

تقرير نهائي عن بحث عليّ



SY 88 0000 8

AECS-FRSR--3/5187

دراسة منشأ وتحول مكونات الغشاء القاعدي في سن
جنين الفأر بطريقة التصوير الاشعاعي الذاتي .

الدكتور محمد عثمان

قسم التطبيقات الصحية والبيولوجية

رقم ٨٧ / ٥ / ٢٢

ATOMIC ENERGY COMMISSION

P.O. BOX 6661 . DAMASCUS . SYRIA

هيئة الطاقة الذرية

ص.ب ٦٠٩١ - دمشق - سوريا

الجمهورية العربية السورية
هيئة المناقشة الذرية

دراسة منشأ وتحول مكونات الفشاء القاعدي في سن
جنين الفأر بطريقة التصوير الاشعاعي الذاتي .

الدكتور محمد عثمان

قسم التطبيقات المحيية والبيولوجية



دراسة منشأ وتحول مكونات الغشاء القاعدي
في سن جنين الفأر بطريقة التصوير الاشعاعي الذاتي

د. محمد عثمان* : قسم التطبيقات الصحية والبيولوجية - هيئة الطاقة الذرية
دمشق : ص ٠ ب ٦٠٩١

د. جان فيكتور روتش J.V. RUCH : معهد البيولوجيا الطبية -
كلية الطب - جامعة لوي باستور (ستراسبورغ ، فرنسا)

١ - المقدمة:

تشكل بداية السن اعتباراً من صفيحة سنية تشتق من الظهارة epithelium الغشوية،
ومن خلايا النسيج المتوسط الخارجي ectomesenchyme التي تتم فيها التحديد (التعميم)
determination بتعريض من خلايا العرف العصبية الرأسية (Pearse and Polak , 1971) .
تظهر الصفيحة السنية للضرس السفلية الأولى في اليوم الحادي عشر من الحمل عند الفأر، ثم يحدث
التشكل النسيجي histogenese والتشكل الشكلي (التخلق)؛ morphogenese بين اليوم الحادي عشر
واليوم السادس عشر، ويبدأ التمايز الخلوي cytodifferanciatiion لأرومة العجاج
odontoblastes في اليوم ١٨، ثم لأرومة الميناء ameloblastes في اليوم ١٩، وأخيراً يبدأ
التمايز الوظيفي بافراز طليعة العاج pre-dentine في اليوم ١٩، وبافراز طليعة الميناء
pre-email في اليوم ٢٠ من الحمل . وتحدث المراحل السابقة كافة بفضل سلسلة من التأثيرات
المتبادلة interactions بين العنصر المينائي (الذي ينشأ من الصفيحة السنية) المتضمن طليعة
أرومة الميناء - Preameloblastes ، والخليعة السنية (التي تنشأ من النسيج المتوسط الخارجي)
المتضمنة طليعة أرومة العاج Preodontoblastes

(Slavkin et al.1984, Thesleff and Hurmorinta, 1981, Ruch 1985, Ruch et al.1973,1982).

يهد أن الغشاء القاعدي، الذي يفصل بين العنصر المينائي والخليعة السنية (الشكل ١)، يشكل
مقراً لتلك التأثيرات المتبادلة، ولذا كان متوقعاً أن يلعب هذا الغشاء دوراً هاماً في تشكل السن،
ما جعله موضوعاً لبحوث عديدة هدفت إلى التعرف على بنيته الخلوية Cytologie،
وعلى وظائفه المحتملة، بالإضافة إلى طبيعته الكيميائية الحيوية، وإلى منشئه . أما تحول
turn-over (renouvellement) مكونات الغشاء القاعدي، أثناء المراحل المختلفة لتشكيل
السن، فهو هدف لبحوث عديدة تجري في الوقت الحالي.

ففيما يتعلق بالبنية الخلوية للغشاء القاعدي في بداية السن ، فإنه يتكون ، شأنه في ذلك شأن أغلب الأئمشية القاعدية الأخرى ، من ثلاث طبقات متتالية ، تبتئنا فسي تسميتها مصطلحات اللجنة العالمية للتسميات التشريحية (Laurio 1985) . (الشكل ١) :

(١) الصفيحة الصافية Lamina lucida ، وهي طبقة شاحبة تكون على تماس مباشر مع الغشاء السيتوبلازمي للظهارة (طبقة ارومة الميناء) .

(٢) الصفيحة الكثيفة Lamina densa ، وهي طبقة عاتمة مكونة من خيوط دقيقة للغاية غارقة في مادة عديمة الشكل .

(٣) الصفيحة الشبكية الليفية Lamina fibroreticularis ، وهي طبقة غير مستمرة ، وأحياناً مفقودة ، قد تحوي عناصر ليفية أو حبيبية أو شبكية متصلة مع الطبقة السطحية من الحليمية السنية (طبقة ارومة العاج) . وتكون الصفيحة الشبكية الليفية مفقودة في بداية تخلق السن (في اليوم ١) ، ثم تظهر فيما بعد على شكل مادة ذات مظهر ليفي حبيبي ، وتزداد بشكل تدريجي وتصبح الاستطالات السيتوبلازمية لطليعة ارومة العاج ، أو لارومة العاج فيما بعد ، لدى تشكلها ، على تماس مباشر مع تلك الصفيحة (الشكل ١) ، وقد عمل الى الصفيحة الكثيفة Slavkin and Bringas و (Mevor et coll.1977 و 1976)

وتمت دراسات عديدة أظهرت وظائف مختلفة للغشاء القاعدي الجنيني :

فقد تبين أن سطوحه الداخلية تفيد كركيزة substrat للهجرة الخلوية (Osman and Ruch 1981 a و Bard et al.1976 و Trestad et al.1967) وأن له تأثيراً على استقلاب الخلايا (Meier and Hay 1975) ، وأنه يمسكون التكون الشكلي للظهارة (Banerjee et al.1977) وللحليمية السنية ، كما يحافظ على استقطاب ارومة العاج (Osman and Ruch 1981a) . وقد أظهر Thesloff et al. , 1978 أن التمايز النهائي لارومة العاج مشروط بالتماس المباشر بين طبقة ارومة العاج والغشاء القاعدي ، كما أظهرت دراسات أخرى أن هذا التمايز مرهون بوجود غشاء قاعدي ذي خصائص مكانية - زمانية temporo-spatial نوعية محددة (Karcher- Dijuricic et al.1978) و (Osman and Ruch 1981 a) .

أما فيما يتعلق بالطبيعة الكيميائية الحيوية للغشاء القاعدي ، فقد أظهرت الدراسات المختلفة ، الكيميائية النسيجية histochimiques ، والخلوية المناعية immunocytologiques والكيميائية الحيوية biochimiques ، ان الغشاء القاعدي يتضمن المركبات النوعية التالية : كولاجين النمط Collagène type IV ، واللامينين laminine ، والفيبرونكتين Fibronectine ، وكولاجين النمط I ، والنمط III ، ومثالث النمط Transferrin type I والبروتيوغليكان Protéoglycane (Lesot et coll.1978 و Cournil et al.1979 و Lesot et Ruch 1979 و Thesloff et al. 1979 و Lesot 1981 و Lesot et al.1981 و Thesloff and Hurmerinta 1981) . كما أن الغشاء

القاعدي يتضمن أيضاً الفليكوزامينوغليكسان (hyaluronate) glycosaminoglycannes و (Osmani and chondroitine 4 et 6 sulfates و (Osmani and Ruch 1981 b و (Lau and Ruch 1983 و (Lau et al. 1983) .

وتكون هذه المركبات موزعة بكميات مختلفة في طبقات الغشاء القاعدي الثلاث . ولقد سحبت زراعة الاعضاء المينائية و الحليمات المفصلة عن بعضها ، في الزجاج ، بعد التفارق dissociation بمحلول التربسين ، سحبت بايضاح المنشأ الظهاري لكولاجين النمط IV ، واللامينين وبعض الفليكوزامينوغليكسان (الهالورونات) (hyaluronate) (Lau and Ruch 1983) ، كما أوضحت المنشأ الحليمي السني لكولاجين النمط I و III ، ولمثلوث النمط I (Lesot et al. 1981a) وكبريتات الكوندروثين (Lau and Ruch 1983) . اما فيما يتعلق بالفيبرونكتين فمن المحتمل ان تنتجها الأعضاء المينائية و الحليمات السنية (Ruch et al. 1983) .

