناء التفلق، وتتم إضافة الفسفور للبروتينات الذائبة والمرتبطة بالغشاء قبيل مرحلة النضوج التي قد تساعد في تفكيك الغشاء النووي، والتغيرات في محتوى (cAMP) وإضافة الفسفور للبروتين بعد التحفيز بالبروجسترون تؤدي إلى بداية تحرر أيونات الكالسيوم وانخفاض (cAMP) يؤدي إلى إزالة الفسفور عن البروتينات التي توجد في البويضات كاملة النمو. تحدث زيادة في نشاط أنزيم البروتين كاينيز المعتمد على أيونات الكالسيوم الحرة هذه الزيادة قد تؤدي إلى تكشف الكروموسومات عن طريق المستون رقم ١ (H1).

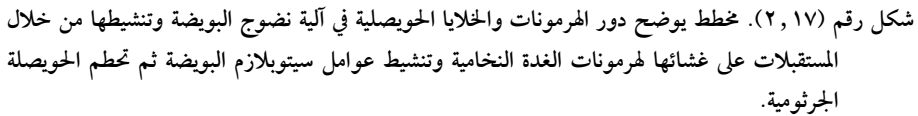
كذلك ينشط البروجسترون عامل منشئ مرحلة النضوج (Maturation Promoting factor (MPF) في سيتوبلازم البويضة، عامل منشئ مرحلة النضوج (Maturation Promoting factor (MPF) يتكون من جزيئين البروتين الحلقي (ب) والفسفوري ٣٤ (Cyclin B & P34 protein) ونشاط الفسفوري يعتمد على وجود البروتين الحلقي. (شكل ١٦، ١)

فحقن عامل منشئ مرحلة النضوج (MPF) في أي أنواع البويضات يحفز تكسر الحويصلة الجرثومية فيها واستئناف الانقسام الاختزالي، وهذا العامل يختفي في نهاية مرحلة النضوج ثم يعود مع بداية التفليج. ويحفز البروجسترون عامل منشئ مرحلة النضوج (MPF) عن طريق تنشيط ترجمة الحمض المرسل (c-mos-mRNA) (c-mos proto oncogene) والمخزن داخل السيتوبلازم؛ لكي ينتج بروتين فسفوري (MOS protein) الذي يعد مهمًا لإكمال النضوج. البروتين الفوسفوري (MOS) عبارة عن بروتين كينيز ينشط بروتين الكاينيز الطافر (MAPK) (mitogen-activating protein kinase)؛ لذلك يسمى (MAPKK) والذي بدوره ينشط عامل منشئ النضوج (MPF) شكل (١٧، ١).

الأمر الذي يؤدي إلى إضافة الفوسفور لبروتين الكروموسومات لتستأنف الانقسام الأول، وإضافة الفوسفور للغشاء النووي ليتحلل، كما يعمل عامل النضوج على تغيرات في غشاء البويضة استعدادًا لعملية التبويض وخروج البويضة من المبيض.



شكل رقم (١٦، ٢). رسم لدورة الخلية (Cell cycle) يوضح المرحلة البنائية ومكوناتها: المرحلة الفاصلة الأولى والثانية (G₁, 2) ومرحلة تصنيع الحمض النووي (S) ثم مرحلة الانقسام الخلوي (M) ودور عامل منشئ مرحلة النضوج أو التكاثر الخلوي (MPF) المعتمد على السيكلين (cdk) للتحكم في دورة الخلية.



١- يظهر عامل الركود الخلوي (CSF) في نهاية مرحلة النضوج، فإذا حقن عامل الركود الخلوي في مرحلة التفليج يتوقف الانقسام وتبقى الفلجات في الطور الإستمائي.

٢- يعمل عامل الركود الخلوي على إزالة البلمرة أو التشكل للإنبيبات خيوط المغزل (الطور الانفصالي)، دور عامل الركود الخلوي يكون عند الطور الإستوائي الثاني للبويضة غير المخصبة، كذلك فإن خلط العصير النووي بالسيتوبلازم ضروري لعملية النضوج السيتوبلازمي.

الأغشية التي تحيط بالبويضة الناضجة: (شكل ١٨, ٢).

هناك نوعان من الأغشية التي تحيط بالبويضة:

أولاً - الأغشية الابتدائية (Primary membranes):

وهي التي تتكون حول البويضة في المبيض: وتشمل

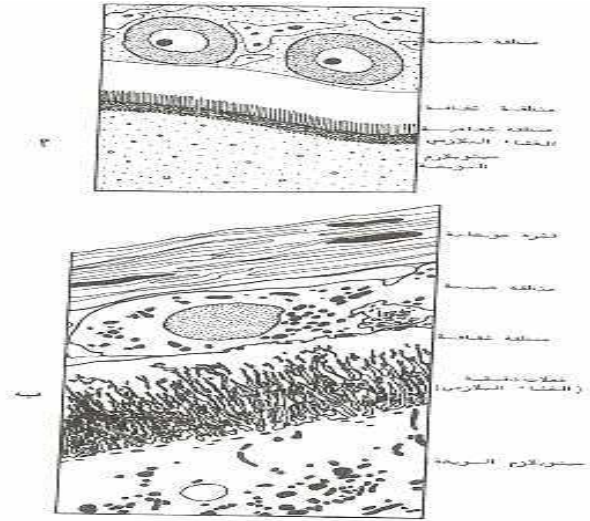
أ) الغشاء البلازمي وله خملات تمتد إلى خارج البويضة.

ب) الغشاء الشفاف (Zona pellucida) في الثدييات، أو غشاء الكوريون (Chorion) كما

في الأسماك أو الغشاء المحي (Vitteline membrane) كما في البرمائيات والطيور.

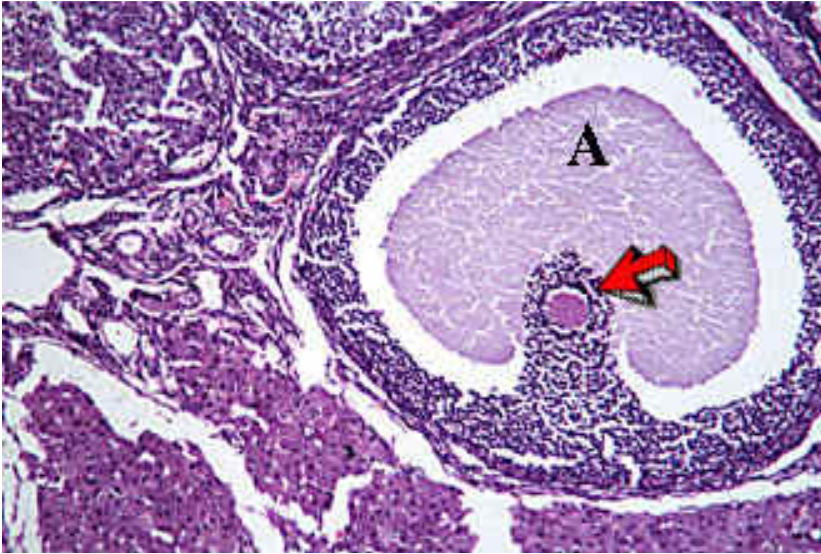
ج) الطبقة المحبة (Zona Granuloza) وهي عبارة عن الصف الأول من الخلايا الذي

يحيط بالبويضة مباشرة في المبيض لحميتها.



شكل رقم (١٨, ٢). أ) رسم يوضح الأغشية التي تحيط بالبويضة بالمجهر الضوئي والالكتروني.

د (الطبقة الشعاعية (Zona Ridiata) وهي امتدادات الخملات الدقيقة للغشاء البلازمي للبيضة مع خملات الخلايا الحويصلية التي تحيط بالبيضة.
هـ) الغلاف الخارجي للبيضة (Theca Folliculi): ويتكون من الياف مرنة من النسيج الضام للمبيض تتخلله بعض الخلايا الليفية ويتكون من جزئين خارجي وداخلي (Theca externa ; interna).



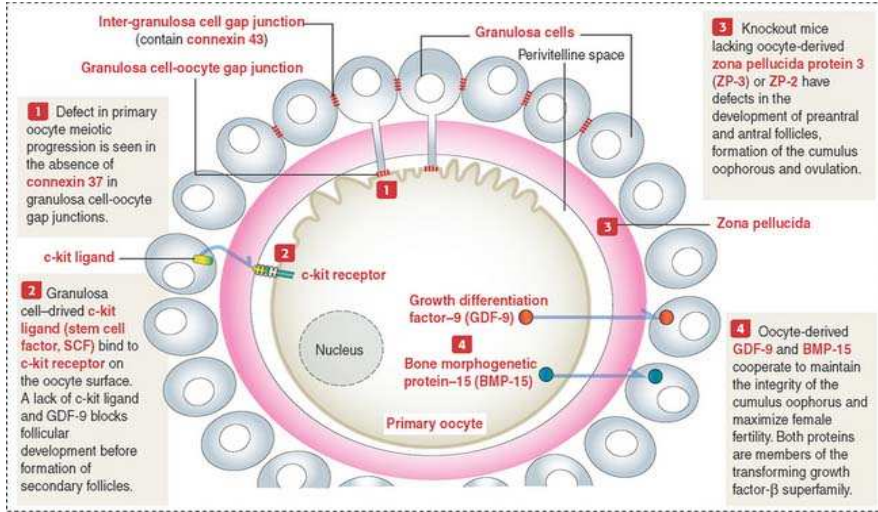
ب) صورة لقطاع في حويصلة جراف في الثدييات تحتوي على البويضة الابتدائية محاطة بالخلايا الحويصلية مشار إليها بالسهم

دور الخلايا الحويصلية

الخلايا الحويصلية تحيط بالبيضة في المبيض وتكون على شكل طبقة واحدة في معظم الفقاريات وعدة طبقات في الثدييات وتعمل على :
١- حماية البويضة من الجهاز المناعي للجسم ومن المواد السامة، ودعامتها داخل المبيض.

- ٢- تغذية البويضة وترسيب المح في البويضة.
- ٤- نقل بعض المواد والجزيئات إلى البويضة لتخزينها في سيتوبلازم البويضة.
- ٣- إنتاج الهرمونات الجنسية لتنشيط البويضة ونضوجها كالأستروجين.
- ٤- تكوين المستقبلات للهرمونات التناسلية من الفص الأمامي للغدة النخامية. (مثل (FSH).
- ٥- تساهم في تصنيع الغشاء الشفاف للبويضة وتكوين مستقبلات الحيوانات المنوية على الغشاء الشفاف.
- يمكن تلخيص علاقة الخلايا الحويصلية أثناء نموها حول البويضة بالمبيض: كما هو موضح بالشكل (١٩، ٢) كالآتي:
- ١- أن الخلل في عدم تقدم البويضة في الانقسام الاختزالي هو غياب العامل (Connexin 37) في منطقة الاتصال الخلوي بين الخلايا الحويصلية وغشاء البويضة (Gap junction between Granulosa cell and Oocytes).
- ٢- يرتبط عامل الخلايا الجذعية (stem cell factor SCF) أصلة من الخلايا الحويصلية، مع المستقبل الخاص به (c-kit ligend receptor) (2) والموجود على سطح البويضة، عند فقد هذا المستقبل (c-kit ligend R) فإن عامل نمو التمايز الخلوي رقم ٩ (GDF-9) (Growth differentiation factor- 9) يوقف نمو الحويصله قبل تكوين الحويصلة الثانوية (Secondary follicles).
- ٣- في الفئران الفاقدة أو المزال منها الجين المكون لبروتين الغشاء الشفاف رقم ٣ أو ٢ (ZP2, or 3) فإنه يحصل خلل في تقدم أو نمو حويصة جراف (عدم تكون الفراغ الحويصلي) وكذلك عدم تكون الخلايا الركامية وعدم حدوث التبويض.
- ٤- أن وجود عامل نمو التمايز الخلوي رقم ٩ والبروتين المشكل للعظام رقم ١٥ (BMF-15) (GDF-9 and Bone morphogenetic protein-15) والذي أصلهم من البويضة كلاهما يعملان على ارتباط الخلايا الركامية ويزيدان من خصوبة الأنثى،

كلا العاملين عبارة عن بروتين من مجموعة عوامل التحول الخلوي-بيتا (Transforming growth factor -B-superfamily).



شكل (١٩، ٢) يوضح علاقة الخلايا الحويصلية وأهميتها أثناء نمو البويضة ونضوجها.

١- إن الخلل في عدم تقدم البويضة في الانقسام الاختزالي هو غياب العامل (Connexin 37) في منطقة الاتصال الخلوي

بين الخلايا الحويصلية وغشاء البويضة (Gap junction between Granulosa cell and Oocytes)

٢- يرتبط عامل الخلايا الجذعية (stem cell factor SCF) أصلة من الخلايا الحويصلية، مع المستقبل الخاص به (c-kit ligand receptor) (2) والموجود على سطح البويضة، عند فقد هذا المستقبل (c-kit ligand R) فإن عامل نمو التمايز الخلوي رقم ٩ (GDF-9) Growth differentiation factor-9 يوقف نمو الحويصله قبل تكوين الحويصله الثانوية (Secondary follicles).

٣- في الفئران الفاقدة أو المزال منها الجين المكون لبروتين الغشاء الشفاف رقم ٣ أو ٢ (ZP2, or 3) فإنه يحصل خلل في تقدم أو نمو حويصة جراف (عدم تكون الفراغ الحويصلي) وكذلك عدم تكون الخلايا الركامية وعدم حدوث التبويض.

٤- أن وجود عامل نمو التمايز الخلوي رقم ٩ والبروتين المشكل للعظام رقم ١٥ (GDF-9 and Bone morphogenetic protein-15) (BMF-15) والذي أصلهم من البويضة كلاهما يعملان على ارتباط الخلايا الركامية ويزيدان من خصوبة الأنثى، كلا العاملين عبارة عن بروتين من مجموعة عوامل التحول الخلوي- بيتا (Transforming growth factor -B- superfamily)

تركيب البويضة والبيضة : Ovum and Egg Structure

- البويضة هي الخلية البيضية (Ova or oocytes) التي تكونت في المبيض وهي جزء من البيضة (Egg) التي تتحول إلى بيضة في قناة البيض نتيجة لإضافة الأغشية حول البويضة، فبيضة الدجاجة مثلاً تحتوي على الخلية البيضية (صفار البيضة) وبقية أجزاء البيضة من الزلال والقشرة الكلسية وغيرها بما فيها البويضة تسمى بالبيضة.
- تحتوي البويضة كأي خلية أخرى على الغشاء الخلوي كثير الخملات والسيتوبلازم والنواة وهي تعد من الخلايا الكبيرة في الأنثى، فحجم البويضة في المبيض (في الثدييات ٢٠٠ ميكرون) مقارنة بالحيوان المنوي (~٥ ميكرون).
- أن سيتوبلازم البويضة يعد فريد من نوعه لما يحتويه من مواد مثل المح والحيبيات الصبغية والحيبيات القشرية والجليكوجين وأعداد كبيرة من الأجسام السبحية أو الميتوكوندريا والريبوسومات والأحماض النووية الريبوزية بالإضافة إلى التراكيب الأساسية الأخرى لكل خلية كجهاز جولجي والشبكة الأندوبلازمية وغيرها.

ثانيًا : التكوين الجزيئي للحيوانات المنوية The Molecular of Spermatogenesis

ملخص تكوين الحيوانات المنوية يبدأ بنشأة أمهات المنى في الخصية داخل الانبيبات المنوية في المرحلة الجنينية من الخلايا التناسلية الأولية (Primordial germ cell) التي هاجرت إلى المنسل غير المتميز لكي تتحول إلى خلايا أمهات المنى (PGCs) التي هاجرت إلى المنسل غير المتميز لكي تتحول إلى خلايا أمهات المنى (Spermatogonia). تتضاعف أمهات المنى بالانقسام غير المباشر أو الميتوتي (Mitotic cell division) ثم تدخل في مرحلة كمون خلال المرحلة الجنينية، ثم عند بلوغ الكائن الحي تستمر في التكاثر عن طريق الانقسام غير المباشر، ثم تكبر بعض أمهات المنى وتزداد في الحجم لتعطي خلايا منوية ابتدائية (Primary Spermatocytes) والتي تدخل الانقسام الاختزالي الأول (Meiosis I, MI)، حيث يقترن فيها كل كروموسومين متشابهين

ليكونا الأجسام الرباعية Tetrads من الكروماتيدات. حيث يحصل خلالها العبور بين الكروموسومين وتبادل أجزاء بين الكروماتيدات غير الأخوية. تنقسم الخلايا المنوية الابتدائية إلى خلايا منوية ثانوية Secondary Spermatocytes حيث تحتوي كل خلية منوية ثانوية على نصف عدد الكروموسومات ($2n$)، تكمل الخلايا المنوية الثانوية الانقسام الاختزالي الثاني (MII) فتنفصل كل كروماتيده عن أختها لكل كروموسوم حيث تنتج الطلائع المنوية (Spermatids) أي تحتوي كل طليعة منوية على نصف عدد الكروماتيدات، وتدخل الطلائع المنوية مرحلة التحور النطفي (Spermiogenesis) فتتحول من الشكل الخلوي العادي إلى شكل الحيوانات منوية ذو الراس والعنق والذيل بدون انقسام خلوي (Spermiogenesis)، والأشكال (١، ٢٠)، (١، ٢٠) تلخص مراحل تكوين الحيوانات المنوية.

التكوين الجزيئي للحيوانات المنوية:

لماذا لا تدخل أمهات المني الانقسام الاختزالي في المرحلة الجنينية كما حصل للأمهات البيض في المبيض؟ إن وجود الخلايا المنوية داخل الأنبيبات المنوية (أو الحبال الجنسية) تمنعها من دخول الانقسام الاختزالي لوجود مادة مثبطة للانقسام الاختزالي (Meiosis inhibiting substance, MIS) في الأنبيبات المنوية في المرحلة الجنينية للذكر، وعند البلوغ وتكون المستقبلات على خلايا سيرتولي داخل الأنبيبات المنوية فإنها تدخل الانقسامات تحت تأثير الهرمون المحفز لتكوين الأمشاج (انظر لاحقاً دور الهرمونات في تكوين الأمشاج)، في حين أن أمهات البيض عندما استقرت في قشرة المنسل حيث لا توجد مادة تمنعها من الدخول في الانقسام الاختزالي في المرحلة الجنينية فلذلك تدخل كل أمهات البيض الانقسام الاختزالي وهي في المرحلة الجنينية. (الحميدي و أبو طربوش ١٩٩٥م).

لماذا تدخل الخلايا المنوية الابتدائية الانقسام الاختزالي! لوجود معقدات الإرتفاق

الكروموسومي (Synaptonemal complex) في مناطق العبور للانقسام الاختزالي، تتكون المعقدات من بروتينات +أحماض نووية لا تحتوي على DNA وتلعب دورًا للحفاظ على التزاوجات الكروموسومية، فهي مهمة لعملية تبادل المادة الوراثية بين الكروموسومات، وهناك تحضير خاص للحمض النووي (DNA) بعد التضاعف الأخير للكروموسومات له أهمية من حيث العدد ومرتبطة بالبروتينات والدهون، فإن تصنيع أنزيم المصحح الحمض النووي (DNA-Repair Enzymes) يصل ذروته عند وقت تبادل الجينات (في الطور الضام)، بعد عملية الانقسام الاختزالي وتكوين الطلائع المنوية (Spermatids) تدخل مرحلة النضوج أو التحور النطفي (Spermiogenesis) لتعطي الحيوانات المنوية حيث تختزل معظم مادة سيتوبلازم في الحيوان المنوي وكذلك الأحماض النووية والنواة تتكثف.

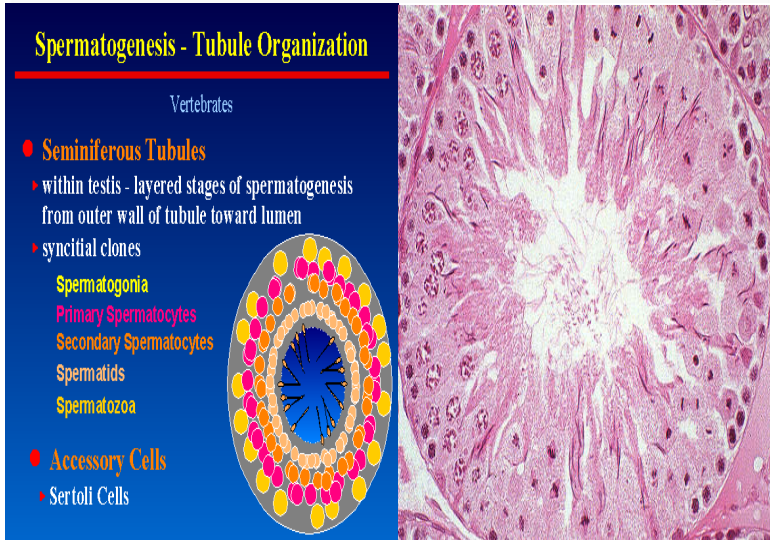
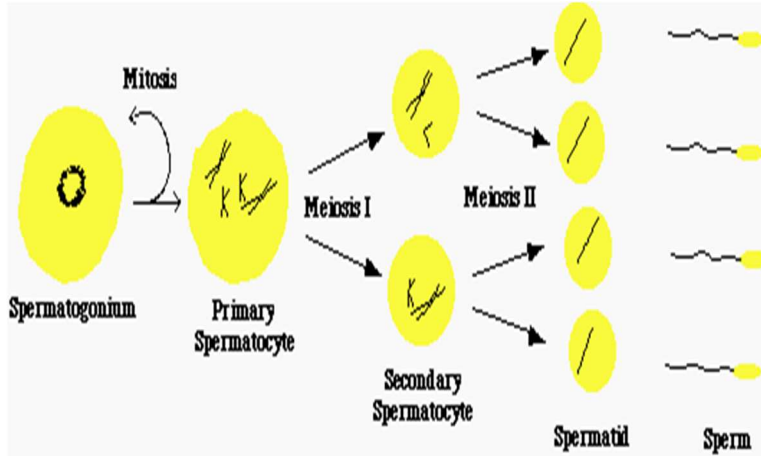
تركيب الحيوان المنوي: شكل (٢١، ٢):

١- رأس الحيوان المنوي يحتوي على: الجسم الثاقب أو قمة المنية والنواة، والجسم الثاقب أو قمة المنية (Acrosome) للحيوان المنوي تحتوي على أنزيمات (الفوسفاتيز / الأكروسين / الهيالورونديز)، والنواة الحمض النووي للنواة أحادي المجموعة الكروموسومية (١n) مرتبط بشكل قوي مع بروتينات قاعدية، والهستونات الاعتيادية يتم استبدالها بهستونات غنية بالأرجنين، والحمض النووي قد كبح بشكل تام وغير نشط وليس فيه نويات.

٢- القطعة المتوسطة للحيوان المنوي: جيدة التكوين تحتوي على الميتوكوندريا والحبيبتان المركزيان للجسم المركزي القريبة والبعيدة تشكل الجسم القاعدي لمحور الذيل.

٣- الذيل: يركب من ٩+٢ ألياف من الأنبيبات الدقيقة (التيوبلين) لحركة الذيل بينها أذرع الديانين (Dynein arms) لها دور في إنتاج الطاقة لحركة ذيل الحيوان المنوي، وفي حال الخلخل نتيجة لطفرة جينية وعدم تكون هذه الأذرع يفقد الحيوان المنوي الحركة.

٤- فالحيوان المنوي خلية متخصصة فقدت معظم ريبوسوماتها وليس لها القدرة على تصنيع البروتين ومهمته كالفيرس لحقن الحمض النووي أو نواته داخل سيتوبلازم البويضة.



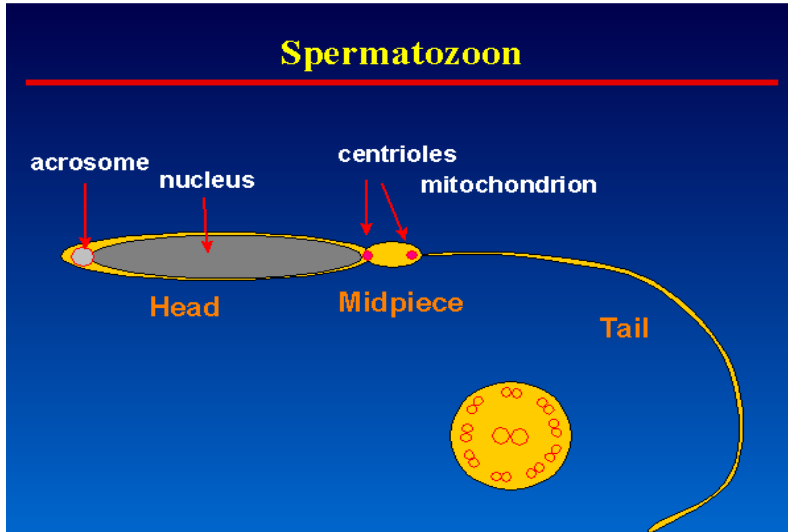
شكل رقم (٢٠, ٢) أ) رسم يبين المراحل التي تمر بها تكوين الحيوانات المنوية. (من الشبكة العنكبوتية الانترنت).
ب) قطاع ورسم يوضح المراحل التي تمر بها تكوين الحيوانات المنوية داخل الأنبيبه المنوية
(من الشبكة العنكبوتية الانترنت)

مرحلة التمايز النطفي: Differentiation Phase:

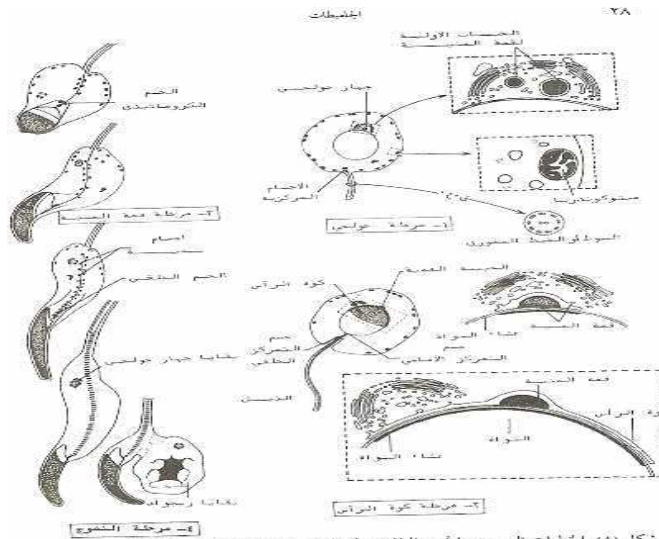
- هي تحول الطلائع المنوية (Spermatids) من الشكل الخلوي العادي الكروي إلى الشكل المعروف للحيوانات المنوية ذات رأس وعنق وذيل، وذلك بدون انقسام خلوي للطلائع المنوية وتتم على مراحل شكل (٢٢, ٢):
- ١- مرحلة جهاز جولي وتكوين حبيبات قمة المنية في الحويصلات والحبيبة الأخرى للجسم المركزي تكون بالاتجاه الآخر تكون بداية الذيل.
 - ٢- مرحلة الكوة: وانسدال الحويصلات على النواة لتكون كوة الرأس.
 - ٣- مرحلة تكوين قمة المنية أو الجسم القمي (Acrosomes) وتحور النواة لتأخذ الشكل النهائي لرأس الحيوان المنوي وانحصار السيتوبلازم.
 - ٤- مرحلة النضوج واستطالت الحيوان المنوي وتكوين العنق، وفيه المتيوكنديا ويمتد الذيل.

خلايا سيرتولي :

- خلايا جسدية تحمي وتغذي الخلايا الجنسية (أمهات المنى) في الأنبيبات المنوية طرفها على الغشاء القاعدي للأنبيبية المنوية وطرفها الآخر يمتد إلى التجويف الداخلي حيث توجد بها كهوف ليوبركن، تتواجد فيها رؤوس الحيوانات المنوية، تخلص خلايا سيرتولي رأس الحيوان المنوي من بقايا السيتوبلازم قبل انطلاق الحيوان المنوي في تجويف الأنبيبية المنوية.
- تفرز خلايا سيرتولي هرمون المثبط (Inibin hormone) إذا زاد تكوين الحيوانات المنوية في الأنبيبية المنوية حيث يزداد في الدم مما يؤثر على سرير المهاد والغدة النخامية لكي توقف إفراز هرموناتها المنبه للخصية.



شكل رقم (٢١, ٢). رسم يوضح تركيب الحيوان المنوي من ثلاث مناطق رئيسة رأس ومنطقة متوسطة وذيل طويل.
(من الشبكة العنكبوتية الانترنت).



شكل رقم (٢٢, ٢). مرحلة التحول النطفي للطلائع المنوية من الشكل الخلوي الكوري الى شكل الحيوان المنوي بعد انتهاء الانقسام الاختزالي لها. (من المرجع ماهر إبراهيم ١٩٧٨م)

علاقة الهرمونات بتكوين الأمشاج :

أولاً: علاقة الهرمونات بتكوين الحيوانات المنوية :

عند البلوغ وتحت تأثير الهرمون المطلق للهرمونات التناسلية (Gonadotropin releasing hormone GnRH) الذي يفرز من سرير المهاد الهيبوثلامس بالمخ (Hypothalamus) والذي يعمل على تنبيه الفص الأمامي للغدة النخامية لكي تفرز هرموناتها التناسلية (Gonadotropin hormone) وهي :

١- الهرمون المحفز لنمو الحويصلات (Follicle Stimulating Hormone (FSH):

الذي ينبه الخصية (الأنبيبات المنوية) فيعمل على تنشيط تكوين الحيوانات المنوية (Spermatogenesis) فيها، عن طريق المستقبلات التي توجد على سطح خلايا سيتولى. وكذلك تقوم خلايا سيرتولي بإفراز هرمون المثبط (Inhibin) إذا زاد تكوين الحيوانات المنوية في الأنبيبات المنوية يثبط إفراز (FSH) من الغدة النخامية والهرمون المنبه لها (GnRH).

٢- الهرمون المنشط للخلايا البينية (خلايا ليدج)

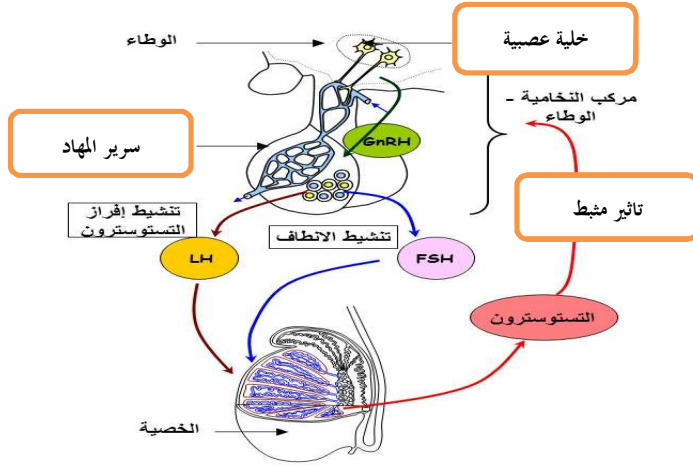
(Interstitial cell-stimulating hormone ICSH) or LH)

الذي يعمل على تنبيهها لكي تفرز هرمون الذكورة (Androgen) هرمون التسترون (Testosterone hormone) وهو المسئول عن الصفات التناسلية الذكرية من خشونة الصوت ونمو العضلات وغيرها، كما أنه يعمل على تحول الطلائع المنوية إلى الشكل النهائي للحيوان المنوي (Spermiogenesis).

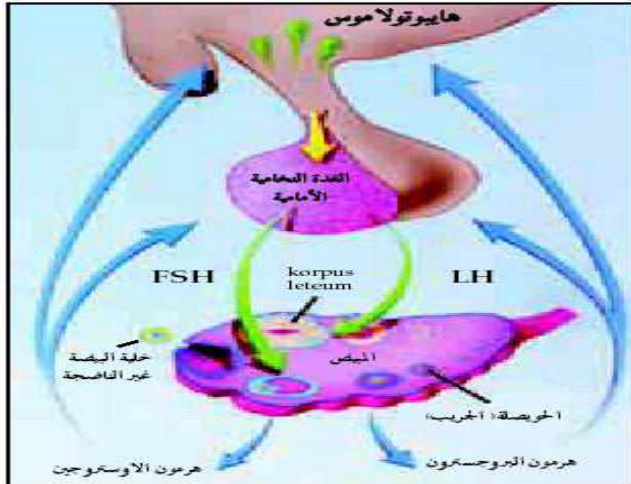
تنظيم إفراز الهرمونات في الذكر:

إذا زاد هرمون التسترون (T) والمثبط (Inhibin) في الدم أو زاد تكوين الحيوانات المنوية في الخصية فإن ذلك يعمل على تثبيط إفراز الهرمون من سرير المهاد بالمخ (GnRH) وكذلك إيقاف إفراز الهرمونيين من الفص الأمامي للغدة النخامية

(الهرمون المنبه لتكوين الحيوانات المنوية والهرمون المحفز للخلايا البينية (FSH&LH) فينخفض التسترون بالدم ويقل تكوين الحيوانات المنوية في الخصية فتعاد الدورة مرة أخرى. شكل (٢٣, ٢٤).



شكل (٢٣, ٢٤). رسم يوضح العلاقة بين الهرمونات التناسلية من سريير المهاد والغدة النخامية والهرمونات الجنسية من الخصية بتكوين الحيوانات المنوية داخل الانبيبات المنوية (من الشبكة العنكبوتية الانترنت)



شكل (٢٣, ٢٤). رسم يوضح العلاقة بين الهرمونات التناسلية من المخ والهرمونات الجنسية من المبيض بتكوين البويضات. (من الشبكة العنكبوتية الانترنت)

ثانيًا: علاقة الهرمونات بتكوين البويضات :

عند البلوغ وتحت تأثير الهرمون المطلق للهرمونات التناسلية (Gonadotropin releasing hormone (GnRH) الذي يفرز من سرير المهاد بالمخ (Hypothalamus) حيث يعمل على تنبيه الفص الأمامي للغدة النخامية لكي تفرز هرموناتها التناسلية (Gonadotropin hormone) وهي :

١ - الهرمون المحفز لنمو الحويصلات (Follicle Stimulating Hormone FSH) :
الذي ينبه المبيض فيعمل نمو الخلايا الحويصلية بالمبيض لكي تفرز هرمون الأستروجين الأنثوي (Estrogen)، هرمون الأستروجين وهو المسئول عن الصفات التناسلية الأنثوية من نمو الثديين ونمو بطانة الرحم وإفرازات قناة البيض وتنظيم الدورة التناسلية وغيرها.

٢ - الهرمون المكون للجسم الأصفر (Lutinizing Hormone LH) :
يفرز من الفص الأمامي للغدة النخامية الذي يعمل على خروج البويضة من بين الخلايا الحويصلية وتكوين الجسم الأصفر في المبيض، حيث يقوم الجسم الأصفر بإفراز هرمون البروجسترون (Progesterone) الذي يعمل على تعلق الجنين بالرحم وبقاء بطانة الرحم نامية وتنظيم الدورة التناسلية وغيرها.

تنظيم إفراز الهرمونات في الانثى :

إذا زاد هرمون الأستروجين والبروجسترون في الدم فإنهما يعملان على تثبيط إفراز هرمون سرير المهاد بالمخ (GnRH) وكذلك إيقاف إفراز هرمونات الغدة النخامية (FSH & LH) فيقل مستواهما بالدم فتعاد الدورة. شكل (٢٣, ٢ ب).

الفصل الثالث

التكوين الجزيئي لعملية الإخصاب

The Molecular Biology of Fertilization

يقول الحق تبارك وتعالى في سورة آل عمران آية ٢٦: ﴿تُولَجُ اللَّيْلِ فِي النَّهَارِ وَتُولَجُ النَّهَارُ فِي اللَّيْلِ وَتُخْرِجُ الْحَيَّ مِنَ الْمَيِّتِ وَتُخْرِجُ الْمَيِّتَ مِنَ الْحَيِّ وَتَرْزُقُ مَنْ تَشَاءُ بِغَيْرِ حِسَابٍ﴾ ﴿٢٦﴾ فكما هو معلوم أن مصير أغلب الحيوانات المنوية الموت وكذلك البويضات التي لم تخصب مصيرها الموت عدا الحيوان المنوي الذي يقدر الله له أن يخصب البويضة يكتب لها الحياة فقد يكون تفسير تخرج الحي من الميت هنا، وعند تكون هذا الكائن الحي وعند البلوغ تخرج منه الأمشاج سواء الذكورية أو الأنثوية والتي كما أسلفنا أغلبها مصيرها الموت فهنا قد يكون إخراج الميت من الحي والله اعلم.

خلال هذا الفصل عن التكوين الجزيئي لعملية الإخصاب سوف نتناول في البداية علمية الإخصاب بين الحيوان المنوي والبويضة بشكل عام، ثم نعرض على عملية التلقيح والإخصاب وأنواع الإخصاب ومادة الإخصابين، ثم أحداث عملية الإخصاب وتكوين نجمية خيوط المغزل. ثم نتحدث عن التغيرات الشكلية والكيميائية أثناء الإخصاب من استهلاك الأكسجين وأيض المواد الكربوهيدراتية أو السكرية، البروتينية، والدهنية وتحضير الأحماض النووية DNA / RNA. ثم تنشيط التوالد البكري، ثم خاتمة عن التكوين الجزيئي للأجنة ونظريات الإخصاب.

نظرة عامة عن عملية الإخصاب Fertilization :

تعريف الإخصاب: يعرف الإخصاب بأنه قدرة رأس الحيوان المنوي على اختراق أغشية البويضة وتمرير نواة الحيوان المنوي (العدد النصفى للكروموسومات)، ثم اندماجها مع نواة البويضة (العدد النصفى للكروموسومات)، وينتج من اتحاد النواتين نواة واحدة (فيها العدد الزوجي للكروموسومات)، واندماج الأمشاج (الحيوان المنوي مع البويضة) يؤدي إلى تكوين أول خلية في الجنين، وهو جزء من عملية التلقيح أو التزاوج (Matting) بين الذكر والانثى.

التلقيح (Copulation): أما التلقيح فهو عبارة عن الجماع بين الذكر والانثى فقد يكون هناك تلقيح ولكن قد لا ينتج عن هذا التلقيح إخصاب وعدم تكون الجنين. أثناء عملية الإخصاب تبدأ سلسلة تفاعلات لإحداث عملية الإخصاب وتكوين اللاقحة أو الزيجوت أول خلية في الجنين.

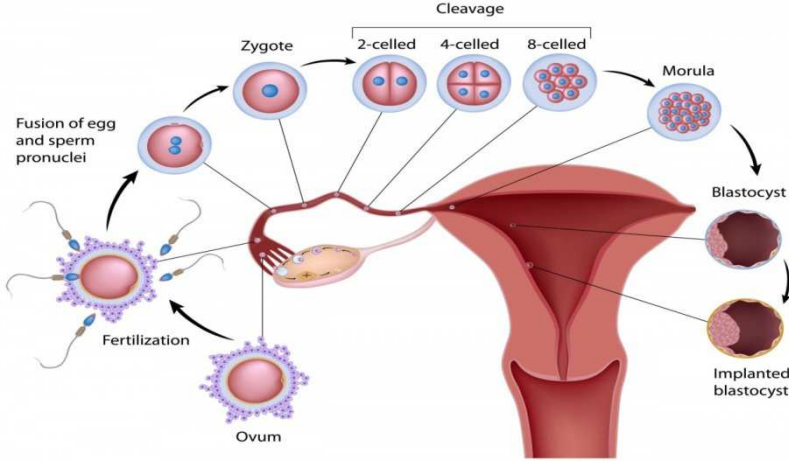
مكان حدوث الإخصاب: إما داخلياً أو خارجياً: فالإخصاب الداخلي: يحدث التقاء الحيوان المنوي بالبويضة داخل جسم الأنثى في الثلث الأعلى من قناة البيض ويحصل الإخصاب الداخلي في الطيور والزواحف والثدييات شكل (٣-١ أ).

أما الإخصاب الخارجي والذي عادة يحدث خارج جسم الكائن الحي فإنه يحدث غالباً في وسط مائي وهو خاص بالأحياء التي تعيش في الماء كالبرمائيات والأسماك العظمية (ماعدا قرش البحر من الأسماك الغضروفية) شكل (٣-١ ب).

التبويض وخروج البويضة من المبيض :

تحصل عملية التبويض وخروج البويضة من المبيض في معظم الفقاريات عند مرحلة البلوغ وتخرج وهي كبويضة ثانوية (Secondary oocytes) في معظم الإناث، وذلك بتأثير من الهرمونات التناسلية من الغدة النخامية وغيرها من تحت سرير المهاد (Hypothalamus). وتكون البويضة في المرحلة الاستوائية (Metaphase) من الانقسام

الاختزالي الثاني (Meiosis II, MII) وقد تم خروج الجسم القطبي الأول (First polar body 1st PB) منها أي تحتوي على نصف عدد الكروموسومات، وتكون البويضة محاطة بخلايا حويصلية أو ركامية Cumulus cells.



شكل رقم (١-٣ أ، ب). أ- رسمة توضح الإخصاب الداخلي في الإنسان كمثال حيث يخصب الحيوان المنوي بالبويضة في الثلث الأول القريب من المبيض ثم مراحل التفليج للجنين داخل بقية أجراء قناة البيض. (من الموقع الإلكتروني).



(ب) صورة للإخصاب الخارجي في البرمائيات حيث تضع الأنثى البيض وينزل عليه الذكر السائل المنوي خارجيًا في الماء عن: Campbell (2012)

أحداث عملية الإخصاب وكيف يتعرف الحيوان المنوي على البويضة:

هناك نظرية سابقة تعرف بنظرية مادة الإخصابين أوردها الباحث الفرنسي فرانك ليلي (F.Lilli) حيث يقول بوجود مادة في بويضات قنفذ البحر تعمل على جذب وربط الحيوانات المنوية نحو البويضة سمها مادة (الإخصابين Fertilizin) وأن الحيوان المنوي يفرز مادة تعمل على تقريب البويضة نحوه سمها (مضاد الإخصابين Anti-fertilizin)، فمادة الإخصابين: هي التي تؤيدها الدراسات الحالية بأنها عبارة عن المستقبلات على سطح البويضة فهي مادة بروتينية بها سكريات عديدة وأيونات كبريتات، وهذا ما سيتم التفصيل عنه لاحقاً في هذا الفصل.

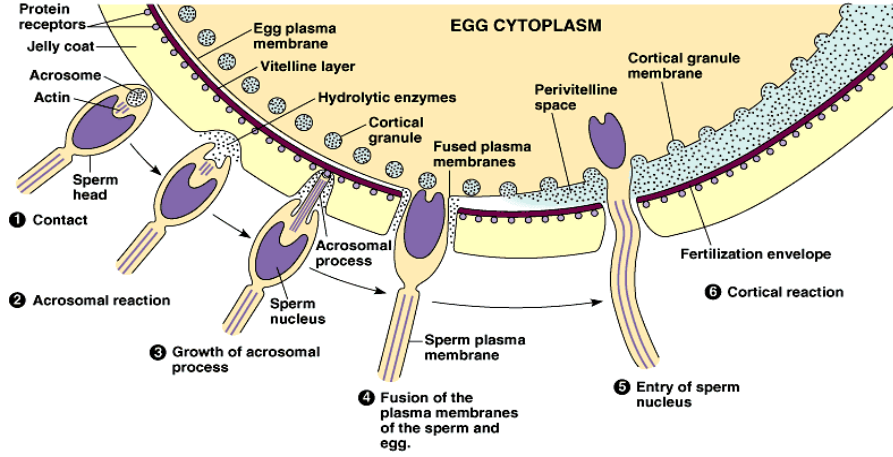
أحداث عملية الإخصاب:

أحداث التفاعل المتبادل بين محتويات البويضة والحيوان المنوي من اقتراب الحيوان المنوي إلى البويضة، ثم التصاق غشاء الجسم الثاقب له بغشاء البويضة، يفرز الجسم الثاقب أنزيمات محللة لأغشية البويضة لمساعدته على الاختراق، ثم إنغماد رأس الحيوان المنوي في أغشية البويضة، يليه تكوين مخروط الإخصاب (Fertilization cone)، وهو عبارة بروز سيتوبلازمي شفاف من البويضة يقوم بابتلاع رأس الحيوان المنوي في الأشكال (٣-٢) (٣-٣).

عندما يصبح رأس الحيوان المنوي في منتصف سمك الأغشية الخارجية للبويضة، تخرج خلايا دقيقة من الجسم الثاقب والغشاء البلازمي للبويضة (Microvilli)، وتكون معبراً لنواة الحيوان المنوي لتدخل إلى سيتوبلازم البويضة، تتجه نواة الحيوان المنوي إلى نواة البويضة ليتحدوا.

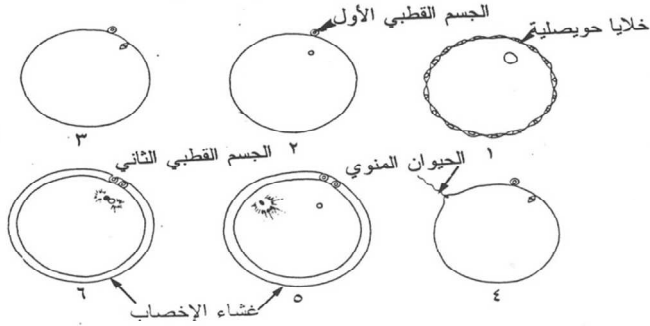
عند ارتباط الحيوان المنوي بالبويضة تبدأ سلسلة من الأحداث: أولها تكتمل مرحلة نضوج البويضة من اكتمال الانقسام الاختزالي الثاني وخروج الجسم القطبي الثاني وتكوين البويضة الناضجة وفيها نصف عدد الكروماتيدات)، وتكون غشاء

الإخصاب (بعد بضع ثواني قنفذ البحر / وبعد ساعة في البرمائيات/ وبعد ١٢-١٦ ساعة في الثدييات بشكل عام.



شكل رقم (٣-٢). يلخص مراحل أحداث الإخصاب بين الحيوان المنوي والبويضة في البرمائيات: ١- التماس الحيوان المنوي بالبويضة المحاطة بالغلاف الجلوتيني والغشاء المحي. ٢- تفاعل قمة المنية وإفرازها للأنتزيم الهايلونديز لتحليل الغشاء الجلوتيني حول البويضة ٣- نمو مخروط الإخصاب وارتباطه بالمستقبلات للحيوان المنوي على غشاء البويضة. ٤- إلتحام غشاء البلازما للحيوان المنوي بالغشاء البلازما للبويضة وتكون غشاء الإخصاب حول البويضة. ٥- دخول نواة الحيوان المنوي إلى سيتوبلازم البويضة. ٦- تفاعل الحويصلات القشرية للبويضة وخروج محتوياتها لتكون طبقة هلامية بين الغشاء البلازما للبويضة والأغشية المحيطة بالبويضة، كحاجز صد لمنع دخول أي حيوان منوي آخر للبويضة وانكماش سيتوبلازمها: (Campbell (2012).

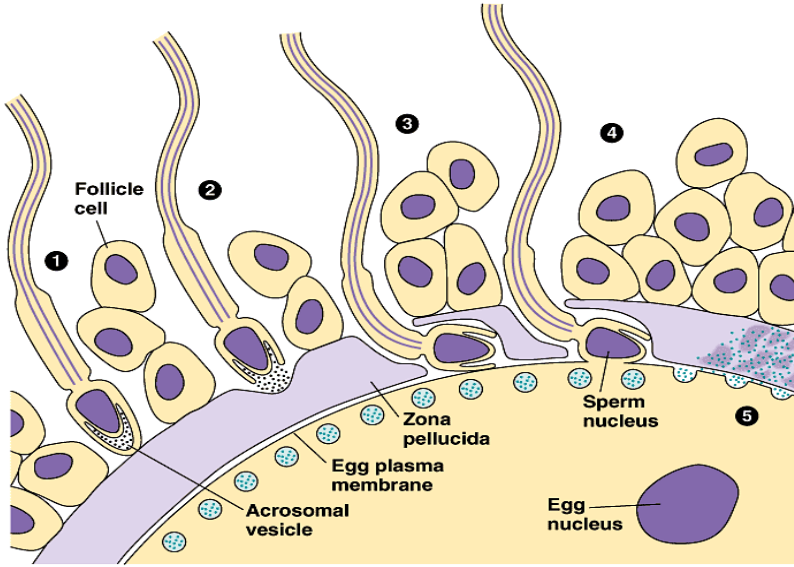
عند الإخصاب تكون فراغ بين الغشاء المحي وغشاء البويضة، ثم دوران البويضة حيث يصبح القطب الحيواني إلى أعلى والقطب الخصري إلى أسفل (في البرمائيات)، وتكون نجمية من خيوط المغزل حول النوية الذكرية (Sperm aster)، التي تتحرك باتجاه نواة البويضة ثم تندمج النواتان الأوليتان، حيث تظهر نجميتين على قطبي نواة اللاقحة بعدها يبدأ انقسام التفليج.



شكل رقم (٢-٣) ب). رسم لمراحل الإخصاب بين البويضة والحيوان المنوي: ١- البويضة غير المخصبة ومحاطة بصف من الخلايا الحويصلية. ٢- البويضة في مرحلة النضوج وإكمال الانقسام الاختزالي الأول وخروج الجسم القطبي الأول ٣- توقف مرحلة النضوج عند الطور الاستوائي من الانقسام الاختزالي الثاني. ٤- بداية الإخصاب بين البويضة الناضجة والحيوان المنوي. ٥- اكتمال عملية النضوج للبويضة وخروج الجسم القطب الثاني وتكون النواتان الأوليتان داخل سيتوبلازم البويضة وتكون غشاء الإخصاب حول البويضة. ٦- اكتمال عملية الإخصاب باندماج النواتان الأوليتان الانثوية والذكرية وتكون اللاقحة. (الحميدي و أبوطربوش ١٩٩٥م).

نجمية خيوط المغزل (Sperm Aster):

تتكون نجمية الحيوان المنوي داخل سيتوبلازم البويضة من الحبيبة المركزية القريبة للحيوان المنوي وتعمل ألياف النجمية على تحريك نواة المنية باتجاه نواة البويضة، عند معاملة البويضة بالكولشسين فإنه يمنع تكون النجمية وعدم اندماج النواتين، النجمية لا تتكون في البويضات غير الناضجة قبل عملية تكسر الحويصلة الجرثومية أو نواة البويضة (Germinal vesicle break down, GVBD) والتي تعمل على تثبيت الأنبيبات الدقيقة التي تكون خيوط المغزل.



شكل رقم (٣-٣). أحداث مراحل الإخصاب للبويضة في الثدييات: ١-ارتباط الحيوان المنوي بالغشاء الشفاف للبويضة. ٢-تفاعل قمة المنية وانطلاق الأنزيمات المحللة من رأس الحيوان المنوي لتحليل الغشاء الشفاف. ٣-ارتباط غشاء الحيوان المنوي بغشاء البويضة. ٤-اندماج الغشائين. ٥-تفاعل الحبيبات القشرية وخروج محتوياتها إلى خارج البويضة. (من الشبكة العنكبوتية الانترنت).

تفاعل قمة المنية Acrosome Reaction:

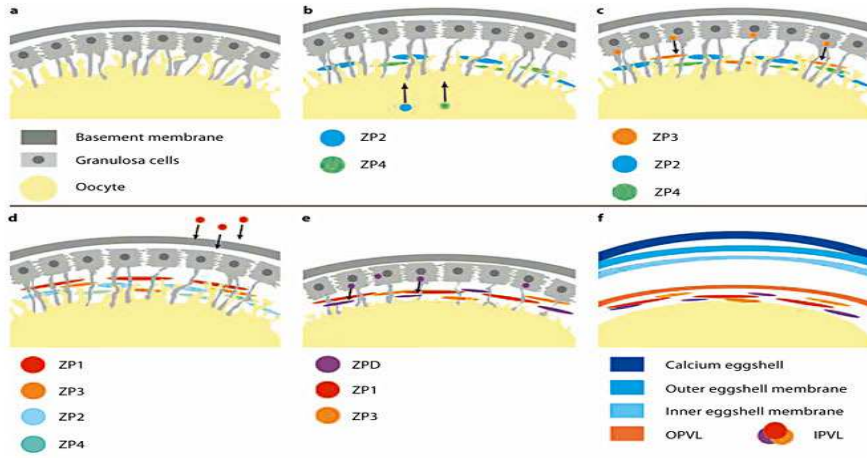
يتنفخ الجسم القمي للحيوان المنوي عندما يلامس الغلاف الخارجي للبويضة ويتغير إلى شكل ليفي مرن، هذه الليفية تنتج من تشكل بلمرة الأكتين على هيئة خط طولي يتكسر الغشاء الخارجي الذي يحيط بقمة المنية، ويتبع ذلك انطلاق الأنزيمات المحللة من قمة المنية تحلل الأغشية المحيطة بالبويضة (الجلاتيني / المحي)، ويتبع ذلك ارتباط بين مستقبلات الغشاء المحي أو الشفاف للبويضة والمنية، وتدفق أيونات الكالسيوم وتغيرات في الأس الهيدروجيني تلعب دورًا في تفاعل قمة المنية وتكوين غشاء الإخصاب حول البويضة حيث تنسحب نواة المنية إلى داخل البويضة تبدأ إزالة التكثف عن نواة المنية لكي يحصل تضاعف لكرماتيداتها قبل اندماجها بنواة البويضة.

تفاعل الحويصلات القشرية Cortical Granules Reaction

تفاعل الحبيبات القشرة هو المرحلة الثانية من أحداث الإخصاب وهي رد البويضة على تفاعل قمة المنية، توجد الحويصلات القشرية تحت الغشاء البلازمي في البويضة تنبه بواسطة أيونات الكالسيوم، تلتحم مع الغشاء البلازمي للبويضة لتفرز ما فيها خارج البويضة (أنزيات وبروتينات ومركبات معقدة)، وتحتوي الحويصلات القشرية على بروتينات سكرية مخاطية حامضية تترسب لتكون طبقة شبة زجاجية (Hyaline layer) التي تقوم بعملية الصد المنوي (لمنع دخول أكثر من حيوان منوي واحد للبويضة)، ويتبع ذلك انقباض عام في سيتوبلازم البويضة نتيجة لخروج محتويات الحويصلات القشرية للخارج.

غشاء البويضة :

تركيب غشاء البويضة يتشابه مع تركيب الأغشية الأخرى لأي خلية، تركيب الغشاء البلازمي: هو عبارة عن طبقة مزدوجة من الدهون أو الليبيدات الفوسفاتية مغمور فيها قطع من البروتين والبروتينات السكرية وسلاسل من السكر الخارج من الغشاء (لها دور أولي كمستقبل مع غشاء الحيوان المنوي)، تشارك الخلايا الحويصلية مع البويضة بتكوين المنطقة الشفافة أو الراتقة. Zona Pellucida ZP تتركب المنطقة الشفافة من خيوط متشابكة من السكريات المخاطية (Mycopoly sccharides)، عبارة عن بروتينات سكرية من أربعة أنواع: في المنطقة الشفافة (ZP1- ZP2 - ZP3, ZP4) تختلف عن بعضها باختلاف وزنها الجزيئي. تتركب من وحدات عديدة من سكريات المنطقة الشفافة: ZP2، ZP4 من البويضة بينما (ZP1; ZP3) من الخلايا الحويصلية والغلاف (Theca) يعمل الأول ZP1 على اتصال الخيوط ببعضها، بينما يعمل الثالث (ZP3) كمستقبل للحيوان المنوي لبويضة الثدييات. (شكل ٣-٤).



شكل رقم (٣-٤). تركيب الغشاء الشفاف حول البويضة: Zona Pellucida ZP تتركب المنطقة الشفافة من خيوط متشابكة من السكريات المخاطية عبارة عن أربعة أنواع من البروتينات سكرية في المنطقة الشفافة (ZP1- ZP2 - ZP3, ZP4) تختلف عن بعضها باختلاف وزنها الجزيئي. (من الشبكة العنكبوتية)

مستقبلات الحيوان المنوي على سطح البويضة:

وجد واسرمان ١٩٨٤م في المنطقة الرائقة أو الشفافة (Zona Pellucida) لبويضة الفأر مستقبلات للحيوانات المنوية وتتكون هذه المستقبلات من ثلاثة أنواع من البروتينات السكرية: بروتين الغشاء الشفاف (Zona Pellucida, ZP1- ZP2 - ZP3) تختلف عن بعضها باختلاف وزنها الجزيئي.

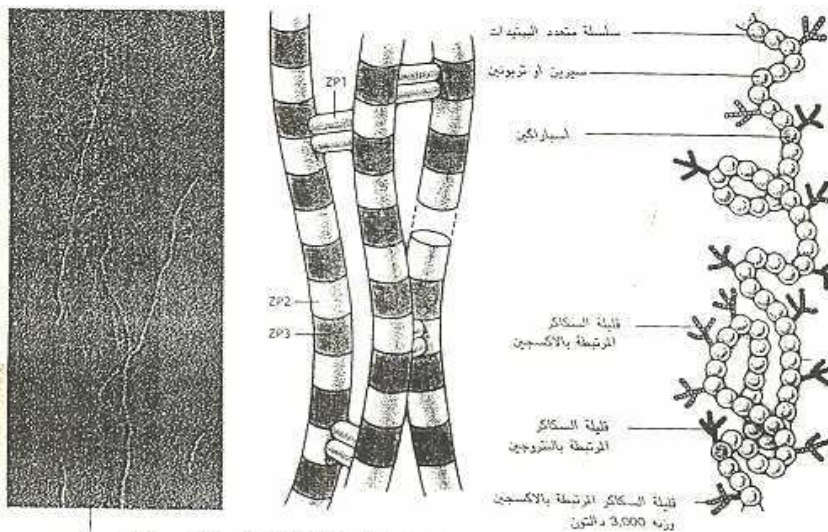
تجربة واسرمان Wassarman يوضحها الشكلان (شكل ٣-٥ أ، ب).

حيث قام بفصل هذه الأنواع الثلاث من المستقبلات ومعالجة الحيوانات المنوية قبل وضع هذه الحيوانات المنوية مع البويضات لإخصابها، وقد تفاعل البروتين السكري رقم ٣ مع الحيوانات المنوية مما جعله لا يستطيع أن يخصب البويضات، فهذا يعنى أن البروتين السكري للغشاء الشفاف رقم ٣ ZP3 هو المستقبل للحيوان المنوي، أي يتوقف ارتباط الحيوانات المنوية بالبويضة على وجود هذا النوع من البروتينات

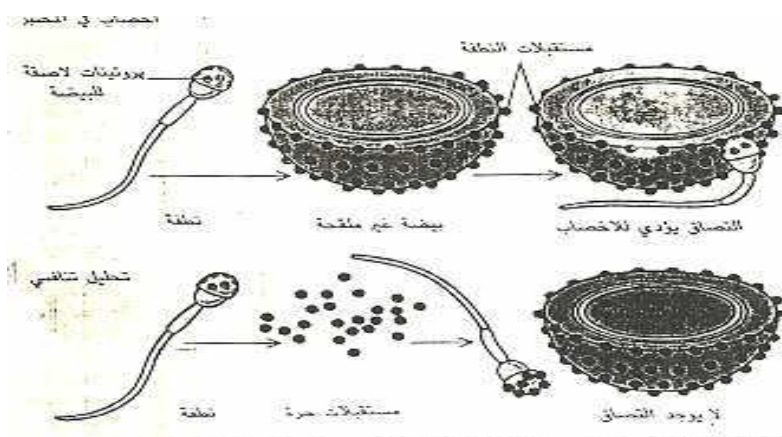
السكرية، يعمل بروتين الغشاء الشفاف رقم ٣ (ZP-3) على استقبال الحيوان المنوي وعلى بداية التفاعل ثم الارتباط مع الجسم الثاقب في الحيوان المنوي (التفاعل الأكروسومي Acrosome reaction)، يليها تفاعل الحبيبات القشرية (Cortical reaction).

زيادة القدرة الإخصابية للحيوانات المنوية في الثدييات Capacitation time :

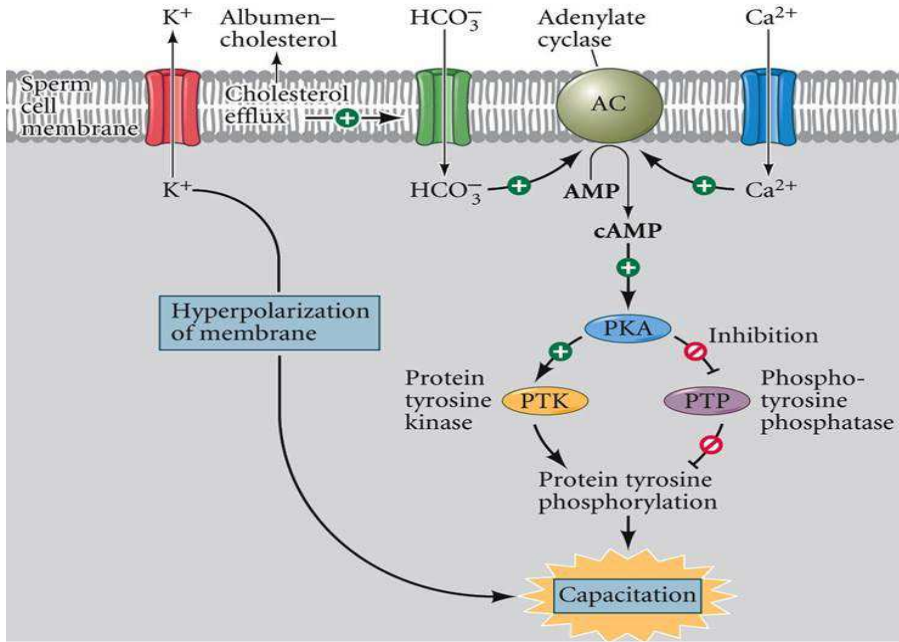
يجب أن تخضع الحيوانات المنوية الثدييات إلى سلسلة من التعديلات البيوكيميائية والفسلوجية، تسمى بزيادة القدرة الإخصابية Capacitation time أو فترة تأهيلية، وهذه تحدث عادة بشكل طبيعي في المسالك التناسلية في الإناث قبل عملية تفاعل قمة المنية أو الأكروسومي (Acrosome reaction AR)، آليات هذه التعديلات يشارك فيها البروتين كايينز في تنظيم أيونات الكالسيوم داخل المنية + Ca^{2+} خلال فترة زيادة القدرة الإخصابية وأثناء تفاعل قمة المنية (AR)، مما يعمل على تشكيل ألياف الأكتين داخل سيتوبلازم المنية، وأثناء تفاعل قمة المنية فإن ألياف الأكتين تتفكك، أثناء عملية زيادة القدرة الإخصابية أو التأهيلية، فإن الفوسفاتيديل-انسيترول-٣-كينيز (PI3K) يحصل له إزالة للفوسفات عن طريق بروتين كينيز النشاط PKA الذي يعتمد على تنظيم ودور البروتين كينيز سي الفا (PKC α)، فالبروتين PKC α نشطاً في بداية الفترة التأهيلية، والذي أسفر عن الفوسفاتيديل انسيترول ٣ كايينز PI3K؛ لذلك لابد من وضع الحيوانات المنوية في بيئة زيادة القدرة الإخصابية Capacitation media قبل عملية الإخصاب الخارجي. (شكل ٣-٦).



شكل رقم (٥، ٣ أ) أنواع البروتينات السكرية للغشاء الشفاف لبويضات الفار بروتين الغشاء الشفاف الأول والثاني والثالث (Zona Pullucida ZP1,ZP2,ZP3)



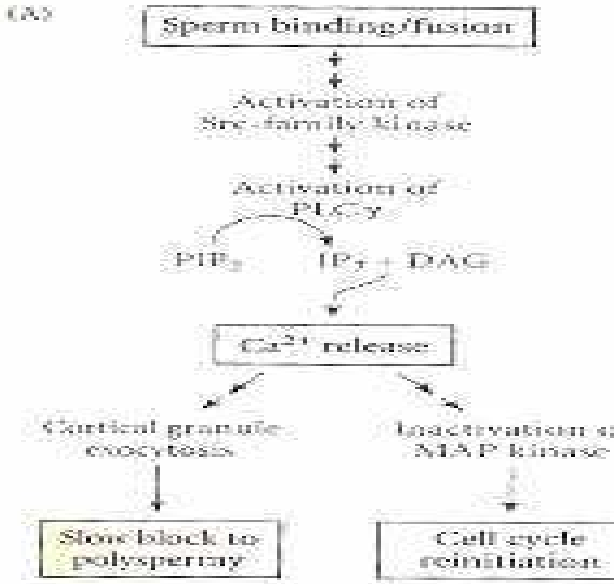
شكل رقم (٣-٥ ب). تجربة واسمان وتفاعل قمة المنية مع البروتين السكري رقم ٣ (ZP3) كمستقبل له مما يمنعه من الارتباط مره أخرى بالبويضات. (عن مجلة العلوم الامريكية المترجمة ١٩٨٨ م).



شكل رقم (٦-٣). مخطط يوضح زيادة القدرة الإخصابية (Capactation) في الحيوان المنوي: التعديلات تشمل التغير في غشاء الحيوان المنوي وداخلة فإن الفوسفاتيديل-انسيترول-٣-كينيز (PI3K) يحصل له إزالة للفوسفات عن طريق بروتين كينيز النشاط PKA- والذي يعتمد على تنظيم ودور البروتين كينيز سي الفا (PKCα)، فالبروتين PKCα نشطاً في بداية الفترة التأهيلية، والذي أسفر عن الفوسفاتيديل انسيترول ٣ كينيز PI3K.

آلية التنشيط الجزيئي للبويضة عند الإخصاب:

ارتباط الحيوان المنوي ثم اندماجه مع البويضة مما ينشط مجموعة من أنزيمات الكينيز منها تنشيط أنزيم الفوسفاتيز الدهني الفوسفوليبيز $PLC\gamma$ ، حيث يفكك الدهون الفوسفاتية في غشاء البويضة إلى فسفات الأنسيترول وثنائي الجليسرين $IP3 + DAG$ ، مما يؤدي تدفق أيونات الكالسيوم من الشبكة الأندوبلازمية، الأمر الذي ينشط تفاعل الحبيبات القشرية وعامل التكاثر الخلوي في البويضة، شكل (٣-٧ أ، ب، ج).



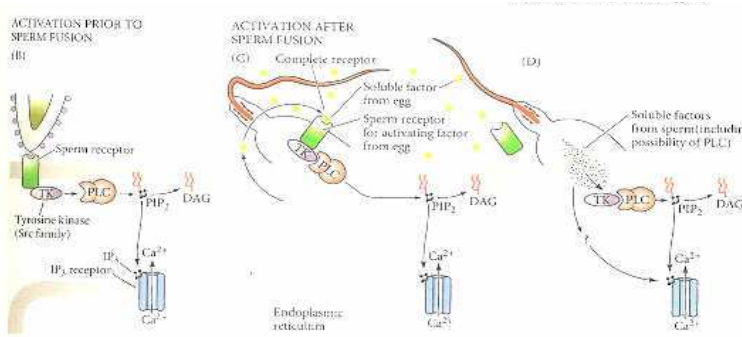
ارتباط الحيوان المنوي مع البويضة مما ينشط مجموعة من أنزيمات الكينيز انزيم الفسفاتيز الدهني الفسفوليبيز PLCy. حيث يفكك الدهون الفوسفاتية في غشاء البويضة الى فسفات الانستول وثنائي الجليسرين IP3+ DAG مما يؤدي تدفق أيونات الكالسيوم من الشبكة الأندوبلازمية الامر الذي ينشط تفاعل الحبيبات القشرية وعامل التكاثر الخلوي في البويضة.

شكل رقم (٣,٧) يوضح آلية التكوين الجزيئي لتفاعل الحيوان المنوي وارتباطه بالغشاء البويضة وتنشيطه داخل البويضة. (من الشبكة العنكبوتية)

التغيرات الكيميائية الحيوية المتأخرة لعملية الإخصاب:

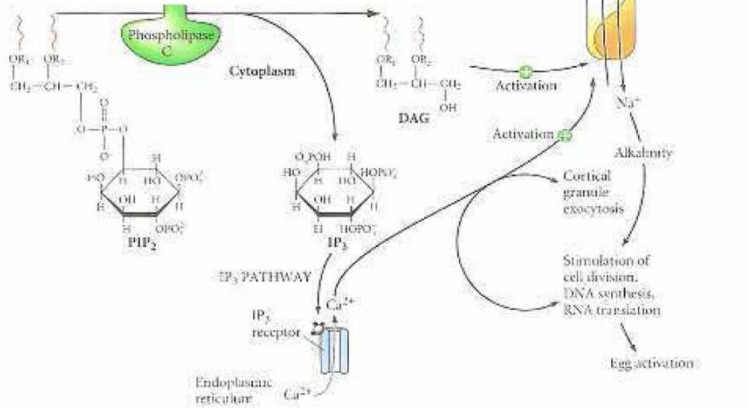
استهلاك الأكسجين: Oxygen consuming

لقد اكتشف اتو واربيرق خلال بداية القرن الماضي أنزيم التنفس الخلوي في بويضات قنغذ البحر حيث يزداد التنفس الخلوي داخل البويضة بعد بضع دقائق من الإخصاب (٣-٤ مرات). حيث ينظم الإخصاب عملية التنفس داخل البويضة، واستهلاك الأكسجين يكون مرتفعاً في البويضات التي لاتزال في مرحلة الحويصلة الجرثومية لكنه ينخفض في البويضات التي تخلصت من الأجسام القطبية، وترجع الزيادة في التنفس إلى تكون الماء الثقيل داخل البويضة (H_2O_2) الذي يتم استخدامه بواسطة أنزيم بيروكسيداز البويضة (Ova peroxidase)، ويتم تنشيط أنزيم كاينيز ثنائي



شكل رقم (٧، ٣، ب، ج). يوضح الية التكوين الجزيئي لتفاعل الحيوان المنوي وارتباطه بالغشاء البويضة وتنشيطه لأنزيم الفوسفاتيز في غشاء البويضة ثم تأثيره داخل البويضة. (من الشبكة العنكبوتية)

حيث يفكك الدهون الفوسفاتية في غشاء البويضة إلى فسفات الانسيول
وثنائي الجليسرين IP₃+ DAG. مما يؤدي تدفق أيونات الكالسيوم من الشبكة
الادوبلازمية (من الشبكة العنكبوتية)



نيوكلتيد الأدينين (NAD kinase) ويضيف إليه الفسفات فيحوله إلى فوسفات ثنائي نيوكلتيد الأدينين (NADP)، كما يتبع ذلك تدفق في إنتاج ثاني أكسيد الكربون داخل البويضة نتيجة للإنتاج أحماض الإخصاب؛ وذلك نتيجة لتدفق البروتون للخارج أثناء الإخصاب، بينما البويضات في قناة بيض البرمائيات لا تتأثر نسبة استهلاك

الأكسجين لكن النسبة التنفسية بين الأكسجين وثنائي أكسيد الكربون (CO_2/O_2) تنخفض بعد الإخصاب (من ١٠ إلى ٠.٦٥).

أيض المواد الكربوهيدراتية: Carbohydrate metabolism

تحتوي البويضة على جميع الأنزيمات لأيض المواد السكرية، فقد تم ملاحظة انخفاض محتوى الجليكوجين خلال ١٠ د بعد الإخصاب. أيض المواد البروتينية:

يحفز الإخصاب العديد من التغيرات في ذوبانية البروتينات وتغير شحناتها، حيث تحدث تغيرات في نسبة الروابط الكبريتية (SH/SS) في وجود البروتين الذائب في كلوريد البوتاسيوم، ربما تعود إلى انقباضية قشيرة البويضة لوجود البروتين الذائب، يتبعه انخفاض المجموع العام للبروتينات (الريوسومات) كما في بويضة قنفذ البحر. أيض المواد الدهنية:

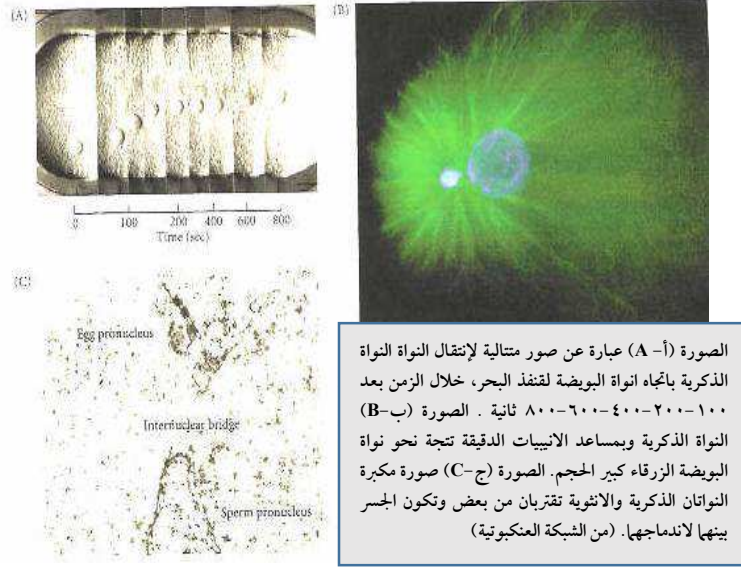
يتبع الإخصاب تكسر لبعض المكونات الدهنية (الدهون الفوسفاتية تنخفض) حيث يزداد الكوليسترول الحر على حساب استرات الكوليسترول، فرأس الحيوان المنوي يحتوي على أنزيم اللستين (Lecithinase) الذي يحول الدهون الفوسفاتية في الغشاء الخلوي إلى ليزولستين النشط (Active lysolecithins).

تحضير الأحماض النووية Nucleic acid syntheses:

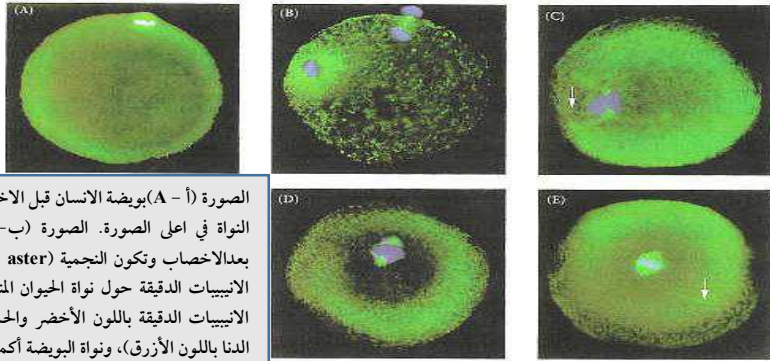
يبدأ تحضير الحمض النووي الدنا (DNA) في النواتين الأوليتين (الذكرية والأنثوية) بعد دقائق من الإخصاب (٢٠ د يكتمل)، والمحتوى لكل نواة أولية يتضاعف قبيل اندماج النواتين (4N) أي كل كرماتيدة لكل من النواة الذكرية والأنثوية تنسخ مكملتها فتتحول الكروماتيدات إلى كروموسومات.

تحضير الحمض النووي الدنا (DNA) لا يرتبط بعملية تفاعل الحويصلات القشرية ولا تواجد أيونات الكالسيوم (Ca^{++})، إنما قد يكون مرتبط بالارتفاع في الأس الهيدروجيني (PH). فالمعاملة بالمشبطات للأنزيم المشكل للحمض النووي (DNA-Polymerase) بواسطة الأفيديكولين (Aphidiocolin) تثبط عملية الاندماج

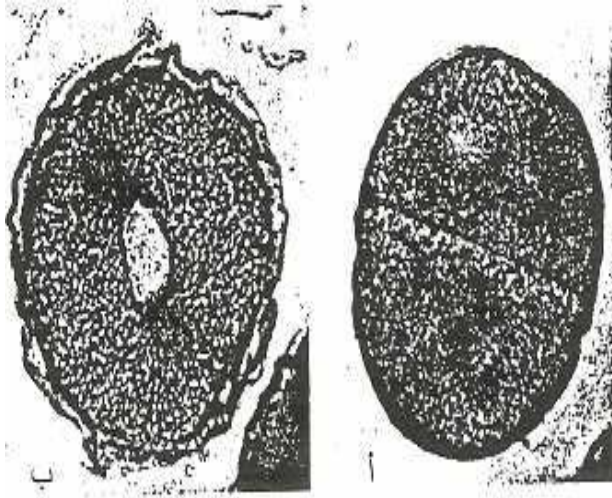
النووي وتمنع تضاعف الحمض النووي (DNA) (انظر الأشكال ٣-٨ أ، ب).



شكل رقم (٨، ٣ أ). يوضع مرحلة تصنيع أو تضاعف الحمض النووي لكل من النواتان الأوليتان نواة البويضة ونواة الحيوان المنوي قبل اندماجهما أثناء الإخصاب.



الصورة (أ - ٩) بويضة الانسان قبل الاخصاب وتبدو النواة في اعلى الصورة. الصورة (ب- ٩) البويضة بعد الاخصاب وتكون النجمة (sperm aster) من الانبيبات الدقيقة حول نواة الحيوان المنوي (ظهرت الدنا باللون الأزرق)، ونواة البويضة اكملت الانقسام الاختزالي الثاني. الصورة (ج- ٩) نواة الحيوان المنوي حصل لها نسخ لكروماتيداتها والسهم يشير الى ذيل الحيوان المنوي. الصورة (د- ٩) اندماج نواة الحيوان المنوي مع نواة البويضة وتكوين نواة الزيجوت الصورة (هـ- ٩) نواة الزيجوت بدأت بالانقسام المتوالي. (من الشبكة العنكبوتية)



شكل رقم (٨، ٣ ب). تأثير المعاملة بالافيدوكولين (Aphidiocolin) المثبط للأنزيم المشكل للحمض النووي (DNA-Polymerase):

الصورة (أ) عينة ضابطة لبويضة قنفذ البحر لم يتم معاملتها بالافيدوكولين في طور الخليتين. الصورة (ب) توضع بويضة غير متفلجة وتوقف تصنيع الحمض عند المعاملة بالمثبطات للأنزيم المشكل للحمض النووي (DNA-Polymerase) بواسطة الأفيدوكولين (Aphidiocolin) تثبط عملية الاندماج النووي وتمنع تضاعف الحمض النووي (DNA) ثم عدم التفليج. عن Brachet and Alexander 1988.

ب) تحضير الأحماض النووية الريبوزية RNA Syntheses :

لا يوجد انطلاق مفاجئ في تحضير الأحماض النووية الريبوزية (RNA) أثناء مرحلة الإخصاب، وإذا وجدت فهي كمية بسيطة، وقد يعود إلى أن الأحماض الريبوزية الخاصة بالأجسام السبحية أو الميتوكوندريا، والمعاملة بالأكتينوميوسين - د (Actinomycin-D) لا يؤثر على الإخصاب أو التفليج المبكر، وقد يرجع هذا الانخفاض إلى وجود كميات كبيرة مخزنة في البويضة وأن معظم الأحماض النووية الريبوزية الأمية (mmRNA) تكون بشكل غير مكتمل تمامًا ومرتبطة بروتينات نووية (RNP-Ribonucleoprotein)، وإضافة الحيوان المنوي للبويضة يتبعه إضافة لعديد الأدينين (Ploy -A)، هذه الإضافة ربما تزيد من ثبات الأحماض النووية المرسل (mRNA).

تحضير البروتينات: (Protein Syntheses):

عملية الإخصاب تحفز تصنيع البروتين بالبويضة المخصبة بكمية استهلاك الأكسجين O_2 نفسها.

التفسيرات لعملية تحضير البروتين أثناء مرحلة الإخصاب:

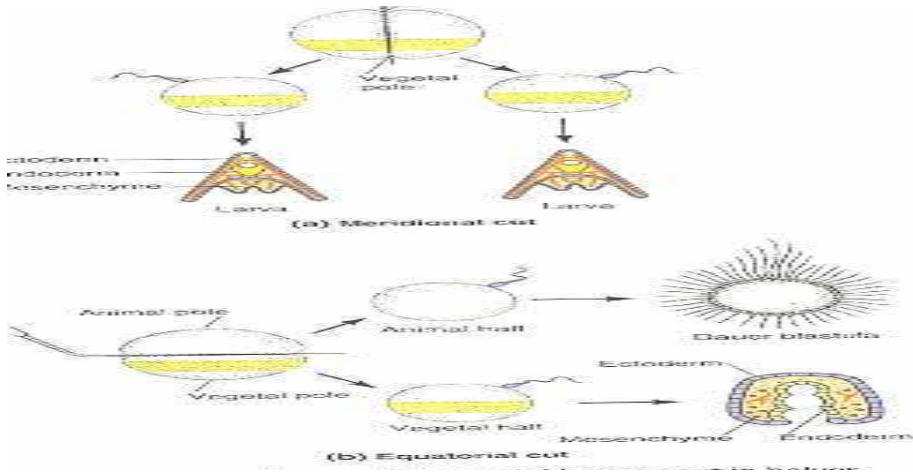
١- النويات الأولية تنتج حامض نووي مرسل (mRNA) يرتبط مع الريبوسومات الموجودة فتسمى عديدة الريبوسومات أو البولي سوم وهي موقع تصنيع البروتينات المحلية، لكن الأدلة لا تشير إلى تحضير أحماض مرسل جديدة، أي أن تحضير البروتينات يمكن التحكم فيه أثناء الترجمة وليس أثناء النسخ، فالتجربة على أجزاء بويضة قنفذ البحر (قسمها بواسطة الطرد المركزي)، تشير إلى أن الجزء الذي يحتوي على النواة يحضر بروتين بعد التنشيط بآء عالي التركيز وكذلك الجزء الذي لا يحتوي على النواة أيضًا يحضر البروتين (شكل ٣-٩ أ، ب).

٢- وجود أحماض نووية مرسل مخفية (Masked MmRNA) تم تحضيرها من قبل، هذه الأحماض ليس لديها القدرة على الارتباط بالريبوسومات لكي تكون عديد الريبوسومات أو البولي سومات (Polysomes) لكنها تدعم تحضير البروتينات، فتحضير البروتين يحدث حتى في الغياب التام للنواة الأولية.

٣- هذه الأحماض النووية المرسل المخفية (Masked mRNA) تم تحضيرها من حمض نووي خاص بالسيتوبلازم (Cytoplasmic DNA)، وسوف ترتبط بالريبوسومات وتحفز تحضير البروتين، وهذه الأحماض المخفية التي ترتبط بالحمض النووي المرسل و(60 S-(RNP) لا تترجم إلا إذا تم إزالة الجزء البروتيني من الجسيمات، إذًا فهي تكون على شكل مخفي طالما كانت مرتبطة بالجسيمات النووية البروتينية (RNP).

إن الزيادة في الأس الهيدروجيني تحفز تصنيع البروتين والأمونيا فترفع الأس الهيدروجيني بينما الأسيتات تخفض الأس الهيدروجيني وتثبط عملية النمو، فإزالة

الخفاء عن الأحماض المرسلة (Masked MmRNA) تعتمد على تغير الأس الهيدروجيني المناسب الذي ينشط أنزيم يزيل مثبط ترجمة هذه الأحماض، وهناك بعض الأدلة تشير إلى انطلاق بعض الأنزيمات الهاضمة أثناء الإخصاب، فالبذور الناشئة مثلاً تحتوي على أحماض نووية مرسلات مخفية MmRNA غير نشطة عند غمرها بالماء تنشط.



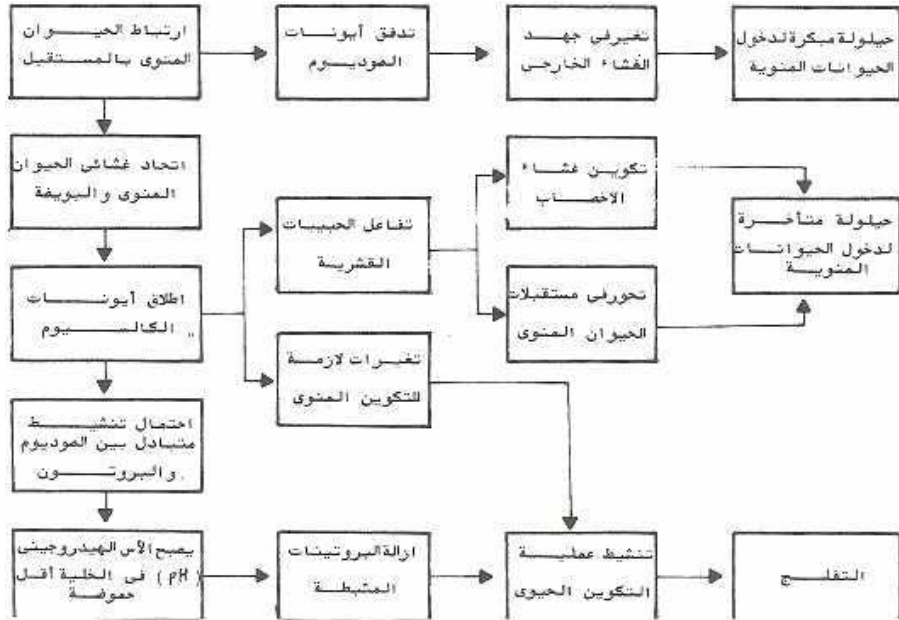
شكل (٩، ٣ أ، ب) يوضح بويضة قنفذ البحر عند قسمتها من القطب الحيواني إلى القطب الخصري وفصلها إلى جزئين وإخصاب كل جزء تنمو بشكل سليم.

(ب) بينما فصل القطب الحيواني عن القطب الخصري لا يمتد أي جزء بشكل سليم. مما يوضح دور السيتوبلازم في التمايز الخلوي حيث يتم ترجمة الأحماض النووية المرسلة المخفية في كلا الجزئين. (من الشبكة العنكبوتية)

ملخص مراحل أحداث التبادلات الأيونية عند عملية الإخصاب:

عند حدوث عملية الإخصاب بين الحيوان المنوي والبويضة تحصل عدة تفاعلات كيميائية وتبادل أيوني، فارتباط الحيوان المنوي بالمستقبل على سطح البويضة يعمل باتجاهين، الأول تنشيط تدفق أيونات الصوديوم ثم تغير في الجهد الكهربائي على سطح غشاء البويضة الأمر الذي يؤدي إلى حيلولة مبكرة لمنع ارتباط أو دخول أي حيوان منوي آخر للبويضة، الاتجاه الثاني الذي يحصل عند ارتباط الحيوان المنوي

بالبويضة هو اتحاد غشاء الحيوان المنوي بغشاء البويضة الأمر الذي يؤدي إلى انطلاق أيونات الكالسيوم، وحصول تفاعل الحبيبات القشرة وقذف محتويات الحويصلات القشرية إلى خارج سيتوبلازم البويضة الأمر الذي يؤدي إلى تكون طبقة هلامية حول البويضة تمنع أيضًا دخول أي حيوان منوي آخر أو حيلولة متأخرة، هذا التفاعل للحبيبات القشرية والتبادل بين الصوديوم والبروتونات على غشاء البويضة المخصبة يعمل على تنشيط بداية عملية التكوين الحيوي والانقسام الخلوي للاقحة أو الزيجوت أو بمعنى آخر فقد دبت الحياة في هذه البويضة المخصبة. شكل (٣-١٠).



شكل رقم (٣، ١٠). مخطط يلخص الأحداث لعملية الاخصاب للبويضة وتنشيطها وبداية عملية التفاج عن: صالح كريم ١٤١١هـ.

التكوين الجزيئي للأجنة ونظريات الإخصاب التقليدية:

Molecular Embryology and Classical Theories of Fertilization

لقد كون كل لوب (Loeb) وبتاليون (Bataillon) نظريات عن الإخصاب بناءً على تجاربهم على بويضات قنفذ البحر والبرمائيات: فهناك عاملان يفسران أهمية الإخصاب للبويضة:

١- التحلل الخلوي أو المبدئي يؤدي إلى موت البويضة .