أما فيما يخص التعديلات modification الكيميائية الحيوية للغشاء القاعدي ، فلقد كشفت دراساتنا السابقة عن بعض مظاهر التحول turn-over الزمني - المكاني temporo-spatiale لمواد الغشاء القاعدي خلال تشكل السن ؛ فكولاجين النمط III يتلاشى أثناء تمايز ارومة العاج ، اما الفيبرونكتين ، الذي كان متوزعاً بانتظام حول طبقة ارومة العاج ، فيتوضع في جوار قمة ارومة العاج التمايزية فقط (Lesot et al. 1981b) . كما أظهرت دراسات التصوير الاشعاعي الداتي التي استخدمنا فيها الفليكوزامين الموسوم بالتريتيوم ^3H -glucosamine (Osman and Ruch 1981b) والكبريت - ٢٥ (Lau et al. 1983) تراكمًا متبايناً ، وتحولاً في مستوى الغشاء القاعدي للفليكوزامينوغليكسان الموسوم . كما أن الدراسة الخلوية لبداءة السن الملونة باحمر الروتينيوم rouge de ruthénium أكدت النتائج السابقة باظهارها تبدلات في توزيع غليكوزامينوغليكسان الغشاء القاعدي أثناء تمايز ارومة العاج (Meyer et al. 1981) . بيد أن للفليكوزامينوغليكسان تأثيراً متبادلاً على مكونات مستقبلات جملة الاينيلات سيكلاز adenylate cyclase وان تناقصه يؤدي الى زيادة النشاط النسبي للاينيلات سيكلاز (Kelley et al. 1977) ؛ ولقد بينا في دراسة سابقة ، أن فعالية هذه الانزيم تتزايد خلال التمايز النهائي لارومة العاج (Osman et al. 1981) .

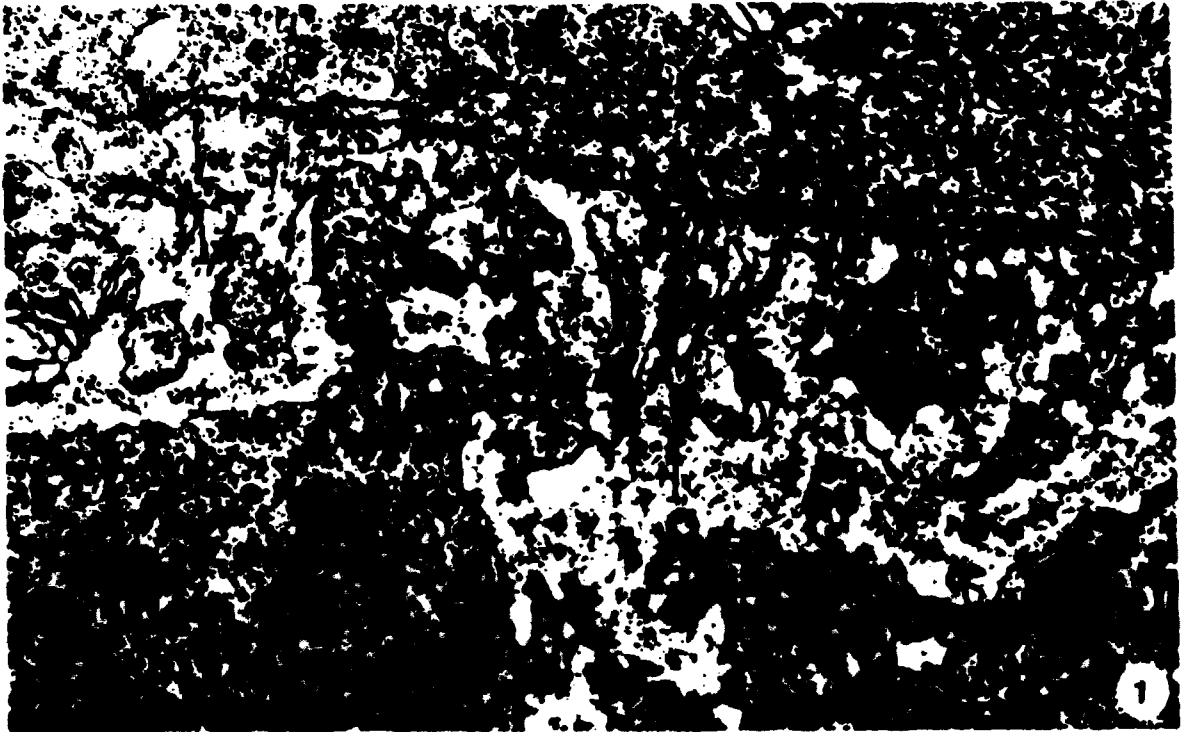
لقد اوضحنا سابقاً المنشأ الظهاري للغشاء القاعدي (Osman and Ruch 1980, 1981c) ، وذلك بزرع أعضاء مينائية على الوسط النصف صلب semi-solide ، بعد عزلها من الأضراس السفلية الأولى في اليومين ١٦ و ١٨ من العمل اثر المعالجة بمحلول التربسين - الذي يزيل الغشاء القاعدي - . ولقد استطاعت الأعضاء المينائية في هذه الشروط إعادة بُنيان reconstitution غشاء قاعدي له مظهر خلوي سوي (الشكل ٢) . كما وجدنا انه بالامكان رسم هذا الغشاء بعد انجبال incorporation الفليكوزامين المشع الموسوم بالتريتيوم ^3H -glucosamine

الشكل ١ : صورة بالمجهر الالكتروني لمنطقة التماس بين طليعة أرومة الميناء (PA) وأرومة العاج الآخذة بالاستقطاب (e) في الضرس السفلية الأولى في اليوم ١٨ من الحمل . يظهر الغشاء القاعدي (MB) بطبقاته الثلاث : الصفيحة الصافية (L.L) ، والصفيحة الكثيفة (LD) ، و الصفيحة الشبكية الليفية (LF) التي تتضمن عناصر ليبينية وحببية . تبدو الاستطالات السيتوبلاسمية لأرومة العاج (PO) على تماس مباشر مع الصفيحة الشبكية الليفية (تكبير ٢٢٥٠٠ مرة) .

الشكل ٢ : صورة بالمجهر الالكتروني لسطح طليعة أرومة الميناء (PA) في عضو مينائي عزل في اليوم ١٨ من الحمل ، وزرع في الزجاج مدة ١٤ ساعة . لاحظ إعادة بنيان الغشاء القاعدي (MB) بطبقاته الثلاث المشابهة لتلك الموجودة في بداية الضرس الكاملة (راجع الشكل ١) (تكبير ٢٠٠٠٠ مرة) .

الشكل ٣ : التصوير الاشعاعي اللداتي بالمجهر الالكتروني لسطح طليعة أرومة الميناء (PA) في عضو مينائي عزل في اليوم ١٨ من الحمل ، ووضع في زرع مسبق مدة ١٠ ساعات ثم جرى انجبال الفليكوزامين المشع ، في الزجاج ، مدة ٦ ساعات . لاحظ إعادة بنيان الغشاء القاعدي الموسوم بالفليكوزامين المشع (MB) (تكبير ٢٠٠٠٠ مرة)

(الأشكال من ١ إلى ٣ ، مستعارة من Osman and Ruch, 1981C)



طيلة ٦ ساعات في الزرع ، عن طريق رسم البروتينات السكرية glycoprotéines والجليكانات البروتينية protéoglycannes في الغشاء القاعدي (الشكل ٢) (Osman and Ruch 1981 b,c) . واستمراراً لدراستنا السابقة ، فلقد وجدنا أن من الأهمية بمكان إجراء البحث الحالي للإجابة على السؤالين التاليين : (١) هل أن إعادة بنيان الغشاء القاعدي مرتبطة بشروط الزرع ؟ وللإجابة على هذا السؤال قمنا بمقارنة الزرع على الوسط نصف الصلب semi - solide مع الزرع على الوسط المائس milieu liquide .

(٢) هل يسمح استعمال الطلائع الشعة لبعض مكونات الغشاء القاعدي (كولاين الوسط ١٧ . واللامينين و الفيبرونكتين و الغليكوزامينوغليكان و الغليكانات البروتينية) باظهار التغيرات الاستقلابية في الخلايا الظهارية قبل ، و أثناء ، و بعد إعادة بنيان الغشاء القاعدي ؟ ولهذا فقد استخدمنا الغليكوزامين المشع ، واللويسين المشع ، و البرولين المشع الموسومة جميعها بالترينيوم .

٢ - المواد و الطرائق

٢ - ١ - تحضير العينات وأوساط الزرع :

استخدمنا في تجاربنا الأعضاء المينائية (الظهارة السنية الداخلية : E₁₈) في الأضراس السفلية الأولى من أجنة الفئران البيض (السلالة السويسرية souche swiss) في اليوم ١٨ من الحمل . يتم تفارق dissociation الأعضاء المينائية عن الحليمات السنية بعد معالجة تلك الأضراس المعزولة ، مدة ٩٠ دقيقة بمحلول ١٪ من التربسين (Trypsine Difco 1:250) في دائرة tampon هنكس Hanks ، في الدرجة + ٣٠ °م ويجرى التفارق تحت المكبرة المجسة ذات العينيتين وبالإستعانة بمشروطين دقيقين (الشكل ١) . يصبح العضو المينائي (E₁₈) بذلك مجرداً من الغشاء القاعدي ، نتيجة حلمهة مكونات هذا الغشاء بتأثير التربسين ، ويصدر من السطح القمي لخلايا الظهارة (ظهارة ارومة الميناء) عدد كبير من الاستطالات السيتوبلاسمية ، تشبه في مظهرها الأرجل الكاذبة (الشكلان ١٢ و ١٦) . ولقد زرعت الأعضاء المينائية ، في الزجاج ، وفقاً للطريقتين التاليين :

٢ - ١ - ١ - الزرع على سطح ١ ملل من الوسط نصف الصلب : يتكون هذا الوسط من حجمين من دائرة هنكس وحجم واحد من معمل جنين العجل وحجم واحد من الخلاصة الجنينية لجنين الدجاج و ٦ حجوم من مصورة (بلازما) دم الديك (حسب Ruch

٢-١-٢ - الزرع على مرشحة ذات مسام قطرها ٥٠ ميكرون (Filtre millipore) S.A. type HA, pore 0,45^{mm} (محمولة على سطح (مئل من الوسط المائع الذي يتكون من ٨٥٪ من محلول MEM و ١٥٪ من معمل جنين الصجل .

٢-٢ - شروط الزرع في الزجاج وانجبال incorporation الطلائع المشعة :

لقد استخدمنا البرولين المشع ³H-proline واللوسين المشع ³H-leucine والجليكوزامين المشع ³H-glucosamine (انتاج C E A, France) . بمعدل ٢٠ ميكروكوري / ملل . وانجز انجبال كل طليعة مشعة وفق مختلف الشروط التالية . وخص لكل شرط تجريبي خمسة أعضاء . مبنائية :

٢-٢-١ - الانجبال طيلة فترة الزرع ، على الوسط نصف الصلب أو الوسط المائع وفق الفترات التالية : ٥ دقائق ، ١٥ دقيقة ، ساعة واحدة ، ثلاث ساعات ، ٦ ساعات وأحياناً (من أجل البرولين المشع) ١٢ ساعة ، أي :

$$E_{18} + \frac{5'}{3H} \quad , \quad E_{18} + \frac{15'}{3H} \quad , \quad E_{18} + \frac{1h}{3H}$$

$$E_{18} + \frac{3h}{3H} \quad , \quad E_{18} + \frac{6h}{3H} \quad , \quad E_{18} + \frac{12h}{3H}$$

٢-٢-٢ - زرع مسبق pré-culture على الوسط نصف الصلب الغير مشع (شاهد : T) مدة ١٠ أو ١٥ ساعة ، ثم انجبال الطليعة المشعة مسبقاً

متزايدة : ٥ دقائق ، ١٥ دقيقة ، ساعة واحدة ، ثلاث ساعات ، ٦ ساعات وأحياناً (من أجل البرولين المشع) ١٢ ساعة ، أي :

$$E_{18} + \frac{5'}{3H} + \frac{14h}{T} \quad , \quad E_{18} + \frac{15'}{3H} + \frac{14h}{T} \quad , \quad E_{18} + \frac{1h}{3H} + \frac{15h}{T}$$

$$E_{18} + \frac{3h}{3H} + \frac{15h}{T} \quad , \quad E_{18} + \frac{6h}{3H} + \frac{15h}{T} \quad , \quad E_{18} + \frac{12h}{3H} + \frac{15h}{T}$$

٢-٢-٣ - انجبال مدة ١٥ دقيقة في الوسط المائع ، يجري بعده غسل للعينات في

ثلاث حمامات بدارثة منكس (مدة كل حمام خمسة دقائق) ، ثم زرع على

الوسط نصف الصلب الغير مشع (شاهد : T) في زرع لاحق (PC)

post - culture (أو تجارب المتابعه expériences

de chasso) مدة ١٥ دقيقة ، ٢٠ دقيقة ، ساعة واحدة ، ٢ ساعات ،

$$E_{18} + \frac{15'}{3H} + \frac{30'}{PC} \quad , \quad E_{18} + \frac{15'}{3H} + \frac{15'}{PC} \quad , \quad E_{18} + \frac{1h}{3H} + \frac{15'}{PC}$$

$$E_{18} + \frac{3h}{3H} + \frac{15'}{PC} \quad , \quad E_{18} + \frac{6h}{3H} + \frac{15'}{PC} \quad , \quad E_{18} + \frac{12h}{3H} + \frac{15'}{PC}$$

٢ - ٢ - تثبيت واشتمال inclusion العينات :

بعد خضوع العينات لشروط الزرع السابقة ، ثبتت مدة ساعة بمحلول ١/٢٥
غلوتارالدهيد glutaraldehyde في دارثة كاكوبيلات Cacodylate
(PH: 7,3 ، 0,1:1) ، ثم جرى لها تثبيت لاحق post-fixation
بمحلول ١٪ من رابع اكسيد الأوسميوم في دارثة كاكوبيلات ، مدة ساعة .
أخيراً تم تشريب العينات واشتمالها بمزيج Epon وفق التقنية المجهرية
الالكترونية التقليدية .

٢ - ٤ - التصوير الاشعاعي اللاتي بالمجهر الفوتوني :

أجريت مقاطع لعينات في جميع شروط الزرع ، ثخانتها ١ ميكرون ،
باستخدام السكاكين الزجاجية ، والمشرح المستدق Ultramicrotome
(LKB Ultratome III) . ثم نقلت المقاطع على قطرة ماء مقطر إلى
صفحة زجاجية وجففت بالدرجة ٧٠ م ، ثم حفظت مدة ٢٤ ساعة في محم
بدرجة ٦٠ م ، لاحكام التصاق المقاطع على الصفائح الزجاجية .
وقد حضر لكل عينة ١٠ صفائح ، وطبقت طريقتان في إعداد المقاطع للتصوير
الاشعاعي اللاتي :

٢ - ٤ - ١ - طريقة رقائق كوداك Stripping film Kodak AR 10 :

جرت المقاطع من مادة Epon بتغطيس الصفائح في محلول
الصور الكحولي (١٢ غ من حبيبات NaOH في ١٠٠ ملل كحولي
ابتيلي مطلق) مدة ١٥ دقيقة ، ثم غسلت في ثلاث حمامات
بالكحول المطلق ، مدة كل حمام ١٠ دقائق . ثم غطت الصفائح
بمحلول الجيلاتين (٥ ر غ جيلاتين + ٥ ر غ شبه الكروم / ليجر
ماء مقطر) ، وغطيت برقائق كوداك (وفق طريقة Zajdela
1963) في غرفة مظلمة تحت إنارة حمراء من مرشحة كوداك
الحمراء N⁰¹ . أخيراً جففت الصفائح وحفظت في الظلام بدرجة
حرارة المخبر ، وكان التعريض للاشعاع exposition
مدة ٦ و ١٤ و ٢٥ و ٨٠ يوماً . وجرى الاظهار في الدرجة ٢٠ م ،
بمظهر كوداك révélateur Kodak D-19 مدة خمس
دقائق . أما التثبيت فجرى خلال ثلاث دقائق في محلول ١/٢٠
تيوسلفات الصوديوم ، غسلت بعدما الصفائح بالماء الجاري مدة ١٠
دقائق . ثم لونت خلال ٢٠ دقيقة ، في محلول هيمالان ميهير
(hémalum Mayer (Merck) . طبقت هذه الطريقة على ٦ صفائح

لكل عينة .

٢ - ٤ - ٢ - طريقة المستحلب المائع Emulsion Ilford L4

(وفق طريقة Boyenval and Fischer 1976) غطت الصفائح في مستحلب ممدد بالماء المقطر بنسبة ١/١ ، في غرفة مظلمة تحت اضاءة حمراء من مرشحة كوداك الحمراء Wratten N^o2 . ثم عرض المستحلب للاشعاع مدة ٦١ يوماً ، في درجة حرارة المخبر . أما الاظهار و التثبيت فقد تم كما في الطريقة السابقة . ثم لونت المقاطع خلال دقيقة ونصف الدقيقة ، في الدرجة ٦٠ م^o ، بأزرق التولويدين bleu de toluidine (٥ ٪ غ أزرق تولويدين في دائرة رابع بورات الصوديوم) . طبقت هذه الطريقة على ١ صفائح لكل عينة من العينات المنتخبة فقط ، ذلك لأنها أكثر حساسية ودقة في تحديد موضع الاشعاع من الطريقة السابقة .