٢- يعيدها الإخصاب إلى وضعها الطبيعي الصحيح .

فوجود المواد أو المخلفات الأيضية داخل الحويصلات القشرية في سيتوبلازم البويضة تعد سامه والإخصاب يخلصها من هذه المواد السامة وذلك عن طريق إخراجها من البويضة بواسطة تفاعل الحويصلات القشرية Cortical reactions.

تنشيط التوالد البكري Parthenogenic Activation:

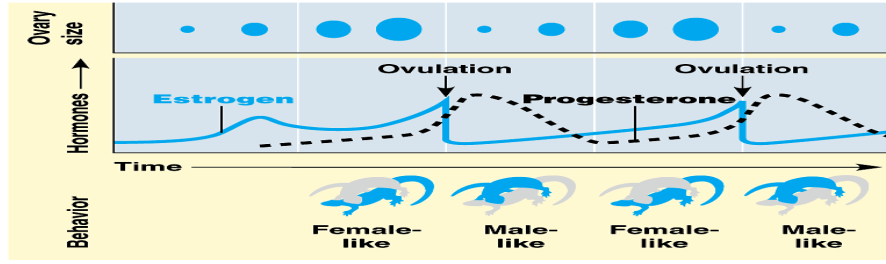
التوالد البكري هو تكوين أجنة من بويضات غير مخصبة أي من دون مشاركة الحيوان المنوي، وهذا يحدث بشكل طبيعي في بعض الكائنات الحية كالحشرات (مثل النحل وإنتاجها للذكور) وبعض أنواع السحالي كالسحلية سوطية الذيل أو بما تعرف سميدي فورا فهذه ليس لديها ذكور أصلاً وتنتج إناثاً فقط شكل (٣-١١)، لكن كيف تنتج هذه الكائنات الحية من بويضات غير مخصبة أي بدون مشاركة الحيوان المنوي، وكيف يتم تعويض الدور الذي يقوم به الحيوان المنوي أولاً من حيث تنشيط البويضة عند ارتباطه بها وثانياً كيف يتم تعويض نواة الحيوان المنوي الذي يضيف نواته لنواة البويضة فيعيد العدد الثنائي للبويضة أثناء تكوين الجنين وكذلك الحبيبة المركزية للجسم المركزي أو السنتريول الخاصة بالحيوان المنوي كيف يتم تعويضها في التوالد البكري، لقد حاول الباحثون محاكات التوالد البكري في هذه الكائنات لتفسير كيف يتم أفراد من البويضات دون عملية الإخصاب أي دون مشاركة الحيوان المنوي.

فقد أوضحت بعض التجارب أن تنشيط بويضة نفذ البحر عند معالجتها بالماء عالي التوتر لكن المعالجة بواسطة حمض البيوتريك تنمو وتكون النجميتين الخاصة بتكون خيوط المغزل للانقسام الخلوي غير المباشر الخاص بالتكاثر الخلوي أي بالتفلج، أي يحصل الانقسام الاختزالي للبويضة لكن دون انفصال الجسم القطبي فأصبحت نواة الجسم القطبي وحببته للجسم المركزية كأنها المعوض عن نواة الحيوان المنوي وحببته للجسم المركزي، فاندجت مرة أخرى الحببتين للجسم المركزي ونواة الجسم القطبي مع نواة البويضة وكونت نواة الزيجوت التي بدأت عملية التفلج شكل (٣-١٢). انظر الحميدي وكريم ١٤٢٩هـ.

وقد اشتغل باحثون آخرون على بويضات الضفدعة: وأوضحوا أنه يمكن تنشيط التوالد البكري في بويضاتها عن طريق عاملين :

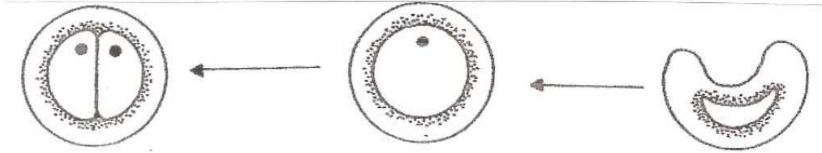
١ - بوخزها بإبرة نظيفة (لا تكمل النمو) بينما الوخز بإبرة غير نظيفة (مادة من كريات الدم) تنمو. فالوخز أو التنبيه الكهربائي أو الكيميائي هو المحفز أو المنشط لغشاء البويضة لكي تكمل الانقسام الاختزالي الثاني، فكأنها هذا التنبيه يودي دور الأول للحيوان المنوي ألا وهو تنبيه البويضة أو تنشيطها آليا (صالح كريم ١٤١١هـ).

٢ - وجود مركز منظم الأنابيب الدقيقة (Microtubule organizing center MTOC) فالمعاملة بالماء الثقيل (D2O) يوقف تكون الأنابيب الدقيقة التي تعد ضرورية لبقاء القطبية الثانية لانقسام الاختزالي الثاني مما يعنى أنه حصل الانقسام الاختزالي لكن دون انفصال النواتين الناتجتين، فالأجنة الناتجة من التوالد البكري في بعض الحالات تكون أحادية المجموعة الكروموسومية (Haploid Syndrome) مما يعنى عدم اندماج نواتي الجسم القطبي ونواة البويضة؛ لذلك تنتج أفراداً غير سليمة التكوين.



(b)
Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

شكل رقم (١١، ٣، أ، ب). التكاثر العذري الطبيعي في السحلية سوطية الذيل: حيث تمارس احدها دور الأنثى ذات هرمون الاستروجين المرتفع ولديها حويصلات مبيضية نامية بينما الاخرى ذات الاستروجين المنخفض تمارس دور الذكر فتتمطى ظهر الاولى وهكذا تتبادل الأدوار. هذا السلوك التزاوجي كأنما يؤدي دور التنشيط الميكانيكي الذي يقوم الحيوان المنوي اثناء ارتباطه بالبويضة لتنشيطها لأكما الانقسام الاختزالي الثاني وانتاج الجسم القطبي الثاني لكن هنا انقسام دون انفصال لتعويض نواة الحيوان المنوي (من الشبكة العنكبوتية).



شكل رقم (١٢، ٣). رسم يوضح التكاثر العذري الاصطناعي بمعالجة بويضات قنفذ البحر بمحلول مائي على التوتّر، وعند تعريض بويضات قنفذ البحر غير المخصبة لمحلول ملحي منخفض التوتر لمدة قصيرة فإن البويضات تختفي فيها الثلمة وتصبح كاملة الاستدارة مثل البويضة المخصبة وتبدأ التفليج. (عن صالح كريم ١٤١١هـ).

التكوين الجزيئي لمرحلة التفليج

The Molecular Biology of Cleavage stage

سوف نتطرق في هذا الفصل إلى مقدمة ونظرة عامة عن مرحلة التفليج ومميزاته، وأنواع التفليج ثم الكيمياء الحيوية لمرحلة التفليج من ١- إنتاج الطاقة، ٢- الطبيعة الكيميائية لجهاز الانقسام ثم ٣- تضاعف الحمض النووي (DNA)، ٤- تصنيع الأحماض الريبوزية (RNAs) ٥- تصنيع البروتينات أثناء التفليج ثم ٦- تكوين شق الانقسام للتفليج.

مقدمة ونظرة عامة عن مرحلة التفليج:

مميزات مرحلة التفليج:

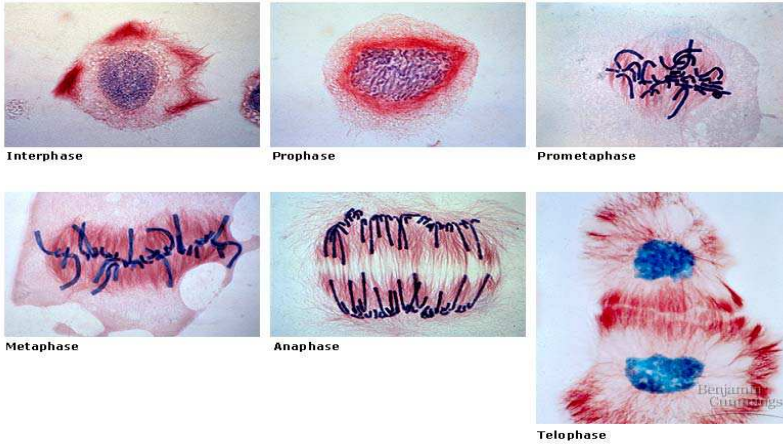
التفليج (Cleavage) هي المرحلة التي يتحول فيها الجنين من طور اللاقحة (الزيجوت) إلى طور المفلجة أو البلاستولة، وذلك عن طريق التكاثر الخلوي أو الانقسام غير المباشر (الميتوتي) شكل (١، ٤)، فمرحلة التفليج هي سلسلة من انقسامات خلوية منتظمة ومتتالية، تنقسم فيها البويضة المخصبة إلى خلايا كثيرة تعرف بالفلجات (Blastomeres) تكون كبيرة الحجم في البداية ثم تصغر شيئاً فشيئاً تنتهي مع تكوين المفلجة أو طور البلاستولة (Blastula)، فالجنين لا يكبر أو لا يزداد في الحجم بل يشغل حيز البويضة نفسه خلال مرحلة التفليج، ولا تظهر خلاياه في هذه المرحلة أي تمايز خلوي فهي تكاد تكون متماثلة، عدا في نهاية مرحلة التفليج

وتكون المفلجة أو البلاستولة التي تتكون من نوعين من الخلايا خلايا علوية صغيرة في منطقة القطب الحيواني وخلايا كبيرة محيطة في منطقة القطب الخضري كما في بويضات البرمائيات، أو خلايا علوية (Epiblast) وخلايا سفلية (Hypoblast) فوق كتلة المح للبويضة كما في بويضة الزواحف والطيور، أو خلايا النسيج الغذائي (Trophoblast) وكتلة الخلايا الداخلية (Inner cell mass) كما في مفلجة الثدييات، وحسب درجة توزيع المح في البويضات فقد يكون التفلج كاملاً متساوياً أو غير متساوٍ أو تفلج ناقص أو تفلج سطحي، من المعتقد أن كمية المح هي التي تحدد نوع التفلج في البويضات وطريقته، لكن هذا لا يفسر لنا لماذا مثلاً لا يكون التفلج متساوياً في بويضات الرخويات على الرغم من قلة كمية المح فيها، أو لماذا يأخذ التفلج الأول وقتاً أطول في بويضات الثدييات (٢٤ ساعة) وهي من نوع عديمة المح أو قليلة المح مقارنة ببويضة البرمائيات ذات المح الكبير والذي يأخذ التفلج الأول فيها ٣-٥ ساعات فقط، فهل هي عوامل وراثية أو تراكيب داخلية مختلفة في البويضة!

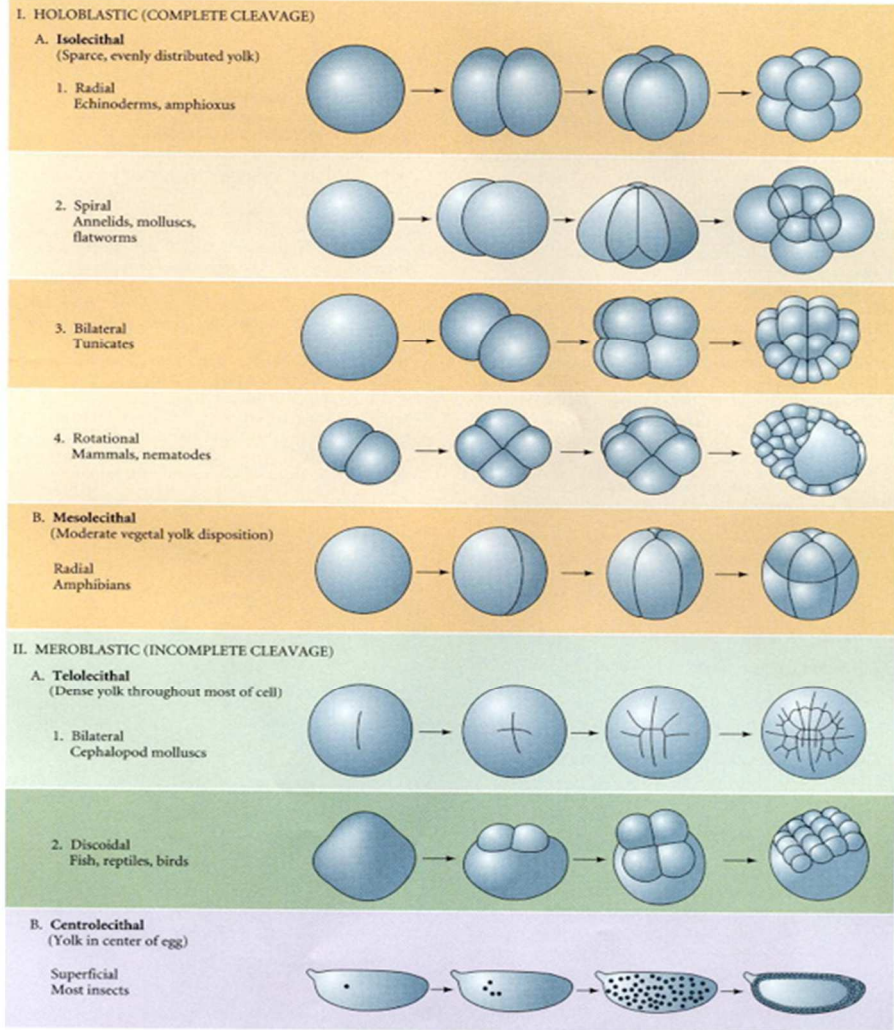
أنوع التفلج:

هنالك عدة أنماط من التفلج حيث تختلف طريقة التفلج في الكائنات الحية المختلفة في طريقة الانقسامات الخلوية بين الفلجات المتكونة، وذلك حسب درجة توزيع المح في البويضات المخصصة للمفلجة أي حسب نوع الأجنة، ففي بويضات قنغذ البحر المخصصة يكون التفلج شعاعياً (Radial cleavage) والانقسامات متساوية لأنها ذات مح قليل ومتساوي التوزيع في سيتوبلازم البويضة (Isolecithal) شكل (٢، ٤ أ)، بينما في بويضات بعض الديدان والرخويات ذات المح القليل لكنه غير متساوي التوزيع بين الفلجات فيكون التفلج فيها من النوع الحلزوني (Spiral cleavage) أي اتجاه الانقسام يكون مرة في اتجاه ومرة في اتجاه آخر، في حين أنه في بويضات الثدييات أيضاً قليلة المح لكن طريقة التفلج تكون بالتعاقب بين الفلجات (Rotational cleavage) أي تنقسم فلجة ثم تنقسم الأخرى فيما بعد وليس مع بعض أو في الوقت نفسه، فالشكل (٢، ٣ ب) يوضح أنواع

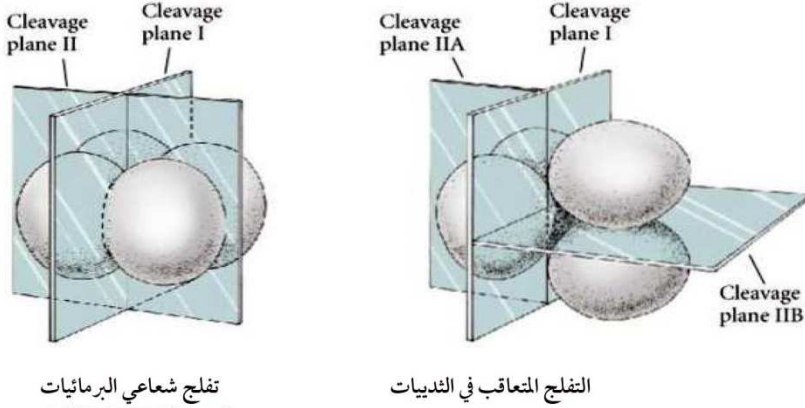
للتفلع: في بويضات اللافقاريات، مثل (قنفذ البحر) شعاعي التفلع (Radial cleavage) بانقسامين الثاني عمودي على الانقسام الأول بينما في الثدييات كالأرنب التفلع المتعاقب (Rotational cleavage) التفلع الثاني عبارة عن انقسامين يبدأ الأول بإحدى الفلجتين والآخر عمودي عليه في الفلجة الثانية، لكن كلاهما من النوع التفلع الكامل للفلجات، في حين أنه في البويضات ذات المح المتوسط (Mesolecithal) ذات درجة توزيع المح فيها ذيلي متدرج أي تزداد كمية المح في البويضة كلما اتجهنا من القطب الحيواني (الذي يحتوي على النواة) إلى القطب الخضري حيث تزداد كمية المح فيه، كما في بويضة البرمائيات أو الضفدعة، بينما في بويضات الأسماك والزواحف والطيور فهي ذات مح غزير لذلك يكون التفلع فيها غير كامل أو ناقص (Meroblastic) حيث يحصل في الجزء الذي فيه النواة أي في الجزء العلوي، في المنطقة الجنينية ولا يقسم بقية المنطقة التي فيها المح، فيعرف بالتفلع القرصي أو الناقص (Dicoidal cleavage)، بينما في الحشرات حيث يكون المح في مركز البويضة (Centrolecithal)، فإن التفلع يعرف فيها بالتفلع السطحي (Superficial cleavage) حيث يحصل التفلع في محيط البويضة الشكل (٢، ٤ أ).



شكل رقم (١، ٤). صور توضح مراحل الانقسام غير المباشر أو الميتوتي في الخلايا العادية وهو نفسه الذي يحصل أثناء انقسام التفلع. (من كتاب البيولوجي لكامل ٢٠١٣)



شكل رقم (٢، ٤ أ) يوضح أنواع للتفليج: التفليج الكامل مثل التفليج الشعاعي (Radial cleavage) والتفليج الحلزوني (Spiral cleavage) والتفليج المتعاقب (Rotational cleavage) والتفليج الناقص أو القرصي (Dicoidal cleavage) كما في الطيور والزواحف (من الشبكة العنكبوتية).



شكل رقم (٢، ٤ب). يوضح الاختلاف بين نوعين للتفلع الكامل: في بويضات اللاقاريات، مثل (قنفذ البحر) شعاعي التفلع (Radial cleavage) الثاني انقسامين عمودي على الانقسام الأول، بينما في الثدييات كالأرنب التفلع المتعاقب (Rotational cleavage) التفلع الثاني عبارة عن انقسامين يبدأ الأول بإحدى الفلجتين والأخر عمودي عليه في الفلجة الثانية. (من الشبكة العنكبوتية).

مستويات التفلع : Levels of Cleavage

الطفليات الثلاثة الأولى لها نمط ثابت ومنتظم:

مستوى التفلع الأول: عمودي يمر بالمحور الرئيس للبويضة المخصبة - يصل قمة القطب الحيواني بقمة القطب الخضري و (ينتج فلجتين).

مستوى التفلع الثاني: عمودي على الانقسام الأول (٤ خلايا) (تختلف في الحجم باختلاف نوع البويضات لكنها غالبًا متساوية).

مستوى التفلع الثالث: أفقي على الانقسامين الأول والثاني ويتكون من انقسام الأربع فلجات (أربعة انقسامات) وينتج ٨ خلايا في مجموعتين، كل ٤ خلايا في مجموعة.

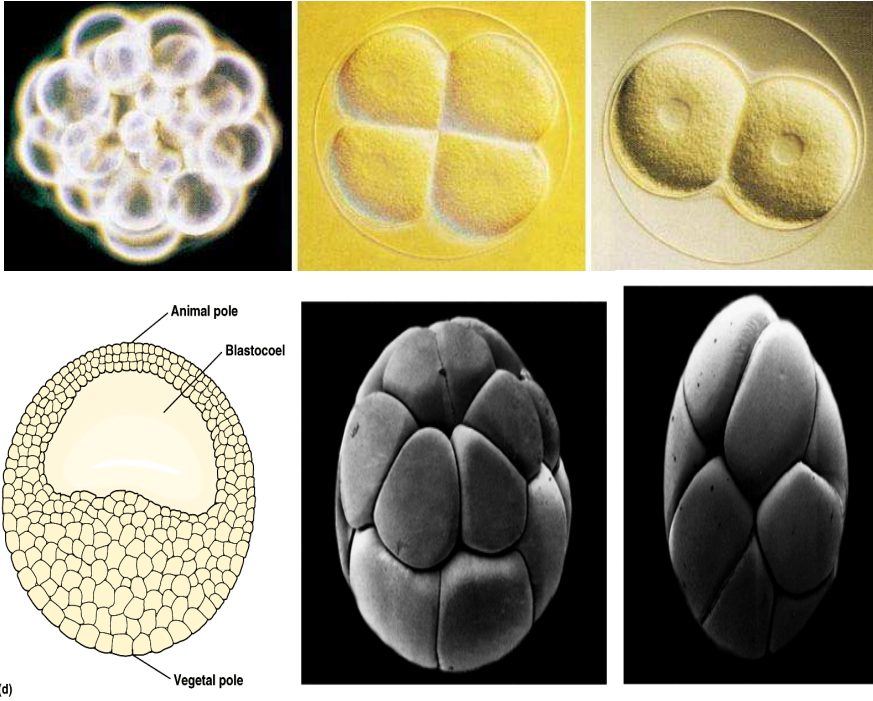
مجموعة علوية جهة نصف الكرة الحيواني للبويضة، مجموعة سفلية جهة نصف الكرة الخضري كما في بويضة البرمائيات.

بقية التفلجات الأخرى تأخذ مسارات مختلفة حسب نوع البويضات في الكائنات

الحية.

أطوار مرحلة التفلق Stages of Cleavage:

الانقسام الأول - يعطي طور الفلجتين، الانقسام الثاني - يعطي طور الأربع ٤ فلجات، الانقسام الثالث - يعطي طور الثمان فلجات، الانقسام الرابع - يعطي طور الست عشر ١٦ فلجة، الانقسام الخامس - ٣٢ فلجة طور التوتية (Morula)، الانقسامات التالية - تؤدي إلى تكوين طور المفلجة أو البلاستولة: والتي تتميز بتكون فلجات صغيرة (Micromeres) في منطقة القطب حيواني (Animal pole) وفلجات كبيرة (Macromeres) في منطقة القطب الخضري (Vegetal pole).. كما في بويضة البرمائيات وقنفذ البحر. الأشكال (٤-٣، أ، ب). يحتوى المفلجة على تجويف يعرف بتجويف المفلجة أو البلاستولة (Blastocoel)، يحتوي على الماء والأملاح وبروتينات والجلوكوجين ومكونات أخرى.



شكل (٣، ٤، أ، ب). أ) التفلق في بويضة قنفذ البحر وبويضة البرمائيات. ب) تكوين المفلجة بالصفدة.

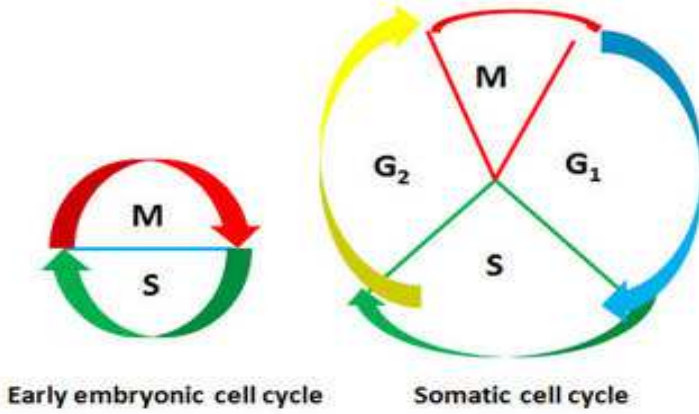
تزامن التفليجات

التفليج في البداية يكون متزامناً لكن فيما بعد يفقد التزامن فالتزامن قد لا يكون نتيجة لسرعة تضاعف المادة الوراثية للحمض النووي فقد يكون لعامل سيتوبلازمية (حسب كمية المح)، عند عمل الطرد المركزي يفقد هذا التزامن بشكل أسرع عنه في الحالة الإعتيادية، في بويضة قنفذ البحر ٦٠ ٪ تكون في انقسام متزامن (بعد ٦ ساعات من الإخصاب) بينما ١٠ ٪ تنقسم فيما بعد عند وقت الفقس، في الضفدعة من جنس زينوبس ١٢ من التزامنات الانقسامية بعد الإخصاب (تأخذ ٣٠ د) ثم يقل نشاط الانقسام ويبدأ تحضير عدة أنواع من الأحماض النووية الريبوزية. فالتحول إلى البلاستولة قد ينتج من النسبة الحرجة بين حجم النواة والسيتوبلازم (Nucleocytoplasmic Ratio) وأنها لا تعتمد على عدد الفليجات.

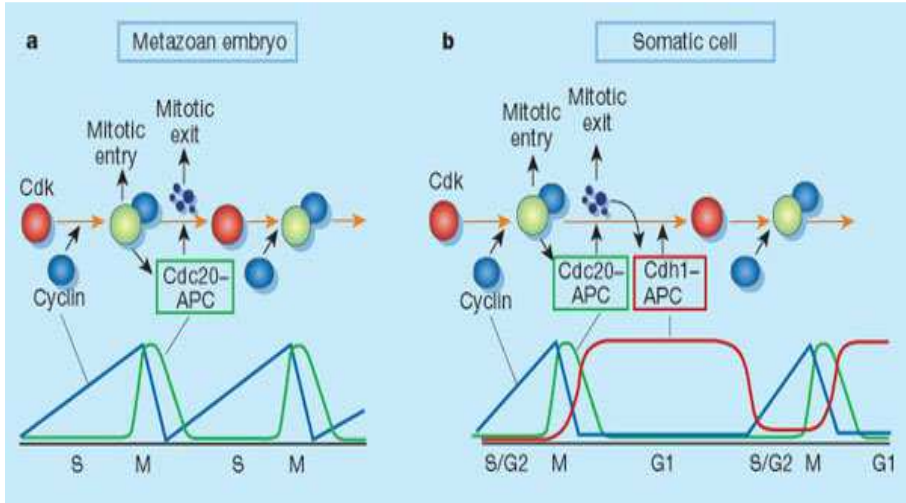
الاختلاف بين دورة الخلية أثناء الانقسام العادي والتفليج Cell cycle during cleavage:

من المعلوم أن دورة الخلية العادية تتكون من مرحلتين رئيسيتين مرحلة الانقسام الخلوي تليها المرحلة البنية والتي تشتمل على فترة النمو أو الفاصلة الأولى (Gap 1-) G1)، ثم فترة تصنيع أو تحضير الحمض النووي (S-phase ; DNA)، ثم فترة الفاصلة أو النمو الثانية (Gap 2 G2)، بينما دورة الخلية أثناء مرحلة التفليج تتكون من مرحلة تصنيع للحمض النووي (S-phase) وانقسام خلوي (M) خاصة في مراحل التفليج الأولية فلا تمر بمرحلة نمو أو مرحلة فاصلة أولى أو ثاني (G1 or G2) كما في الانقسام الخلوي العادي شكل (٤، ٤ أ).

والشكل (٤، ٤ ج، د) يوضح التحكم في دورة الخلية الجسدية ودور أنزيم الكاينزي المعتمد على بروتين دورة الخلية (Cycline dependent kinase cdk) وتنشيطه عامل التكاثر الخلوي (MPF) ودخول الخلية مرحلة الانقسام الخلوي، فبعد ١٢ تفليج متزامن تظهر دورة الخلية الاعتيادية.

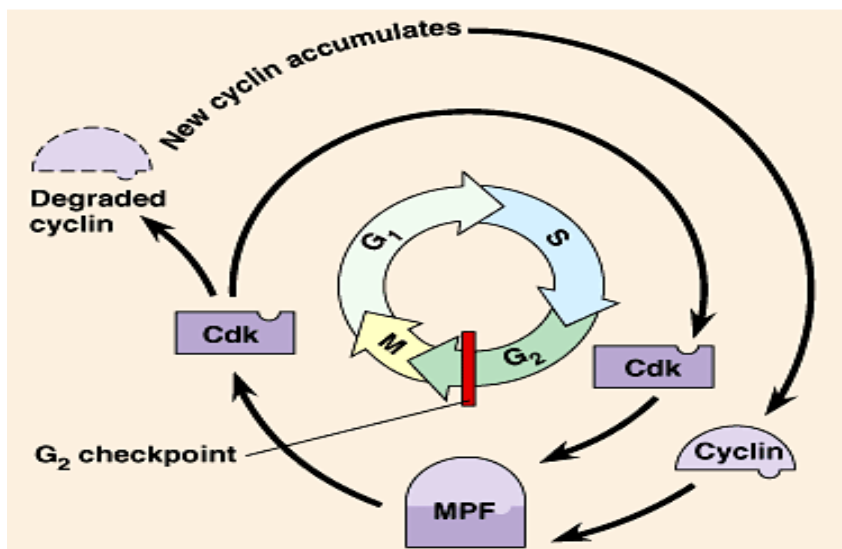


شكل رقم (٤, ٤). رسم يوضح الاختلاف بين دورة الخلية أثناء التفليح والخلية الجسدية (Cell cycle) (من الشبكة العنكبوتية):

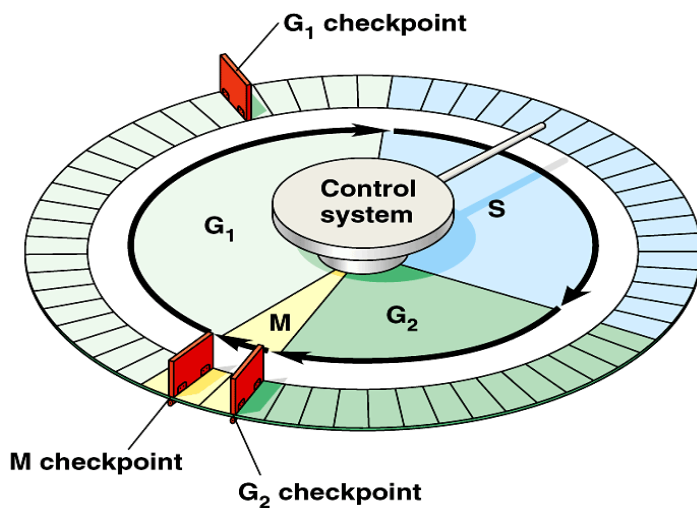


شكل رقم (٤, ٤) ب) مقارنة بين دورة الخلية أثناء التفليح خلايا الجنيني ودورة الخلية الجسدية ودور انزيم الكاينيز المعتمد على بروتين دورة الخلية (Cycline dependent kinase cdk) وتنشيطه عامل التكاثر الخلوي (MPF) ودخول الخلية مرحلة الانقسام الخلوي. نسخ الحمض النووي = S، مرحلة الانقسام الخلوي = M، المرحلة الفاصلة الأولى والثانية = G₂, G₁ (من الشبكة العنكبوتية)

(أ)



(ب)



شكل رقم (٤، ٤ ج، د). التحكم في دورة الخلية الجسدية ودور أنزيم الكينيزي المعتمد على بروتين دورة الخلية (Cyclin dependent kinase cdk) وتنشيطه عامل التكاثر الخلوي (MPF) ودخول الخلية مرحلة الانقسام الخلوي.

مميزات الانقسام الخلوي أثناء التفليج:

- ١ - الأنوية لا تحتوي على نويات في الفلجات بل تحتوي على جسم شبيه بالأنوية ليفية غنية (RNP) ولا تحتوي على (RNA).
- ٢ - تكرار حدوث النجمية الخلوية (Cytast) ولا تتطلب تصنيع (RNA) ولا تصنيع بروتين.
- ٣ - تكون المجموعات الصيغية (الكروموسومية) المختلفة ($4n, 3n$) نتيجة لعدم تكون الجسم المركزي أو السنترومير.
- ٤ - الموت المبرمج قد تكون ظاهرة طبيعية لبعض الخلايا مثل (الزغفة الذيلة الضفدعة) هو استجابة لهرمونات أو طفرة معينة.

التغيرات الكيميائية الحيوية أثناء التفليج Biochemical Changes during Cleavage

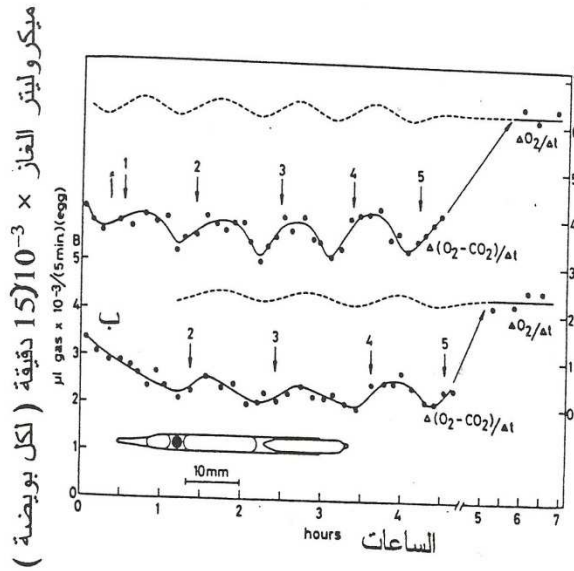
١ - إنتاج الطاقة :

يزداد استهلاك الأكسجين (O_2) أثناء التفليج شكل (٣-٥)، يتوقف التفليج عندما ينخفض محتوى مخزون الطاقة الخلوي ثلاثي فسفات الأدين (ATP) إلى ٥٠٪. التنفس يكون قليلاً أثناء الطور الاستوائي والانفصالي.

جهاز الانقسام MTOCs (Mitosis Organizing Center)

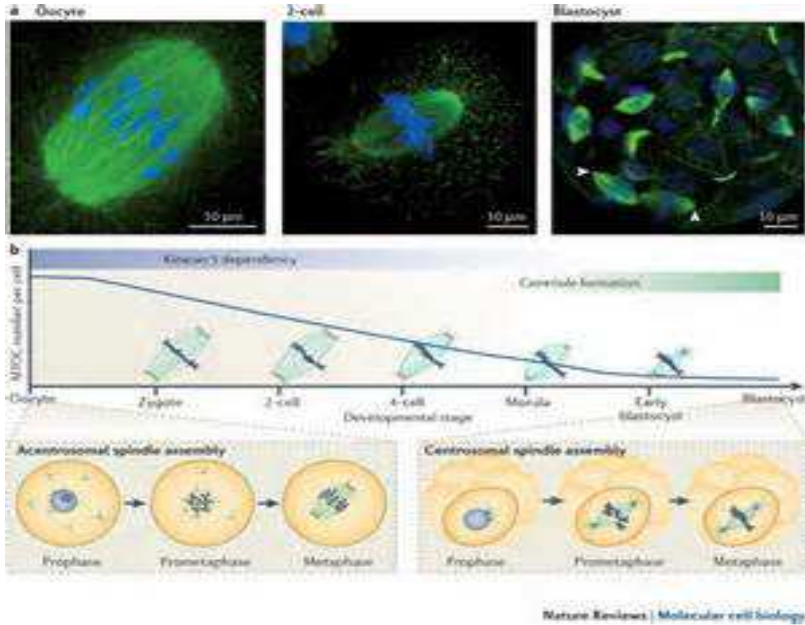
يشمل جهاز الانقسام: خيوط المغزل / الكروموسومات / الجسم المركزي (السنتريول) الذي يتكون من الحبيبتان المركزيتان، خيوط المغزل والنجميتان: تتكون من أنيبيبات دقيقة (شكل ٦, ٤)، توجد بعض الأحماض الريبوزية وهي عبارة عن تجمعات للريبوسومات محبوسة بين خيوط المغزل كذلك الجلايكوجين، جهاز الانقسام عدا الكروموسومات يتكون من بروتينات متنوعة (التوبولين Tubulin الفا وبيتا) رئيس فيها، تشكل الأنبيبات الدقيقة والتي تتكون منها خيوط المغزل التي ترتبط بها الكروموسومات أثناء مراحل الانقسام الخلوي، مصدر هذه الأنبيبات

الدقيقة هو الجسم المركزي عن طريق عملية التشكل (Assembly) لهذه الأنبيبات بإضافة بروتين التبولين عند استطالة خيوط المغزل أثناء مرحلة الاستوائية من الانقسام الخلوي، ويحصل تفكك لهذه الأنبيبات الدقيقة بإزالة التبولين (Diassembly) عند قصر خيوط المغزل أثناء المرحلة الانفصلية إلى الطور النهائي من الانقسام الخلوي، ويعتقد أن أيونات الكالسيوم الحرة (Free Ca^{++}) تلعب دوراً مهماً في عملية تفكك خيوط المغزل وإزالة البلمرة لبروتينات التبولين مبتدئة من خيوط المغزل قرب قرب قطر الخلية وتتقدم جهة قطب الخلية لحركة الكروموسومات باتجاه قطبي الخلية أثناء الطور النهائي للانقسام الخلوي، وهناك بعض المواد المثبطة لتكون جهاز الإنقسام وتثبت أو تحطيم.

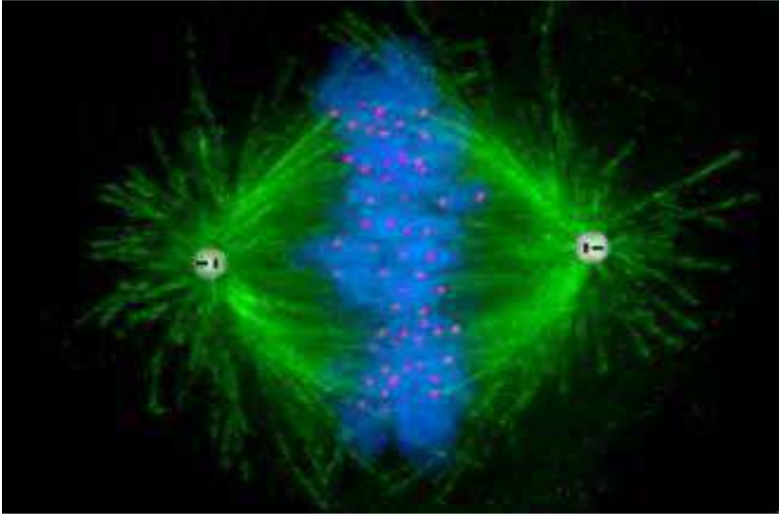


شكل رقم (٤, ٥). يوضح التنفس الخلوي في البويضات المخصبة يزداد استهلاك الأكسجين وإخراج ثاني أكسيد الكربون أثناء التفليج. (معدل الأكسجين على معدل الزمن المقاس على فترات) (من ٥-٥ ساعة، ٧-٥ ساعة، الخطوط المنقطعة توضح القيم العالية لمعدل الأكسجين بالنسبة للزمن، الاسهم توضح عندما يبدأ التفليج الأول، والمقياس الذي استعمل للمقياس مرسوم أسفل المنحنى. عن Zeuthen and Hamburg 1972.

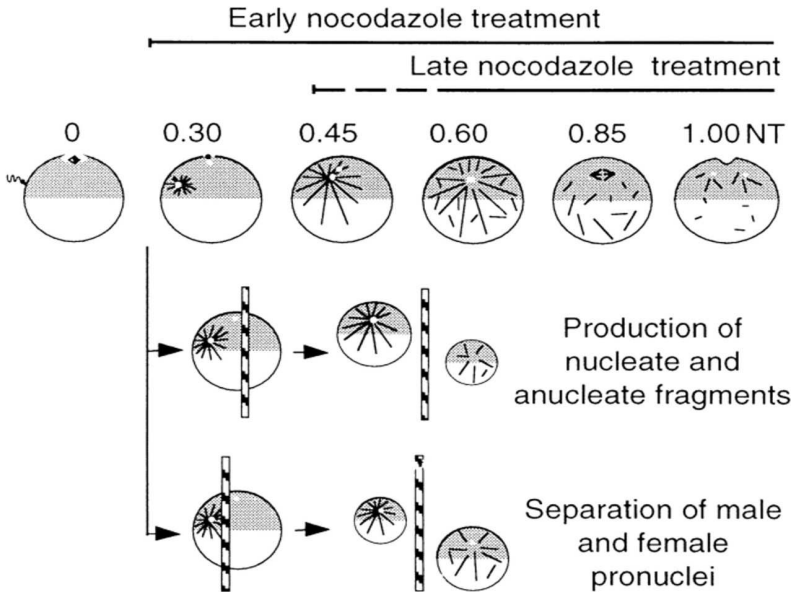
خيوط المغزل مثل الميركابتوإيثانول (HSCH₂-CHOH Mreaptoethnol) / التي تعمل على إذابة جهاز الانقسام في كل من بويضة قنفذ البحر دون التدخل بتضاعف الحبيبة المركزية للجسم المركزي أو تضاعف الحمض النووي للكروموسومات (DNA)، كما هو معروف فإن مادة الكولشيسين (Colchicine) تعمل على توقف خيوط المغزل مما يعمل على منع تشكل و بلمرت الأنبيبات الدقيقة وتوقف الانقسام في الطور الإستوائي، كما أن هناك عقاقير أخرى مثل فين بلاستين Vinblastin، ونوكودازول Nocozole، وبودفيلين Podophyllin وغيرها شكل (٤-٧)، لها التأثير نفسه وتستخدم لعلاج السرطان عن طريق تثبيط تشكل الأنبيبات الدقيقة وبالتالي توقف الانقسام تحرك الخلايا السرطانية، كل هذه العقاقير تثبط بشكل سريع عملية التفلق في الأجنة.



شكل رقم (٤-٦ أ، ب، أ) صور ورسم توضح جهاز الانقسام الخلوي من خيوط المغزل الحبيبتان المركزتان والكروموسومات. (من الشبكة العنكبوتية).



ب) صورة بالمجهر الضوئي الفلورسنتي توضح جهاز الانقسام الخلوي في خلية الإنسان.

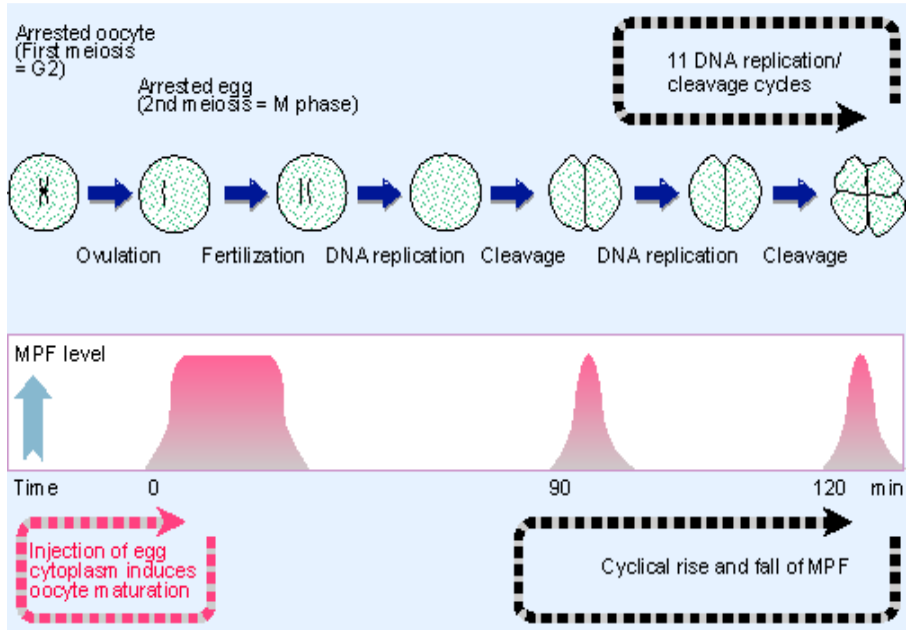


شكل رقم (٤, ٧). رسم يوضح تأثير المعاملة المبكرة بمادة النكودازول على تثبيط التفليج في البويضة المخصبة، مما ينتج بويضة ذات عدة أنوية أو انفصال النواة الذكرية عن النواة الأنثوية.

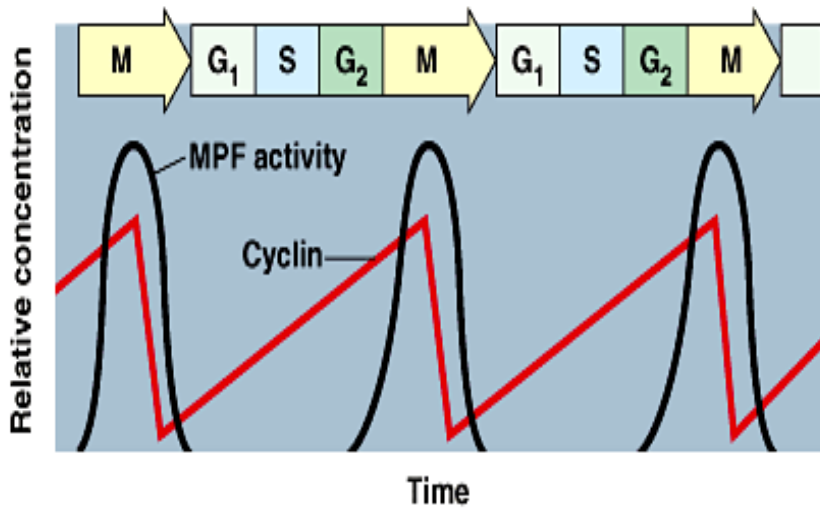
تضاعف الحمض النووي أثناء التفليج DNA Synthesis During Cleavage

تعد عملية التفليج هي أول مرة لتضاعف الحمض النووي المتشكل حديثاً في هذه البويضة المخصبة، فهناك عدد من الخصوصيات عند تحضير الحمض النووي (DNA) في مرحلة التفليج عند المقارنة في الانقسام الخلوي في الخلايا الجسدية، فالمرحلة البينية لدورة الخلية أثناء التفليج قصيرة جداً مقارنة بدورة الخلية الجسدية، حيث إن فترة تضاعف الحمض النووي (Sphase) في البويضات المخصبة والفجوات بشكل أسرع نظراً لكثرة مخزونها من النيوكليوتيدات والأنزيمات ومكونات الحمض النووي للكرنوسومات (DNA)، فأنزيم البلمرة الفا للحمض النووي (α DNA Polymerase)، والذي يعمل على بناء سلسلة نيوكليوتيدات جديدة على متممة شريط الحمض النووي (DNA Templet) يكون متوفر بكميات كبيرة في السيتوبلازم عند كل انقسام خلوي وتضاعف كل كروماتيدة في مرحلة تضاعف الحمض النووي (DNA S-phase) الشكل (٤-٨ أ، ب)، يوضح الزيادة في محتوى الحمض النووي (DNA) أثناء نضوج البويضة وإكمالها الانقسام الاختزلي وتكوين اللاقحة ثم تضاعف مادة الحمض النووي مع بداية أول انقسام غير مباشر أو ميتوتي للتفليج الأول بالتزامن مع تكوين عامل النضوج والتكاثر الخلوي Maturation or mitosis Promoting Factor (MPF)، أما الشكل (٤-٨ ج) يوضح منحني تضاعف الحمض النووي في بويضات قنفذ البحر، إن دورة الخلية أثناء التفليج لا توجد هناك مرحلة فاصلة أولى أو ثانية (G₁, G₂) فقط انقسام خلوي (M)، ثم مرحلة تصنيع الحمض النووي (S) أي تضاعف كل كروماتيدة نتجت من الانقسام لكي تتحول إلى كروموسوم. زمن التضاعف للحمض النووي في فلجات الضفدع ١٠ د، بينما في فلجات جنين الذبابة يأخذ ٣-٤ د. فلجات قنفذ البحر في طور ٤-٨ خلايا تستهلك كل بادئات الحمض النووي (DNA) وبالأخص الثيمدين، تحضير الأنزيمات المطلوبة لتحويل الثايمدين وبالأخص أنزيم مختزل الحمض النووي أو نازع الأكسجين (Ribo reductase) الذي يعمل على

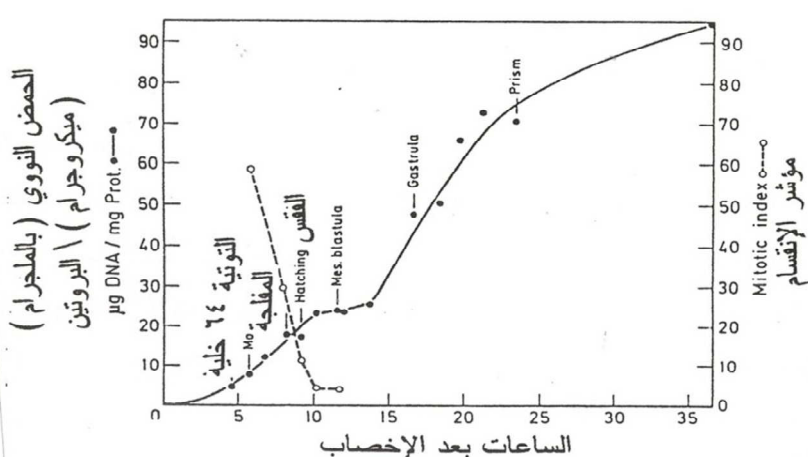
نزع ذرة الأكسجين من سكر الريبوز الخماسي ليحوّله إلى السكر منزوع الأكسجين يبدأ عند هذه المرحلة، فترة تضاعف الحمض النووي (DNA) سريعة وتقل عندما يقل نشاط الانقسام، تضاعف الحمض النووي يتوقف عند معاملة مرحلة التفليج بمادة الافيدوكولين (Aphidicolin) فهو يثبط عمل أنزيم البلمرة الفا للحمض النووي (DNA polymerase @)، وطريقة تضاعف الحمض النووي في الفلجات تشبه الطريقة التي يتم فيها مضاعفة الحمض النووي في الخلايا الجسدية، فعندما يتم مضاعفة الحمض النووي في بضع دقائق في تفليج جنين قنفذ البحر فإن المادة الكروماتينية تشكل مباشرة في نقاط التجمع النووية، وهذا يدل على التحضير السريع للهستونات حيث إن المادة الكروماتينية تتكون من الحمض النووي والهستونات، فبويضات قنفذ البحر والبرمائيات تحتوي على مخزون كبير من الهستونات أصلها من الأم أي صنعت في البويضة أثناء تواجدها في مبيض الأم، وبالرغم من ذلك فإن الإخصاب يتبعه تحضير قوي لجميع أنواع الهستونات؛ لأن هناك ما بين ٤٠٠ - ١٠٠٠ جين للهستونات في بويضات قنفذ البحر، فالهستونات تشكل ٥٠٪ من البروتينات التي تم تحضيرها أثناء التفليج، وتحضير الهستونات يزداد عند طور ١٦ خلية ويصل ذروته عند طور المفلجة (١٢٨ خلية) ثم يقل تدريجياً عند ٣٠٠ خلية في قنفذ البحر، وفي البرمائيات هناك مجموعة جديدة من جينات الهستونات تبدأ تشتغل عند طور المفلجة (١٠٠٠ - ٢٠٠٠ خلية).



(ب)



شكل رقم (٨، ٤، أ، ب). رسم تضاعف الحمض النووي أثناء نضوج البويضة وبداية مرحلة التفليج في اللاقحة أو الزيجوت (ب) بالتزامن مع زيادة محتوى عامل الانقسام الخلوي (MPF).



شكل رقم (٨, ٤ ج). شكل لمنحنى تضاعف الحمض النووي أثناء مرحلة التفلق في الاجنة.

تصنيع الأحماض النووية الريبوزية : RNAs Synthesis During Cleavage :

تحضير الأحماض النووية الريبوزية يكون ضعيفاً في بداية التفلق، فليس هناك تصنيع للأحماض الريبوسومية (rRNA) أثناء بداية التفلق في بويضات البرمائيات و قنفذ البحر، بل تستخدم ما هو مخزون بها من الريبوسومات، لكن هناك تصنيع بسيط للأحماض الريبوسومية في بويضات الفأر والأرنب فيما بعد فالمنظم النووي Nucleoar organizer (rDNA) الموجود على زوج من الكروموسومات غير نشط وقد يكون مرتبطاً بمشبط، والنويات الحقيقية غائبة في هذه المرحلة عدى بويضات الثدييات، يبدأ تصنيع الأحماض الريبوسومية في أجنة الطيور عند منتصف طور المفلجة.

يبدأ تصنيع الأحماض النووية المرسله (mRNA) أثناء التفلق المبكر (٨-١٦ خلية). ٨٠٪ من البروتينات تعتمد على الحمض النووي المرسل الأمي (mmRNA)، يبدأ تصنيع الأحماض الريبوسومية (rRNA) أثناء تحول طور المفلجة إلى المبطنة (البلاستولة إلى الجاسترولة) حيث يزداد تصنيع الأحماض المرسله (mRNA) شكل (٩, ٤).

يبدأ تصنيع الأحماض النووية الريبوزية الصغيرة (5S-RNA) والناقلة (tRNA) عند طور المفلجة المتوسطة (Mid blastula)، وهناك مثبت لتحضير الأحماض الريبوزية (RNAs) مرتبط بالحمض النووي (DNA) لكنه يستهلك بواسطة تكاثر الأنوية (نيوبورت ١٩٨٢م)، فهناك مثبت خاص لبويضات البرمائيات لبناء (rRNA)، وبويضات قنفذ البحر نفس بويضات البرمائيات إلا أنها تصنع الأحماض المرسله بوقت أبكر (عند التفليج الأول) ويزداد عند طور ٨-١٦ خلية، ٦٠٪ من الأحماض المرسله تشفر للهستونات وهي لا تحتوي على عديد الأدينين (Poly A)، ٣٠٪ من الأحماض المرسله تشفر لبروتينات غير هستونية (خالية من عديد الأدينين) بينما ١٠٪ من الأحماض المرسله جديدة وتحتوي على عديد الأدينين، لكن عند طور المفلجة ٥٠٪ من الأحماض المرسله تحتوي على عديد الأدينين، كما تحتوي على أحماض مرسله أمية الأصل ذات عديد الأدينين للهستونات وتتواجد في السيتوبلازم، ووجود أحماض نووية مرسله (mRNA) حديثة التحضير خاصة بالأكتين لكنها تبقى ساكنة خلال ٨ ساعات بعد الإخصاب ثم تزداد عند (١٨ ساعة) تصل إلى طور المفلجة المتوسطة غير المتميزة، كذلك هناك تحضير لأحماض مرسله خاصة بالتوبيلين يزداد عند مرحلة فقس المفلجة (طور المفلجة المتأخر).

وبويضات قنفذ البحر تحتوي على ثلاث أنواع مختلفة من أنزيمات البلمرة النووية الريبوسومية.

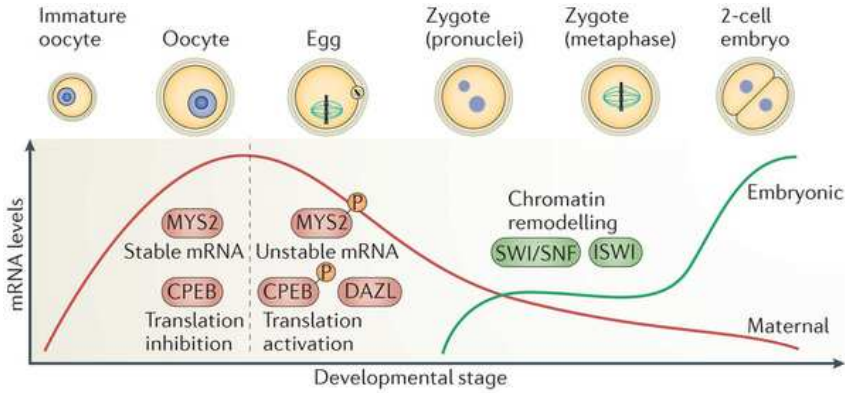
١- أنزيم البلمرة أو التشكل الأول (RNA Polymerase I) مسئول عن تحضير الأحماض الريبوسومية (rRNA) ويزداد بزيادة الخلايا.

٢- أنزيم البلمرة أو التشكل الثاني والثالث (RNA Polymerase II,III) ثابتة وأقل نشاط ويقل بزيادة الخلايا، الأنزيم الثاني مسئول عن تصنيع الأحماض المرسله (mRNA) الجديدة.

بعض التجارب عن تأثير المثبطات لتحضير الأحماض النووية عند مرحلة

التفليج توضح أهمية هذه الأحماض لمراحل النمو الجنيني:
فالأكتينوميوسين (Actinomycin) ليس له تأثير على انقسام الخلايا أثناء مرحلة التفليج (حتى مرحلة فقس المفلجة) لكن التبطين لا يحدث أبداً، وهذا يدل على أن:
أ- التفليج لا يحتاج إلى تعليمات بل تكون موجودة مسبقاً (masked mmRNA) مخفية

وأيضاً ليس هناك حاجة خلال هذه المرحلة لتحضير أحماض نووية ريبوزية أو مرسله (mRNA or RNA)، فالحقن بمجموعة الأمين ألفا (α -Amnition) تعمل على تثبيط أنزيم البلمرة الثاني (RNA Ploymerase II) وليس الأول.



شكل رقم (٩، ٤). شكل لمنحنى مستويات الاحماض النووية الريبوزية (mRNA) اثناء نضوج البويضة الى مرحلة التفليج في الاجنة. وتنشيط الجينات الامية (المنحنى البني) والجنين المنحنى الأخضر (من الشبكة العنكبوتية)

كذلك الحقن بالأكتينوميوسين يؤدي إلى توقف التفليج عند طور المفلجة فهي لا تحتوي على نويات، وهذه التجربة أظهرت أن تحضير الأحماض الريبوسومية لتكوين النويات ليس محكوماً فقط بأنزيم البلمرة الأول ولكن أيضاً بواسطة إزالة الكبح عن المنظم النووي (rDNA) الذي يكون متطلباً لتصنيع الأحماض المرسله بواسطة أنزيم

البلمرة الثاني، إذ أن التفليج يحصل في كلا البويضتين قنفذ البحر والبرمائيات لكن عملية التبطين لا تتم، فالأحماض الريبوزية المحضرة يحتاج إليها فيما بعد. الثدييات تختلف تمامًا التفليج بطيء وتصنع أحماضًا ريبوزية ضرورية لعملية التفليج والمعالجة بالأكسينو ميوسين توقف التفليج.

تصنيع البروتينات أثناء مرحلة التفليج Protein Synthesis During Cleavage

تصنيع البروتينات يزداد أثناء التفليج، فالتحضير للبروتينات يتبع التوزيع التدريجي للأحماض الريبوزية فهو يزداد في القطب الحيواني ويقل في القطب الخصري، أثناء التفليج يتم ترجمة كل الأحماض المرسله الحديثة والأمية، ويمكن تثبيط تحضير البروتينات بواسطة البيروميسين (Cycloheximide, Puromycin) حيث توقف تحضير البروتينات السيتوبلازمية وكذلك الحمض النووي (DNA)، ولا تلعب بروتينات الأجسام السبحية أي دور أثناء التفليج فإذا حقن مثبطاتها مثل كلورامفيكول (Chloramphenicol, Rifampicin) لا توقف التفليج؛ لذلك تلعب بروتينات الميتوكوندريا دورًا ثانويًا في عملية التفليج والنمو، لكن لها دور كمنتج للطاقة.

وأول ظهور للبروتينات في بويضات قنفذ البحر يكون عند طور ١٦ - خلية عندما يزداد الحمض المرسل (mRNA)، والبروتينات التي تزداد مثل الهستونات والتيويلين قبل أن تصل إلى طور المفلجة المهدبة، وفقس المفلجة من أنزيمات الفقس عند طور المفلجة، وتحضير أنزيمات الفقس عند مرحلة متأخرة من النمو (طور أبو ذنية المبكر).

هل دورات تحضير البروتينات له علاقة بدورات الإنقسامات الخلوية:

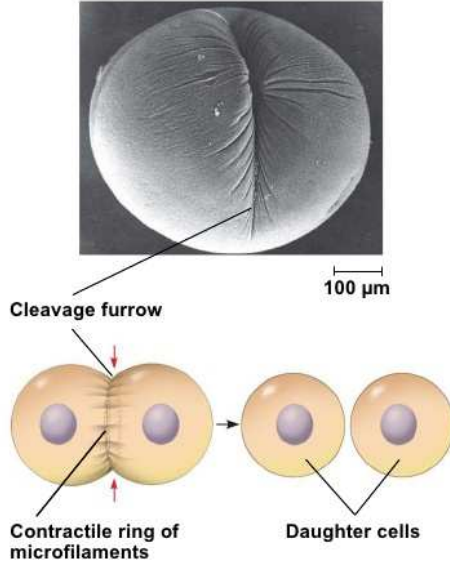
التجارب على بويضات قنفذ البحر أعطت نتائج متضاربة وإن كانت هناك اختلافات فهي كمية.

هناك تحضير لـ (٣-٤) أنواع من البروتينات أثناء وبعد الإخصاب أحدها السيكلين (Cyclen) يخففي ثم يظهر مع كل دورة خلوية وربما يكون مطابقاً لعامل التكاثر الخلوي (MPF) الذي يحفز تكسر الغشاء النووي وتكثف الكروموسومات. ربما تكون عديدات الأمينات (Polyamines) كالسبرمين والبيترسين (Putrecine, sprmidine, sprmine) هي التي تتحكم في تحضير الجزيئات الكبيرة حيث يزداد تحضيرها مع زيادة تكاثر الخلايا وتلعب دوراً في تحضير الأحماض النووية والريبوزية (RNA,DNA).

تكوين شق التفلج Furrow Formation:

إن الزيادة السطحية في المساحة لغشاء الخلية أثناء التفلج لا تعني زيادة في تصنيع البروتينات الغشاء (فليها مخزون)، وقشيرة بويضة قنفذ البحر لها خاصية بروتينات انقباضية تنقبض إذا اضيف مخزون الطاقة (ATP) إلى البيئة. تكون حلقة انقباضية تقسم الفلجة إلى فلجتين ويمكن تسييط انقباض اللييفات الدقيقة للأكتين بمعاملة الأجنة بمادة الستوكالشين-ب (Cytochalasine-B) حيث يمنع تشكل الحلقة الإنقباضية مما يوقف شق التفلج، كذلك فإن النجمية الحبيبة المركزية تطلق عوامل تؤثر على تنظم اللييفات الدقيقة في منطقة قشيرة البويضة وتحفز تشكيلها على شكل حلقة إنقباضية لشق التفلج أو الانقسام شكل (٤-١٠)، والتفلج في البرمائيات يظهر بعض المشاكل في تكوين شق الانقسام إذ يبدأ انقسام النواة للتفلج الثاني ولم تكمل شق التفلج الأول لوجود المح. كذلك ظهور هلامية ذات قوام كثيف حول الحبيبة المركزية (النجمية) عند الطور النهائي.

LE 12-9a



شكل رقم (١٠، ٤). تكوين شق التفلق أثناء الانقسام الخلوي لطور الخليتين.

تكوين خرائط المصير : Fate Map

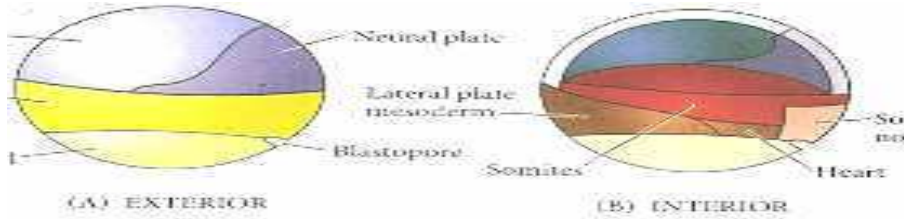
من مميزات مرحلة التفلق أن الباحثين استطاعوا أن يرسموا خريطة افتراضية على طور المفلجة (البلاستولة) للجنين حيث تم توزيع مناطق البلاستولا إلى مساحات وأجزاء حيث إن كل مجموعة معينة من مناطق المفلجة سوف تنمو فيما بعد وتكون جهازاً معيناً ترسم على المفلجة وسمية بخريطة المصير، وقد تم معرفة ومتابعة ذلك باستخدام الأصباغ الحيوية، ولتتبع خط سير خلايا البلاستولا عبر مراحل النمو، فقد ابتكر هذه الطريقة الباحث فوق Vogt، لكن هناك عدة طرق لتتبع خط سير الخلايا لرسم الخرائط المصيرية للأجنة في طور المفلجة وتتلخص بالآتي:

- ١- الأصباغ الحيوية: (تحمّل في الآجار أو السلوفان) وهى غير ضارة ولها القدرة على الاحتفاظ باللون بعد الانقسام للخلايا أو الفلجات وتشمل الأصباغ الآتية:

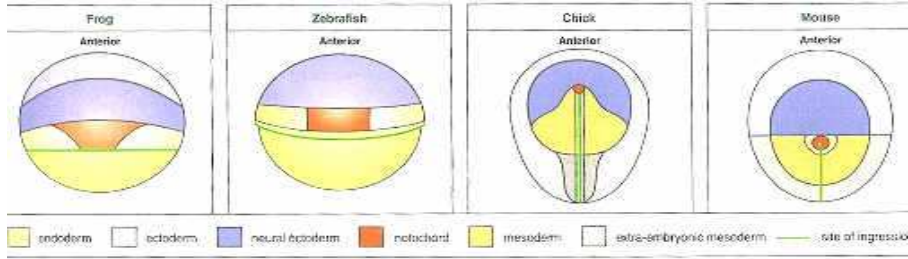
الأحمر المتعادل Neutral Red الأزرق النيل Nile blue sulphate، الصبغة الخضراء Janus green. شكل (٤-١١، أ، ب).

٢- المواد المشعة غير ضارة Radiochemicals مثل الشيمدين المشع للتبع الإنقسامات الخلوية للفلجيات .

ومن خلال خراط المصير التي رسمت تمت معرفة أصل الخلايا التي سوف تكون الأجهزة والأعضاء من أي خلايا البلاستولة جاتحيث من المعلوم أن تلي مرحلة التفليج تتحول المفلجة إلى المبطنة أو الجاسترولة التي تتكون من ثلاث طبقات جنينية طبقة الخارجية (الاكتوديرم) التي سوف تتكون منها الجهاز العصبي والجلد، ثم الطبقة المتوسطة (الميزوديرم) التي سوف تعطى العضلات واعظام والوعائية الدموية القلب وغيرها، ثم الطبقة الداخلية (الأندوديرم) التي سوف تكون القناة الهضمية وملحقتها والجهاز التنفسي الرئتين الشكل (٤-١٢).



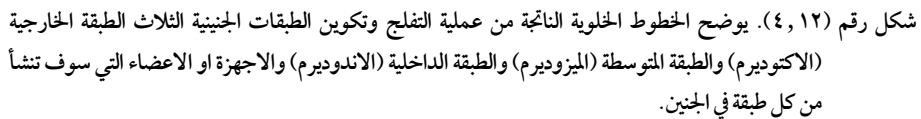
شكل رقم (١١، ١٤). رسم خرائط المصير لجنين الضفدعة: توضح أصل نشأت الطبقات الجنينية الثلاث الخارجية: الاكتوديرم (الأزرق) والمتوسطة أو الميزوديرم (الأحمر)، والداخلية أو الاندوديرم (الاصفر).



شكل رقم (١١, ٤ب). الخريط المصيرية لبعض الاجنة: الخريطة المصيرية لكل من جنين الفأريمن الصور ثم الخريطة المصيرية لجنين الدجاج / الخريطة المصيرية لجنين السمكة المخططة (Zebra fish) ثم الخريطة المصيرية لجنين الضفدعة يسار الصورة

الخلاصة:

الهدف من التفلج هو تكوين العديد من الخلايا وإعادة النسبة بين النواة والسيتوبلازم في البويضة، تكون الخلايا متطلب للتحركات الخلوية التشكيلية (Morphogenetic movement) والتحفيز لما بعد ذلك، فتشيط التفلج لا يثبط التحركات التشكيلية للخلايا، فالتفلج يعد مادة نموذجية لدراسة تضاعف الحمض النووي والعوامل التي تتحكم به، كما أن التفلج مادة جيدة لمتابعة مصير الفلجات ورسم خرائط المصير لها، فالشكل (٤-١٢) يوضح الخطوط الخلوية الناتجة من عملية التفلج وتكوين الطبقات الجنينية الثلاث الطبقة الخارجية (الاكتوديرم) والطبقة المتوسطة (الميزوديرم) والطبقة الداخلية (الأندوديرم) والأجهزة أو الأعضاء التي سوف تنشأ من كل طبقة في الجنين.



(عن ماهر ابراهيم كتاب مقدمة في علم الاجنة ١٩٨٠م).

التكوين الجزيئي لمرحلة التبطين وبداية التمايز الخلوي في الاجنة The Molecular Biology of Gastrulation of Embryos

التبطين وتكوين الطبقات الجنينية الثلاث Gastrulation and the three layer formation

تعريف التبطين Gastrulation:

التبطين هو المرحلة التي تلي مرحلة التفليج في الجنين ويتحول فيها الجنين الذي كان يتكون من طبقة واحدة خلال مرحلة المفلجة إلى جنين يتكون من ثلاث طبقات خلوية وذلك نتيجة لتحرك الخلايا وهجرتها من سطح الجنين إلى داخل لتبطن خلايا الجنين من الداخل، وكذلك بداية تكوين المعى القديم (Archenteron) أو التجويف الداخلي (البطن) للجنين ولذلك سمية بعملية التبطين (Gastrulation) ويعرف الجنين في هذه المرحلة بالمبطنة أو بالجاسترولة (Gastrula).

في بداية التبطين يتكون الجنين من طبقتين خارجية أو علوية تسمى بالأكندوديرم (Ectoderm) وطبقة داخلية أو سفلية تسمى بالأندوديرم (Endoderm) ثم تبدأ تهاجر أو تنغمد الخلايا من السطح لتكون طبقة متوسطة بين الطبقتين تسمى بالطبقة المتوسطة أو الميزوديرم (Mesoderm).

خصائص ومميزات مرحلة التبطين: تتميز مرحلة التبطين بالآتي:

١ - هي أول مراحل التمايز الخلوي (Cellular differentiation)

- ٢- تبدأ خلايا الجنيني تترتب في طبقات محددة من خلال التحركات الشكلية للخلايا (Morphogenetic movements).
- ٣- الطبقات الجنينية الثلاث (الخارجية الأكتوديرم / المتوسطة الميزوديرم / الطبقة الداخلية الأندوديرم) تنشئ منها جميع الأعضاء في جسم الجنين.
- ٤- الانقسامات الخلوية تفقد التزامن فيما بينها
- ٥- تتغير عملية الأيض داخل الخلايا وتصبح عملية الأكسدة هي السائدة.
- ٦- النواة في هذه المرحلة يكون لها أثر أكثر مما سبق في عملية التحكم وتظهر الكروموسومات أو الجينات الأبوية تأثيرها خلال هذه المرحلة.

مراحل عملية التبطين في الأجنة :

تختلف طريقة عملية التبطين في الأجنة المختلفة، فعملية التبطين مثلاً في مفلجة جنين الضفدعة (البرمائيات) تختلف قليلاً عن طريقة التبطين في مفلجة السهم أو قنفذ البحر حيث تتم عملية التبطين في السهم وقنفذ البحر عن طريق إنغماد خلايا منطقة القطب الخصري حتى تلامس الجدار لمنطقة القطب الحيواني كما لو تكون ضغطت بالونة من جانب واحد ليلاصق الجانب الآخر، بينما في مفلجة الضفدعة ونظراً لوجود كمية مح كبيرة في القطب الخصري. فأول مظهر التبطين لتكوين الجاسترولة في البرمائيات هو ظهور حز أو شق على شكل شفة في موقع بين خط الوسط ومنطقة القطب الخصري لمفلجة (بلاستولة) الضفدعة، تنساب من خلال الشق خلايا من نصف القطب الحيواني إلى الداخل وذلك؛ لأن سرعة انقسام الخلايا في القطب الحيواني أكبر وأكثر عددًا من منطقة القطب الخصري، يسمى هذا الشق بالشفة الظهرية (Dorsal lip) وآخر بالشفة البطنية لثقب الجاسترولة أو المبطنة، شكل (٥-١)، تأخذ الخلايا والتي تهاجر عند منطقة الشفة في جنين الضفدعة شكلاً كمثرياً لوجود حركة سحب إلى الداخل وأول خلايا تجد طريقها إلى الداخل هي الخلايا عند

الشفة الظهرية وما أن تترك مكانها متجهة للداخل تحل مكانها مجموعة أخرى، ثم تتحرك إلى أعلى من الداخل لتبطن السطح الخارجي. يتكون تجويف صغير بين الخلايا المنغمدة للداخل والخلايا المحية يعرف بالمعي القديم (Archenteron)، وفي الوقت نفسه يبدأ يقل حجم تجويف المفلجة (Blastocole).

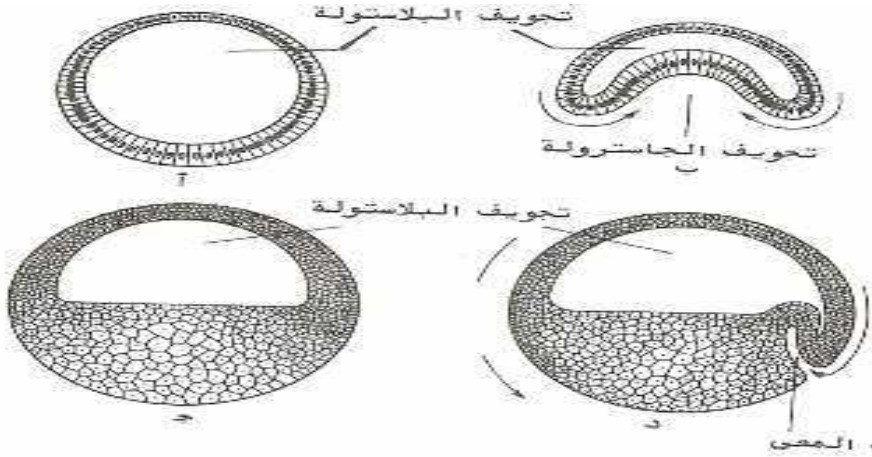
يكون الزحف في البداية من منطقة الشفة الظهرية ثم لا يلبث أن تكون هناك زحف آخر للخلايا من الشفة البطنية حتى تكون في النهاية دائرة أو حلقة حول الخلايا المحية أو منطقة القطب الخصري والتي تشبه سدادة للكرة فتعرف بالسدادة المحية للجنين (Yolk plug) (شكل ٢, ٥). وما أن يتم تكوين المبطنة أو الجاسترولة حتى تبدأ السدادة المحية بالتناقص نتيجة لزحف خلايا القطب الحيواني حولها من كل اتجاه، ثم تلتحم الشفتان في النهاية وتتحول إلى ميزاب طولي صغير يعرف باسم الخط البدائي له ثقبين دقيقين يقفل البطني ويظل الظهرى مفتوحاً لمدة ثم يقفل فيما بعد.

بعد تمام عملية التبطين يتحول الجنين من كرة جوفاء ذات طبقة واحدة (البلاستولة) إلى جسم مكون من ثلاث طبقات الخارجية تعرف بالأكتوديرم (Ectoderm) والداخلية تعرف بالاندوديرم (Endoderm) والخلايا التي هاجرت من الخارج للداخل تكون الطبقة المتوسطة والتي تعرف بالميزوديرم (Mesoderm)، وتنشأ من هذه الطبقات الجنينية الثلاثة كل أعضاء الجنين فيما بعد.

الحث الجنيني و التمايز الخلوي Embryonic Induction and Cellular Differentiation

كما هو معلوم فإن الكائنات الحية تنشأ من الأجنة التي تكونت من البويضة المخصبة التي تعد أول خلية من خلايا الجنين ثم تتفلج لتعطي التوتية ثم المفلجة (البلاستيولا) ثم المبطنة (الجاسترولة) والتي تبدأ معها الخلايا بالتمايز لتعطي الطبقات الجنينية الثلاث للكائن الحي فيما بعد الذي بدوره يختلف عن الكائنات الحية الأخرى، لكن كيف لهذه الخلايا التي نشأت من خلية واحدة أن تختلف عن بعضها البعض على

الرغم من أنها تحتوي على الكروموسومات والجينات نفسها، إنه من خلال عمليات التحديد والتحفيز والتمايز الخلوي خلال عملية التكوين الجنيني.



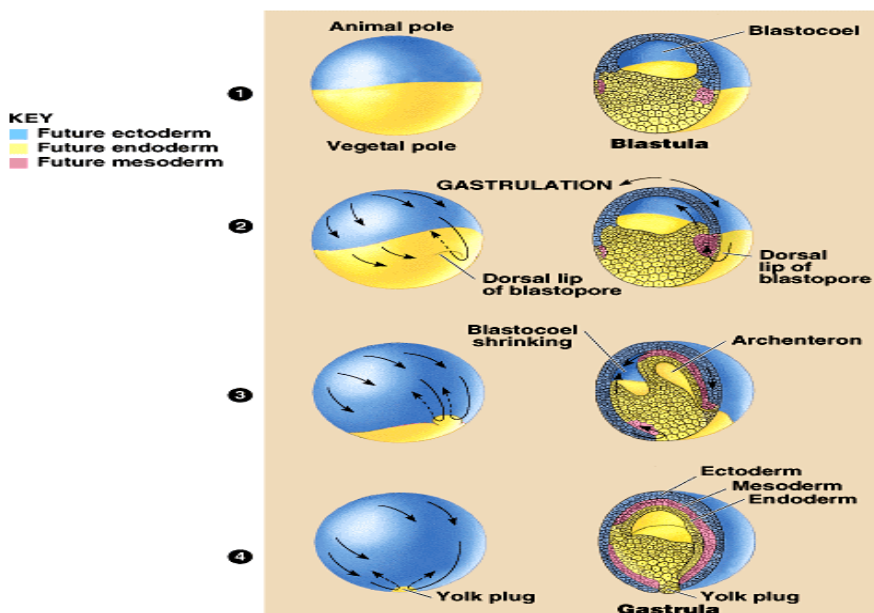
شكل رقم (١, ٥). مقارنة عملية التبطن في مفلحة السهم بالرمائيات وتكوين المبطن أو الجاسترونة وتحويفها (المعني القديم).
أ-ب في جنين السهم تنغمد خلايا القطب الخصري باتجاه القطب الحيواني إلى الداخل، ج-د بينما في البرمائيات تهاجر خلايا القطب الحيواني من خلال ثقب المفلحة إلى الداخل لتبطن الخلايا الخارجية (عن ماهر إبراهيم ١٩٧٨م).

فالتكوين الجنيني: Development:

يشتمل التكوين الجنيني على مرحلتين رئيسيتين: ١ - النمو ٢ - التمايز الخلوي

١ - النمو: Growth:

وهو الزيادة في عدد الخلايا وحجمها ووزن الجسم للجنين، ويحدث بواسطة تكاثر الخلايا عن طريق الإنقسامات الخلوية أو زيادة حجم الخلايا بزيادة السيتوبلازم (كالويضات والخلايا العصبية) أو بما يعرف النمو الخلالي وهو زيادة المادة بين خلوية كما في الأنسجة الضامة.



شكل رقم (٢، ٥). مراحل التبطين وتكوين المبطنة أو الجاسترولة، كمثال في جنين الضفدعة حيث تزحف خلايا الطبقة الخارجية (الإكتوديرمية) من خلال ثقب المفلجة (Blastopore) للداخل فتبطن الخلايا الخارجية من الداخل، لتكون الطبقة المتوسطة الميزوديرم، ويبدأ يتكون تجويف المبطنة (المعي القديم Archenteron) ليحل محل تجويف المفلجة. (من الشبكة العنكبوتية).

٢- التمايز الخلوي Cellular differentiation:

التمايز هو عملية تحول الخلايا الجنينية المتماثلة والمبكرة في النمو بحيث تصبح هذه الخلايا الجنينية مختلفة عن بعضها البعض من حيث الشكل والوظيفة، فتصبح هذه الخلايا المتمايزة ذات شكل معين ووظيفة محددة، و مراحل نمو الجنين المبكرة تمر بعملية التمايز الخلوي لكي تعطي الخلايا والأنسجة المختلفة فمثلاً الطبقة الخارجية (الإكتوديرم): تعطي خلايا الجلد والخلايا العصبية، والطبقة المتوسطة (الميزوديرم): تنشأ منها معظم الأجهزة كالعضلات والجهاز الدوري والجهاز البولي والتناسلي، والطبقة الداخلية (الاندوديرم): تعطي القناة الهضمية وملحقاتها والجهاز التنفسي.

إن قدرة الخلايا على التمايز في بداية التكوين الجنيني المبكر تكون متساوية حيث يمكن للخلايا أن تتمايز إلى أي نوع ثم تفقد قدرتها بالتقدم في نمو الجنين، إن الخلايا إذا تمايزت فإنها تفقد قدرتها على التمايز مرة أخرى أي لم تعد قادرة أن تعطي أي نوع من الخلايا أو الأنسجة غير النوع الذي تمايزت إليه ولا يمكنها أن تتغير، فإذا ما قدر لخلايا معينة أن تتمايز إلى خلايا عصبية مثلاً فإنها تبقى كخلايا عصبية ولا يمكنها أن تتحول إلى خلايا أخرى.

يسبق عملية التمايز الخلوي والتحول في الشكل الظاهري للخلايا ما يعرف بعملية التحديد (Determination) الخلوي أو البرمجة المسبقة على المستوى الجزيئي بحيث يحصل تغير وتحول وتنشيط لجينات أو مورثات معينة في هذه الخلايا التي سوف تتمايز لكي تمهد نحو تغير شكلها الظاهري فيما بعد لتعطي النسيج أو الجهاز المعين.

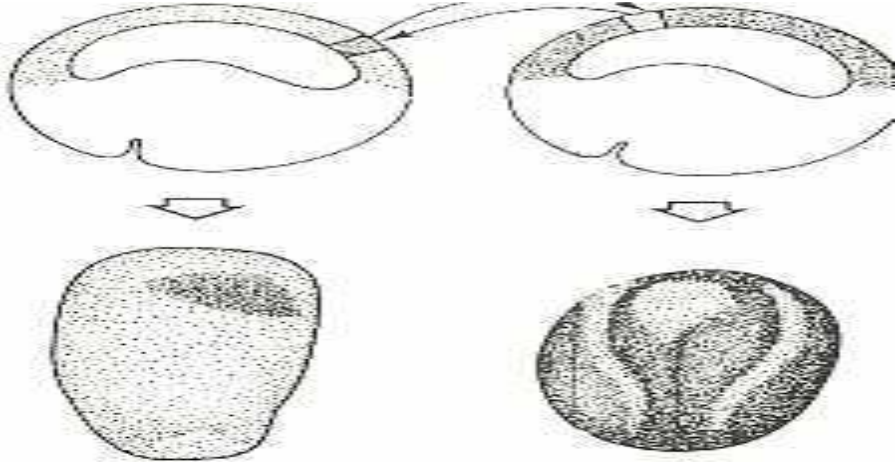
فالتحديد هو عملية داخلية تسبق عملية التمايز الخلوي أو التغير في الشكل الظاهري وهو الذي تتحدد من خلاله الخصائص والميزات داخلياً قبل ظهورها على الخلايا المتمايزة؛ لذلك إذا تحدد مصير خلايا معينة لكي تتمايز إلى نسيج معين فإنه لا يمكن تغييرها، مثل البيض الذي نغليه بالماء لا يمكن إعادته لحالته.

فعند عمل تبادل لنقل وزراعة منطقة الأنبوبة العصبية مكان منطقة الجلد والعكس بين جنينين مختلفين من حيث الصبغات وذلك بنقل أجزاء من منطقة الطبقة الخارجية الأكتوديرم (منطقة الأنبوبة العصبية في المستقبل)، لمفلجة أو بلاستولة مبكرة لجنين الضفدعة ذو صبغات وزراعتها على جنين آخر عديم الصبغات وبالعمر نفسه لكن في مكان منطقة الجلد وأخذ منطقة الجلد وزراعتها على الجنين الأول نفسه مكان الأنبوبة العصبية فإن كل جزء منقول نمت حسب المكان الذي نقلت إليه ولم يمت حسب ما هو مقدر له، أي أن النسيج المقدر أن يكون الأنبوبة العصبية نمت كجزء من منطقة الجلد والجلد نمت كجزء من منطقة الأنبوبة العصبية في الجنيني الذي نقل إليه (الشكل

٣, ٥, أ)، لكن عند نقل هذه الأجزاء بين مفلجتين متأخرتين في العمر نمي كل جزء حسب ما هو مقدر له، أي نمي إلى نسيج الأنبوبة العصبية أعطى أنبوبة عصبية على الجنيني المنقول إليه والجلد أعطي جلد على الجنيني المنقول إليه شكل (٣, ٥, ب). وهذا يدل على أن المرحلة المبكرة للمفلجة لم يحدث عملية تحديد للنسيج المنقول قبل نقلة وبالتالي نمي حسب المنطقة التي نقل إليها، لكن عند النقل من مفلجة متأخرة في العمر فإن خلايا الأنسجة المنقولة قد تم تحديد مصيرها وبالتالي نمت كما هو محدد لها وليس حسب المكان الذي نقلت إليه؛ ولكي يحصل التحديد المصير للخلايا لابد من عملية التحفيز الخلوي.

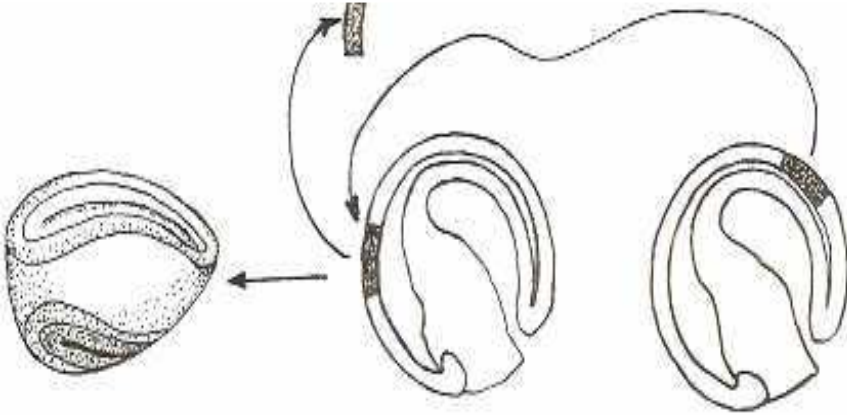
التحفيز الخلوي أو الجنيني Embryonic Induction :

التحفيز الخلوي هو الذي يحدد مصير الخلايا لكي تعطي ذلك النسيج أو العضو المتمايز. التحفيز الخلوي أو الجنيني هو قدرة خلايا معينة في الجنين على تحديد خلايا أخرى وتحويلها، إذا كان عملية التمايز الخلوي تتطلب عملية التحديد فإن التحديد يتم عن طريق التحفيز الجنيني للخلايا، فالتحفيز الجنيني هو الذي يحدد مصير الخلايا لكي تتمايز وتعطينا الأنسجة والأجهزة والأعضاء المختلفة، وإذا النسيج الحاث يصدر رسالة محفزة تؤدي إلى تحديد خلوي على المستوى الجزيئي في النسيج المستجيب فيحدث التمايز الخلوي أو الجنيني فيما بعد، كما هو معلوم فإن الأجسام الصبغية أو الكروموسومات والمورثات أو الجينات التي تحملها في جميع خلايا الجنين هي نفسها التي جاءت من البويضة الملقحة، لكن التحفيز الجنيني يعمل على تنشيط الجينات أو المورثات الخاصة بتكوين الخلايا العضلية شكلاً ووظيفة مثلاً بينما تبقى المورثات الأخرى مثبطة أو غير نشطة التي ليس لها علاقة بالنسيج العضلي كالجينات الخاصة بالسمع أو البصر مثلاً والعكس صحيح.