٢ - ٥ - التصوير الاشعاعي الذاتي بالمجهر الالكتروني . (وفق طريقة

(Larra et Droz 1970

أجريت مقاطع رقيقة بلون ذهبي شاحب (ثخانتها حوالي ١٠٠ انغستروم) ، في العينات المنتخبة فقط ، باستخدام سكين من الالماس (Diatoms) ، والمشراح المستدق LKB ultrotome III ، ونقلت المقاطع الرقيقة إلى صفائح زجاجية مغطاة بطبقة رقيقة من السيلوثيدين Celloidine . ثم جمرت تغطية المقاطع بالمستحلب النووي Ilford L4 الممدد بالماء المقطر بنسبة ١/١ في غرفة مظلمة تحت الاضاءة الحمراء ، باستعمال مرشحة كوداك Wratten N^o2 . وبعد تعريض المستحلب النووي للاشعاع مدة ١٠٠ أو ١٢٦ يوماً ، جرى الاظهار باستخدام مظهر ميكرودول كوداك microdol x Kodak (في الدرجة ١٨ م^o ، مدة ١ دقائق) أو بمظهر Lettré und Pawletz 1966 (في الدرجة ١٨ م^o ، مدة دقيقة واحدة) . وفي كلتا الحالتين ، تم التثبيت باستخدام محلول ٢٠ ٪ تيرسلفات الصوديوم مدة خمس دقائق . وبعد نقل المقاطع الى الشبكات grilles (المستخدمة في نقل المقاطع الى المجهر الالكتروني) ، جرى ترقيق طبقة السيلوثيدين فيها بتفطيس الشبكات في خلاص الازواميل acétate d'isoamile ، مدة ثلاث دقائق .

أخيراً لونت المقاطع بمحلول مائي بحوي ٥ ٪ خلاص الازواميل ، مدة ٢٠ دقيقة ،

ثم بحلول ليمونات الرصاص ، مدة ١٠ دقائق . والجدير بالذكر اننا لم نضع طبقة من الفحم على المقاطع قبل تغطيتها بالمستحلب النووي (لتعذر ذلك في حينه ، في مخبر المجهر الالكتروني في مركز الطب النووي بدمشق) ، كما أن تلوين المقاطع جرى بعد انجاز التصوير الاشعاعي الذاتي ، حسب Kopriwa 1973 . جرى فحص التصوير الاشعاعي الذاتي بالجهر الالكتروني Philips EM300 (في مركز الطب النووي بدمشق) و المجهر الالكتروني Siemens Elmiskop 102 (في معهد البيولوجيا الطبيعية في ستراسبورغ ، فرنسا) .

٢ - ٦ - التقنية التقليدية للدراسة الخلوية Cytologie

من أجل مقارنة اعادة بنیان الغشاء القاعدي في كلا وسطي الزرع ، نصف الصلب و المائع ، اجرينا مقاطع فائقة الدقة Ultra-fines ، بلون رمادي شاحب (ثخانتها حوالي ١٠٠ أنغستروم) ، باستعمال المشراح المستدق (Ultracut Reichert) ، في عينات زرعت مدة ٦ ساعات على الوسط نصف الصلب أو الوسط المائع (وفق ما ورد في الفقرة ٢ - ٢ - ١) . وبعد تلوين المقاطع بحلات اليورانيل acétate d'uranyle و ليمونات الرصاص Citrate de plomb (مدة ١٠ دقائق في كل منهما) ، درست على الجهر الالكتروني Siemens Elmiskop 102 .

٢ - ٧ - المعالجة الانزيمية (وفق Osman and Ruch 1981b)

جرت المعالجة الانزيمية في مقاطع ثخانتها ١ ميكرون ، لعينات زرعت مدة ٦ ساعات بوجود إحدى الطلائع المشعة الثلاثة في الوسط نصف الصاب أو الوسط المائع (كما في الفقرة ٢ - ٢ - ١) ، ولعينات زرعت مدة ١٥ ساعة على الوسط نصف الصلب الغير مشع ، تبعا انجبال إحدى الطلائع المشعة مدة ٦ ساعات أخرى (كما في الفقرة ٢ - ٢ - ٢) . وقد عولجت هذه المقاطع بعد تجريدتها من مادة Epon (كما في الفقرة ٢ - ١) بانزيم Hyaluronidase 5000 (Hoechst-Behring) (٥٠٠ وحدة / ملل في دائرة خلات الصوديوم - ٠.٥ مول - تحوي ٠.٨ ٪ كلور صوديوم ، PH 5.6 ، مدة ساعة ، في الدرجة ٢٧ م) ؛ أو بانزيم chondroitinase ABC (i.PCR, Franco) (خمس وحدات / ملل في دائرة PBS مجردة من شوارد الكالسيوم و المغنيزيوم ، PH 7,3 ، مدة ساعة واحدة ، بالدرجة ٢٧ م) بالنسبة لمقاطع العينات الموسومة بالفليكوزامين المشع أو اللوسين المشع ؛ وبانزيم الكولاجيناز

Collagenase type VII (LPCR, FRANCE) (٨٠ وحدة /ململ في
دائرة PBS مجردة من شوارد الكالسيوم و المغنيزيوم ، PH 7,3 ، مدة ساعة
واحدة ، في الدرجة ٢٧ م°) لمقاطع العينات الموسومة بالبرولين المشع . وبعد
المعالجة الانزيمية ، طبقت تقنية التصوير الاشعاعي الذاتي بالمجهر الفوتوني
كما في الفقرة ٢ - ٤ - ١ .

٢ - النتائج :

في دراسة أولية ، اجرينا التصوير الاشعاعي الذاتي بالمجهر الفوتوني لعينات فسي
جميع شروط الزرع ، وكان ذلك باستخدام رقائق كوداك AR_{١٥} ، بعد تعريض للاشعاع
استمر ٦ و ١٤ و ٢٥ و ٨٠ يوماً . وقد تبين لنا ان مدة التعريض ٦ و ١٤ يوماً لم تكن كافية
من أجل الحصول على رسم مناسب ، في أغلب شروط الزرع ، مما دعانا إلى الأخذ بمدة التعريض
٢٥ و غالباً ٨٠ يوماً . وكانت الغاية من هذه الدراسة الأولية :

(١) معرفة مدى انجبال الطلائع المشعة الثلاثة المستعملة في مختلف شروط الزرع ومقارنتها
بعضها ؛ ولقد اعتمدنا في ذلك على التقدير الكيفي لشدة الوسم النسبية في مقاطع
العينات المختلفة .

ويخلص الجدول (١) نتائج دراستنا الأولية هذه .

(٢) تحديد شروط الزرع المفضلة من حيث شدة الوسم المناسبة ، ومن حيث وضوح الفوارق
الحركية différences cinétiques بين الطلائع المشعة الثلاثة ، وذلك لانتخاب
عيناتها للدراسة المعقمة بالتصوير الاشعاعي الذاتي بالمجهرين الفوتوني والالكتروني .
سيما وان عدد شروط الزرع كبير جداً ، ويتعذر معه القيام بدراسة تحليلية لجميع
العينات ، بالاضافة الى ان تقنيات التصوير الاشعاعي الذاتي بالمجهر الالكتروني
معقدة وطويلة جداً . وقد انتخبنا للدراسة المعقمة هذه شروط الزرع التالية

$$\text{لكل من الطلائع المشعة الثلاث : } E_{16} + \frac{15'}{3H} \text{ ، } E_{18} + \frac{15'}{3H} + \frac{15'}{pc} \text{ ، } E_{18} + \frac{6^h}{3H} \text{ ، } E_{16} + \frac{15'}{3H} + \frac{1^h}{pc} \text{ ، } E_{16} + \frac{15'}{3H} + \frac{30'}{pc} \text{ ، } E_{18} + \frac{14^h}{1} + \frac{15'}{3H} \text{ ، } (E_{18} + \frac{12^h}{3H} \text{ للبرولين) .}$$

ولقد طبقنا تقنية التصوير الاشعاعي الذاتي بالمجهر الفوتوني ، باستخدام المستحلب
المائع (وفق الفقرة ٢ - ٤ - ٢) ، على كافة العينات المنتخبة واقتصرنا في تطبيق

تقنية التصوير الاشعاعي الذاتي بالمجهر الالكتروني على العينات المنتخبة الموسومة بالبرولين والوسين المشعين فقط (وفق الفقرة ٢ - ٥) . ويخلص الجدول (٢) نتائج هذه الدراسة العميقة ، ولقد اهتمنا في هذه الدراسة بمقارنة شدة الوسم بالطلائع المشعة الثلاثة ، في سيتوبلازما طليعة ارومة الميناء ، وتتبع ظهور الوسم في استطلاعاتها الخلوية (تمهيداً لافراز مكونات الفشاء القاعدي على السطح بعد أن تم تركيبها في السيتوبلازما) ، ويتراكم الوسم على سطحها . ويتضح من الجدول (٢) الامور التالية :

(أ) يكون الوسم في البداية سيتوبلازماً ، بالنسبة لكل طليعة مشعة ، وذلك بعد انجبالها مدة ١٥ دقيقة (الأشكال ٤ - ٦) ، ثم يظهر الوسم بالتدرج في الاستطلاعات الخلوية ، بعد زرع لاحق مدته ١٥ و ٢٠ و ٦٠ دقيقة (الأشكال ٧ - ٩ و ١٣ - ١٥ و ١٦ - ١٨) ، وأخيراً ينتقل جزء من الوسم الى السطح ، بعد انجبال دليل الأمد (٦ أو ١٢ ساعة) .

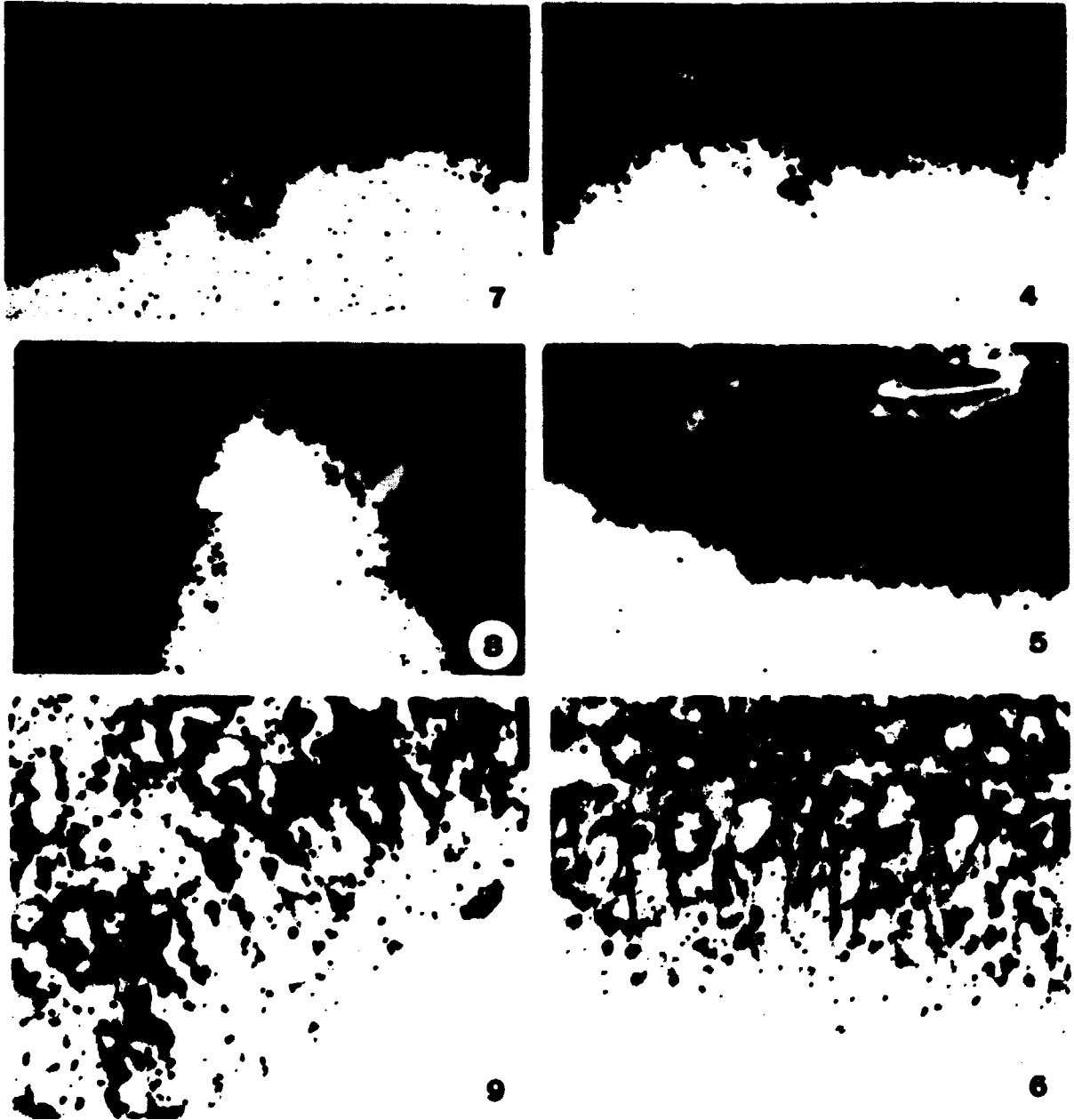
(ب) لدى مقارنة شروط الزرع المتماثلة التي تم فيها انجبال الطلائع المشعة الثلاثة ، تظهر بوضوح فوارق حركية *différences cinétiques* بين الطلائع الثلاثة ، سيما العبور (المرور) *transit* الخلوي ، الذي يكون مختلف بالنسبة للطلائع المختلفة ؛ فالبرولين المشع (مشتقاته) يكون أسرع ظهوراً في المناطق القمية للخلايا (الشكلان ٢٠ و ٢١) ، ويكون عبور مشتقات الفلوكوزامين المشع أكثر بطئاً (قارن الشكلين ١١ و ١٢) .

(ج) لا يبدو أن حلمة الفشاء القاعدي بالترسيب من شأنها أن تنبه الخلايا لترتيب مكونات الفشاء القاعدي بشكل ملموس ؛ فتحول *turn-over* هذه المكونات يبدو متماثلاً قبل (الشكلان ١٢ و ١٦) وأثناء وبعد (الشكلان ٢١ و ١١) إعادة بنیان الفشاء القاعدي .

بالإضافة لما سبق ، تظهر دراسة التصوير الاشعاعي الذاتي لعينات زرعت في نفس الشروط التجريبية على الوسط نصف الصلب أو الوسط المائع (وفق الفقرة ٢ - ٢ - ١) إن نتائج الزرع كانت متماثلة ، بمعنى ان نوع وسط الزرع لا يغير النتائج . وهذا ما سمح لنا باستخدام الوسط نصف الصلب فقط في بعض الشروط التجريبية (وفق الفقرة ٢ - ٢ - ٢) أو استخدام الوسط المائع أثناء انجبال الطليعة المشعة ، ثم استخدام الوسط نصف الصلب أثناء الزرع اللاحق (وفق الفقرة ٢ - ٢ - ٢) .

ولقد اعتمدنا في دراسة التصوير الاشعاعي الذاتي بالمجهر الالكتروني ، بشكل خاص ، على المقاطع التي تبنت معالجتها بالمظهر الحاربي على الفينيدون ، لأن الوسم فيها كان أشد من تلك التي عولجت بمظهر الميكروول X (قارن الشكلين ٢٠ و ٢١) .

أما الدراسة الخلوية ، فقد بينت ان العضر المينائي (طليعة ارومة الميناء) باستطاعته البدء بإعادة بنیان الفشاء القاعدي اعتباراً من ٦ ساعات من الزرع سواء كان ذلك في الوسط المائع أو الوسط النصف صلب ، وعلى نحو متشابه . ويصبح هذا الفشاء ، بعد زرع مدته



الأشكال من ٤ إلى ٩: التصوير الإشعاعي الذاتي بالمجهر الفوتوني ، لأرومة الميناء في عضو مينائي عزل في اليوم ١٨ من الحمل ، بعد انجبال الطليعة المشعة مدة ١٥ دقيقة مباشرة (الأشكال ٤ و ٥ و ٦) ، أو بعد زرع لاحق مدة ساعة واحدة (الأشكال ٧ و ٨ و ٩) .

- الشكلان ٤ و ٧ يظهر فيهما الوسم البرولين الشع .
- الشكلان ٥ و ٨ يظهر فيهما الوسم اللوسين الشع .
- الشكلان ٦ و ٩ يظهر فيهما الوسم بالفليكوزامين الشع .

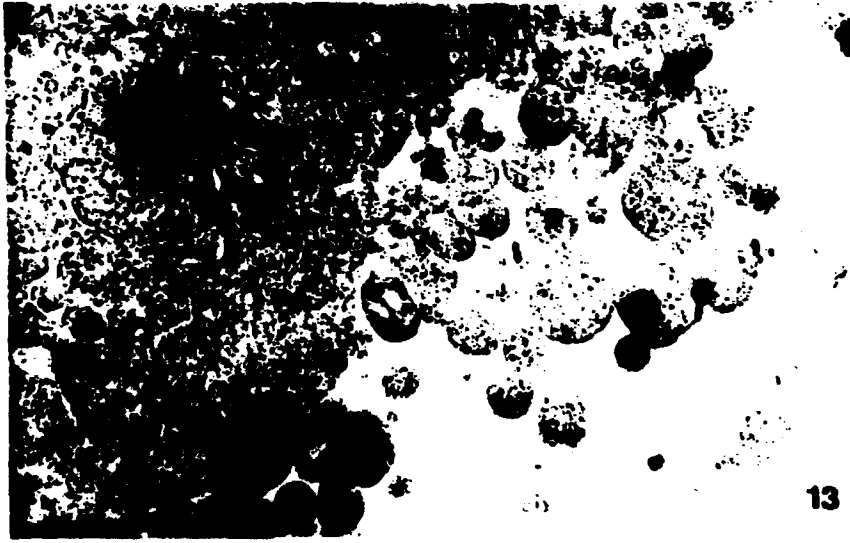
تبدى الأشكال ٧ و ٨ و ٩ ازدياد شدة الوسم وعبوره الى مستوى السطح والاستطالات السيتوبلاسمية (P) بمقارنتها مع الأشكال ٤ و ٥ و ٦ .
(الأشكال ٤ و ٥ و ٧ و ٨ : تكبير ١١٦٠ مرة ، معالجة وفق الفقرة ٢-٤ - ٢ . والشكلان ٦ و ٩ : تكبير ١٦٥٠ مرة معالجة وفق الفقرة ٢-٤ - ٢) .