شكل رقم (٣، ٥، أ، ب) رسم يوضح عملية التحديد الخلوي للأجنة Cellular Determination

أ- نقل وزراعة الأنسجة قبل حدوث عملية التحديد: عند نقل أجزاء من نسيج منطقة الأنبوبة العصبية في مرحلة المبطنة أو الجاسترولة المبكرة (لجنين الضفدعة داكن اللون) وزراعتها على جنين آخر (فاتح اللون) مكان نسيج منطقة الأدمة، فإن نسيج الأنبوبة العصبية نمي كجزء من منطقة الأدمة (الداكن).



ب- نقل وزراعة الأنسجة بعد حدوث عملية التحديد: عند نقل وزراعة نسيج الأنبوبة العصبية (الداكن) في طور المبطنة أو الجاسترولة المتأخرة (بعد حدوث عملية التحديد) فإن النسيج المنقول نمي وأعطى أنبوبة عصبية ثانوية أخرى على الجنين المنقول إليه، وذلك لأنه عند نقلة كان النسيج قد تحدد مصيره على المستوى الجزيئي. (عن الحميدي والكريم ١٤٢٩هـ).

والسؤال الذي يتبادر إلى الذهن الآن هو كيف تتم عملية التحفيز الخلوي أو الجنيني للخلايا.

الحث الجنيني: Embryonic induction:

لقد عرف اوبنهيمر (Oppenheimer, 1984) الحث الجنيني بأنه عبارة عن تفاعل بين نسيج ما يسمى النسيج الحاث (Inducing Tissue) ونسيج آخر يسمى النسيج المستجيب Responding Tissue، كما ذكر ولبت وهولدر (Walbot and Holder 1987) أن الحث الجنيني هو تداخل بين مجموعتين أو أكثر من الخلايا الجنينية التي تغير أو تحدد على الأقل مصير نمو واحدة من الخلايا، فالخلايا التي تغير من شكلها تسمى بالنسيج المستجيب. فالحث الجنيني هو الآلية الأولية لسلسلة متوالية التمايز الخلوي لتكوين الأعضاء في الجنين؛ فهو المسئول عن عملية التحديد الخلوي أثناء التكوين الجنيني المبكر، فمثلاً الحويصلة البصرية تحت طبقة الخلايا الخارجية المواجهة لها (الأكوديرم) بحيث تتحول أو تكون عدسة العين لذلك لا يتم تكوين العدسة قبل الحويصلة البصرية وكذلك لو كان هناك مانع ما أو غياب للجين الذي يحث تكوين العدسة في هذه الفترة الزمنية من عمر الجنين فإن عدسة العين لا تتكون ويستمر نمو الجنين لكن بدون عدسة عين ولا يمكن تحفيزها فيما بعد، فالحث الجنيني يحصل أثناء مرحلة زمنية معينة وحساسة من مراحل النمو والنسيج المتأثر بهذا الحث يجب أن يكون مؤهلاً للاستجابة لهذا الحث في تلك الفترة الزمنية حتى يتم التأثير بهذا الحث، كالراكب الذي يصل بعد إقلاع الطائرة أو فوات القطار، لكن كيف يحدث هذا الحث الجنيني؟ إنه من خلال المنظمات الجنينية.

المنظمات الجنينية (Embryonic Organizer):

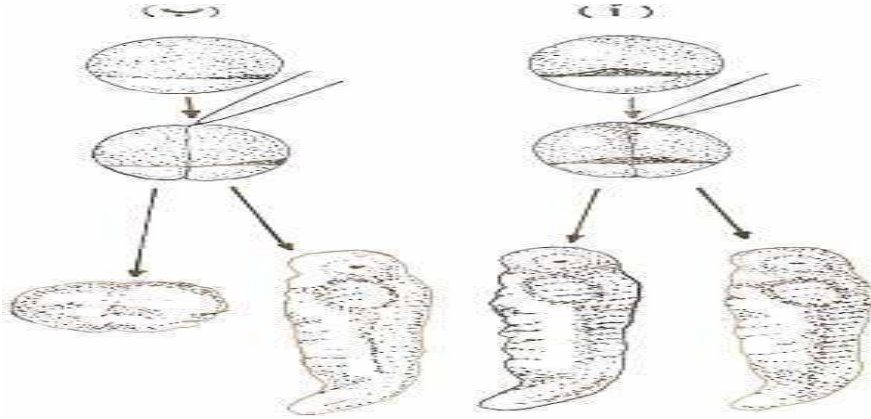
المنظم هو قدرة نسيج معين على تحويل أو تحفيز نسيج أو أنسجة أخرى لكي

تتمايز وتعطي أعضاء أثناء مراحل التكوين الجنيني المبكرة، ففي البرمائيات وجد أن الشفة الظهرية لثقب المفلجة (Blastopore) وعقدة هنسن في أجنة الطيور والثدييات هي المنظمات الجنينية في هذه الأجنة حيث تعمل على تحفيز تكوين الأنبوبة العصبية فيها، وذلك من خلال تجارب نقل وزراعة أجزاء من الأجنة إلى أجنة أخرى.

المنظم الجنيني في جنين البرمائيات:

من خلال التجارب التي أجراها هانس سبيمان على أجنة البرمائيات المبكرة وذلك عند فصل البويضة المخصبة إلى جزئين بحيث يحتوي أحدهما على منطقة الهلال السنجابي أو الرمادي (Gray crescent) والأخرى لا تحتوي عليه، فإن الأولى تنمو وتكون جنيناً كامل التكوين بينما الأخرى لا تنمو (شكل ٤، ٥)، كما أن نقل وزراعة أجزاء من منطقة الهلال الرمادي لجنين الضفدعة على جنين آخر تؤدي إلى تحفيز تكوين أنبوبة عصبية على الجنين المستقبل، لقد استطاع كل من هانس سبيمان وطالته هيلدي مانقولد عام ١٩٢٤م (Hans Spemann and Hilde Mangold) من نقل الشفة الظهرية لطور المبطنة (الجاسترولة) المبكرة لجنين العلاجم (Newt) داكن اللون من نوع تريتوريس تنيوتس (*Triturus taeniatatus*) وزراعة في منطقة الأكتوديرم البطني لمبطنة جنين آخر ذو لون فاتح من نوع تريتوريس كريستاتس (*Triturus cristatus*) فإنها لم تتوقف عند تكوين ثقب آخر للمفلجة (Blastopore) بل كونت عملية تبطين أخرى وتكوين جنيني آخر في محيط نسيج المنطقة التي زرعت فيها (الشكل ٥، ٥)، لقد سمى سبيمان الشفة الظهرية لمبطنة جنين النيوت والصفدعة والسهم بالمنظم الجنيني (Embryonic Organizer) فعرفت الشفة الظهرية بالمنظم الابتدائي (Primary Organizer) الذي يعمل على تكوين الأنبوبة العصبية حيث تعد هي المحفز الجنيني الابتدائي (Primary embryonic induction)، فالمنظم الجنيني هنا الشفة الظهرية لم تعمل على تحفيز وتكوين الأنبوبة العصبية فقط بل حتى عملية التوجه لمحور الجنين الأمامي الخلفي

أي أن يكون المخ الأمامي في المقدمة ثم المخ المتوسط ثم المخ الخلفي ثم الحبل الشوكي في الخلف. ولمعرفة قدرة المنظم الجنيني حسب العمر الزمني أو حسب مراحل نمو الجنين وقدرته أو بما يسمى الخاصية المرحلية للتحفيز (Stage dependence of induction) على التحفيز وتكوين الأعضاء المختلفة فقد قام هولت فريتر (Holtfreter 1936) بوضع الشفة الظهرية لمبطنة أو جاسترولة مبكرة (Early blastopor) تحت نسيج الطبقة الخارجية (الأكثودير) غير المتميز، وقد عملت على تحفيز تكوين الجزء الأمامي للرأس شكل (٥، ٦)، وعندما غير ووضع الشفة الظهرية لمبطنة أو لجاسترولة متأخرة (Late blastopore) فقد عملت على تحفيز لتكوين الجزء الخلفي للأنبوبة العصبية، ولمعرفة بما يسمى الخاصية المكانية للتحفيز (Regional specificity of induction) فعند نقل وزراعة



شكل رقم (٤، ٥). المنظمات الجنينية للبرمائيات ودورها في عملية التمايز للأجنة:

دور الهلال الرمادي (Gray crescent) في تمايز جنين البرمائيات:

(أ) عند فصل بويضة البرمائيات حيث يحتوي كل قسم على جزء من الهلال الرمادي

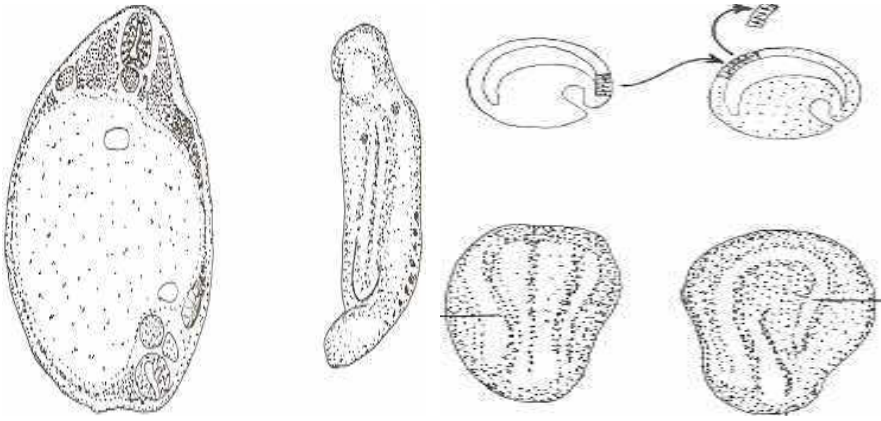
(الفصل على مستوى خط التفalg الأول) فإن كل قسم ينمو ليكون جنيناً كاملاً النمو.

(ب) عند فصل البويضة المخصبة بحيث يحتوي أحد القسمين على الهلال الرمادي بينما القسم الآخر لا يحتوي على

أي جزء من الهلال الرمادي فإن الجزء الأول ينمو بشكل سليم والآخر لا ينمو بشكل سليم. (الحميدي

وكريم ١٤٢٩هـ).

الجزء الأمامي فقط لقطعة من خلايا الحبل الظهرى في طور الأنبوبة العصبية ونقلها إلى جنين في طور المبطنة الجاسترولة المبكرة، فإنها تؤدي إلى تكوين رأس جنين ثانوي على الجنيني المستقبل، بينما نقل وزراعة خلايا الجزء الخلفي لقطعة من نسيج الحبل إلى جنين في طور المبطنة المبكرة وتحت الطبقة الخارجية فإنها تعمل على تكوين الذيل أو الجزء الخلفي لجذع وزعنفة ذيلية كجنين ثانوي على الجنين المستقبل، شكل (٥، ٧).



شكل رقم (٥، ٥) المنظمات الجنينية للبرمائيات ودورها في عملية التمايز للأجنة:

(أ) شكل يوضح نقل وزراعة الشفة الظهرية من الجنين فاتح اللون) إلى طور المبطنة أو الجاسترولة المبكرة مكان الطبقة الخارجية (اللون الغامق) فإنها تؤدي إلى تكوين أنبوبة عصبية ثانوية فيما بعد. (ب) شكل وقطاع للجنين السابق يوضح تكوين الأنبوبة العصبية الأصلية (أعلى القطاع) (الثانوية المحفزة أسفل القطاع). (الحمدي وكريم ١٤٢٩ هـ).



شكل (٦، ٥): يوضح الخاصية المرحلية (Stage dependence) في عملية التحفيز الجنيني (أ) فعند وضع الشفة الظهري لمبطنة (أو جاسترولة) مرحلة مبكرة (Early dorsal blastopore) بين قطعتين من نسيج الطبقة الخارجية (الأكودير) غير المتميز، فقد عملت على تحفيز لتكوين الجزء الأمامي للرأس. (ب) وعند وضع الشفة الظهري لمبطنة (أو جاسترولة) مرحلة متأخرة (Late blastopore) فقد عملت على تحفيز لتكوين الجزء الخلفي للأنبوبة العصبية، فهذا يعني أن الخلايا التي تهاجر عبر ثقب المفلجة (المنظم) أولاً هي التي سوف تحفز على تكوين منطقة الرأس والمنخ؛ والتي تهاجر فيما بعد سوف تعمل على تحفيز الخلايا التي تعلوها لتكون الحبل الشوكي والذيل.



شكل (٧، ٥) الخاصية المكانية للتحفيز (Regional specificity of induction)

وعند نقل وزراعة الجزء الأمامي والخلفي لنسيج من خلايا الحبل الظهري لجنين الضفدعة في طور الأنبوبة العصبية ونقلها إلى جنين في طور المبطة (الجاسترولة) المبكرة وزراعتها تحت الطبقة الخارجية (الأكوديرم)، فإن الجزء الأمامي المنقول تؤدي إلى تكوين رأس جنين ثانوي على الجنين المستقبل (أ)، بينما الجزء الخلفي لنسيج الحبل الظهري المنقول يؤدي إلى تكوين الجزء الخلفي لجذع وزعفة ذيلية كجنين ثانوي (ب). (معدلة من Gilbert 2014)

وهذا يعني أن الخلايا التي تهاجر عبر ثقب المفلجة (المنظم) أولاً هي التي سوف تحفز على تكوين منطقة الرأس والمنخ؛ والتي تهاجر فيما بعد سوف تعمل على تحفيز تكوين الحبل الشوكي والجذع والزعفة الذيلية.

دور المنظمات الجنينية وتجارب الحث الجنيني

The Role Of Embryonic Organizer and Induction Experiments

كما أسلفنا تعد مرحلة التبطين في الأجنة هي بداية مرحلة التمايز الخلوي وتكون الطبقات الجنينية الثلاثة (الخارجية الأكتوديرم، والمتوسطة الميزوديرم، الداخلية الأندوديرم) التي تنشأ منها جميع أنسجة جسم الجنين وأعضاؤه، تعد الشفة الظهرية (Dorsal lip) لمفلجة (أو بلاستولة) جنين الضفدعة هي المنظم الجنيني (Embryonic organizer) التي اكتشفها الباحث هانس سبيمان وطالبته هيلد ماقنولد (Hans Speman)، لكن من أين اكتسبت الشفة الظهرية هذه الخاصية !

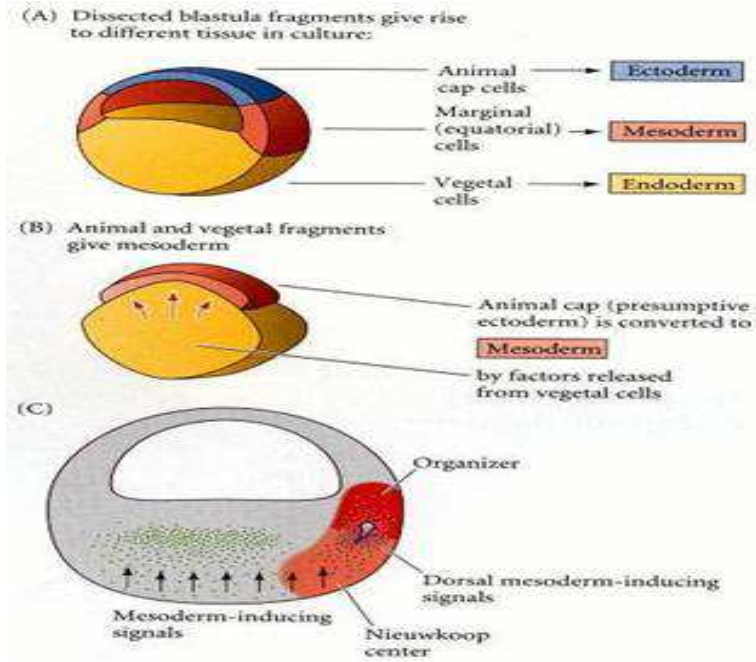
لقد وجد أن المنطقة المتوسطة للمفلجة (الميزوديرم) يتم تكوينها من منطقة القطب الحيواني (الأكتوديرم) بتحفيز من منطقة خلايا القطب الخصري (منطقة الأندوديرم) حيث تهاجر الخلايا الخارجية (الاكتوديرمية) من خلال ثقب المفلجة الشفة الظهرية فتحفزها خلايا القطب الخصري لكي تتحول إلى خلايا الطبقة المتوسطة أو الميزوديرمية.

وقد وجد نيوكب وزملائه (١٩٦٩-١٩٧٧) أن زراعة كل طبقة سواء منطقة القطب الحيواني أو منطقة القطب الخصري على حدى لا تعطي طبقة الميزوديرم لكن عند زراعة خلايا من منطقة القطب الحيواني مع خلايا من القطب الخصري فإن خلايا القطب الحيواني تكون خلايا ميزوديرمية نتيجة لتحفيز من منطقة القطب الخصري شكل (٨، ٥).

مركز نيوكب (Nieuwkoop Center):

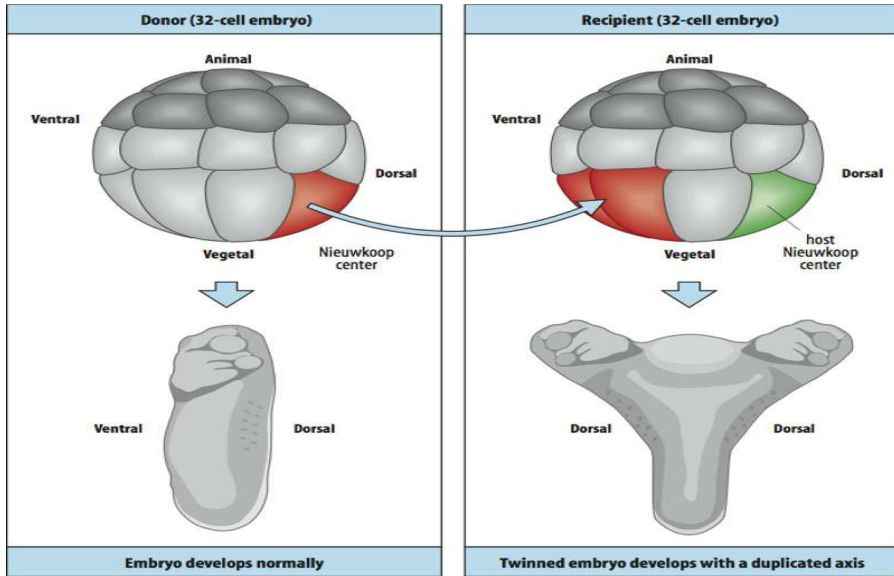
وقد وجد أن الجزء الظهري للقطب الخصري لمفلجة الضفدعة يعمل على تحفيز الشفة الظهرية لثقب المفلجة المنظم الجنيني (Embryonic organizer)، ويعرف بمركز نيوكب (Nieuwkoop Center) الذي يتكون في المنطقة الطرفية بين القطب الحيواني والخصري في طور المفلجة لجنين الضفدعة من جنس زينوبوس (Xenopus)، فقد قام

كل من قلميش وزميلة قيرهارت بين عامي ١٩٨٤-١٩٨٦ م (Gimlich and Gerhart 1984-86) بنقل الجزء الظهري لمنطقة القطب الخضمي لمفلجة الضفدعة وزراعته على الجزء البطني لمنطقة القطب الخضمي لمفلجة أخرى أدى إلى تكوين جذعين، ثم جاء من بعدهم كل من الباحث دالي وزميلة سلاك عام ١٩٨٧ م (Dale and Slack 1987) بدمج إحدى الفلجات لجنين الضفدعة في طور ٣٢ فلجة، من المنطقة الظهرية للقطب الخضمي مع مفلجة بالعمر نفسه في المنطقة البطنية للقطب الخضمي أدت إلى تكون محور مزدوج في الجنين شكل (٩، ٥).

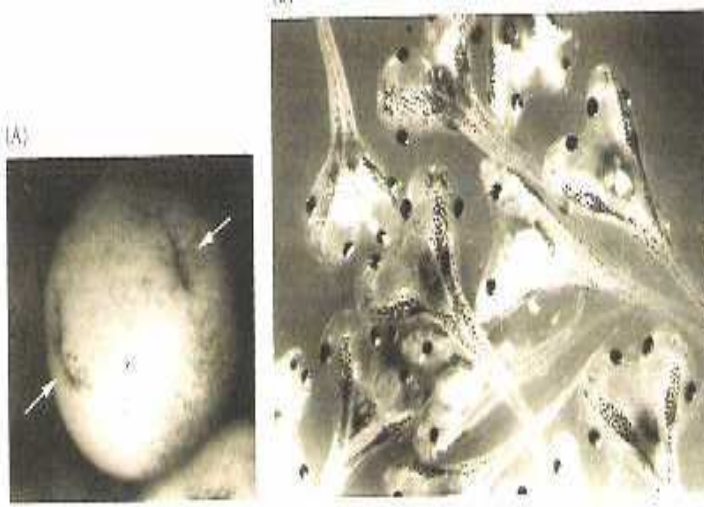


شكل رقم (٨، ٥). رسم يوضح أن تنمية كل من خلايا القطب الحيواني أو خلايا القطب الخضمي على حدى لا تعطى الطبقة المتوسطة الميزوديرم، والتي يتم تكوينها بتحفيز من الشفة الظهرية لثقبه المفلجة (المنظم Organizer) ومركز نيوكب (Nieuwkoop center) في الجزء الظهري للقطب الخضمي لمفلجة البرمائيات. (من الشبكة العنكبوتية).

فالمنطقة الظهرية للقطب الخصري (مركز نيوكب) تحفز تكوين الميزوديرم الظهري، وقد وجد أن مركز نيوكب يتكون أصلاً من منطقة الهلال الرمادي أو السنجابي (Gray crescent) للبويضة المخصبة، فعند تدمير منطقة الهلال الرمادي في البويضة المخصبة للصفدة بواسطة الأشعة فوق البنفسجية لا يتكون محور للجنين وتعويض هذه المنطقة بمحتويات منطقة الهلال السنجابي أو الرمادي لسيتوبلازم بويضة الصفدة المخصبة يعيد إليها تكون المحور.



شكل رقم (٩، ٥، أ، ب). رسم يوضح بان نقل منطقة مركز نيوكب إلى جنين آخر تؤدي إلى تكوين محورين للجنين.
 (ب) الصورة أسفل توضح تجربة ذلك بتكون منطقتين للشفة الظهرية وتكون أجنة أو أطوار أبوذنية لها محورين نتيجة لنقل منطقة مركز نيوكب. (من الشبهة العنكبوتية).



(ب) الصورة توضح تجربة بتكون منطقتين للشفة الظهرية وتكون اجنة او اطوار أبوذنية لها محورين نتيجة لنقل منطقة مركز نيوكب. من Gilbert 2014

التركيب الجزيئي لمركز نيوكب The Molecular Biology of Nieuwkoop center

إن منطقة القطب الخصري هي التي تعمل على تحويل الخلايا التي زحفت من خلال ثقب المفلجة من المنطقة السطحية أو الخارجية (الاكتوديرم) إلى طبقة الميزوديرم، ففي منطقة القطب الخصري توجد أحامض نووية مرسله أمية (MmRNA) التي تترجم بعضها مباشرة بعد الإخصاب في منطقة القطب الخصري للبويضة إلى عامل تحول القطب الخصري (VegT mRNA) الذي يكون مسئولاً عن تكون خلايا منطقة الأندوديرم وتحول خلايا الأكتوديرم المهاجرة للداخل إلى ميزوديرم، ومن نتائج تحفيز بروتين تحول القطب الخصري (VegT) تنشيطه لبعض العوامل مثل عامل التحول سوكس ١٧ (Sox17) الذي يكون مسئولاً عن تنشيط جينات خلايا القطب الخصري ليحولها إلى الأندوديرم، كما يقوم عامل التحول الخصري (VegT) بتنشيط جينات تعبير عن عامل النودال (Nodal) في خلايا القطب الخصري الذي يعمل على

تنشيط تحول الخلايا التي تعلوه إلى خلايا ميزوديرمية شكل (٥, ٥أ, ب)، حيث ينشط فيها جين سباد ٢ (Smad2)، وعامل (Smad2) ينشط جين ضفدع الزينوبس الصدري (Xenopus Brahyury, Xbra gene) في خلايا الميزوديرم؛ لذلك فإن منطقة القطب الخصري تحفز تكوين منطقة الميزوديرم وذلك بأن تجعل الخلايا المتوقع تحولها إلى الميزوديرم تنشط بها جين ضفدعة الزينوبس الصدري (Xenopus Brahyury, Xbra gene) كما يتم ذلك بواسطة أحد العوامل مثل عامل نمو القطب الخصري رقم ١ (Vg1) وهو يعد كبروتينات متعلقة بالنودال (Nodal-related proteins) الذي يستطيع أن يحفز تكوين الميزوديرم من منطقة القطب الحيواني حيث يتم تحفيز النودال من خلايا القطب الخصرية التي تنتج عامل النسخ تحول القطب الخصري (VegT) وعامل سباد ١٧ (Smad17)، فجين الزينوبس الصدري (Xbra) يتم نسخه في وجود بروتين النودال وعندما يتم نسخه ثم ترجمته إلى بروتين فإنه يصبح عاملاً محفزاً لنسخ لعامل نمو الخلايا الليفية الجنينية (Embryonic Fibroblast Growth Factor eFGF) الذي بدوره يحافظ على بقاء جين الزينوبس الصدري (Xbra) نشط، كذلك يعمل بروتين جين الزينوبس الصدري (Xbra) على تنشيط جينات أخرى تكون مسئولاً عن تنشيط جينات خاصة بمنطقة الميزوديرم مثل جين وانت (Want gene, Eomes) انظر الشكل (١٠, ٥أ, ب).

يمكن لخلايا القطب الخصري أن تحفز تكوين طبقة الميزوديرم وتعتبر بواسطة جين الزينوبس (Xbra center) هو الوحيد الذي يحفز الخلايا التي تعلوه خلايا الشفة الظهرية بأن تكوين المنظم الجنيني (Embryonic Organizer)، وأن العامل الذي يؤدي إلى تكوين مركز نيوكب هو بروتين بيتا كاتين (B-catenin) من خلايا القطب الخصري، فهو بروتين ذو آثار متعددة (يقوى الروابط الخلوية / أو كعامل نسخ نووي / وفي جنين الضفدعة يبدأ يتجمع في المنطقة الظهرية للبويضة أثناء الإخصاب، وكذلك فهو يستمر في الزيادة في الجهة الظهرية حتى مرحلة التفلج، يتجمع بروتين بيتا كاتين ليغطي منطقة

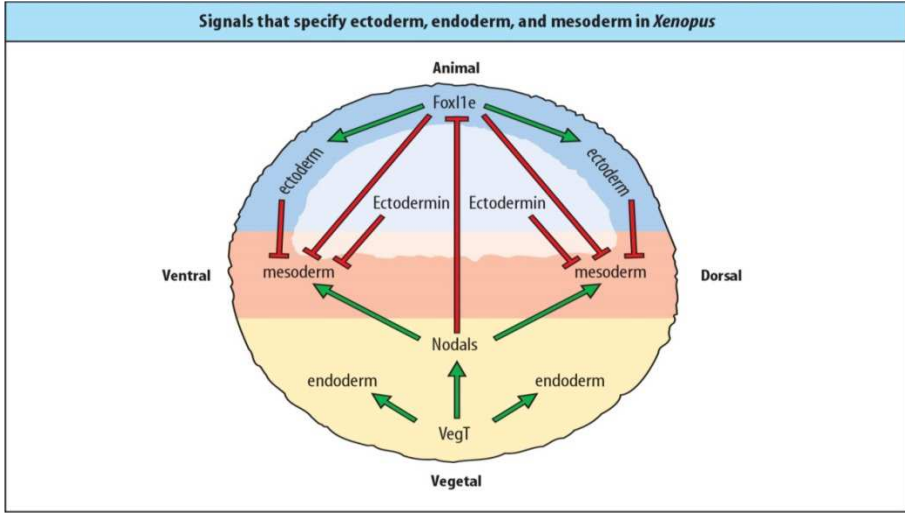
مركز نيوكب والمنظم (الشفة الظهرية)، في المراحل المتأخرة للتفلج يضل يرتفع حتى في منطقة مركز نيوكب، بروتين البيتا كاتين له دور فعال في تكوين المحور الظهري لجسم الجنين، فحقن البيتا كاتين في الجزء البطني للفلجات يكون محورًا ثانويًا للجنين، فالبيتا كاتين هو جزء من منتجات وانت جين (Wnt gene).

بروتين البيتا كاتين يتم ترجمته من أحماض نووية مرسلة أمية (Maternal MmRNA) في الجنين لكن يمكن تكسره بواسطة أنزيم محضر الجليكوجين كاينيز -3 (Glycogen 3-Synthase kinase (GSK 3)، فالنقطة المهمة لتحديد محور الجسم هو تحرك المثبط أنزيم محضر الجليكوجين كاينيز -3 (GSK-3) إلى منطقة سيتوبلازم البويضة لموقع دخول الحيوان المنوي الذي يقوم بهذه المهمة هو بروتين ديشفيلد (Disheveled Dsh) الذي يقوم بتثبيط (GSK3) في مسلك وانت جين (Wnt gene) الذي يتواجد أساسًا في قشيرة منطقة القطب الخصري للبويضة غير المخصبة، فبروتين ديشفيلد يتم نقله بواسطة الأنبيبات الدقيقة إلى الجزء الظهري للجنين؛ لذا فإن (GSK3) لا يستطيع أن يثبط البيتا كاتين في المنطقة الظهرية شكل (١١، ٥).

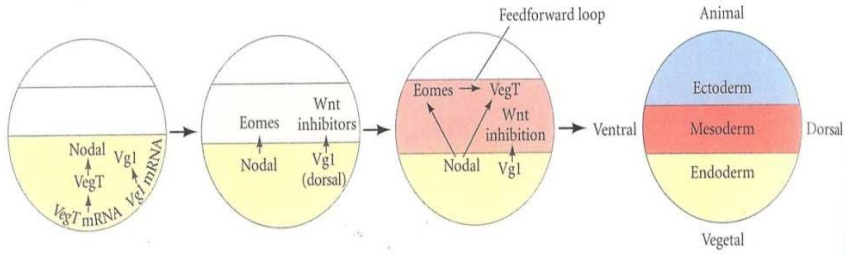
فالبيتا كاتين (B-catenin) عامل نسخ يساهم مع عامل نسخ آخر ليصبجا ذا خاصية جديدة. فالبيتا يتحد مع عامل التحول (Tcf3) والجنين الفاقد لعامل بيتا لا يتكون لديه محورًا للجسم، لقد وجد أن بروتين البيتا مع عامل التحول (Tcf3 + B-catenin) يرتبط بمنشئ (Promoters) لعدد من الجينات مهمة لتكوين محور الجسم، أحد هذه الجينات هو سايمويس (siamois) فهذا الجين يشفر لعامل نسخ يتم التعبير عنه في مركز نيوكب بعد مرحلة المفلجة المتوسطة، يعتقد أن بروتين عامل التحول 3 (Tcf3) يثبط نسخ جين السايامويس (siamois) عندما يرتبط بالمنشئ بدون وجود عامل البيتا، أن بروتين السايامويس مهم لتنشيط تعبير جينات المنظم. شكل (١١، ٥).

فالسايامويس يرتبط بمنشئ وينشط عددًا من جينات وظيفية للمنظم (Organizer) والتي تشمل نسخ عدد من الجينات مثل القوسكويد (Goosecoid)، وجين اطرف

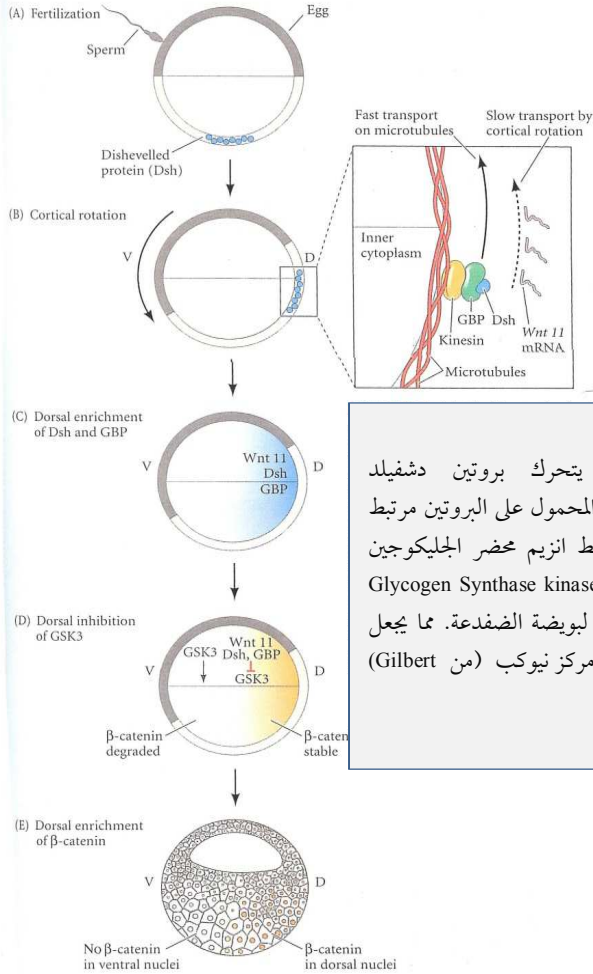
الزنبوس ١ (Xlim1) والجين النخاعي (Cerbeurs)، وجين فريزب (Frzb)، ويبدو أن جين القوسكويد أساس لتنشيط جينات أخرى في المنظم.



شكل رقم (١٠، ٥، أ، ب). أ) مخطط لبويضة البرمائيات يوضح تنشيط بروتين القطب الخصري لتكوين النودال والذي ينشط تكوين الطبقة المتوسطة الميزوديرم.



ب) مخطط لبويضة الضفدعة يوضح مراحل نموها الصور من اليسار إلى اليمين: الحمض النووي المرسل (VgT-mRNA) يترجم إلى بروتين عامل تحول القطب الخصري (VgT)، والذي يؤدي إلى تنشيط النودال والذي بدوره يحفز جين الايموس (Eomes) وجين تحول القطب الخصري (VgT). والذي يؤدي إلى تكوين الطبقات الجنينية الثلاث الاكتوديرم، والميزوديرم والاندوديرم. (عن Gilbert 2014)



ب) اثناء الاخصاب يتحرك بروتين دشفيلد (Dishevelled, Dsh) والمحمول على البروتين مرتبط بالانبيبات الدقيقة ليشط انزيم محضر الجليكوجين كايينز 3- (GSK) Glycogen Synthase kinase في المنطقة الظهرية لبويضة الضفدعة. مما يجعل البتاكاتين نشط ليكون مركز نيوكب (من Gilbert) 2014

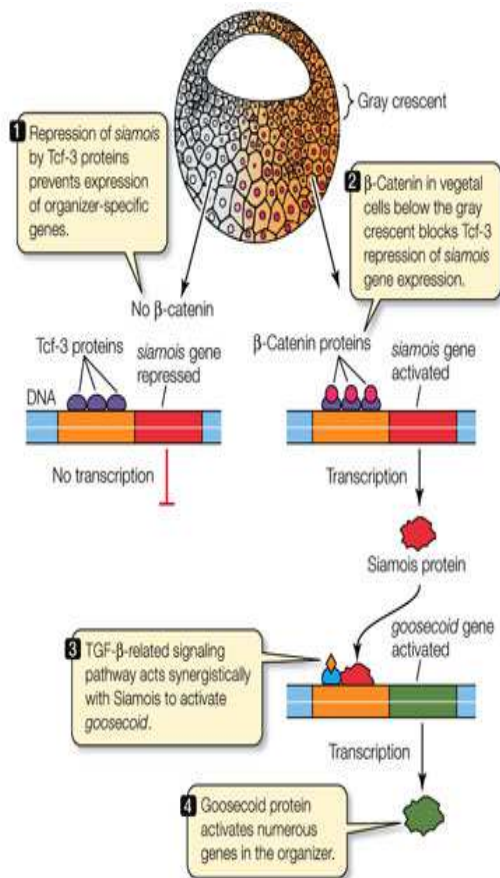
شكل رقم (١١، ٥). رسم مخطط يوضح آلية الحفاظ على تثبيت البتاكاتين (β-Catenin) في منطقة الظهرية لجين الضفدعة بواسطة بروتين دشفيلد (Dishevelled, Dsh) بتشيطه لأنزيم محضر الجليكوجين كايينز 3- (GSK) Glycogen Synthase kinase في المنطقة الظهرية.

فإذا كان الجزء الظهري يحتوي على الببتا كاتنين (*B-catenin*) الذي ينشط جين الساييمويس الذي يقوم بتكوين المنظم، لكن الساييمويس لا يستطيع لوحدة أن يعمل ذلك إلا بمساعدة بروتين آخر لكي ينشط جين القوسكويد الذي يعمل على تنشيط المنظم (شكل ١٢، ١٥، ب).

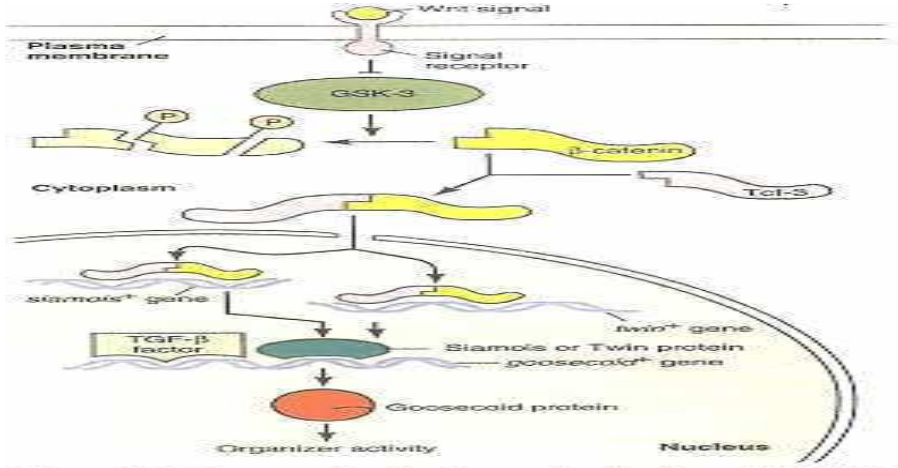
فالساييمويس يحتاج إلى عامل تحول ليفي بيتا (*TGF-B*) الذي يتكون من المنطقة البطنية للقطب الخصري لكي ينشط جين القوسكويد في المنظم، كذلك فإن عامل التحول الليفى (*TGF-B*) في مركز نيوكب يستطيع أن يحفز الخلايا في المنطقة الطرفية للشفة الظهرية لكي تعبر عن بعض عوامل التحول التي ترتبط بمنشئ جين القوسكويد ليساهم مع الساييمويس لعمل ذلك التنشيط، فجين القوسكويد (*Goosecoid*) جزء من منظم سيمان الذي يتحكم في عملية هجرة أو تحرك الخلايا وبدء عملية التبطين وإنغداد خلايا الطبقة الخارجية إلى الداخل.

تفسير دور المنظم الجنيني (الشفة الظهرية الجنيني البرمائيات):

- ١- مركز نيوكب ينشط عامل نسخ يعمل على تنشيط جين معين يحتوي على مادة المنظم .
- ٢- أحد هذه الجزيئات هو جين القوسكويد الذي يحصل له نسخ في بداية طور المفلجة المتأخرة حيث تتجمع في منطقة غطاء الشفة الظهرية .
- ٣- عند حقن الحمض المرسل (*mRNA*) لجين القوسكويد في الفلجيتين البطنيتين لجنين الضفدعة طور ٤ خلايا يجعل الناتج يكون ميزوديرم ظهري ورأس واندوديرم للمحور الثانوي.
- ٤- كذلك فإن الخلايا المحقونة بجين القوسكويد تكون قادرة على تحفز الخلايا المجاورة لها لكي تكون محور ظهري.
- ٥- لذا فالحمض المرسل لجين القوسكويد يعمل كمنظم وليس كجزء من مركز نيوكب.



شكل رقم (١٢، ١٥). رسم يلخص الاحداث التي تعمل على تحفيز المنظم الجنيني الشفة الظهرية (Embryonic organizer) لجنين الضفدعة، فبروتين البيتا كاتنين (β -catenin) في المنطقة الظهرية مع جين الساياموس (*Siamois*, *twin* gene) يشيطان عامل النسخ مع بروتين سباد٢ من عامل التحول الخلوي (*Smad2* from *TGF- β*), يعملان على تنشيط جينات المنظم الجنيني (مثل الكوردين والنوقين والقوسكويد (*Chordin*, *Noggin*, *Goosecoid* genes) لكي تنتج بروتيناتها المحفزة للمنظم. بينما البيتا كاتنين في المنطقة البطنية فإنه يشبط بواسطة بروتين التحول الخلوي ٣ (*Tcf-3*). (من الشبكة العنكبوتية).



شكل رقم (١٢، ٥ ب). رسم يلخص الاحداث التي تعمل على تحفيز المنظم الجنيني الشفة الظهرية (Embryonic organizer) لجنين الضفدعة، بروتين الوانت جين (Wnt signal) يرتبط بالمسقبل له على خلايا الشفة الظهرية مما يؤدي الى تنشيط ارتباط البيتا كاتنين (B-catenin) مع عامل التحول الخلوي ٣- (Tcf-3) في المنطقة الظهرية للجنين (في حال عدم وجود انزيم محضر الجلكوجين كايبيز-٣ (GSK-3) حيث ينتقل معقد البيتاكتانين مع التحول الخلوي الى داخل النواة فيعمل على تنشيط نسخ جين الساياموس (Siamois, twin gene) والذي يعمل على نسخ بروتين القوسكويد (Gooscooid protein) (كمنشط للمنظم الجنيني).

وظائف المنظم الجنيني : Function of the Organizer

- إن مركز نيوكب ينشط جين القوسكويد (في المنظم) والذي بدوره يقوم بالآتي :
- ١ - ينشئ عملية التبطين بتوجيه خلايا الشفة الظهرية لثقب المفلجة.
 - ٢ - يعمل على تمايز خلايا الحبل الظهري .
 - ٣ - يحفز الطبقة العلوية للأكتوديرم لكي تصبح نسيج عصبي.
 - ٤ - كما لديه القدرة على أن ينشئ التحركات لعملية التبطين.
 - ٥ - فينشط خاصية هجرة الخلايا في منطقة الشفة الظهرية.
 - ٦ - ينظم ذاتياً مصير الأندوديرم الرأسي والميزوديرم الظهري.
 - ٧ - يمكن للخلايا التي تظهر نسخ لجين القوسكويد أن تحفز الخلايا المجاورة لها

لكي تتحول إلى محور ظهري.

٨- كذلك أمكن التعرف على مواقع لجين القوسكويد في الطبقة العلوية وفي منطقة الخط البدائي (عقدة هنسن) في كل من أجنة الطيور والثدييات.

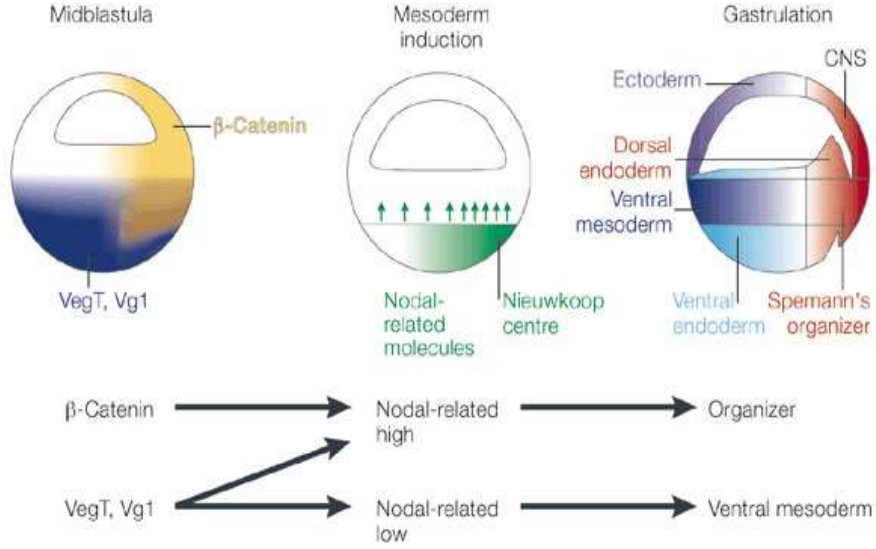
بروتين القطب الخضري - ١ - Vg-1 The Vegetal Pole Protein

بروتين القطب الخضري-١ هو أحد البروتينات المكونة لمركز نيوكب والذي يوجد في منطقة الظهرية لخلايا القطب الخظري المح لجنين الضفدعة.

- يتم تحضيره في منطقة القطب الخضري بعد عملية الإخصاب ولكنه يكون غير نشط.
- أثناء مرحلة الدورانية أو الالتفاف لقشيرة السيتوبلازم للبويضة المخصبة يتم تنشيط أنزيم محلل للبروتين المثبط لبروتين القطب الخضري مما يعمل على تنشيطه ومساهمته في تكوين مركز نيوكب.
- يعمل على تحفيز الميزوديرم الظهري / يحفز كامل المحور الجنيني عندما يتم وضعة في منطقة الخلايا البطنية للقطب الخضري.
- يعمل على تكوين المحور الظهري للبويضات التي تم تعريضها للأشعة (UV).
- ربما يكون بروتين القطب الخضري رقم ١ (Vg-1) هو المنشئ لمركز نيوكب لأن المنشط والنوقين يفرزان المركز، شكل رقم (١٣، ٥).

بروتين النوقين Noggin:

عند حقن الحمض النووي المرسل mRNA للنوقين في الفلججات البطنية الخضرية لجنين الضفدعة فإنه يكون مركز نيوكب ويحفز تكوين الميزوديرم الظهري، إن حقن الحمض النووي المرسل mRNA للنوقين في طور الخلية التي تم تعريضها للأشعة فوق البنفسجية يؤدي إلى تكوين جنين كامل، يوجد الحمض النووي المرسل mRNA للنوقين في البويضة المخصبة.



Nature Reviews | Genetics

شكل رقم (١٣, ٥): مخطط يلخص كيف يتم تنشيط المنظم الجنيني لسميان (Spemann's organizer) لجنين الضفدعة عند مرحلة التبطين والعلاقة بين البيتا كاتنين مع عامل تحول القطب الخصري (β -catenin and VegT, veg1) في تنشيط النواقل لتنشيط المنظم الجنيني (Embryonic organizer) بينما عامل التحول للقطب الخصري، (VegT, Vg) لوحدهما ينشطان تكون الطبقة المتوسطة البطنية (الميزوديرم البطني) من خلال تنشيط النواقل. من الشبكة العنكبوتية).

التكوين الجزيئي لأجنة اللافقاريات

The Molecular embryology of Invertebrate

مقدمة وتمهيد:

لقد ساهمت الدراسات على بويضات اللافقاريات في تفهم عمليات التكوين الجزيئي للأجنة خاصة بويضات قنفذ البحر، وحشرة الدروسوفيلا وبويضات الديدان (C,elgant)، وذلك لقصر فترة دورة الحياة للجنين وإمكانية الحصول على أعداد وفيرة منها، والأهم سهولة متابعة النمو الأجنة وإجراء التجارب عليها، تعد بويضات شوكيات الجلد (نجم البحر - قنفذ البحر، إلخ) بأنها عديمة المح (Alecithal) مع بعض الاستثناءات القليلة؛ في حين أن بيض الرخويات (مثل القواقع والمحار والحبار) تعد ذيلية المح (Telolecithal)، بينما بيض المفصليات (السرطانات، العناكب، الحشرات، إلخ) تعد مركزية المح (Centrolecithal).

هناك نوعان من بويضات اللافقاريات بويضات منظمة (Regulative) مثالها قنفذ البحر، وبويضات خليطة (Mosaic) مثالها بويضات الديدان والرخويات، والفرق بين البويضات المنتظمة والخليطة أن البويضات المنتظمة يعتمد النمو الجنيني فيها على تفاعلات بين الخلية-الخلية، التفلج فيها يكون شعاعي (Radial cleavage) وأن ثقب المفلجة أو البلاستوبور (Blastopore) يكون مؤخرة الجنين، بينما الخليطة، يكون التفلج حلزوني (Spiral cleavage) وثقب المفلجة هو مقدمة الفم للجنين، مصير

النمو الجنين قد يحدد مصيره غالباً على مستوى خلية واحدة فقط وليس على مجموعة من الخلايا فتوزيع مادة السيتوبلازم للبويضة المتفلجة لا يكون متاوي أو منتظم فهو غير متكافئ؛ لذلك يسمح بمصير مختلف للخلايا عند التفلج.

والمعلومات عن البويضات الخلطة خاصة على المستوى الجزيئي مثل تحضير الأحماض النووية وغيرها فهي شحيحة لصعوبة الحصول على أجنة الرخويات بأعداد كبيرة في المعمل. وأفضل الدراسات على بويضات الرخويات التي أجراها رفريري (Reverberi) حيث ركز على توزيع الأجسام السبحية (الميتوكوندريا)، وسوف نتناول بعض التكوين الجنيني الجزيئي لبعض أنواع اللافقاريات.

الديدان الخيطية: *Cell lineage Caenorhabditis elegans*

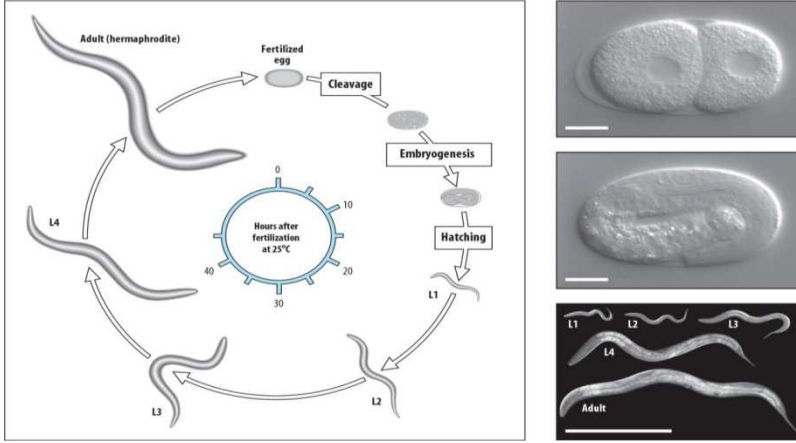
الديدان الأسطوانية هي إحدى أنواع الديدان (Nematodes) طولها ١ ملم (1mm) وعرضها ٧٠ ميكرومتر (70 um)، حرة المعيشة شفافة الجسم لا يحتو جسمها على عقل وهي ذات تجويف جسمي أو سيلوم كاذب (Udsegmented pseudocoelomate) وليس لديها جهاز دوري أو تنفسي، غالبية الديدان البالغة إناث وبعضها خناث، بعض الذكور تنمو بشكل سريع ولها ذيل خاص بالتزاوج، لقد أجرى الباحث سندي برينير تجارب عليها عام ١٩٦٣م على نمو الأنبوبة العصبية، وفي عام ١٩٧٤ أجريت تجارب عن التكوين الجزيئي فيها، وقد أمكن الحصول على كامل الوصف للتركيب الجزيئي للجنين فيها، وقد اكتملت التركيبة الجزيئية لها عام ٢٠١٢، وتم اكتشاف أكثر من ٢٠,٠٠٠ جين فيها ١٧٠٠ جين منها مختصة بالتكوين الجنيني.

البويض قطرة ٥٠ ميكرومتر وعند الإخصاب تكون جسم قطبي، ثم يحصل اندماج نووي أثناء الإخصاب، بعده يحصل التفلج، وكثير من الخلايا يحصل لها موت مبرمج واول يرقة تتكون بعد ٢٠ ساعة من الإخصاب (شكل ١, ٦)، تنمو اليرقة وفيها ٥٥٨ خلية لتصل عند البلوغ إلى ٩٥٩ خلية (بالإضافة إلى الخلايا الجرثومية)،

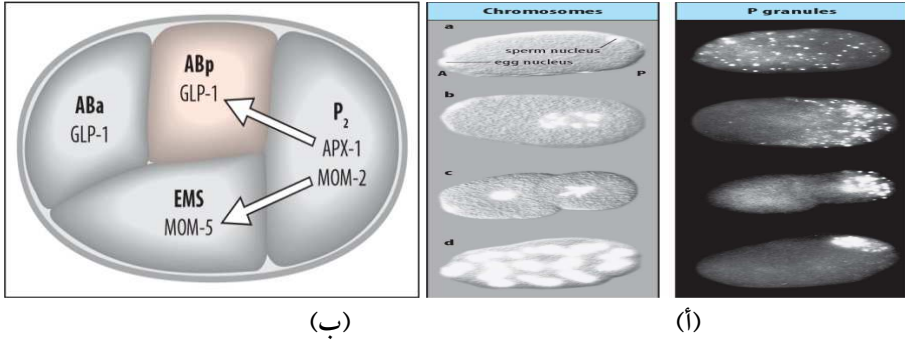
تخضع منها ١٣١ للموت الخلوي المبرمج، لا توجد قطبية في البويضة غير المخصبة ولكن دخول الحيوان المنوي يتحكم في الانقسام أو التفليج الأول. مما يؤدي إلى ظهور قبعة من أكتين الليفيات الدقيقة تحدد الجهة الأمامية للجنين وحبيبات في موقع المؤخرة للجنين، فالخلايا الأولى التي تفلجت (AB) سوف تصبح الجزء الأمامي التي تفلجت مؤخرًا تصبح الجزء الخلفي للجنين (P) شكل (٢، ٦، أ، ب)، حركة الحبيبات في الفلجات التي بالمؤخرة هي نتاج تحديد الجزء الخلفي للجنين وليس السبب، فالمؤشر - ١ أمي الأصل (Maternal par-1) يساهم في تحديد هوية المؤخرة للجنين.

خطوط أو أنساب خلايا الديدان الخيطية *Cell lineage of Caenorhabditis elegans*

محور الجسم يعتمد على الانقسامات غير المتماثلة وتفاعلات الخلايا، الانقسام أو التفليج الأول يعطي فلتجتين كبيرتين (AB) وخلية صغيرة خلفية (P1)، الخلية الخلفية الصغيرة وإحدى خلايا الجذعية، (P1,a)، تنتج خلية جذعية صغيرة ومجموعة خلايا خلفية (P a*) وخلايا أخرى، خلال الانقسامات أو التفلجات الثلاثة الأولى، تنتج الخلايا الخلفية (P) عددًا من خوط أو الأنساب للخلايا، لكن الخلية الخلفية الرابعة (P4) تعطي الخلايا الجرثومية فقط، تنقسم الخلايا الأمامية الكبيرة (AB) إلى مجموعتين أمامية (ABa) تعطي الخلايا العصبية، وأدمة البشرة بالإضافة إلى البلعوم والمجموعة الخلفية (ABp) وتعطي (الخلايا العصبية، وأدمة البشرة، وخلايا المتخصصة)، وتنقسم الخلايا الخلفية (P1) إلى خط خلايا خلفية ثانية وخلايا الميزوديرمة الجنيني (P2 and EMS) والتي سوف تنقسم لتنشئ ميزوديرم البلعوم وخلايا المعى (E)، خط الخلايا الخلفية الثانية (P2)، سوف تعطي خط الخلايا الخلفية الثالثة (P3) وخط الخلايا ج (C) والتي سوف تعطي أدمة البشرة والعضلات، والخلايا الخلفية الثالثة سوف تنقسم لتعطي خط الخلايا الخلفية الرابعة (P4) وخط الخلايا د (D) والتي سوف تكون العضلات. (شكل ٢، ٦، أ، ب، ج).

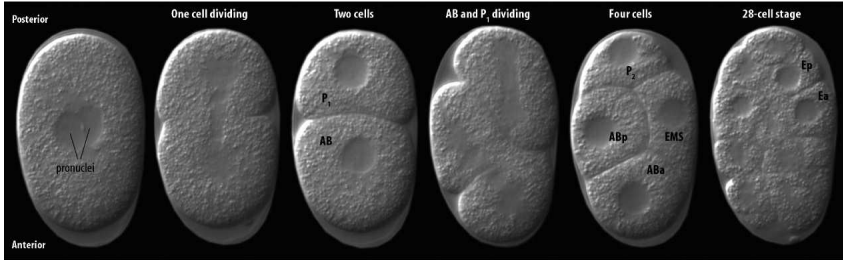


شكل رقم (١، ٦). رسم وصور لدورة حياة الديدان الخيطية *C. elegans* موضع بالساعات حيث يتكون الجنين خلال ٢٠ ساعة وينتج أول طور يرقي، ثم يكبر الطور اليرقي (١.١-٤) خلال ٤٠ ساعة ثم الطور البالغ .



(ب)

(أ)



(ج)

شكل رقم (٢، ٦، أ، ب، ج). رسمة وصور توضح مرحلة التفلق في جنين الديدان الخيطية واصل ومصير كل فليجة فليجات أمامية كبيرة (AB) وفليجات خلفية صغيرة (P) التي تحتوي على الحبيبات.

التفاعلات بين الخلايا: *Caenorhabditis elegans*: cell-cell interactions:

إن التفاعلات بين الخلايا تحدد المصير المبكر لجنين الديدان، مصير الخلايا ثابت، ولكن التجارب تكشف عن أن التفاعلات بين الخلية والأخرى هو مصيري بالنسبة لخلايا الجنين. فمجموعة الخلايا الأمامية الكبيرة الخلفية (ABp) يجب أن تكون على اتصال مع مجموعة الخلايا الخلفية الثانية (P2) أو أنها سوف تصبح مجموعة خلايا كبيرة أمامية، وذلك من أجل التواصل السليم مع الخلايا، فالخلايا الخلفية الأولى تشفر لمستقبل عبر الخلية (Trans membrane receptor) (g1p-1)، من نمط الأحماض النووية المرسل (mRNA)، لكن ترجمة الحمض النووي المرسل هذا يتم تثبيطها في مجموعة الخلايا الخلفية (P cell) ولكن يكون التعبير عنه مقتصرًا على الفلجات الكبيرة الأولى (AB)، بعد التفليج الثاني تعبر مجموعة الخلايا الخلفية عن بروتين رقم ١ (apx-1 protein) على سطح خلاياها والذي ينشط المستقبل البروتيني (G1p1) الذي يسبب في أن يجعل خطوط أو أنساب الخلايا الأمامية والخلفية الكبيرة (Aba, ABp) لكي تستجيب للإشارات من الخلايا الميزوديرمية الجنينية (MS) بشكل مختلف. فمصير الخلايا مرتبط بشكل مباشر بنمط الانقسام أو التفليج، ويمكن رسم الخريطة المصيرية عند طور الجاسترولة ذات ٨٠ خلية.

جينات محور الجسم في الديدان الخيطية: *Caenorhabditis elegans* homeobox genes:

مجموعة صغيرة من جينات محور الجسم تحدد مصير الخلايا على طول المحور الأمامي الخلفي للجنين، هناك أربعة جينات تحدد محور الجسم في الديدان مماثلة لجينات محور الجسم في حشرات الدوروسفيليا والفأر (HOM/HOX genes)، شكل (٦، ٣)، بالإضافة إلى أن العلاقة بين جينات محور الجسم فيها تكون أقل، فجينات محور الجسم في الديدان يعبر عنها في مختلف المواقع على طول المحور الأمامي الخلفي، فهي يعبر عنها خلال المرحلة الجنينية ودورها الأولى أو أهميتها تظهر على نمو اليرقة.

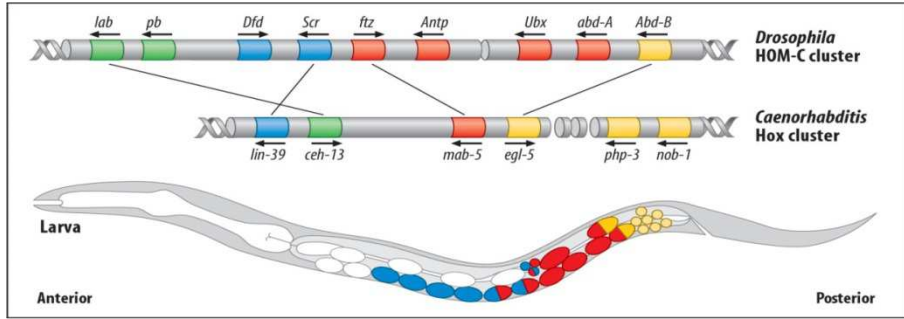
الطفرات في المادة الوراثية للديدان *Caenorhabditis elegans*: heterochrony

المعلومات الزمنية مهمة في ديدان أسطوانية، فطفرات الكروماتين الخليط (Hetrochronic mutation) تفقد تزامن أحداث النمو فيها، فاطرة رقم ١٤ (Lin 14) تؤثر على خطوط الخلايا الصغيرة والخلفية (T. ap) التي تعطي أدمة البشرة، والخلايا العصبية والخلايا الداعمة، فهذه الطفرات تؤدي إلى توقف أو تشوه في النمو، فالطفرة الحيازة على الوظيفة (*gain-of-function (gf)*) تؤدي إلى تشوه في النمو وتحصل فيما بعد، بينما الطفرة فقدان الوظيفة (*loss-of-function (lf)*) تؤدي إلى تشوه في النمو يحصل بشكل أبكر من المعتاد، فتغير أو قلب خيوط المغزل للفلجات الأولى الكبيرة، يؤدي إلى تغير محور الجسم فيصبح المعى أسفل شكل (٤، ٦).

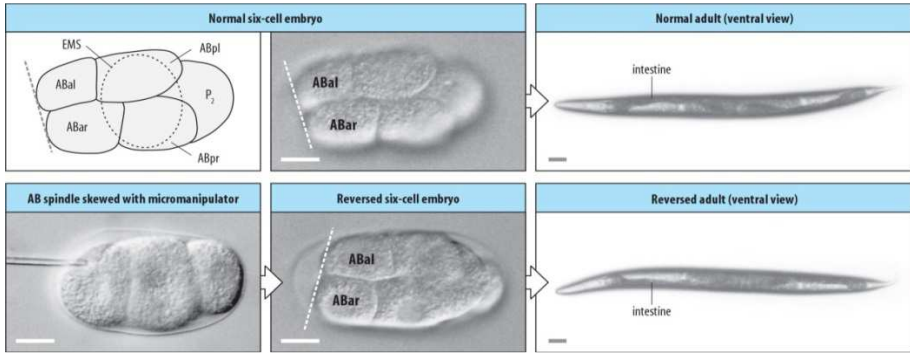
التحفيز أثناء نمو الفرج في الديدان: *Caenorhabditis elegans*: heterochrony

المعلومات الأولية مهمة في الديدان، فالطفرات في المادة الكروماتينية تخلق في أحداث توقيت النمو، فنمو الفرج في الديدان يعد نموذجاً جيداً لدراسة التنظيم في النمو الجنيني، شكل (٥-٥).

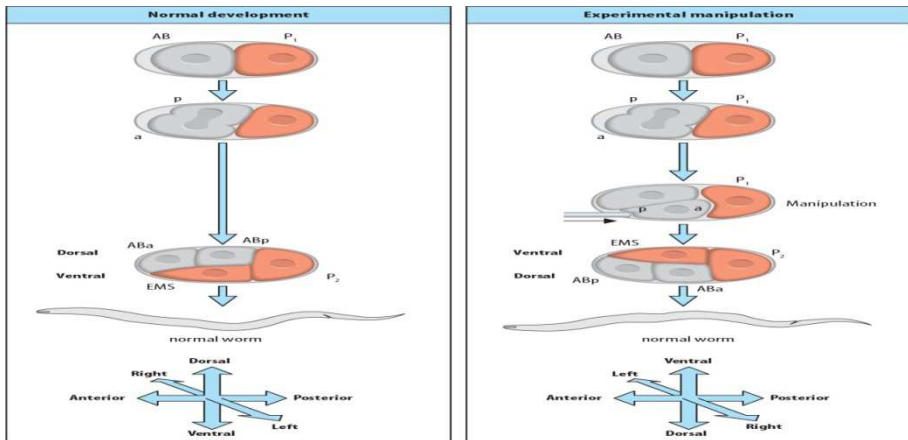
والخلايا الثلاث التي تستجيب تعطي ٢٢ خلية التي سوف تنقسم وتتحرك وتلتحم عند توقيت معين لتكون تركيب يتألف من سبع حلقات، الخلايا الرابطة تنتج إشارة (LIN-3) تعمل على تحفيز المصير الأولي والمصير الثانوي بالتفاعل مع المستقبل رقم ٢٣ (LET-23)، والخلايا التي سوف تحدد المصير الأولي سوف تثبط الخلايا القريبة منها من خلال مشط محوري رقم ١٢ (LIN-12).

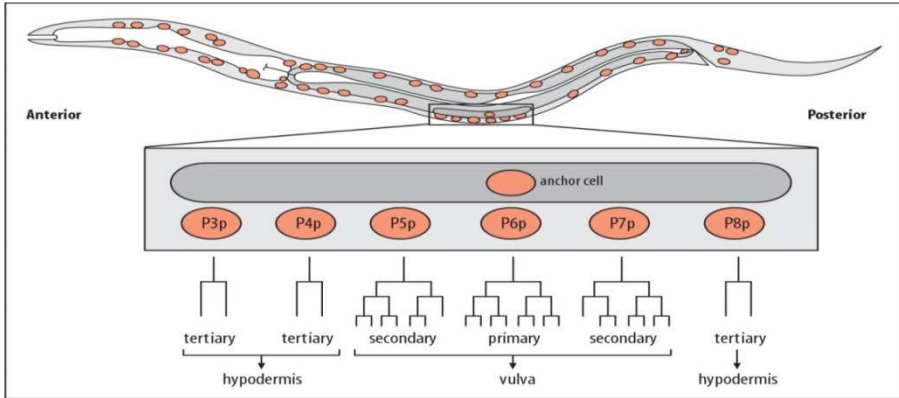


شكل رقم (٣، ٦). يوضح مقارنة للتركيب الجزيئي لجينات محور الجسم بين ذبابة الدورسوفيليا والديدان الخيطية (Hom\ Hox genes) ودورها في تكوين محور الجسم للديدان.



شكل رقم (٤، ٦ أ، ب) رسم وصورة توضح تغيير موقع خيوط المغزل في الفلجات الأمامية يؤدي إلى قلب محور الجسم في الديدان الخيطية *C. elegans*

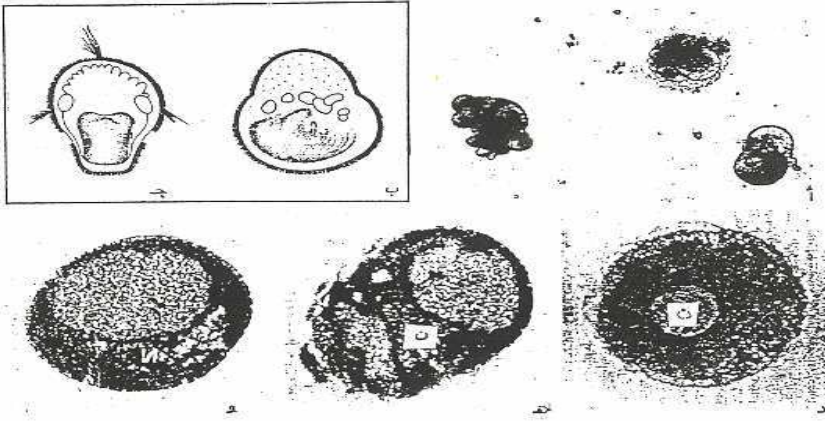




شكل رقم (٥، ٦). مصير الفلجات الخلفية الرابطة (Anchor cell) وتكوينها ميزاب الفرج في الديدان الخيطية *C. elegans*

بويضات الديدان عديدة الأشواك Chaetopetrus eggs

بويضات الديدان عديدة الأشواك يمكن لبويضات عديدة الأشواك Chaetopetrus eggs معروف أنها تدخل مرحلة التمايز بدون تفلج كما سمها ليلي (Differentiation without cleavage) تفلج كاذب، فمعاملة البويضات غير المخصبة بكلوريد البوتاسيوم يحفز فيها النضوج وتكوين غشاء الإخصاب وتعاقب دورات عديدة من أحادية النجمية (الحبيبية المركزية) (Monoasterial)، كما تظهر البويضات نشاط حركي أميبي قوي ينتج عنه انعزال بين المح والسيتوبلازم الرائق حيث يحيط السيتوبلازم بالمح هذه العملية تسمى بالغمر أو التبطين الكاذب Overflow or Pseudo-gastrulation)، فالبويضات التي يتم فيها الغمر للمح كامل تكون قادرة على تكوين يرقة وتفقس وتكوين الأهداب، ثم تكوين يرقة سباحة وحيدة الخلية تهضم المح ثم تمتلئ بالفجوات، هذه اليرقة تظهر تماثل (من النظرة السطحية) مع اليرقات الاعتيادية عديدة الخلايا التي تسمى التروكوفورس (Trochophore)، اليرقات وحيدة الخلية ذات التفلج الكاذب هذه تفتقد خصلة الأهداب الطويلة في المقدمة وليس لها تجويف معوي، مقارنة باليرقة السليمة التروكوفورس شكل (٦، ٦).



شكل رقم (٦، ٦). صور لبويضات الديدان عديدة الأشواك (Chaetopterus) بعد معاملتها بمحلول ملحي تظهر خاصية التمايز الجنيني بدون عملية تفليج (تفليج كاذب).

(أ) يرقة سوية مهدبة تظهر حركة أميبية الشكل، ب- يرقة فيها تمايز خلوي بدون عملية تفليج، ج- يرقة سوية ناتجة من بويضة ملقحة، د-هـ قطاعات خلال البويضات (د) قبل التنشيط (هـ) أثناء التنشيط، و- انفصال المح ذو الصبغة الخفيفة والسيتوبلازم القاعدي، (ن = نواة) عن (Introduction to molecular Biology 2nd ed. by Brachet and Alexandre, 1986)

التفليج الكاذب والانعزال في بويضات الديدان الخيطية عديدة الأشواك غير المخصبة يتطلب اندماج الأنابيب الدقيقة المتكونة من النجمية الأحادية التي يمكن تثبيط تكوينها بواسطة الكولشيسين. السيتوكلايسين-ب يثبط تكوين الأهداب لكن لا يثبط الانعزال، والبويضات المعاملة به تدخل مرحلة التمايز بدون تفليج مثل معاملتها بكلوريد البوتاسيوم.

التكوينات الناجحة لدورات النجمية الواحدة تؤدي إلى تكرار تضاعف الكروموسومات وتكوين نواة عديدة المجموعة الكروموسومية تصبح نواة عملاقة محتواها من الحمض النووي (DNA) أعلى من الحويصلة الجرثومية العادية بمقدار ٣٠٠ مرة، عند الفقس وتكوين الأهداب تتحطم النواة الكبيرة على شكل تاج، بينما المعاملة بالأفيدوكولين (Aphidocolin) يثبط تضاعف (DNA) لا يؤثر على التفليج الكاذب فتكوين الفص القطبي وشق التفليج خاصية سيتوبلازمية، التفليج الكاذب

ربما ينتج من النشاط الانقباضي الذاتي لقشيرة البويضة بويضة الديدان غنية باللييفات الدقيقة، ٩٠٪ من (mRNA) أصله من الأم، فإن سيتوبلازم البويضة كأنه يحتوي على ساعة بيولوجية والتي تضبط مواقيت أي شق تفلج يحدث. إذا تم التثبيط المبكر للحمض النووي (DNA) بواسطة (الأفيدوكولين) فإن اليرقة لا تصل إلى مرحلة الفقس ولا يتكون لها أهداب؛ لذا فقدرت البويضات على التمايز بدون تفلج لا تعتمد على محتواها من الحمض النووي لكن على نوعية هذا الحمض النووي (DNA)، حدث هام يحصل عند الدورة الخامسة لتصنيع الحمض النووي بعد هذه الدورة التمايز بدون تفلج لا يحتاج إلى أي تحضير آخر للحمض النووي (DNA)، فالخلاصة أن التمايز بدون تفلج فقط يقلد التطور الجنيني إذا أنه ليس هناك تبطين حقيقي.

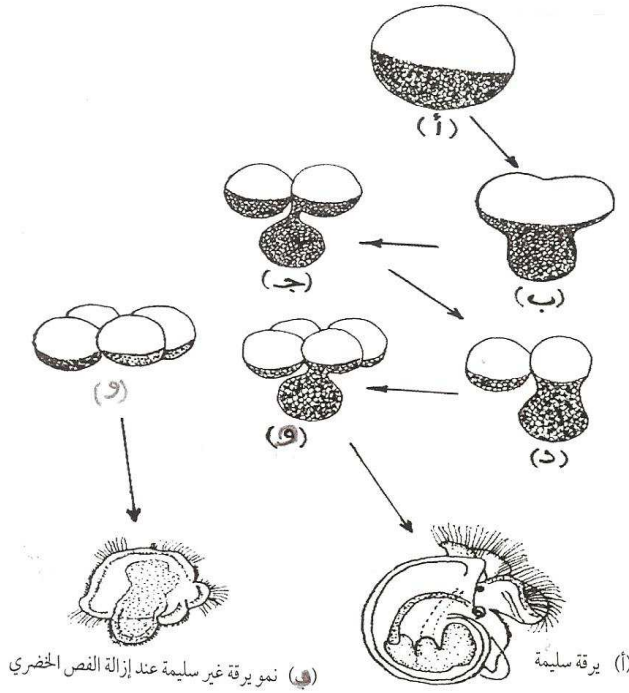
بويضات الرخويات : Mullusk Eggs

بويضات الرخويات كما في معظم البويضات الخليطة (Mosaic egg) تتجمع الميتوكوندريا والدهون في مناطق معينة من الفلجيات وفي الجانب الآخر تتوزع الريبوسومات والأنزيمات بشكل متساوٍ بين الفلجيات، الفص القطبي له أهمية في عملية النمو (او التشكل) فإذا أزيل الفص القطبي ينتج جنين غير سليم (ليس له قدم أو أعين) شكل (٦، ٧)، الفص القطبي قادر على تصنيع البروتينات من الأحماض المرسلية الأمية (MmRNA) وإزالته يؤثر على تحضير الأحماض النووية (DNA) والريبوزية (RNA) وتحضير البروتين في الجزء المتبقي من الجنين وتتوافق مع ظهور التشوهات الشكلية (Morphological abnormal)، تحضير البروتينات أثناء التكوين الجنيني المبكر يتم ترجمتها من الأحماض المرسلية الأمية (MmRNA)، تحضير بروتينات الهستونات المعدل نفسه في البويضات الكاملة والأجنة فاقدة الفص القطبي، والفص القطبي المعزول (لا تحتوي على تضاعف (DNA)).

تصنيع البروتينات في بويضات قوقع الأليونيسا (Ilyanassa) أو الطور اليرقي لا يكون نتيجة للاختلافات في نسخ الجينات لكن أثناء الترجمة، وفي بويضات قوقع

الليمينيا (Lymnaea) يبدأ تصنيع الأحماض الريبوزية عند مرحلة أبكر من الإليونيسا (Ilyanassa) أثناء التفليج.

في قوقع الدنتليم (Dentalium) الفص القطبي كما في قوقع الإليونيسا مهم لعملية التشكل غني بالأجسام السبحية أو الميتوكوندريا وبعض بقايا الحمض النووي والتي تكون متكافلة مع البكتريا وليس لها دور في عملية النمو التي تساعد في تضاعف الميتوكوندريا في الفص عديم النواة الذي يحتوي على جزء الحمض النووي المتكافل (DNA-symbionts).



شكل رقم (٦، ٧). بويضة الرخويات (قوقع الإليونيسا Ilyanassa) عند إزالة الفص القطبي من الفلجيات يؤدي إلى نمو غير سليم، أ-هـ التفليج السليم في البويضات قوقع الإليونيسا، إزالة الفص القطبي من الفلجيات يؤدي إلى نمو يرقى غير سليم، ج-النمو السليم لليرقة ذات اهداب واقدام وفتحة فم ومعدة. (عن كتاب

Introduction to molecular Biology 2nd ed. By Bracket and Alexander, 1986)

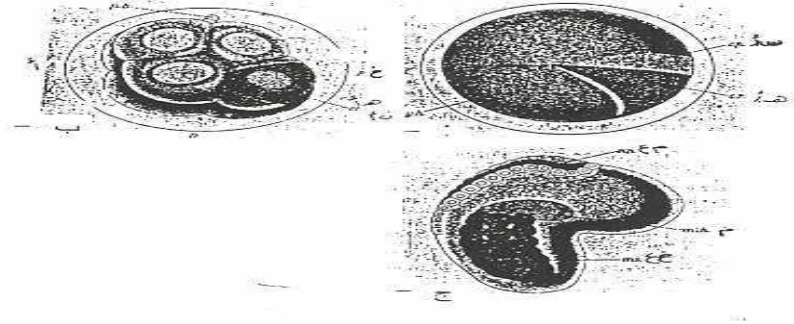
بويضات المغلفات القربيات (الأسيديا) Tunicate Ascidian Eggs:

تعد بويضات الأسيديا نموذجية لدراسة التوزيع البنائي (الجرثومي) لأنها تكون خليطة ذات مناطق تسمى البلازما التي تعطي أعضاء مختلفة في الطور اليرقي أبو ذنية. (شكل ٦-٨، ٩).

هناك آليتان جزيئتان مختلفتان تفسر كيف يمكن للبلازما مثلاً العضلية أن تعطي خلايا عضلية في الطور اليرقي أبو ذنية، سواء كانت أحماض نووية مرسله أمية (Maternal mRNA) تشفر لبروتينات عضلية خاصة وتتجمع في البلازما العضلية، أو أن البلازما العضلي يحتوي على بعض العوامل السيتوبلازمية تنشط بشكل اختياري بعض الجينات لكي تشفر للبروتينات العضلية الخاصة، لقد أظهرت دراسات (Reverbri *et.al*) أن هناك علاقة بين تكوين العضلات في الطور اليرقي والتجمع الموضوعي للميتوكوندريا، فالبلازما العضلي يكون غني بالميتوكوندريا ويتجمع في الفلجتين الخلفيتين لطور ٤ خلايا وعند عمل الطرد المركزي مباشر بعد الإخصاب فإننا نحصل على يرقة غير سليمة لديها توزيع نموذجي للخلايا العضلية وغنية بالميتوكوندريا.

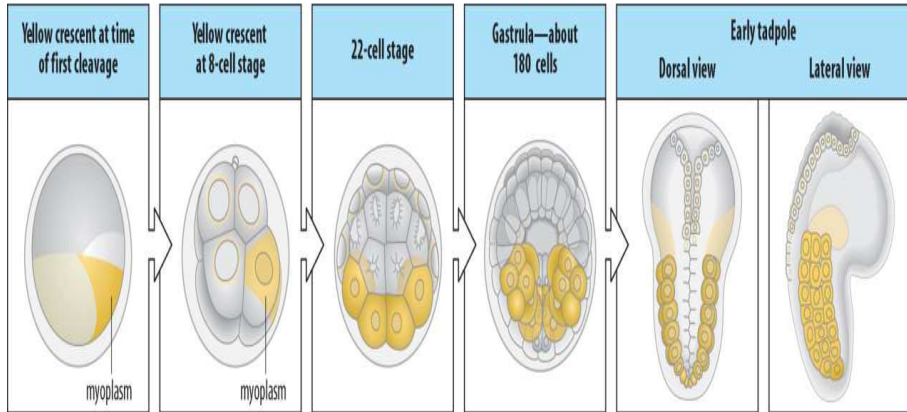
الفحوصات بالمجهر الإلكتروني وتقديرات نشاط الأنزيم التنفسي السيتوكروم (Cytochrome oxidase) تؤكد بأن الفلجات الخلفية تحتوي على البلازما العضلي لديها ٣- ٤ أضعاف الميتوكوندريا في الفلجات الأمامية، لكن التنفس نفس المعدل، فوجود الميتوكوندريا ليس عاملاً محددًا للتنفس في الأسيديا.

الإخصاب لبويضات الأسيديا يعمل على انعزال البلازما إلى مناطق مختلفة، البلازما العضلية والميتوكوندريا تتجمع قرب القطب الخصري ثم يتحول البلازما العضلية إلى الفلجات الخلفية، فاكيتين اللييفات يساهم في عزل البلازما وإزالة الفلجتان الخلفيتان عند طور ٨ فلجات تنتج عنه يرقة غير سليمة شكل (٨، ١٦، ب).

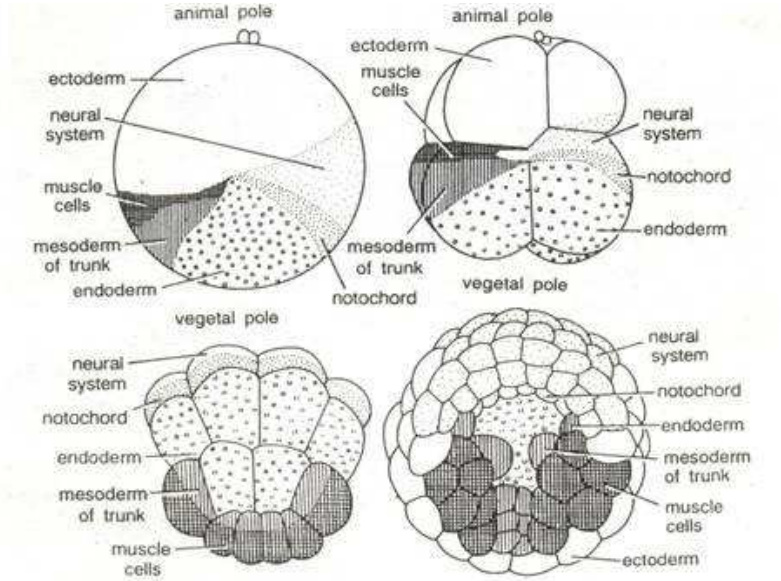


شكل رقم (٨، ٦ أ). رسم يوضح نمو يرقة القربيات المغلفة (الاسيديا *Ascidia Cynthia* ودور البلازما العضلية في النمو السليم وغير السليم لليرقة
 (أ) منظر جانبي لمويضة مخصبة يظهر البلازما الجرثومية، ب- طور ثمانية خلايا، ج- طور أبو ذنية يرقى صغير (هـ- أ= هلال اصفر، ن- أ= النصف الاصفر، س- ر= السيتوبلازم الرائق، أ= جزء امامي، خ= جزء خلفي، جق= جسم قطبي، م- ع= ميزاب عصبي، م= ميزنشيم، خ- ع= الخلايا العضلية، خ- ع= مشتقة من الهلال الأصفر.

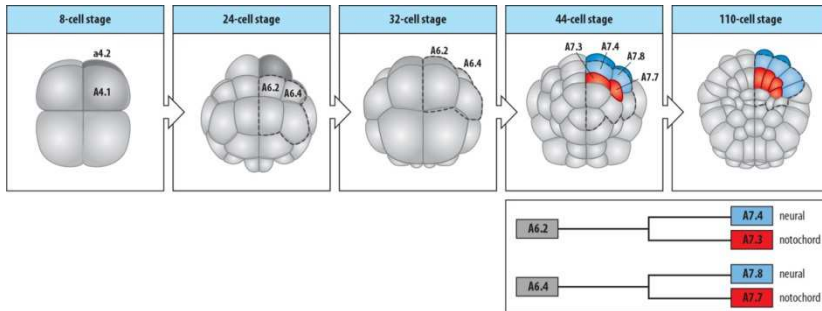
(Introduction to molecular Biology 2nd ed. By Brachet and Alexandre, 1986) عن كتاب



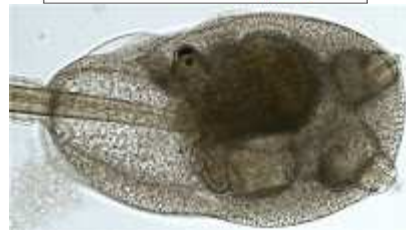
شكل رقم (٨، ٦ ب). رسم يوضح نمو يرقة القربيات المغلفة (الاسيديا *Ascidia Cynthia*)



شكل رقم (٩، ٦، أ، ب). رسم يوضح تفليج ونمو يرقة القربيات المغلفة (الاسيديا *Ascidia Cynthia*) ودور البلازما العضلية في النمو السليم وغير السليم لليرقة.



شكل رقم (٩، ٦، ج). صورة لطور ابوذنية اليرقي للاسيديا (Cloney *et al.* 2001).



Cloney RA, Young CM, Svane I. (2001) Phylum Chordata: Urochordata. In: Atlas of Marine Invertebrate Larvae. Academic Press. New York. P. 567.

دراسات ويتكر الكيميائية الخلوية أظهرت مواقع ثلاثة أنزيمات تحضر بعد الإخصاب في مواقع محدد:

١ - أنزيم الأسيتيل كولين استيريز (Acetylcholinesterase) للعضلات.

٢ - أنزيم الفوسفاتيز القلوي (Alkaline phosphatase) للأمعاء.

٣ - أنزيم التيروسيناز (Tyrosinase) لتمايز الخلايا الصبغية في المخ.

أنزيم الفوسفاتيز يحضر في الطبقة الداخلية أو الأندوديرم من أحماض نووية مرسلة أمية (MmRNA) بينما تحضير نفس الأنزيم وأنزيم التيروسيناز يتطلب نسخ جديد من أحماض مرسلة حديثة منسوخة من الجينات النووية، إذا فهي سابقة التكوين وحديثة تراكمية.

لقد وجد ساتو وزميلة (Sato and Ikegami) باستخدام الأفيدوكولين أن التضاعف الثامن للحمض النووي (DNA) له أهمية قصوى لتحضير أنزيم الأسيتيل كولين وأنها قريبة الصلة بالساعة الآلية التي تحدد الوقت الذي يبدأ فيه تحضير الأنزيم بالنسبة للأنزيمات الأخرى.

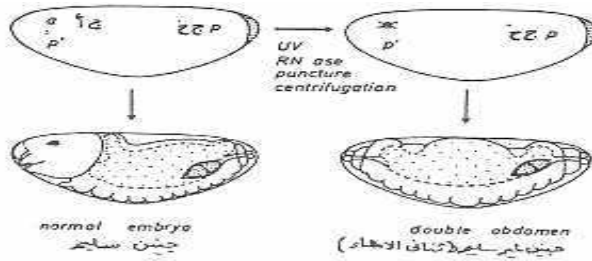
نمو بويضة الأسيديا إلى طور أبوزينية لا يحتاج إلى تحضير الأحماض الريبوزية (RNA) والمعالجة بالأكتينوميوسين د (Actinomycine -D) يوقف نمو بويضات الأسيديا عند مرحلة فقس طور المفلجة.

الدراسات على دمج نصفين مختلفين لبويضات الأسيديا وعمل الخليط من نوع (أ) تم فصلها إلى نصفين نصف عقبي وآخر خالٍ من النواة تم إخصابه بحيوان منوي من نوع (ب) فنمو هذا الخليط في الأسيديا يكون السيتوبلازم أصلة أمي وبشكل نقي من النوع (أ) فالحيوان المنوي لا يظهر أي أثر على النمو المبكر إذا كانت في سيتوبلازم من نوع غريب وتبدو كما لو أنها كانت جينات الذكر التي تساهم في عمليات التمايز تبقى ساكنة في السيتوبلازم الغريب.

بويضات الحشرات : Insect Eggs:

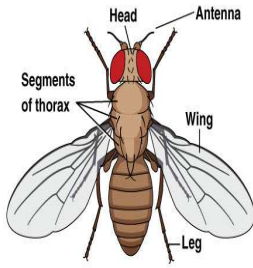
كما أسلفنا فإن التكوين الجنيني في حشرة الدوروسفيللا قد ساهمت بشكل كبير في فهم التركيب الوراثي للكروموسومات والكشف عن الكثير من الجينات ودورها في التمايز الخلوي والجنيني، إن البلازما القطبية (Poleplasm) (في الجهة الخلفية لبويضة للذبابة) لها دور في التمايز الجنيني، فعند تعريض هذه المنطقة للأشعة فوق البنفسجية (UV) ينتج أفراد عقيمة، مما يدل على أن البلازما الجرثومية مهمة لتكوين المناسل، كذلك حقن البلازما الجرثومية في الفص الأمامي يعطي توزيع غير سوي للخلايا التناسلية، فالبلازما الجرثومية تحتوي على بروتينات نووية ريبوزية (RNP)، الفص الخلفي يصبح مركز تكويني ينتج مادة ضرورية لنمو الفص الأمامي من تجارب سايدل والتي فصل البويضة إلى جزئين وجد بأن نمو الرأس يعتمد على مواد معينة في سيتوبلازم النصف الخلفي، وهناك بعض الدلائل تشير إلى أن المواد المحددة للنمو الفص الأمامي تعتمد على بروتينات نووية ريبوزية (RNP) تصنع من أحماض نووية مرسلة أمية الأصل (MmRNA) في الفص الخلفي، فإذا ما عرض النصف الخلفي للأشعة فوق البنفسجية أو حقن بانزيمات نووية ريبوزية (Ribonuclease) فإنه يعطي يرقة ثنائية العقلة البطنية (Double -abdomen larva) شكل (١٠، ٦، أ)، إن الطفرة ثنائية العقلة الصدرية (Biothorax) تحتوي على أربعة أجنحة هي نتيجة لإعادة ترتيب جزيئات الحمض النووي (DNA) وليس طفرة جزيئية نتيجة إحلال قاعدة نيتروجينية مكان أخرى، أو عند نقل موقع الأرجل عند موقع قرون الاستشعار فإنه تنمو الأرجل على الرأس شكل (١٠، ٦، ب، ج).

لقد أظهرت الدراسات أن حقن عامل انتقالي فسفوري (P) في البلازما الجرثومية لبويضات حشرت الدوروسفيللا تحفز توارث طفرة في السلالات التي تفتقد العنصر الانتقالي الفسفوري (P) والذي يعمل كحامل أو حاقن للجين إلى المادة الوراثية في الدوروسوفيللا، إن حقن عنصر الانتقالي (P) في جين أنزيم البلمرة للأحماض الريبوزية الثاني (RNA Polymerase II) يكون مميت في مرحلة مبكرة من التكوين الجنيني.



شكل رقم (١٠، ٦ أ): يوضح تحفيز تكوين ثنائية الحلقات البطنية في أجنة حشرة الدروسوفيلا تحت ظروف تجريبية مختلفة التي تثبط تحديد الجزء الأمامي (ج-أ) والجزء الخلفي (ج-خ).

عن كتاب (Introduction to molecular Biology 2nd ed. By Bracket and Alexander, 1986)



(a) Wild-type *Drosophila*. Two wings and six legs extend from its three thorax segments.



(b) Bithorax mutant. An additional set of wings is formed.



(c) Antennapedia mutant. Legs develop where the antennae should be.

© 2012 Pearson Education, Inc.

شكل رقم (٦-١٠ ب). أ-رسمه ذبابة الدروسوفيلا سليمة، ب-صورة لطفرة ذبابة ثنائية العقل الصدرية. ج-صورة لطفرة ذبابة الدروسوفيلا ثنائية قرون الاستشعار او الارجل مكان قرون الاستشعار (من الشبكة العنكبوتية).

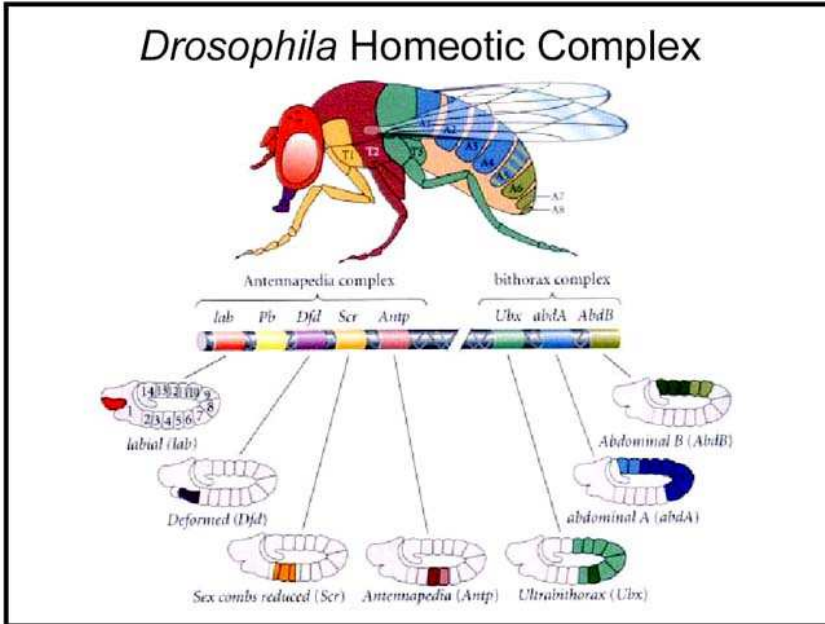
دور خانة الجينات المتماثلة في التكوين الجنيني

The Role of Homeotic and Hox Genes In Development

إن آليات مراحل النمو الجنيني تكاد تكون متماثلة في معظم أجنة الفقاريات فالذي ينطبق على جنين ينطبق على الأجنة الأخرى،

لقد استطاع إدوارد لويس عبر سنوات أن يدرس الجينات الطافرة ودورها في تكوين محور الجسم في جنين ذبابة الدروسوفيلا، وقد تمكن من تحديد هذه الجينات

وعلاقتها في تحديد محور وأجزاء الجسم فأطلق عليها اسم خانة الجينات المتماثلة (Homeotic Gene Box)، ثم اكتشفت نفس الجينات التي تعمل على تكوين محور الجسم في أجنة الفقاريات واللافقاريات كما في الديدان فسميت (Hox Gene Box)، شكل (٦، ٤) شكل (١١، ٦ أ)، هناك مجموعة من الجينات ذات العلاقة فيما بينها تعمل على تكوين محور الجسم في الأجنة (المحور الأمامي والخلفي، الأيمن والأيسر). من هذه الجينات (TGIF, MEIS, PBC, and IRO (Iroquois)) فمثلاً جينات الفئة ميس (MEIS) تشفر لـ ١٣٠ متواليّة من الأحماض الأمينية للهوميودومين، هذه الجينات المتماثلة تتحكم في النواحي المتشابهة في تصميم الجسم في جميع الأجنة، وقد تم اكتشاف هذه الجينات أولاً في الدراسات التي أجريت على تكوين عقل الجسم في جنين الدروسفيليا عقل ثنائية الصدر (Biothorax) شكل (١٠، ٦ ب).

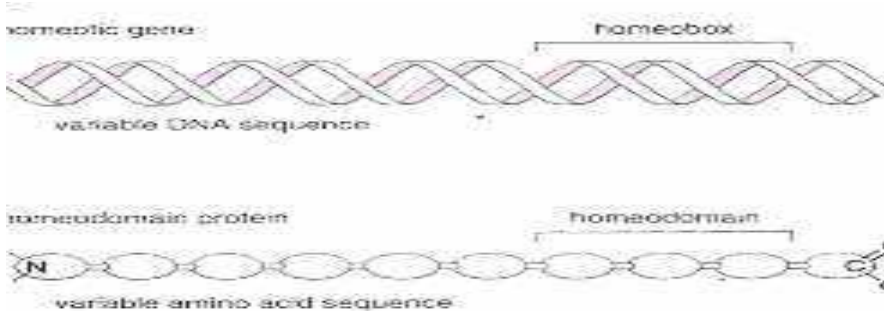


شكل رقم (١١، ٦). أ- مخطط خانة الجينات المتماثلة التي تكون محور الجسم في حشرة الدروسفيليا. من الشبكة العنكبوتية).

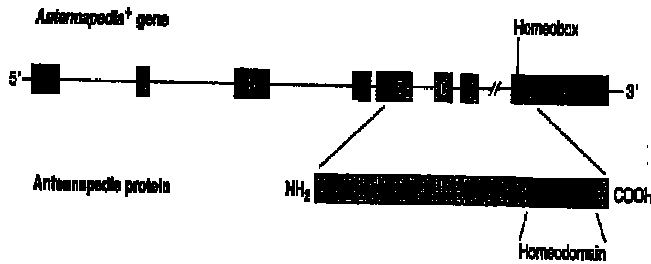
إن المحور (الظهري / البطني) لجنين حشرة الدروسفيلا محكوم بمجموعة من الجينات التي تكون عقل الجسم مشابهة لما هو موجود في الفقاريات واللافقاريات الأخرى.

فبعد أن يصل الجنين إلى نهاية مرحلة التطين وتكوين الجاسترولة فإن المحور الجنيني على المستوى الجزيئي يكون قد تكون (أي حصل له تحديد في الخلايا)، التراكيب الجزيئية لكثير من الجينات والمعروف أنها تتحكم في نمو خلايا الجنين والتي يرتبط بعضها ببعض فكما أسلفنا أطلق عليها بخانة الجينات المتماثلة في حشرة الدروسفيلا (Homeotic Gene Box) وفي الفقاريات (Hox Gene Box)، تشفر خانة الجينات المتماثلة متوالية من ٦٠ حمض أميني تتشابه كثيراً في النواتج البروتينية لمعظم الجينات المثيلة ويطلق على هذه المتوالية في البروتين اسم القطاع المثلي (الدومين Domain) (شكل ١٢، ١٦)، ووظيفته التعرف على متواليات معين من الحمض النووي (DNA) في تلك الجينات المتماثلة ثم الارتباط بتلك المتواليات، ويتألف عديد الببتيد في القطاع المثلي (الدومين) من أربعة حلازين أحدها مسئول عن التعرف على متوالية حمض نووي معينة (DNA)، ولما كان هذا الحلزون من الحمض النووي الدنا (DNA) يكاد يكون متماثلاً في جميع بروتينات القطاع المثلي (الدومين) فإن هذه البروتينات ترتبط جميعها بمتواليات من الحمض النووي الدنا (DNA) المتماثلة إلى حد بعيد، شكل (١٢، ٦ب)، وعندما ترتبط بروتينات القطاع المثلي (الدومين) بجينات خلوية ما فإنها تنشط أو تثبط تعبير الجينات الثانوية، لكن كيف يمكن لجينات الخانة المثلية أن تنسق التمايز الخلوي بدقة أثناء النمو الجنيني، إن جينات الخانة المثيلة تنظم نشاط جينات أخرى، إن جميع مجموعات الخانة المثيلة للجينات التي تعبر أو تشفر عن نفسها عند الخلف تقع في الجانب الأيسر وتلك التي تفصح عن نفسها في الأمام توجد على اليمين. وأن هذا الترتيب نشأ لأن خانة الجينات المثيلة يجب أن تنشط بترتيب معين، لقد تم اكتشاف أكثر من ٦ جينات تتحكم في تمايز عدد القطع والعقل للجسم في ذبابة

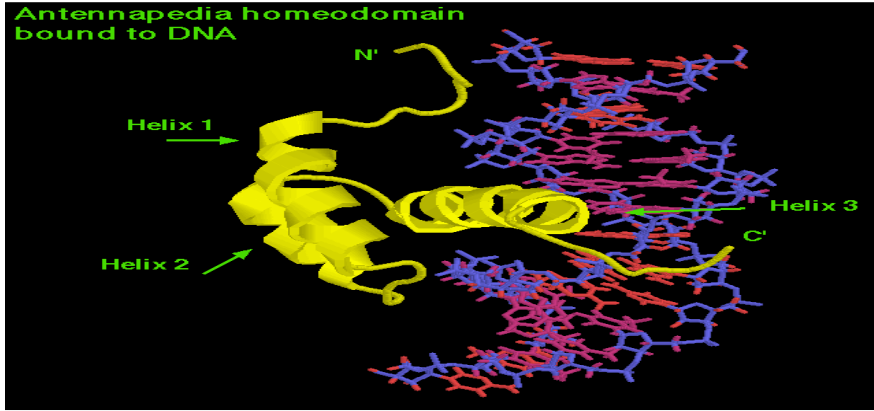
الدروسوفيللا وتشترك في قطعة صغيرة (١٨٠ قاعدة نيتروجينية) من الحمض النووي تشفر لمتتالية من ٦٠ حمض أميني متماثلة والتي سميت بخانة الجينات المثلثة (Homeo box) وأن الجين رقم ٣ يتم نسخه أثناء مرحلة التفليج، نسخة تمتد إلى سبع حواجز فراغية للخلايا (Space band) تخص القطع المستقبلية لليرقة.



شكل رقم (١٢، ٦، أ، ب). رسم لتركيب القطاع المثلثي (الدومين) والذي يتم نسخه من جينات محور الجسم (Homeo and Hox gene) والذي يتكون من متتالية لـ ٦٠ حمض أميني.



شكل رقم (١٢، ٦، ب). رسم لنسخ جين القطاع المثلثي (الدومين) (Homedomian) والذي يتم نسخه من جينات محور الجسم (Homeo and Hox gene) والذي يتكون من متتالية لـ ٦٠ حمض أميني.



شكل رقم (١٢، ٦ج). مجسم لبروتينات الدومين (اللون الأصفر) ترتبط جميعها بمتواليات من الحمض النووي الدنا (DNA) (اللون الأحمر وازرق). (من الشبكة العنكبوتية).

بويضات قنفذ البحر : Sea Urchins

تعد بويضة قنفذ البحر من البويضات المنتظمة (Regulative)، فالشكل (١٣، ٦) يوضح دورة الحياة في قنفذ البحر من الإخصاب والتفلج، ثم عملية التبطين في البلاستولة بعد الفقس تكون الأهداب، وفيها صفيحة قاعدية سميكة تكونت من الفلجيات الصغيرة عند طور ١٦ خلية.

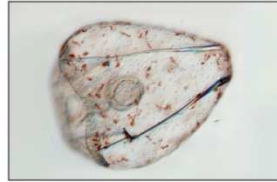
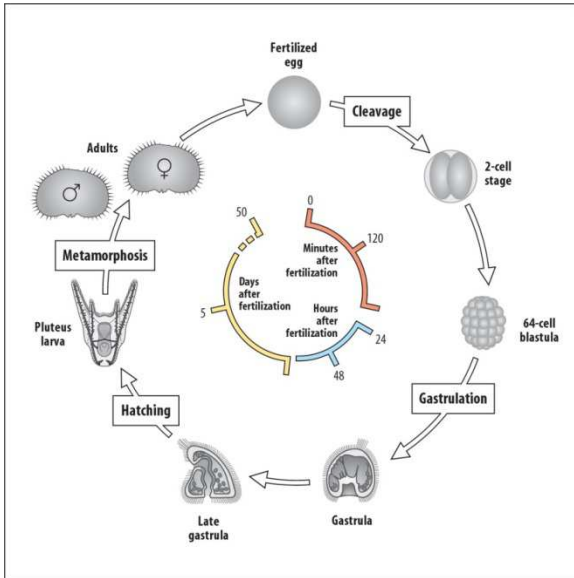
بعض خلايا الصفيحة القاعدية سوف تعطي الهيكل لليرقة مكون من أشواك، نمو الأشواك يكون مسئول عن شكل اليرقة، فزراعة أو تنمية الفلجيات الصغيرة لوحدها تعطي الأشواك والتبطين ينشأ من انغماد الصفيحة القاعدية التي تكون المعى القديم شكل (١٥، ٦).

عملية التبطين في أجنة قنفذ البحر تحتاج إلى أحماض ريبوزية (RNA) جديدة وبروتينات وفقدان أيونات الكبريت من البيئة يوقف التبطين، الكثير من البروتينات يتم إضافة الكربوهيدرات أو السكريات لها والتي يمكن تشيبتها بالعقاقير مثل التنيكاميسين والكومبا أكتين (Tunicamycin & Combactin)، تزداد الأحماض المرسله

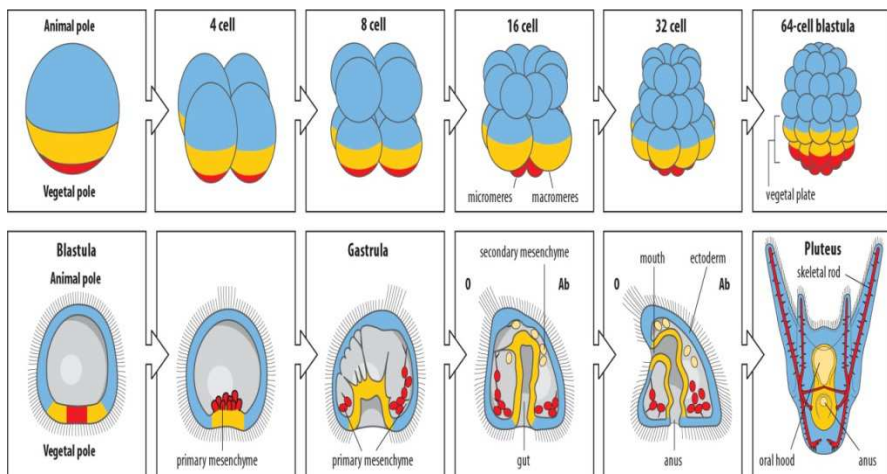
أثناء التفلج، والأكتين خاصية حركية لعملية التبطين، يمكن فصل فلجات قنفذ البحر بسهولة بواسطة زراعتها في بيئة ماء البحر خالٍ من أيونات الكالسيوم، وبعد إضافة الكالسيوم تعود وتلتصق، فصل أول فلجتان يتبعه نمو كامل حتى الطور اليرقي، بينما القطع القطري لطور التوتية يعطي نتائج مختلفة.

أيض المواد السكرية أو الكربوهيدراتية في فلجات قنفذ البحر:

لقد وجد لينداهل (Lindahl) أن كلوريد الليثيم لا يؤثر على البويضات المخصبة لكنه يقلل معدل التنفس أثناء التفلج، وأن أيض المواد الكربوهيدراتية يختلف بين الفصين الحيواني والخضري فهو أكثر في القطب الحيواني وايض البروتينات يكون أكثر في القطب الخضري.



شكل رقم (١٣، ٦، أ، ب) - صور ومخطط لدورة الحياة لقنفذ البحر توضح مراحل الإخصاب والتفلج، ثم التبطين وتكوين الطور اليرقي وفقسها وانسلاخها لكي تنمو إلى الطور البالغ بعد ٥٠ يوم. (من الشبكة العنكبوتية)



(ب) رسم لمراحل التفليج والتبطين وتكوين الطور البرقي ثم الطور البالغ لجنين قنفذ البحر. (من الشبكة العنكبوتية).

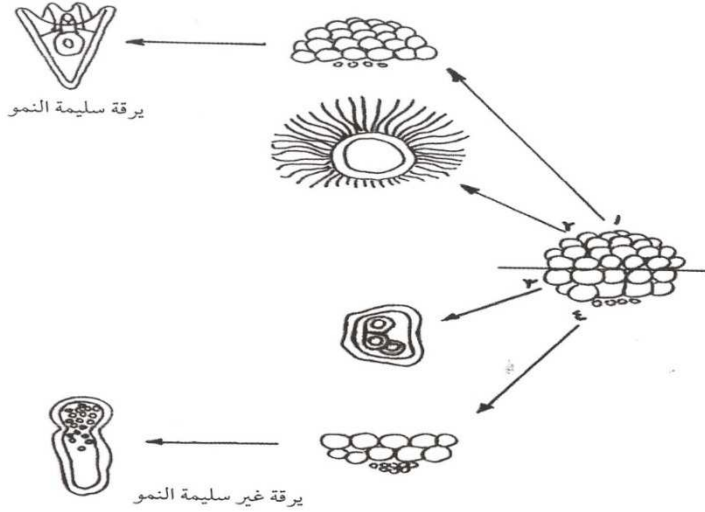
تحضير البروتينات في بويضات قنفذ البحر:

تحضير البروتينات في بويضات قنفذ البحر يزداد أثناء التفليج ثم يقف عند فقس المفلجة البلاستولة ثم يزداد مرة أخرى وليس هناك اختلاف بين النصفين الحيواني والخصري المعزولين، والفلجات الصغيرة المعزولة لا تحضر بروتين أكثر لكل وحدة حجم.

كما درس بيرق تأثير الليثيم على تحضير البروتين في الفلجات فلم يشبط تحضير البروتينات قبل نهاية التفليج لكن اليرقة أصبحت غير سوية فليس هناك تأثير مختلف لليثيم على القطبين المعزولين، وليس هناك اختلاف في التعبير الجيني بالنسبة لتحضير البروتينات في الفلجات المختلفة.

المادة الكروماتينية (DNA) في الفلجات الصغرى تكون أكثر مقاومة للهضم بواسطة أنزيم النيوكليز من التي عزلت للفلجات الأخرى، وأن الجينات الخاصة بالطبقة الداخلية الخارجية الأكتوديرم يتم تنشيطها أثناء تكوين الأجنة في قنفذ البحر.

التجارب أثبتت أن المادة بين خلوية أو البينية التي تربط الفلجات لها دور تثبيطي على نمو الفلجات لبويضات قنفذ البحر، حيث إن المادة بين خلوية والتي تربط الخلايا مع بعضها البعض تدخل في تغيرات كمية ونوعية أثناء النمو.



شكل رقم (١٤, ٦). رسم يوضح أهمية الخلايا القطب الخفزي الصغيرة في عملية التمايز الجنيني. فصل الفلجتين عن بعض يعطي نموًا سليمًا لكل فلجة، فصل فلجات القطب الحيواني أو فلجات القطب الخفزي الكبيرة لوحدها لا يعطي نمو سليم في حين تنمية خلايا القطب الحيواني مع القطب الخفزي الصغيرة تعطي نموًا سليمًا. (من الحميدي وكريم ١٤٢٩هـ).

التكوين الجزيئي لأجنة البرمائيات

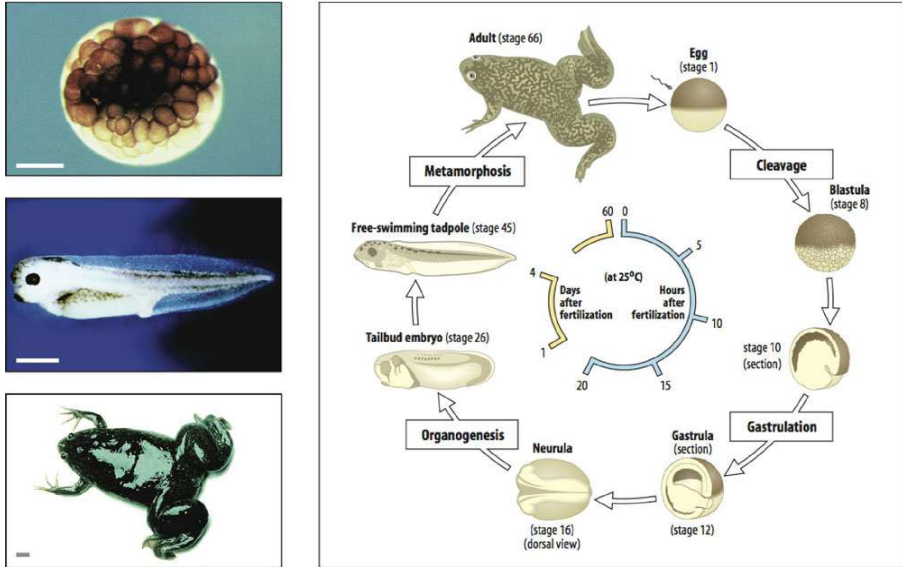
The Molecular of Amphibian Embryo

مقدمة دورة الحياة والإخصاب البيض والتفلج في الضفدعة

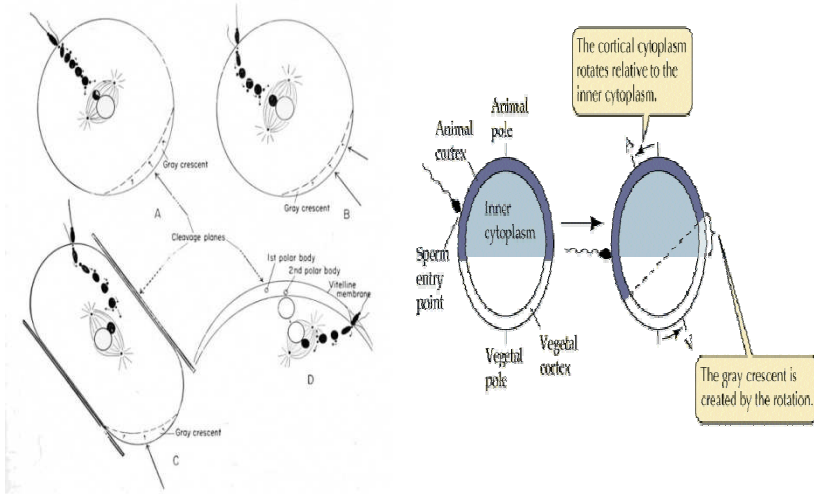
تعد أجنة البرمائيات الضفدعة من الكائنات الحية التي ساهمت في فهم الكثير من مراحل التكوين الجنيني والجزيئي في الفقاريات، وذلك بسبب طبيعة معيشتها في البيئة المائية وتوفرها بأعداد كبيرة حيث تضع الضفادع بضع آلاف من البويضات تقريباً في الموسم الواحد، ويبلغ قطر البويضة الناضجة ٢-٣ ملم تقريباً، تحتوي على الحويصلة الجرثومية أو النواة التي تحتوي على عدد من النويات قبل خروجها من المبيض، وبعد خروجها من المبيض تحاط البويضات بالأغشية الجلاتينية عند مرورها داخل قناة البيض، عندما يخرج البيض من الأنثى إلى الماء تنتفخ الأغشية الجلاتينية لامتصاصها الماء وغالباً تكون هذه الأغشية الجلاتينية ذات مادة مخاطية عديدة السكريات (Mycopolysaccharides) تعمل على الالتصاق بالبيوضة وعلى لصق البيض مع بعضه البعض وكذلك التصاقه بالأغصان أو الأعشاب في البيئة المائية، كما يمكن تحفيز التبويض في إناث الضفادع بحقن الإناث بمحلول مستخلص من الغدة النخامية (١-٢ سم ٣) في ٢٠٪ من محلول هولفترتير (انظر الحميدي ١٤٣٣هـ)، الشكل رقم (٧-١) يلخص دورة الحياة للضفدعة، فبعد إخصاب البويضة تأخذ محلة التفلج وتكوين المفلجة (البلاستولة) ١٠ ساعات تقريباً ليكون طور، يلي ذلك عملية

التبطين وتكوين المبطنة أو الجاسترولة ذات الطبقات الجنينية الثلاث وتستغرق ٥ ساعات تقريباً، ثم خلال ٤ أيام تتكون الأعضاء وينتج طور أبوذنية الذي يسبح في الماء، ثم الطور اليرقي الذي ينسلخ عدة مرات ليصل الطور البالغ خلال شهرين تقريباً.

يُحصل الإخصاب للبويضات خارجياً في الماء وتدخل الحيوانات المنوية البويضة من أي نقطة على حلقة عرضية ٣٥-٤٠ درجة من القطب الحيواني، شكل (٧-٢).



شكل رقم (١، ٧). مخطط وصور لدورة الحياة لجنين الضفدعة، فبعد إخصاب البويضة يأخذ التفليج ١٠ ساعات تقريباً ليكون طور المفلحة، ثم ٥ ساعات تقريباً يتكون طور المبطنة، ثم ٤ أيام تتكون الأعضاء وطور أبوذنية، ثم الطور اليرقي الذي ينسلخ عدة مرات ليصل الطور البالغ خلال شهرين تقريباً. (من الشبكة العنكبوتية).



شكل رقم (٧-٢). رسم لعملية إخصاب البويضة في البرمائيات والتفاف البويضة وتكوين الهلال الرمادي، تحرك النواة الذكرية للحيوان المنوي داخل سيتوبلازم البويضة وتضاعفها.

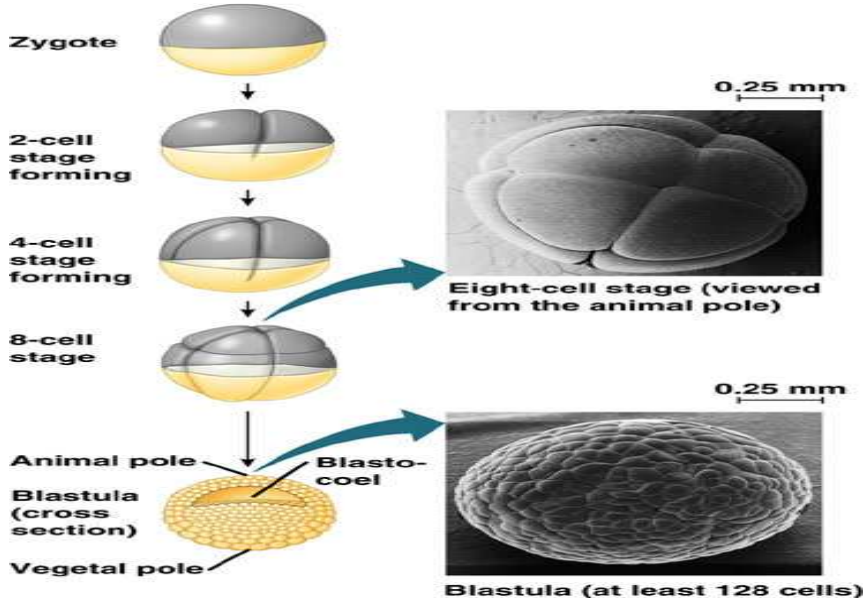
وما أن يلامس الحيوان المنوي البويضة يحدث فيها ردة فعل بتكوين غشاء الإخصاب وإفراغ الحويصلات القشرية للبويضة بمحتوياتها في الفراغ بين الغشاء البلازمي للبويضة وغشاء الكوريون المحيط بها، وبذلك تصبح البويضة حرة الحركة داخل الغلاف الجلاتيني فيصبح القطب الحيواني (الذي يحتوي على النواة) للأعلى والقطب الخصري (الذي يحتوي على المح) للأسفل، وعند الإخصاب يتسبب الحيوان المنوي في ردة فعل أخرى أقوى داخل سيتوبلازم البويضة وذلك بتدفق البلازما البويضة تجاه نقطة دخول الحيوان المنوي فتنتقل الحبيبات الصبغية بين منطقة القطب الحيواني والقطب الخصري مكونة الهلال الرمادي ذات أهمية في عملية التمايز الجنيني المبكر في البرمائيات، وعند اختراق الحيوان المنوي لبلازما البويضة فإنه يحصل إزالة التكثف عن نواته ثم يحصل لها تضاعف المادة الوراثية (DNA) لكروماتها فيصبح كل كروموسوم مكون من كروماتيدتين، ثم تتحرك نواته باتجاه نواة البويضة

وبتحركها فإنها تحمل معها الكثير من الحبيبات الصبغية التي تمكن من متابعة حركتها داخل سيتوبلازم البويضة شكل (٧-٢)، ويحدث التفلج الأول في بويضة البرمائيات بعد الإخصاب بساعتين إلى ثلاث ساعات تقريباً، ويكون مبتدئاً من القطب الحيواني باتجاه القطب الخصري للبويضة ويكون تفلجاً كاملاً يقسم البويضة إلى فلجتين كاملتين، ثم يحدث التفلج الثاني في كل فلجة، بعد ٣٠-٤٥ دقيقة تقريباً ويقسم البويضة على المحور الطولي أيضاً من القطب الحيواني إلى القطب الخصري فنتج أربع فلجات متساوية، أما التفلج الثالث فيكون في فلجة عمودياً على محور التفلجين السابقين وقريباً من منطقة القطب الحيواني، فيقسم الفلجات إلى مجموعتين أربع فلجات علوية صغيرة نسبياً وأربع كبيرة نسبياً في منطقة القطب الخصري شكل (٧-٣)، يلي ذلك التفلج الرابع في كل فلجة، والذي يقسم مجموعة فلجات القطب الحيواني وفلجات منطقة القطب الخصري فينتج الجنين ذو ست عشرة فلجة (ثمانية صغيرة في منطقة القطب الحيواني وثمانية كبيرة في منطقة القطب الخصري)، ويتبع ذلك مستويين من الانقسامات الخلوية في المستوى العرضي للجنين في وقت واحد فيقسم المستوى الأول فلجات منطقة القطب الحيواني إلى ١٦ عشرة خلية والمستوى الثاني في القطب الخصري قاسماً الفلجات إلى ١٦ خلية فينتج الجنين ذو ٣٢ خلية. وبعد ذلك يصبح التفلج في منطقة القطب الخصري أسرع منه فلجات القطب الخصري وذلك لكثرة المح في فلجات القطب الخصري، فتفقد الخلايا التزامن بين الانقسامات الخلوية للتفلج، ثم يبدأ التفلج الخامس في كل الفلجات، ليكون طور التوتية والتي تحتوي على أكثر من ٦٤ فلجة. يليها التفلج السابع والذي ينبئ عن بداية تكوين طور المفلجة أو البلاستولة ذات خلايا علوية صغيرة (Micromeres) في منطقة القطب الحيواني ذات حبيبات صبغية وريبوسوما، وفلجات كبيرة (Macromeres) ذات صفائح محية منطقة القطب الخصري، ويظهر فراغ بين نوعي الفلجات القطب الحيواني الخصري يعرف بتجويف المفلجة (Blastocoel) (شكل ٧-٣).

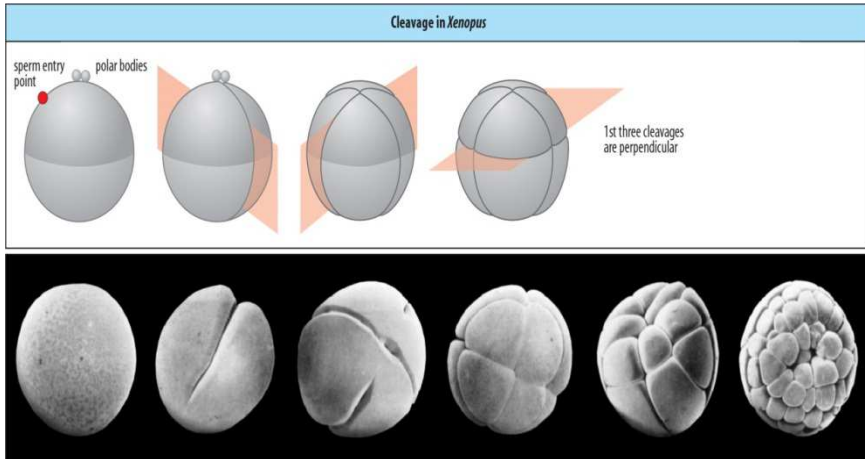
التكوين الجزيئي لمرحلة التبطين وتكوين الطبقات الجنينية الثلاث في جاسترولة

البرمائيات: - Gastrulation and the three layer formation in Amphibian Gastrula

أول علامات التبطين في جنين الضفدعة هو ظهور حز عرضي في المنصف بين فلجات القطب الخصري والقطب الحيواني، حيث تبدأ تنغمد خلايا القطب الحيواني من خلال هذا الحز والذي يعرف بثقب المفلجة، إن عملية التبطين في جنين الضفدعة (البرمائيات) تختلف قليلاً عما هو موجود في مفلجة قنفذ البحر أو الفقاريات الأولية كالسهم حيث عملية التبطين في السهم تتم عن طريق إنغماد خلايا منطقة القطب الخصري حتى تلامس الجدار لمنطقة القطب الحيواني كما لو تكون ضغطت بالونه من جانب واحد ليلامس الجانب الآخر، بينما في مفلجة الضفدعة ونظرًا لوجود كمية مح كبيرة في القطب الخصري، تنساب من خلال ثقب المفلجة خلايا من نصف القطب الحيواني إلى الداخل؛ (وذلك لأن سرعة انقسام الخلايا في القطب الحيواني أسرع وأكثر عددًا من منطقة القطب الخصري)، يسمى الجزء العلوي لهذا الثقب بالشفة الظهرية (Dorsal lip) والآخر سفلي فيعرف بالشفة البطنية لثقب الجاسترولة أو المبطنة، تأخذ الخلايا التي تهاجر عند منطقة الشفة الظهرية شكلًا كمثريًا لوجود حركة سحب إلى الداخل وأول خلايا



شكل رقم (٧-١٣). يوضح مراحل التفليج في جنين البرمائيات وتكوين المفلجة أو البلاستولة. (من الشبكة العنكبوتية).



شكل رقم (٧-٣ب). رسم وصور لمستويات التفليج الأولية وتكوين طور المفلجة في جنين الضفدعة (من الشبكة العنكبوتية).

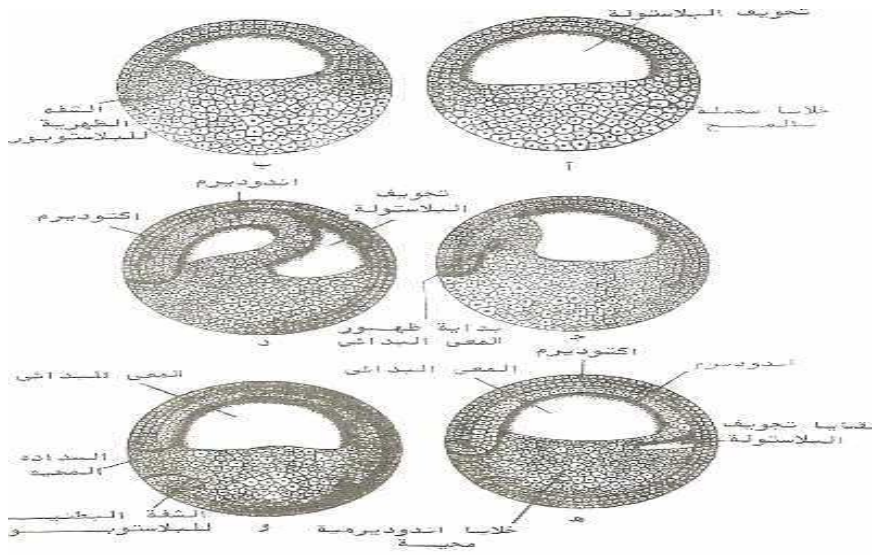
تجد طريقها إلى الداخل هي الخلايا عند الشفة الظهرية وما أن تترك مكانها متجهة لداخل تحل مكانها مجموعة أخرى ثم تتحرك إلى أعلى من الداخل لتبطن السطح الخارجي شكل (٧-٤).

يتكون تجويف صغير بين الخلايا المنغمدة للداخل والخلايا المحية يعرف بالمعي القديم (Archenteron)، وفي الوقت نفسه يبدأ يقل حجم تجويف الفلجة (Blastocoel)، يكون الزحف في البداية من منطقة الشفة الظهرية ثم لا يلبث أن تكون هناك زحف آخر للخلايا من الشفة البطنية حتى تكون في النهاية دائرة أو حلقة حول الخلايا المحية أو منطقة القطب الخصري والتي تشبه سدادة للكرة فتعرف بالسدادة المحية للجنين (Yolk Plug) في نهاية عملية التبطين وتكوين الجاسترولة شكل (٧-٥).

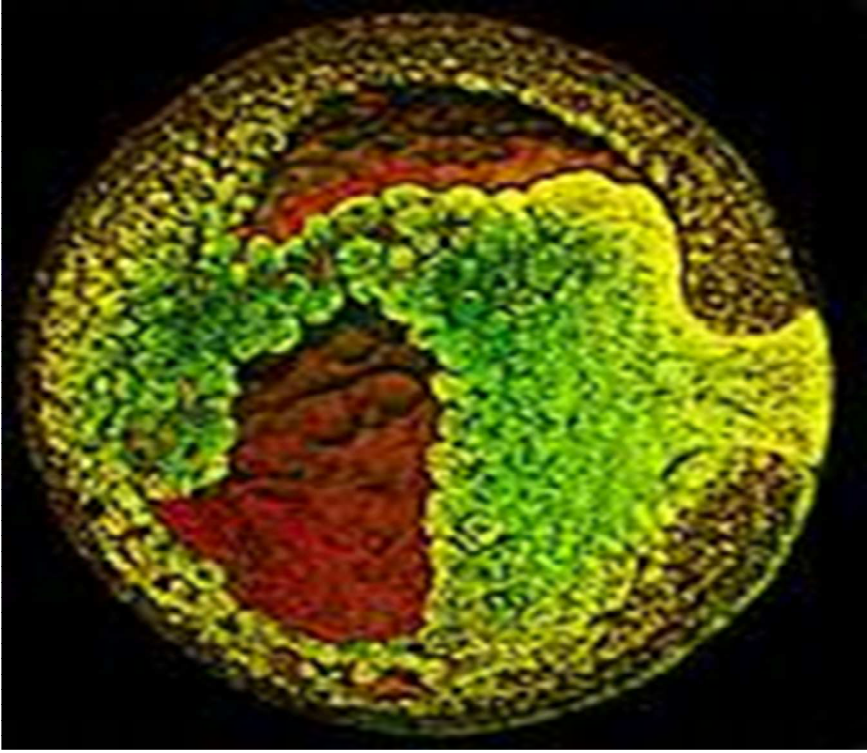
تكوين الطبقات الجنينية الثلاث للمبطنة:

وما أن يتم تكوين المبطنة أو الجاسترولة حتى تبدأ السدادة المحية بالتناقص نتيجة لزحف خلايا القطب الحيواني حولها من كل اتجاه ثم تلتحم الشفتان في النهاية وتتحول إلى ميزاب طولي صغير يعرف بإسم الخط البدائي له ثقبين دقيقين يقفل البطني ويظل الظهرى مفتوحاً لمدة ثم يقفل فيما بعد، بعد تمام عملية التبطين يتحول الجنين من كرة جوفاء ذات طبقة واحدة (البلاستولة) إلى جسم مكون من ثلاث طبقات الخارجية تعرف بالأكتوديرم (Ectoderm) والداخلية تعرف بالأندوديرم (Endoderm) والخلايا التي هاجرت من الخارج للداخل تكون الطبقة المتوسطة والتي تعرف بالميزوديرم (Mesoderm)، شكل (٧-٦)، وتنشأ من هذه الطبقات الجنينية الثلاث كل أعضاء الجنين فيما بعد، بعدها تبدأ بعض الأعضاء في التكون وأولها طور تكوين الأنبوبة العصبية (النيورولا Neurulation) شكل (٧-٧، ب)، فهي تحتوي على جهاز عصبي مغلق. كما تحتوي على الحبل الظهرى والطبقة المتوسطة (الميزوديرم) التي تتكون منها القطع الجسدية الميزوديرمية (Somite's) ومشتقاتها (من خلايا العضلات

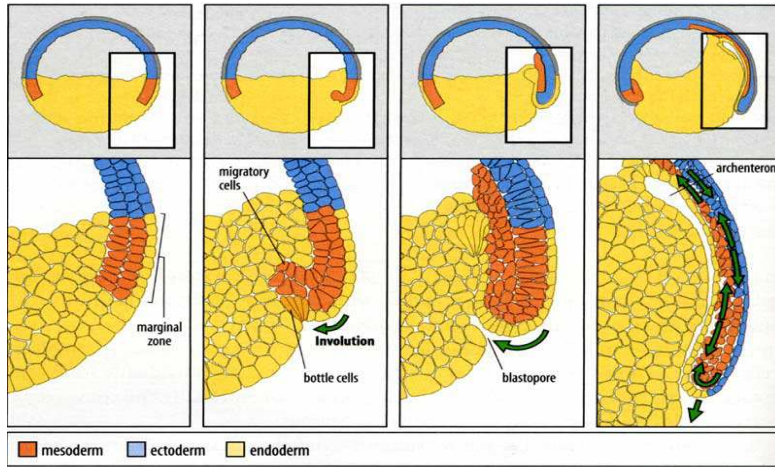
والعظام والأدمة) كما تتكون من الطبقة المتوسطة الميزوديرم المتوسط الذي يكون الكلية والميزوديرم الجانبي الذي يعطي خلايا الدم والتجويف البيريتوني، وأهمية الشفة الظهرية (Dorsal lip) في تمايز الحبل الظهرى والنسيج العصبي، وتكوين (المنظم Organizer) لسبيمان من مركز نيوكب وأهميتها في التمايز الخلوي والجيني للصفدة (٧-٨).



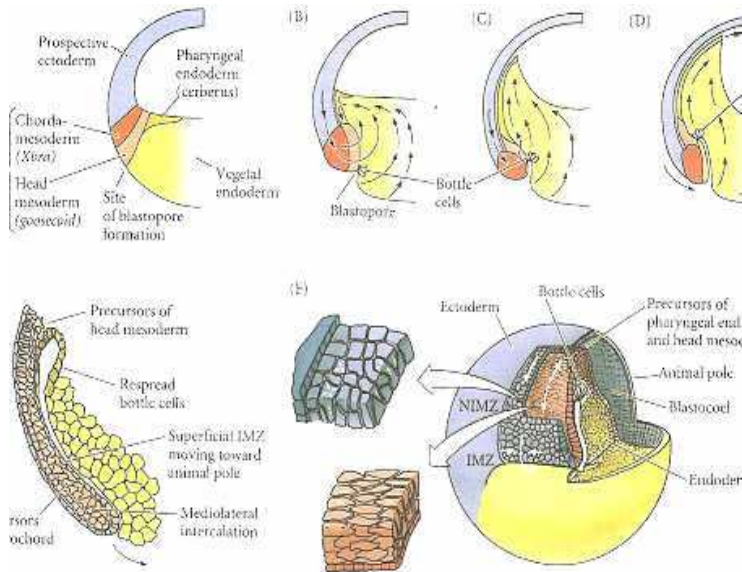
شكل رقم (٧-٤). أ- رسم لقطاعات في مراحل مختلفة من العمر الجنين توضح عملية التبطين وتكوين المبطن او الجاسترولة. (من كتاب ماهر إبراهيم ١٩٧٨م)



شكل رقم (٧-٥). صورة مصبوعة لجنين في طور المبطنة وترى السدادة المحيية الصفراء يمن الصورة والتجويين:
تجوييف المفلةجة وبدأً يحل محله تجوييف الجاسترولة داخل جنين الضفدعة. (من الشبكة العنكبوتية)

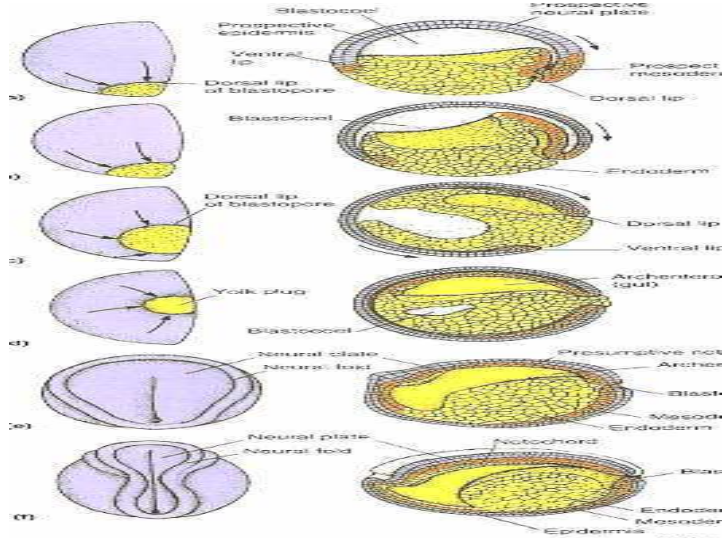


أ

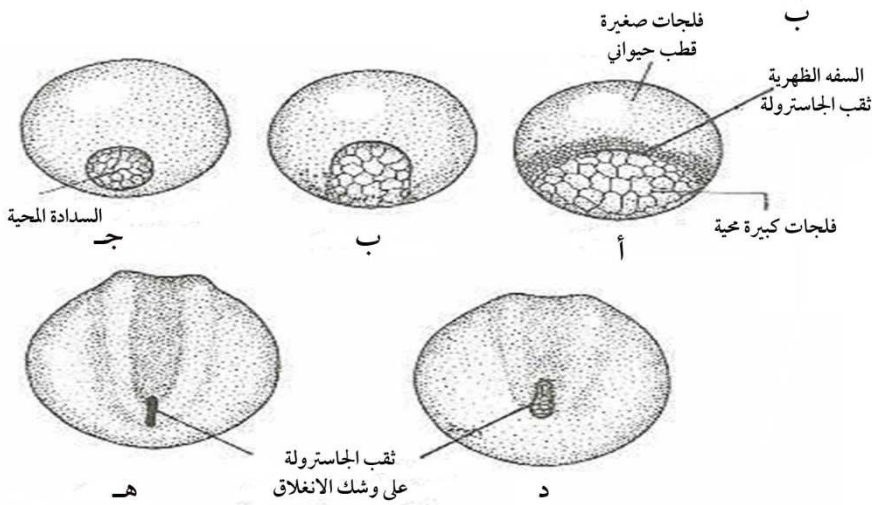


ب

شكل رقم (٦-٧ أ ب). رسم لقطاعات متتالية لعملية التطين لجنين البرمائيات وزحف الخلايا السطحية (الكتوديرم للداخل (اللون الأحمر) من خلال شق المفليجة، تأخذ الخلايا المنغمدة شكل القارورة عند ثقب المفليجة (اللون أصفر باتجاه السهم)، لتكون طبقة الميزوديرم (اللون الأحمر). (من الشبكة العنكبوتية)



شكل رقم (٧-٧-أ). رسم لقطاعات مجسمة ومناظر خارجية لعملية التبطين وتكوين الجاسترولة وبداية تكوين الانبوبة العصبية لجنين الضفدعة او البرمائيات. (من الشبكة العنكبوتية)

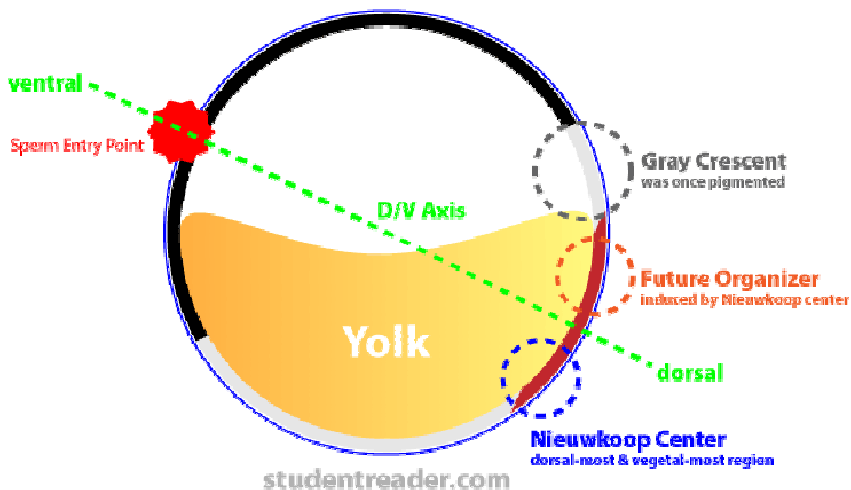


شكل رقم (٧-٧-ب). اشكال مجسمة ومناظر خارجية لعملية التبطين وتكوين الجاسترولة وغلق ثقب الجاسترولة السداة المحية وبداية تكوين الانبوبة العصبية لجنين الضفدعة. (من كتاب ماهر ابراهيم ١٩٧٨م)

التركيب الجزيئي للمنظم عوامل الشفة الظهرية تنتقل خلال الطبقة الخارجية (الأكتوديرم): هناك العديد من الإشارات التي ترحل عبر الطبقة الخارجية (الأكتوديرم)، أول مجموعة من هذه الإشارات قد تفخم الاختلافات بين الطبقة الخارجية الأكتوديرم الظهري والبطني والمتوقعة في المستقبل، فالأكتوديرم الظهري لديه القدرة على التحفيز أكثر من الأكتوديرم البطني قبل اتصاله بالميزوديرم وعلامة للتحديد العصبي فإنها تستخدم حمضين نوويين مرسلين (mRNA) كلاهما يتم تحفيزهما في المنطقة التي سوف تكون أنبوبة عصبية مستقبلاً مباشرة بعد بداية تكون الصفيحة العصبية، كذلك لقد وجد شارب ومساعدوه أن وضع الأكتوديرم الظهري مع الميزوديرم (الحبل الظهري) فإن الأحماض النووية المرسلية (mRNA) والخاصة بالنسيج العصبي يتم تحفيزها، في حين أنه عند استبدال الأكتوديرم الظهري بالأكتوديرم البطني وتوضع مع الحبل الظهري فإن الأحماض النووية المرسلية لا ترى، وهذا يقترح أن الأكتوديرم الظهري يختلف عن الأكتوديرم البطني.

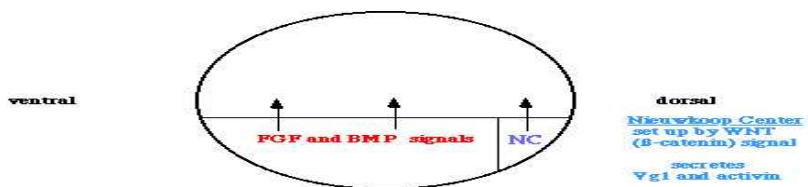
المجموعة الثانية من الإشارات تصدر من الشفة الظهرية (منظم سيمان) التي قد تكون مسئولة عن التحفيز الحقيقي للجينات الخاصة بتكوين الأنبوبة العصبية من خلال طبقة الأكتوديرم.

لقد أوضح دوتش أن هناك تعليمات موضعية يتم تزويدها من الإشارات المخططة تعبر خلال طبقة الأكتوديرم، فعند أخذ قطعة من الأكتوديرم للمبطنة المبكرة للصفدة وكانت على اتصال بالشفة الظهرية ولكن لم تتصل بميزوديرم الحبل الظهري فإنه لا يتم تحفيز العلامات للنسيج العصبي لوحدها (N-CAM and NF3) بل يتم تحفيز أربع مواقع أخرى في الأكتوديرم على حسب الترتيب من الأمام للخلف وهي (6 & Engriled-2, Krox-20, XIHbox1 أي أن هناك إشارات التحفيز الأفقي من الشفة الظهرية كافية لكي تحفز التركيب الأمامي الخلفي (الراسي الذيلي) للأنبوبة العصبية، إن مصدر هذه الإشارات لابد وأن يكون النسيج الطلائي لمنطقة الحد (الطرف)

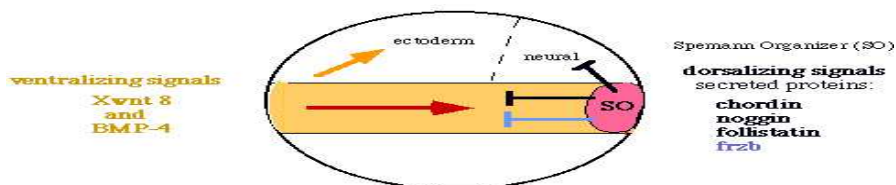


شكل رقم (٨، ٧). رسم لموقع المنظم الجنيني والخلل المادي ومركز نيوكب المستولة عن التهايز الجنيني للصفدة. (من الشبكة العنكبوتية)

First: Mesoderm induction in the BLASTULA stages



Second: Mesodermal Patterning in the GASTRULA stages



شكل رقم (٩، ٧). مخطط الاشارات الراسية أولا في طور البلاستولة ثانيا طور الجاسترولة الإشارات البطنية والظهرية للتهايز الخلوي لجنين الصفدة والجينات التي تتحكم فيها. (من الشبكة العنكبوتية)

الظهري (DMZ) بدلاً من أن يكون في الخلايا الميزنشيمية المنطومة بالعمق بالنسبة لمنطقة المنظم شكل (٧-٩).

لقد أعدد كل من (شهبي وكيلر) تجارب (سبيمان وماقنولد) ولكن بدلاً من أن يأخذوا كل منطقة الحد الظهري (DMZ) فقد زرعوا إما الخلايا الطلائية أو الخلايا العميقة لمنطقة (DMZ) والتي تم تعليمها بواسطة جسيمات فلورستية، فقد وجدوا أن الخلايا الطلائية لديها كل التعليمات أو الخصائص التحفيزية لمنظم سبيمان وتتمايز إلى خلايا وأنسجة ميزوديرمية، فلا الخلايا العميقة لمنطقة (DMZ) ولا خلايا الحد البطني تستطيع أن تقوم بأنشطة المنظم.

التركيب الجزيئي للمنظم Organizer:

الإشارات الرأسية من الميزوديرم الظهري (الحبل الظهري والقطع العضلية): هناك دليل يقترح أن كلاً من التحفيزات الرأسية من خلال الميزوديرم الظهري والتحفيزات الأفقية من خلال الأكتوديرم تكون ضرورية لتكميل عملية التحفيز الجنيني.

وقد أوضح كيلر ومساعدوه أن الإشارات المخططة من الشفة الظهري للمبطنة المبكرة تكون كافية لتحفيز التحول الممتد للمخ الخلفي واكتوديرم الحبل العصبي المجاور لها مباشرة، على الرغم من أن هذا الأكتوديرم المحفز لا ينطوي على شكل أنبوبة أو أن يكون التوجه الظهري البطني المماثل تمامًا لما يحدث في الحالة الاعتيادية عند تحفيز الأنبوبة العصبية.

كذلك فقد لاحظ كل من (ريوز وجس) أن التحفيز الأفقي يكون كافٍ لكي يشكل التمايز العصبي خلال معظم أجزاء الأنبوبة العصبية لكن المنطقة الأمامية تحتاج لتدخل الحبل الظهري.

تنفس طور المبطنة (الجاسترولة) وطور الأنبوبة العصبية:

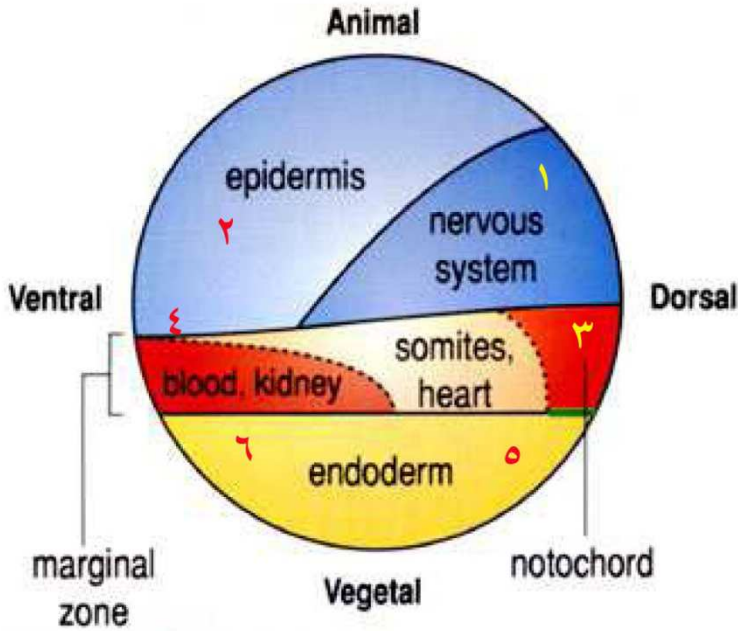
يزداد التنفس بشكل حاد أثناء عملية التبطين وبالأخص أثناء تكوين الأنبوبة العصبية، فقد يتوقف النمو إذا تم تثبيط عملية التنفس (أخذ الأكسجين) بواسطة السينيد (Cyanide). النسبة التنفسية بين الأكسجين وثنائي أكسيد الكربون (O_2 / CO_2)، تزداد أثناء مرحلة التبطين فهي تستخدم الكربوهيدرات كمصدر للطاقة إذا ازداد تكسير الجليكوجين بشكل واضح أثناء هذه المرحلة.

وهناك اختلافات بين أجزاء الجنيني في استهلاك الأكسجين (الشكل ٧-١٠) رقم واحد أكثر استهلاك للأكسجين من رقم ٦ (١ < ٦)، فخلايا القطب الحيواني الظهري رقم (١) والبطني منها رقم (٢) والمنطقة المتوسطة للجاسترولة الأمامي (٣) والخلفي (٤) ثم منطقة الخلايا الخضرية الظهرية فيها (٥) والبطنية منها (٦) (١ < ٦)، أي أن هناك تدرجاً من القطب الحيواني إلى القطب الخضرى في استهلاك الأكسجين وكذلك من الجهة الظهرية إلى الجهة البطنية. شكل (٧-١٠) فالقطعة رقم ٣ (الشفة الظهرية) أكثر نشاطاً في الأيض من القطعة رقم ٤ الطبقة المتوسطة البطنية، وكان يعتقد أن هذا الارتفاع ربما لنشاطها التحفيزي لكنه متطلب للتحركات التشكيلية (Morphogenetic movement)، تحفيز تكوين الجهاز العصبي مرتبط بالزيادة في استهلاك الأكسجين إذا ازداد بإزدواج الطبقتين الخارجية أو الأكتوديرم والحبل الظهري، فالتحفيز لتكوين الأنبوبة العصبية بواسطة الحبل الظهري يتميز بزيادة في تصنيع الأحماض النووية والبروتينات والتي تحتاج للطاقة التي بدورها ترتبط بزيادة التأكسد داخل الميتوكوندريا حيث تكون ذات محتوى عالٍ من الأنزيمات التنفسية.

٢- طبيعة المادة المحفزة:

المادة المحفزة (Evocator) توجد في جميع الأنسجة ومن الممكن عزلها وتنقيتها من مختلف الأعضاء، ثم اتضح فيما بعد أن مواد أخرى ليس لها علاقة كالإستيرويدات، والأحماض الدهنية والجليكوجين والأحماض النووية والنيوكليتيديات (ATP) كلها لها

القدرة على تحفيز تكوين الجهاز العصبي فهذه المواد تعمل بشكل غير مباشر، فهي تفرز بطريقة غير متخصصة المادة المحفزة الحقيقية والتي تتواجد على شكل غير نشط في الطبقة السطحية، هناك مواد أخرى مثل الأملاح البسيطة كلوريد الليثيوم وكلوريد الصوديوم والزرجاج المسحوق والتفلون وكذلك التغير في الأس الهيدروجيني (PH) للأملاح المحلول المزروعة فيه الأكتوديرم الخارجي (Ectoblast) يحولها إلى نسيج عصبي، عامل نمو القطب الخضري (Vegetizing factor) ونخاع عظام أجنة الطيور فهو يحول الطبقة السطحية الخارجية للمبطنة (الجاسترولة) إلى نسيج الطبقة المتوسطة (الميزوديرم) مثل الحبل الظهري، فالطبقة الخارجية التي تكون الأدمة تصبح ذيل والتي تحولت داخلياً بشكل تام إلى جهاز عصبي.



شكل رقم (١٠، ٧). مخطط رسمه للأبيض وتنفس مناطق البلاستولة فهي تقل كلما اتجهنا من القطب الحيواني (رقم ١) إلى منطقة القطب الخضري (رقم ٦). (من الشبكة العنكبوتية)

٢- بروتين آخر: يرتبط بالريوسومات لجنين الطيور يعد عاملاً محفزاً لتكوين الجهاز العصبي يعرف (Neuralizing factor NF) عند التراكيز المنخفضة يحول خلايا الطبقة السطحية إلى خلايا عصبية.

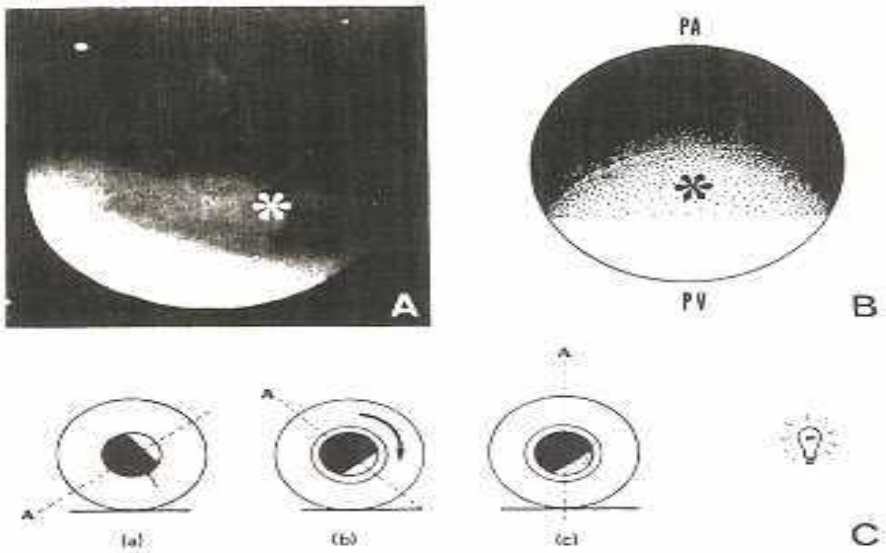
٣- البروتين الثالث: هو مثبط لعامل نمو القطب الخضري ربما يتحكم في نشاطه، فالمعالجة القصيرة لطبقة الأكتوديرم بواسطة عامل نمو القطب الخضري يحفز تكوين خلايا الدم الحمراء والمعاملة الطويلة تؤدي إلى تكوين الكليات الجنينية والقطع الجسدية والحبل الظهري ويمكن أن تتحول إلى جهاز عصبي، عامل نمو القطب الخضري في جميع أجنة الطيور البرمائيات متشابهة من حيث التركيب (بروتين سكري).

٣- مواقع الأحماض النووية الريبوزية وتحضيرها RNA localization and synthesis
الريوسومات في البرمائيات تتوزع حسب التدرج التنازلي من القطب الحيواني إلى القطب الخضري في البويضة، بعضها توجد على شكل عديدات الريوسومات (Ploysomes).

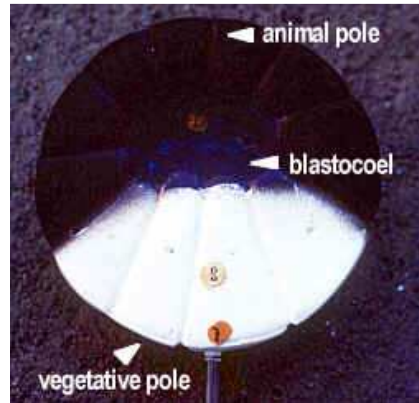
وتصنيع البروتين أيضاً يتبع التدرج نفسه فهو يزداد في القطب الحيواني ويقل كلما توجهنا للقطب الخضري، توزيع الأحماض النووية المرسل (mRNA) في البويضات المخصبة ليس متناسقاً ويتبع التدرج القطبي، وأهمية الهلال السنجابي (موقع ثقب المفلجة) وتأثير الإضاءة شكل (٦-١١)، وتعريضها للأشعة فوق البنفسجية (UV) يؤدي إلى نمو غير سليم، وإذا قلبت البويضة تؤدي إلى تكوين جنين مزدوج، وإذا حقنت بويضات العلجوم أو الأكسولوت (Axolotl) أثناء مرحلة التفليج بمثبطات تصنيع البروتين (مثل داي فتريا توكسين أو سيكلين هسكيميد Diphtheria toxin or cycloheximide) فإنها تكون هلال رمادي، وإذا جرح الهلال الرمادي يؤدي إلى تكوين غير مكتمل في الحبل الظهري والجهاز العصبي.

والشفة الظهرية لثقب المفلجة أكثر نشاطاً في تصنيع الأحماض الريبوزية وبناء

البروتين من المنطقة البطنية للجاسترولة، وتجارب الخدش لقشيرة المفلجة تؤدي إلى التوقف في عملية النمو. ولا يعرف هل هو بسبب عوامل سيتوبلازمية أو خلل نووي (عدم توازن الكروموسومات).



شكل رقم (١١، ٧). تأثير الاضاءة وموقع الهلال الرمادي على التوزيع التدريجي لتصنيع البروتين في بويضة البرمائيات.
عن كتاب (Introduction of Molecular Embryology by J Braket, 1988)



بناء الأحماض النووية الريبوزية يتناسب طرْدًا مع النمو ففي الحالات الشاذة (النمو غير السليم) يتوقف أو يتأثر بناء البروتين، فمحتوى (RNA) في الشفة الظهرية أكثر من منطقة الشفة البطنية، والتدرج الأمامي الخلفي لتوزيع (RNA) متماثل في معظم الفقاريات.

تعد الأحماض (rRNA;tRNA) من الأحماض المهمة في تكوين الأنبوبة العصبية؛ لذا فهي تحضر أثناء مرحلة التبطين (طور الجاسترولة).

منشأ الأحماض النووية الريبوزية (Nucleolar Cytoplasmic RNA rRNA) تظهر في النويات والسيتوبلازم؛ لذا فمرحلة التبطين هي التي يتم فيها تصنيع جديد للريبوسومات، كذلك الأحماض النووية الريبوزية الكبيرة (18S-28S-RNA)، وبروتينات الريبوسومات تحضيرها متناسق مع الأحماض النووية الريبوسومية (rRNA) فعندما يهبط تحفيزها في النواة يزداد في السيتوبلازم، والمنظمات النووية تساهم في تحضير الأحماض النووية الريبوزية والريبوسومية (rRNA 18S-28S) وهناك طفرة من هذه الأنواع تتكون من الفقد الاختياري للمنظمات النووية نتيجة لفقد جزء من الكروموسوم، فالأجنة السليمة والأطوار البالغة تحتوي على منظمين نوويين. ولهم نويتين فإذا فقد أحد هذه المنظمات بواسطة فقد جزء من الكروموسوم فإنه تظهر فيه نوية واحدة فقط والنمو يكون سويًا فإذا عمل تزاوج بين هذين النوعين من أحادية النوية فليس هناك نويات على الإطلاق بينهم (في ٢٥٪) وهذه الطفرات عديمة النواة تكون مميتة ولا تصنع أحماض نووية ريبوزية وريبوسومية (rRNA، 18S، 28S)، وتكون عاجزة عن بناء بروتينات الريبوسومات، هذا العجز يبرهن أن المنظمات النووية تكون مسئولة عن تصنيع الريبوسومات. تساهم العوامل السيتوبلازمية في التحكم في تصنيع الأحماض الريبوسومية وقد تمت الإشارة إلى أن البويضات المتفلجة تحتوي على عامل ذائب يثبط بشكل اختياري نسخ المادة الوراثية (مثبط نسخ الحمض النووي rDNA transcription)، فالتحول في المفلجة المتوسطة مهم لبدء تصنيع الأحماض

النوية الريبوزية الصغيرة (tRNA, snRNA, 7S, 5S, rRNA).

وبعد ١٢ دورة خلوية تصبح بعدها الدورة الخلوية اعتيادية أي فيها المرحلة الفاصلة الأولى والثانية (G1، G2)، والتي تتأسس فيها النسبة بين حجم النواة والسيتوبلازم، والمخزون من هذه المثبطات السيتوبلازمية يُستهلك أثناء المفلة المتوسطة. كما هو معلوم فإن البويضات تحتوي على (١٠-٢٠ ألف نوع من الأحماض المرسلّة الأمية غير اعتيادية (MmRNA) لاحتوائها على نسخ مكرره تشبه الأحماض الخاصة بالنواة. فتحضير الأحماض المرسلّة التي تشفر للهستونات تبدأ مسبقاً أثناء المفلة، وعند طور المبطنة فالأحماض المرسلّة التي تشفر لبروتينات الريبوسومات تصبح هي الغالبة.

وأثناء التفلة فإن تحضير الحمض النووي (DNA) يكون سريعاً وكميات كبيرة من الهستونات تكون مطلوبة لتكوين النيوكلوسومات (Nucleosome)، ومرحلة التبطين تتميز بإنتاج ريبوسومات جديدة تتطلب تحضير أحماض ريبوسومية (rRNA) وبروتينات، وأحماض مرسلّة جديدة التحضير أثناء التبطين خاصة بالمرحلة، من المحتمل أنها تساهم في التحركات الخلوية للتبطين.

وعندما تتميز الأعضاء فإن هناك أحماضاً مرسلّة تكون أكثر ثباتاً، فالأحماض المرسلّة تصنع قبل أن يرى التكوين العضوي مثل (mRNA) الخاص بالعضلات أول مرة يظهر خلال مرحلة التبطين محدد الموقع (في المنطقة الإستوائية الميزوديرمية) أثناء مرحلة تحفيز تكوين الأنبوبة العصبية، وتحضير الحمض (DNA) كدليل على زيادة النشاط الانقسامى، وتحضير الأحماض (RNA) والبروتينات تزداد بشكل ملحوظ.

الارتباط بين تصنيع الأحماض النووية الريبوزية والتشكل:

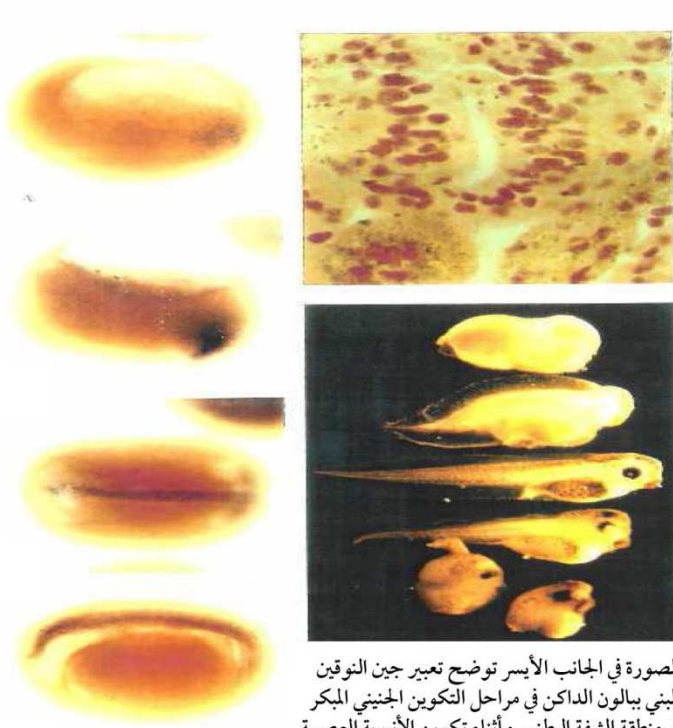
هناك علاقة وطيدة بين تصنيع الحمض الريبوزي الرنا (RNA) والتشكل فمثلاً حقن أنزيم مشكل الحمض الريبوزي أو الريبونوكليز يوقف النمو (أثناء التفلة)، وحقن الأكتينومييسين يؤدى إلى توقف عملية التبطين (لا التفلة)، وينتج أجنة صغيرة

الرأس وأجنة غير متميزة شكل (٧-١٢)، بعض الأعضاء أكثر مقاومة للعقار مثل الكلى والأذن، فهذا يدل على أن بعض الأحماض المرسل (mRNA) التي تشارك في التمايز الجنيني تكون أكثر ثباتاً من البعض الآخر. فالأكتينوميوسين سوف يثبط الأحماض المرسل غير الثابتة التي تكون مطلوبة لتكوين الأنبوبة العصبية بينما لا تتأثر الأحماض المرسل الأكثر ثباتاً والموجودة مسبقاً في منطقة الكلى والأذن. تجارب أخرى أثبت أن التحضير يعتمد على إزالة المثبط، فالمعالجة بالبيروميسين (Puromycin) تكون ظاهرة صغر الرأس شكل (٧-١٢).

حجم وأسلوب تأثير المواد المحفزة، أهمية الاتصال الخلوي لعملية التحفيز، فهناك تحرك للمواد الكيميائية من خلية حائة إلى خلية محفزة، لكن الاتصال الخلوي المباشر ضروري لنجاح عملية التحفيز العصبي لمزور الجزيئات الصغيرة إلى النسيج المستجيب.

الأساس الجزيئي لتحركات الخلوية:

تحرك الخلايا يتطلب لعملية التبطين للجاسترولة ولتكوين الأنبوبة العصبية، الأنبيبات والليفات الدقيقة هي مسئولة عن الاستطالة وتحرك الخلايا، تأتيها الإشارة أولاً عن طريق سطح الخلية وفي وجود أيونات الكالسيوم، يكون هناك نسخ من الحمض النووي يكون ألياف، الهجرة الموجهة للخلايا تكون بواسطة التوجيه الاتصالي وتتبع المادة بين خلوية (ECM)؛ لذا فالتحركات الخلوية للتشكل تنتج من معقدات التداخلات بين مكونات المادة بين خلوية وغشاء الخلية والهيكـل الخلوي الداخلي.



الصورة في الجانب الأيسر توضح تعبير جين التوقين
البنّي ببالون الداكن في مراحل التكوين الجنيني المبكر
في منطقة الشفة البطنية وأثناء تكوين الأنبوبة العصبية

شكل رقم (١٢, ٦). صور لتأثير بعض المواد على التكوين الجنيني في الضفدعة مما يؤدي إلى صغر الرأس أعلى الصورة أو تلاشي الزعنفة الذيلية. أسفل الصورة والصورة في الوسط هي الحجم الطبيعي.

الفصل الثاس

هذا الفصل به إشكالية في ترتيب الأشكال حيث إن الموجود في
النسخة الورقية من طرفكم به اختلاف قليل عن النسخة
الإلكترونية التي من طرفكم
فيرجى الانتباه والتعديل مع الشكر

التكوين الجنيني المبكر في الزواحف والطيور

The Early Development of Reptiles and Birds Embryo

تعد أجنة الطيور ذات ميزة رئيسة بالنسبة لعلماء الأجنة وذلك لإمكانية الحصول عليها بالكميات المطلوبة والوصول إليها بسهولة وعمل التجارب المختلفة عليها ومتابعتها أو مراقبتها في حضانات اصطناعية ميسرة ويمكن التحكم فيها؛ لهذا السبب فإنه تاريخياً نجد وصفاً تفصيلياً للتطور الطبيعي متاحة لأجنة الطيور، فقد دونت معلومات عن أجنة الدجاج قبل ١٤٠٠ عام قبل الميلاد المسيح -عليه السلام- في الحضارة الفرعونية في مصر (1400 BC قبل الميلاد)، وربما حتى في وقت سابق في الصين القديمة، لقد دونت الممارسة المصرية لحضانة الاصطناعية للبيض توثيقاً جيداً في الأدب الروماني، ومع ذلك فإن الحضانة الاصطناعية لبيض الدجاج قد انقطع طوال العصور الوسطى ولم يتم إحيائها إلا خلال القرن الثامن عشر، وأول المحاولات لإزالة قشرة البيض وعمل نافذه على الجنين في الدجاج تم عملها بواسطة الباحث بيقولين (مذكرات سور الفن دي كفر les oeufs أوفيرتس، عام ١٧٤٩). (by Beguelin *Memoir sur l'art de couvrir les oeufs ouverts*, 1749) وتعد أجنة الطيور وخاصة جنين الدجاج نموذجاً لنمو وتطور أجنة الطيور والزواحف بشكل عام.

التكوين الجنيني للزواحف والطيور:

هناك بعض الاختلافات التي تميز بين طائفتي الأسماك والبرمائيات عن بقية

الفقاريات العليا (الزواحف والطيور والثدييات):

- ١ - الظروف البيئية والمعيشية لكل منهما.
- ٢ - الإخصاب يكون خارجياً في البرمائيات والأسماك بينما يكون داخلياً في الزواحف والطيور والثدييات.
- ٣ - يحيط بجنين الزواحف والطيور والثدييات غشاء الرهل لذلك تعرف بالرهليات ويغيب هذا الغشاء في أجنة البرمائيات والأسماك.
- ٤ - تنمو أجنة الزواحف والطيور داخل البيضة ووجود الأغشية الجنينية يعوضها الوسط المائي الموجود لأجنة الأسماك والبرمائيات.
- ٥ - تحتاج أجنة الطيور والثدييات نوعاً من الرعاية الخاصة من الأم أو الآباء.

الجهاز التناسلي في ذكور الزواحف والطيور:

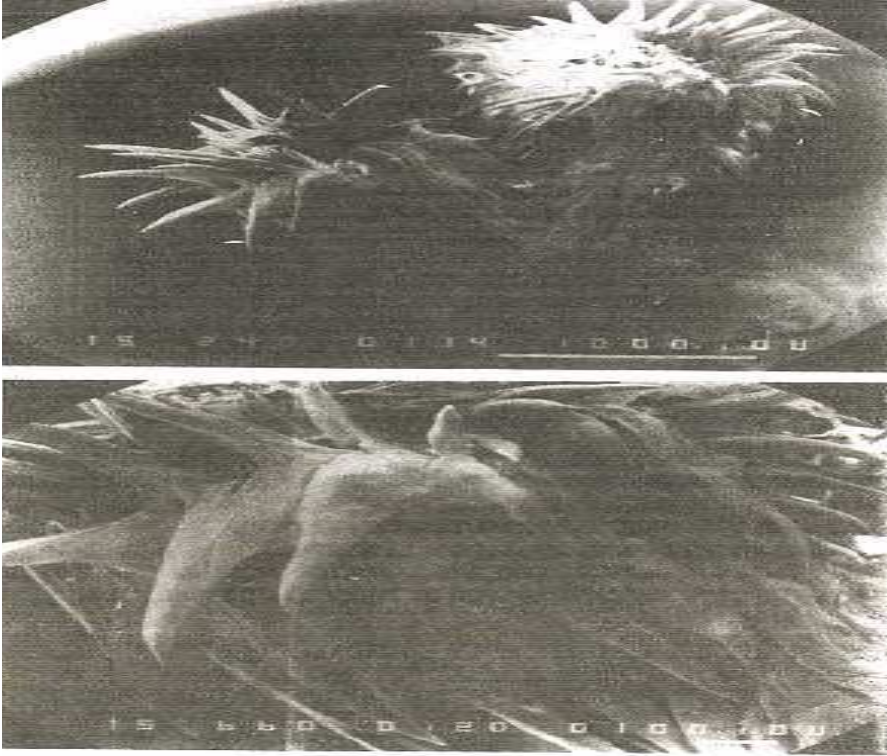
الجهاز التناسلي لذكر الطيور تشبه إلى حد ما الزواحف البرمائيات في تركيب الجهاز التناسلي الذكري حيث الذكر له زوج من الخصي تختلف في حجمها من نوع لآخر وتوجد داخل التجويف البطني وتتكون من أنسيبات منوية طويلة تكون في أوج نشاطها خلال موسم التزاوج وتمتلى تجاوبها بالحيوانات المنوية، يوجد للثعابين والسحالي تركيب غدي قبيل فتحة المذرق يفرز سائل على الحيوانات المنوية.

هناك نوعان من أعضاء الجماع في الزواحف:

- أ) عضو الجماع العادي القضيب (Penis) كما في التماسيح والسلاحف.
 - ب) عضوان للجماع في أن واحد يسميان نصفين قضيب (Hemipenis) كما في السحالي والثعابين ولا يستخدم إلا واحداً منهما فقط حسب الوضع عند الجماع، شكل (١، ٨).
- ويوجد القضيب على جانبي قاعدة الذيل وهو ذو تركيب أنبوبي بداخله ميزاب لنقل السائل المنوي، والسطح الخارجي مغطى بتتوات مرتبة عكس اتجاه الدخول ووظيفتها تثبيت عضو السفاد بمذرق الأنثى ثم ينكمش عند الخروج.

الجهاز التناسلي للذكر في الطيور:

يشبه مثيله في الزواحف إلا ان الذكر لا يوجد لديه عضو جماع بل عبارة عن ميزابان في نهاية فتحة المذرق، رأس الحيوانات المنوية بشكل عام أسطواني مستدق من الأمام في الزاحف ومغزلي في الطيور، ويمكن للحيوانات المنوية في الزواحف أن تعيش لفترة طويلة (أيام - أشهر) داخل الجهاز التناسلي للأنثى لوجود كيس منوي تحفظ فيه الأنثى الحيوانات المنوية.



شكل رقم (١، ٨). صور بالمجهر الالكتروني الماسح لنصفي عضو الجماعة القضيب (Hemipenis) في النعابين. عن كتاب مقدمة في علم الاجنة الوصفي والتجريبي تأليف صالح كريم، الناشر دار المجتمع جدة المملكة العربية السعودية ١٤١١هـ.

الجهاز التناسلي في أنثى الزواحف والطيور:

يتكون الجهاز التناسلي في إناث الزواحف من مبيضين يتراوح عدد البويضات التي تنتجها مبايض الزواحف دفعة واحدة من (١-٤٠) بويضة حسب النوع الكائن الحي.

كما توجد قناتي بيض في الزواحف، بينما في الطيور فيوجد مبيض واحد وقناة بيض واحدة في الجانب الأيسر فقط بينما يضمم الأيمن في مراحل مبكرة من النمو الجنيني.

تركب قناة البيض في أنثى الدجاج: من اللآتي: شكل (٢، ٨).

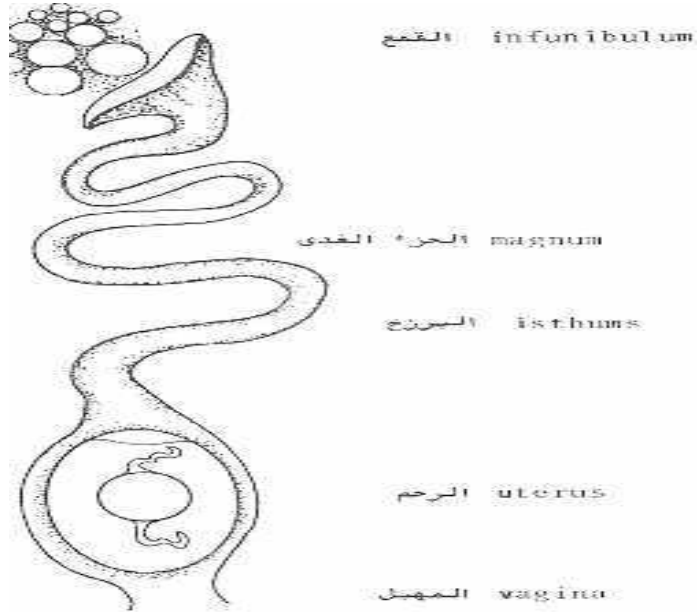
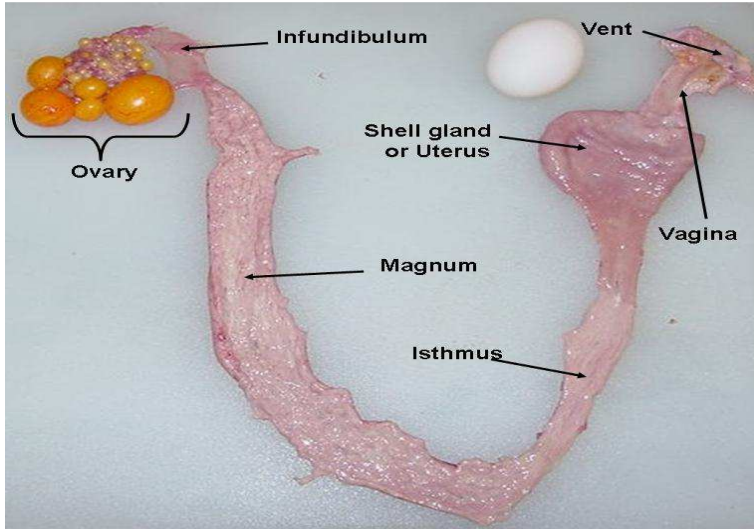
أ) القمع: (Infundibulum) وهو الجزء العلوي قريب من المبيض ذو فتحة أو فوهة واسعة يستقبل من خلالها البويضة من المبيض.

ب) الجزء الغدي: (Magnum) وهو الامتداد الخلفي للقمع إلى نصف القناة تقريباً، ويفرز الزلال حول البويضة، وغشائه الداخلي على شكل ميازيب لولبية مما يعمل على التفاف الزلال على الجانبين وتكوين ما يعرف بالكلازا (Chalaza) التي تعمل على حفظ البويضة (صفار البيضة أو المح) في وضع مركزي داخل البيضة.

ج) البرزخ: (Isthmus) وهو الجزء الغدي الثاني خلف الجزء السابق وهو المسئول عن تكوين الغشائين القشريين الرقيقين حول الزلال.