الشكل ١٠ : مقطع طولي في عضو بينائي عزل في اليوم ١٨ من الحمل ، ثخانتة ميكرونياً واحداً وملون بأزرق الميتيلين . تظهر عليه ظلمة أرومة الميناء (PA) التي تشكل بمجموعها النسج الظهاري السني الداخلي (E_{1B}) ، فيه ثلاث انقسامات (C) تقابل حديبات الحلزمة السنية . RS : الشبكة النجمية .
(تكبير ١٨٠ مرة) .

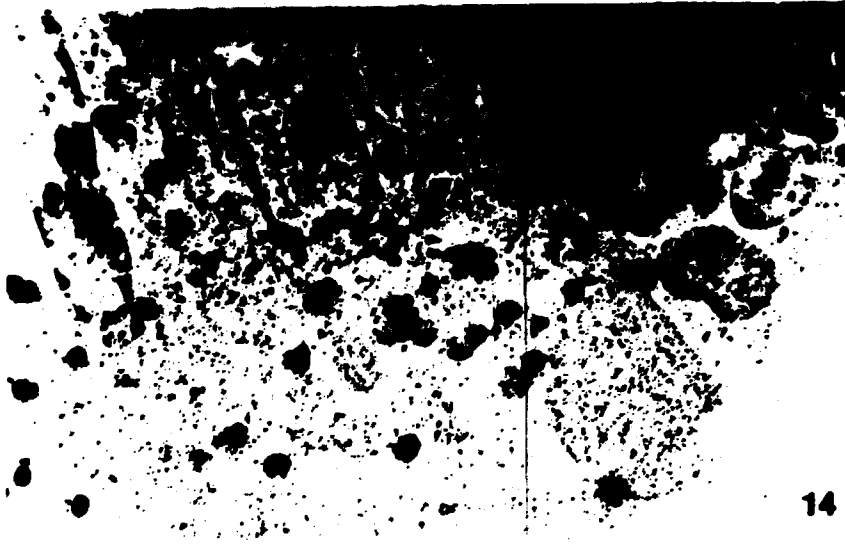
الشكل ١١ : التصوير الاشعاعي الذاتي ، لظلمة ارومة الميناء (PA) بعد زرع مسبق مدة ١٤ ساعة ثم انجبال باللوسين المشع مدة ١٥ دقيقة . لاحظ تراكم الوسم على السطح (الأسهم) . (تكبير ١١٦٠ مرة) (المقطع معالج وفق الفقرة ٢ - ٤ - ٢) .

الشكل ١٢ : التصوير الاشعاعي الذاتي بالمجهر الفوتوني ، لظلمة ارومة الميناء (PA) بعد زرع مسبق مدة ١٤ ساعة ثم انجبال بالفليكوزامين المشع مدة ١٥ دقيقة . لاحظ الوسم القليل في داخل الخلايا وعلى السطح .
(تكبير ١٦٥٠ مرة) (المقطع معالج وفق الفقرة ٢ - ٤ - ١) .

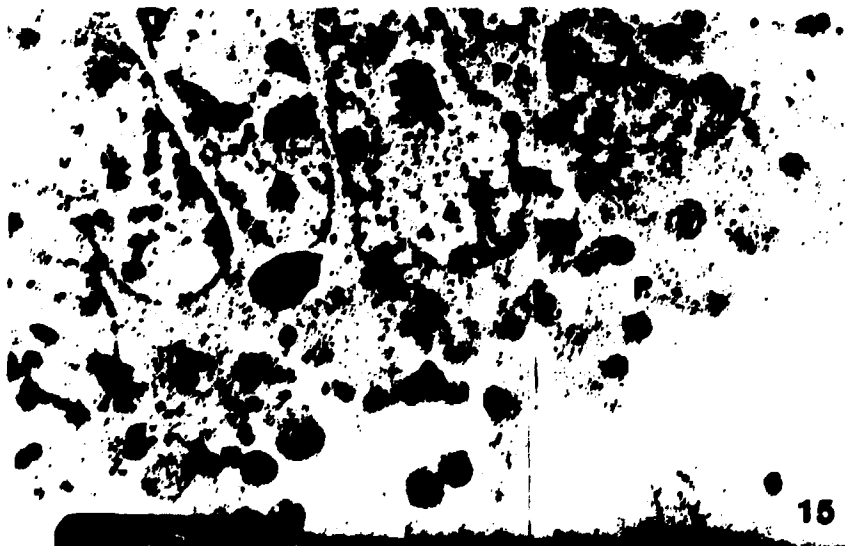




13



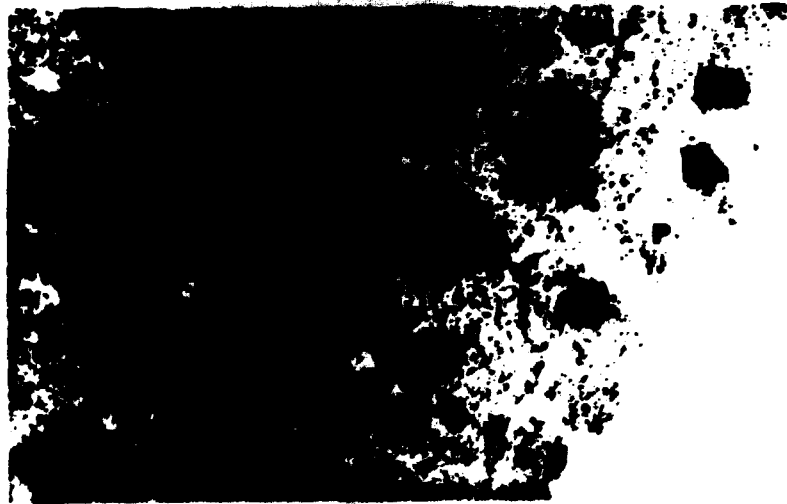
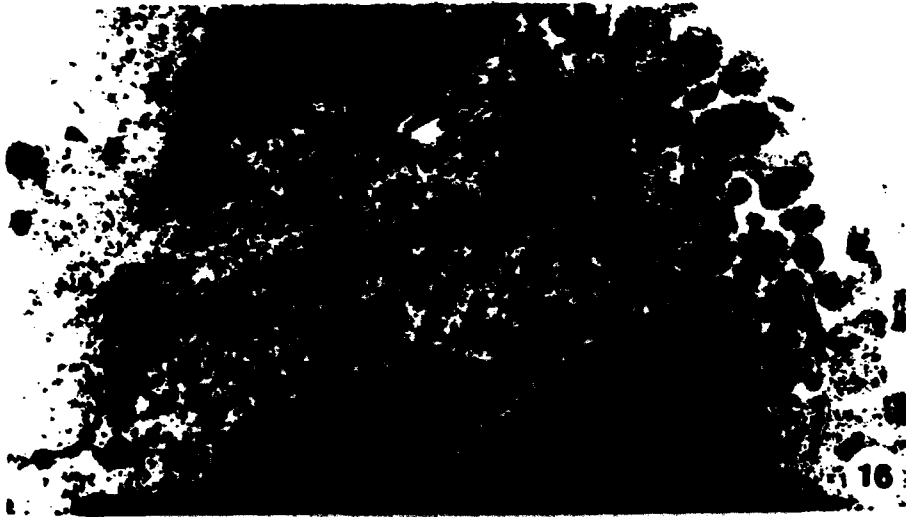
14



15

الأشكال ١٢ - ١٥ :

التصوير الاشعاعي الذاتي بالمجهر الالكتروني لقمة طليعة أرومة الميلاء (PA)
بعد انجبال البرولين المشع مدة ١٥ دقيقة ، بدون زرع لاحق (الشكل ١٢)
وبعد زرع لاحق مدة ٢٠ دقيقة (الشكل ١٤) ومدة ساعة واحدة (الشكل ١٥)
لاحظ الوسم المتزايد تدريجياً في مستوى الاستطالات السيتوبلاسمية (P) .
جرى التعريض للاشعاع خلال ١٠٠ يوم ، والاطهار باستخدام مظهر الفينوليدون .
(الشكل ١٢ : تكبير ١١٥٠٠ مرة ، الشكلان ١٤ و ١٥ : تكبير ٢٠٠ مرة) .



الأشكال ١٦ - ١٨ :

- التصوير الاشعاعي الذاتي بالمجهر الالكتروني ، لينة طليعة أرومة الميناء (PA)
بعد انجبال اللوسين المشع مدة ١٥ دقيقة ، بدون زرع لاحق (الشكل ١٦)
وبعد زرع لاحق مدة ٣٠ دقيقة (الشكل ١٧) ومدة ساعة واحدة (الشكل ١٨) .
لاحظ الرسم المتزايد بشدة في مستوى الاستطالات السيتوبلاسمية (P) .
جرى التعريض للاشعاع خلال ١٠٠ يوم ، و الاظهار بمظهر الفينيدون .
(الأشكال بتكبير ١١٥٠٠ مرة) .