د) الرحم: (Uterus) ويسمى بالرحم تجاوزاً وهو الجزء الغدي الثالث على شكل كيس منتفخ ويعمل على تكوين القشرة الكلسية التي تحيط بالبيضة.

هـ) المهبل (Vagina) وهو الجزء النهائي من قناة البيض الذي يفتح في المجمع وتخرج منه البيضة بعد تكوينها، شكل (٢، ٨).

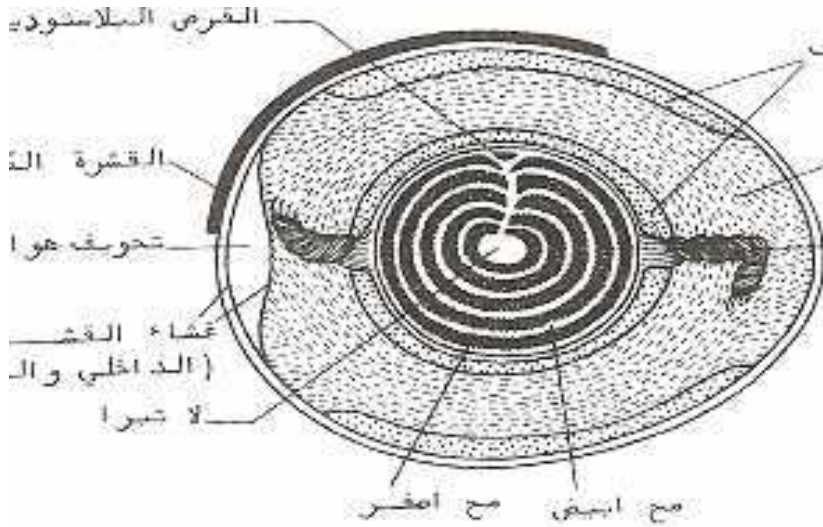


شكل رقم (٨, ٢). أ- صورة ب- ورسم لقناة البيض والمبيض في الدجاج (الجانب الاسير فقط بينما اليمين تضرر).
(من الشبكة العنكبوتية).

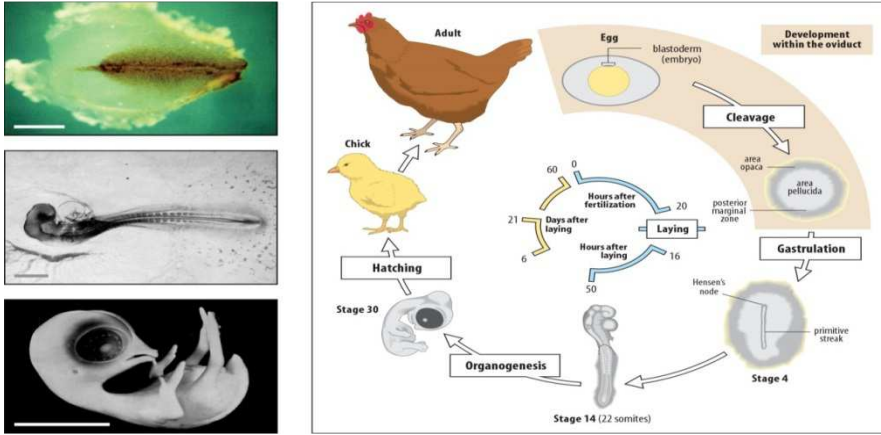
تركيب البيض ودورة الحياة لجنين الطيور:

تتركب البويضة (Egg) في كل من الزواحف والطيور من البويضة (Oocytes) وهي صفار البيض حيث يتم تخزين المح (Yolk) في البويضة وهي في المبيض، والأغشية البويضية التي تحيط بالبويضة داخل قناة البيض، شكل (٨-٣)، بعد خروج البويضة من المبيض إلى قناة البيض يستلمها الجزء الأول من قناة البيض وهو القمع (Infundibulum) حيث يحدث الإخصاب أو التقاء الحيوانات المنوية بالبويضة (صفار البويضة)، ثم يضاف عليها الأغشية البويضية الإضافية أولها الزلال (بياض البويضة) أو الألبومين (Albumin) في منطقة الجزء الغدي (Magnum) من قناة البويضة، ونتيجة للالتفاف البويضة أو صفار البويضة داخل قناة البيض وأثناء إفراز الزلال يتكون منه قتل بيضاء تلتف حول البويضة أو صفار البويضة يعرف باكلازلا (وهي تشبه لف الغلاف حول جانبي الحلوى) لكي يبقى أو يحافظ على صفار البويضة أو البويضة في منتصف البويضة، ثم يفرز الغشائين القشريين الرقيقين من منطقة البرزخ (Isthmus)، ثم تفرز القشرة الكلسية من منطقة الرحم لقناة البيض، والقشرة الكلسية مسامية تسمح بتبادل الغازات مع أغشية الجنين في النهاية الطرفية للبويضة يوجد الفراغ الهوائي بين الغشائين الرقيقين (شكل ٣، ٨)، والبيض يكون مختلف الأحجام ويأخذ اللون الأبيض والمنقش بالأسود أو بني، ثم تخرج البويضة (Egg) من منطقة المهبل الجزء الأخير من قناة البيض والذي يتصل بالمجمع أو مذرق الدجاجة، وتحتضن الطيور البيض لعدة أيام حتى يفقس، والبويضة (صفار البويضة أو المح) هي الخلية الجنسية وتكون ممتلئة بالمح حيث ينحصر السيتوبلازم فيها إلى جزء بسيط أعلى المح يعرف بالسيتوبلازم النشط أو القرص الجرثومي حيث توجد به النواة أحادية المجموعة الكروموسومية (١n)، ويصنع المح في كبد الأم ثم ينتقل عن طريق تيار الدم إلى الخلايا الحويصلية التي تحيط بالبويضة في المبيض، والمح (yolk) يترسب داخل البويضة على طبقتين مح أبيض صغير الحبيبات وأصفر كبير الحبيبات (شكل ٣، ٨)،

ويتركب المح في الطيور من حوالي ٥٠٪ ماء ٣٣٪ مواد دهنية (فوسفاتية ومتعادلة) ١٧٪ بروتينات، ١٠٪ مواد كربوهيدائية وقليل من الأملاح المعدنية الذائبة مثل كلوريد الصوديوم وكلوريد الكالسيوم وبعض الفيتامينات (A,B1,B2,E)، والشكل (٨-٤) يلخص دورة الحياة لجنين الدجاج كنموذج للطيور والزواحف بشكل عام حيث تخرج البويضة من المبيض ويتم إخصابها في الثلث الأول من قناة البيض قبل أن تحاط بالألومين ويبدأ التفلج في البويضة قبل أن تضع الدجاجة البيض خارج الجسم وتستغرق ٢٠ ساعة تقريباً، ثم تضع الدجاجة البويضة وقد أتمت مرحلة التفلج تقريباً، ومع بداية تحضين البيض يكمل الجنين نمو إلى طور المبطنة أو الجاسترولة وتكوين الطبقات الجنينية الثلاث، ثم بداية تكوين الأعضاء لمدة ٧٢ ساعة، بعدها تبدأ تكبر الأعضاء خلال الايام التالية ويفقس بيض الدجاج بعد ٢١ يوم من التحضين تقريباً.



شكل رقم (٨، ٣). تركيب البويضة في الدجاج كنموذج للطيور: تتركب من البويضة (صفار البويضة)، والاغشية المحيطة بها من الالبومين (بياض البويضة) والغشائين الرقيقين، ثم القشرة الكلسية والكلازا التي تحفظ البويضة او المح في وسط البويضة. (من كتاب ماهر إبراهيم ١٩٧٨ م).



شكل رقم (٤، ٨). رسم يوضح دورة الحياة لجنين الدجاج كنموذج للطيور بشكل عام: حيث تخرج البويضة من المبيض ويتم إخصابها في قناة البيض قبل أن تحاط بالأكومين ويبدأ التفلق في البويضة قبل أن تضع الدجاجة البيض خارج الجسم وتستغرق ٢٠ ساعة تقريباً، ثم تبدأ عملية تحضين البيض وإكمال نمو الجنين لطور المبطنة إلى بداية تكوين الأعضاء لمدة ٣-٥ أيام ثم تكبر الأعضاء خلال الأيام التالية ويفقس بيض الدجاج بعد ٢١ يوم من التحضين. (من الشبكة العنكبوتية).

الإخصاب في الزواحف والطيور

يحدث الإخصاب في الزواحف والطيور داخلياً في منطقة القمع من قناة البيض، أثناء الجماع يلتقي مذرق الأنثى مع مذرق الذكر في الطيور، بعد الجماع تنقل الحيوانات المنوية من المجمع إلى المهبل ثم قناة البيض حيث تقابل البويضة في الثلث الأول من قناة البيض (منطقة القمع). ونظراً لكبر حجم البويضة وامتلائها بالبح يمكن أن يدخل إليها أكثر من حيوان منوي واحد (التعدد المنوي Polysemy) لكن حيوان منوي واحد فقط هو الذي يدخل في منطقة القرص الجرثومي وتلتحم نواته بنواة البويضة الناضجة التي تكمل الانقسام الاختزالي الثاني.

التفلج في الزواحف والطيور التفلج غير الكامل (القرصي) Discoidal Cleavage

بعد الإخصاب وتكون نواة اللاقحة (الزيجوت) تدخل البويضة مرحلة التفلج والانقسامات الخلوية (وهي في قناة البيض)، والتفلج في الزواحف والطيور يعرف بالتفلج القرصي (Discoidal) نظرًا لوجود كمية مح كبيرة أو كثيفة في بويضات الزواحف والطيور، لا تمر مستويات التفلج بالتح ويقصر التفلج على منطقة السيتوبلازم من البويضة حيث يحدث التفلج في السيتوبلازم النشط (القرص الجرثومي).

التفلج الأول عبارة عن شق في وسط القرص الجرثومي يقسمه دون أن يقطعه للأسفل وتتكون الفلجتين دون حدود خلوية سفلية.

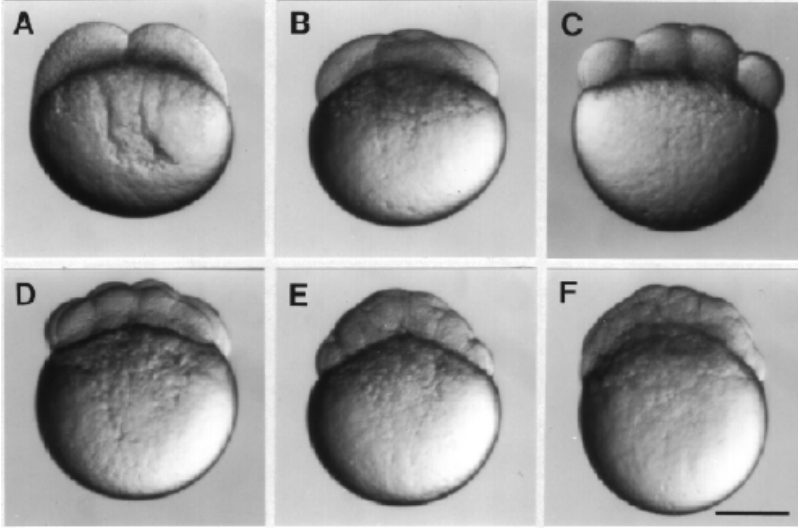
التفلج الثاني أيضًا عبارة عن شق عمودي على الشق الأول ويقسم القرص الجرثومي إلى أربع فلجات أو خلايا غير كاملة.

التفلج الثالث عبارة عن شقين متوازيان عموديان على الشق الثاني وبذلك تتكون ثمان فلجات غير مكتملة الأغشية السفلية.

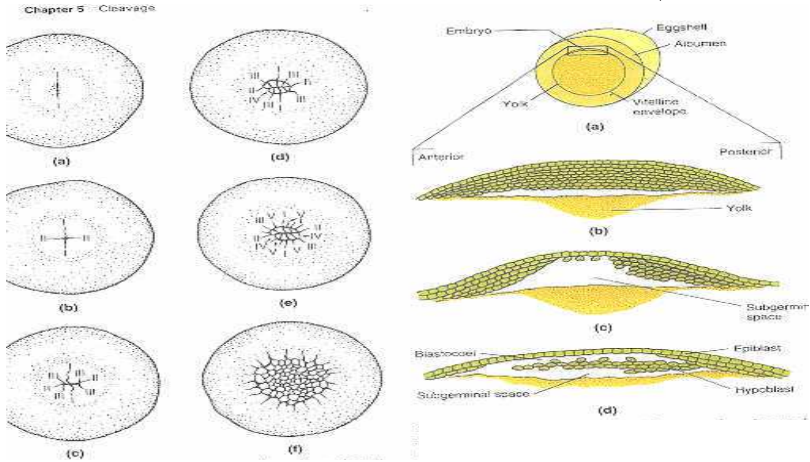
التفلج الرابع عبارة عن شقين على التفلج الثالث ليقسم القرص الجرثومي إلى ١٦ فلجة، ثم تتوالى التفلجات لتكون التوتية (Morula) عبارة عن كتلة من الخلايا الوسطية منها صغيرة ومحددة بينما الخلايا المحيطية تكون مسطحة وأكبر حجمًا ومتصلة بالتح من أسفل. شكل (٨-٥).

ثم تتكون المفلجة (البلاستولة) نتيجة انفصال المنطقة الوسطية من الأدمة الجرثومية عما تحتها من المح يظهر نتيجة لهذا الانفصال تجويف وسطي يطلق عليه بتجويف المفلجة أو البلاستولة.

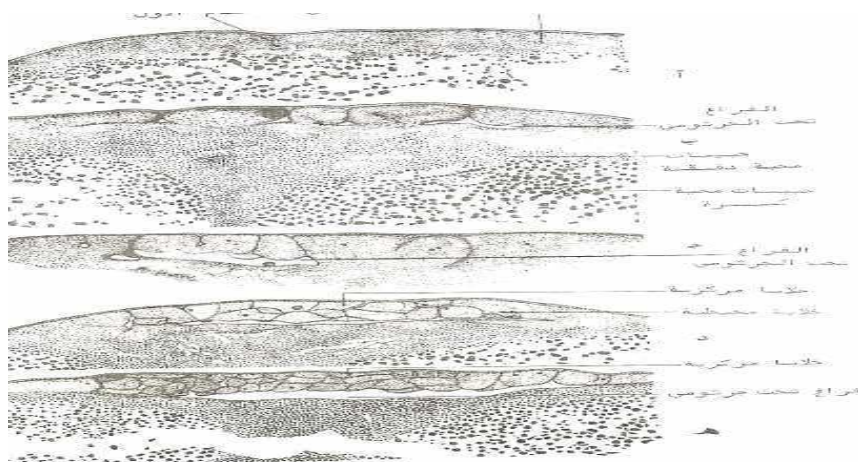
وتعرف المنطقة التي في مركز القرص الجرثومي أعلى تجويف المفلجة بالمنطقة المضيئة (Area pellucida) بينما المنطقة المحيطة بها والتي ترتكز على المح تعرف بالمنطقة المعتمة (Area opaca)، والشكل (٨-٦، ب، ج، د) يوضح مراحل التفلج في الطيور مع مقارنة بين التفلج الناقص أو القرصي في الطيور والتفلج المركزي في الحشرات.



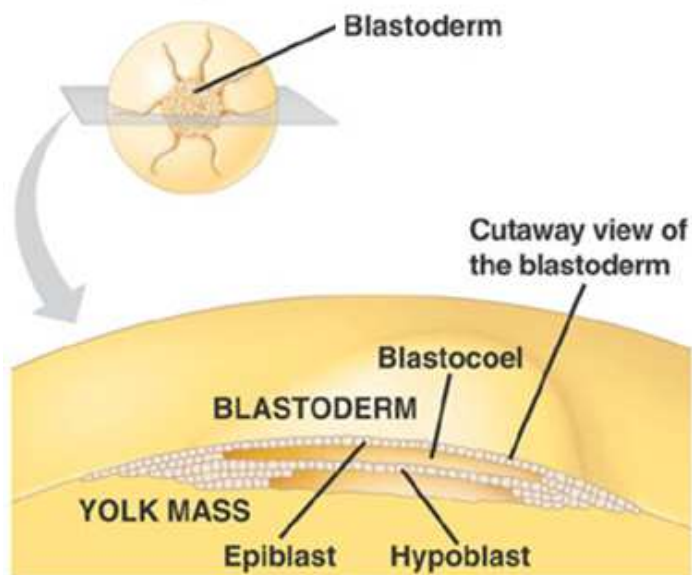
شكل رقم (٥، ٨). صورة بالمجهر التشرحي توضح التفلق العلوي في الزواحف في منطقة القرص الجرثومي أو الجنيني الذي لا يقسم البيوضة في منطقة المح حيث تظل الفلجيات السفلية متصلة بالمح. (من الشبكة العنكبوتية).



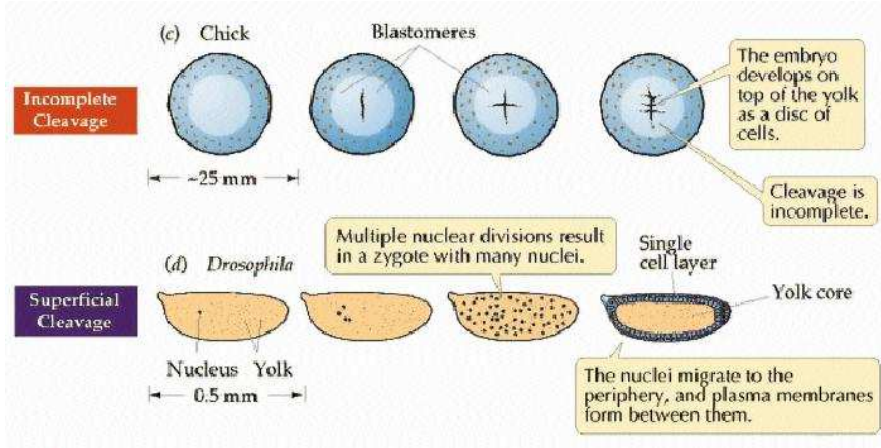
شكل رقم (٦، ٨ أ). رسم يوضح مراحل التفلق في جنين الطيور التفلق القرصي (Dicoidal cleavage) حيث تحصل الانقسامات الخلوية للتفلجات في منطقة القرص الجنيني إلى حين تكون المفلجة أو البلاستولة والتي تبدو سطوحيا كأنها من منطقتين مضبّطة في الوسط ومعتمدة في الأطراف للاتصال خلايا بالمح. (من الشبكة العنكبوتية).



تابع شكل رقم (٦، ٨، ب). رسم يوضح منظر جانبي للتفلج لمرحلة التفلج في جنين الطيور التفلج القرصي (Dicoidal cleavage) حيث تحصل الانقسامات الخلوية للتفلجات في منطقة القرص الجنيني اعلى المح. (من كتاب ماهر إبراهيم ١٩٧٨م)



شكل رقم (٦، ٨ج). مجسم يوضح تكون الطبقة العلوية والطبقة السفلية لمفلجة جنين الطيور.



شكل رقم (٦، ٨ د). مقارنة بين التفليج السطحي غير كامل في الطيور والمركزي في الحشرات (من الشبكة العنكبوتية)

تكوين الخط البدائي والتبطين لتكوين المبطنة أو الجاسترولة في جنين الزواحف والطيور:

في نهاية مرحلة التفليج وتكوين طور المفلجة في جنين الزواحف والطيور والتي تتكون في منطقة القرص الجرثومي من طبقة علوية (Epiblast) وطبقة سفلية (Hypoblast)، يبدأ عملية التبطين بتكوين الخط البدائي والذي يتكون بعد ساعات من تحضين البيض بتغلظ لتجمع خلوي في ربع المساحة الراقئة للقرص الجنيني، وبعد مرور ٢-٣ ساعة يزداد هذا الجزء المتغلظ ويمتد للأمام، ثم بعد ١٢-١٦ ساعة من التحضين يأخذ شكل خط بارز وسط المساحة الشفافة للقرص الجنيني فيعرف بالخط البدائي (Primitive Streak)، وسط الخط البدائي يوجد الميزاب البدائي (Primitive groove)، محصور بين شريطين مرتفعين من الخلايا يعرفان بالحدين البدائيين (Primitive ridges)، وفي مقدمة الخط البدائي يكون جزءاً منخفضاً يعرف بالحفرة البدائية (Primitive pit)، وأمام الحفرة تجمع خلوي مرتفع يعرف بعقدة هنسن (Hessen's node)، شكل (٨-٧، أ، ب، ج).

التبطين وتكوين المبطن الجاسترولة:

تزداد سماكة المنطقة من المساحة الرائقة والملاصقة للخط البدائي وعلى طوله من الجانبين تعرف بالمساحة الجنينية (Embryonic area)، ويتحول القرص الجرثومي من الشكل الدائري إلى الشكل البيضاوي وهذا يكون تحدد محور الجنيني الرأس عند عقدة هنسن والذيل عند الطرف الخلفي للخط البدائي، ثم تبدأ مجموعة جديدة من الخلايا في المرور من خلال الميزاب البدائي لتكون طبقة أخرى تتوسط التجويف الذي نشأ بين الأدمة الجرثومية والأندوديرم (تجويف البلاستولة) وتلك هي الطبقة المتوسطة أو الميزوديرم والتي تختفي كلما اتجهنا يمين أو يسار منطقة القرص الجنيني كما أنها لا تمتد أمام عقدة هنسن، وأي قطاع بعد عقدة هنسن لا تظهر فيه الطبقات الجنينية الثلاث، فالطبقة المتوسطة (الميزوديرم) تنشأ على جانبي الخط البدائي ثم تنتشر سريعاً على شكل جناحين ينحرفان تدريجياً للأمام حتى يمتدان فقط في الأطراف المحيطية لمساحة الرائقة دون المتوسطة التي تقع أمام الرأس والتي تكون خالية من طبقة الميزوديرم وتعرف هذه المنطقة بالرهل البدائي (Proamnion) التي تكون أكثر شفافية من بقية ما حولها من الأنسجة لكونها ذات طبقتين (خارجية وعلوية أكتوديرم، داخلية أو سفلية اندوديرم).

١- يتضح من القطاعات العرضية أن الخلايا السطحية تهاجر إلى الداخل كي تأخذ مكانها في تكوين طبقة السفلية أو الأنودوديرم.

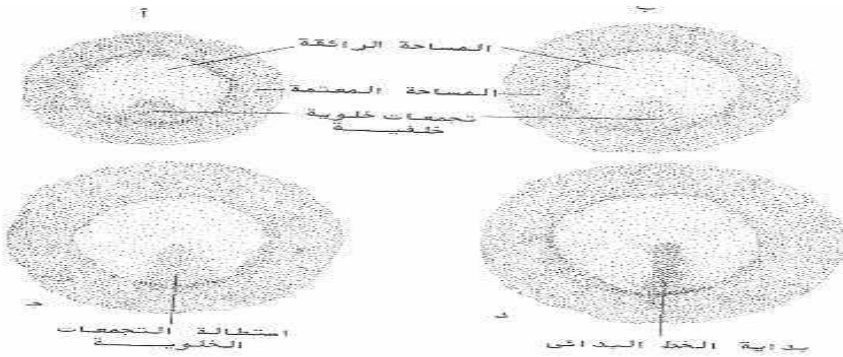
٢- كما يلاحظ أن بعض الخلايا تنفصل من السطح الداخلي للأدمة الجرثومية ويندمج مع الطبقة الزاحفة التي تتولى تكوين الأنودوديرم دون الحاجة إلى الزحف وهذه العملية تسمى بالانشقاق أو الانفصال المباشر (Direct delamination).

٣- نتيجة لتكون هذه الطبقة الخلوية الجديدة يظهر تجويف جديد ينحصر بين الأدمة الجرثومية العليا وطبقة الأنودوديرم السفلي وهو التجويف الذي يناظر تجويف المفلجة أو البلاستولة في الضفدعة.

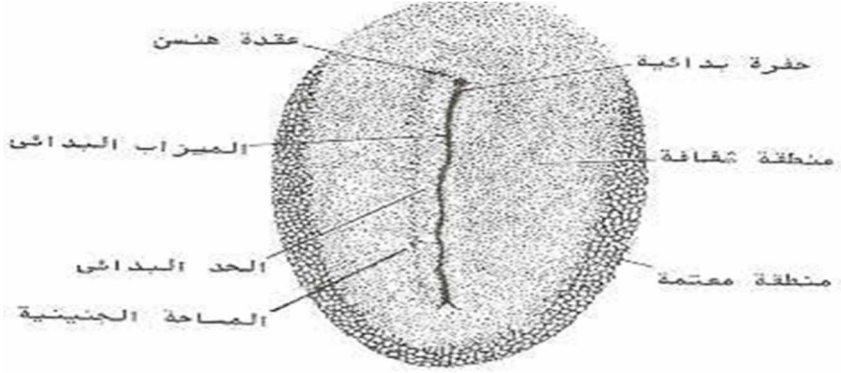
٤- أما التجويف الذي يتكون أثناء عملية التفليج والذي كان يعرف بالتجويف تحت جرثومي فهو الآن يقع أسفل طبقة الأندوديرم في مواجهة المح مباشرة وينظر تجويف المعى البدائي (Archentron) وهذا الطور يعرف بالمبطنة أو الجاسترولة. شكل (٨-٨، أ، ب).

وفي الشكل (٨-٨، ج) يوضح أن الإشارة من الطبقة السفلية (Hypoblast) إلى الطبقة العلوية (Epiblast) في جنين الطيور تمنع تكوين خلايا الخط البدائي (خلايا كولير المنجلية Koller's sickle) في جنين الطيور وعندما تحل الخلايا الداخلية (Endoblast) مكان الخلايا السفلية يبدأ تكوين خلايا الخط البدائي وذلك نتيجة لغياب الإشارة من الخلايا السفلية.

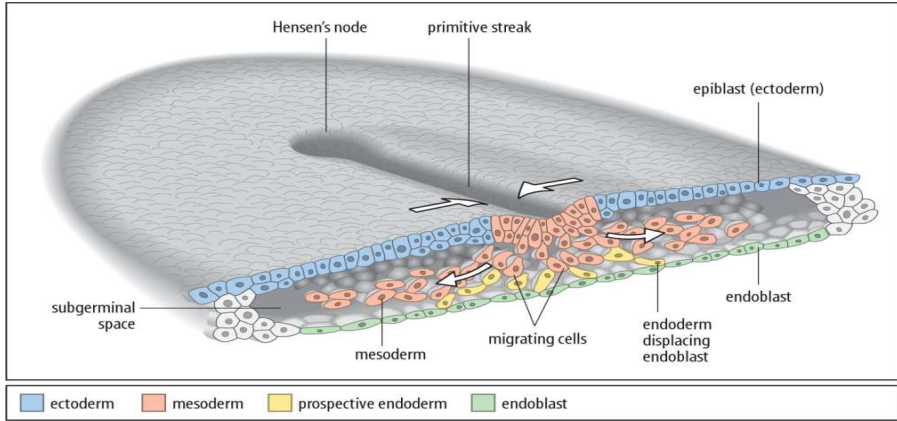
والشكل (٨-٩، أ، ب) يوضح مناطق الخريطة المصيرية لجنين الطيور مقارنة بالأجنة الأخرى.



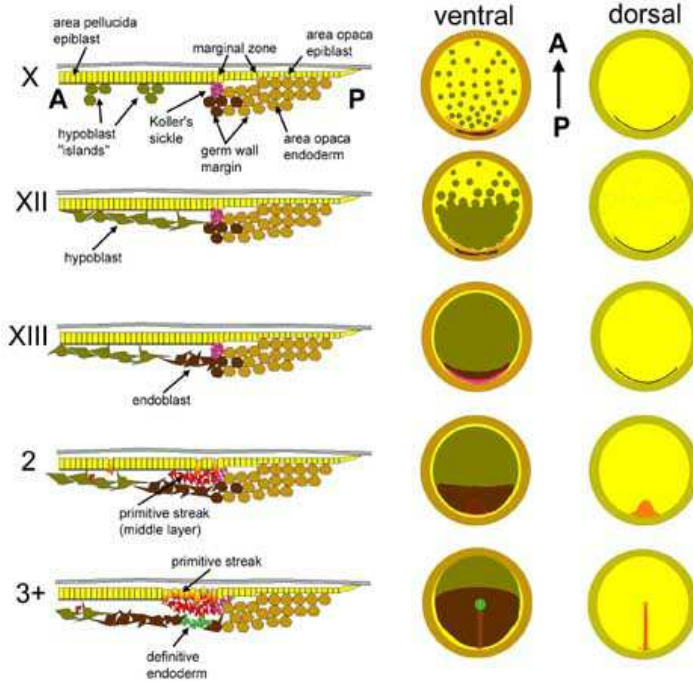
شكل رقم (٧، ٨، أ، ب). أ- رسم لمراحل تكوين الخط البدائي لجنين الدجاجة بعد ١٢-١٢ ساعة تحضين. (من كتاب ماهر إبراهيم ١٩٧٨م)



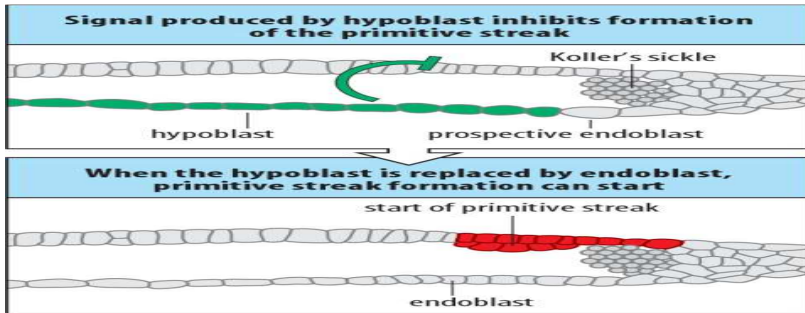
تابع شكل رقم (٨،٧ ب). منظر سطحي لتكوين الخط البدائي لجنين الدجاج كامل التكوين بعد ١٨ ساعة تحضين.
(من كتاب ماهر إبراهيم ١٩٧٨م)



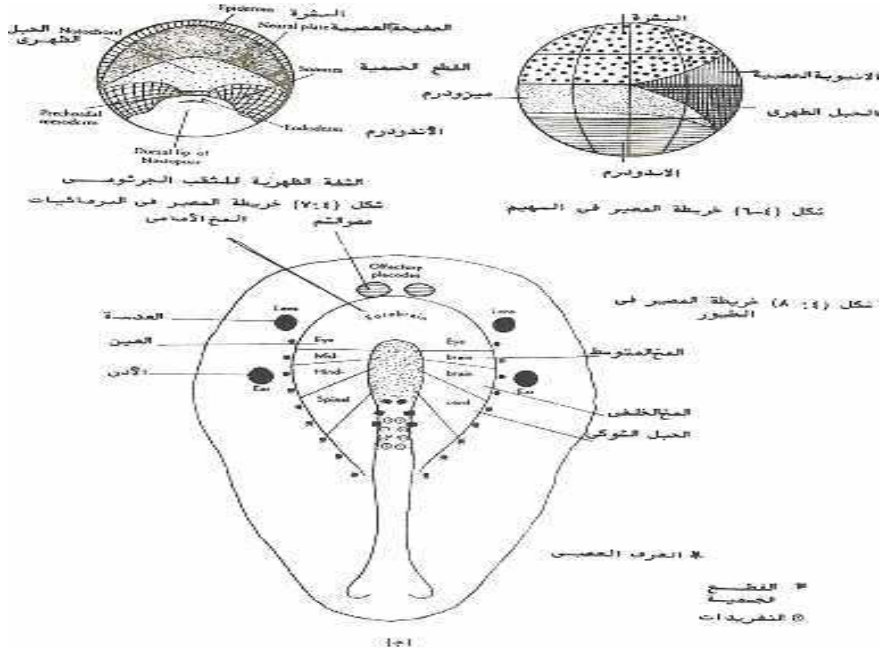
شكل رقم (٨-٨ أ). رسم لمنظر سطحي وآخر في قطاع لمنطقة القرص الجنيني للطيور، ويوضح تكوين الخط البدائي والمساحة الراقئة او الشفافة والمنطقة المعتمة لجنين الدجاجة وكيفية هجرة الخلايا من السطح لتكوين الطبقة السفلية والمتوسطة. (من الشبكة العنكبوتية)



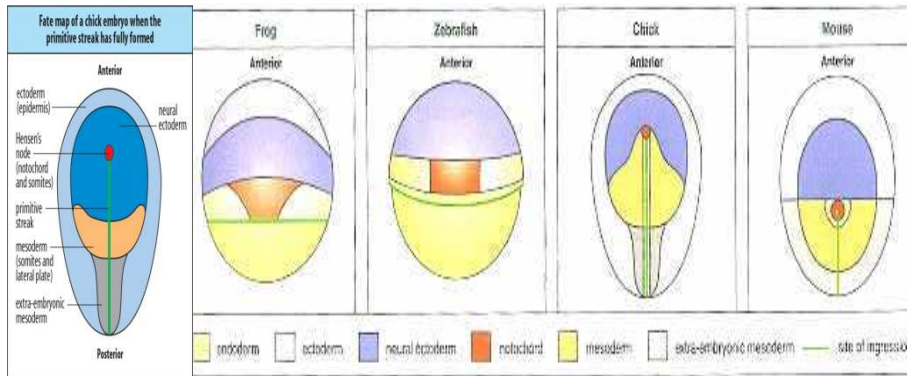
شكل رقم (٨، ٨). رسم لمنظر سطحي وآخر في قطاع لمنطقة القرص الجنين للطيور، ويوضح تكوين الخط البدائي والمساحة الراققة أو الشفافة والمنطقة المعتمدة لجنين الدجاجة وكيفية هجرة الخلايا من السطح لتكوين الطبقة السفلية والمتوسطة. (من الشبكة العنكبوتية)



شكل رقم (٨، ٨). رسم يوضح أن الإشارة الطبقة السفلية (Hypoblast) إلى الطبقة العلوية، في البداية تمنع تكون خلايا الخط البدائي بالقرب من (خلايا كولير المنجلية Koller's sickle) في جنين الطيور، وعند ما تحل الخلايا الداخلية (Endoblast) مكان الخلايا السفلية يبدأ تكوين خلايا الخط البدائي. (من الشبكة العنكبوتية).



شكل رقم (٩، ٨ أ). الخريطة المصيرية لجنين الطيور (أسفل الرسم) مقارنة بالخريطة المصيرية لجنين السهم (يمين الرسم) وجنين الضفدعة (يسار الرسم).



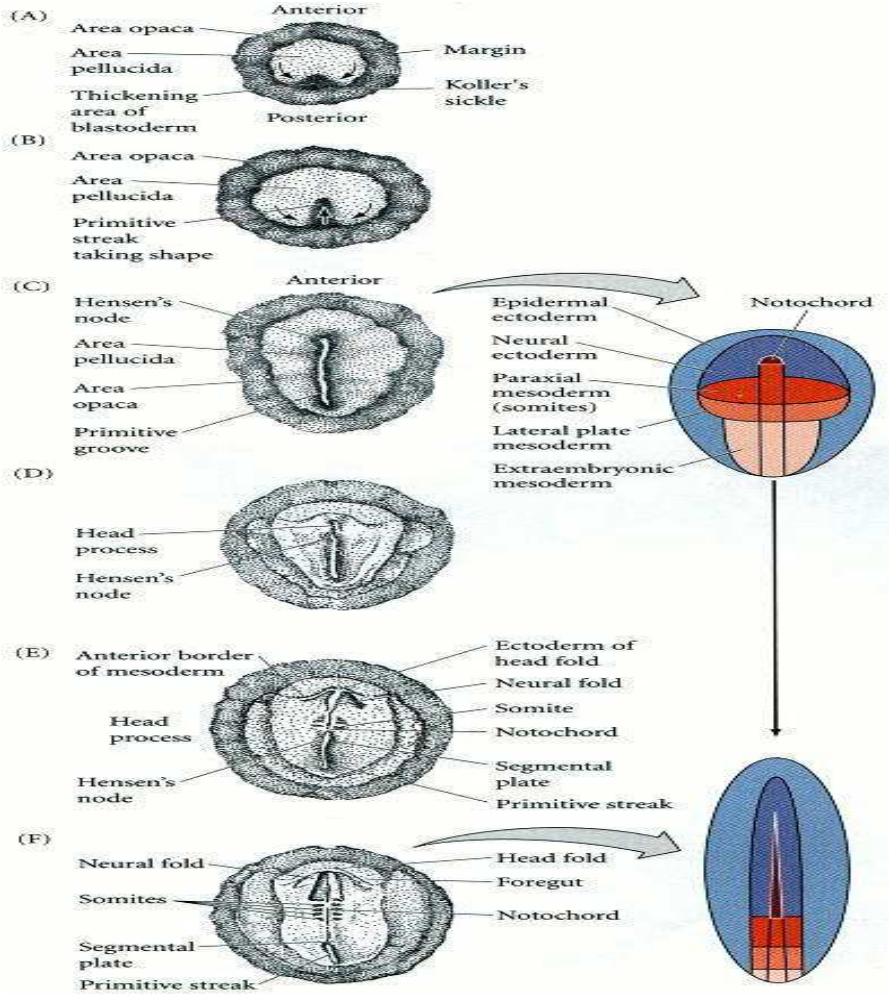
شكل رقم (٩، ٨ ب). الخريطة المصيرية لجنين الطيور (يسار الصورة) مقارنة بالخريطة المصيرية لكل من جنين الضفدعة، جنين السمكة المخططة، جنين الطيور ثم جنين الثدييات (يمين الصورة).

تكوين الحبل الظهرى (Notochord) في جنين الطيور:

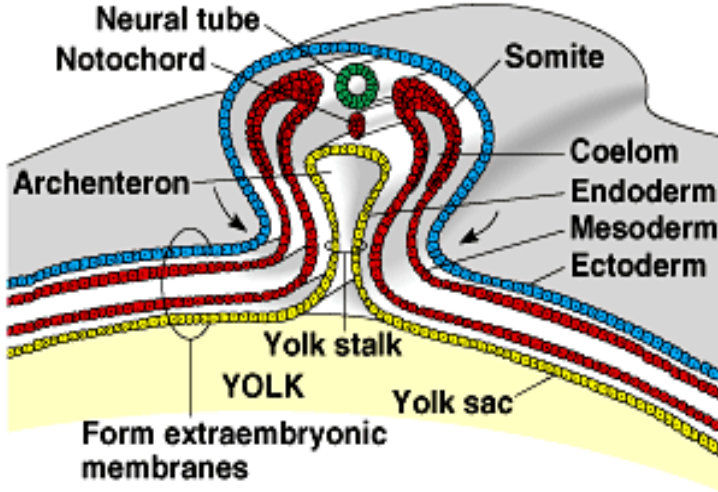
عندما يتم تكون الطبقات الجنينية الثلاث يكون الجنين قد احتضن مدة ست عشرة ساعة، مع بداية الساعة السابعة عشرة من الإحتضان تحدث انقسامات سريعة للخلايا عند عقدة هنسن وتندفع هذه الخلايا أمامها في التجويف الذي يفصل الأكتوديرم عن الأندوديرم والتي سوف تتميز إلى خلايا الحبل الظهرى (Notochord) شكل (٨-١٠)، ومع تميز الحبل الظهرى في المنطقة الأمامية تتراجع عقدة هنسن وكذلك الخط البدائي، وكلما تراجع الخط البدائي للخلف ترك أمامه مجموعة من الخلايا تساهم في تكوين الحبل الظهرى، والخط البدائي لحين الطيور يماثل فتحة الجاسترولة في البرمائيات، حيث من كلاهما تنغمد خلايا لتكون الطبقة المتوسطة، بينما عقدة هنسن تماثل الشفة الظهرية في البرمائيات.

تكوين الأنبوبة العصبية في جنين الطيور:

إن خلايا الطبقة الخارجية (الأكتوديرم) التي تقع فوق الحبل الظهرى مباشرة تزداد في السمك لتكون خلايا الصفيحة العصبية، تمتد الصفيحة العصبية للخلف كلما امتد أسفلها الحبل الظهرى، عندما يصل عمر الجنين ١٨ ساعة احتضان تبدأ الصفيحة العصبية بالإنغماد إلى الداخل قليلاً وبذلك ترتفع حافتها لتكون الشنتين العصبيتين (Neural folds) والجزء المنغمد يكون الأخدود العصبي (Neural groove)، وعندما يصل عمر الجنين ٢٧ ساعة تتقابل الشنتان العصبيتان في منطقة الرأس حتى تلتحم تمام فوق الميزاب العصبي لتكون الأنبوبة العصبية شكل (٨-١١)، وعلى جانبيها توجد خلايا الأعراف العصبية (Neural crest)، إما الجزء الأمامي للأنبوبة العصبية يكون أكثر اتساعاً ليكون المخ (أمامي ومتوسط وخلفي).

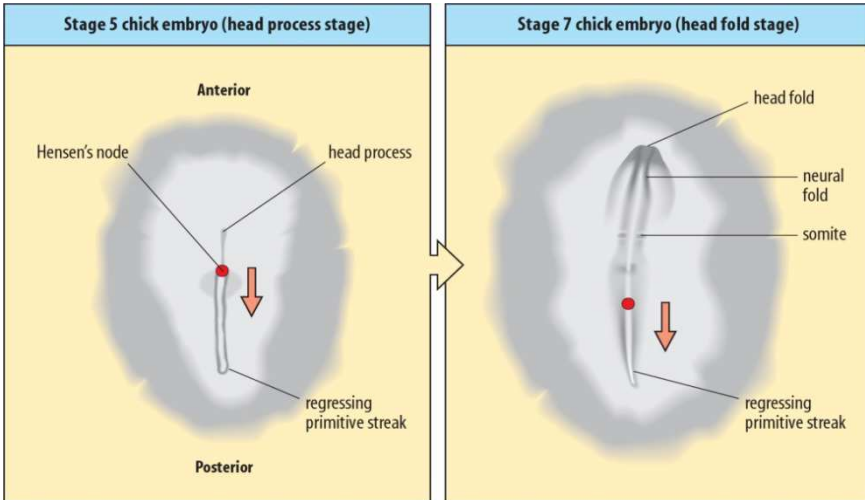


شكل رقم (١٠, ٨). رسم لمنظر سطحي يوضح تكوين الحبل الظهري بهجر الخلايا من منطقة عقدة هنس مقدمة الخط البدائي في جنين الطيور. (من الشبكة العنكبوتية)



③ Early organogenesis

شكل رقم (١١, ٨ أ). رسم يوضح تكوين الانبوبة العصبية بتحفيز من خلايا الحبل الظهرى لجنين الطيور. (من الشبكة العنكبوتية)

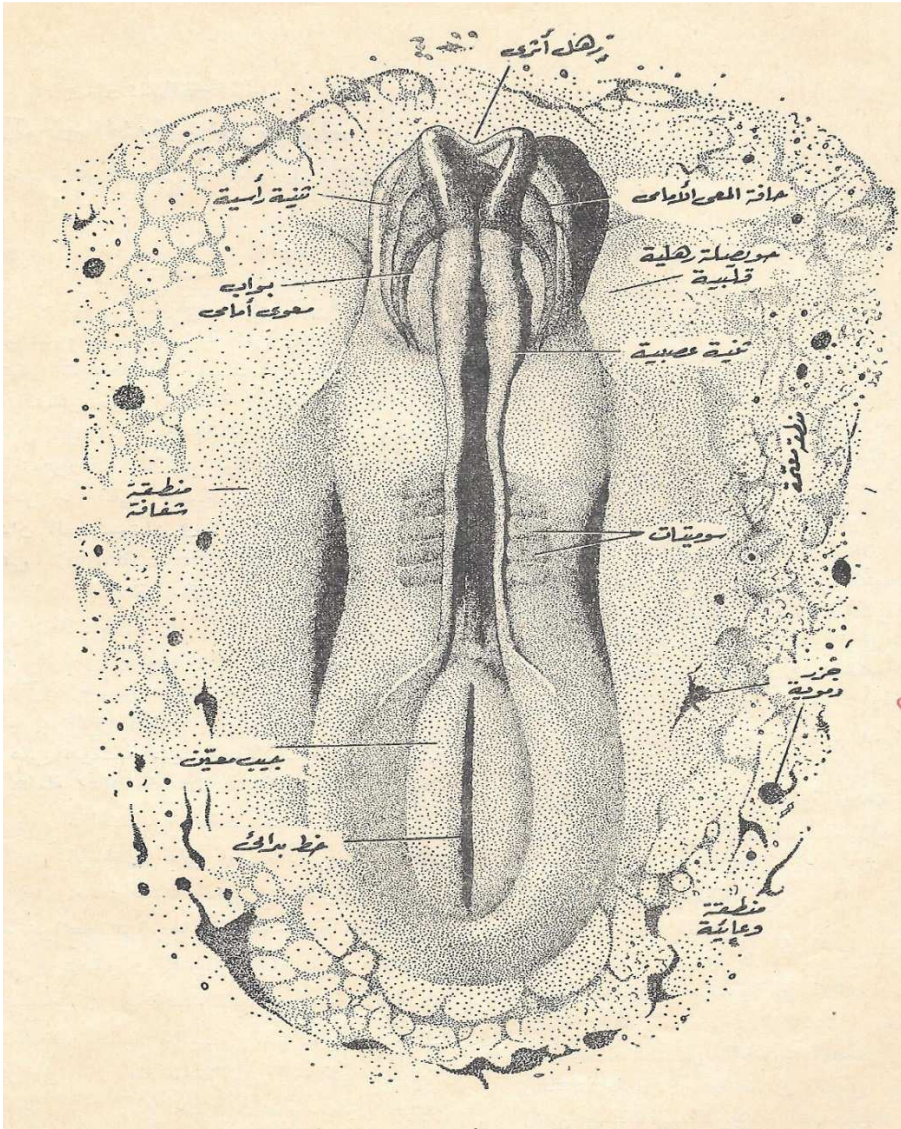


شكل رقم (١١, ٨ ب). هجرة الخلايا من منطقة عقدة هنسن وتكوين خلايا الحبل الظهرى والتي تحفز تكوين الشنيتين العصبيتين (Neural folds) وتراجع الخط البدائي للخلف في جنين الطيور. (من الشبكة العنكبوتية).

تكوين جنين الدجاجة عمره حتى ٢٤ ساعة من التحضين:

تكوين ثنية الراس: عندما يصل عمر الجنين ١٨-٢٠ ساعة وفي نهاية تكوين الخط البدائي وبداية تكوين الأنبوبة العصبية، في هذه الأثناء يرتفع القرص الجنيني ارتفاعاً موضعياً بكامل سمكة في أقصى المنطقة الأمامية مكوناً بروزاً على شكل ثنية أمامية تقع فوق الأكتوديرم ومن هذه الثنية سوف يبدأ تميز المنطقة الرأسية للجنين؛ ولذا تعرف بالثنية الرأسية (Head folds). يتكون أسفل هذا الارتفاع الموضعي والبارز للأمام جيب صغير يعرف بالجيب تحت رأسي (Subcephalic pocket)، حيث يقع سفله المعى الأمامي، كما يتميز الميزوديرم على جانبي الحبل الظهري إلى كتل خلوية تعرف بالقطع الميزوديرمية أو الجسدية (Somite's) حيث يظهر أول زوج بعد ٢١ ساعة من التحضين ثم يزداد زوجاً كل ساعة، ثم يتوالى بعد ذلك ظهور أزواج الكتل الميزوديرمية أو الجسدية كل ساعة فالجنين الذي عمره ٢٤ ساعة يتكون لديه ٤ أزواج من الكتل الجسدية شكل (٨-١١)، تعطي هذه الكتل الجسدية فيما بعد كما في جنين الضفدعة، القطع العضلية (Myotomes) لتكون العضلات، والقطع الهيكلية (Sclerotomes) لتعطي العظام والفقرات، والقطع الأدمية (Dermatomes) لتعطي أدمة الجلد.

أما بقية الميزوديرم على جانبي الكتل الجسدية فيكون مقسماً إلى منطقتين واضحتين الميزوديرم المتوسط والميزوديرم الجانبي المنشق إلى طبقتين الأولى وهي العليا تعرف بالميزوديرم الجسمي قريبة من الطبقة الخارجية الأكتوديرم والثانية السفلية تعرف بالميزوديرم الحشوي والذي يغطي الأندوديرم، وما بينهما من تجويف هو تجويف السيلوم، كما تبدأ تظهر الجزر الدموية في نهاية المنطقة الجنينية (شكل ١٢، ٨).



شكل رقم (١٢، ٨). منظر سطحي لجنين الدجاجة عمرة ٢٤-٢٥ ساعة تحضين في المقدمة ثنية الرأس تليها الثنية العصبية، والقطع الجسدية أو السومات، أسفلها بقيا الخط البدائي ثم الجزر الدموية على جانبي الجنين. من كتاب سدره نخلة (١٩٦٨)

التكوين الجنيني للطيور حتى ٣٣ ساعة من التحضين

تظهر تغيرات أساسية على تكوين وشكل الجنين وتشمل نشوء بدأت وبراعم تكوينية جديدة ونمو وازدياد في الحجم لتكوينات سابقة، كما تتقدم منطقة الرأس وتتميز تميزاً ملحوظاً حيث تستطيل .

والتكوين الجنيني بين ٢٤-٣٣ ساعة من التحضين يشمل تغيراً كبيراً في الجهاز العصبي المركزي والجهاز الوعائي.

تكوين الجهاز العصبي المركزي جنين عمره حتى ٣٣ ساعة تحضين:

خلال هذه الفترة تقترب الثنيتان العصبيتان أكثر فأكثر حتى تلتحم تماماً على شكل أنبوبة عصبية (Neural tube) تكون متسعة من الأمام حيث يتكون المخ بينما تكون بقية الأنبوبة العصبية الحبل الشوكي (Spinal cord)، والمخ خلال هذه الفترة يتكون من ثلاثة أجزاء المخ الأمامي (Prosencephalon, Fore brain) والمخ المتوسط (Mesencephalon, Mid brain) والمخ الخلفي (Rhombencephalon, Hind brain).

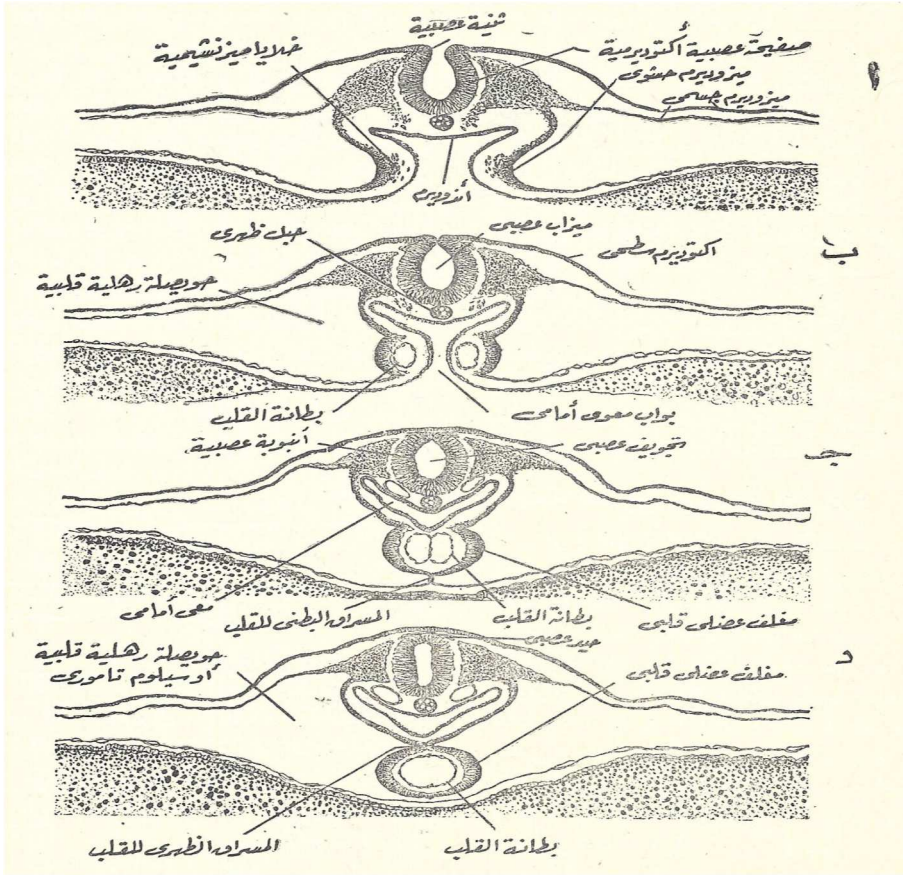
يظل المخ في أقصى النهاية الأمامية مفتوحاً تسمى الفتحة العصبية الأمامية وتستمر هذه الفتحة حتى عمر ٣٣ ساعة من التحضين حيث تبدأ بعدها بالانغلاق، بينما تظهر نهاية الأنبوبة العصبية (الحبل الشوكي) مفتوحة وتسمى هذه المنطقة بالجيب المعيني (Sinus rhomoidal) وهي تقابل في جنين البرمائيات ما يعرف بالقناة العصبية المعوية إلا أنها هنا تفتح إلى الخارج بينما في أجنة البرمائيات تتصل الأنبوبة العصبية بالمعي، أثناء انغلاق الأنبوبة العصبية تنفصل خلايا من الطبقة الخارجية (الاكثوديرم) على طول جانبي الأنبوبة العصبية المتكون مجموعة من الخلايا تعرف بالأعراف أو الحيد العصبي (Neural crest) حيث تهجر على جانبي الحبل الشوكي لتعطي العقد العصبية.

تكوين القلب والجهاز الوعائي الجنين الدجاجة شكل (١٣, ٨)

في جنين عمره ٢٥ ساعة من التحضين يكون جدار الطبقة المتوسطة الحشوية (الميزوديرم الحشوي) في الجهتين سميكا خاصة الجزء البعيد من الميزوديرم الجسمي (اسفل منتصف منطقة الرأس) حيث تكون خلاياه ذات نشاط انقسامي وتكاثر سريع وحول هذه المنطقة توجد مجموعة من الخلايا المفككة سرعان ما تنتظم هذه المجموعة على كل جانب تكون أنبوبة ذات صف واحد من الخلايا تمثل الطبقة الداخلية للقلب (Endocardial primordium) الجنين ٢٦ ساعة، يزداد سمك الميزوديرم الحشوي في الجزئين ويحيط كل جزء حول الأنبوبة القلبية البدائية المتكونة على كل جانب، وتقرب الأنبوبتان نحو بعضهما البعض كلما تقدم عمر الجنين وفي جنين عمره ٢٩ ساعة يختفي الفاصل بين الأنبوبتين القلبيتين لتكونا أنبوبة قلبية واحدة هي أنبوبة القلب بينما يعطي الميزوديرم الحشوي حول الأنبوبة القلبية تكوين عضلة القلب (Myocardium) ويظهر في القطاعات العرضية أن العضلة القلبية معلقة بواسطة المساريقا الظهرية والبطنية حيث تحتفیان فيما بعد، في هذه المرحلة لا يرى القلب بوضوح من الناحية الظهرية حيث يكون مختفياً أسفل المخ الخلفي لكنه يرى من الناحية البطنية، وعندما يصل الجنيني إلى ٣٣ ساعة يتضخم القلب ويبر من الناحية اليمنى للجنين ويحده من الجهة الأمامية الجذع أو المخروط الشرياني (Conus arteriosus) والذي يتفرع إلى جذر أبهري أيمن (Ventral aortic root) وآخر أيسر ومن الناحية الخلفية وريد سري مساريقي أيمن وآخر أيسر (Omphalomesenteric vein).

أما المساحة الوعائية فقد ازدادت مساحتها وأصبحت تحيط تماماً بالجنين حيث بدأت تكون شبكة من الأوعية الدموية على سطح المخ، في هذه المرحلة لا يرى القلب بوضوح من الناحية الظهرية حيث يكون مختفياً أسفل المخ الخلفي لكنه يرى من الناحية البطنية، وعندما يصل الجنيني إلى ٣٣ ساعة يتضخم القلب ويبر من الناحية اليمنى للجنين ويحده من الجهة الأمامية الجذع أو المخروط الشرياني (Conus

والذي يتفرع إلى جذر أبهري أيمن (Ventral aortic root) وآخر أيسر، ومن الناحية الخلفية وريد سري مساريقي أيمن وآخر أيسر (Omphalomesenteric vein)، أما المساحة الوعائية فقد ازدادت مساحتها وأصبحت تحيط تمامًا بالجنين حيث بدأت تكون شبكة من الأوعية الدموية على سطح المح (شكل ٨-١٢، أ، ب، ج).



شكل رقم (١٣، ٨). رسم لقطعات توضح مراحل تكوين القلب والمعوي الامامي لجنين الطيور من عمر ٢٥-٢٩ ساعة تخضين. من كتاب سدره نخلة (١٩٦٨م).

Diagram illustrating the five stages of heart development:

- Stage 1:** A simple tube with a single opening at the top, labeled "اقواس اسفیریة" (Spherical arches).
- Stage 2:** The tube begins to fold, with the top opening labeled "اثنين" (Two).
- Stage 3:** The tube folds further, with the top opening labeled "ثلاثة" (Three).
- Stage 4:** The tube folds into a more complex shape, with the top opening labeled "اربعة" (Four).
- Stage 5:** The final stage shows a complex four-chambered heart structure, with the top opening labeled "خمس" (Five).

هـ) جنين تم احتضانه ٧٦ ساعة (عن: Patten, 1974)

المخ الأمامي

الأبهر الظهري

الأبهر الشرياني

الأنسجة القلبية

الأوردة السرية

المساريقية

شكل رقم (١٣، ٨ ج). منظر بطني لجنين الدجاجة عمر ٣٣ ساعة تحضين تقريباً يوضح الأنبوبة القلبية والأهر الشرياني والأوردة السرية المساريقية. (من كتاب د. ماهر إبراهيم ١٩٧٨ م.)

التكوين الجنيني للطيور حتى ٤٨ ساعة من التحضين:

الجنين خلال هذه المرحلة يفقد تماثله الجانبي نتيجة الالتواء للمنطقة الأمامية وكذلك انحناء الرأس إلى الناحية البطنية ويصبح الجنين كأنه يرقد على جنبه الأيسر شكل ٨-١٣).

١- الجهاز العصبي المركزي:

يتمايز المخ الأمامي إلى قسميه المعروفين المخ الطرقي (Telencephalon) والمخ البيني (Diencephalon) ويبقى المخ المتوسط كما هو بينما يتمايز المخ الخلفي إلى جزئين المخ البعدي (Metencephalon) والمخ النخامي أو الممليني (Myelencephalon) شكل (٨، ١٤).

٢- أعضاء الحس:

تتكون الحويصلتان البصريتان على جانبي المخ الأمامي لتعطيا تكوين الكأس البصرية بينما تتكون عدسة العين من الأكتوديرم المواجه للكأس البصرية على كل جانب.

٣- المعى:

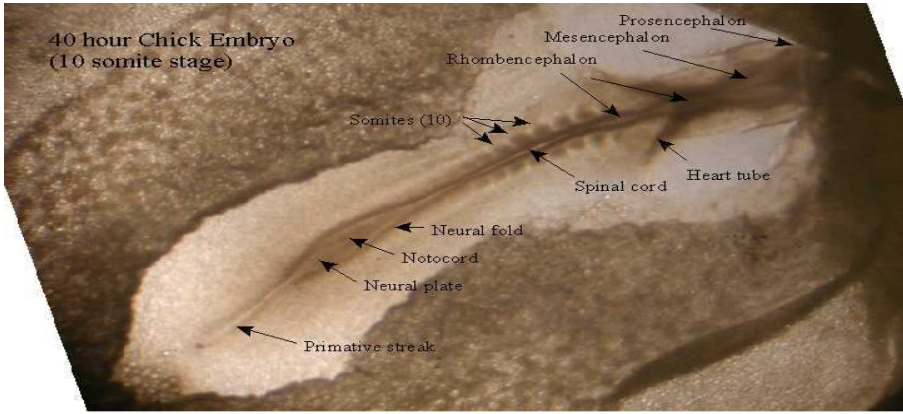
تزداد استطالة المعى ويتمايز إلى المعى الأمامي والمتوسط والخلفي ويلتحم المعى الأمامي في بدايته الأمامية مع الأكتوديرم ليكون فتحة الفم فيما بعد، ويلتحم المعى الخلفي مع الأكتوديرم الخلفي ليكون فتحة الشرج عندما يبدأ يرتفع القرص الجنين من الأمام ومن الخلف عن المح وبذلك تتشكل القناة الهضمية للجنين فيما بعد.

٤- الميزوديرم:

يستمر الميزوديرم بإضافة القطع الجسدية فبعد أن كان هناك ٤-٥ في الجنين عمره ٢٤-٢٥ ساعة تزداد القطع ١٣ زوج في جنين عمره ٣٣ ساعة ثم تزداد إلى ١٨ زوج عند ٤٨ ساعة

٥- خلايا الدم والدورة الدموية :

بينما يتقدم القلب في تميزه نلاحظ أن كريات الدم قد بدأت أيضًا في التمايز داخل الجزر الدموية وتتصل هذه الجزر مع بعضها البعض لتكون شبكة من الأوعية المحية (Vitelline vessels) تنتشر في المنطقة المعتمدة فوق المح لتعرف بالمساحة الوعائية الوعائية.

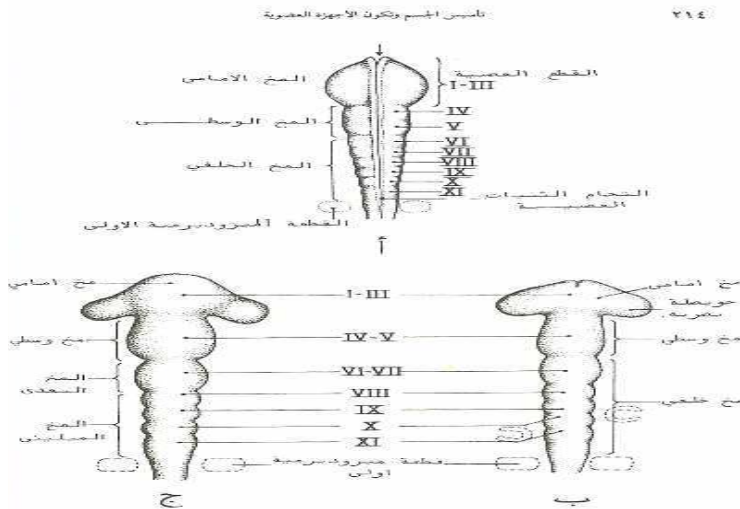


شكل رقم (١٤، ٨). منظر سطحي لجنين الدجاجة عمرة ٤٠ ساعة تقريبًا يوضح الأعضاء السطحية. (من الشبكة العنكبوتية)

التكوين الجنيني للطيور حتى ٥٥-٦٠ ساعة من التحضين.

عندما يصل عمر الجنين إلى ٥٥ ساعة احتضان نجد أن الرأس قد تحرر تمامًا من المح وذلك نتيجة لتعمق الجيب تحت الرأسي في اتجاه الناحية الخلفية للجنين، كما أن الانفتال الجنيني قد اكتمل إلى النصف الأمامي من الجنين حيث إن الرأس قد أصبح راقداً تمامًا على سطح المح. أما النصف الخلفي من الجنين فما زال في وضعه الأصلي راقداً على جهته البطنية فوق المح. لكن الذيل قد تحدد في مؤخرة الجنين بظهور الشنية الذيلية وانفصامها عن الأغشية الجنينية الإضافية، أما الشنية الرهلية الجانبية فقد

امتدت قليلاً إلى الخلف حتى أصبحت هي والشنتات الرهليتان الجانية تحيط بالجنين تماماً حتى مستوى الشرايين السرية المساريقيه، أما الانثناء الرأسي فقد ازداد بسرعة حتى أن المخ قد أصبح مطوياً على نفسه تماماً بحيث أصبح المخ المتوسط في مقدمة الجنين. شكل (٨-١٥ أ، ب).

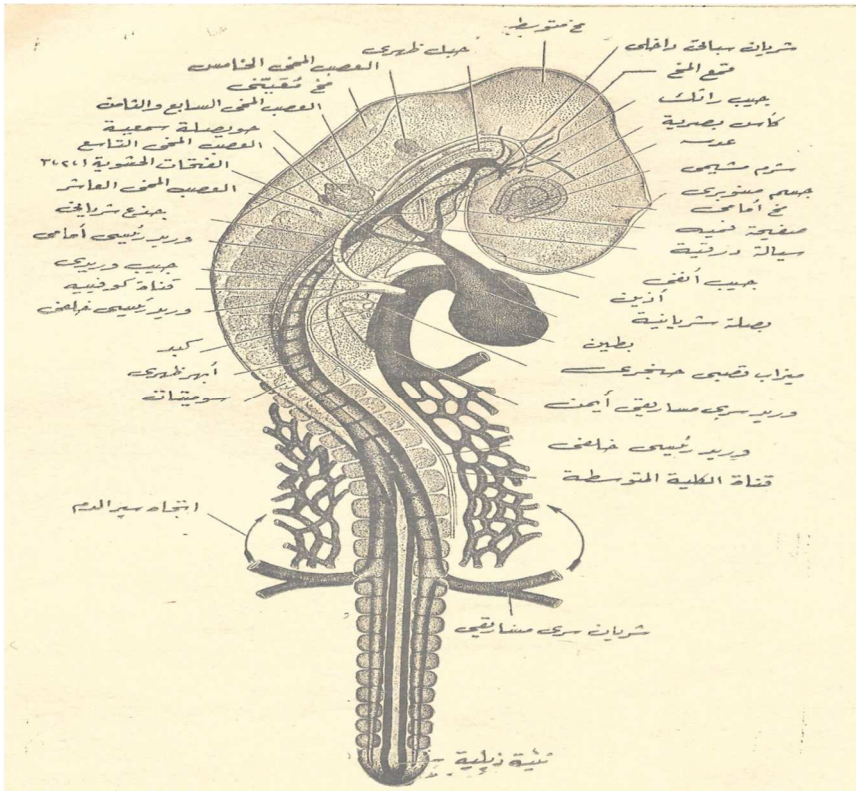


شكل رقم (١٤، ٨). رسم لتكوين اجراء المخ في جنين الدجاجة المخ الامامي ينقسم الى المخ الطرفي والمخ البيتي، والمخ المتوسط، ثم المخ الخلفي الذي ينقسم الى المخ الميلايني والمخ العيني. من كتاب د. ماهر ابراهيم

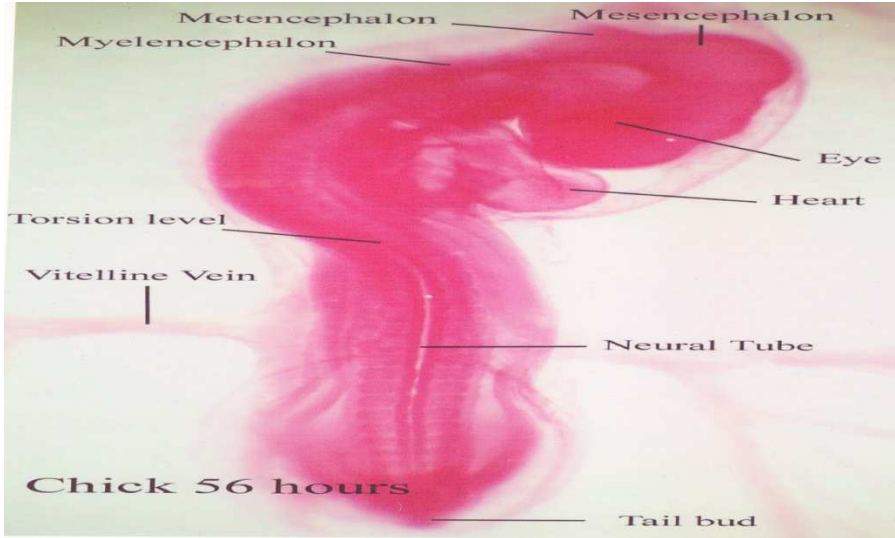
الجهاز العصبي:

يؤدي اكتمال انفثال الرأس ورقودها الجانبي على سطح المح إلى تغير سريع في شكل المح. حيث يتضخم المح الأمامي ويبدأ ينقسم إلى جزئية (المخ الطرفي والبيني)، كما يتمايز الجسم الصنوبري (Pineal body) والذي يظهر على هيئة بروز صغير على السطح الخارجى للمخ البيني، أما السطح الداخلى للمخ البيني فقد ظهر فيه بروز

قمعي الشكل يعرف بقمع المخ (Infundibulum) والذي يقابل ثنية اكتوديرمية تعرف بجيب راثك (Rathke's Pocket) قوامها خلايا اكتوديرمية غير عصبية، والتي سوف تنفصل عن الأكتوديرم لتتحد مع القمع المخ لتكون الغدة النخامية (Pituitary gland). أما المخ المتوسط فقد ازداد حجمه قليلاً وأصبح أكثر تحديداً من الأمام والخلف حيث الحد الفاصل بينة وبين المخ الخلفي، وكذلك نجد زيادة في التحديد بين المخ المعيني والمخ الملينيني أو النخاعي.



شكل (١٥، ٨ أ). منظر سطحي لجنين الطيور عمرة ٥٥-٦٠ ساعة يوضح الرأس والعيون والقلب والاعوية الدموية. (من كتاب سدره نخلة ١٩٦٨م).

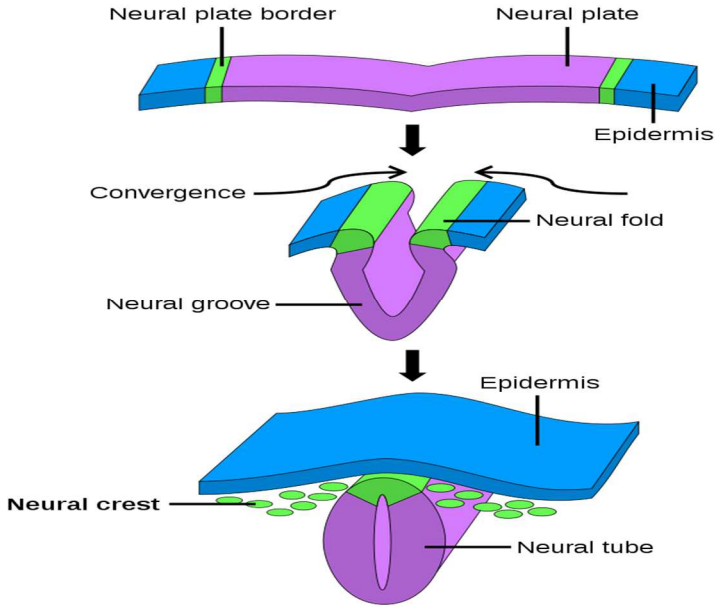


شكل (١٥، ٨ ب). صورة لجنين عمره ٥٦ ساعة توضح التفاف الرأس عن محور الجسم وتكوين الأعضاء الرئيسية كأجزاء المخ والأنبوبة العصبية والقلب. (من الشبكة العنكبوتية).

٢-الأعراف العصبية: شكل (٨-١٦).

عندما تنغلق الأنبوبة العصبية (جنيني عمره ٣٠ ساعة) يلتحم الأكتوديرم فوقها ويصبح طبقة كاملة تغطي الأنبوبة العصبية وفي الوقت نفسه تلتحم الشيتان العصبيتان لتكون الأنبوبة العصبية حيث تتواجد أسفل نقطة الالتحام مجموعتين من الخلايا الأعراف العصبية تقعان على جانبي الخط الظهري الوسطي للجنين وعلى طول الأنبوبة العصبية.

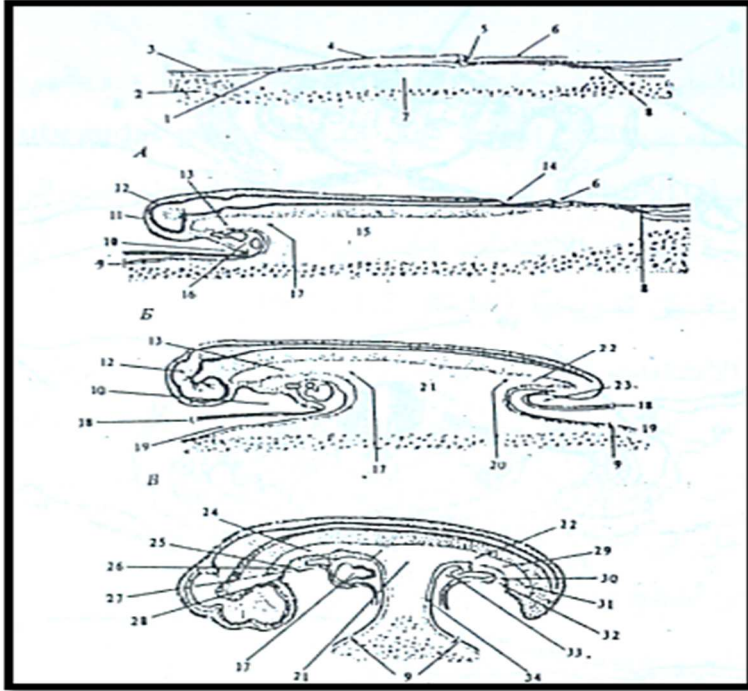
ثم تهاجر هذه الخلايا على جانبي الجنين لتكون فيما بعد العقد العصبية للأعصاب المخية الحسية على جانبي المخ والعقد العصبية على جانبي الحبل الشوكي.



شكل رقم (١٦, ٨). مراحل تكوين الأعراف العصبية أثناء انغلاق الأنبوبة العصبية الجنيني الدجاجة. (من الشبكة العنكبوتية).

٣- الجهاز الهضمي: شكل (٨-١٧):

عندما يصل الجنين عمره ٥٠-٥٥ ساعة احتضان يكون المعى الأمامي قد استطال بشكل ملحوظ، وتبدأ أول التميزات في المعى الأمامي عندما ارتفع الرأس وتكون الجيب تحت رأسي، وقد بدأ يتميز إلى منطقتين هما البلعوم ويليهِ المريء، حيث يكون البلعوم أكثر اتساعاً من المريء، ويمكن ملاحظة بداية تكوين الإنبعاث الفمي (Stomodeum) من الأكتوديرم ليواجه بروز جيبى الشكل من أعلى منطقة البلعوم الأمامية لتكوين الصفيحة الفمية (Oral plate) فتحت الفم فيما بعد، أما المعى المتوسط لا يزال مفتوحاً على أسفل موجهاً منطقة المح لكن الفتحة ضاقت قليلاً. أما المعى الخلفي والذي تكون نتيجة لظهور الجيب تحت الذيلي فلم تطراً عليه أي تغيير سوى أنه استطال شكل (١٧, ٨).



(1) الأديم الباطن	(2) المح	(3) الأديم الظاهر لأدمة الأريمة
(4) الأديم الظاهر للصفحة العصبية	(5) عقدة هنسن	(6) الخط البدائي
(7) المعى البدائي	(8) الأديم المتوسط	(9) الطبقة الحشوية للكيس المحي
(10) الجيب تحت الرأسى	(11) الأديم الظاهر للرأس	(12) الأنابيب العصبية
(13) المعى الأمامى	(14) الميزابية العصبية	(15) منطقة المعى المتوسط
(16) الجوف العام لمنطقة التامور	(17) المنفذ المعوى الأمامى	(18) السلى
(19) الجوف العام الاضافى	(20) المنفذ المعوى الخلفى	(21) المعى المتوسط
(22) المعى الخلفى	(23) الجيب تحت الذيل	(24) البلعوم
(25) الصفيحة القموية	(26) الجزء البلعومى من المعى	(27) الانخماص القموى
(28) جيب راتكة	(29) منطقة الثقب الخلفى	(30) الصفيحة الشرجية
(31) المعى خلف الثقب الخلفى	(32) الانخماص الشرجى	(33) الانخماص السقائى
(34) السوقية المحية		

شكل رقم (١٧, ٨). رسم لقطاعات طولية لجنين الطيور توضح مراحل تكوين أجزاء الأمعاء المعى الأمامى (7) والمعى المتوسط (15) والمعى الخلفى (22) بمراحل عمرية مختلفة (أ- A قطاع في جنين عمرة ٢٠ ساعة تقريباً. ب- B- جنين عمرة ٤٠ ساعة تقريباً. ج- C- جنين عمرة ٦٠ ساعة ثم د- D جنين عمرة ٧٥ ساعة تقريباً). (من الشبكة العنكبوتية).

٤ - تكوين القواس الخيشومية والفتحات الخيشومية : Branchial Arches & Cleft

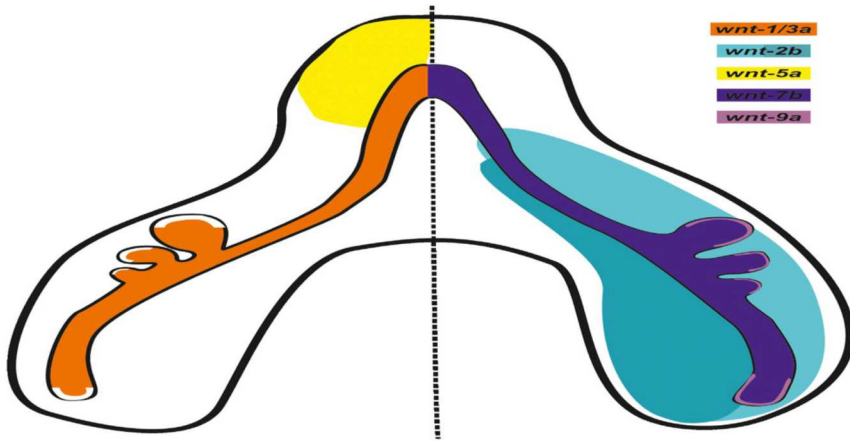
عندما يصل الجنين عمره ٥٥ - ٦٠ ساعة احتضان تكون الأقواس الخيشومية واضحة تمامًا على جانبي المنطقة البلعومية (وليس لها علاقة في عملية التنفس الآن) ولكنها تساهم في تكوين بعض الغدد اللاقنوية أو الصماء وقناة استاكيوس (Eustachian tube) والفكوك والوجه فيما بعد.

وتتكون الفتحات الخيشومية من بروزات اعورية من جانب البلعوم باتجاه الأكتوديرم والتي تعرف بالجيوب الخيشومي (Pharyngeal pouches) لتقابل انغمادات من الأكتوديرم تعرف بالأخدود الخيشومي حيث تلتحان معًا لتفتح إلى الخارج مكونة الفتحة الخيشومية لكن الفتحة تظل مغلقة والقوس الخيشومي الأول يكون القوس الفكي فيما بعد (Mandibular arch).

تكوين الرئتين: شكل (١٨, ٨):

أثناء نمو المبكر لجنين الدجاج، تنشأ الحنجرة والقصبه الهوائية (Laryngotracheal groove) من القناة الهضمية على شكل أخدود، وفي اليوم الثالث يبرز اثنين من الشعب من هذا الأخدود للخلف ينبئ عن بداية تكوين الرئتين البدائية، وهي تتكون من طبقة داخلية أو أندوديرمية طلائية رقيقة مغطاة بالطبقة المتوسطة أو الميزوديرم سمكية، ثم سوف تنمو هذه البراعم الاثنان للخلف لتشكيل الممرات الهوائية والأكياس الهوائية، فالرئتين لجنين الطيور تتكون من شبكة ملتفة من حلقات أكياس الهواء وأسطح الأوعية الدموية، (وحدة تبادل الغاز) لينتج هذه البنية المعقدة ذات الكفاءة الملحوظة للجهاز التنفسي في الطيور (Bellairs R, Osmond M 2005)، فقد وجد أن عامل النمو اليفي (Fibroblast growth factor FGF) عامل مهم أثناء تفرع رئة الجنين في الطيور، فقد تمكن الباحث مويرا وزملائه (Moura et.al.2014)، بالتعرف على عدة أنماط من تعبير الجنيني للوانت (أو جين الجناح المفقود. (Wnt)، مثل wnt-1، wnt-2b، wnt 3a، wnt-5a، wnt 7b،

هذه الجينات مسئول عن منطقة معينة في تكوين الرئتين، فالجين وانت -١، وانت -٣ أ (Wnt-1 and wnt-3a) يعبر عنهما في القصبة الهوائية بينما الجين ونت-٢ ب (Wnt-2b) يعبر عنه في طلائية نسيج الرئتين، والجين ونت-٥ أ (Wnt-5a) يعبر عنه في الحنجرة، والجين وانت ٧ ب (Wnt-7b) يعبر عنه في القصبة الهوائية، في حين أن الجين وانت ٩ أ (Wnt-9a) يعبر عنه في تفرعات القصبة الهوائية شكل (١٨، ٨)، علاوة على ذلك، فقد ثبت أن



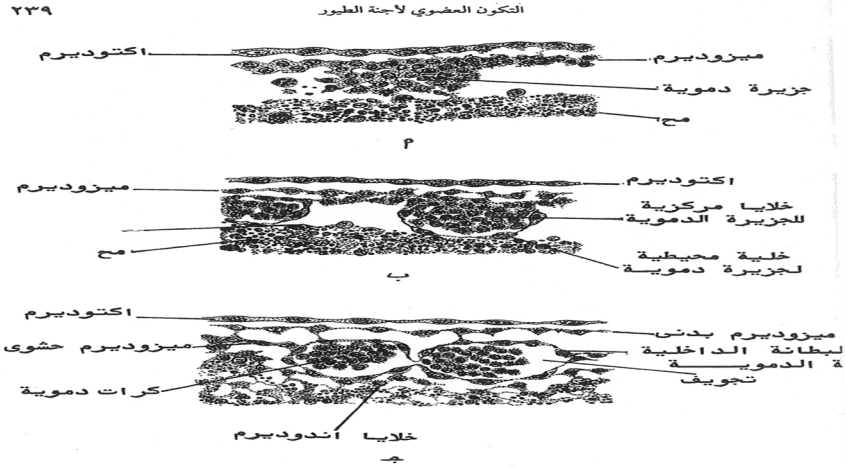
شكل رقم (١٨، ٨). رسم تخطيطي يشير إلى بعض مواقع تأثير مجموعة الوانت جين (Wnt) في الرئة لجنين الطيور، فقد تم تقسيم الصورة في نصف بغية تجنب تراكب اللون، اللون البرتقالي: موقع للجين وانت -١، وانت -٣ أ (Wnt-1 and wnt-3a) يعبر عنهما في القصبة الهوائية، بينما اللون الفيروز او التيركوازي: موقع الجين ونت-٢ ب (Wnt-2b) يعبر عنه في طلائية نسيج الرئتين؛ الأصفر: موقع الجين ونت-٥ أ (Wnt-5a) يعبر عنه في الحنجرة؛ أزرق داكن: موقع الجين وانت ٧ ب (Wnt-7b) يعبر عنه في القصبة الهوائية؛ اللون الأرجواني: موقع الجين وانت ٩ أ (Wnt-9a) يعبر عنه في تفرعات القصبة الهوائية. من Moura1 et.al 2014 .

مجموعة وانت جين Wnt تشارك في مجموعة متنوعة من الأحداث الجنينية المبكرة مثل محلة التبطين Gastrulation، وتكوين القطع الجسدية (Somite)، وتشكيل محور الجسم، وأيضًا تشكل (Morphogenesis) العديد من الأجهزة، مثل الرئتين والكلى، وعلاوة على

ذلك، فإنه يساهم في تكوين الأطراف، والجهاز العصبي، وتنمية الجمجمة، وأيضًا في تشكل القلب والأوعية الدموية، ومن ثم فالخلل في نشاط الوانت جين Wnt قد يؤدي إلى شذوذ في النمو وتشوهات خلقية للجنين خطيرة (Logan CY, and Nusse R (2004)).

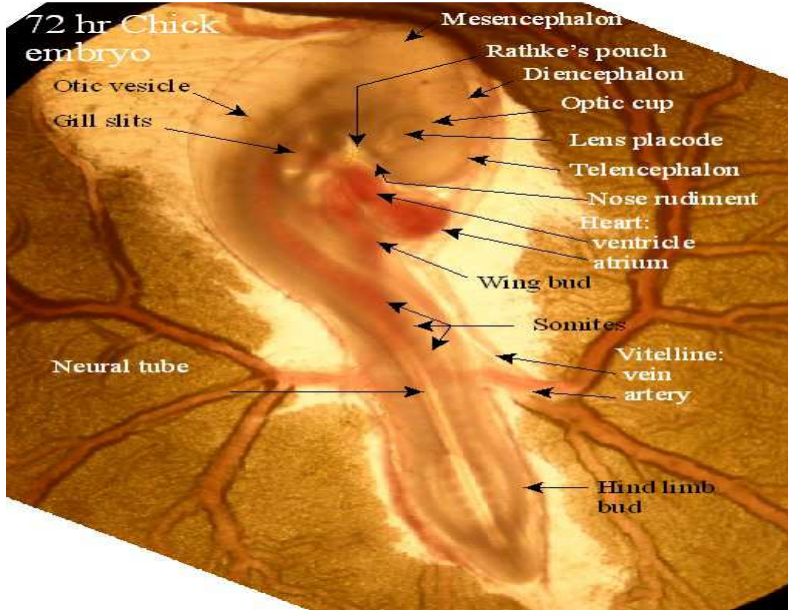
٥- تكوين الجزر الدموية والدم والأوعية الدموية في جنين الطيور:

يبدأ تكون الدم في المنطقة الوعائية للجنين عندما ينفصل الميزوديرم الطبقة الجسمية والطبقة الحشوية حيث تظهر تجمعات خلوية تتسبب عنها زيادات موضعية في سمك الميزوديرم الحشوي (الشكل ١٩، ٨)، ثم تزداد عدد الخلايا المكونة للتجمعات الخلوية لتعرف بالجزر الدموي (Blood Island) ويستمر النمو تظهر عدة تجاويف داخل الجزر الدموية تنفصل بين الخلايا المركزية تكون خلايا الدم، وأخرى محيطية تكون جدار الأوعية الدموية (الشكل ١٩، ٨ و ٢٠).



شكل (١٠٤) رسوم توضيحية تبين خطوات تكوين الجزر الدموية في ثلاث مراحل أثناء نموها:
أ - من جنين عمره ١٨ ساعة احتضان
ب - من جنين عمره ٢٤ ساعة احتضان
ج - من جنين عمره ٣٣ ساعة احتضان
(عن: Patten 1974).

شكل رقم (١٩، ٨). رسم لقطعات في جنين الطيور (١٨-٣٣ ساعة) توضح تكوين الجزر الدموية.



شكل رقم (٨, ٢٠). منظر سطحي لجنين الدجاجة عمرة ٧٢ ساعة تقريباً يوضح امتداد الأوعية الدموية لمنطقة الجزء الدموية. (من الشبكة العنكبوتية).

تكوين الأغشية الجنينية الإضافية في الطيور: Extra Embryonic membrane

الأغشية الجنينية عبارة عن تراكيب إضافية جديدة تظهر على التكوين الجنين للطيور والزواحف والثدييات حيث يحيط أول غشاء بالجنين ويعرف بغشاء الرهل أو الأمنيون (Amnion) لذلك تسمى بالرهليات، ويتكون حول الجنين أربع أنواع من الأغشية شكل (٨, ٢١).

١- غشاء الرهل (Amnion membrane):

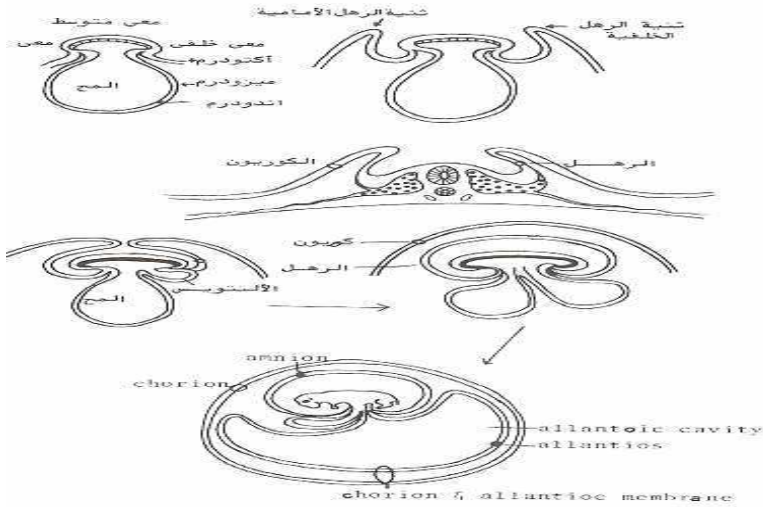
يتكون هذا الغشاء أثناء تكوين الثنيتان الرهليتان الأمامية والخلفية تتألف من طبقة الأكتوديرم والميزوديرم الجسمي حيث تلتحم هذه الثنيتين فوق الجنين، ويعمل غشاء الرهل على وقاية الجنين من الصدمات أثناء التقلب والحركة حيث يفرز فيه سائل يعرف بالسائل الرهلي.

٢- غشاء الكوريون: (Chorion membrane):

ويتكون أيضًا غشاء الكوريون أثناء التحام الشنتان الرهليتان ولكن إلى الخارج من الجنين فتحيط بالغشاء الرهلي فيما بعد، ويعمل غشاء الكوريون على تبادل الغازات بين أوعية الجنين ومسامات القشرة للبيضة.

٣- غشاء كيس المح: (Yolk sac membrane):

يتكون غشاء كيس المح من الأندوديرم والميزوديرم الحشوي حيث يحيط بالمح وتعمل خلايا على هضم المح ثم نقلة عن طريق الأوعية الدموية إلى باقي أجزاء الجسم.

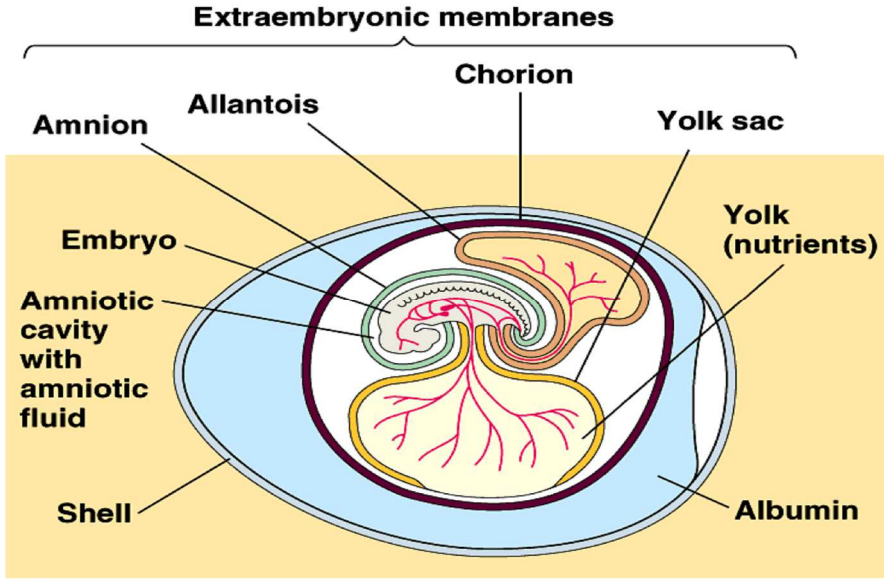


شكل رقم (٢١، ٨). الأغشية الجنينية الإضافية في الطيور. أ- رسم لمراحل تكوين الأغشية الجنينية. غشاء الرهلي (Amnion)، غشاء كيس المح (Yolk sac)، غشاء الأنطويس أو السجق (Allantois)، ثم غشاء الكوريون (Chorion) من كتاب د. ماهر إبراهيم ١٩٧٨م.

٤- غشاء السجق أو الأنطويس: (Allantoise membrane):

ويتكون الأنطويس كبروز في الجهة الخلفية السفلية للجنين على شكل كيس يتكون من طبقتين الأندوديرم والميزوديرم، وهو يعمل بمثابة المثانة الإخراجية

للجنين، وتخزن به المواد الإخراجية للجنين، ثم في مراحل متأخرة يلتحم مع الكوريون ليكون الغشاء الكوريوني الألتوسيبي للجنين.



Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

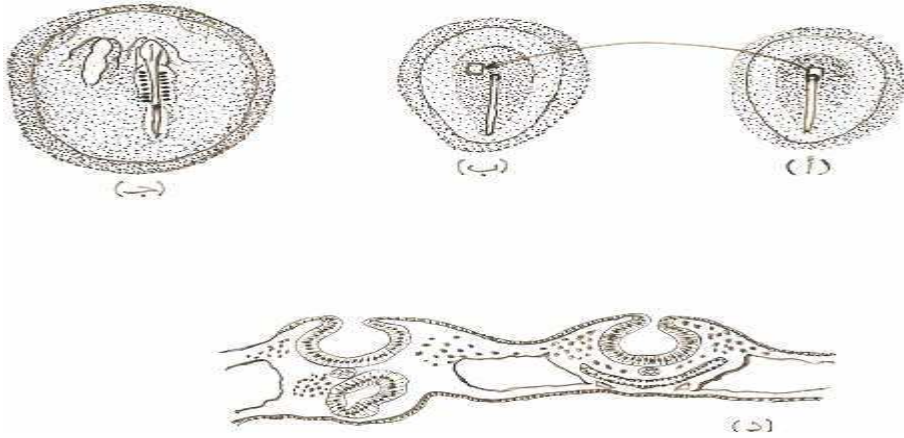
شكل رقم (٢١، ٨ب). رسم للاغشية الجنينية الإضافية لجنين الطيور داخل قشرة البيضة. (من الشبكة العنكبوتية).

المنظمات الحنينية في أجنة الطيور:

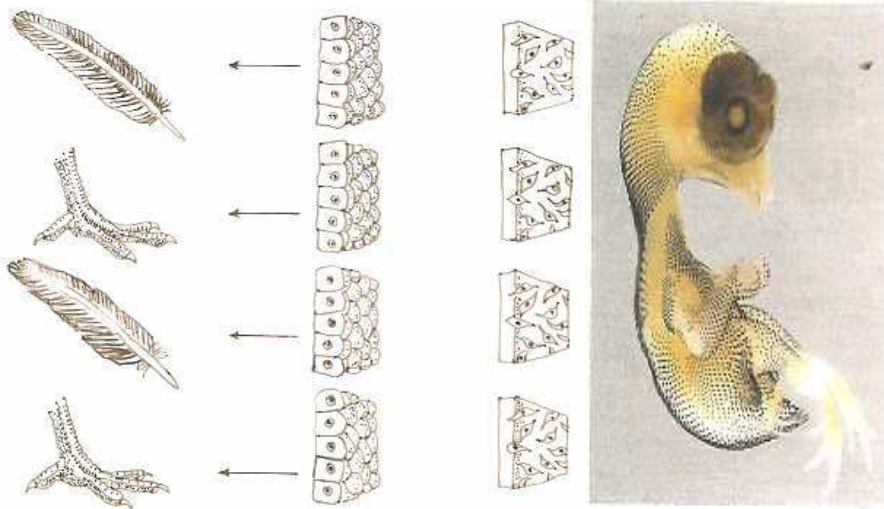
لقد اكتشف وادنقوتون عام ١٩٣٣م (Waddington 1933) المنظمات الحنينية في أجنة الطيور ألا وهي عقد هنسن (Hensen node) فهي تعمل على تكوين جنيني آخر (أنبوبة عصبية وجذع للجنين) فعندما قام بنقل عقدة هنسن من جنين دجاج في طور المبطنة أو الجاسترولة المبكرة وزراعتها على القرص الجنين لجنين البط بنفس العمر تقريباً فأعطت تكوين جنين ثانوي على الجنين المستقبل (انظر الشكل ٨-٢٢)، فعقدة هنسن منظم جنيني كالشفة الظهرية في البرمائيات فالخلايا التي تهاجر من طبقة

السطحية عبر عقدة هنسن سوف تكون منطقة الرأس والطبقة الداخلية (الأندوديرم) و الطبقة المتوسطة لخلايا (أوميزودير) الحبل الظهرى بينما الخلايا التي تهجر من سطح القرص الجنيني عبر المنطقة الخلفية للخط البدائي (Primitive streak) سوف تكون منطقة خلايا الطبقة المتوسطة أو الميزوديرم الجانبي والبطني (Ventral and lateral mesoderm)، ثم عمد إلى عمل مجموعة من التجارب كان الهدف منها معرفة اتجاه محور الجنين الثانوي ومدى علاقة النسيج الحاث بالنسيج المستجيب (المانح والعائل Donor and host) فقد نقل عقدة هنسن من جنين وزرعها بالقرب من عقدة هنسن الأساسية للجنين العائل وفي اتجاه محور الجنين الأساس فقد تكون جنين ثانوي اتجاه رأسه باتجاه الجنين الأساس، وفي تجربة أخرى زرع عقدة هنسن المنقولة بعيداً عن عقد هنسن الأساسية للجنين العائل مرة باتجاه الجنين العائل ومرة عكسه اتجاهه فأعطت أجنة ثانوية اتجاهاً حسب اتجاه عقدة هنسن المنقولة.

وفي تجربة أجريت على نقل وزراعة أجزاء في أجنة الطيور (الدجاج) لدراسة العلاقة بين النسيج الحاث والنسيج المستجيب فقد تم نقل وزراعة نسيج الطبقة المتوسطة (ميزوديرم) الجناح مكان الطبقة المتوسطة (ميزوديرم) الرجل وتحت الطبقة الخارجية (أكتوديرم) في جنين الكتكوت المبكر، والعكس بدل النسيج الميزوديرمي لموقع الجناح بنسيج الطبقة المتوسطة (ميزوديرم) الرجل ووضع أيضاً تحت الطبقة الخارجية (أكتوديرم) أو أدمة الجناح؛ فالنتيجة أنه تكونت رجل مكان الجناح وجناح مكان الأرجل (الشكل ٨-٢٣)، ومن هذه التجربة نستنتج أنه على الرغم من أن الطبقة المتوسطة وهي في المرحلة الجنينية المبكرة تكاد تكون واحدة إلا أنها أعطت تحفيزاً مختلفاً فالأمامية تعطي ريش وجناح والخلفية تعطي حراشف وأرجل، أو بما يعرف الخاصية المكانية أو الموقعية للمحفز (Regional Specificity of Induction).



شكل رقم (٢٢, ٨). المنظمات الجنينية في الطيور ودورها في عملية تمايز الأجنة: نقل عقدة هنسن من جنين (أ) إلى جنين آخر للطيور (ب) تعمل على تكوين أنبوبة عصبية أخرى على الجنين المستقبل (ج). د-رسمه للقطاع في الجنين توضح تكون أنبويتين عصبيتين.



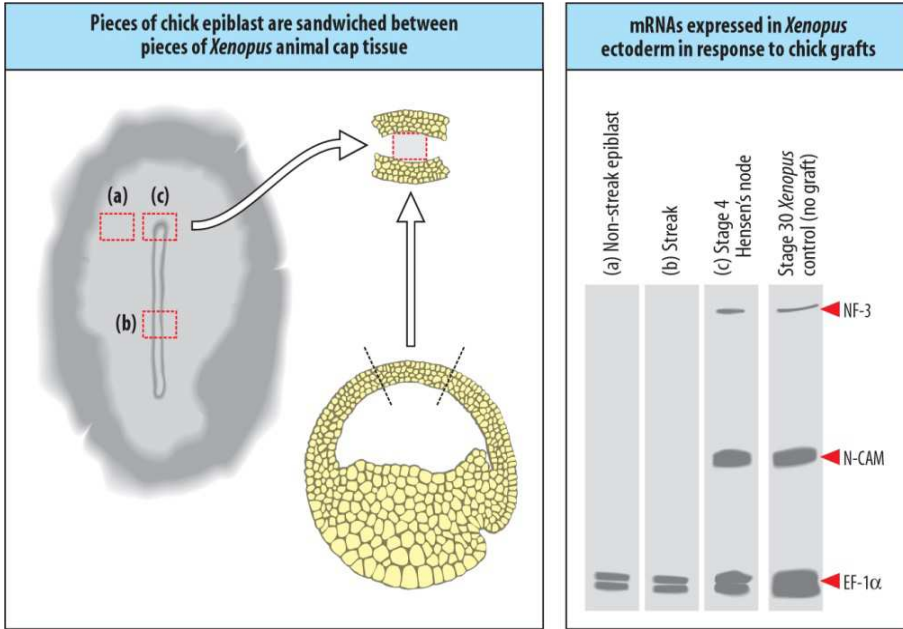
شكل رقم (٢٣, ٨). المنظمات الجنينية في الطيور ودورها في التحديد والتمايز في الأطراف: نقل وزراعة نسيج الطبقة المتوسطة (ميزوديرم) الجناح مكان الطبقة المتوسطة (ميزوديرم) الرجل وتحت الطبقة الخارجية (أكتوديرم) في جنين الكنكوت المبكر؛ والعكس بدل النسيج الميزوديرمي لموقع الجناح بنسيج الطبقة المتوسطة (ميزوديرم) الرجل ووضع أيضًا تحت الطبقة الخارجية (أكتوديرم) أو أدمة الجناح؛ فالنتيجة أنه تكونت رجل مكان الجناح وجناح مكان الأرجل.

تصنيع الأحماض النووية في جنيني الدجاج:

لقد درست تصنيع الحمض النووي الريبوزي في مراحل مختلفة من دورة الخلية الليفية في جنين الدجاج التي تم مزامنتها بتغيير البيئة في مرحلة مختلفة، بدأ تصنيع شريط الحمض النووي (DNA) بعد ٤ ساعات واستمر إلى ٨ ساعات، تصنيع الحمض النووي الريبوزي (RNA) إزداد مع مرور الوقت وبعد تغير البيئة، وبلغت النسبة الإجمالية للنشاط الإشعاعي في الحمض النووي الريبوزي المعد المشع خلال ٢ و ٨ ساعة كانت كالآتي: ٠,١ : ٠,٣, ٠,٥ : ٠,٥. وكان توزيع الحمض النووي الريبوزي المشعة في نمط الترسيب مماثلة، عرض إدراج ملحوظة في المنطقة الريبوسوم S45 الحمض النووي الريبوزي RNA.

ومع ذلك، اختلف المكون القاعدي للحمض النووي الريبوزي المصنع حديثاً في فترات زمنية مختلفة بعد استبدال البيئة، حتى خلال المرحلة الفاصلة الأولى (G1 phase) من دورة الخلية، وكانت نسبة المولى للمرحلة الفاصل والمرحلة (G and C) مختلفة تماماً، على وجه التحديد فالمعالجة بالاكيتينوميدين د بتركيز ٠,٢, ٠ ميكروغرام/ مل لمدة ساعة ١ يثبط تصنيع الحمض النووي الريبوزي الريبوسومي rRNA، وعند ٢ ساعة بعد تغير البيئة، يتم تصنيع الحمض النووي الريبوسومي للريبوسومات (28S) والغنية بال بما فيها الحمض النووي بكميات متساوية.

وفي تجربة أخرى عن مدى إمكانية نسخ الأحماض النووية المرسلية بين الأجنة المختلفة حيث تم وضع عقدة هensen بين طبقتين من الاكتوديرم لجنين الضفدعة فأدت إلى نسخ الأحماض النووية المرسلية لجنين الطيور في جنين الضفدعة الشكل (٢٤, ٨).



شكل رقم (٢٤، ٨). تجرية نسخ الاحماض النووية المرسله بين الأجنة المختلفة حيث تم وضع عقدة هنس بين طبقتين من الاكتوديرم لجنين الضفدعة فأدت إلى نسخ الاحماض النووية المرسله لجنين الطيور في جنين الضفدعة.

مواقع تصنيع البروتين في جنين الدجاج المبكر:

لقد بينت الدراسة التي أجراها سيرلين ومساعدة وادنقتون (J,I,Sirlin and Waddington C.H) على مواقع تصنيع البروتين في جنين الدجاج بواسطة تقنية التشعيع الذاتي (Autoradiographs) عالية الدقة، فقد تم التعرف على ثلاث مواقع في الخلية: في النواة، وفي الكروماتين المرتبط بالنواة، وفي السيتوبلازم.

أما عن تصنيع بروتين في الجنيني المبكر للدجاج فقد تمت دراسته على نسيج كيس المح للجنين بواسطة كرام وزميلة كلين (Kram and Klein)، حيث تمت تنميته في محلول رينجر المتعادل للدجاج، فقد تم العثور على بروتين سيرم الجنين الالفا قلوبيلين (α -globulin) وبادئ الألبومين (Prealbumin) حيث عثر من تحليل الجل على حلقين أو علامتين في الجل، في كيس المح للجنين في المرحلة ١١-١٣ قطعة جسدية (عمر

تقريباً ٤٠ ساعة) وتمت تنمية لمدة ٤٨ ساعة فإنه يفرض بالإضافة إلى ذلك بروتين ثالث له علاقة بالبروتين الحركي الألبومين السيرم (Mobility of serum albumin)، إن تحضين المحض الاميني الفالين المشع أو المعلم فإنه يدل على أن بداية تصنيع البروتين للسيرم يبدأ من بداية تكوين الخط البدائي للجنين.

كما تم إجراء دراسة عن الاستنساخ الجزيئي وتوصيف بروتين الخلايا العصبية المتوسطة الفا انترنكسين (α -Internexin) في جنين الدجاج: بواسطة لين وزميلة Liu, Chi-Hsiu and Chien, Chung-Liang (2012).

فالبروتين الفا إينترينكسين هو واحد من البروتينات الليفية المتوسطة للخلايا العصبية في جنين الدجاج، والتي تشمل أيضاً بروتينات منخفضة وعالية الوزن الجزيئي (نيوروفيلامينت) (NFI, NFM, NFH)، التعبير عن الفا إينترينكسين يحدث في معظم الخلايا العصبية لأنها تبدأ في التمايز، وتسبق التعبير عن البروتينات الثلاثية NF في الخلايا العصبية، فقد تمكنا من وصف الاستنساخ الجزيئي لتسلسل مرناً للبروتين الفا إينترينكسين الدجاج في أدمغة الأجنة، Chicken α -internexin (chkINA) protein، بنية الجينات وتسلسل الأحماض الأمينية قريبة التشابه، للخلايا العصبية في اجنة الفأر، والسمكة المخططة (Zebra fish)، والابقار، البشرية كما وجد أن البروتين الفا انترينكسين يمكن التعبير عنه في المخيخ النامي والتي قد تكون علامة مفيدة لدراسة نمو خلايا الدماغ في أجنة الطيور.

الفصل التاسع

التكوين الجزيئي للأجنة الثدييات

Mammalian Molecular Embryology

مقدمة عن التكوين الجنيني المبكر في الثدييات

المراحل الأساسية التي يمر بها تكوين الجنين هي: تكوين الأمشاج (Gamete formation)، الإخصاب (Fertilization) وتكوين اللاقحة (الزيجوت) (Zygote)، ثم التفلق (Cleavage) وتكوين المفلجة أو البلاستولة، بعدها عملية التبطين (Gastrulation) وتكوين المبطنة أو الجاسترولة وتكوين الطبقات الجنينية الثلاث، ثم التعضي (Organogenesis) تكوين الأعضاء.

تنقسم الثدييات من حيث طريقة تكوينها الجنيني إلى:

أ) الثدييات البدائية أو البيوضة (Prototheria) :

هي الثدييات التي تضع بيض ولا تلد وتشبه طريقة تكوينها الجنيني الطيور والزواحف، ولأجنتها نفس الأغشية الجنينية الموجودة حول جنين الطيور، وفي بعض الأنواع منها يتكون أثناء فترة التناسل كيس صغير على السطح البطني للأثنى يتم احتضان البيض فيه حتى مرحلة الفقس، ومن أمثلة الثدييات البيوضة مثل آكل النمل (*Echidna aculeata*).

ب) الثدييات الكيسية (Marsupials or Metatheria) :

هي التي تلد جنين غير مكتمل النمو ويكمل نموه في كيس على الجهة البطنية للأم حيث يكمل مراحل نموه بالتغذية من الثدي من أمثلتها الكنغر.

ج) الثدييات الحقيقية أو المشيمية (Eutheria or Placental Mammals)

هي التي لا توجد في بويضاتها كميات من المح بل يعتمد الجنين في تغذيته منذ بداية تكوينه ولادته على الأم حيث يتعلق في بطانة الرحم بواسطة المشيمة وهي مصدر تغذية في الرحم وتخلصه من المخلفات والفضلات؛ لذلك تسمى بالثدييات المشيمية، وتشمل معظم الثدييات من القوارض إلى ذوات الحافر حتى الإنسان، وتسمى أيضًا بالثدييات لأن لديها أثناء تغذي صغارها منها.

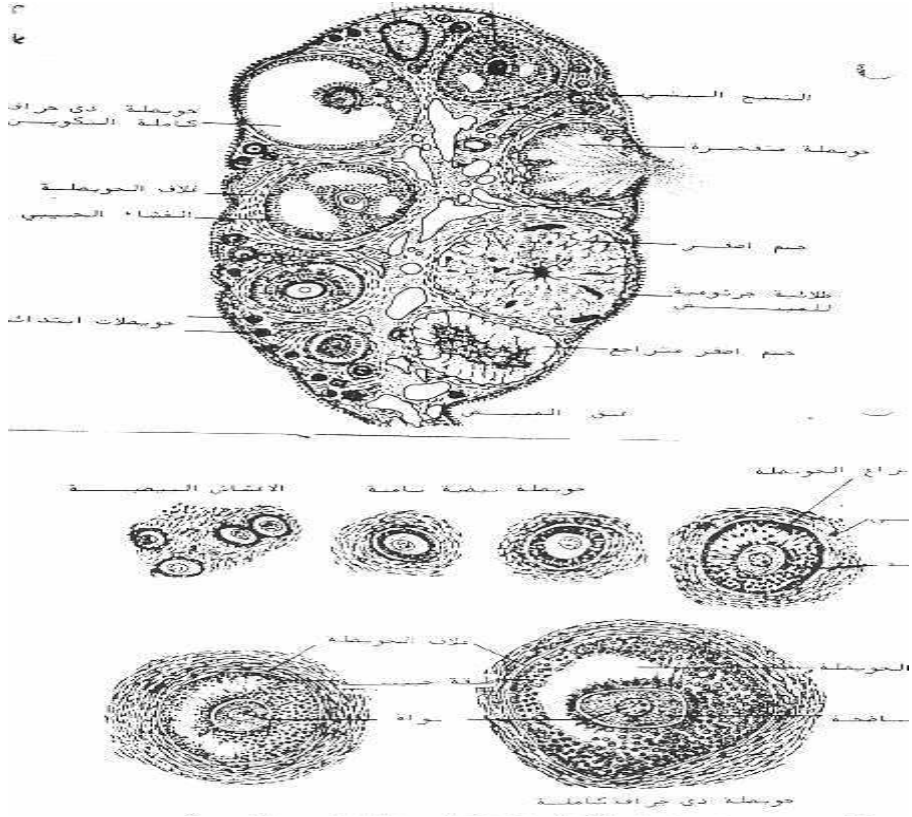
تركيب المبيض في الثدييات: شكل (١، ٩ أ، ب):

يعد المبيض في الثدييات صغير جدًا مقارنة بالزواحف والطيور، وهو من النوع المصمت يحتوي على نسيج ضام وأوعية دموية للتغذية ويتكون غلاف المبيض من الطلائية الجرثومية ويحتوي بداخله على حويصلات عديدة مختلفة الأحجام تحيط بالبويضات الابتدائية في أغلب الثدييات، تحاط البويضات داخل المبيض بخلايا حويصلية من طبقة واحدة فتعرف بالحويصلة البيضية الابتدائية (Primary Follicle) وأثناء الفترة التناسلية للأُنثى تتكاثر هذه الخلايا الحويصلية تحت تأثير الهرمونات التناسلية من الفص الأمامي للغدة النخامية (FSH) لتصبح طبقتين أو ثلاث طبقات تحيط بالبويضة الابتدائية فتعرف بالحويصلة الثانوية- ثم تنمو وتزداد في الحجم ويتكون بين خلاياها فراغات تلتحم في فراغ وسطى فتعرف بحويصلة جراف (Graffian follicle) يفرز في هذا الفراغ سائل حويصلي/ كما تفرز الخلايا الحويصلية هرمون الأستروجين، وتحاط الحويصلة بنسيج ليفي يتكون من طبقتين الغلاف الخارجي والداخلي (Theca externa and internal).

التبويض والإخصاب والتفلج في الثدييات:

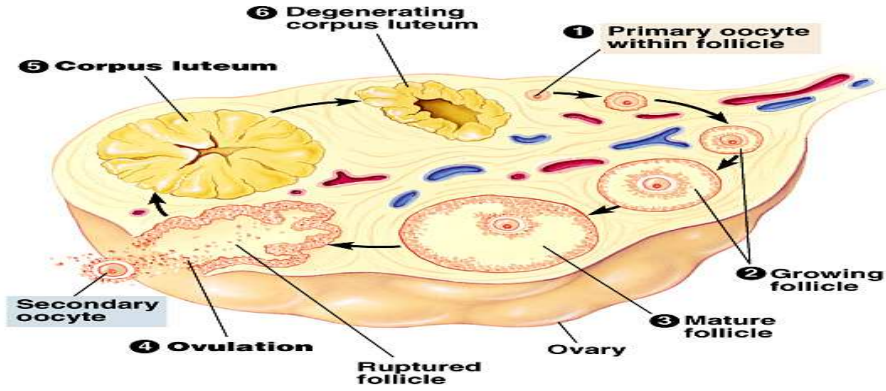
ما أن تنمو حويصلة جراف حتى تقترب من سطح المبيض وتكمل البويضة الابتدائية الانقسام الاختزالي الأول لتعطي البويضة الثانوية، شكل (٢، ٩ أ، ب)،

وتحت تأثير تدفق الهرمون المكون للجسم الأصفر (Lutinizing hormone LH) من الغدة النخامية تخرج البويضة من الحويصلة والمبيض إلى قناة البيض حيث تلتقها فتحة قمع قناة البيض والجزء المتبقي من حويصلة جراف في المبيض يتحول إلى الجسم الأصفر الذي يفرز هرمون الأستروجين بالإضافة إلى هرمون البروجسترون.



شكل رقم (١، ٩ أ). رسم لتركيب نسيج مبيض الثدييات وفيه الحويصلات مختلفة الحجم.

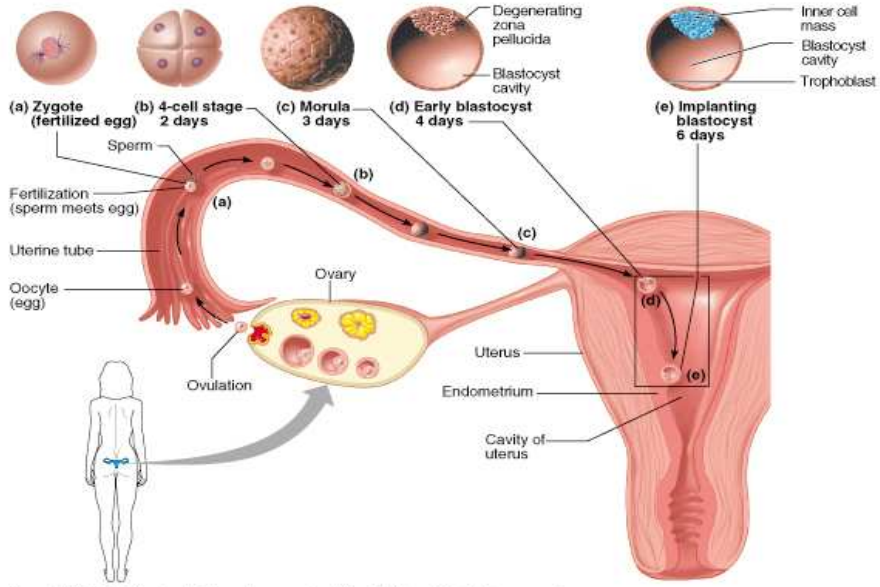
شكل رقم (١، ٩ ب). رسم يوضح مراحل نمو الحويصلات المختلفة: من اليسار بويضات ابتدائية، ثم حويصلات أولية، يليها حويصلة ثانوية، ثم حويصلة ناضجة، في الأخير حويصلة جراف (أسفل يمين). من كتاب ماهر براهيم ١٩٧٨ م.



(b)

شكل رقم (٢، ٩). رسمة المبيض موضح فيها مراحل نمو الحويصلات: ١-البويضة في المرحلة الابتدائية ٢- نمو الحويله ٣- حويصلة جاف ٤- ثم التوبيض وخروج البويضة الثانوية من المبيض ٥- تكوين الجسم الأصفر، ٦- تراجع الجسم الأصفر. من الشبكة العنكبوتية.

تلتقي البويضة بالحيوان المنوي في الثلث الأول من قناة البيض في منطقة القارورة أو الأمبولة (Ampulla) حيث يتم الإخصاب فتكمل البويضة الثانوية الانقسام الاختزالي الثاني لتعطي الجسم القطبي الثاني والبويضة الناضجة التي تلتحم نواتها مع نواة الحيوان المنوي لتتكون اللاقحة أو الزيجوت أول خلية للجنين والتي تبدأ تتفلج داخل قناة البيض وبعد ٢٤ ساعة تكمل التفلج الأول لتعطي طور الخليتين وبعد ٣٦ ساعة تقريباً تنقسم لتعطي طور أربع خلايا ثم بعد ٤٨ ساعة من الإخصاب تكون طور ٨ خلايا ثم طور ١٦ خلية ثم طور ٣٢ خلية ثم التوتية بعد ٧٢- ٩٦ ساعة من الإخصاب ثم المفلجة، وفي نهاية اليوم ٤-٥ تدخل طور المفلجة أو البلاستولة منطقة الرحم حيث تبدأ خلايا المفلجة تخرج من الغشاء الشفاف الذي كان يحيط بها طوال مرحلة التفلج فتعرف هذه المرحلة بفقس المفلجة (Hatching of Blastula)، وتبدأ خلاياها تنغرس في بطانة الرحم خلال اليوم ٥-٧ أو أكثر حسب نوع الأنثى، شكل (٣، ٩).



Copyright © 2001 Benjamin Cummings, an imprint of Addison Wesley Longman, Inc.

شكل رقم (٩،٣). رسم لخروج البويضة من المبيض واخصابها ومراحل التفلج في قناة البيض حتى وصولها الرحم عند طور المفلجة او البلاستوله في المرأة كمثال للثدييات. من الشبكة العنكبوتية.

الدورة الشهرية في المرأة Menstrual Cycle in Women

تتلخص الدورة الشهرية أو الطمثية في المرأة البالغة بالآتي:

الدورة الشهرية في المرأة تستغرق ٢٨ يومًا تقريبًا، فبعد توقف نزول الطمث

(Menstrual flow) تنقسم الدورة حسب تركيب بطانة الرحم إلى فترتين رئيسيتين:

أ- فترة نمو بطانة الرحم (Proliferative phase) ب- والفترة الغدية Secretory

(phase)، يقوم على تنظيمها كل من الهرمونات التناسلية من سرير المهاد (Hypothalamus)

بالمخ والفص الأمامي للغدة النخامية والهرمونات الجنسية من الخلايا الحويصلية بالمبيض.

ففي المرحلة الأولى نمو بطانة الرحم (شكل ٩-٤):

تحت تأثير الهرمون المنظم للمناسل (Gonadotropin Releasing hormone (GnRH) من سرير المهاد بالمشغول يفرض الفص الأمامي للغدة النخامية الهرمون المحفز لنمو الحويصلات (Follicle Stimulating Hormone FSH)، والذي يعمل على نمو الخلايا الحويصلية حول البويضة لتكون حويصلة جراف في المبيض، وتفرز الخلايا الحويصلية هرمون الأستروجين الذي يعمل على نمو بطانة الرحم الداخلية (Endometrial growth) خلال النصف الثاني من الدورة الشهرية (الفترة الغدية) شكل (٩-٤):

في اليوم الرابع عشر للدورة الشهرية تقريباً يكون هناك تدفق للهرمون المكون للجسم الأصفر من الفص الأمامي للغدة النخامية (Luteinizing Hormone LH) والذي يعمل على خروج البويضة من المبيض، وتحول الخلايا المتبقية من حويصلة جراف إلى الجسم الأصفر (Corpus luteum) في المبيض، والذي بدوره يعمل كغدة لا قنوية تفرز بالإضافة للأستروجين هرمون البروجسترون الذي يعمل على بقاء بطانة الرحم نامية ويساعد على انغراس الجنين بالرحم.

يصل مستوى الهرمونات الجنسية (الأستروجين والبروجسترون) من المبيض مرتفعاً والذان يعملان كمثبط لإفراز هرمونات التناسلية (GnRH, FSH, LH) من الغدة النخامية وسرير المهاد، وبقاء بطانة الرحم نامية حين انغراس الجنين فيها، كما تبقى بطانة الرحم نامية خلال هذه الفترة وتظل مستمرة في النمو إذا كان هناك حمل حيث تفرز خلايا الجنين هرمون السلي الإنساني (Human Chorionic Gonadotropin hCG) الذي يعمل على بقاء الجسم الأصفر نامياً في المبيض وبالتالي بقاء بطانة الرحم نامية خلال فترة الحمل ثم تقوم المشيمة فيما بعد بإفراز الهرمونات الجنسية (الأستروجين والبروجسترون) لبقاء الحمل وبقاء الجنين معلقاً في بطانة الرحم، فإذا لم يكن هناك إخصاب للبويضة في قناة البيض ولم يحدث الحمل فإن الجسم الأصفر يضمحل ويتحول إلى الجسم الأبيض (Corpus albicans) فتتخفص الهرمونات الجنسية من المبيض وتتهتك بطانة الرحم وتنزل على شكل

طمث لمدة ٥-٧ أيام تقريباً ثم تعاود الهرمونات التناسلية الإفراز من سرير المهاد الغدة النخامية لتعود الدورة مره أخرى وهكذا. شكل (٩-٤).

تكوين الأمشاج في الثدييات

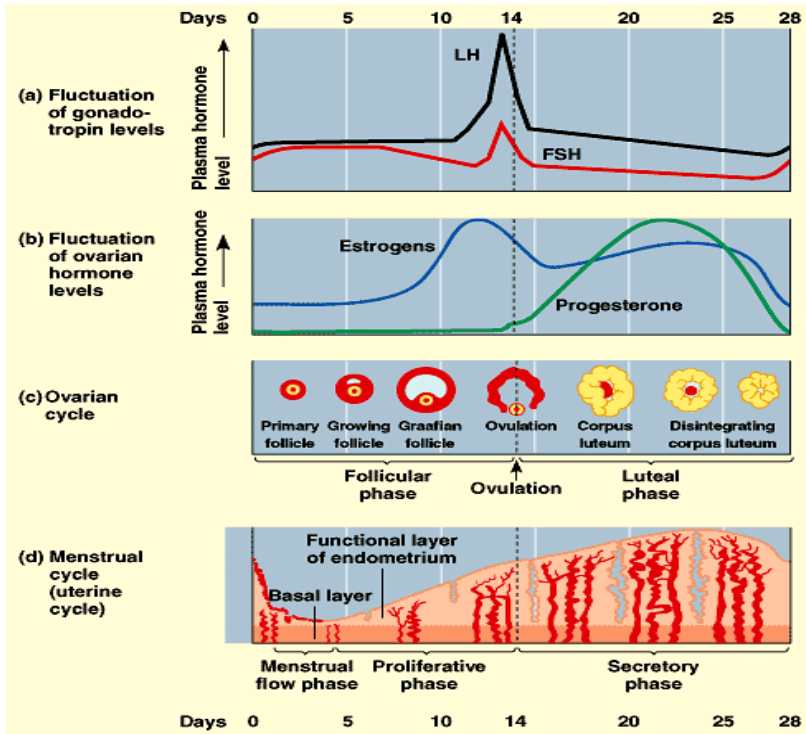
Gametogenesis on Mammals

الخلايا التناسلية الأولية في الثدييات: Primordial germ cell in Mammals

في بداية القرن الماضي أوضح العالم أوقستين وايزمان الذي أجرى تجاربه على الديدان الخطية أن جزءاً معيناً في سيتوبلازم البويضة سمها البلازما الجرثومية (Germ plasm) سوف يعطي الخلايا التناسلية في الجنين فيما بعد في كثير من الكائنات الحية، وتوجد مثل هذه البلازما في بويضات الثدييات وهي عبارة عن مادة ليفية مكثفة (Nuage)، حيث توجد في منطقة البلازما الجرثومية للبويضة حبيبات تحتوي على كمية من الحمض النووي المرسل (mRNA) والذي يترجم فيما بعد إلى بروتينات تكون ضرورية لتمايز الخلايا التناسلية فيما بعد.

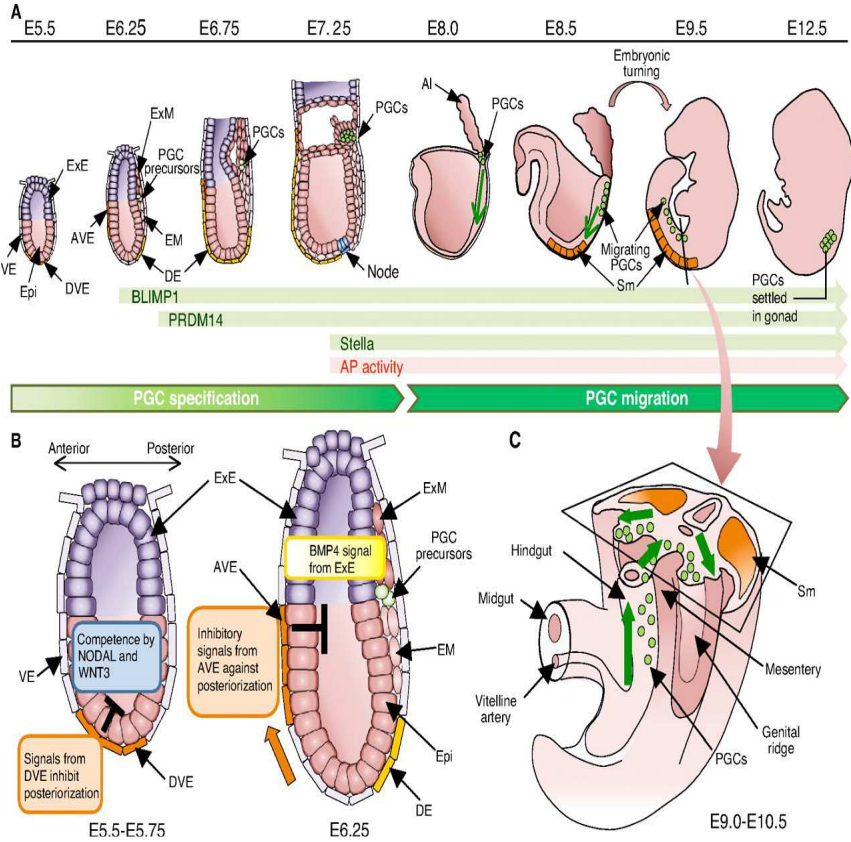
كما أسلفا في الفصل الثاني فإن منشأ الخلايا التناسلية الأولية يكون خارج المنسل، في الطلائية الظهرية من الطبقة الداخلية أو الاندوديرمية لمنطقة عنق كيس المح في جنين الثدييات. ثم تهاجر على طول المعى الخلفي للجنين بحركة أميبية نشطة، ثم عبر تيار الأوعية الدموية حتى تصل إلى نسيج المنسل الذي بدا ينشأ من الكلية الجنينية، يمكن تميز الخلايا التناسلية الأولية المهاجرة عن معظم الخلايا الأنسجة الأخرى بعدة معايير، فأنويتها تكون كروية الشكل وبها قليل من المادة الكروماتينية غير المتجانسة (Heterochromatin)، وسيتوبلازمها يمتاز بندرة العضيات ويحتوي على كمية عالية من أنزيم الفوسفاتيز القلوي وأنزيمات الإيستريز (Alkaline phosphatase and Esterase) والجليكوجين، ويعد تفاعل أنزيم الفوسفاتيز القلوي من الوسائل المهمة في تتبع الخلايا التناسلية الأولية وكذلك عند تحولها إلى أمهات البيض أو أمهات المني، وتفقد هذه الخاصية عند دخولها الانقسام الاختزالي، وفي الشكل (٥، ٩) يوضح نشأت الخلايا

التناسلية الأولية في جنين الثدييات حيث تتحكم فيها بعض العوامل أثناء بداية نشأتها في الجنين مثل الاشارات من عامل مشكل العظام ٤ (BMP4) من الطبقة الجنينية الخارجية الإضافية (ExE)، (BLMP1 PRDM14)/ حيث لا تظهر في الجهة المقابلة لمنطقة عنق كيس المح لوجود مادة مثبطة من الأندوديرم البطني (VE) وفيما بعد من الإشارات من المادة المثبطة من المنطقة الأمامية للأندوديرم البطني (AVE) وأثناء بداية هجرتها (Stella AP activity) حتى تسقر في المنسل.



شكل رقم (٤، ٩). مخطط يوضح الدورة الشهرية في المرأة من بداية الطمث حتى ٢٨ يوماً بعده:

أ - إفراز الهرمونات التناسلية (LH ; FSH) من الغدة النخامية، ب - إفراز الهرمونات الجنسية (Est. Pro.) من المبيض، ج - نمو الحويصلات والتبويض في منتصف الدورة الشهرية وتكوين الجسم الأصفر، د - بالتزامن مع نمو بطانة الرحم تحت تأثير الهرمونات التناسلية من الغدة النخامية والجنسية من المبيض. (من الشبكة العنكبوتية).



شكل رقم (٥, ٩). رسم يوضح نشأت الخلايا التناسلية الأولية (PGCs) وتتحكم بعض العوامل أثناء بداية نشأتها ثم هجرتها في جنين الثدييات: مثل الإشارات من عامل مشكل العظام ٤ (BMP4) من الطبقة الجنينية الخارجية الإضافية (ExE) (بالأصفر) بداية تشكلها بين منطقة الأكتوديرم والميزوديرم في منطقة عنق كيس المح (لونها بالاخضر)، وأثناء بداية هجرتها عبر الأوعية الدموية باتجاه المنسل، (الطبقة الجنينية المتوسطة الإضافية الميزوديرم الإضافي (ExM)، الطبقة الجنينية المتوسطة أو الميزوديرم الجنيني (EM) المنطقة الأمامية للطبقة الداخلية البطنية أو الأندوديرمية (AVE)، الطبقة الداخلية أو الأندوديرمية الظهرية (DE) والطبقة الظهرية البطنية الداخلية أو الأندوديرمية (DVE) الطبقة البطنية الداخلية أو الأندوديرمية (VE). (الفئات العمرية للجنيني E5.5 – E 5.75 ; E6.25 – E9.0 – E10.5). (من الشبكة العنكبوتية).

تكوين البويضات:

عندما تولد الأنثى فإن أمهات البيض في المبيضين قد تحولت إلى بويضات ابتدائية (Primary oocytes) ويحتويان على ما يقرب من ٢٥٠,٠٠٠ من البويضات الابتدائية، يضممر معظمها وما يصل إلى النضج منها عندما تبلغ الأنثى إلا حوالي ٣٠٠-٥٠٠ بويضة حسب العمر التناسلي للأنثى حتى تصل سن اليأس حيث تضممر معظم البويضات التي في المبيض، وحسب نوع الأنثى فقد تنزل بويضة واحدة مع كل دورة تناسلية أو شبقية مثل الأبقار والأغنام وغيرها والإنسان أو أكثر من بويضة كالقطة والفئران والأرانب والخنزير والكلب وغيرها فتسمى بمتعددة المواليد (Multiparous).

تعد البويضة الناضجة في الثدييات من البويضات نادرة المح ويتراوح قطرها ١٢٠-٢٠٠ ميكرون بينما قطر الأجسام القطبية حوالي ١٠ ميكرون وتحاط بالغشاء الشفاف (Zona Pellucida) والخلايا الحويصلية.

التكوين الجزيئي المبكر لجنين الثدييات:

بويضات الثدييات تعد من أصغر البويضات، وذلك لوجود المشيمة أثناء التكوين الجنيني. الفترة الوحيدة التي تمضيها البويضة مستقلة هي مرحلة التفلق في قناة البيض وقبل الانغراس في بطانة الرحم، المفلجة تتكون من أ-النسيج الغذائي (Trophoblast) الذي سوف يكون الخلايا التي تغزو بطانة الرحم ويشارك في تكوين المشيمة، ومن ب-كتلة الخلايا الداخلية (Inner Cell Mass ICM) التي سوف تعطي جسم الجنين (٣ خلايا من ٣٠ تكون جسم الفار) وبعض الأغشية الجنينية الإضافية والتفلق في الثدييات يختلف عن غيره من حيث الوقت والطريقة.

١- التكوين الجزيئي لبويضات الثدييات:

بويضات الثدييات لا تحتوي على كمية كبيرة من المح (قليلة أو نادرة المح)، تدخل البويضات مرحلة الزيادة في الحجم أثناء النصف الأول لنمو الخلايا الحويصلية

حيث يتم نسخ الجينات النووية خلال فترة النمو السيتوبلازمي منتجاً بذلك تجمع من الأحماض الريبوزية (الرنا) (mRNA, rRNA) لها علاقة بأنزيمات بلمرة الأحماض الريبوية (الرنا) ١، ٢ (RNA polymerase I, II) أثناء مرحلة النمو الكامل لا يتم تصنيع الأحماض الريبوزية (rRNA).

إن في القوارض معظم الأحماض الريبوزية الريبوسومية (rRNA) حديثة التحضير تتجمع في مادة بروتينية تسمى الشبكات السيتوبلازمية (Cytoplasmic latic) وفي الأنواع الأخرى لم يلاحظ أشكال ريبوسومية مخزنة، هذه الأشكال الريبوسومية تتفكك بعد الإخصاب ولا تساهم في تصنيع البروتين، الأحماض الريبوزية المرسلة (mRNA) تشكل ١٠٪ من مجموع الأحماض تكون ثابتة وتخزن في السيتوبلازم، أنماط تصنيع البروتين تتغير تبعاً لمراحل نمو البويضة كمثال بويضة الفأر تصنع غشائها الشفاف من ٣ بروتينات سكرية كبريتية (Sulfated glycoprotein) والبروتينات الأخرى، مرتبطة مع مقدرتها على استئناف الانقسام الاختزالي عند مرحلة النضوج. أشكال الأيض أيضاً تتغير أثناء مرحلة النمو فهي تفتقد مقدرتها على إنتاج ثاني أكسيد الكربون (CO₂) الناتج من أيض الجلوكوز واللاكتيت، في حين أنه يزداد من البيروفيت فهو المصدر الرئيس للطاقة عند مرحلة النضوج للبويضة وفي اللاقحة.

٢- مرحلة النضوج (استئناف الانقسام الاختزالي):

تحصل مرحلة النضوج عند وقت التبويض تحت تأثير هرمونات أ- من أسفل قاع المخ منطقة سرير المهاد (Hypothalamus) (الهرمون المطلق لهرمونات المناسل من الغدة النخامية (Gonadotrophic Rleasing hormone GnRH)، ب- ومن هرمونات الغدة النخامية المحفزة للمناسل (LH, FSH) .

١- تدفق سريع في (Ca⁺⁺) وانخفاض في أحادي فسفات الادنين (cAMP) في البويضة.
٢- يتبعه إزالة لفسفرة بروتينات النضوج.

٣- تجمع العوامل المثبطة للانقسام (Meiosis Preventing Factor MPF).

٤- تحطم الحويصلة الجرثومية (Germinal vesicle break down GVBD).

٥- تكثف الكروموسومات ناتجة عن زيادة نشاط أنزيم البروتين كينيز. (PK).

فالتحفيز للنضوج لا يتم مباشرة إنما عن طريق الخلايا الحويصلية، فالبيوضات المحاطة بالخلايا الحويصلية تمنع من الدخول في مرحلة النضوج بسبب المثبطات الموجودة بالسائل الحويصلي، فهي تحافظ على مستوى عالٍ من أحادي فوسفات الأدينين الدائري أو الحلقي (cAMP) الذي يكون مسئول عن تنشيط بروتينات النضوج؛ لذلك فإن استئناف الانقسام الاختزالي في البويضة الابتدائية يعتمد على انطلاق هذه المثبطات الأمية التي تبدأ بانطلاق هرمون الغدة النخامية المكون للجسم الأصفر (LH).

لقد أوضحت دراسات بان أحداث من النسخ المبكرة مطلوبة لاستئناف الانقسام الاختزالي فالألفا امين (α -Amintation) من المعلوم أنه يشبط نشاط انزيمي البلمرة أو التشكل للحمض الريبوزية (الرنا) رقم ٢، ٣ (RNA Polymerase II,III)، ويشبط تكسر الحويصلة الجرثومية وذلك إذا تمت إضافته مباشرة بعد انطلاق البويضة من خلاياها الحويصلية (لكن ليس فيما بعد). فالتشيط المبكر لتحضير الحمض الريبوزي المرسل (الرنا الرسول) (mRNA) أيضًا يحبط التغيرات النوعية في تصنيع البروتينات الذي يحصل أثناء مرحلة النمو، وهذا يدعم الرأي بأن البروتينات المحضرة حديثًا تساهم بشكل نشط في استئناف الانقسام الاختزالي، عند بداية النضوج؛ لذلك فهي تترجم الأحماض الريبوزية المرسل (mRNA) الحديثة، من هذه البروتينات الحديثة المستونات المفسفرة والتي تهجر للنواة لتشكيل عوامل تكثف المادة الكروماتينية وبروتينات متأخرة من اختلاط بلازما النواة مع السيتوبلازم.

٢- الخصائص الحيوية للحيوانات المنوية:

أ) تحديد جنس الذكر: Male Sex Determination:

كما هو معلوم فإن الكروموسومات الجنسية (Y,X) هي التي تحدد الجنس وكل حيوان منوي يحمل أحد هذه الكروموسومات الجنسية (Y او X) عندما يخصب

البويضة أحدها يحدد جنس الجنين (Y يعطى ذكر، X يعطى أنثى) والتي على أثرها أيضًا تتكون المناسل، ففي الجنين الذكر وجود العامل محدد الذكورة وهو جين منظم فقط موجود على الكروموسوم وأي Y (Testicular Determination located in Y Tdy) بالإضافة إلى العوامل الموجودة على الكروموسومات الجسدية، وبروتين الأنتيجن أو مضاد الكروموسوم واي Y (H-Y Antigen) والذي يتواجد منذ طور ٨ خلايا على سطح الخلايا جنين الفأر الذكر.

التحول الخصوي: يعتمد على نوعين من الهرمونات الجنينية:

- ١ - مضاد لقناة ميليرين (MIF) (Miillerian inhibiting factor).
- ٢ - العوامل المحددة للذكورية (Tdy) تبقى على قناة وولف وملحقاتها وتنشئ تكوين الأعضاء التناسلية الخارجية الذكورية، وتميز الخلايا الجنسية داخل المناسل ودخولها الانقسام الاختزالي أو عدمه يعتمد على مادتين، في منسل الجنين الذكر توجد مادة مانعة لدخول الانقسام الاختزالي (MPS) Meiosis Preventing substance من الحبال الجنسية (Sex cords)، بينما في حالة عدم وجود الحبال الجنسية فإن المنسل (المبيض) يفرز مادة محفزه لدخول الانقسام الاختزالي (MIS) (Meiosis inducing substance).

ب) الحيوانات المنوية في الثدييات من الخصية إلى الإخصاب:

تكوين الحيوانات المنوية من أمهات المنى إلى الحيوانات المنوية (Spermatogenesis) تشمل عدة انقسامات مباشرة ثم الانقسام الاختزالي، يتبعها محور الطلائع المنوية (Spermiogenesis) من الشكل الكروي إلى شكل الحيوان المنوي، فالحيوانات المنوية المأخوذة من الخصية لا تكون قادرة على الإخصاب فهناك مرحلتين يتم فيها النضوج النهائي للحيوانات المنوية:

- ١ - عند انتقال الحيوانات المنوية عبر البربخ، ٢ - في الجهاز التناسلي للأنثى تكتمل زيادة القدرة الإخصابية للحيوانات المنوية (أو التمكين) (Capacitation).

١- نضوج الحيوانات المنوية في البربخ:

تفرز من طلائية البربخ مواد مسئولة عن نضوج الحيوانات المنوية داخل البربخ والتي تحفز بواسطة هرمون التستاسترون (T) مما يؤدي إلى زيادة تحضير الأحماض النووية الدنا والرنا (DNA, RNA) وتصنيع البروتين، تمتد رحلة الحيوانات المنوية داخل البربخ لمدة أسبوعين تقريباً في الثدييات، يتم فيها التعرف على الحيوانات المنوية / وتغير في الشحنات السطحية / واختزال في المجموعات الكبريتية المائية (Sulphydral)، وتغير في المحتويات الدهنية وفي نشاط انزيم ثلاثي فوسفات الأدينين (ATPase) للغشاء الخلوي وظهور المستضدات (Antigens)، بالإضافة إلى التحول في الأيض التأكسدي إلى تفاعل تحليل السكر ويستخدم سكر الفركتوز، والهدف الرئيس لهذه العملية هي الإذعان لحركات الذيل التي يزداد نشاطها عبر البربخ، ثم تطلي الحيوانات المنوية ببروتينات السائل المنوي والذي يفرز من الغدد التناسلية البروستاتا والحويصلة المنوية قبل خروجها من الجسم، بذلك تكون الحيوانات المنوية قادرة على الحركة بشكل أسرع.

ج) زيادة القدرة الإخصابية (التمكين): Capacitation :

خاصية زيادة القدرة الإخصابية للحيوانات المنوية اكتشفت بواسطة اوستن وشانج ١٩٥١م (Austin and Chang) حيث يحصل لها تغيرات فسيولوجية، هذه التغيرات الفسيولوجية تعد الحيوانات المنوية لتفاعل قمة المنية وتشتمل على:

أ- تغير في النمط الحركي (بشكل تقدمي) النشاط الزائد لذيل الحيوان المنوي، وهناك عامل حركي وهو حمض أميني بيتا (Motility factor) التيورين والهيبوتيورين (Taurine and Hypotaurine) يوجد بتركيز عالية في الذكر والأنثى.

ب-العامل الثاني مسئول عن تفاعل قمة المنية وهو ألبومين مصل الدم (Serum Albumin) يزداد نشاطه بزيادة نشاط الأحماض الأمينية المحورة (Catecholamine).

مراحل زيادة القدرة الإخصابية أو التمكين:

إزالة أو تحوير الغطاء السطحي للحيوان المنوي (إزالة الحويصلات البروتينات الدهنية عندما تعزل من السائل المنوي؛ لأنها تعكس كل العملية وتسمى بمزيله التمكين (Decapitation factor DCF)، لكي يتم الالتحام النهائي بين (غشاء الحيوان المنوي والغشاء الخارجي لقمة المنية) في الحيوان المنوي، وتفاعل قمة المنية تؤكد أن تدفق أيونات الكالسيوم تساهم في ذلك، حيث تدخل الفراغ بين غشاء البلازما والغشاء الخارجي لقمة المنية، وتنشط أنزيمات الدهون الفوسفاتية (Phospholipases) وانطلاق أحماض دهنية وأنزيم محلل الدهون الفوسفاتية (Lysophospholipids)، مثل هذه الإزالة للدهون تحبذ التحام الغشائين وانطلاق أنزيمات قمة المنية، مثل الهيلورنديز (Hyaluronidase) والذي يمكن الحيوان المنوي من عبور الأغشية حول البويضة كخلايا الركامية، والأكروسين (Acrosin) أنزيم شبيه بالترسين يعمل على ارتباط الحيوان المنوي بالغشاء الشفاف، اختراق الغشاء الشفاف يتم بواسطة أنزيم الأريل سلفاتيز (Arylsulfatase) وبيتا - ن - استيل سداسي الامينيديز (β-N-acetylhexosaminidase) والهايلورنديز، وارتباط الحيوان المنوي بالغشاء الشفاف يكون عن طريق بروتين الغشاء الشفاف رقم ٣ (ZP3).

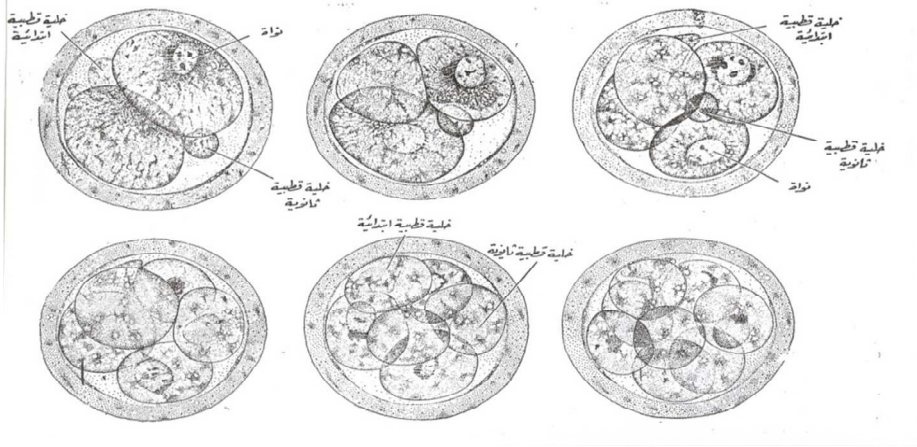
التفلج وتكوين المفلجة والتبطين في الثدييات:

التفلجات الأولية في جنين الثدييات: شكل (٦، ٩)

على الرغم من أن بويضة الثدييات تعد من البويضات نادرة المح نظرًا لكون طبيعة تكوين أجنيتها تعتمد طوال فترة حياتها الجنينية على الأم فهي لا تحتاج المح،

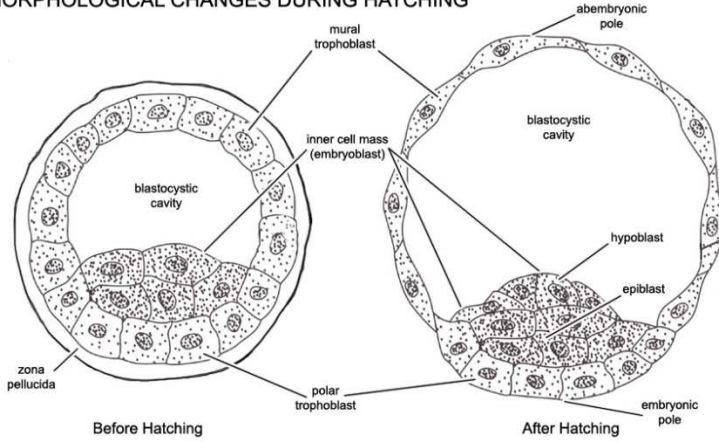
الفترة الوحيدة التي تبقى فيها البويضة المخصبة حرة هي داخل قناة البيض حيث تعتمد على المخزون الجزيئي الذي تم تكوينه فيها قبل خروج البويضة من المبيض، إن التفلج في بويضة الثدييات يعد بطيء مقارنة بالكائنات الحية الأخرى، فالتفلج الأول للبويضة المخصبة داخل قناة البيض يأخذ ٢٤ ساعة تقريباً لينتج طور الخليتين، والتفلج فيها من النوع المتعاقب (Rotational cleavage) أي التفلج الثاني يكون عمودي على التفلج الأول، وتبدأ إحدى الفلجتين بالتفلج قبل الأخرى، ثم تنقسم الفلجة الأخرى لينتج طور الأربع خلايا ويستغرق ١٢ ساعة، وقد وجد من خلال التجارب أن الخلية الأولى التي تبدأ بالانقسام من طور الخليتين سوف تكون خلايا النسيج الغذائي (أي لا يتكون منها جسم الجنين)، فقد تمت تعليم الفلجات طور الخليتين (A,M) والفلجة التي انقسمت قبل الأخرى (M,V)، ثم تم فصل الفلجات الأربع ومتابعة نموها لكي تكون المفلجة فقد وجد أن الفلجة الأولى التي تفلجت وكونت الخلية البطنية (V)، عند تمنيتها أو دمجها مع بعض أي من النوع نفسه فإنها في الغالب لا تكون أجنة وتموت بعد تكوين المفلجة في حين أن الفلجات الظهرية (A,M) عند تنمية كل نوع من الفلجات مع بعضها فإنها في الغالب تنمو لطور المفلجة وتكون أجنة حية فيما بعد شكل (٧، ٩) (وهذا قد يكون المفسر لماذا لا تنمو معظم الاجنة أو تتوقف معظمها عند تمنيتها خارجياً في الطبقة ولا تصل إلى طور المفلجة إلا القليل منها، بعد طور الأربع خلايا تنقسم الفلجات لتكون طور ٨ خلايا ب تقريباً وهي تقريباً متساوية الحجم عد ٤٨ ساعة من الإخصاب. خلال نهاية هذا الطور ونتيجة لوجود الفلجات داخل حيز الغشاء الشفاف تبدأ بينها ظاهرة الالتزاز (Compaction) بين الفلجات حيث تلتز الفلجات المتقاربة وتصبح كأنها ملتصقة جهة أغشيتها المتقابلة مع بعضها البعض، بينما غشاء الفلجات المواجه للغشاء الشفاف تبدو مستديرة شكل (٨، ٩)، تستمر الفلجات في الانقسامات الخلوية لنتج طور ١٦ فلجة، ثم تصل طور ٣٢ فلجة بعد تقريباً ٧٢ ساعة من الإخصاب، بعدها تتحول إلى طور التوتية التي

تشبه ثمرة التوت أو الموريولا (Morula)، ثم تنقسم الخلايا ويبدأ يتكون بين الخلايا فراغ لينبيء عن بداية تكوين المفلجة أو البلاستولة التي تحتوي على تجويف المفلجة أو البلاستولة (Blastocoel) يحصر في أعلاه مجموعة من الخلايا تعرف بكتلة الخلايا الداخلية (ICM) (التي سوف يتكون منها جسم الجنيني)، ويحيط بها وبالتجويف خلايا النسيج الغذائي، (أصله تكون من أول فلجة انقسمت من طور الخليتين)، النسيج الغذائي للمفلجة (Trophoblast) يعمل على تغذية الجنين وانغراسه في بطانة الرحم كما يعمل على المساهمة في تكوين المشيمة فيما بعد مع بطانة الرحم ويحيط النسيج الغذائي بكتلة الخلايا الداخلية (ICM) (Inner Cell Mass) التي تأخذ موقعا جانبياً في المفلجة، تتعلق أو تنغرس المفلجة ببطانة الرحم الداخلية من خلال النسيج الغذائي.

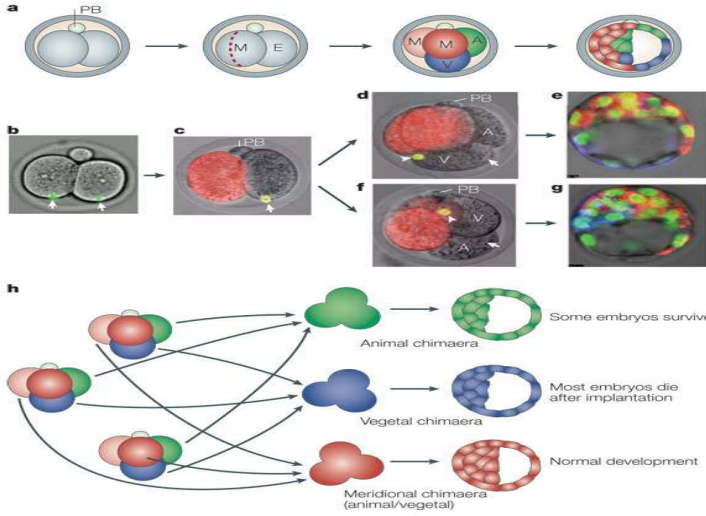


شكل رقم (٦، ٩ أ). رسم لمراحل التفلق الأولية لجنين الثدييات: طور الفلجتين محاطة بالغشاء الشفاف، ثم طور ٤ فلجات، يليه طور ٨ فلجات، ثم طور ١٦ فلجة، بعده طور ٣٢ خلية، ثم طور التوتية او (Morula). من الشبكة العنكبوتية.

MORPHOLOGICAL CHANGES DURING HATCHING

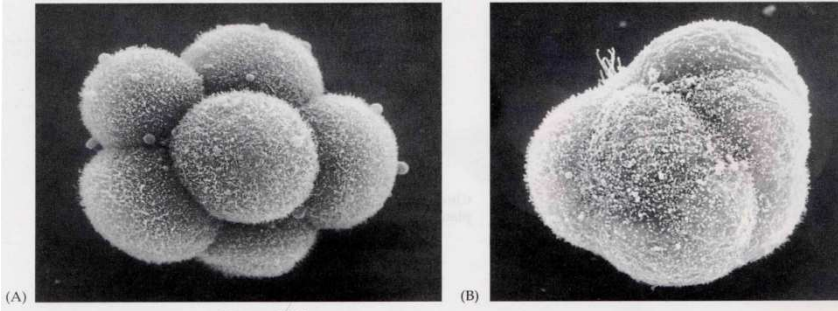


شكل رقم (٦, ٩ب). رسم لمكونات وتغير المفلجة او البلاستولة لجنين الثدييات قبل خروجها من الغشاء الشفاف وبعد فقسها وخروجها من الغشاء الشفاف (Zona Pullucida). (من الشبكة العنكبوتية)



Copyright © 2005 Nature Publishing Group
Nature Reviews | Molecular Cell Biology

شكل رقم (٧, ٩). رسم لمخطط تنمية الفلجيات الاربع (A,M,MV) الناتجة من التفليج الثاني (A.M) فزراعة كل نوع من الفجات مع بعضها (نفس اللون): فالخلايا الجانبية (اللون الاخضر A) يمكن ان تستمر وتعطي اجنة، الخلايا السفلية (اللون الازرق V) عند دمجها مع بعض اغلبها لا تنمو وتموت بعد الانغراس، اما الخلايا الوسط (اللون الاحمر M) فاغلبها تنمو وتعطي اجنة. (من الشبكة العنكبوتية)



شكل رقم (٨، ٩). صورة بالمجهر الإلكتروني الماسح لطور ٨ فلجات توضح ظاهرة الالتزاز للخلايا خلال هذه المرحلة قبل الالتزاز ثم بعد الالتزاز لخلايا جنين الفار. (من الشبكة العنكبوتية)

عملية التبطين في جنين الثدييات: شكل (٩-٩):

تمثل عملية التبطين في جنين الثدييات طريقة التبطين في جنين الطيور حيث تبدأ عملية التبطين وتكوين الطبقات الجنينية الثلاث عن طريق انغماد الخلايا السطحية أو الخارجية (الأكثوديرم) من خلال ميزاب الخط البدائي (Primitive streak) للجنين لتكون الطبقة المتوسطة أو الميزوديرم، بينما تتميز على السطح الداخلي لكتلة الخلايا الداخلية المواجهة لتجويف المفلجة طبقة من الخلايا المنبسطة تمثل بداية ظهور الطبقة الداخلية (الأندوديرم) التي تكون في البداية مقصورة على السطح السفلي فقط لكتلة الخلايا الداخلية ثم لا تلبث أن تنتشر وبسرعة ملحوظة كي تبطن الجدار الداخلي للحويصلة الجرثومية برمته، ثم بعد ذلك تنغمد الخلايا من منطقة عقدة هنسن لتكون خلايا الحبل الظهري في الجنيني الذي يعمل على تحفيز خلايا السطحية التي تعلوه لتكون الأنبوبة العصبية فيما بعد.

التكوين الجزيئي لفترة ما قبل الانغراس أثناء التفليج: Molecular of Pre-implantation:

كما في البويضات الأخرى تستيقظ البويضة المخصبة وتدخل مرحلة التفليج لكن ببطء مقارنة بالبويضات الأخرى كالبرمائيات أو الطيور، فهي تأخذ ٣ أيام حتى تصل الدورة الخامسة للانقسام، تتميز التوتية إلى مفلجة عندما تنجز معظم

خلاياها الدورة الخامسة للانقسام أي عندما تكون في طور ٣٢ خلية، تتميز الدورات الخلوية للأجنة الثدييات قبل الانغراس بقرب فقدتها للمرحلة الفاصلة الأولى (G1) وبطول ٦-٧ ساعات لمرحلة تصنيع الحمض النووي (S phase DNA)، الأنزيمات الخاصة بتصنيع الحمض النووي تكون نشطة في جميع المراحل قبل الانغراس مثل أنزيم المشكل للحمض النووي الفا (DNA Polymerase- α)، إذ يبقى ثابتاً من طور الخلية حتى طور ٨ خلايا بعدها يزداد عدة مرات، كذلك أنزيم إصلاح الحمض النووي-بيتا (DNA Polymerase- β)، ولا تزداد الأجسام السبحية أو الميتوكوندريا ولا حمضها النووي خلال هذه الفترة.

Diagram I

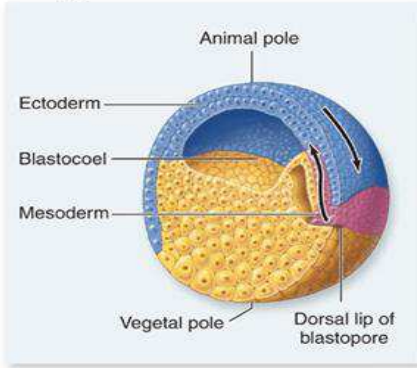
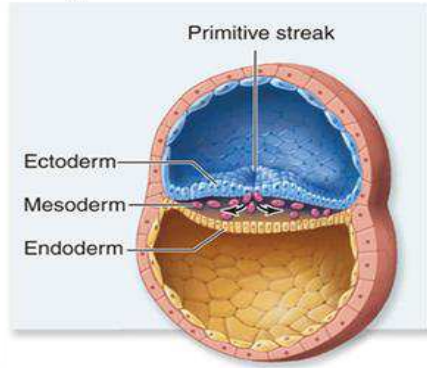
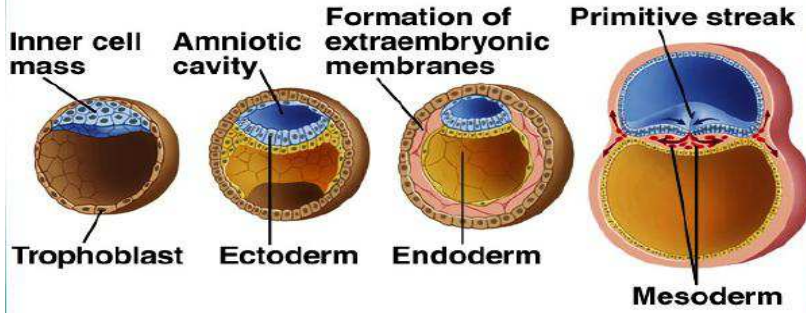


Diagram II



شكل رقم (٩, ٩ أ). أ-رسمه مقارنة بين عملية التبطين (وهجرة الخلايا السطحية حسب الأسهم، فالشفة الظهرية لجنين الضفدعة بإثلاثها الخط البدائي بجنين الثدييات)، أو بداية تكوين الجاسترولة والطبقات الجنينية الثلاث ١- الطبقة الخارجية أو الاكتوديرم (اللون الأزرق) ٢-المتوسطة أو الميزوديرم (اللون البنفسجي عند الأسهم) ٣- الطبقة الداخلية أو الاندوديرم (اللون الاصفر) في جنين البرمائيات (I) وجنين الثدييات (II). (من الشبكة العنكبوتية)

Gastrulation — Mammal



(ب) رسم يوضح عملية التبطين وتكوين الطبقات الجنينية الثلاث لجنين الثدييات عند تحول البلاستولة الى جاسترولة (Gastrulation): الطبقة الخارجية (الانودوديرم اللون الأزرق) الطبقة المتوسطة (الميزوديرم) الطبقة الداخلية (الاندوديرم اللون الأصفر). لا حظ زحف خلايا الطبقة الخارجية للأعلى والطبقة الداخلية للأسفل لتكوين الاغشية الجنينية. (من الشبكة العنكبوتية)

تظهر البويضات المخصبة والمتفلجة نشاط لأنزيم المثلين والذي يعمل على إضافة الميثيلين لبقايا السيتوسين والنتيجة هي كبح المادة الوراثية للفيروس إذا تم حقنة داخل طور اللاحقة أو التوتية للفأر، عملية إضافة الميثيل للحمض النووي الدنا (DNA) مرتبطة بالتعبير الجيني لكثير من الأجهزة الحيوية وهي إحدى الآليات للتحكم الجيني المبكر، فعملية إضافة المثلين للنسيج الغذائي لمفلجة الأرنب تكون ضعيفة جدًا مقارنة بكتلة الخلايا الداخلية (ICM)، البويضات المخصبة بها أحماض ريبوزية الرنا RNA كثيرة مخزنة خلال تكوين البويضات للأحماض الريبوزية الريبوسومية (rRNA) وتشكل ٧٥٪ منها.

نتيجة للإخصاب يحدث تغير كمي ونوعي في تصنيع البروتين أثناء الدورة الخلوية الأولى وتكون النتيجة ترجمة الأحماض الريبوزية المرسلات الأمية (MmRNA) فكل الأحماض الريبوزية تقل عند الإخصاب، والتكوين الجزيئي والتمايز الظهري يبدو محكوم بالساعة الحيوية.

وعملية انغراس الجنين (Implantation) تبدأ بغزو خلايا النسيج الغذائي للمفلة، حيث تغزو خلايا الطبقة الخارجية لنسيج الرحم وفي حوالى اليوم الثاني عشر لجنين الإنسان مثلاً تنظمر المفلة (البلاستولة) تماماً داخل بطانة الرحم وفي خلال الأسبوع الثاني يتميز في كتلة الخلايا الداخلية للجنين طبقتين العلوية (Epiblast) والسفلية (Hypoblast) أو الطبقة الخارجية الأكتوديرم والداخلية الأندوديرم، يظهر خلال الأسبوع الثالث لجنين الإنسان تكوين الخط البدائي (Primitive streak) وبالطريقة نفسها التي يتكون فيها الميزوديرم أو الطبقة المتوسطة في جنين الطيور يتكون بها جنين الثدييات، بزحف الخلايا السطحية عبر ميزاب الخط البدائي وبذلك تتكون المبطنة أو الجاسترولة قد اكتمل بتكوين الطبقات الجنينية الثلاث.

المراحل المبكرة بعد الإنغراس Early post implantation stage

معظم المعلومات التي تتعلق بالمراحل المبكرة بعد الإنغراس جاءت من الدراسات التي أجريت على الفار (لا يمكن تعميمها)، كما هو معلوم فإن المفلة أو البلاستولة في الثدييات تتكون من النسيج الغذائي وكتلة الخلايا الداخلية وبها تجويف المفلة.

تمايز خلايا النسيج الغذائي : Trophoctoderm differentiation :

النسيج الغذائي يتكون من نوعين: شكل (٩-١٠):

١ - النسيج الغذائي الجداري (Mural Trophoblast MT) تحت كتلة الخلايا الداخلية ICM.

٢ - النسيج الغذائي القطبي (Polar Trophoblast PT) فوق كتلة الخلايا الخلية ICM خلايا النسيج الغذائي الجداري (MT) تتمايز بتضاعفها الداخلي المتكرر للحمض النووي (DNA) وإنتاج الأنزيمات (5-3 Hydroxysteriod dehydrogenase -HSD) والبروتيز ومنشط البلازموجين.

خلايا النسيج الغذائي القطبي: (PT) والتي تغطي كتلة الخلايا الداخلية (ICM) تنمو على شكل قمع مشيمي خارجي (Ectoplacental cone EPC) وطبقة خارجية (أكتوديرمية) جنينية إضافية (Extraembryonic ectoderm Ex Ec).

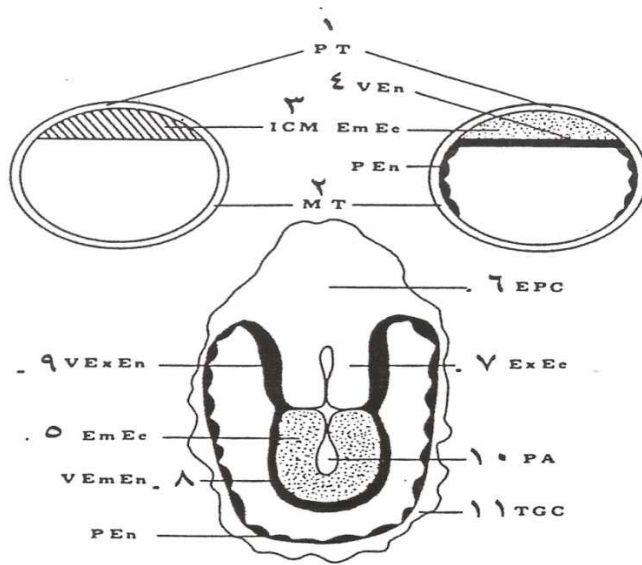
تجارب قاردنر (Gardner) أوضحت أن حقن خلايا النسيج الغذائي في مفلجة أخرى لا تشارك في تكوين جسم الجنين بل في تكوين خلايا النسيج الغذائي في حين أن حقن كتلة الخلايا تساهم في تكوين جسم الجنين الخليلط، وقطع المفلجة إلى نصفين عبر خط المحور الإستوائي للمفلجة فإن النصف الذي يحتوي على كتلة الخلايا الداخلية يكون جنيناً بينما النصف الآخر الذي يحتوي على النسيج الغذائي فقط لا يكون جنين، لكن عند قطع المفلجة على المحور الطولي إلى جزئين بحيث يحتوي كل جزء على خلايا نسيج غذائي وجزء من كتلة الخلايا الداخلية فإن كل جزء يكون جنين شكل (٩-١١).

كتلة الخلايا الداخلية (ICM): تتمايز كتلة الخلايا الداخلية إلى طبقتين: شكل (١٠, ٩) أ (الطبقة العلوية (Epiblast): تكون خلايا الجنين وخلايا الطبقة الجنينية المتوسطة أو (الميز وديرم) الإضافي (Extra embryonic mesoderm Ex Em Mes).

ب) الطبقة السفلية (Hypoblast): تكون المنطقة المحيطة بكيس المح (Yolk Sac) الطبقة الداخلية (الأندوديرم) الجنينية الإضافية (Extra embryonic endoderm Ex Em En)،

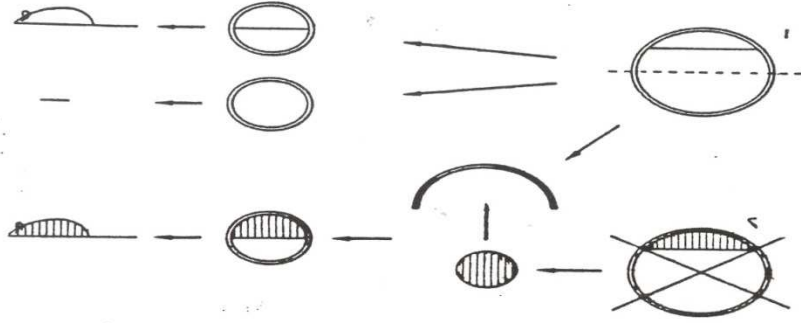
تمتد خلايا الطبقة الداخلية (الأندوديرمية) على خلايا النسيج الغذائي من الداخل لتكون الخلايا الجدارية الداخلية (الأندوديرم الجداري) (Parietal endoderm) الذي يبطن النسيج الغذائي الجداري تفرز خلاياها منشط انزيم البلازموجين-٤ مع بروتين غشائي سكري (Lamini and Type IV Procollagen)، بينما التي لا تزال على اتصال بالطبقة العلوية وتحيط بكيس المح تكون الطبقة الحشوية الداخلية (الأندوديرم الحشوي) (Vesicera IEmbryonic Endoderm V Em En)، تنقسم هذه الطبقة الحشوية (الأندوديرم الحشوي) إلى طبقتين:

- ١ - الطبقة الحشوية الداخلية الإضافية (Extra embryonic endoderm, Ex Em En)
 - ٢ - والطبقة الحشوية الداخلية (Vesiceral Em. Endoderm, V Em En) التي تكون غشاء قاعدي رقيق غنية بالأكتين الليفى (Fibronectin) والبروتين الجنيني ألفا (α Fetoprotein) وبروتين شبيهه بالألبومين.
- وقد تم دراسة الآليات الجزيئية التي تتحكم في نسخ الجين أثناء تمايز الطبقة الداخلية الحشوية والجدارية عن طريق الخلايا الجنينية السرطنة (Tetracarcinoma). كما أمكن الكشف عن خلايا الأجنة المدمجة من فأرين (Mus- musculus, Mus- caroli) لكي يمكن تتبع خط خلايا الجنين بدقة.



شكل رقم (١٠، ٩). رسم لتكوين الاغشية الجنينية في جنين الثدييات من طور المفلجة إلى طور المبطنة. (١)- الطبقة السطحية للنسيج الغذائي (PT)، (٢)- الطبقة السفلية للنسيج الغذائي (MT)، (٣)- كتلة الخلايا الداخلية (ICM)، (٤)- الطبقة الداخلية الحشوية (VEn)، (٥)- الطبقة الداخلية الجدارية (EmEc)، (٦)- قمع المشيمة الخارجية (EPC)، (٧)- الطبقة الجنينية الخارجية الإضافية (ExEc)، (٨)- الطبقة الداخلية الحشوية للجنين (VEmEn)، (٩)- الطبقة الداخلية الحشوية الإضافية (VExEn)، (١٠)- تجويف أرهل الأولي (PA)، (١١)- خلايا النسيج الغذائي

العملاقة (TGC). من كتاب: Brachet; and Alexander (1988).



شكل رقم (١١، ٩). رسم لقطع النسيج الغذائي وتنميته لوحدة لا يكون جنين بنتها وضعه مع كتلة خلايا لجنين آخر يختلف عنه في الصبغات يوضح أنه لم يُكوّن أي جسم الجنين بل تكون الجنين من كتلة الخلايا الداخلية فقط (الجزء المخطط). من كتاب (Brachet; and Alexander (1988)

كبح الكروموسوم الجنسي (X) في الثدييات Inactivation of X Chromosome

لقد اكتشفت الباحثة ميري ليون (M.Lyon) عام ١٩٦١م أن أحد الكروموسومين الجنسيين (X) في خلايا الأنثى يتم تثبيطه في مراحل مبكرة من النمو الجنيني، ويبدو كبقعة تأخذ الصبغة في الخلية تعرف بجسم بار (Barr-body)؛ لذلك أمكن الاستفادة منه للكشف عن جنس خلايا الجنين إذا لا تظهر الخلايا الذكرية (جسم بار)، بينما الخلايا الأنثوية تظهر جسم بار، والكبح يكون نتيجة لإضافة المثلين للكروموسوم الجنسي (X) في خلايا الجنين الأنثى (Hypermethylation)، كلا الكروموسومين الجنسيين (XX) يكونا نشيطين في البويضة المخصبة حتى طور التوتية ثم يكبح أحدهم فيما بعد، يحصل الكبح لأول مرة في طور المفلجة في خلايا النسيج الغذائي، والكبح يحصل مرة أخرى في الطبقة الجنينية الإضافية الداخلية (Ex,Em,En)، والخلايا التناسلية الجنينية هي آخر من يحصل لها الكبح للكروموسوم الجنسي (X) لكن ينشط عند الانقسام الاختزالي.

كما يمكن الكشف عنه بواسطة تجارب فحص الأنزيمات والتي تشفر لها

جينات توجد على الكروموسوم الجنسي (X) مثل الكشف عن أنزيم Hypoxanthine Adenine Phosphoribosyl transferase HPRT). وأنزيم (Phosphoribosyl transferase HPRT). (APRT).

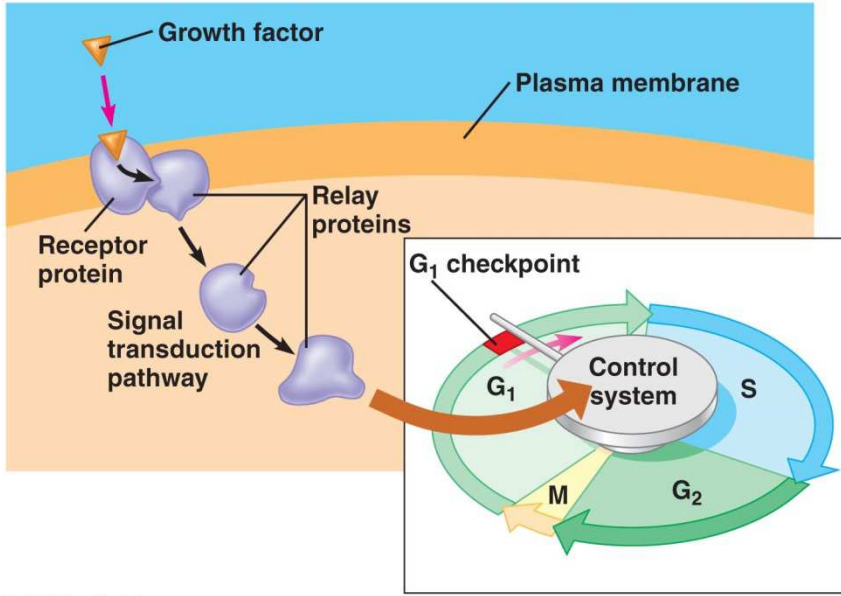
لكن هذه التجربة لم تظهر أي الكروموسومين الجنسيين (XX) الأمي أو الأبوي حصل له الكبح، طريقة الرحلان الكهربائي ثنائية الصنف (Two electrophoretic variants) للشفرة الموجودة على الكروموسوم الجنسي (X) الخاصة بأنزيم الفوسفورنيت كاينيز (PGK -1A and PGK-1B) جعلت من الممكن التمييز بين آليات أجنة الفئران الأنثوية الخليطة فقد وجد أن في النسيج الغذائي يتم كبح الكروموسوم الجنسي الأبوي (X) بينما في كتلة الخلايا يكون الكبح للكروموسوم الجنسي عشوائيًا بين الأمي أو الأبوي.

عوامل النمو

Growth Factors

عوامل النمو (Growth factors) في الأجنة عبارة عن بروتين يتم إنتاجه من النسيج الحاث إلى النسيج المستجيب ليرتبط بالمستقبل الخاص به على أغشية النسيج المستجيب ليحثه على التكاثر أو التمايز الخلوي أو لأداء وظيفة معينة خاصة بالنسيج أو العضو سواء في المرحلة الجنينية أو في حالة الكائن الحي مثل التحكم في التكاثر الخلوي شكل (١, ١٠)، وهذه العوامل لا شك أن تتكون عن طريق الجينات النشطة في الحمض النووي في الخلايا المعينة التي بدورها يحصل لها نسخ من الحمض النووي الدنا (DNA) إلى الحمض النووي المرسل الرنا (mRNA) في النواة، ثم الحمض النووي المرسل يحصل له ترجمة في السيتوبلازم عن طريق القراءة التي تجربها الريبوسومات لكي ينتج عامل النمو أو البروتين المعين، وقد وجد أن الجنين يحتوي على بعض العوامل التي تكاد تكون متشابه بين الأنواع المختلفة لعمل التحفيز والتمايز الخلوي لخلايا الأجنة، فمثلاً العامل الذي يحفز تكوين العين في ذبابة الدوروسفيل أو القلب أو مثل العوامل التي تتحكم في محور الجسم في حشرة الدوروسفيل هي نفسها في الثدييات شكل (٢, ١٠)، وهناك عدة عوامل وكل عامل مختص بخلايا معينة في الجنين، وهذه العوامل إما ذات تأثير موضعي أي تؤثر في المنطقة نفسها التي أفرزت فيها، أو ذات تأثير غير موضعي أو بعيد أي تفرز من خلايا ثم تنتقل عبر تيار الدم إلى نسيج أو عضو آخر فتحفزه أما

للتمايز الخلوي أو لأداء وظيفة معينة مثلها مثل تأثير الهرمونات، أول هذه العوامل التي اكتشفت هو عامل نمو الخلايا العصبية (Nerve Growth factor NGF) عام ١٩٥٦م عن طريق العالم فيكتور هامبرق.