الأشكال ١٩ - ٢٠ :

التصوير الاشماعي الذاتي بالمجهر الالكتروني لبقعة طليعة أرومة المونجاء
(PA) ، بعد زرع مسبق مدة ١٤ ساعة ثم انجبال بالهرولين المشع
مدة ١٥ دقيقة . يظهر على السطح اعادة بنیان غشاء قاعدي نموذجي (الأسهم)
وعبور مشتقات الهرولين المشع (حبيبات الوسم) . جرى التعريض للاشعاع
خلال ١٠٠ يوم ، والإظهار باستخدام ميكرودولكوداك (الشكلان ١٩ و ٢٠ ؛
حبيبات الوسم بشكل شريط ملتف) أو الفينيدون (الشكل ٢١) ؛ يبدو الوسم
أكثر شدة في حالة الاظهار بالفينيدون .
(الشكلان ١٩ و ٢٠) ؛ تكبير ١١٨٠٠ مرة ، الشكل ٢١ ؛ تكبير ١١٥٠٠ مرة) .

١٤ ساعة أو يزيد ، مماثل من الناحية البنيوية ، فنظيره في بداية السن الكاملة (قارن الأشكال ١٩ و ٢ و ٢ بالشكل ١) . وبمقارنة الدراسة الخلوية مع دراسة التصوير الإشعاعي اللاتفي في العينات $E_{10} + \frac{6h}{3H}$ (بالنسبة للطلائع الثلاثة) و العينات $E_{10} + \frac{12h}{3H}$ (بالنسبة للبرولين الشع) ، تبين لنا بأن الرسم السطحي ، في حال وجوده ، يوافق إعادة بنیان الغشاء القاعدي . والجديد بالذكر أننا لم نطبق تقنية التصوير الإشعاعي اللاتفي بالمجهر الإلكتروني على عينات الفليكوزامين الشع ، لأن مقاطعها لم تظهر بشكل عام ، وسأً كافياً في التصوير الإشعاعي اللاتفي بالمجهر الفوتوني ، وهذا مؤشراً لعدم صلاحية تلك التقنية للشروط التي فيها انجبال الفليكوزامين الشع .

أما ما يتعلق بالمعالجة الأنزيمية ، فقد أجرينا تجربة أولية فقط ، تبين لنا بنتيجتها أن أنزيم الهالورونيداز hyaluronidase تزيل جزءاً من الفاعلية الإشعاعية من سطح طليعه أرومة الميناء الموسومة بالفليكوزامين و اللوسين ، في حين أن أنزيم الكوندروثونيناز chondroitinase ABC ليس لها تأثيرات مرئية . كما أن أنزيم الكولاجيناز Collagenase تزيل جزءاً من الفاعلية الإشعاعية من سطح طليعه أرومة الميناء الموسومة بالبرولين الشع . لكنه لم يتثن لنا إعادة مثل هذه التجارب للتأكد من نتائجها وللحصول على معطيات كمية .

٤ - المناقشة :

لابد ، بادىء ذي بدء ، من التنويه بكثرة الشروط التجريبية التي اخذت بعين الاعتبار والتقنيات المعقدة للتصوير الإشعاعي اللاتفي ، سيما ما يتعلق منها بالمجهر الإلكتروني ، هذا بالإضافة الى بعض الصعوبات الفنية التي صادفناها أثناء اجراء هذا البحث ، كنعذر تغطية المقاطع بطبقة رقيقة من الفحم قبل وضع المستحلب النووي عليها (لتعطل جهاز تبخير الفحم فسي مركز الطب النووي بدمشق) ، وعدم التمكن من الحصول على صور صالحة بالمجهر الإلكتروني فسي مركز الطب النووي ، مما اضطرنا الى الاعتماد في ذلك على جهد آخر للتصوير بمجهر إلكتروني في ستراسبورغ . لذا فإننا لم نحصل على جميع النتائج التي كنا نطمح اليها من اجراء هذا البحث . ونبرز ما توصلنا اليه حتى الآن على النحو التالي :

(١) إن شروط الزرع (على الوسط نصف الصلب أو الوسط المائع) لا تغير في سلوك الظهارة السنوية الداخلية (طليعه أرومة الميناء) تجاه إعادة بنیان الغشاء القاعدي . وتتفق هذه النتيجة مع ما توصل اليه Slavkin et al, (1975) لدى زرعه الأعضاء المينائية على الغشاء الوشيمي الكوربيوني في جنين الدجاج) و Tosleff et al. (1978) باستخدام وسط مكون من محلول BGJB ، و ٢٠ ٪ من معل جنين العجل و ١٠ ٪ من الخلاصة الجنينية) ، حيث وجد هؤلاء الباحثون أن إعادة بنیان الغشاء القاعدي تحدث في شروط

- أخرى مختلفة . ولئن كان بإمكاننا تتبع إعادة بنیان الفشاء القاعدي في الوسط نجد الصلب .
بالدراسة الخلوية ، بعد ٦ ساعات من الزرع في الزجاج (Karcher-Djuricic et al.1978 و
Osman et Ruch 1980) ، فإن استخدامنا للطلائح الشعبة الثلاث و التصغير
الاشعاعي اللاتي في هذا البحث ، مكفنا من تتبع بعض المظاهر الكيميائية الحيوية لتركيب
بعض الجزيئات الفضة قبل وصولها الى شكلها النهائي ودخولها في مكونات الفشاء القاعدي .
- (٢) اظهر بعض الفوارق الحركية ، من الناحية الكيفية ، لشتقات الطلائح الشعبة المستخدمة .
ففيما يخص انجبال البرولين المشع ، الذي يظهر بسرعة في قمة الخلايا طليعة أرومة الهنداء
فمن المحتمل أن يكون نتيجة اشتراكه في تركيب كولاجين النمط IV الذي يعتبر من
مكونات الفشاء القاعدي (Lesot et al 1981) ، سيما وان المعالجة الانزيمية بالكولاجيناز
انقصت الفاعلية الاشعاعية لهذه الطليعة ، وهذا ما يسمح بالاستنتاج بان منشأ كولاجين
النمط IV ، الموجود في الفشاء القاعدي ، يعود الى الضر المينائي ، أي انه ظاهرياً .
أما انجبال اللوسين المشع ، فيشكل مؤشراً كيميائياً لشدة تركيب وحركية البروتينات التي
تسام مع غيرها في بنية مكونات الفشاء القاعدي (بإمكان هذه الطليعة رسم الفشاء
القاعدي بعد ١٥ دقيقة من دخولها الخلية) . أما فيما يتعلق بالفليكوزامين المشع ، فهو طليعة
استخدمت لدراسة غليكوزامينوغليكان glycosaminoglycans الفشاء القاعدي
في الغدد اللعابية (Banerjee et al.1977) وفي البدايات السنية (الشكل ٢)
(Osman and Ruch 1981b,c و Frank et al.1979) لأنها توضع بعض مشتقاتها
(UDP-N-acetylglucosamine و UDP-N-acetylgalactosamine) التي تدخل
في تركيب الهيالورونات hyaluronate و ٤ ، ٦ - كبريتات الكوندروثيتين
chondroitine 4 et 6 sulfates (Manasek 1975) . غير أن (Lau et al. و Lau and Ruch (1983)
بينوا أن للهيالورونات الفشاء القاعدي منشأ ظاهرياً ، وان لكوندروثيتينات هذا الفشاء
منشأ يعود للحلقة السنية ، ولذا فان انجبال الفليكوزامين المشع في تجاربنا يتعلق
بتركيب الهيالورونات على نحو خاص ، وهذا ما أكدته تجارب المعالجة الانزيمية
بالهالورونيداز و الكوندروثيتيناز .
- (٢) استمرار تحول مكونات الفشاء القاعدي قبل ، وأثناء ، وبعد إعادة بنیان الفشاء القاعدي .
وهذا يتفق مع ما توصلت اليه بحوث أخرى (Osman and Ruch 1981 a,b و Meyer et al.1977
1981) و Ruch et al. 1983 و Lau et al.1983 و Lesot et al.1983 و Ruch 1985)
في أن الفشاء القاعدي يتمتع بتحول مستمر لمكوناته ، يرافق التبدلات الخلوية و الكيميائية
النسيجية للمطرق الخلوي الخارجسي matrice extracellulaire
الذي يُعتبر الفشاء القاعدي جزءاً منه ، و الذي يشكل مجموعته مقرأاً للتأثيرات المتبادلة
بين الضر المينائي والحلقة السنية بغية انجاز مختلف مراحل تشكيل السن ، النسيجية ،

و الشكلية ، والتميزية الوظيفية ، وبخاصة فيما يتعلق بافراز طبيعتي العاج و الميناء .
و خلاصة القول أن النتائج التي توصلنا اليها توضح أن شروط الزرع لا تفهسر من قدرة
طلبة ارومة الميناء على اعادة بنهان الفشاء القاعدي ، وان مشتقات البرولين واللوسمين
و الفليكوزامين فوراق حركية ، كما ان تحول مكونات الفشاء القاعدي يبقى مستمراً ومتماثلاً
قبل ، و أثناء ، و بعد اعادة بنهان الفشاء القاعدي .