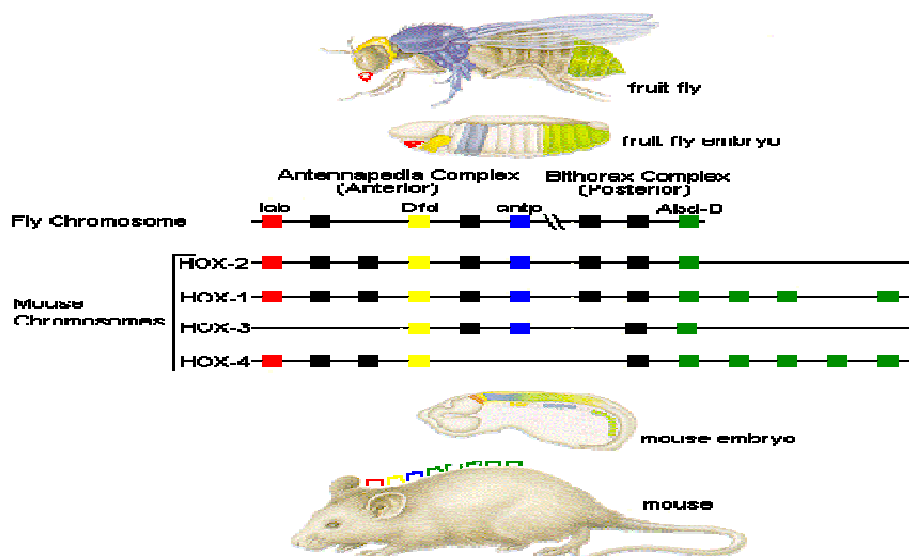


شكل رقم (١٠، ١). رسم يوضح الية تأثير عامل النمو على الخلية عن طريق الارتباط في مستقبل له على سطح الخلية فيحفز فيها نشاط معين كالتحكم في دورة الخلية وتكاثر او انقسام الخلية. (من الشبكة العنكبوتية)

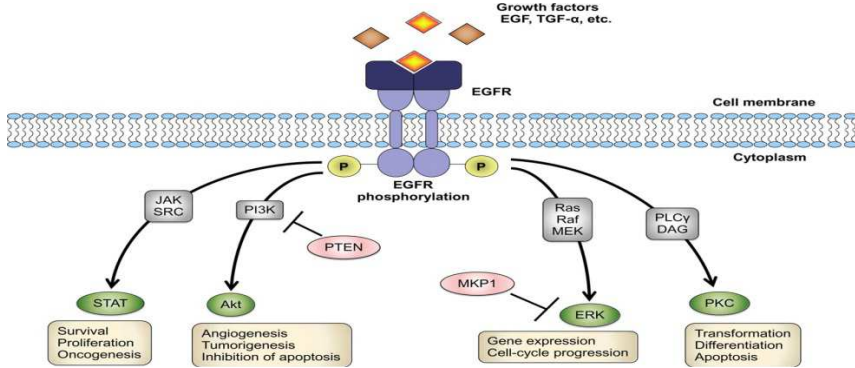
كيف تؤثر عوامل النمو:

يرتبط عامل النمو بالمستقبل على غشاء الخلية، هذا الارتباط ينشط أنزيم البروتين كيناز (Protein Kinase(PK) مما يؤدي إلى إضافة الفوسفور لكثير من البروتينات داخل الخلية. وأحياناً هذا الارتباط بين عامل النمو والمستقبل له يعمل على تنشيط بروتين غشائي آخر (G-Protein) هذا البروتين ينشط أنزيم الدهون الفوسفاتية (Phospholipase) الذي يشطر جزئي الفوسفات في غشاء الخلية إلى

جزيئين: أنسيتول (IP2) وجليسيرول Diacylglycerol (DAG) و Inositol triphosphate (IP2) يعمل على انطلاق أيونات الكالسيوم من الشبكة الأندوبلازمية، والجليسيرول (DAG) يعمل على تنشيط البروتين كينيز سي (PKC)، هذه النواتج لها تأثيرات عديدة داخل الخلية فقد تعمل على تمييز الخلية أو نسخ أحماض نووية خاصة بالنسيج المتميز أو تنشيط ترجمة أحماض نووية مثبطة في السيتوبلازم للخلية، أو تغير في شكل وهيكل الخلية أو انقسام الخلية وغيرها من التأثيرات الخلوية الأخرى شكل (٣، ١٠).



شكل رقم (٢، ١٠). عوامل النمو المختلفة تتحكم بها جينات تكاد تكون متماثلة مثل الجينات التي تتحكم في محور الجسم في الدروسفيليا نفسها في الفار. (من الشبكة العنكبوتية).



شكل رقم (٣، ١٠). يوضح الية تأثير عوامل النمو (Growth factors EGF, TGF.ect.) على الخلايا المستجيبة لها حيث ترتبط بمستقبل لها على سطح الخلية (EGFR) مثل التيروزين كايينز فيحصل له إزالة للفسفور (Phosphorlations). هذا الارتباط ينشط بروتين آخر داخل سيتوبلازم الخلية لكي تعطي الاستجابة المناسبة، مثل تنشيط التكاثر الخلوي، تنشيط جينات فيها، التمايز الخلوي وغيرها. (من الشبكة العنكبوتية).

عوامل نمو الخلايا العصبية (NGF) Nerve Growth factors

عامل نمو الخلايا العصبية (NGF) من أول العوامل التي اكتشفت عام ١٩٥٦م، يتكون من سلسلتين من عديد الببتيد السكرية، ضروري لاستمرار الخلايا الحسية العصبية، يتم إفراز عامل نمو الخلايا العصبية من النسيج الخاص الذي تصل إليه الألياف العصبية (يفرز من النسيج وليس من الخلايا العصبية) التي تبدأ بتكوين مستقبلات له، فهناك علاقة بين كمية عامل نمو الخلايا العصبية، وتفرعات الخلايا العصبية في النسيج، فهو يعمل على نمو وتمايز العقد العصبية وبعض الخلايا العصبية الحسية، وهناك عدة أمثلة لعوامل نمو الخلايا العصبية وهي:

١- عامل نمو الخلايا العصبية المخية (Brain -derived neurotrophic factor) (BDNF). الذي يعمل على استمرار بقاء الخلايا المخية الحركية حتى بعد إزالة الأنسجة التي تغذيها.

٢- عوامل محفزه للخلايا العصبية رقم ٣-٤-٥ (NT3-4-5) Neurotrophine عامل محفزه للخلايا العصبية (NT-3) يعمل على استمرار بقاء الخلايا العصبية

الحشوية (Visceral neurons) التي عادة لا تستجيب لعامل نمو الخلايا العصبية (NGF).

فكلا العاملين (BDNF; NT-3) مع عامل نمو الألياف الخامس (FGF5)، كلها يتم تصنيعها في الخلايا العضلية لأطراف جنين الجرذ عندما تصل إليها تفرعات الخلايا العصبية الحركية.

٣- عامل نمو مستمد من الفراء العصبي: (Gila cell derived neurotroic factor) (GDNF) الذي يعمل على استمرار بقاء الخلايا العصبية في المخ المتوسط التي تفرز الدوبامين التي إذا تلفت تؤدي إلى مرض باركنسون، الشكل (٤, ١٠) يوضح تأثير عامل نمو الفراء العصبي (Glial neurotrophic factor GNF) الذي يعمل على تمايز الكلية والأعصاب الداخلة، عامل نمو العظام ٧ (BMP7) مهم في تكوين قطبية الأنبوبة العصبية ونمو الكلية وتكوين الحيوانات المنوية.

٤- عامل نمو محفز لأهداب الخلايا العصبية (CNTF) (Ciliary neurotrophic factor) يعمل على بقاء محاور الخلايا العصبية الحركية للأجنة الفأر.

عوامل النمو الموضعي Paracrine Growth Factors:

هناك عوامل كثيرة تم اكتشافها والتعرف عليها ويمكن تجميعها في أربع مجاميع من عوامل النمو ذات التأثير الموضعي أي تفرز في نفس المنطقة التي تؤثر عليها، عن (Gilbert 2014) وهي:

١- مجموعة عوامل نمو الخلايا الليفية ((Fibroblast growth factor FGF)

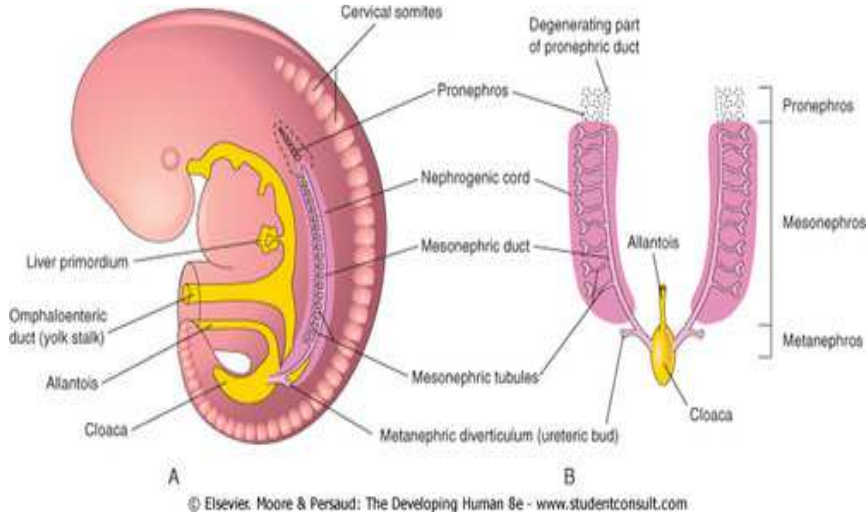
٢- مجموعة عوامل نمو الحدود الخلوية (Hedgehog family factors).

٣- مجموعة عوامل نمو الجناح المفقود أو وأنت جين (Wingless Factors Wnt).

٤- مجموعة عوامل التحول الخلوي (Transforming growth factors TGF)

١- مجموعة عوامل النمو الليفية (FGF) Fibroblast Growth Factors

ان مجموعة عوامل النمو الليفية (FGF) تضم حاليًا حوالي ٢٤ عامل تقريبًا، يشفر لها ما يقارب ٢٤ جين معروف تختص بعوامل نمو الألياف، وتصنع ما يقارب من ١٠٠ بروتين. ترتبط عوامل نمو الألياف عن طريق مستقبلاتها من التيروسين كايّنز (مجموعة من المستقبلات FGFRs) على سطح الخلايا المستجيبة، حيث يتكون المستقبل التيروسين كينيز (Tyrosine Kinase) من بروتين خلوي غشائي يمتد من خارج سطح الخلية إلى داخل الخلية، ويرتبط الجزء الخارجي من التيروسين كينيز (Ligand binding domain) بعامل النمو بينما الطرف الداخلي يتكون من طرفه ساكنة عند ارتباط عامل النمو فإنه ينشط ويعمل على تنشيط بروتين معين داخل سيتوبلازم الخلية، وذلك بإزالة الفوسفات عنه (Phosphorylation) والذي بدوره يقوم بوظيفة معينة.

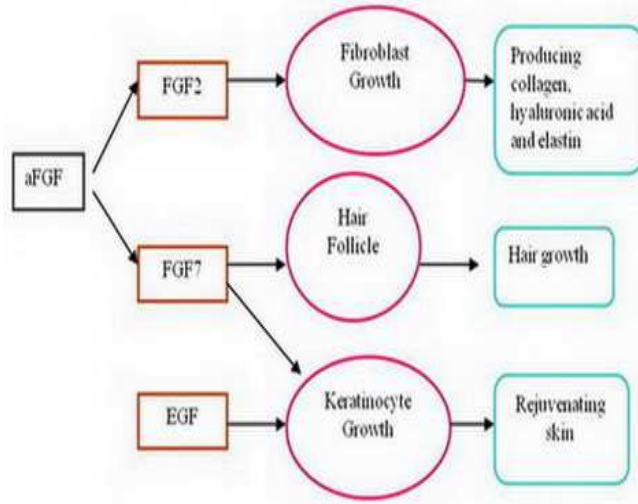


شكل رقم (٤, ١٠ أ). يوضح تأثير عامل نمو الفراء العصبي (Glial neurotrophic factor GNF) والذي يعمل على تمايز الكلية والأعصاب الداخلة في الجنين. (من الشبكة العنكبوتية)

٢- مجموعة عوامل نمو الحدود الخلوية (Hedgehog family factors)

تتكون عوامل نمو الحدود الخلوية (Hedgehog family factors) من مجموعة من البروتينات ذات التأثير الموضعي (Paracrine factors) التي تستخدم بواسطة الجنين لتحفيز أنواعاً معينة من الخلايا ولتضع الحدود بين الأنسجة.

Fig 1. aFGF mediates both the FGF-2 and KGF signaling pathway



FGF-2: Fibroblast Growth Factor-Basic (bFGF);
KGF: Keratinocyte Growth Factor (FGF-7)

شكل رقم (٥, ١٠). رسم مخطط يوضح تأثير عامل نمو الألياف الفا (aFGF) الذي يعمل من خلال عاملي النمو للألياف ٢ و ٧ (عامل نمو الكيراتين) (FGF2,7 KGF). (من الشبكة العنكبوتية).

فالفقاريات لديها على الأقل ثلاث أنواع من عوامل الحدود الخلوية وهي:

١- عامل محدد للخلايا سونك: (Sonic hedgehog (shh): نسبة للعبة سونك، يصنع في خلايا الحبل الظهرية، فهو يوجه تكوين الأنبوبة العصبية بحيث تخرج الأعصاب الحسية من الجهة البطنية والأعصاب الحركية من الجهة الظهرية، ويوجه تكون

القطع العضلية وغضاريف الحبل الشوكي، وتوجيه تكوين الأطراف ومحور الجسم والقناة الهضمية والريش.

٢- عامل محدد الخلايا الصحراوي: (Desert hedgehog (*dhh*) يتواجد في خلايا سيرتولي بالخصية والفأر الفاقد للعامل لا تتكون لدية النطف.

٣- عامل محدد الخلايا الهندي: (Indian hedgehog (*ihh*) يتواجد في منطقة الغضاريف والمعوي الجنيني ومهم لنمو العظام بعد الولادة.

٣- مجموعة عوامل نمو الجناح المفقود أو ونت جين **Wingless Factors Wnt family** تتكون عوامل نمو الجناح المفقود أو عوامل الجين وانت من بروتين سكري (Glycoproteins) تشتمل المجموعة في الفقاريات على الأقل ١٥ نوعاً من العوامل.

عامل نمو الجناح المفقود أو وانت رقم ١ (*Wnt1*) يعمل على تحول القطع العضلية (Myotomes) إلى عضلات، وكذلك يعمل على تخصيص خلايا المخ المتوسط في الجنين. تعمل مجموعة عوامل نمو الجناح او وانت على تحديد القطبية في أجنة الحشرات وأطراف الفقاريات، كما تساهم عوامل الجناح المفقود أو الوانت على نمو بعض أجزاء الجهاز البولي التناسلي في الجنين.

٤ - مجموعة عوامل نمو التحول الخلوي **Transforming growth factors TGF**

تشتمل مجموعة عوامل نمو التحول الخلوي على عدة عوامل:

عامل محفز تشكل العظام (Bone Morphogenic Promoters, BMP)، عامل نمو القطب الخضري رقم ١ (*Vegetal pole growth factor -1 Vg1*)، وعامل النمو المستمد من الفراء العصبي (*Gilal cell derived neurotrophic factor ,GDNF*) الذي يعمل على تمايز الكلية والأعصاب الداخلة فيها، عامل مشبط تكوين قناة مليرين (Mullerian inhibitory factor MIF).

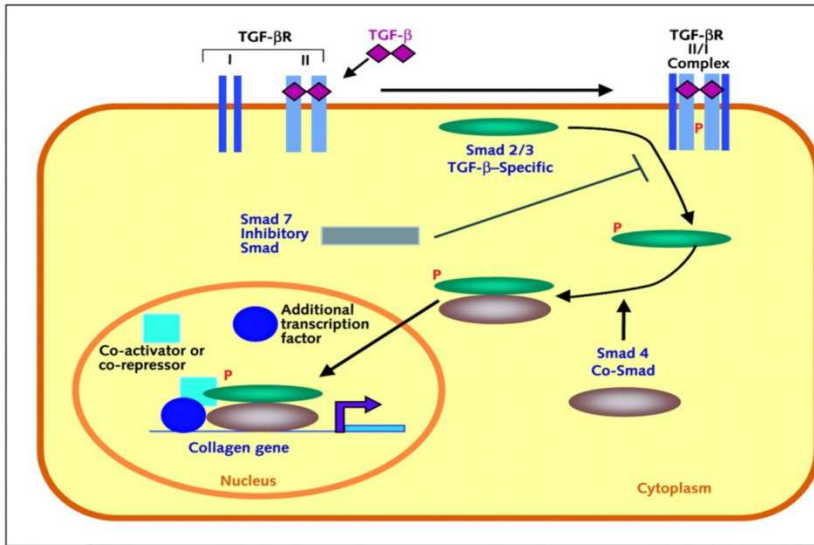
عوامل نمو التحول الخلوي بيتا (β -TGF Transforming Growth Factor) هناك ما يقارب ٣٠ عاملاً: منها عوامل نمو التحول بيتا ١، ٢، ٣، ٥ (β 1'2'3'5) (TGF- β) مهمه في تنظيم تكوين المادة بين خلوية للأنسجة (Extra cellular matrix ECM) وكذلك تنظيم الانقسام الخلوي، فعامل نمو التحول بيتا ١ يعمل على تصنيع الكولاجين والفيبرنكتين، كذلك تحدد عوامل التحول الخلوي بيتا متى وأين يتم تفرع الأنسجة الطلائية لتكون قناة الكلية أو الرتتين والغدد اللعابية.

عوامل تشكل العظام (Bone Morphogenic Promoters, BMPs) :

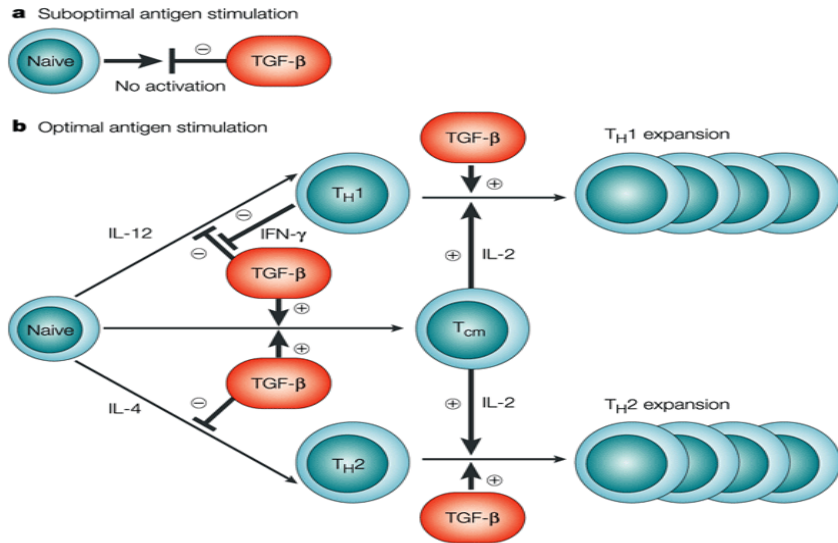
عوامل نمو العظام بالإضافة لعملها على تكوين العظام فإنها تعمل على تنظيم الانقسامات الخلوية والموت المبرمج للخلايا وهجرة وتمايز الخلايا، وتشتمل عوامل نمو العظام على البروتين نودال (Nodal) والمسئول عن تحديد المحور الأيمن من الأيسر في الجنين، عامل نمو العظام ٧ (BMP7) مهم في تكوين قطبية الأنبوبة العصبية ونمو الكلية وتكوين الحيوانات المنوية، كما أنه قد اتضح أن عامل نمو العظام ١ (BMP1) عبارة عن أنزيم محلل للبروتين

(Protease) وليس له علاقة بالمجموعة، تعمل عوامل نمو العظام عن طريق الانتشار حيث يتم إفرازها من خلاياها إلى الخلايا المتأثرة بها، ويعتمد ذلك على طول سلسلة الأحماض الأمينية المكونة لها على الطرفية الأمينية.

فالشكل (٦، ١٠) يوضح آلية تأثير عامل التحول الخلوي عن طريق منشط داخل الخلية (سماد Smad)، وكذلك دورة في تنشيط خلايا الدم البيضاء وتحويلها إلى خلايا الدم البيضاء المساعدة (TH1,2).



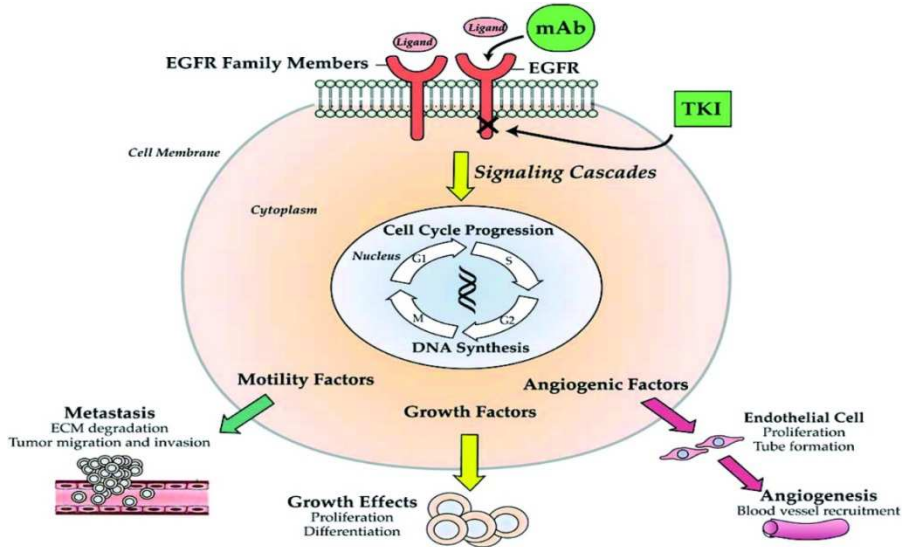
شكل رقم (٦، ١٠، أ، ب). رسم للألية تأثير عامل نمو التحول الخلوي بيتا (TGF-B) من خلال المؤثر الداخلي للخلية (سماد Smad).



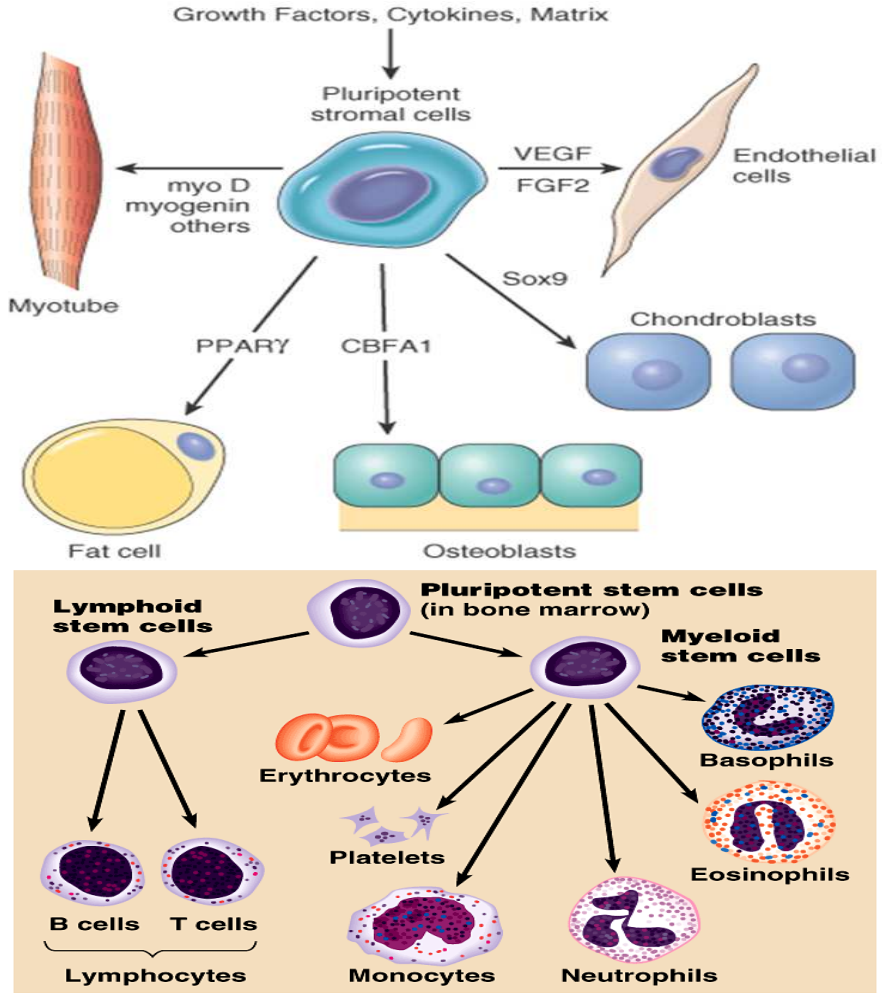
ب) دور عمل التحول الخلوي في تنشيط خلايا الدم البيضاء وتحويلها إلى خلايا المساعدة.

عوامل نمو موضعية أخرى:

- عامل نمو الأدمة (Epidermal growth factor (EGF)) شكل (٧, ١٠)
 - عامل نمو الخلايا الكبدية (Hepatocyte growth factor)
 - عوامل نمو خلايا الدم (Cytokines , Interleukins, Erthropoietin) شكل (٨, ١٠).
- عامل نمو الأدمة (Epidermal growth factor (EGF)) وقد لا يدل اسمة على تأثيره مباشرة فمثلاً يرتبط بمستقبل (EGFR) له على سطح الخلايا (التيروزين كايينز (TK) الذي سوف يؤثر عليها، فيحفزه ليكي ينشط بروتين آخر داخل سيتوبلازم الخلية، والذي بدوره يؤثر على النواة أو على سيتوبلازم الخلية لكي تستجيب، ومن هذه الاستجابات مثلاً حركة الخلايا فيحثها على التحرك أو الهجرة بتحضير الإنبيبات والليفات الدقيقة مثلاً، أو على أن تنتج عوامل أخرى تتحكم في التكاثر الخلوي، أو أن تكون الخلايا المونة للأوعية الدموية شكل (٧, ١٠).



شكل رقم (٧, ١٠). أ، ب مخطط يوضح طريقة تأثير عامل الأدمة (EGF) على الخلية المستجيبة عن طريق الارتباط بالمستقبل له على سطح الخلية (EGFR) وهو التيروزين كايينز (TK). (من الشبكة العنكبوتية).



شكل رقم (٨، ١٠). يوضح بعض ادوار عوامل نمو خلايا الدم (Cytokines, Interleukins, Erthropoietin). في تنشيط الخلايا الجذعية والمحفزة، وتكاثر خلايا الدم. (من الشبكة العنكبوتية).

عوامل الدم الخلوية أو السيتوكين:

هناك مجموعة كبيرة من المحفزات لتكاثر وتكوين خلايا الدم الحمراء وخلايا الدم البيضاء والتي لها علاقة في نمو وتمايز خلايا الدم البيضاء والجهاز المناعي للجسم، والصفائح الدموية التي لها علاقة بتخثر الدم وتكوين الجلطات الدموية، ومن أمثلتها:

- عامل نمو المستمد من الصفائح الدموية (PDGF) Platelet-Derived Growth Factor
- عامل نمو خلايا الدم الحمراء (Epo) Erythropoietin
- عامل نمو شبيه الأنسولين رقم ١ (IGF-I) Insulin-Like Growth Factor-I
- عامل نمو شبيه الأنسولين رقم ٢ (IGF-II) Insulin-Like Growth Factor-II
- عوامل الخلايا الدم البيضاء المناعية من رقم ١-٣٥ (IL-12-3-4-5..35) Interleukin-1
- عامل النخر الخلوي ألفا (TNF-a) 13-Tumor Necrosis Factor
- عامل النخر الخلوي بيتا (TNF-b) 14-Tumor Necrosis Factor
- عامل انترفيرون جاما (INF-g) Interferon-g
- عامل محفز تكوين المستعمرات الخلوي (CSFs) Colony Stimulating Factors

تعريف كلمة الانترلوكين جاءت من ترجمة كلمة خلايا الدم البيضاء أو الليكوسيت أو الخلايا الأكولة لذات سميت بالأنترلوكين، معظم الأنتلوكينات أو محفزات خلايا الدم يتم إنتاجه من خلايا الدم البيضاء المناعية ت أو س. دي ٤ (CD-4) ومن خلايا الدم البيضاء وحيدة النواة (Monocytes) وخلايا الدم البيضاء الكبيرة (Macrophage) الأوعية الدموية (Endothelial cells)، فهي تحت نمو وتمايز خلايا الدم الليفية ت، ب (T and B lymphocytes) وخلايا مكونة الدم (Hematopoietic).

التفاعلات بين الخلايا والمادة بين الخلوية أثناء التكوين الجنيني

Cell –Extra Cellular Matrix (ECM) interactions in Embryo Development

المقدمة:

كان يعتقد أن المادة بين خلوية تعمل كدعامة للأنسجة فقط، لكن اتضح أن التفاعل بين الخلية وجزيئات المادة بين الخلوية {Cell –Extra cellular Matrix (ECM)} لها دور مهم أثناء التكوين الجنيني التي تؤدي إلى التشكل والتميز الخلوي والحفاظ على الشكل الظاهري للجنين.

فهناك تفاعل بين المادة بين خلوية وهيكل الخلية فجزيئات المادة الخلوية تتفاعل مع المستقبلات على الخلية ثم ينتقل هذا التفاعل عبر جزيئات الغشاء ثم إلى داخل السيتوبلازم وهذه الإشارات تنشئ سلسلة من الأحداث من خلال هيكل الخلية ثم للنواة لتنشط جينات معينة والتي قد تؤثر حتى على المادة بين خلوية. (Green and Bissell 1995)

لقد اتضحت أهمية التفاعلات الخلوية أثناء نمو خلايا الجنين أول مرة في بداية القرن العشرين من خلال تجربتين، في واحدة منها، منع أو تدمير الحويصلة أو الكاس البصرية لتشكيل عدسة من خلايا الأدمة السطحية أو الاكتوديرم المواجه لها، على العكس من ذلك، زرع الكاس البصرية اليسرى إلى منطقة قريبة من الكاس البصرية للعين الأخرى (اليمنى) تحت طبقة الأديم الظاهر أو الاكتوديرم، فإنها تؤدي إلى تحفيز وتحويل الاكتوديرم إلى عدسة الشكل (١، ١١).

وحاليا يطلق على هذه العملية مصطلح التحفيز الجنين أو الخلوي للإشارة إلى أية آلية حث خلوية واحدة يؤثر على تنمية الخلايا المجاورة لها.

مكونات المادة بين خلوية وتنوعها ECM Composition and diversity:

- لقد تم التعرف على العديد من المستقبلات الخاصة بجزيئات المادة بين خلوية ولكن سوف نركز على التي لها علاقة بالنمو، ويمكن تقسيم المواد بين خلوية وذات العلاقة بالنمو على ثلاثة فترات والتي تتعلق بأحداث مراحل النمو المختلفة.

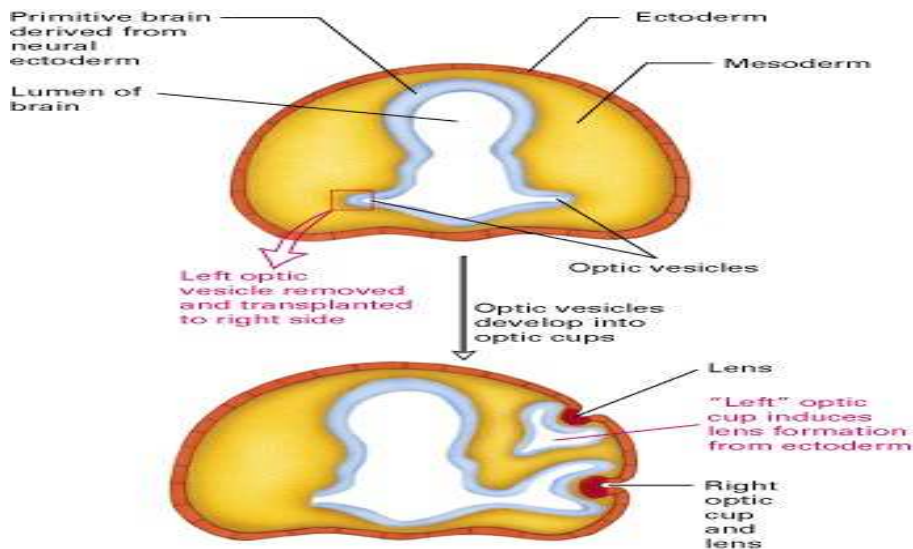
١- الإلتصاق والتفكك (Adhesion /deadhesion) بين الخلايا أثناء هجرة بعض الخلايا الجنينية .

٢- تعبير الجينات الخاصة أثناء النمو يرتبط بتفاعل مكونات الغشاء القاعدي بواسطة بروتين الرابط الغشائي أو الانتقارين (Integrin) وعوامل ذائبة.

٣- التشكل الخلوي للأعضاء الطلائية فالتشكل يرتبط بالموت المبرمج لبعض الخلايا والتحول الطلائي المزنشيمي للأنسجة يرتبط بالمادة بين الخلوية التي يعاد تشكيلها من خلال مستقبلات بعض الأنزيمات والبروتين الرابط الغشائي أو الأنتقرين (Integrin) وبادئ الجلوكان أو البروتوقلوكان (Proteoglycan) وعوامل ذائبة. (Green and Bissell 1995).

إن توزيع وتنظيم هذه المواد بين الخلوية يختلف حسب نوع النسيج فالخلايا الميزنشيمة مغمورة بالمادة بين خلوية بينما الطلائية تعتمد على الغشاء القاعدي، فالمادة بين خلوية تختلف أيضًا باختلاف مراحل التكوين الجنيني. (Rutishauser and Lemmon 1995)

تتكون المادة بين الخلوية بشكل عام من مادة الكولاجين (Collagen) والألستين (Elastin) بادئ الجلوكان أو البروتوقلوكان (Proteoglycans) والسكريات الامينية أو الجلوكوامين قلوكان (Glycosaminoglycans) والبروتينات السكرية (Glycoproteins) التي يتم تكوينها من في الشبكة الاندوبلازيم للخلايا.



شكل رقم (١، ١١). يوضح مثال التفاعل بين الخلايا أثناء النمو الجنيني: التفاعل بين النسيج الحاث (الكأس البصرية Optic cup) والنسيج المستجيب (الكتوديرم المواجه للكأس البصرية لتكوين عدسة العين lens) فعند نقل الكأس البصرية من الجزء الأيسر للحويلة البصرية للمخ الأمامي وزراعتها على الجزء الأيمن للرأس كونت عدسة بصرية في الجانب الأيمن.

فالشكل (١١، ٢) يوضح مكونات المادة بين خلوية التي تمتد من الغشاء الخلوي للخلية (خاصة في خلايا الأنسجة الضامة (Connective tissue)).

مكونات المادة بين خلوية في الأجنة لا تكون ذات خاصية مشفرة بل هي تتغير من مرحلة نمو لمرحلة أخرى من النمو، هذا الاختلاف في التركيب والتوزيع والتنظيم للمادة بين خلوية لا يبرز من تعبير الجينات في الأنسجة المختلفة فقط ولكن أيضًا من تواجد الوصلات (Splicing) المختلفة ومن التحورات بعد الترجمة لهذه الجزيئة (Post-translational modification).

كما يتأثر توزيع المادة بين الخلوية بأيونات الكالسيوم والأنزيمات المحورة للمادة بين خلوية كذلك فإن المادة بين خلوية قد يكون لها تأثير غير مباشر على الخلية وذلك

بتفاعلها مع بعض عوامل النمو، فهي قد تحمي هذه العوامل من التحلل أو تعرفهم على المستقبلات الخاصة بهم، وفي المقابل فإن عوامل النمو هذه قد تحفز الخلايا لكي تغير من مكونات المادة بين خلوية أو مستقبلاتها.

مستقبلات المادة بين خلوية ECM Receptor:

ترتبط المادة بين خلوية بثلاث مستقبلات على سطح الخلية:

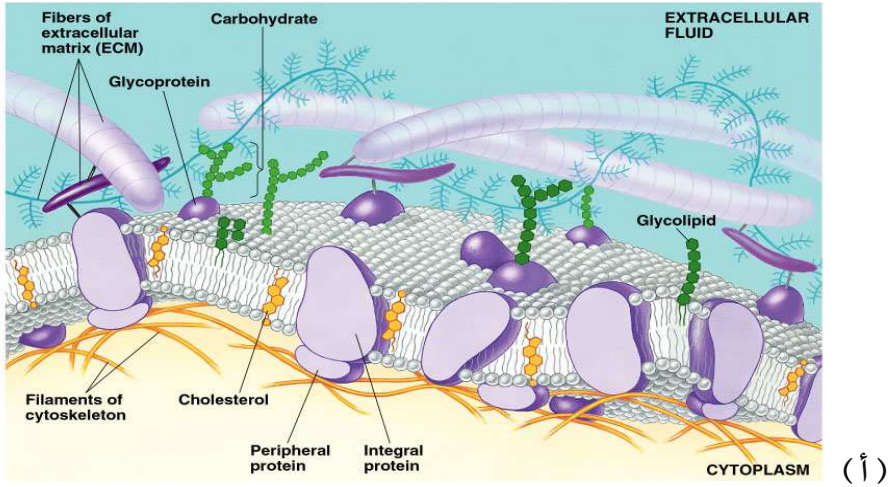
- ١- مستقبل البروتين الغشائي أو الأنترجرين (Integrin).
- ٢- المستقبل السطحي: بادئ الجلوكان أو البروتوقلوكان: (Proteoglycans).
- ٣- مستقبلات أخرى: بروتين الرابط للغشاء (Lamina-binding protein) مستقبل (CD36)

١ - مستقبل البروتين الغشائي أو الأنترجرين (Integrin)

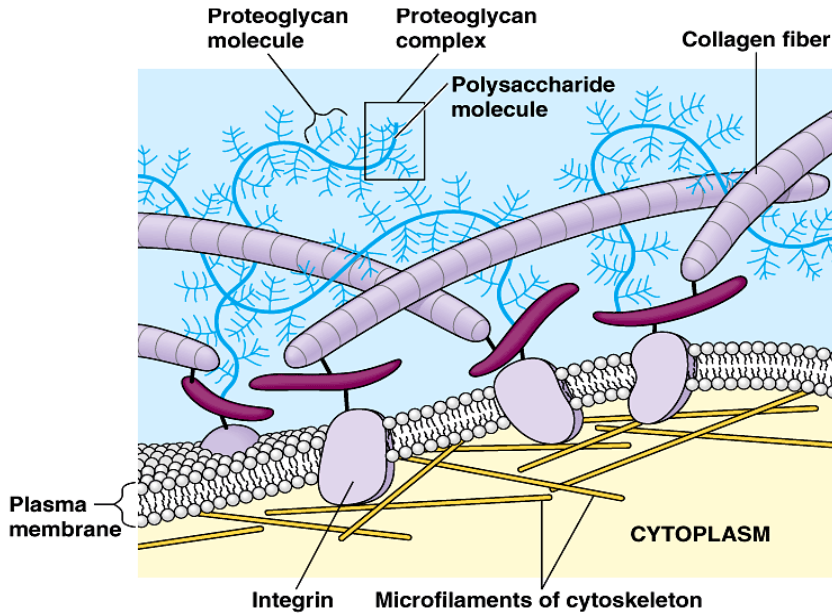
وهو عبارة عن مجموعة من المستقبلات تتكون من بروتين الغشاء الخلوي ويتكون من سلسلتين من الأحماض الأمينية (١٤) ألفا (٨) وبيتا فمثلاً ألفا-٥، بيتا ١ ترتبط ببروتين الاكتين الليفى (Fibronectin) (شكل ٣، ١١).

٢ - المستقبل السطحي السكري بادئ الجلوكان أو البروتوقلوكان: Proteoglycans

أول مرة تم إطلاق هذا المسمى البروتوقلوكان كان بواسطة (Balaze) عام ١٩٦٧م وأطلقه على كل السكريات العديدة والمرتبطة ببروتينات غشاء الخلية والممتدة في بين الخلايا، وقبل ذلك كانت تعرف بمعقد البروتينات السكرية لغشاء الخلية (Protein polysaccharide complex-)، هناك على الأقل ٣ أنواع منها ترتبط بجزيئات المادة بين خلوية هي السيديكان، ومستقبل مجموعة التمايز الخلوي رقم ٤٤ والثرمبومديلين: (Sydecane; Cluster of differentiation-44 CD44; Thrombomodulin). فالسيديكان ومستقبل مجموعة التمايز الخلوي رقم ٤٤ (Sydecane, CD44) يربطان الخلية بالمادة بين



(أ)



(ب)

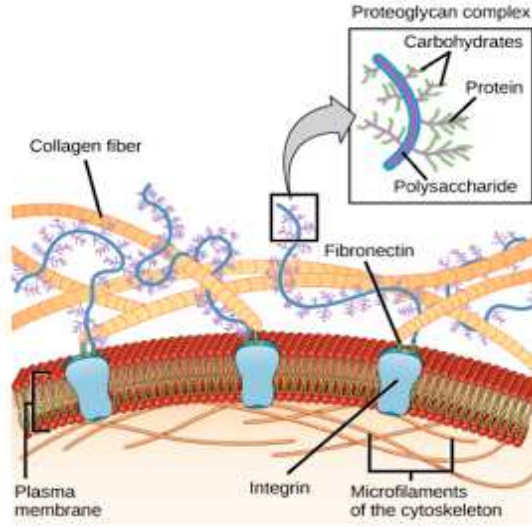
شكل رقم (١١,٢ أ,ب). يوضح مكونات المادة بين الخلوية (Extra cellular matrix ECM): التي تتكون من الكولاجين (Collagen) والالستين (Elastin) وبادئ الجلوكان (Proteoglycans) والجليكو امين قلوكان (Glycosaminoglycans) والبروتينات السكرية (Glycoproteins).

خلوية عن طريق مادة الغضروفين (Chondroitin) أو كبريتات الهيبران (Heparan-Sulfate) أو الجلوكان أمين قلوكان سي (glycon-aminoglycans-c). هذه السكريات تختلف باختلاف النسيج التي يظهر فيه السيديكان (Sydecan) الذي يمكن أن يعدل قدرة الروابط لكي يتفاعل معها، فالسيديكان (Sydecan) يساهم مع الهيكل الداخلي للخلية الطلائية في الثدي ويعمل على تثبيتها مما يدل على أن المساهمة مع الهيكل الخلوي مهمة في عملية تحول الإشارة والمحفز من هذا المستقبل، شكل (٣، ١١)، أما محور الثرمبوموديلين (Thrombomodulin) يظهر في خلايا الأنسجة الوعائية ونشاطه الحيوي يمكن أن ينظم بواسطة البروتين الخاص به أو بواسطة مكونات الجليكوأمين قلوكان (Glycosaminsoglycans) لكن دورة في النمو غير واضح شكل (٤، ١١).

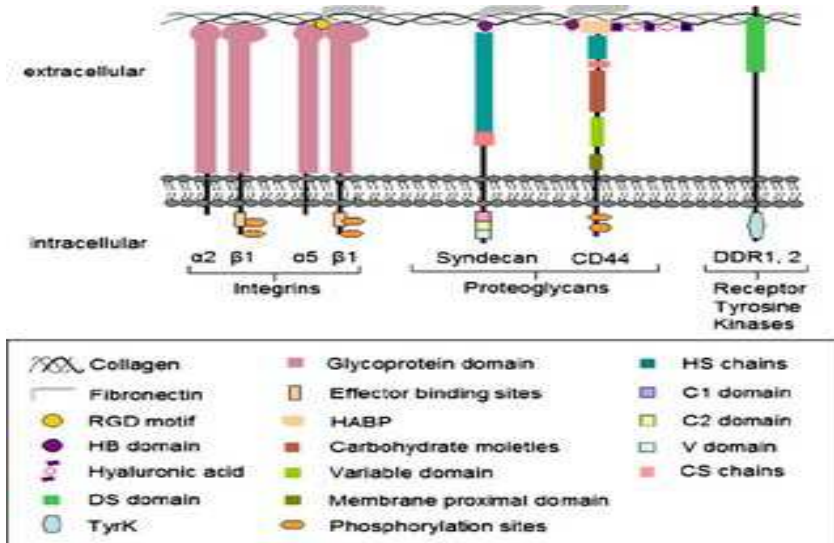
٣- مستقبلات أخرى **Other receptors** المستقبلات الأخرى للمادة بين خلوية تشمل: أ) بروتين الرابط للغشاء (Laminin-binding protein) وزنة الجزيئي (٦٩ ك.د) يتعرف على الغشاء (Lamina) الذي لا يمكن التعرف على أي مستقبل آخر، من خلال التعرف على متواليات الأحماض الأمينية (YIGSR).

ب) مستقبل مجموعة التمايز الخلوي رقم ٣٦ (Cluster of differentiation -36 CD36) يربط الكلاجين والثرمبوسبوندين (Thrombospondin) بالخلايا الوعائية الأحادية (Monocytes) وبعض الخلايا الطلائية، ولمزيد من المعلومات يمكن الرجوع

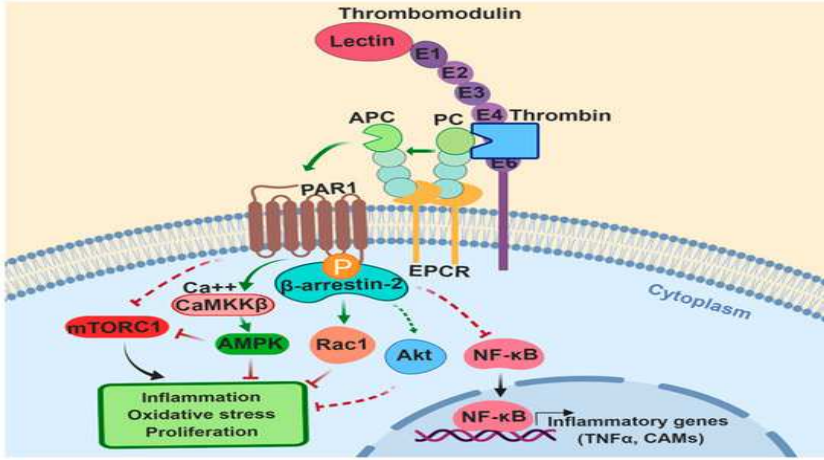
للمرجع Martins Green and M.Bissell: Developmental Biology Vol 6: 1995



شكل رقم (٣، ١١، ب). أ) يوضح بعض أنواع المستقبلات الخلوية والمادة بين خلوية: الجلوكان أو البروتوقلوكان مرتبط بالبروتين وسكريات التي يرتبط بالفبرينكتين ثم بالأنتقرين بغشاء الخلية.



ب) يوضح مكونات المادة بين الخوية (ECM) التي تربط أغشية الخلايا ببعضها البعض: مثل الأنتقرين والبروتوقلوكان (يتكون من السيديكان و CD44) يمتدان بين الخلايا.



شكل رقم (٤، ١١). يوضح محور الثرموموبوميدلين ثم الموديلين: ودورها في تنشيط غشاء الخلايا الوعائية ثم لتنشيط التعبير الجيني في نواة الخلايا الوعائية وإنتاج مضاد الالتهابات.

التفاعلات أثناء التشكل والتميز الخلوي

Interactions during morphogenesis and differentiation

لقد تم دراستها عن طريق الطفرات المستحدثة أو زراعة الأعضاء

أ) التشكل Morphogenesis:

إن كثيرًا من الأحداث التي تؤدي إلى التشكل وتكوين الأعضاء تحتاج للتفاعل بين الخلية والمادة بين الخلوية، فتفاعل الخلايا مع بروتين الفيبرينواكين (Fibronectin) مهم أثناء التحركات لعملية التبطين وتكوين طور الجاسترولة في الأجنة، والحقن الدقيق لمضادات الفيبرينواكين أو مضادات مستقبلات الأنتجرين (β1 subunit of Integrin receptor) أو محتويات البتيد (RGD-containing peptides) في تجويف بلاستولة أجنة البرمائيات فانة يعطل التبطين وينتج أجنة مشوهة، كذلك عمل التنافس بين مناطق ارتباط الهيبرين وكبريتات البروتوقلوكان ممكن أن يعيق التبطين وتكوين الأنبوبة العصبية، كما أن في الفئران المعدلة وراثيًا والفاقة للفيبرينواكين لا تظهر خلل

في النمو الجنيني إلا بعد طور البطننة أو الجاسترولة، وهذا الاختلاف في التأثير ربما يعود للاختلاف بين الأنواع.

تحدث التحركات الخلوية أثناء التشكل في الأجنة في الفراغ بين الخلوي الذي يكون مليء بخليط من المواد المعدة للمادة بين الخلايا الذي يحث طريق التحركات الخلوية إما بالتفكك أو اندماج الخلايا فهذه الأحداث مهمة أثناء عملية التبطين وتكوين الجاسترولة أو تكوين الأنبوبة العصبية وتحرك خلايا الأعراف العصبية أو هجرة الخلايا التناسلية الأولية، بعض الأحداث التشكيلية تحتاج إلى التفاعل مع مواد معينة بين الخلية والمادة بين الخلوية مثلاً أثناء تكوين الأعضاء من الطبقة الطلائية كنمو الأوعية الدموية أو الموت المبرمج للخلايا.

ب) هجرة الخلايا: Cell migration:

من الأمثلة الأكثر شيوعاً أثناء تكوين الأجنة هي هجرة خلايا الأعراف العصبية وهجرة الخلايا التناسلية الأولية، التي أجريت عليها العديد من الدراسات التجريبية هي هجرة الخلايا فإنه يمكن منع هجرة الخلايا التناسلية الأولية (PGCs) في الجنين من موقع تكوينها مثلاً في منطقة الرهل الأولى (Proamion) لجنين الطيور بمعالجتها بأحد المواد التي تمنع هجرتها إلى المنسل (كمادة البيوصلفان أو التماسكوفين (Almotary and Alhimaidi 2002)؛ والهدف من ذلك لكي تنتج أجنة عقيمة أو انتاج اجنة معدلة وراثياً (بنقل خلايا تناسلية أخرى تمت معالجتها بجينات خاصة لإنتاج الأنسولين البشري مثلاً أو خلايا تناسلية لجنين الحباري انظر الفصل الثاني شكل ٢-٤ ب)، كذلك عملت بعض الدراسات عن التفاعلات بين الخلايا والمادة بين الخلوية أثناء النمو وحركة خلايا الأعراف العصبية (Neural Crest Cell NCC) (شكل ٥-٥ أ، ب)، فالحقن الدقيق لمضادات مختلف جزيئات المواد بين خلوية أو مضادات مستقبلات الأنترين بيتا ($\beta 1$ subunit of Integrin receptor) في طريق هجرة خلايا الأعراف العصبية لجنين الطيور فإنه يقلل عدد الخلايا المهاجرة ويسبب نمو غير سليم

للأنبوبة العصبية. وربما يعود ذلك إلى ظهور الفيبرونوكتين بين خلايا الأعراف العصبية قبيل هجرتها من منطقة الأنبوبة العصبية، فالفيبرونوكتين (FN) عندما يرتبط بمستقبل الانتقيرين فإنه يحث إفراز أنزيمات محللة للإلتصاق (Adhesion-degrading-enzymes)، فالفيبرينوكتين قد يسهم بشكل غير مباشر في هجرة خلايا الأعراف العصبية.

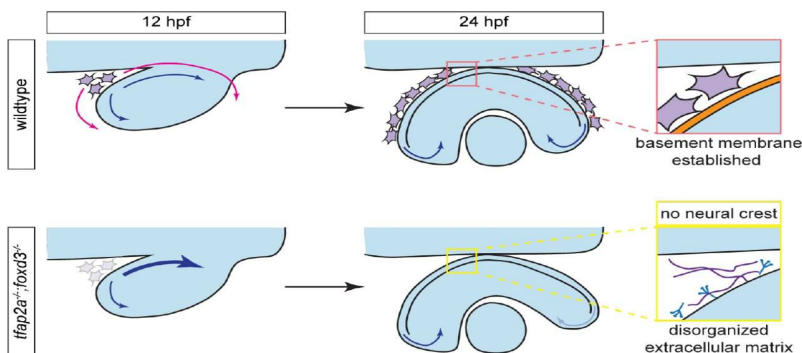
يعد بروتين رابط الغشاء (Laminin) أحد المكونات الرئيسة للغشاء القاعدي ويلعب دوراً مهماً في نمو الأوعية الدموية في الجسم وفي الطبقة، فزراعة مضادات الغشائين (Laminin antibodies) مع الخلايا الوعائية يمنع تكون الأوعية في الطبقة، البيديد التي تحتوي على متتالية الأحماض الأمينية (SIKVAV) والتي توجد في السلسلة (أ) لبروتين رابط الغشاء، وتحفز التصاق الخلايا الوعائية واستطالتها وتنشئ تكوين الأوعية الدموية.

ج) تشكل الأعضاء الطلائية Epithelial Organ morphogenesis:

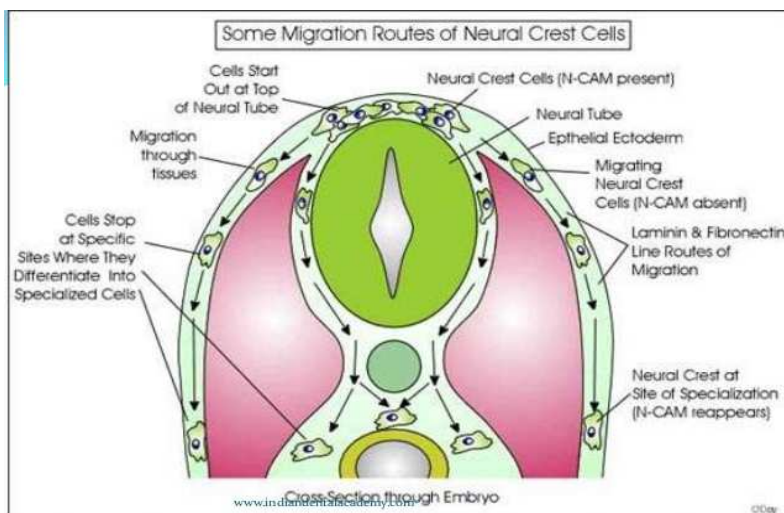
أثناء مراحل النمو المبكر للأعضاء الطلائية يكون هناك تحفيز بين الخلايا الطلائية والنسيج المزنشيمي حولها والتي تلعب دوراً مهماً في تشكيلها، فالمادة بين خلوية وخاصة الغشاء القاعدي يلعب دوراً مهماً في ذلك، هذه التفاعلات تأخذ مجراها عند تشكل وتكوين تفرعات الغدة اللعابية شكل (٦، ١١) والغدة الثديية والرئتين والبنكرياس والكلية.

عند نمو الغدة الثديية تلعب المادة بين خلوية وعامل التحول الخلوي بيتا ($TGF\beta$) دوراً مهماً في تفرع الغدة الثديية وتشكيلها، فعامل التحول الخلوي بيتا المفرز من الطلائية القنوية مع الخلايا الميزنشيمة المحيطة يكونان معقدات مع المادة بين خلوية القنوية البدائية الناضجة، فتعمل على تثبيت الطلائية عن طريق تثبيط التكاثر الخلوي وتثبيط الأنزيم المحلل للماد بين خلوية، وفي مناطق التفرعات فإن عامل التحول الخلوي يغيب؛ لذا لا يكون هناك تثبيط مما يتيح للغشاء القاعدي أن يتغير يسمح بتكاثر الخلايا والتفرع التشكلي؛ لذلك فهناك علاقة بين ثبات الطلائية وتراكم

جزيئات المادة بين خلوية في جانب وفي الجانب الآخر بين التفرعات التشكيلية وضمور المادة بين خلوية.



شكل رقم (٥، ١١ أ). رسم لقطاع في الجنين يوضح دور بعض المواد في منع هجرة خلايا الأعراف العصبية (NCC) (بالونا البنفسجي) أثناء تكوين الأنبوبة العصبية في الجنين: الجزء العلوي من الصورة يمثل المجموعة السليمة، والصور السفلى المعالجة والتي لم تتمكن خلايا الأعراف العصبية من الهجرة مما أدى إلى خلل في تكوين المادة بين خلوية (Disorganized extra cellular matrix) (من الشبكة العنكبوتية).



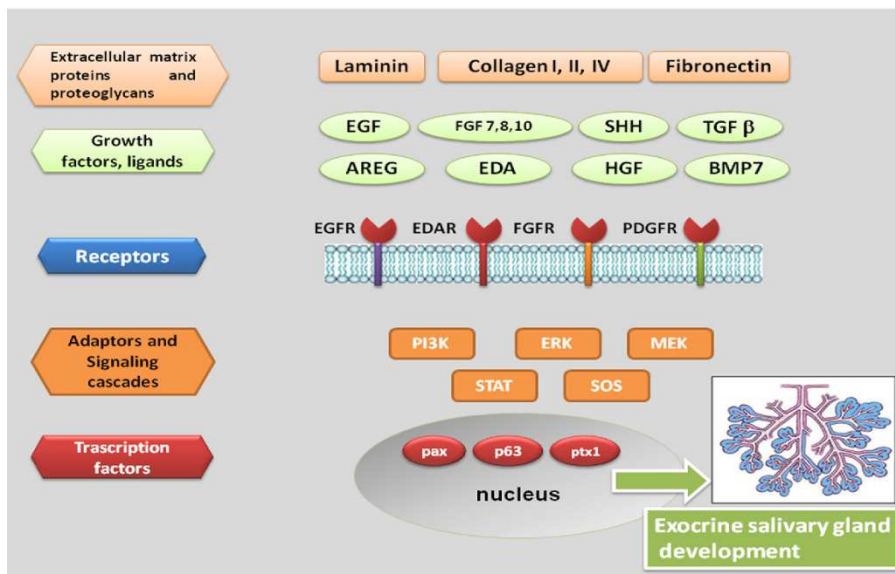
شكل رقم (٥، ١١ ب). رسم لقطاع في الجنين يوضح دور المستقبلات الخلوية (الفيريونكتين FN والبروتين الرابط للغشاء Laminin) أثناء هجرة خلايا الأعراف العصبية (NCC) وتكوين الأنبوبة العصبية. (من الشبكة العنكبوتية).

إن انزيمات المحللة للماد بين خلوية قد تتداخل مع الغدد الخاملة، الباحث سيسون وزملائه (Simpson *et.al.* ١٩٩٤) أنتجوا فأراً معدلاً وراثياً لأنزيم مادة بين خلوية (Metalloproteinase stromelysin-1) الذي يعد مهماً بالنسبة لضمور الغشاء القاعدي وإعادة تشكيل الأنسجة، فالغدد في هذه الفئران متشابهة مع الغدد الخاملة في لفئران السلمية ؛ لذا فإن أنزيم المادة بين خلوية السترومليسين-١ (stromelysin-1) مسئول بشكل مباشر وغير مباشر عن تكاثر طلائية الغدد ونمو الحويصلات الغدية.

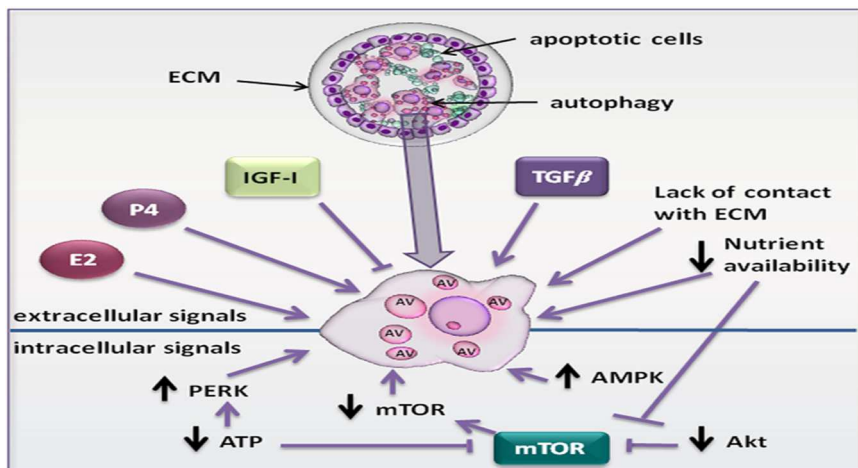
د (الموت المبرمج للخلايا Programmed Cell Death :

إن الموت المبرمج للخلايا يلعب دوراً مهماً في تشكل الجنين أثناء التفليج وتحول طور البلاستولة إلى طور الجاسترولة وأثناء تكوين بعض الأجهزة في الجنين مثلاً أثناء نمو الجهاز العصبي وانغلاغ الأنبوبة العصبية وهجرة خلايا الأعراف العصبية، وأثناء تكوين الأصابع، وأثناء نمو الغدد الثديية، وعند اختيار الخلايا التيموسية، إن المادة بين خلوية ECM تلعب دوراً مهماً في الموت المبرمج للخلايا عند إنغداد الغدد الثديية في الفأر، عند الضمور الثديي فإن الحويصلات اللبنية تنكمش وهذا يتطلب إفراز أنزيمات تحلل الغشاء القاعدي للحويصلات مع موت مبرمج للخلايا.

هناك عدة عوامل تتحكم في الموت الخلوي المبرمج، وهناك عدد من الجينات والتي تتحكم في الموت الخلوي المبرمج وتعرف بالجينات المميتة (Lethal genes) أو جينات موت الخلية (Cell death genes) مثل جين الكاسبيس (Casbase gene) وغيره من الجينات، كما توجد عوامل مثل عامل النخر الخلوي (Tumor Necrosis factor α) وغيره من العوامل الأخرى وهناك العوامل البيئية وغيرها، والشكل (١١-٧) يخلص بعض العوامل التي تؤدي إلى الموت الخلوي المبرمج سواء على مستوى الإشارات من المادة بين خلوية (ECM) أو الإشارات من داخل الخلية، ولמיד من المعلومات يمكن الرجوع لكتاب: الموت الخلوي المبرمج (تأليف أ.د سعد القحطاني ٢٠١٨م).



شكل رقم (٦، ١١). يوضح العوامل التي تتحكم في تكوين الغدد كمثل الغدة اللعابية: في البداية التحكم عن طريق المادة بين خلوية (ECM) ثم عوامل النمو المختلفة (Growth factor) ومستقبلاتها على غشاء الخلية ومنها إلى داخل السيتوبلازم ثم إلى النواة لتعطي تكوين الغدد اللعابية. (من الشبكة العنكبوتية).



شكل رقم (٧، ١١). مخطط يوضح العوامل التي تتحكم بالموت الخلوي المبرمج سواء على مستوى الإشارات من المادة بين خلوية (ECM) أو الإشارات من داخل الخلية. (من الشبكة العنكبوتية).

هـ) التمايز الخلوي Differentiation :

إن التفاعل بين الخلايا والمادة بين الخلوية (ECM) مهم أثناء عملية التمايز الخلوي مثلاً إذا ما تم منع تكون الكولاجين في أجنة قنفذ البحر ببعض المواد المثبطة فإن الخلايا الطلائية للمعي تنتج أحد معلماتها التمايزية أنزيم فوسفات الألكلين (Alkaline phosphatase) حيث تفشل الخلايا الميزنشيمية أن تعبر عن جينات خاصة بتكوين الهيكل (Spicule) مما يؤدي إلى نمو غير سليم للطور اليرقي.

كذلك يمكن منع تمايز خلايا -ت- المناعية عن طريق وضع مضادات للفيرنكتين حيث يمنع التفاعل المهم بين الخلايا التيموسية والطلائية التيموسية، الخلايا المكونة للكيراتين (Keratinocytes) من طبقة الأدمة والتي تتركز على الغشاء القاعدي لها القدرة على التكاثر الخلوي فعندما تتكاثر خلية فالخيتين الناتجتين تفقد اتصالها بالغشاء القاعدي وتتحرك إلى الأعلى وتنتج معلمات خاصة بها مثل الأنفولكرين (Involucrin)، وهذا يقترح أن التفاعل مع الغشاء القاعدي لهذه الخلايا يكون مسؤولاً عن فقد التمايز القاعدي للخلايا الكيراتينية.

أيضاً الخلايا الكيراتينية تفقد خاصية الالتصاق بالفيرنكتين والغشائين والكولاجين ١،٤ بوضع ساعات قبل أن تختفي جزيئات مستقبلات الفيرنكتين من سطح الخلية.

تمايز الخلايا الكبدية مرتبط بتعبير جينات الألبومين والفسفات (P450) وتعبير هذه الجينات لا يشاهد إلا عند زراعة الخلايا الكبدية في بيئة تحتوي على مجموعة المواد بين خلوية (EHS). فعامل التحول الخلوي (eG-TF/HNF3) في الخلايا الكبدية يبدو أنه يتم تنشيطه بواسطة المادة بين خلوية.

الغشاء القاعدي في الغدد الثديية ومكوناته مرتبط مع الهرمون اللبني (Lactogenic horm.) ويكون مسؤولاً عن تحفيز تشكل طلائية الخلايا الثديية في الفأر، الذي يبدو أنه يعمل من خلال مستقبل في الغشاء الخلوي.

لقد أوضح روسكلي وزملائه (Roskelly) أن الخلايا التي تغير من شكلها أو

هيكليها الداخلي لا بد لها من خطوة نحو إنتاج البيتا كاسين (β -Caseine) ، وسيل التيروزين كيناز (Tyrosine Kinase) ربما يساهم في نقل الإشارة إلى داخل الخلية ثم إلى النواة، وهذه الإشارة المنقولة للنواة بعد هذا التفاعل مع المادة بين خلوية التي أدت إلى تنشيط حاث جين البيتا كاسين (β -Casine) ، طول الحاث محفز للبيتا كاسين ١٦٠ قاعدة نيروجينية وقد تم التعرف عليه بين القواعد: ٤٢-١٧٨٩ للمنشئ (Promoter). أو ضح بيترسن (Petersen) ومساعدوه أن خلايا ثدي الإنسان لا تنمو في الطبق لكن إذا وضعت على مادة بين خلوية لغشاء قاعدي فإنها تنمو.

الأدلة تشير إلى أن زراعة طلائية الخلايا الثديية والخلايا الكبدية أن المادة بين خلوية يجب أن تثبط النمو قبل وصول إشارة محفزات التمايز الخلوي لتنشيط تعبير الجينات فيها.

وقد أشار رانا ومساعدوه (Rana) إلى أن المادة بين خلوية تثبط تعبير الجينات المباشر لمرحلة النمو المبكرة، لكن تحفز (C/EBP α) الذي يبدو أنه ضروري لتنشيط الجينات الخاصة بالخلايا الكبدية.

والتعبير عن النمو المرتبط بسلسلة بروتين (Id-1) في طلائية الخلايا الثديية يكون متوافقاً مع تعبير جينات بروتينات الحليب.

من كل ذلك يتضح أن المادة بين خلوية أولاً تثبط الجينات المتعلقة بالنمو ثم تنشط الجينات الخاصة بالتمايز؛ لذا فإن مكونات المادة بين خلوية ومستقبلاتها مهمة في تمايز الأنسجة والمحافظة عليها.

الفصل الثاني عشر

إدخال الجينات إلى خلايا الثدييات

Gene Delivery: to Mammalian cell

طرق إدخال الجينات لخلايا الثدييات: William (2001) :

- ١ - الطرق الكيميائية لإدخال الجينات داخل الخلايا Gene delivery using Chemical methods
- ٢ - الطرق الفيزيائية لإدخال الجينات في الخلايا. Gene delivery using Physical methods
- ٣ - استخدام الفيروسات لإدخال الجينات للخلايا Viral Gene Transfer Techniques

أولاً: الطرق الكيميائية لإدخال الجينات إلى الخلايا Gene delivery using Chemical methods
مقدمة:

إن عملية إدخال المادة الوراثية إلى داخل خلايا الثدييات تعد من التقنيات المفيدة في دراسة تربيّات الحمض النووي المختلفة والعلاج الجيني (Gene therapy)، فعملية إدخال الحمض النووي للخلايا لدراسة تعبير الجينات تسمى بالنقل بالحقن (Transfection or gene delivery)، والمواد المصنعة أو المحضرة والتي تعمل على إدخال مادة الحمض النووي تسمى بالناقل المحضر (synthetic vectors) مقارنة بالفيروسات الناقلة (viral vectors).

إن ميزة الناقل المحضر الكيميائي أنها بسيطة وسهلة الإنتاج وآثارها السمية منخفضة (Low toxicity).

فهناك العديد من المركبات الكيميائية المحضرة التي تم تطويرها منذ أن استخدم الدكستران (DEAE -Dextran, Diethylaminoethyl) أول مرة كمادة ناقلة للحمض النووي منذ العقد السابع من القرن الماضي، فقد تم استخدام النواقل الكيميائية للخلايا بنجاح سواء في الطبق أو في الجسم (*in vivo or in vitro*).

مميزات استخدام النواقل الكيميائية أو المحضرة:

- أن غشاء الخلية أصلاً يتربط مادة كيميائية.
- أن هذه التركيبة ذات خاصية نفاذية لتبادل المواد بين الخلية والبيئة المحيطة بهذا الغشاء.
- أن مادة الحمض النووي تعد مادة كيميائية كبيرة ومبلمره غير محبة للماء وحساسة للأنزيمات المحللة لها في الوسط الخلوي.
- فبدون مواد ناقلة معينة لا يمكن للحمض النووي أن يعبر الغشاء الخلوي إلى الخلية.
- ولكي يمكن إدخال جين معين وأن يرتبط هذا الجين بالمادة الوراثية ويعمل هذا الجين لا بد من التغلب على ٣ عقبات:

- ١- نقل الحمض النووي من مكانه إلى غشاء الخلية.
 - ٢- عبور الحمض النووي غشاء الخلية ودخوله إلى السيتوبلازم.
 - ٣- عبور الحمض النووي الغشاء النووي وارتباطه بالمادة الوراثية للخلية.
- هناك أربع طرق كيميائية رئيسة لنقل الجينات داخل الخلايا، والنواقل الكيميائية المحضرة الرئيسية Synthetic Vectors هي:

١- فوسفات الكالسيوم Calcium phosphate

٢- الدكستران (DEAE-dextran) (Diethylaminoethyl)

٣- الدهون الكاتيونية (Cationic lipid)

٤- البوليمرات الكاتيونية (Cationic polymers)

ولكل من هذه المواد ميزات ومساوئ، كما أن هناك نواقل كيميائية ثنائية البلمرة (Biopolymers) لها نسبة نقل منخفضة جداً إذا استخدمت لوحدها مثل عديد أو البوليليسين (Poly lysine) الهستونات والكيٲوسان (Chitosan) والبيتيدات.

الطرق الكيميائية للإدخال الجينات داخل الخلايا Gene delivery using Chemical methods.

- ١- طريقة إدخال الجينات بواسطة فوسفات الكالسيوم والدكستران.
Gene transfer into Mammalian cells using Calcium Phosphate and Diethylaminoethyl DEAE- Dextran .
- ٢- طريقة إدخال الجينات بواسطة البيتيدات
DNA delivery to Cell in culture using . Peptides
- ٣- طريقة إدخال الجينات باستخدام بيتيدات أحماض نووية
DNA delivery to cell in culture using peptide nucleic acid clamps.
- ٤- طريقة إدخال الجينات باستخدام وسائط ثنائية
Dendrimer-Mediated cell transfection *in vitro*
- ٥- طريقة إدخال الجينات بواسطة القطرات الدهنية (الليبوسومات)
DNA delivery to cell in culture using cationic liposome
- ٦- طريقة إدخال الجينات بواسطة معقد عديد أو البولي اثلين امين الحمض النووي
Delivery of transposon DNA using polyethylenimine-DNA complexes.

خواص بعض النواقل الكيميائية المحضرة

Synthetic Vectors

١- فوسفات الكالسيوم Calcium phosphate:

إن إدخال الجينات بواسطة فوسفات الكالسيوم قد تم تطويرها بواسطة جرهام وفان دير عام ١٩٧٣م (Graham and van -der Eb)، وتعد من أكثر الطرق استخداماً لإدخال الجينات إلى خلايا الثدييات، حيث تتميز بتكون راسب صغير غير ذائب من فوسفات الكالسيوم والحمض النووي يتم امتصاصها بواسطة الخلية، فالطريقة تتطلب أولاً دمج الحمض النووي مع أيوانات الكالسيوم ثم إضافات الفوسفات إلى

الخليط، ثم تعريض الخلايا إلى الخليط النهائي في الطبق، فهناك العديد من أنواع الخلايا تم إدخال الحمض النووي إليها بهذه الطريقة وتختلف نسبة النجاح باختلاف أنواع الخلايا، فهي قد تصل إلى نسبة ٥٠٪ ويعتمد ذلك على نوع وحجم الخلايا وحجم الراسب المتكون فكلما كان الراسب كبير قلت نسبة نجاح إدخال المادة الوراثية للخلايا، فهذه الطريقة يبدو أنها لا تعمل على الخلايا المزروعة مبدئيًا ولا في الحيوانات الحية.

٢- الدكستران Diethylaminoethyl DEAE-dextran

يعد الدكستران من أول النواقل الكيميائية التي استخدمت للإدخال الحمض المحض النووي للخلايا، وقد أورد فاهيري وباقانو (Vaheri and Pagano) (١٩٦٥م) أن الدكستران استخدم لتفعيل دخول الفيروس للخلايا، فالدكستران مثل نواقل البوليمرات الكاتيونية (Cationic polymers) يندمج مع الحمض النووي كتفاعل التيار الإلكتروني (Electrostatic) وتظهر شحنة موجبة من الخليط، فعندما يضاف هذا الخليط للخلية يرتبط بالشحنات السالبة على غشاء بلازما الخلية ثم يدخل من خلال البلعمة الخلوية، ومقارنة بفوسفات الكالسيوم فإن الدكستران ذوا نفاذية أكبر، فقد تصل نسبة إدخال الجينات بواسطة الدكستران إلى ٨٠٪. فالدكستران سهل ومرن ولا يحتاج إلى سيرم لكنه سام للخلية بنسبة أكبر من غيره.

٣- الدهون الكاتيونية (Cationic lipid)

إن استخدام الدهون الكاتيونية للإدخال الجينات إلى الخلايا كانت بقيادة فولقنر ومساعديه (Felgner and colleagues)، وأول الدهون الكاتيونية التي تم تحضيرها للإدخال الحمض النووي كانت مادة N-(2,3-dioleoyloxypropyl) N,N,N, - (trimethylamonium chloride (DOTMA)).

فعندما يتم إضافة الماء إلى هذا المركب يكون قطرات دهنيه أو ليبوسوم مع أو بدون إضافة مكونات دهنيه له، وعندما يخلط هذا المركب مع الحمض النووي

(DNA+DOTMA) فإن الشحنة الموجبة على سطح القطرة الدهنية او الليوسوم تنجذب كهربائيا مع الشحنة السالبة على هيكل ذرة فوسفات الحمض النووي ليتكون معقد ليوسوم / الحمض النووي يعرف بالمعقد الدهني أو باليوبلكسس (Lipolplexes)، فعندما يضاف المعقد الدهني (اليوبلكسس) إلى الخلايا في البيئة يظهر تعبير الجين في الخلايا وبنسبة نجاح متفاوتة من ٥٪ إلى ٩٠٪ ويعتمد ذلك على نوع الخلايا المستخدمة. إن الدهون الكاتيونية لها ميزات من قدرة عالية ومدى واسع على إدخال الجينات لكثير من أنواع الخلايا وسميتها منخفضة (low toxicity)، وقد بذلت جهود كبيرة خلال العقود الماضية لمعرفة آلية ادخال الدهون للجينات إلى الخلايا، فالتائج من الدراسات في الطبق (*In vitro*) أو في داخل الجسم (*in vivo*) أوضحت أن التركيب الكيميائي الفيزيائي لليوسومات تؤثر على قدرة الاختراق للخلايا وأهمها خصائص التركيب ثلاثي الأبعاد:

١ - الشحنة الموجبة على رأس المجموعة.

٢ - الرابط أو الخطاف الكاره للماء.

٣ - الرابط بين رأس المجموعة والخطاف.

فرأس المجموعة يتراوح من ١- إلى ٤ مجاميع نيتروجينية امونيوم (Ammonium group) ابتدائي وثنائي وثلاثي ورباعي التركيب، فأحد التراكيب الشائعة للرابط أو الخطاف الكاره للماء يتكون من سلسلتين من الهيدروكربون والكلسترول ما عدا بعض الجلسترول الذي يحتوي على سلسلتين رابطتين، فالدراسات عن العلاقة بين التركيب والوظيفة بالحقن عن طريق الوريد أظهرت أنه على الأقل لابد أن يحتوي المركب الدهني للإدخال الجينات على الأشياء الآتية:

١ - رأس كاتيوني مع سلسلة هيدروكربون مجاورة له.

٢ - رابطة ايثر لتربط السلسلة بهيكل المركب.

٣- سلسلة مزدوجة من الدهن (Paired oily chains) كرابط كاره للماء (Hydrophobic anchor).

وبدون هذه الأشياء تكون نسبة الاختراق ضعيفة في التجارب على الفأر، أما الدراسات في الطبق فإما زالت غير مؤكدة فهي تختلف باختلاف الخلايا. على الرغم من كثرة المركبات الليوسومية المدججة مع الحمض النووي التي تم إنتاجها فإن قدرة إيصال الحمض النووي إلى داخل الخلية تعتمد على حجم معقد المركب المنتج لإدخال الجينات إلى الخلايا، وكذلك على نسبة الشحنة بين الأمينات والحمض النووي (+/- Amines to DNA phosphate ratio)، فالمركبات التي حجمها يصل إلى أكبر من (200nm) ومعدل شحنة يصل إلى ١ تعد مناسبة لإخال الجين للخلايا في الطبق، في حين أن الحقن الوريدي يحتاج إلى نسبة شحنة تصل إلى أكثر من ١٢، ويعد الكوليسترول أفضل من (DOPE) كمساعد دهني للحقن داخل الأجهزة (Systemic transfection).

٤- البوليمرات الكاتيونية (Cationic Polymers):

على عكس الدهون الكاتيونية تعد البوليمرات الكاتيونية محبة للماء وتذوب فيه، وهناك ثلاثة أنواع من البوليمرات الكاتيونية تم استخدامها للحقن، عديد الليسين أو البولي ليسين السبرمين والهستون (Polylysine, Spermine, Histone)، وأكثرها استخدامًا هو عديد الأيثلين أو البولي إيثلين أمين والمركب المتفرع أو الدندريمر (Dendrimers) (PEI) (Polyethyleneimine)، فعديد الأيثلين مركب عضوي متشعب بشكل كبير ينتج من بلمرة الأزردين (Aziridine) فكل ثلاث ذرات توجد ذرة نيروجين للأمين، فهو يعد من أكثر البوليمرات التي تحمل شحنة موجبة عالية، فالمحتوى المرتفع للنيروجين في البوليمر يجعله يعمل كمنظم في درجات مختلفة من الأس الهيدروجيني، تعد نسبة حقن الجينات بواسطة عديد الأيثلين على أنواع متعددة من الخلايا في الطبق ذات قدرة عالية مقارنة بالدهون الكاتيونية.

إن المركب المتفرع (الدندريمر Dendrimers) من المركبات المستخدمة حديثاً وذو تفرعات كروي لكثنة يختلف في تركيبة المبدئي بعدد الطبقات التي يتألف منها كل جزيء. فالمنشئ الشائع للدندريمر يحتوي على الأمونيا (NH_3)، والتركيب المحدد وكثرة مجموعات الأمين على المركب أعطته ميزه كحامل للحمض النووي للخلايا، كذلك الدقة في حجمه وتركيبه ميزة كمركب متجانس، فعندما يضاف الحمض النووي للبوليمرات يتشكل مركب كروي بحجم يتراوح من ٤٠ - ١٠٠ نانومتر (40-100nmK) إذ يعتمد ذلك على حجم البوليمر والحمض النووي والنسبة بينهما وتركيز الايونات في المحلول المنظم، فالمعقد المتعد الذي يتكون من البوليمر والحمض النووي يسمى البوليليكس (Polyplexes)، وعندما يضاف إلى الخلايا في الطبقة يتم أخذه بواسطة الخلايا، وكما هو بالنسبة للدهون الكاتيونية فالبوليمرات أيضاً تختلف نسبة إدخالها للجينات حسب نوع الخلايا وتركيبها وحجم البوليمر ونسبة الحمض النووي للبوليمر، لكن البوليمرات تعد أكثر سمية للخلايا مقارنة بالدهون الكاتيونية.

٥- المركبات المزدوجة Combined Systems

المركبات المزدوجة يتم إنتاجها من الدهون والبوليمرات، ونسبة إدخال الجينات للخلايا تكون أكبر عند استخدام مركبات مزدوجة مثل القطرات الدهنية أو الليبوسومات (Cationic liposomes) الكاتيونية عندما تدمج مع عديد الليسين أوالبوليلسين أو كبريتات البروتامين أو الببتيدات (Ploylysine, protamine sulfate, peptides, or PNA).

إن آلية عمل المركبات المزدوجة غير معروفة بالضبط لكن الحمض النووي يكون أكثر قدرة على تجاوز عملية تحطيمه بواسطة الأندوسومات الخلوية وإدخال الجين إلى النواة بشكل أفضل.

آلية عمل المركبات المحضرة لإدخال الجينات للخلايا

Mechanisms of gene Delivery by synthetic vectors

إن الآلية التي يتم من خلالها إدخال الجين أو جزئي الحمض النووي للخلايا بواسطة المركبات الكيميائية المصنعة تعتمد على تحول جزيء الجين كجزيئين من المركب، فالجين يرتبط بالمركب الكيميائي عن طريق الشحنات الكهربائية عليه (عدا فوسفات الكالسيوم التي تكون راسب)، فالجين يتم حمايته من المحللات في الخلية بواسطة المركب المحضر.

ولكي يتم إدخال الجين أو جزئي الحمض النووي للخلايا لابد من حدوث الآتي:

- ١- الارتباط بسطح الخلية .
- ٢- عبور غشاء الخلية .
- ٣- انطلاق الجين أو جزء الحمض النووي داخل سيتوبلازم الخلية.
- ٤- عبور الجين أو جزء الحمض النووي إلى داخل نواة الخلية.

خطوات آلية عمل المركبات المحضرة لإدخال الجينات للخلايا

Mechanisms steps of DNA Delivery by synthetic vectors

١- الارتباط بسطح الخلية: Binding to Cell Surface

إن الارتباط بسطح الخلية يتم بالطريقة الشحنات الكهربائية أو الكهروستاتيكية (Electrostatic) بين الشحنات الموجبة على المركب الكيميائي المحضر والشحنات السالبة على سطح الخلية، كما أنه يمكن زيادة الارتباط بين معقد الجين أو جزء الحمض النووي وسطح الخلية عن طريق الطرد المركزي، ومن الأشياء التي تزيد من قدرة الارتباط بين معقد المركب وسطح الخلية هي استخدام معقد المركب كبير الحجم.

٢- تحرر الجين أو جزء الحمض النووي من المركب: Gene DNA release from Complexes

على الرغم من أن تكون معقد الارتباط بين المركب الناقل والحمض النووي

ضروري للإدخال الجين أو جزء الحمض النووي للخلية لكن تحرر الجين يتطلب بعد دخوله الخلية. فتجارب حقن المركبات الكيميائية كمركبات المعقد الدهني (Lipoplexes) أو الحمض النووي الحر مباشرة في أنوية البويضات لا يؤدي إلى تعبير لجينات الحمض النووي المحقون فيما بعد مقارنة بالحمض النووي الحر المحقون، فتجارب اكس وسزوكا ١٩٩٦م (X and Szoka) تقترح بأنه ربما أنه أثناء اندماج المركب الناقل مع غشاء الخلية يؤدي ذلك إلى تحرر الجين أو المحض النووي من المركب وانطلاقة في السيتوبلازم، فمعادلة الشحنات الكهربائية (الموجبة) الموجودة على المركب (بالسالبة) الموجودة على سطح الخلية ربما تؤدي إلى تحرر الجين أو جزء الحمض النووي من المركب وانطلاقة في السيتوبلازم.

٣- النقل إلى النواة Nuclear transport :

عندما يتحرر الجين أو جزء الحمض النووي في السيتوبلازم فإنه يدخل النواة لكن كيفية الطريقة لاتزال غير واضحة بشكل قطعي، فالحقن الآلي للبللازميد حامل الحمض النووي في السيتوبلازم يؤدي إلى دخول الحمض النووي إلى النواة بشكل منخفض، كذلك من المعوقات أيضًا وجود الأنزيمات المحللة للحمض النووي، فوجود هذه الأنزيمات يقلل من فعالية دخول الجين للنواة. بعض الدراسات تشير إلى أن اندماج الجين أو الحمض النووي بالنواة ربما يعود إلى نوعية وتركيب أو متتالية الجين أو الحمض النووي المنقول، فحقن جين أو حمض نووي يحتوي على متتالية أصلية ذات نسخ وبادي سنديا فيرس ٤٠ (Replication origin and SV40 promoter) تؤدي إلى دخول جيد للجين أو للحمض النووي إلى النواة، كما أن احتواء الجين أو الحمض النووي على سلسلة من الليسين والأرجنين في الببتيد تزيد من فرص دخول الحمض النووي للنواة.

تقييم النقل الجيني (Optimizing transfection)

بشكل عام فإن إيصال الجينات للخلايا المعينة تواجه بعض الصعوبات لابد من التغلب عليها، فوجود مركب كيميائي واحد مناسب لنقل الحمض النووي

للخلايا جميعًا من غير الممكن. فكل خلايا معينة لها مركب معين مناسب، كذلك الطريقة التي يتم فيها تحضير وتصنيع المركب الكيميائي أيضًا تتطلب خطوات معينة تختلف من شركة لأخرى للمركب نفسه؛ لذلك لابد من اتباع خطوات معينة حسب النموذج المعد من الشركة المصنعة للنقل الكيميائي لنوع الخلايا المنقول إليها؛ لذلك لابد من عمل تقييم لكل تجربة لكل مركب لكل نوع الخلايا خاصة إذا كان التجربة تعمل لأول مرة في المختبر.

ثانيًا: الطرق الفيزيائية لإدخال الجينات في الخلايا Gene delivery using Physical methods

إن دراسة نقل الجينات تعد من الدراسات الحديثة لعلم الأحياء الجزيئي، ونقل الجينات الخارجية للخلايا تعد من الخطوات المهمة لمعرفة أو فهم آلية أو وظيفة الجينات المكتشفة حديثًا. ومع التقدم في أبحاث الجينوم البشري تصبح الحاجة لتقنية حقن الجينات لتصميم كثير من الجينات وحقنها للمعالجة (بالجينات لا Ene therapy) تصبح ذات أهمية لكثير من الأمراض الوراثية، وانتقال الجينات يحدث طبيعيًا في بعض الحالات كما في بدائية النواة (كالبكتيريا) كما تنقل الجينات بواسطة الفيروسات، كما تم استخدام الفيروسات الورمية لإدخال الجينات في خلايا الثدييات.

أنواع الطرق الفيزيائية لإدخال الجينات في الخلايا Gene delivery using Physical methods

- ١- أدخل الجينات بواسطة الحقن الدقيق (المجهري) Gene delivery to mammalian Cells by microinjection
- ٢- الحقن التقليدي بواسطة الإبرة الحافنة Conventional needle injection
- ٣- الحقن بواسطة ضغط السائل العالي High-pressure needle injection (Hydrodynamic).
- ٤- أدخل الجينات بواسطة آلة الإطلاق للجينات Delivery of DNA to cells in culture using particle bombardment.

٥- أدخل الجينات بواسطة النقل الكهربائي Efficient electroporation of mammalian cell in culture

٦- أدخل الجينات بواسطة الأشعة فوق صوتية Delivery of DNA to cells in culture using ultrasound.

والجدول (١, ١٢) يوضح الطرق الفيزيائية لإدخال الحمض النووي الى الخلايا وميزاتها ومعوقات كل طريقه، ولزيد من المعلومات يمكن الرجوع للمرجع William C.Hieser (2001): Vol I.

لكي يتم إدخال الحمض النووي لخلايا معينة لابد من التغلب على بعض المعوقات التالية:

- الشحنة السالبة على الجين أو جزئي الحمض النووي (DNA) عليها أن تتجاوز عددًا من الحواجز البيولوجية والتي قد تعيق دخولها والتحامها بالنواة.
- كبر حجم الجين أو جزئي الحمض النووي كلما كان كبيرًا يصعب دخوله.
- الطرق الفيزيائية تعتمد على تمزيق الأنسجة أو الغشاء الخلوي.
- الجين أو جزئي الحمض النووي الذي يتم حقنه بالجسم (*In vivo*) لابد أن يكون له عمرًا افتراضيًا داخل الجسم كالأدوية يكون لها نصف عمر وبعدها يتخلص منها الجسم.
- النقل السريع بواسطة الطرق الفيزيائية أيضًا يتطلب تقليل الجرعة المناسبة لتؤدي الاستجابة البيولوجية (Biological response).

١- الحقن المجهرى الدقيق: Microinjection:

تعد طريقة الحقن الدقيق من الطرق الفيزيائية الأكثر استخدامًا لإدخال الجينات إلى الخلايا ولا تزال هي الأكثر شيوعًا في إنتاج الحيوانات المعدلة وراثيًا (Transgenic animals).

فهي تسمح بحقن حتى خلية واحدة ومتابعة العمليات المعقدة للخلايا. فهي بالإضافة إلى حقن مادة وراثية يمكن أن تستخدم لحقن المادة الوراثية

(mtDNA) للميتوكوندريا في السيتوبلازم مما يتيح دراسة أو علاج حتى الأمراض غير المندلية Non Mendelian genetic diseases، حيث إن حقن المادة الوراثية للميتوكوندريا بواسطة البلازميد يتراوح نصف عمرها من ٥٠-٩٠ دقيقة.

فحقن المادة الوراثية العارية داخل النواة يتجاوز المواد الهاضمة لها بالسيتوبلازم ويكون أفضل لإندماجها بالمادة الوراثية للخلية، على الرغم من ذلك فإن تقنية الحقن المجهرى الدقيق تتطلب عملاً معملياً وجهداً ووقتاً حتى نحصل على نجاح لتعبير المادة الوراثية المحقونة، وأيضاً ليس لها إلى الآن تطبيق مباشر على الحقن داخل الجسم للعلاج الجيني.

٢- الحقن المباشر للحمض النووي بالإبر التقليدية: Direct DNA inoculation by conventional needle

إن استخدام الحقن التقليدية (Hypodermic needle) لحقن الجين أو الحمض النووي العاري (Naked DNA) محلياً تعد أقل خطراً من استخدام مواد قد تسبب الإصابة أو التسمم. فمن المثير أن حقن الحمض النووي العاري لا يسبب أي إصابة للخلايا (*Ex vivo*) ما لم تستخدم مواد كيميائية معه، فعند حقن العضلات الهيكلية (*im*) باستخدام الحمض النووي العاري فإنه لا يسبب أي التهاب، في حين أن حقن الحمض النووي باستخدام البلازميد سواء بالحقن تحت الجلد (*im, sc*) أو بالعضلات يسبب التهابات، إن الحقن المباشر للحمض النووي في العضلات البالغة ليس فعال نسبته (١-٢٪). قد تم استخدام الحقن المباشر بالإبر في معظم أعضاء الجسم كالكلب والگدة الدرقية وعضلات القلب والجهاز البولي والمخ، وكذلك حقن الأورام، فقد أظهرت تعبيراً للجينات المحقونة ونتائج فعالة للعلاج، إن الآلية التي من خلالها يلتحم الحمض النووي مع مادة النواة عند حقنة بالجسم (*in vivo*) لاتزال غير معروفة، فهناك عدة طرق استخدمت لذلك، منها استخدام حمض نووي جاف (Dry DNA pellets) تعطى نتائج أفضل من استخدام حمض نووي في محلول، كذلك حقن العضلات بمواد عدة مثل السيفكاين (Bupivacaine) أو محلول عالي المالحية يزيد من

قابلية الحقن، من عيوب طريقة الحقن المباشر بالإبر التقليدية هي انخفاض نسبة ناتج الحقن (Low transfection) وقلة التعبير في معظم الأنسجة، إلا أن الحقن المباشر بالجسم فتحت آفاق لتطوير آليات أفضل للحقن لإيصال الجينات مباشرة.

هناك جهاز الحقن (Jet injection) قد صمم للإيصال الادوية بدون استخدام الإبر، ويمكن استخدامه للإدخال الحمض النووي بمحلول وإدخاله بضغط المحلول بالقوة لكي يعمل فتحه صغيرة بالجلد.

٣- الحقن بواسطة ضغط السائل: Hydrodynamic Injection:

إن حقن الحمض النووي العاري عن طريق وريد ذيل الفأر لا يؤدي إلى تعبير للجينات المحقونة في الأعضاء جسم الفأر نتيجة لتحطم الحمض بواسطة الأنزيمات الهاضمة والتخلص منه بواسطة الخلايا الأكلة، مع ذلك فإنه تم استخدام الحقن السائلي بحقن كمية كبيرة من الحمض النووي مع كمية سائل كبيرة نوعاً ما التي تساوى كمية الدم في الفأر (e.g. 5 ug. DNA in 1.6 ml saline) قد تعطي بعض النتائج.

٤- أدخل الجينات بواسطة آلة الإطلاق للجينات: Delivery of DNA to cells in culture using particle bombardment.

أول ما استخدمت هذه الآلة لحقن الجينات في النبات كالذرة والرز ثم استخدم على خلايا الحيوان، حيث يتم خلط الحمض النووي المراد إدخاله إلى الخلايا مع برادة من التنجستن أو من كريات متناهية في الصغر ثم تحشى في آلة إطلاق (كما في البندقية لأطلاق النار) ولكن بشكل اقل باستخدام ضغط غاز الهيليوم، حيث يتم إطلاقها على الخلايا فتدخل الحمض النووي للخلايا. كما في الشكل المرفق (١، ١٢)، حيث يوضع الطبق الذي فيه الخلايا داخل حجرة الإطلاق ويغلق عليها الباب ثم يتم حشو الجهاز بالبرادة ومعها الحمض النووي لكي تطلق على طبق الخلايا.

جدول رقم (١, ١٢). يوضح مقارنة بين مزايا الطرق الفيزيائية لادخال الجينات إلى الخلايا.

الطريقة الفيزيائية	المبدأ	الجهاز المستخدم	كمية الحمض النووي DNA	مميزات الطريقة	عيوب الطريقة
الحقن بالإبرة Needle Injection	قوى فيزيائية	حاقنة	مرتفعة	أقل تكلفة، بسيطة سهولة الحصول عليها للعلاجات	أقل قابلية
الحقن الدقيق Microinjection	حقن الحمض النووي (DNA)	إبر حاقنه مجهرية	قليلة	جيدة لحقن خلية واحدة، لا تحتاج إلى أنزيمات	تحتاج خبرة عملية، غير عملية للمعالجة الطبية
إطلاق المواد Particle bombardment	حاملات دقيقة تسرع بواسطة ضغط على	أجهزة إطلاق متعددة	قليلة	قابلة عالية لحقن الأنسجة	تحتاج إلى أجهزة ومكلفة
إدخال كهربائي Electroporation	ضغط كهربائي	جهاز ضغط كهربائي	قليلة	طريقة فعالة ومطورة	تحتاج للتجربة على الإنسان وتقبل المجتمع
ضغط مائي Hydrodynamic	قوى ضغط مائي Hydrodynamics force	تحتاج إلى حاقنات خاصة	متوسطة	بسيطة وسهلة الاستعمال	محدودية الأنسجة المستخدمة
كبسولات Encapsulated microspheres	بلعمة كبسولات الحمض النووي الصغيرة	لا تحتاج بلعمة خلوية	متوسطة	يمكن التحكم بالدفع والاطلاق/ اقل تكسر	تحتاج لتحكم في التركيب
الأشعة فوق صوتية Ultrasound	عمل ثغرات (بالأشعة فوق صوتية)	جهاز اشعة فوق صوتية	قلية إلى متوسطة	آمنة وأقل تدمير للأنسجة	تحتاج إلى تقنيات وخبرات محدودة

٥- ادخل الجينات بواسطة النقل الكهربائي Efficient Electroporation of mammalian cell in culture.

تعتمد هذه الطريقة على استخدام تيار كهربائي متردد يؤدي إلى عمل ثغور في أغشية الخلايا مما يؤدي بعد ذلك إلى أن يمكن أن تدخل الخلايا الحوض النووي للجين إليها، فعند تعريض الخلايا لتيار كهربائي فإنه يعمل على تغير في النفاذية نتيجة لفتحه لثغور في غشاء الخلايا وعند قطع التيار فإن هذه الثغور تغلق خلال دقيقة أو أقل دون أن تؤثر هذه الثغور على الخلايا، وقد استخدمت خلايا النباتات والبكتيريا بنجاح وعند استخدامها مع الخلايا الحيوانية فإنه تستخدم مع محلول فسيولوجي ممزوج معه الحمض النووي للجين المراد حقنه.



شكل رقم (١، ١٢). آلة الإطلاق للجينات على الخلايا حيث يوضع الطبق الذي فيه الخلايا داخل الغرفة الإطلاق ويغلق عليها الباب ثم يتم حشو الجهاز ببرادة التبريد ومعها الحمض النووي لكي تطلق على طبق الخلايا.

٦- إدخال الجينات بواسطة الأشعة فوق صوتية Delivery of DNA to cells in culture using ultrasound.

تعمل الأشعة فوق صوتية على فتح ثغور في الخلايا أو تحوير في نفاذية الخلايا. (Transiently permeable) حيث تكون الخلايا في محلول فتعمل الأشعة فيه فقاعات

ملئمة بالبخار في المحلول وانفجار هذه الفقاعات كفيل بأن يدخل الحمض النووي للجين للخلايا لما تحدثه من خلل في نفاذية الخلايا حيث تسمى هذه الفقاعات البخارية بالتجاويف (Cavitation).

ويمكن أن تعمل الأشعة فوق صوتيه على إدخال المادة الوراثية أو الجين في الخلايا سواء التي في الطبق أو داخل الجسم. والجدول (٢، ١٢) يوضح مقارنة بين الطرق المختلفة لإدخال المادة الوراثية للخلايا.

ثالثاً: استخدام الفيروسات لإدخال الجينات للخلايا **Viral Gene Transfer Techniques**

- استخدام الفيروسات المحايدة لإدخال الجينات للخلايا Adenovirus –mediated Gene Delivery .
- استخدام الفيروسات المشاركة للإدخال الجينات للخلايا Adeno- Associated viral vectors Gene Delivery.
- استخدام فيروسات الهربس لإدخال الجينات للخلايا Delivery using Herpes simplex viruses
- استخدام فيروسات البكتيريا لإدخال الجينات للخلايا Baculovirus –mediated gene delivery into mammalian cells.
- استخدام اللتوفيرس لإدخال الجينات للخلايا Gene delivery by lenti-virus vector.
- استخدام الريترو فيرس لإدخال الجينات للخلايا Gene delivery by Retoviruses vectors.
- استخدام الألفا فيرس لإدخال الجينات للخلايا Gene delivery by Alpha virus.

لمزيد من المعلومات يمكن الرجوع للمرجع (2001): William C.Hieser Vol II.

جدول رقم (٢, ١٢). يوضح مقارنة بين مزايا الطرق المختلفة لإدخال المادة الوراثية إلى الخلايا.

الطريقة المستخدمة لإدخال الجينات الحمض النووي (DNA)	ميزاتها	عيوبها
النواقل الحيوية أو الفيروسات	ذات فعالية مرتفعة في النقل مناسبة لإيصال إلى الأجهزة مناسبة للاستهداف خلايا معينة	الطريقة معقدة التصنيع تحتاج إلى عناية وتحكم عالية تكلفتها مرتفعة تتداخل مع الجهاز المناعي أو تجد مقاومة تحتاج لوسائل السلامة أو الحذر تحتاج لوسائل تخزين عالية التجميد
الطرق الكيميائية	مرتفعة الفعالية مع زراعة الخلايا سهلة التصنيع نوعا ما باعتماد على الجين أقل محدودية في حجم الجين سهلت التخزين مع جودة للتحكم	محدودة التطبيقات الطبية او العلاجية تواجه تحديات في تحضير تركيبة ثابتة لكل مادة كيميائية.
الطرق الفيزيائية	لها ميزه مرتفعة في الحقن الموضعي. لا تعتمد على نوع الخلايا سهلة في ضبط المستوى أو الاستندر أقل محدودية في الاعتماد على حجم الجين مناسبة للتطبيقات خارج الجسم	غالبا تحتاج إلى أجهزة أو معدات معينة

الحقن المجهري للنطف

Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI)

إن تقنية الحقن المجهري للنطف (ICSI Intra-cytoplasmic sperm injection) تستخدم لإدخال الحيوان المنوي إلى سيتوبلازم البويضة مباشرة باستخدام جهاز الحقن المجهري الدقيق (Micromanipulator)، في البداية لقد صمم جهاز الحقن المجهري لأجل دراسة خطوات الإخصاب في الثدييات، ثم أصبح له تطبيقات شتى

في مجال علاج العقم للتغلب على عدم الخصوبة التي لا يمكن علاجها من خلال الإخصاب الاصطناعي الخارجي (في الطبقة *In vitro fertilization IVF*) وفي مجال التقنيات الحيوية من حقن الجينات ودمج الأجنة والتقنية المساعدة على الإنجاب (ART) (Assisted Reproduction Technology)، ولعلاج خلايا الأجنة أثناء النمو، وحقن الخلايا الجذعية مع خلايا الأجنة، والاستئصال بإزالة نواة البويضة وحقن خلية جسدية بدلها، لقد أمكن الحصول على أجنة من خلال الحقن المجهرى للطلائع المنوية (ROSI) في كل من الفأر والأرنب والجرذ والإنسان والهامستر، وأول عملية حقن مجهرى للنطف الإنسان عملت عام ١٩٩٢م.

أوجه الاختلاف بين الحقن المجهرى والاختصاص الخارجى أو الفرق بين الحقن المجهرى والإخصاب الاصطناعي الخارجى (في الطبقة).

طريقة الإخصاب الاصطناعي في الطبقة تتم بترك حوالي مئة حيوان منوي سليم مع كل بويضة في قطرة من بيئة الإخصاب (٥٠ ميكرون) في الطبقة وتوضع في الحضان لمدة ساعة أو ساعتين ثم تغسل البويضات وتنقل إلى بيئة تنمية ثم تفحص بعد ١٠-١٢ ساعة من الإخصاب لتأكد من أن البويضة أخصبت بحيوان منوي واحد (رؤية نواتين الذكورية والأنثوية في سيتوبلازم البويضة) فإذا كان هناك أكثر من نواتين فمعنى هذا أن البويضة لقحت بأكثر من حيوان منوي ويجب أن تستبعد.

في حين أن الحقن المنوي يتم اختيار حيوان منوي واحد أو طليعة منوية واحدة فقط لكي يتم حقن داخل سيتوبلازم البويضة بواسطة جهاز الحقن المجهرى الدقيق.

أوجه الشبه بين الحقن المجهرى والتلقيح الاصطناعي الخارجى (IVF طفل الأنبوب):

١- تهيئة الجسم للمرأة لتنشيط عدد كبير من البويضات.

٢- تنشيط نمو الحويصلات بالمبيض .

٣- متابعة نمو الحويصلات.

٤- سحب البويضات من المبيض باستخدام المنظار أو جهاز اللابرسكوب.

٥-نقل الأجنة إلى داخل الرحم .

٦-متابعة الحمل لحين الولادة.

فالحقن المجهري لا يختلف عن الإخصاب الاصطناعي الخارجي (طفل الأنابيب) إلا في طريقة إخصاب البويضة، ففي طفل الأنابيب يعتمد على التلقيح الطبيعي للبويضة بالطبق، لكن في الحقن المجهري يتم اختيار الحيوان المنوي لكي يحقن داخل البويضة تحت المجهر وبواسطة جهاز الحقن المجهري الدقيق.

ما الأسباب التي تدعو الى استخدام الحقن المجهري (ICSI) :

أولاً حل مشاكل العقم بالنسبة للزوج:

حالات عدم وجود حيوانات منوية بالسائل المنوي لسببين:

- ١ - انسداد في الأنابيب الموصلة للحيوانات المنوية (الوعاء الناقل)، حيث تجرى عملية جراحية لإستخراج حيوانات منوية من البربخ.
- ٢ - عدم وجود حيوانات منوية لسبب بالخصية، حيث يتم استخراج طلائع منوية من الخصية (الأنبيبات المنوية).

وفي كلا الحالتين لابد أن يتم تجهيز الزوجة بحيث يتم استخراج بويضات منها جاهزة للتخصيب.

ثانياً: حالات خاصة بالزوجة:

قلت عدد البويضات خلال إجراء طفل الأنبوب.

وجود تركيز عالٍ من الأجسام المضادة للحيوانات المنوية في الجهاز التناسلي للزوجة.

فشل الإخصاب أو الحمل بعد إجراء طفل الأنبوب.

وفيما يلي الظروف التي يفضل فيها الاتجاه للحقن المجهري للنطف (ICSI):

حالة انسداد قناتي فالوب، حالة عدم وجود قناتي فالوب نتيجة لجراحة سابقة، أو الحالات التي فشلت فيها الجراحة لإصلاح عيوب قناة فالوب، كذلك الحالات

التي لم تنجح فيها محاولات للتلقيح الإصطناعي لأن حوالي ٨٥٪ من الحالات الناجحة تحدث في الثلاث مرات الأولى.

كذلك حالات تأخر الحمل للأسباب عديدة، حالات عدم التبويض التي لم تنفع فيها وسائل التنشيط، حالات ضعف خصائص السائل المنوي والنطف الذكورية، أو وجود أجسام مضادة للحيوانات المنوية في الجهاز التناسلي للزوجة.

خطوات الإعداد للحقن المجهرى للنطفة (ICSI) Intracytoplasmic Sperm Injection

تهيئة جسم المرأة لعملية طفل الأنبوب:

- تهيئة مبايض المرأة لكي تنتج أكبر قدر من البويضات بواسطة الهرمونات المنشطة.
- تنشيط نمو الحويصلات بالمبيض .
- متابعة نمو الحويصلات البويضية.
- شطف البويضات من المبيض بواسطة المنظار.
- تحضير أو جمع الحيوانات المنوية أو تنسير خزعة من نسيج الانبيبات المنوية للزوج.
- إجراء الحقن المجهرى للحيوان المنوي أو الطليعة المنوية (Spermatied) داخل البويضة بواسطة جهاز الحقن المجهرى الدقيق، ثم تنمية الأجنة المتونك من الاخصاب.
- نقل الأجنة المتكونة إلى الزوجة المهابة فسيولوجيا لإستقبال الجنين المنقول .
- متابعة الحمل والولادة.

إجراءات حقن البويضات بالحيوان المنوي (ICSI) شكل (٢، ١٢، ب):

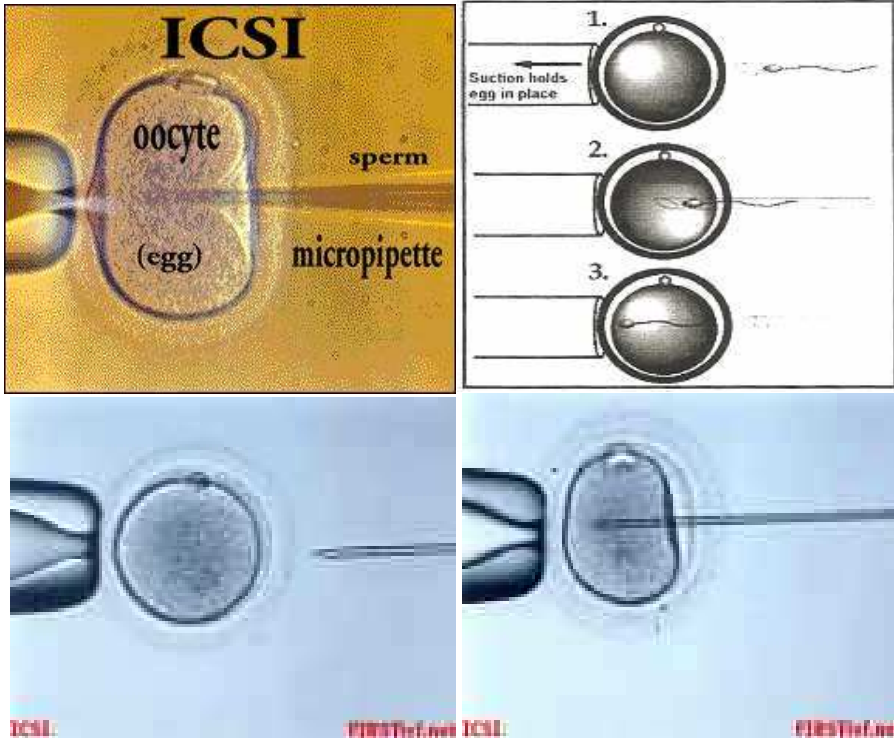
البويضة هي من أكبر خلايا جسم الإنسان (٢٠٠ ميكرون) ولكن لكي يتم التعامل معها لابد أن يكون تحت المجهر فبعد الحصول عليها من الأم يعمل الآتي:

١- يتم إزالة الخلايا التي تحيط بالبويضة (الخلايا الحويصلية) بواسطة أنزيم الهيالورونوديز (Hyalornidase) ولا يؤثر على البويضة نفسها.

٢- يتم عمل التقييم الشامل للحيوانات المنوية ثم يتم تخدير مجموعة منها بواسطة البولي فينيل بروبين (PVP) يتم سحب أحد الحيوانات المنوية من الطبق أو أخذ طليعة منوية (Spermatied) من نسيج الخصية في أنبوبة الحقن المجهرى (Injection) .pipette

٣- يتم تثبيت البويضة بواسطة أنبوبة المسك المجهرية (Holding pipette).

٤- حقن الحيوان المنوي أو الطليعة المنوية داخل البويضة بواسطة إبرة الحقن المجهرى.



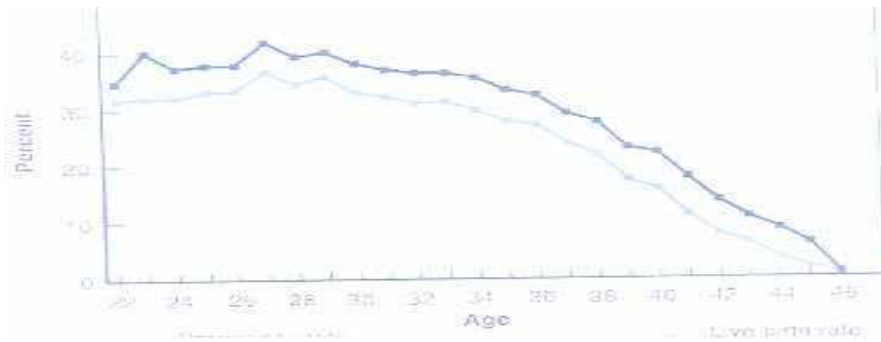
شكل رقم (٢، ١٢، أ، ب). يوضح (أ) صورة لعملية الحقن المجهرى والدقيق للبويضات.

Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI) نسبة فرص نجاح الحقن المجهرى

إن فرص انجلىح لحقن المجهرى (ICSI) قد تقل أحياناً عن فرص نجاح التلقيح الاصطناعي الخارجى (IVF طفل الأنابيب) فى الإنسان ولكن تعتمد على طبيعة الحالات التى يتم علاجها وعمر المرأة والمراكز والأشخاص العاملون فى مراكز طفل الأنبوب، ويمثل الجدول الحالات التى تم نقل الأجنة إلى الأمهات فى أحد مراكز العلاج:

سن الزوجة	سنة ٢٠٠٣	سنة ٢٠٠٤
عدد المحاولات	٢٩٣ محاولة	٣٦٦ محاولة
أقل من ٣٥ سنة	٤٨,٩ %	٥٩,٦ %
من ٣٥-٣٧ سنة	٤٢,١ %	٥٤,٥ %
أكثر من ٣٧ سنة	١٧,٤ %	٢٣,٨ %
المتوسط لجميع الأعمار	٤١,٨ %	٥٠,٨ %

والشكل (١٢,٣) يوضح منحنى نسبة نجاح الحقن المنوى مع السن كلما زاد السن قلة النسبة.



شكل رقم (١٢,٣). يوضح منحنى نسبة نجاح الحقن المنوى مع السن كلما زاد السن قلة نسبة نجاح العملية.

الحقن المجهرى للطلائع المنوية (ROSI) Round Spermatid injection

تعد تقنية الحقن المنوي المجهرى (ICSI) من التقنيات التي تم تطويرها لعلاج العقم حيث تستخدم للأفراد الذين لا توجد لديهم نطفة كافية لعمل التلقيح الإصطناعي الخارجى (في الطب IVF) حيث يتم أخذ نطفة من الذكر أو أحياناً طليعة منوية تنسر من خزعة من نسيج الأنبيبات المنوية في الخصية تحت تاجهر ثم يتم حقنها داخل سيتوبلازم البويضة.

لقد أجرى الباحث مان زي جيانق ومساعدو (Man Xi-Jiang et.al) ٢٠٠٥م دراسة عن وقت موقع الحقن المنوي المجهرى للبويضات الفأر بواسطة حقن الطليعة المنوية (Round Spermatids ROSI) وأوضح أن وقت وموقع الحقن المجهرى للطليعة المنوية في (الفار والأرنب والإنسان) تلعب دوراً مهماً في الحصول على جنين كامل التكوين لكن من غير الواضح أنه عند حقن الطليعة المنوية في البويضة وذلك عند وقت ومكان محدد كيف يمكن أن يؤثر على إنتاج الجنين من حيث تكوين النويات الأولية وتكوين المفلجة في الفأر.

أولاً لقد تم التعرف على التغيرات الموضعية لموقع الجسم القطبي الأول وموضع خيوط المغزل بين ١١,٥ - ١٣ ساعة من الحقن المجهرى للطليعة المنوية في البويضة بعد معالجتها بهرمون (hCG)، ثانياً تم تنشيطها بواسطة (Str^2) وأخيراً مقارنة نمو اللاقحة المتكونة والبويضة المحقونة بالطليعة المنوية التي تشمل تكون النويات الأولية ونمو وتكون المفلجة.

فإن معدل تكون النواتان للبويضات المحقونة بالطليعة المنوية (ROSI) كان عالياً ضمن كل البويضات التي تمت معالجتها عند الساعة ٣ بالإضافة فإن معدل تكون المفلجة واللاقحة ذات النواتين زاد بمعدل ٤١, ٢٧٪.

هذه الدراسة تقترح أن وقت جمع البويضات للحقن وموقع الحقن بالطليعة المنوية قد يؤثر على تكوين النويتين وإلى حد ما تكوين المفلجة ونمو الجنين فيما بعد.

العوامل التي تتحكم في نسبة نجاح حقن الجينات:

- ١- مهارات العاملين في الحقن. ٢- نوع الجينات المحقونة.
 - ٣- مكونات البيئة المستخدمة. ٤- مدة أو فترة عملية الحقن.
- ففي الفأر الحقن المجهري للجينات يؤثر كثيرًا على نمو الأجنة ربما لما يحدثه من تلف للبويضات وتحللها شكل (٥، ١٢).
- كذلك معظم أجنة الإنسان التي يتم معالجتها بالحقن المجهري تتوقف عن التفلج أو تظهر سيتوبلازم متهتك تبدو عليها أعراض التحلل المميت (Apoptosis).
- لقد استطاع ماكرفيش ومساعدوه (A.V. Makarevich *et.al.*) ٢٠٠٥م من التغلب على بعض المصاعب وتنمية أجنة أرانب معدلة وراثيًا عن طريق الحقن المجهري وذلك بإضافة بعض عوامل النمو (EGF) للبيئات التي تنمى فيها الأجنة إما قبل حقن الجين أو بعده وجدول (٣، ١٢أ)، فقد تم حقن بويضات الأرنب بالجينات بعد ١٩-٢٠ ساعة من الإخصاب (خلال مرحلة تكوين النويات الأولية)، ثم تم إضافة عامل النمو للبشرة (EGF) إلى البيئات بتركيزات مختلفة (٢٠٠، ٢٠، ٠ نانوجرام)، ثم تم تنمية الأجنة إلى ٩٤-٩٦ ساعة بعد الإخصاب، فالأجنة المحقونة مجهريًا بالجين التي نمت إلى طور البلاستولة كان عددها أقل من الضابطة التي حقنت بمحلول الفوسفات المتعادل، كذلك عدد الخلايا في المفلجة كان أقل من المجموعة الضابطة، وكان فيها خلايا متهتكة جدول (٣، ١٢ب).

حقن الجينات في البويضات: Gene Microinjection

إن المعالجات الدقيقة للأجنة (*In vitro manipulation*) في التطبيق قد استخدمت بشكل كبير لإنتاج أجنة معدلة وراثيًا (Transgenic, chimeric cloned) فالحقن الدقيق لمادة الحمض النووي (جين معين) داخل بويضة الثدييات يمكن أن ينتج خطوطًا من الخلايا الجرثومية (Germ line)، لكن هذا الحقن الدقيق

للجينات قد يقلل فرص نجاح نمو الأجنة، فبويضات الأرنب ٣٦٪ منها تتوقف عند طور الخلية بعد حقن الجينات فيها، وتقلل معدل التفلج للأجنة وتزيد من معدل ضمورها، ومن التطبيقات التي أجريت على الدجاج هو إزالة الجين الخاصة بالريش فنتج دجاج عديم الريش (Feather less gene) شكل (٤, ١٢).



شكل رقم (٤, ١٢). صور لتطبيقات حقن الجينات في الخلايا لإنتاج دجاج فاقدة الريش. (Feather less gene) (من الشبكة العنكبوتية).



شكل رقم (٥، ١٢). صورة لحقن المجهرى للبويضات والذي قد يؤدي إنتاج أجنة متتهكة أحيانا.

جدول رقم (٣، ١٢ أ): يوضح تأثير تركيز عامل نمو الأدمة (EGF) على نمو الأجنة في الأرناب.

تركيز عامل نمو الأدمة (EGF)	عدد البويضات المستخدمة	عدد و. % الاجنة التي توقفت	عدد و. % طور التوتية	عدد و. % المفلجة
٠ (ng/ml) ضابطة	٥٨	٢ (٣، ٤٥) %	٤ (٦، ٩) %	٥٢ (٨٩، ٦٥) %
٢٠ (ng/ml)	٤٩	١ (٢، ٠٤) %	٣ (٦، ١٢) %	٤٥ (٩١، ٨٤) %
٢٠٠ (ng/ml)	٥٨	١ (١، ٧٢) %	١ (١، ٧٢) %	٥٦ (٩٦، ٥٥) %

جدول (٣، ١٢ ب): يوضح تأثير حقن الجين (Mi) + تركيز عامل نمو الأدمة (EGF) على نمو أجنة الأرناب خارجيًا. (عن أ. في. ماكريشي وزملائه ٢٠٠٥ (Makarevich et al. 2005)).

المجموعة التجريبية + تركيز الجين المحقون EGF + (Mi)	عدد البويضات المحقونة بالجين	عدد و. % الاجنة التي نمت او توقفت / تهكت	عدد و. % طور التوتية	عدد و. % التي طور المفلجة
غير محقونة	١٢٦	١٧ (١٣، ٥) % / ٠	٧ (٥، ٦) %	١٠٢ (٨١، ٠) %
٠ (ng/ml) Mi+	١٨٠	٥٨ (٣٢، ٢) % / ٢٢ (٣٧، ٠) %	١٤ (٧، ٦) %	١٠٨ (٥٨، ٤) %
٢٠ (ng/ml) Mi+	١٢٥	٣٢ (٢٥، ٦) % / ١٣ (٤٠، ٠) %	١١ (٨، ٨) %	٨٢ (٦٥، ٦) %
٢٠٠ (ng/ml) Mi+	١٤٣	٣٢ (٣٦، ٤) % / ٢٠ (٣٨، ٠) %	١٨ (٢٤، ٤) %	٧٣ (٥١، ٤) %

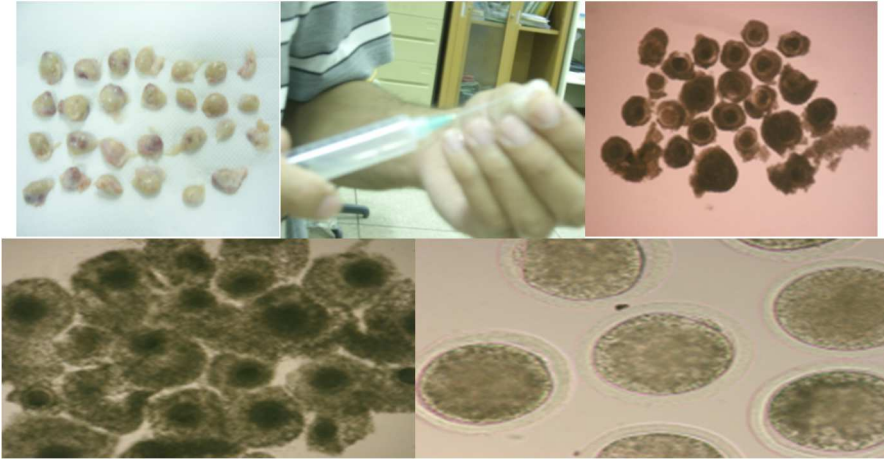
تطبيقات طريقة الحقن المجهرى لحقن نواة الخلية الجسدية لإنتاج الأجنة المستنسخة من الخلايا الجسدية. حيث تتلخص الطريقة بالآتي:

١- جمع البويضات من المبايض من المسلخ ثم إنضاجها لمدة ٢٤ ساعة في البيئة إنضاج البويضات. شكل (٦, ١٢أ).

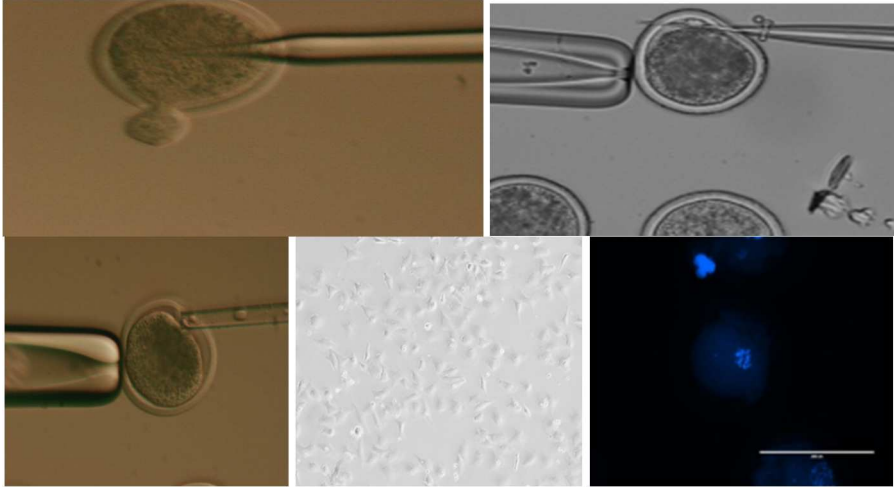
٢- إزله النواة من البويضة أو التأكد من إزالتها بفحص الأنوية المزالة تحت المجهر الفلورسنتى ثم حقن الخلايا الجسدية داخل البويضة شكل (٦, ١٢ب).

٣- دمج النواة المنقولة بسيتوبلازم البويضة بواسطة جهاز الدمج الخلوي ثم تنشيط البويضة وتنمية الأجنة إلى طور المفلجة.

٤- ثم نقلها إلى أم مستقبلة لتلد فيها بعد. (Alhimaidi et al., 2014)، الحميدي ٢٠١٢



شكل رقم (٦, ١٢ أ، ب، ج) تطبيقات لمراحل عمل الاستنساخ في الأغنام. (عن الحميدي ١٤٣٣هـ)
(أ) جمع المبايض من المسلخ ثم استخراج البويضات منها وإنضاجها في البيئة لمدة ٢٤ ساعة

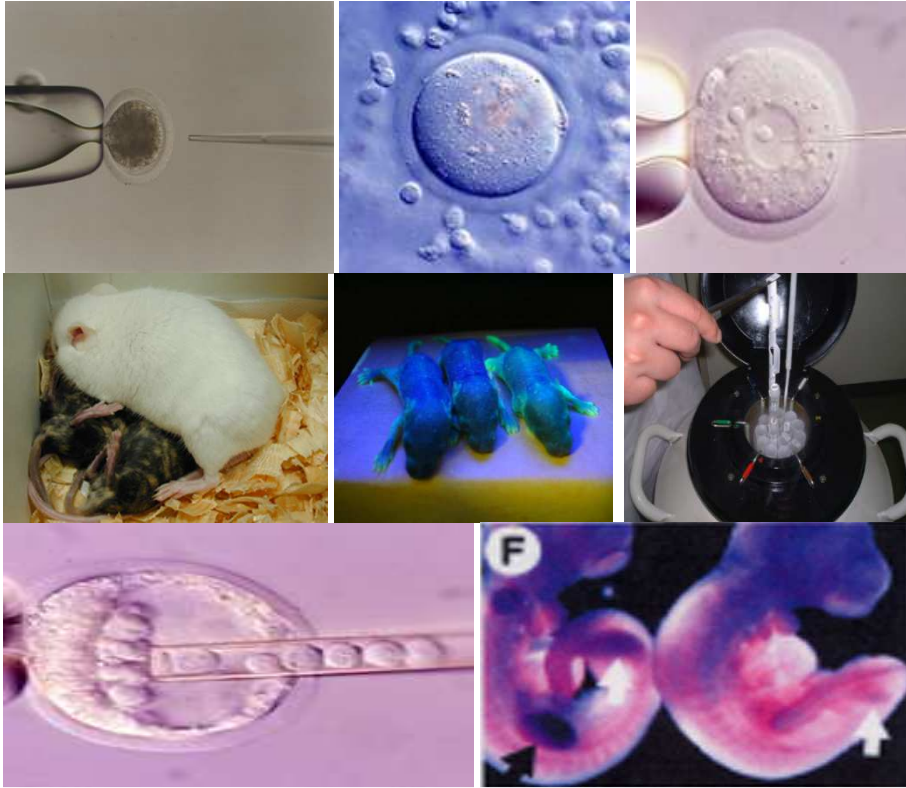


ب) إزالة النواة من البويضة ثم حقن الخلايا الجسدية داخل البويضة تحت مجهر المعالجات الدقيقة



ج) دمج النواة المنقولة بسيتوبلازم البويضة ثم تنمية الأجنة بعدها نقلها إلى أم مستقبلية لتلد فيها بعد

كما أن هناك تطبيقات أخرى للحقن المجهري: منها الهندسة الوراثية وحقن الجينات لإنتاج كائنات حية معدلة وراثيًا أو للعلاج بالجينات أو إنتاج خلايا جذعية ثم حقنها بالجينات وحقن الخلايا الجذعية (Daisaku *et al.* 2015) في الأجنة وإنتاج كائنات حية معدلة وراثيًا لأجراء التجارب عليها للعلاج بالعقاقير ومتابعة الجينات المشعة في الخلايا، تم نقل الأجنة إلى أمهات مستقبلية أو حفظها وتجميد هذه الخلايا، وغيرها من التجارب التطبيقية على حقن الجينات في الخلايا شكل (٧، ١٢، أ، ب، ج).



شكل رقم (٧، ١٢، أ، ب، ج). تطبيقات أخرى للحقن المجهري: منها حقن الجينات لإنتاج كائنات حية وراثيًا، وحقن الخلايا الجذعية في الأجنة وإنتاج كائنات حية معدلة وراثيًا متابعة الجينات المشعة في الخلايا تم نقل الأجنة إلى أمهات مستقبلية أو حفظها وتجميد هذه الخلايا وغيرها. (مهدهد من أ.د. سايفي كازاهيرو).

الفصل الثالث عشر

المواد المؤكسدة والجذور الحرة ودور مضاداتها على نضوج البويضات ونمو الأجنة

Oxidative Matricals and Free radicals With The Roles of It's Antioxidant on Ova Maturation and Embryos Development

يتم إنتاج أنواع الأكسجين التفاعلية (ROS) (Reactive Oxygen Species) عن طريق استقلاب أو أيض وأكسدة المواد المستهلكة للإنتاج للطاقة في الأجسام السبحية أو الميتوكوندريا داخل الخلايا، كذلك تنتج أنواع الأكسجين التفاعلية كاستجابة خلوية للإصابة الخلايا بالمواد السامة الحيوية (Xenobiotics) الناتجة من الجراثيم أو البكتيريا، وكذلك تنتج كاستجابة لتأثير السيبتوكينات أو المضادات الخلوية. فالإجهاد التأكسدي يرجع إلى عدم مقدرة الخلية على معالجة الخلل في التوازن بين الجذور الحرة Free Radicals ومضادات الأكسدة Antioxidants الذي ينتج عن زيادة تركيز الأول أو نقص في تركيز الثاني (Halliwell and Whiteman, 2004). (Ray, Huang, & Tsuji, 2012).

أنواع الأكسجين التفاعلية (ROS) Reactive Oxygen Species ضرورية للعمليات الفسيولوجية التي تحدث داخل الخلايا، وتلعب دورًا مهمًا في الإشارات بين الخلايا والتوازن الاسموزي للأنسجة، والمناعة. (Ferreira, Ni, Rosenkrans, & Cai, 2018).

فالجذور الحرة Free Radicals هي ذرة أو جزيء شديد التفاعل يحتوي على واحد أو أكثر من الإلكترونات المفردة (غير المرتبطة) في مداره الخارجي ويحتاج إلى إلكترون من مركب آخر لتحقيق الاستقرار (Phuiendra et al., 2015)، وتعد أنواع

الأكسجين التفاعلية (ROS) Reactive Oxygen Species وأنواع النيتروجين التفاعلية (RNS) Reactive Nitrogen Species هي الأنواع الرئيسة للجذور الحرة (Agarwal et al., 2005).

عادة يتم إنتاجها في الميتوكوندريا، والجسيمات التأكسدية (Peroxisomes) في سيتوبلازم الخلايا أثناء الالتهابات inflammation والبلعمة Phagocytosis (Lobo et al., 2010).

تشارك الجذور الحرة في العمليات الفسيولوجية المختلفة دون التسبب في أضرار، ولكن عند التراكيز العالية يمكن أن تسبب الإجهاد التأكسدي وأضرار للبييدات والبروتينات والحمض النووي DNA (Silva and Coutinho, 2010)، ففي حيوانات المزارع؛ الإجهاد الحراري Heat Stress والاختلالات الغذائية Dietary Imbalances والإصابات البكتيرية Bacterial infection يمكن أن تزيد إنتاج الجذور الحرة والإجهاد التأكسدي (Celi and Gabai, 2015).

مضادات الأكسدة (Antioxidants) هي عبارة عن مواد تمنع أو تعوق تأكسد المادة أو الركيزة سواءً أكانت ليبيدات أو بروتينات أو الحمض النووي DNA من خلال منح الإلكترونات أو التخلص من هذه الجذور الحرة كيميائياً (Halliwell and Gutteridge, 1995).

ويمكن تصنيف مضادات الأكسدة إلى صنفين:

أولاً: مضادات الأكسدة الأنزيمية Enzymatic Antioxidants تشمل الأنزيمات التالية:

- ١- أنزيم فوق أكسيد ثنائي الميوتيز أو أنزيم سوبر أوكسيد ديسميوتيز Superoxide dismutase (SOD) ٢- أنزيم المحفز أو الكاتليز Catalase ٣- أنزيم بيروكسيد القلوتاثيون Glutathione Peroxidase GPx ٤- أنزيم أكسيد القلوتاثيون Glutathione Oxidase.

ثانيًا: مضادات الأكسدة غير الأنزيمية Non-enzymatic Antioxidants تشمل التالي:

١- فيتامينات أ، ج، و Vitamins A,C,E. ٢- البيتا كاروتين Beta-Carotene، ٣- والقلوتاثيون ٤- ومواد أخرى بكميات قليلة (Trace elements) مثل النحاس والمنجنيز والسيلينيوم والزنك التي تعمل كعوامل مساعدة Cofactors لمضادات الأكسدة الأنزيمية

ثالثًا مضادات الاكسدة الهرمونية Hormones as anitoxident: وتشمل هرمونات الأستروجينات، واليلاطونين.

أولًا: مضادات الأكسدة الأنزيمية Enzymatic Antioxidants

١- أنزيم فوق أكسيد ثنائي الميوتيز (إنزيم سوبر أوكسيد ديسميوتيز Superoxide dismutase).

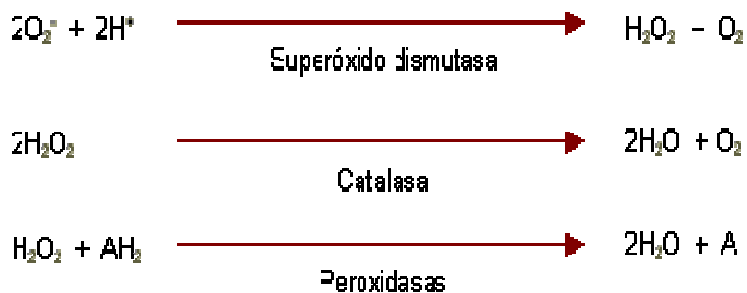
اكتشف أنزيم سوبر أوكسيد ديسميوتيز SOD لأول مرة من قبل الباحثين McCord و Fridovich في عام ١٩٦٩، فهو من الأنزيمات المضادة للأكسدة الذي يعمل على إزالة جذرين من جذور السوبر أوكسيد -2O2 الناتجة من مصادر مختلفة فتحوله إلى بيروكسيد الهيدروجين H₂O₂ الذي سوف يزال فيما بعد بواسطة أنزيم الكاتاليز Catalase أو أنزيم قلوتاثيون بيروكسيداز GPx. الشكل (١، ١٣)، يعد أنزيم سوبر أوكسيد ديسميوتيز من مضادات الأكسدة المهمة التي تعمل على تقليل الإجهاد التأكسدي والمحافظة على الغشاء الخلوي من التلف الناتج عن وجود جذر السوبر أوكسيد (2O₂)، ويتواجد بشكل رئيس أيضًا كأحد الوسائل الدفاعية في الخلايا البلعمية عندما تهاجم الجسم بعض الأجسام الغريبة من البكتيريا وغيرها، إن إنزيم سوبر أوكسيد ديسميوتيز يعد من مضادات الأكسدة الإنزيمية التي تعمل على حماية الخلايا البطانة الداخلية للحويصلة المنوية أيضًا، ومن ثمة فهي تحمي البويضة من أصناف الأوكسجين الفعالة أثناء مرحلة نضوجها.

٢- أنزيم التحفيز او الكتاليز Catalase

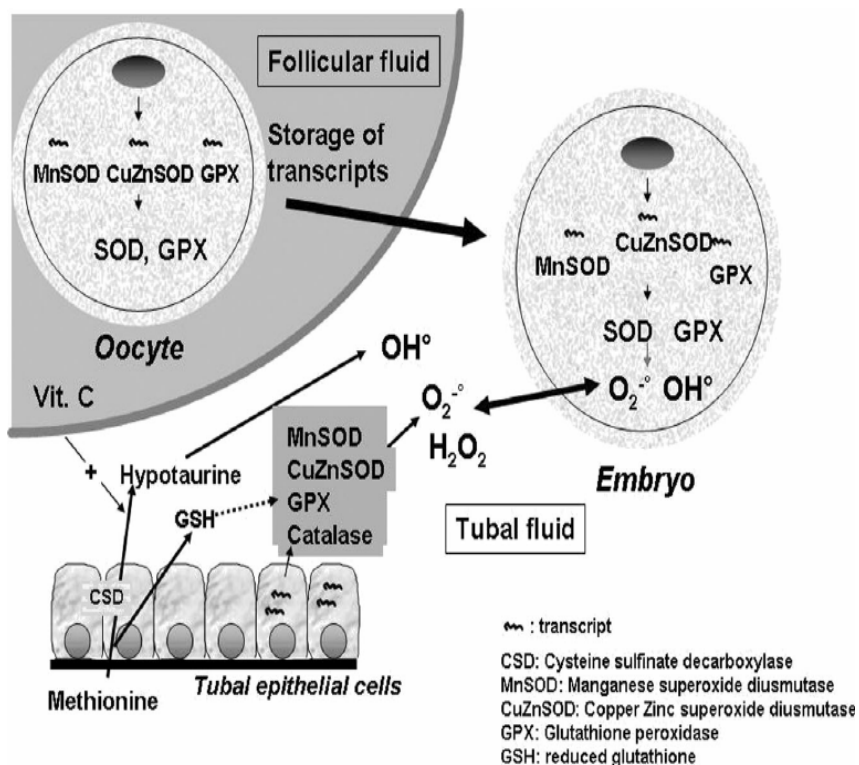
يوجد أنزيم الكتاليز في الأجسام المحللة البيروكسيد Peroxisomes في خلايا أنسجة الكائنات الحية كالدّم ونخاع العظام والأغشية المخاطية والكلّى والكبد، كما أن هذه الأجسام غنية بأنزيم آخر هو الأوكسيديز، فبينما يعمل الأوكسيديز على تكوين فوق أكسيد الهيدروجين أو السوبر أكسيد $2H_2O_2$ ، يقوم الكتاليز بتكسيده وتحويله إلى ماء وأكسجين شكل (١، ١٣). والكتاليز هو خط الدفاع الأول لكريات الدم الحمراء لحمايتها من بيروكسيد الهيدروجين، إذ أنه متواجد في الجزء الداخلي لجدار كريات الدم الحمراء مما قد يحميه من الفعل الضار للبيروكسيدات أحد أهم مجموعة من الجذور الحرة التي تتكون نتيجة وجود الأوكسجين الحر بكميات كبيرة، وللكتاليز أيضًا دور مهم لتخليص معظم الخلايا الطبيعية من نواتج الأيض الحرة، إذ أنه مع استمرار الأيض وخصوصًا للدهون ينتج كميات كبيرة من الجذور الحرة على هيئة بيروكسيد.

٣- أنزيم القلوتاثيون بيروكسيداز (GPx) Glutathione peroxidase

القلوتاثيون بيروكسيداز (GPx) هو سيلينوبروتين Selenoprotein يتواجد في سيتوبلازم وميتوكوندريا الخلايا لأنسجة الكبد وكريات الدم الحمراء والبلازما والنطف، إذ يتواجد الأنزيم في الطلائع المنوية Spermatids على شكل بيروكسيداز ذائب، أما في النطف الناضجة فهو موجود بشكل جسم غير فعال إنزيميًا (بروتين غير ذائب) في القطعة الوسطية للنطف الناضجة على شكل قالب يشبه الكيراتين مطمور في حلزون أو لولب الميتوكوندريا Mitochondria Helix، إذ يعمل على حماية حركة الحيوانات المنوية، إن إنزيم القلوتاثيون بيروكسيداز يلعب دورًا في حماية الخلايا والأنسجة ضد عمليات الأكسدة ومن بيروكسدة الدهون من خلال إزالة بيروكسيد الهيدروجين وكذلك تقليل من تكوين جذر الهيدروكسيل وبذلك يتم منع إحدى طرق بدء بيروكسدة الدهون التي يمكن أن تحدث في الأحماض الدهنية غير المشبعة في الجهاز التناسلي. والشكل (٢، ١٣) يوضح دور أنزيمات مضادات الأكسدة في إزالة الجذور الحرة من البويضة وأثناء نمو الجنين المبكر وعلاقة ببطانة قناة البيض.



شكل رقم (١, ١٣). يوضح دور مضادات الأكسدة الأنزيمية في إزالة السوبر أوكسيد (2H2O2).



شكل رقم (٢, ١٣). يوضح دور أنزيمات مضادات الأكسدة في إزالة الجذور الحرة من البويضة وأثناء نمو المبرك للجنين وعلاقتها ببطانة قناة البيض. (من الشبكة العنكبوتية)

ثانيًا مضادات الأكسدة غير الأنزيمية: Non-enzymetic antioxidant

تشمل مضادات الأكسدة غير الأنزيمية الاتي:

١- الفيتامينات أ، ج، هـ Vitamins A,C,E:

١-١ فيتامين أ: Vitamin A: يذوب في الدهون، يعرف أحيانا بحمض الريتيوك،

يعمل كمضاد للأكسدة ووقاية لأمراض الصدر والقلب مثل الكروتين.

١-٢ فيتامين ج: Vitamine C: يعرف أحيانًا حمض الاسكوربك (Ascorbic acid)

فهو من مضادات الأكسدة التي تذوب بالماء، فهو يلعب دورًا في عمليات

الأكسدة والاختزال فبعمل على اختزال الجذور الحرة من معظم مصادرها

ويعمل على إزالة السمية لبعض المواد الكيميائية.

١-٣ فيتامين هـ: Vitamine E: من الفيتامينات التي تذوب في الدهون؛ ولذلك يعمل

على حماية الأغشية الخلوية من التلف التأكسدي حيث يعمل على اقنص

الجذور البيروكسيدية في الأغشية الخلوية، فهو يعد من كاسات الجذور الحرة

(Free Radical Scavenger). يعمل فيتامين هـ على منع سلسلة التفاعلات التي

تؤدي إلى أكسدة الدهون والزيوت، وذلك بمعادلة مركبات أنواع الأكسجين

النشط.

٢- البيتا كاروتين Beta-Carotene: يتواجد على غشاء الخلية ويمنع تفاعل أكسدة

سلسلة الأحماض الدهنية (Faty acid peroxidation)

٣- القلوتاثيون: Glutathione: فهو يتكون من ثلاث أحماض أمينية هي الجلوتامين

(Gultamin) والسيستين (Cystine) والجلاليسين (Glysin) ويعمل كمضاد للأكسدة.

٤- مواد أخرى بكميات قليلة (Trace elements) مثل النحاس والمنجنيز والسيلينيوم

والزنك، والحديد، والتي تعمل كعوامل مساعدة Cofactors لمضادات الأكسدة

الأنزيمية. (McDowell et al. 2007)

ثالثاً: مضادات الأكسدة الهرمونية:

الأستروجينات Estrogens

وجد في جسم الإنسان ثلاثة أنواع من الأستروجينات الطبيعية بتركيز متقاربة الشكل (١٢,٣) وهي كالاتي: الأسترون (E1) Estrone والأستراديول (E2) Estradiol والأستريول (E3) Estriol، ويمثل الأستراديول الأستروجين الأقوى فعالية قياساً بالأستروجينات الأخرى.

تصنع الأستروجينات في الجسم من تمثيل (أيض) الأندروجينات في بعض الغدد الصماء وأماكن أخرى من الجسم، ويعد المبيض المصدر الأساس لإنتاج الأستروجينات مضافاً إليه كميات قليلة أخرى تنتج من قبل الغدة الكظرية (الأدرينالية) والخصى Testes والمشيمة.

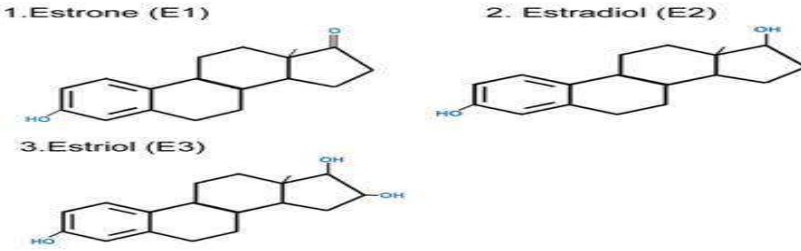
الأستروجينات الموجودة في الجسم ٧٠٪ منها تكون مرتبطة مع البروتينات مثل الألبومين وتمتلك قوة ارتباط عالية مع كلوبيولينات الارتباط بالهرمون الجنسي ولكن بنسب أقل من الفة الأندروجينات إليها مما يوفر لأنسجة الجسم فرصة الاستفادة من أكبر كمية ممكنة من الأستروجينات الحرة الشكل الوحيد الممكن نقله إلى خلايا الهدف Target cells.

وتعد الأستروجينات الهرمونات المسؤولة عن نمو الصفات الجنسية الثانوية في الإناث عند البلوغ وأيضاً لها دور مهم في عملية إضافة المعادن للعظام Bone mineralization.

لوحظ أن للأستروجينات دور كمضادة للأكسدة من خلال قابليته على منع حدوث الإجهاد التأكسدي للعديد من الأمراض ومنع حدوث عملية بيروكسيده الدهون وكذلك من خلال إزالته للجذور الحرة، وكذلك تثبيط فعل الحديد الحر، إذ أن لديه القدرة على التداخل مع الحديد.

والأستروجينات لها القدرة على إزالة أصناف الأكسجين الفعالة في الوسط

المائي والوسط الدهني إذ يعتمد بتفاعلها بالشكل الأساس على التركيب الفينولي للأستروجينات.



شكل رقم (١٢,٣). تركيب أنواع الأستروجينات الطبيعية: الأسترون (E1) Estrone والأستراديول (E2) Estradiol والأستريول (E3) Estriol.

■ هرمون الميلاتونين Melatonin hormone

يوجد الميلاتونين في الحيوانات والنباتات والبكتيريا والأحياء وحيدة الخلية، ويشتق من الأحماض الأمينية الأساسية، وقد فصل لأول مرة من الغدة الصنوبرية pineal gland للبقار، وقد شخص كمركب N-acetyl-5-methoxy-tryptamine، ويحفر إنتاج هذا الهرمون من الغدة الصنوبرية خاصة في الظلام ويتشبط تكوين الهرمون عند توفر الضوء إذ يتم عن طريق العين نقل الاشارات من الشبكة العينية ليتم تحفز الغدة الصنوبرية على تكوين الهرمون في الظلام، كما ينتج الميلاتونين في أعضاء أخرى غير الغدة الصنوبرية.

يعمل كاسحًا للجذور الحرة فضلاً عن وظائفه الهرمونية، حيث يلعب الميلاتونين دورًا معقدًا في التناغم بين الهرمونات التناسلية، فوجود مستقبلات الميلاتونين على مستوى الغدة النخامية والمبايض يسمح للميلاتونين بتنظيم عملية إنتاج وإفراز الهرمونات الإسترويدية بواسطة المبيض، يصاحب سن اليأس عادة انخفاض شديد في إفراز الميلاتونين، ومن المحتمل أن ظهور بعض أعراض سن اليأس

مثل اضطرابات النوم والإحساس بالتعب راجع للميلاتونين. كما أن مستوى هذا الهرمون يقل بصورة ملحوظة أثناء فترة الإباضة خلال الدورة الشهرية.

فالجذور الحرة لها دور في الأحداث التناسلية مثل:

نمو الحويصلات Follicular development، ونضوج البويضات في المبيض Ova maturation، ولإباضة Ovulation، ونمو الجسم الأصفر Corpus luteum development، وانحلال الجسم الأصفر Luteolysis، نمو وتطور الأجنة المبكر Early embryo development.

كذلك فإن عدم التوازن بين الجذور الحرة ومضادات الأكسدة يمكن أن يؤدي إلى فشل الحمل.

أنواع الأكسجين التفاعلية (ROS) هي جزء من آلية التحكم في التبويض، ويؤدي الفشل في تحقيق ما يكفي من التراكيز داخل الحويصلات لإنتاج تمزق حويصلي قبل التبويض إلى حدوث كيس حويصلي في الماشية (Rizzo et al., 2009; Talukder et al., 2014a).

ذكرت دراسة (Talukder et al., 2015) أن الأبقار أثناء التبويض في دورة الشبق يكون لديها تركيز أكبر من أنزيم Superoxide dismutase وينخفض الضرر التأكسدي لنواتج الدهون بالمقارنة مع الأبقار التي ليست في مرحلة التبويض، بالإضافة إلى ذلك فإن الأبقار التي تفشل في الحمل بشكل متكرر بعد التلقيح الاصطناعي تحتوي على تراكيز سيرم Serum مرتفعة الإجهاد التأكسدي بالمقارنة مع الأبقار التي تحمل بشكل سليم (Rizzo et al., 2007). كما ذكر (Celi, 2011) أن مؤشرات الإجهاد التأكسدي تكون أعلى في الأبقار التي تعاني من موت الأجنة في مراحل متأخرة من الحمل، في الجاموس buffalos تراكيز الدم من مضادات الأكسدة مثل فيتامين E وبيتا كاروتين كانت أقل، والتراكيز داخل الحويصلات من أنواع الأكسجين التفاعلية (ROS) كانت أعلى في فترات اللاشبق من تلك التي في دورات الشبق الطبيعية (Kahlon and Singh, 2014).

Jan et al., 2014; 2004)، فالإجهاد التأكسدي يحدث خلال فترات مختلفة في الأنظمة الحيوانية، ومضادات الأكسدة يمكن إضافتها لتحسين الأداء التناسلي (Nayyar and Jindal, 2010).

تأثير الجذور الحرة على نمو الأجنة:

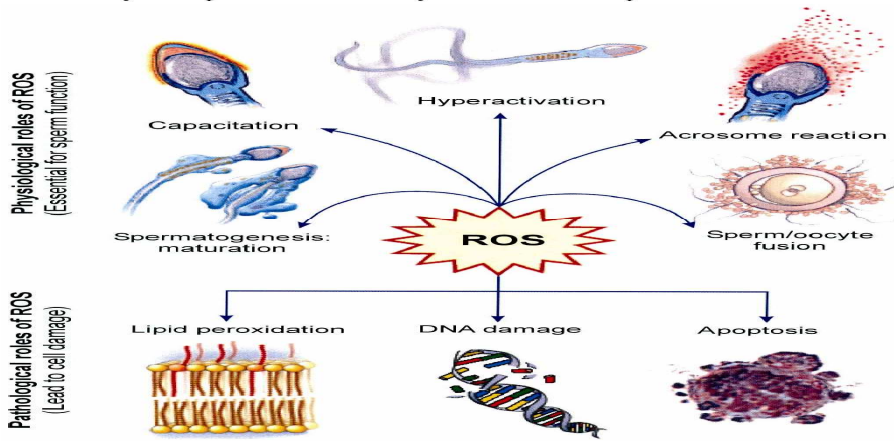
لوحظ موت الخلية المبرمج خلال مراحل تكوين الجنين في كتلة من الخلايا الداخلية خلال عملية تكوين الأرومة وفي سلسلة من التجارب الدقيقة وجد أن جذر بيروكسيد الهيدروجين المتولد من فعالية الأنزيم Amine oxidase في السوائل الفلجات كان مسؤولاً عن موت الخلايا، وكانت هذه النتائج مفاجئة في ذلك الوقت إلى أن أثبتت قابلية هذا الجذر على إحداث الأضرار في الخلايا.

وقد أثبتت الدراسات السمية أن تعرض الخلايا إلى تراكيز قليلة من بيروكسيد الهيدروجين يؤدي إلى موتها، وعلى العكس من التراكيز العالية التي تسبب تنخر الأنسجة وقد وجد أن هناك العديد من المؤكسدات تكون مواد حادة للموت المبرمج منها بعض المواد العضوية وبيروكسيدات الدهون ومركبات الثايول المتأكسدة، ولم يثبت بشكل قاطع أن للجهد التأكسدي تأثير مباشر في الموت الخلوي المبرمج أي أن الجذور الحرة لا تحفز الجينات المسؤولة عن هذه العملية مباشرة.

تأثير أنواع الأكسجين التفاعلية والجذور الحرة وتكون النطف في الإنسان: شكل (١٣، ٤)

تتكون كميات صغيرة من أنواع الأكسجين التفاعلية ROS باستمرار أثناء عملية تكون النطف، وتلعب دوراً مهماً في تكوينها ونشاطها وحركتها وتفاعلات الاكروموسوم وقابلية التلقيح الطبيعي، إن الميتوكوندريا التي تقع في المنطقة الوسطية للحيوان المنوي تعد مصدراً مهماً للجذور الحرة، إن النطف أكثر تحسناً من الخلايا الجسمية بسبب احتوائها على كمية عالية من الدهون غير المشبعة في الأغشية الخلوية،

تؤثر الجذور الحرة ROS في النطف الناضجة وخلايا ليدج، إذ تولد الميتوكوندريا أنواع الأكسجين التفاعلية ROS لتسبب تحطم الحمض النووي الدنا DNA في الميتوكوندريا والنواة الذي يؤدي إلى أمراض وراثية أو يؤثر في انزيم التلوميريز مما يسبب خلل في التلوميرات، أما في خلايا ليدج فإن أنواع الأكسجين التفاعلية ROS تسبب أكسدة الدهون الغشائية وهذا يؤدي إلى تحطم الخلايا مما يؤثر في إنتاج هرمون التسترون.



شكل رقم (٤، ١٣). يوضح تأثير أنواع الأكسجين التفاعلية (ROS) على تكوين الحيوانات المنوية.

التقنيات المستخدمة في الكشف عن المؤكسدات ونواتج الأكسدة:

استخدمت طرق متعددة لقياس نواتج الأكسدة ومضادات الأكسدة، واختلفت الطرق حسب نوع العينة وتصميم التجربة والغرض من القياس ونوع المادة المراد قياسها أو التحري عنها وهل أن الغرض طبي أو بحثي، إذ أن هناك العديد من الطرق التي لا يمكن استخدامها لأغراض الفحص الطبي بسبب صعوبتها وكلفتها العالية وتستغرق وقتاً طويلاً، كما أن هناك طرقاً لا يمكن استخدامها في البحوث والدراسات كونها محدودة الاستخدام وكونها نوعية أو كمية أو تحتاج إلى عينات بحجم كبير

وأحيانا غير متوفرة؛ لذلك تنوعت الطرق واختلفت تبعاً للحاجة إليها. وستتطرق لبعض الطرق المعتمدة لقياس نواتج الأكسدة ومضاداتها:

قياس نواتج الأكسدة Oxidation products assay:

تتضمن نواتج الأكسدة كل المركبات التي نتجت من تفاعل الجذور الحرة مع المركبات الخلوية كالبروتين والدهون والأحماض النووية، وهي إما أن تكون نواتج غير جذرية أو خاملة أي لا تحتوي على إلكترونات حرة في تركيبها؛ لذا تكون هذه المركبات غير نشطة كيميائياً لكنها يمكن أن تكون سامة للخلية نتيجة تراكمها أو صعوبة إزالتها من النظام الخلوي أو تكون هذه النواتج جذرية، أي أن لها القابلية على أن تتفاعل مع المكونات الخلوية مرة أخرى مسببة أضرار للنظام الخلوي.

نواتج أكسدة الأحماض النووية Nucleic Acid Oxidation Products:

إن أهم نواتج أكسدة الأحماض النووية هو المركب 8-oxo dG للـ (DNA)، والمركب 8-oxo G للـ (RNA)؛ لذلك استخدم هذا المركب كدليل حيوي على أكسدة الأحماض النووية في الكثير من الدراسات والأبحاث.

حيث تسبب الجذور الحرة العديد من التغيرات للأحماض النووية منها فقدان القواعد من مواقعها وكسر الشريط المفرد وإضافة أو حذف القواعد وخلل في عملية التضاعف وتكسر الأشرطة المزدوجة وتحلل النما DNA والرنا RNA إذ يمكن تحديد تلك المتغيرات بصورة نوعية أو كمية حسب نوع الطريقة ونوع العينة.

فقد استخدمت العديد من الدراسات تقنيات مختلفة لقياس تأثير الأكسدة وبعض التقنيات النوعية (أي أنها تكشف عن المركبات الناتجة من تفاعل الجذور الحرة مع الأحماض النووية) أو التقنيات غير النوعية (أي أنها تكشف عن تأثير الأكسدة بصورة غير مباشرة كتحلل وتجزؤ DNA أو كسر الشريط المفرد والمزدوج وفي بعض الأحيان يكون التأثير كبيراً جداً بحيث يسبب تغيرات كروموسومية).

■ فيما يلي بعض التقنيات المستخدمة لقياس نواتج أكسدة الأحماض النووية:

- تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل PCR.
- تقنية ترحيل الخلية المفردة SCGE electrophoresis
- اختبار هالو HALO assay.
- طريقة تعليم النهايات الحرة بصبغات متألقة TUNEL
- تقنية كروماتوجرافيا السائل عالي الكفاءة المدمج بمطياف الكتلة.
- تقنية التهجين الموضعي المتألق FISH.
- تقنية السيل الخلوي Flow cytometry.
- التعليم بكاشف annexin V.
- الاختبارات المناعية Immunological assay
- الاختبارات النسيجية المناعية الكيميائية Immunohistochemical assay
- الطرق المناعية الإشعاعية Radio immuno assay
- تحليل الاليزا أو التحليل التفاعلي المناعي ELISA
- كروماتوجرافيا الغاز المدمج بمطياف الكتلة GC-MS
- الطرق الالكتروكيميائية ELECTROCHEMICAL METHODS
- اختبار APP.

قياس نواتج أكسدة الدهون Lipid Peroxidation Products assay

يمكن تقدير نواتج أكسدة الدهون بواسطة قياس:

- ١ - فقدان الأحماض الدهنية غير المشبعة.
- ٢ - كمية نواتج الأكسدة الأولية.
- ٣ - كمية نواتج الأكسدة الثانوية مثل الكربونيل والغازات الهيدروكربونية، كما يمكن قياس الجذور الكربونية المركزية والجذور الأوكسجينية.

إن التركيب الكيميائي للنواتج النهائية للأكسدة تعتمد على التركيب الكيميائي للأحماض الدهنية ، وعلى نوع الأيون المعدني (في حالة وجوده)، فإن النحاس والحديد تولد نواتج مختلفة في حالة اشتراكهما في تفاعل الأكسدة؛ لذلك يجب استخدام أكثر من نوع من الاختبارات لكي تغطي أغلب نواتج الأكسدة، وتستخدم السوائل الجسمية المختلفة كالبلازما والمصل والبلازما المنوية وكذلك الأنسجة المختلفة كالكبد والعضلات والأمعاء وغيرها لقياس نواتج أكسدة الدهون وتختلف التقنية حسب الغرض من القياس وطبيعة العينة، فيما يلي بعض التقنيات المستخدمة لقياس نواتج أكسدة الدهون:

- ❑ كروماتوجرافيا السائل عالي الكفاءة HPLC.
- ❑ Electron Spin Resonance (ESR).
- ❑ قطب الأوكسجين Oxygen Electrode.
- ❑ طريقة Iodine liberation.
- ❑ تحطم البيروكسيدات بواسطة الحديد.
- ❑ قياس فعالية انزيم جايكولوجينيز Gyclooxynase Activity
- ❑ كروماتوغرافيا الغاز GC.
- ❑ الغازات الهيدروكربونية Hydrocarbon Gases
- ❑ انبعاث الضوء Light emission
- ❑ قياس التألُّق Fluorescence Assay
- ❑ قياس Thiobarbituric acid assay TBA
- ❑ طريقة ارتباط دني Diene conjugation

قياس نواتج أكسدة البروتينات Products Assay Protein Oxidation

إن نواتج أكسدة البروتينات تختلف حسب نوع الأكسدة إذ تختلف أكسدة البروتين عن أكسدة الأحماض الأمينية الحرة، كذلك تختلف طرق القياس حسب نوع

العينة ومصدرها كما يلي:

- ١ - الترحيل الكهربائي للهلام (SDS) Gel electrophoresis
- ٢ - وصمة وسترن Western blot
- ٣ - التحليل المناعي أو الاليزا ELISA
- ٤ - تقنية كروماتوجرافيا السائل عالي الكفاءة HPLC
- ٥ - تقنية كروماتوجرافيا الغاز / مطياف الكتلة GC-MS
- ٦ - طريقة ESR.
- ٧ - طريقة الصبغات المتألقة Fluorescence dye
- ٨ - طريقة الحقن بكواشف كيميائية FI-CL

المراجع

- أولاً: المراجع باللغة العربية:
- إبراهيم، ماهر محمد (١٩٧٨م): مقدمة في علم الأجنة للفقاريات. عمادة شؤون المكتبات مطابع جامعة الملك سعود. الرياض، المملكة العربية السعودية.
- بركات، إبراهيم عبدالله، قنديل، صالح عبد الحميد، الحميدي أحمد راشد (٢٠١٦). ترجمة كتاب الإخصاب الخارجي تأليف Kay Elder and Brian Dale دار جامعة الملك سعود للنشر الرياض المملكة العربية السعودية.
- الحميدي، أحمد راشد (١٤٣٣هـ): تقنيات على أجنة الفقاريات. دار النشر العلمي والمطابع، جامعة الملك سعود، الرياض، المملكة العربية السعودية.
- الحميدي، أحمد راشد، ابوطربوش، فيصل محمد (١٤١٨هـ) التكاثر في الثدييات : ١ - الخلايا التناسلية والإخصاب، كتاب مترجم تحرير اوستن س، شورت ف. مطابع جامعة الملك سعود، الرياض المملكة العربية السعودية.
- الحميدي، أحمد راشد، الكريم صالح عبدالعزيز (١٤٢٩هـ) : الأجنة التجريبي. مطابع جامعة الملك سعود. الرياض، المملكة العربية السعودية.
- سدره، شكر الله نخلة، عبدالوهاب، عبدالمجيد (١٩٦٨م): الأساسيات في علم التكوين الجنيني للفقاريات. كتاب مترجم تحرير الفريد ف. هويتنر. مؤسسة فرانكلين للطباعة والنشر، الناشر دار مصر للطباعة والنشر. القاهرة، مصر، نيويورك الولايات المتحدة الأمريكية.
- القحطاني، سعد حسين (٢٠١٨م): الموت الخلوي المبرمج (Apoptosis) مطابع دار جامعة الملك سعود للنشر. الرياض، المملكة العربية السعودية.

كريم، صالح عبدالعزيز (١٤١١هـ): المدخل إلى علم الأجنة الوصفي والتجريبي، مطابع دار المجتمع للنشر والتوزيع. جدة، المملكة العربية السعودية.
المطيري، محسن غالب (١٤١٥هـ): تأثير مادة التماكسوفين على هجرة الخلايا التناسلية الأولية في أجنة الدجاج. رسالة ماجستير، قسم علم الحيوان، كلية العلوم، جامعة الملك سعود.

ثانيًا: المراجع باللغة الانجليزية:

- Alhimaidi A.; AlGady M; Iwamoto D.; Almutary M.; Alfuraje M.; Alzeer F. Barakat I. ; Kandeal S ; Iritani A. ; Saeki K.(2014):** The Enhancement of Scripted in The Development of Cloned Sheep Embryos. *World Academy of Science, Engineering and Technology Abstract Jan, 2014* : (85)-770.
- Almotary Mohsen .G. and Alhimaidi Ahmed R. (2002):** Tamoxifen inhibits the migration of the primordial germ cells of the chick embryos with less mortality rate. *Pakistan J. Biological Sci. Vol.*
- Bellairs R, Osmond M (2005)** The Atlas of Chick Development Elsevier, editor. London.
- Brachet, Jean (1974):** Introduction to Molecular Embryology (*Heidelberg Science Library, Vol. 19*) Springer-Verlag New York New York, NY, p. 176.
- Brachet, Jean; and Alexander Henri (1988):** Introduction to Molecular Embryology 2nd ed.; *Heidelberg Sci. Library. Springer-Verlag, Berlin, New York ,New York, NY, p. 229.*
- Bürglin, T.R. (2005). Homeodomain Proteins.** In Meyers, R.A. (ed.), Encyclopedia of Molecular Cell Biology and Molecular Medicine, *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., Weinheim, 179-222.*
- Bürglin, T.R. (2011).** Homeodomain subtypes and functional diversity. *Sub cell. Bio chem., 52, 95-122.*
- Campbell Reece (2012):** Biology, *Pearson International 8th ed.* Benjamin Cummings San Francisco Ca. USA
- Celi Pietro and Gabai Gianfranco (2015):** Oxidant/Antioxidant Balance in Animal Nutrition and Health: The Role of Protein Oxidation. *Frontiers in Veterinary Science. Vol.2:48. Published online 2015 Oct 26. doi: 10.3389/fvets.2015.00048*
- Celi Pietro.(2011):** Oxidative stress in ruminants. In: Mandelker L, Vajdovich P, editors. , editors. Studies on Veterinary Medicine. Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical Practice. 5 *New York: Humana Press;*

- (2011). p. 191–231
- Cloney RA, Young CM, Svane I. (2001):** Phylum Chordata: Urochordata. In: Atlas of Marine Invertebrate Larvae. *Academic Press. New York. P. 567.*
- Daisaku Iwamoto, Chiaki Takahashi, Tatsuya Nakano, Ahmad. R. Al Himaidi, Masao Kishi and Kazuhiro Saeki (2015):** *In vitro* Development of Chimeric Bovine Embryos Created by Combining a Single Blastomere of SCNT Embryos with an IVF Embryo. *Annual Research & Review in Biology. 6(1): 79-84, 2015.*
- Dawkins. Richared. (1976):** The Selfish Gene. *Oxford: Oxford University Press. UK. 1976.*
- Dawkins, R. 1989. :** The extended phenotype. *Oxford University Press, Oxford, UK. 307 pp.*
- DeBaun Michael R. Niemitz Emily L. and Feinberg Andrew P. (2003):** Association of In Vitro Fertilization with Beckwith-Wiedemann Syndrome and Epigenetic Alterations of *LIT1* and *H19*. *Am J Hum Genet. 2003 Jan; 72(1): 156–160.*
- Felgner P.L.; Gadek,T. R.; Holm,M.; Roman,R.; Chan H.W.;Wenz M.and et al. (1987):** Lipofection : a highly efficient lipid-mediated DNA- transfection procedure .*Proc.Nat.Acad.Sci. USA. 84: 7413-7417.*
- Ferreira, Ni, Rosenkrans, and Cai (2018)** Scavenging of reactive oxygen and nitrogen species with nanomaterials. *Nano Res. Vol. 11 (10):4955-4984. doi: 10.1007/s12274-018-2092-y.*
- Halliwell Barry and Gutteridge, John M. C. , (1995):** The definition and measurement of antioxidants in biological systems. *Free Radic Biol Med.;18(1):125-126.*
- Gilbert Scoutt, F. (2014)** Developmental Biology 10th ed . Sinauer Associates Inc. Publishers MA. USA .
- Graham and van –der Eb (1973):** A new technique for the assay of infectivity of human adenovirus 5 DNA. *Virology Volume 52, Issue 2, Pages 456-467.*
- Green Martins M and Bissell M.J (1995):** Cell-ECM in development. *Seminar in Developmental Biology Vol. 6: 149-159.*
- Grunz, H (2004):** Reviews in special issues of the *International Journal of Developmental Biology [IJDB]; Developmental Biology in Germany, 1996, Vol. 40; Spemann–Mangold organizer, 2001, IJDB Vol.45; Vertebrate organizer (ed.).*
- Kahlon and Singh, (2004):** Effect of α -Tocopherol Supplementation on Plasma Levels of Antioxidant Vitamins in Anestrus Buffalo Heifers (*Bubalus bubalis*). *Asian Australasian Journal of Animal Sciences. Vol. 17(8):1088-*

1092. DOI: 10.5713/ajas.2004.1088.

- Lee R. McDowell1, Nancy Wilkinson, Rachel Madison and Tara Felix (2007):** Vitamins and minerals functioning as antioxidants with supplementation considerations. *Florida Ruminant Nutrition Symposium January 30-31, 2007 • Best Western Gateway Grand • Gainesville, FL.*
- Liu, Chi-Hsiu and Chien, Chung-Liang (2012.):** Molecular Cloning and Characterization of Chicken Neuronal Intermediate Filament Protein a-Internexin. *The Journal of Comparative Neurology | Research in Systems Neuroscience.* 521:2147–2164.
- Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. (2010):** Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev.* 2010 Jul;4(8):118-26. doi: 10.4103/0973-7847.70902.
- Logan CY, and Nusse R (2004)** The Wnt signaling pathway in development and disease. *Annu Rev Cell and Dev Biol* 20: 781–810.
- Love, Jane M ; Tuan Rocky S. (1993)** Pair-rule gene expression in the somatic stage chick embryo: association with somite segmentation and border formation. *Differentiation Volume 54, Issue 3, Pages 73–83.*
- McCord J.M. and Fridovich, I. (1969).** Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte hemoglobin (hemocuprein). *J Biol.Chem.* .25;244 (22): 6049-6055.
- Makarevich, Alex ,V. P. Chrenek; P. Fl'ak. (2005):** The Influence of Microinjection of Foreign Gene into the Pronucleus of Fertilized Egg on the Preimplantation Development, Cell Number and Diameter of Rabbit Embryos. *February 2006Asian Australasian Journal of Animal Sciences* 19(2) DOI: 10.5713/ajas.2006.171
- Michel Morange (2009):** Molecular embryology: What history tells us XVI. A third pillar for molecular biology: *J. Biosci.* 34(1), 17–20. <http://www.ias.ac.in/jbiosci>
- Moura Rute Silva, Carvalho-Correia Eduarda, daMota Paulo, and Correia-Pinto Jorge (2014) :** Canonical Wnt Signaling Activity in Early Stages of Chick Lung Development. *PLOS ONE | DOI: 10.1371/journal.pone.0112388* December 2, 2014.
- Nayyar S. and Jindal, R (2010):** Essentiality of antioxidant vitamins for ruminants in relation to stress and reproduction. *IJVR. Volume 11, (1), Page 1-9* DOI:10.22099/ijvr.2010.165
- Petersen O.W. Ronny-Jessen, L. Howlett, A.R. and Bissell, M.J. (1992):** Interaction with basement membrane serves to rapidly distinguish normal and malignant human breast cancer epithelial cell. *Proc. Natl. Acad.Sci.* 89: 9064-9068.

- Rana, B.; Mischoulon, D.; Xie, Y.; Bucher, N. and Farmer, S.R. (1994):** Cell-extracellular matrix intraction can regulate the switch between growth and differentiation in rat hepatocytes; Reciprocal expression of C/EBP alpha and immediate-early growth response transcription factor. *Molec.Cell Biol.* **14**:1752-1763.
- Reverbri G.(1971):** Experimental betrge zu einer theorie der entwicklung. *Springer. Berlin Heidelberg. New York.*
- Rizzo MA, Davidson MW, Piston DW (2009):** Fluorescent protein tracking and detection: fluorescent protein structure and color variants. *Cold Spring Harb Protoc.* **Dec (2009)(12):pdb.top63. doi: 10.1101 /pdb. top63.**
- Rizzo JM, Tarsio M, Martínez-Muñoz GA, Kane PM (2007):** Diploids heterozygous for a vma13Delta mutation in *Saccharomyces cerevisiae* highlight the importance of V-ATPase subunit balance in supporting vacuolar acidification and silencing cytosolic V1-ATPase activity. *J. Biol Chem* **282(11):8521-32.**
- Roskelley Calvin D, Srebrow Anabella, and Bissell Mina J (1995):** A hierarchy of ECM-mediated signalling regulates tissue-specific gene expression. *Curr Opin Cell Biol.*; **7(5): 736–747.**
- Rutishauser Ur;Lemmon Vance(1995):**Seninars in Developmental Biology, Cellinteraction molecules in Development. Acadimic press Cambreidge UK. Vol(6-2)April 1995.
- Silva J.C and Coutinho O.P, (2010):** Free radicals in the regulation of damage and cell death - basic mechanisms and prevention. *Drug Discov Ther.* **2010 Jun**;4(3):144-67
- Sirlin J.L.and Waddington C.H (1956):**Cell site of protein synthesis of early chick embryo as indicated by autoradiograph. *Exp. Cell Res. Vol.11 :197-205.*
- Satohi Noriyuki, and Ikegami Susumu (1981):** On the ' clock' mechanism determining the time of tissue-specific enzyme development during ascidian embryogenesis II. Evidence for association of the clock with the cycle of DNA replication. *Embryol exp. Morph. Vol. 64, pp. 61-71.*
- Sympson CJ,Talhok RS, Alexander CM, Chin JR, Clift SM, Bissell MJ, Werb Z.(1994):** Targeted expression of stromelysin-1 in mammary gland provides evidence for a role of proteinases in branching morphogenesis and the requirement for an intact basement membrane for tissue-specific gene expression. *J. Cell Biol. Vol. 125(3): 681-693.*
- Talukder Saranika; Luke Ingenhoff; Kendra Kerrisk; Pietro Celi (2014):** Plasma oxidative stress biomarkers and progesterone profiles in a dairy cow diagnosed with an ovarian follicular cyst. *The Veterinary quarterly* **34(2): 113-117. DOI: 10.1080/01652176.2014.953264.**

- Talukder Saranika; Kendra Kerrisk ; Gianfranco Gabai, Akira Fukutomi; Pietro Celi. (2015):** Changes in milk oxidative stress biomarkers in lactating dairy cows with ovulatory and an-ovulatory oestrous cycles.. *Published in Animal reproduction science 2015 DOI:10.1016/j.anireprosci.2015.05.004.*
- Vaheri A, Pagano JS. (1965):** Infectious poliovirus RNA: a sensitive method of assay. *Virology. 1965 Nov;27(3):434-436.*
- William C.Hieser (2001):** Vol 1: Gene delivery to mammalian cell, nonviral gene transference technique. *Methodes in molecular biology vol 245. Human press. NY. USA.*
- Xu and Szoka FC Jr. (1996):** Mechanism of DNA release from cationic liposomes/ DNA complex used in cell transfection. *Biochemistry 35(18) 5616-5623.*
- Zagris Nikolas; Matthopoulos, Demetrios (1988):** Gene expression in chick morula. *Development Genes and Evolution; 197(5):298-301. DOI: 10.1007/BF00380024*
- Zagris Nikolas; Panagopoulou Maria (1991):** Monensin inhibits the first cellular movements in early chick embryo. *Development Genes and Evolution; 199(6):335-340.*
- Zagris Nikolas; Kalantzis, K.; Guialis Apostolia (1998) :** Activation of embryonic genome in chick. *Zygote ; 6(3):227-31.*
- Zega G, Thorndyke MC, Brown ER (2006)** Development of swimming behaviour in the larva of the ascidian *Ciona intestinalis*. *J Exp Biol* 209: 3405-12.
- Zeng X, Huang H, Tamai K, Zhang X, Harada Y, Yokota C, Almeida K, Wang J, Doble B, Woodgett J, Wynshaw-Boris A, Hsieh JC, He X:(2008)** Initiation of Wnt signaling: control of Wnt coreceptor Lrp6 phosphorylation/activation via frizzled, dishevelled and axin functions. *Development 2008, 135:367–375.*

ثالثاً: مواقع إلكترونية:

www.beyondthedish.wordpress.com
 www.Naturereviews
 www.devbio.com
 http://www.ias.ac.in/jbiosci