- Banerjee S.D., Cohn R.H. and Bernfield M.R. - Basal lamina of embryonic salivary epithelia. Production by the epithelium and role in maintaining lobular morphology. J.Cell. Biol. , 78 : 445-463(1977).
- Board J.B.L, Hay E.D. and Meller S.M.- Formation of the endothelium of the avian cornea: a study of cell movement in vivo. Develop. Biol., 42: 334-361 (1976).
- Boyenval J. and Fischer J. - Dipping technique. J.Microscopie Biol. Cell. , 27: 115-120 (1976) .
- Cournil J., Leblond C.P., Pomponio J., Hand A.R., Sederlof L. and Martin G.R., - Immunohistochemical Localization of procollagens. 1. Light microscopic distribution of procollagen I, III et IV antigenicity in the rat tooth by the indirect peroxidase - antiperoxidase method. J. Histochem. cytochem., 27: 1053-1069 (1979)
- Frank R.M., Osman M., Meyer J.M. and Ruch J.V.- ³H-glucosamine electron microscope autoradiography after isolated labeling of the enamel organ or the dental papilla followed by reassociated toothgerm culture. J.Biol. Buccale, 7: 225-241 (1979).
- Karcher-Djuricic V., Osman M., Meyer J.M., Staubli A. and Ruch J.V. - Basement membrane reconstitution and cytodifferentiation of odontoblasts in isochronal and heterochronal reassociation of enamel organs and pulps. J. Biol. Buccale, 6: 257-265 (1978).
- Kelley R.O., Palmer G.C., Crissman H.A., and Nilson J.H.- Interaction of glycosaminoglycan and adenylate cyclase at the surface of cultured human diploid fibroblasts. J. Cell Sci., 28: 237-250 (1977).
- Kopriva B.M. - A reliable, standardized method for ultrastructural electron microscopic radioautography. Histochemie, 37: 1 -17 (1973).

- Larra F. et Droz B.- Techniques radioautographiques et leur application a l'étude du renouvellement des constituants cellulaires. J. Microscopie, 9: 845-880 (1970).
- Laurie G.W. - Basement membrane nomenclature. Nature, 313:272 (1985).
- Lau E.C. and Ruch J.V. - Glycosamino-glycans in embryonic mouse teeth and the dissociated dental constituents. Differentiation, 23: 234-242 (1983).
- Lau E.C., Boukari A., Aréchaga J., Osman M. and Ruch J.V.- (35) Autoradiographic study of sulfated GAGaccumulation and turnover in embryonic mouse tooth germs. J. Craniofacial Genet. Dev. Biol., 3: 117-131 (1983).
- Lesot H., von der Mark K. et Ruch J.V.-Localisation par immunofluorescence des types de collagènes synthétisés par l'ébauche dentaire chez l'embryon de souris. C.R. Acad. Sci. Paris, 286, série D: 765-768 (1978).
- Lesot H.- Collagen type I trimer synthesis by cultured embryonic mouse molars. Eur. J. Biochem., 116: 541-546 (1981).
- Lesot H. et Ruch J.V. - Analyse des types de collagènes synthétisés par l'ébauche dentaire et ses constituants dissociés chez l'embryon de souris. Biol. Cell., 34: 23-38 (1979).
- Lesot H., Karcher - Djuricic. V. and Ruch J.V. - Synthesis of collagen type I, type I trimer and type III by embryonic mouse dental epithelial and mesenchymal cells in vitro. Biochem. Biophys. Acta,, 656: 206-212 (1981a).
- Lesot H., Osman M., Ruch J.V.- Immunofluorescent Localization of collagens, fibronectin and Laminin during terminal differentiation of odontoblasts. Dev. Biol., 82: 371-381 (1981b).

- Lesot H., Kacher-Djuricic V., Mark M., Meyer J.M. and Ruch J.V. - Dental cell interaction with extracellular matrix constituents: Type- I collager and fibronectin. *Differentiation*, 29: 176-181 (1985).
- Lettré H. und Paweletz N.- Probleme der elektronenmikroskopischen autoradiographie. *Naturwissenschaften*, 53: 268-271 (1966).
- Manasek F.J.- The extracellular matrix: A dynamic component of the developing embryo. in: "Current topics in developmental biology", 10: 35-120. Ed.A.A. Moscona and A. Monroy, Avademic press, New York (1975).
- Meier S. and Hay E.D. - Stimulation of corneal differentiation by interaction between cell surface and extracellulat matrix. *J. Cell Biol.*, 66: 275-291 (1975).
- Meyer J.M., Fabre M., Staübli A, Ruch J.V.- Relations cellulaires auccours de l'odontogenèse. *J. Biol. Buccale*, 5: 107-119 (1977).
- Meyer J.M., Staübli A., Ruch J.V.- Ruthenium red staining and tannic acid fixation of dental basement membrane. *Cell tissue Res.*, 220: 589-597 (1981).
- Osman M. and Ruch J.V.- Secretion fo basal lamina by trypsin isolated embryonic mouse molar epithelia cultured in vitro *Dev.Biol.*, 75: 467-470 (1980).
- Osman M. and Ruch J.V.- Behavior of odontoblasts and basal lamina of trypsin or EDTA-isolated mouse dental papillae in short-term culture. *J. Dent. Res.*, 60: 1015-1027 (1981a).
- Osman M. and Ruch J.V.- ³H-glucosamine and ³H-proline radioautography of embryonic mouse dental basement membrane. *J. Craniofacial Genet. Dev. Biol.*, 1: 95-108 (1981b).
- Osman M. and Ruch J.V.-Reconstitution of the basement membrane from the inner and outer dental epithelia of trypsin isolated mouse enamel organs. *J.Biol. Buccale*,9:129-139 (1981 c).

- Osman M., Meyer J.M., Staübli A. and Ruch J.V.- Cytochemical localization of adenylyate cyclase in embryonic mouse molars. *Acta Histochem.* 68: 91-102 (1981).
- Pearse A.G.E. and Polak T.M.- Cytochemical evidence for the neural crest origine of mammalian ultimo-branchial "C" cells. *Histochemie*, 27:96-102 (1971).
- Ruch J.V.- Epithelial-mesenchymal interaction in formation of mineralized tissues. in Butler WT (ed): "The chemistry and Biology of mireralized Tissues." Birmingham: EBSCO Media Inc, PP.54-61 (1985).
- Ruch J.V., Karcher-Djuricic V. et Moullec N.-Etude de la différenciation in vitro d'ébauche de molaires inférieures d'embryons de souris. *C.R. Soc. Biol.*, 164: 419-422 (1970).
- Ruch J.V., Karcher-Djuricic V., Gerber R.-Les déterminismes de la morphogenèse et des cytodifférenciations des ébauches dentaires de souris. *J. Biol. Buccale*, 1: 45-56 (1973).
- Ruch J.V., Lesot H., Karcher-Djuricic V., Meyer J.M., Olive M.- Facts and hypotheses concerning the control of odontoblast differentiation. *Differentiation*, 21:7-12(1982).
- Ruch J.V., Lesot H., Karcher-Djuricic V., Meyer J.M. and Mark M.- Epithelial- mesenchymal interactions in tooth germs: mechanisms of differentiation. *J. Biol. Buccale*, 11: 173-193 (1983).
- Slavkin H.C., Bringas P.-Epithelial mesenchyme interactions during odontogenesis, IV. Morphological evidence for direct heterotypic cell-cell contacts. *Dev. Biol.*, 50:428-442 (1976).
- Slavkin H.C., Matosian P., Wilson P., Bringas P., Mino W., Croissant P.D. and Guenther H.-Epithelial specific extra-cellular matrix influences on mesenchyme Collagen biosynthesis in vitro. in "extra-cellular matrix influence on gene expression", PP.237-251 Ed. H.C. Slavkin and R. Greulich, Acad. Press New York. (1975).

- Slavkin H.C., S d M.L., Zeichner- David M., Bringas P. and Greenberg G.L.- Amelogenin gene expression during epithelial-mesenchymal interactions. in: Trelstad RL (ed): "The role of extra-cellular matrix in development." New York : Alan R. Liss Inc, PP. 221-253 (1984).

- Thesleff I. and Hurmerinta K.-Tissue interactions in tooth development.
Differentiation, 18: 75-88 (1981)

- Thesleff I., Lehtonen E. and Saxen L.- Basement membrane formation in transfilter tooth culture and relation to odontoblast differentiation. Differentiation, 10 : 71-79 (1978).

- Thesleff I., Stenman S., Vaheri A. and Timpl R.- Changes in the matrix proteins fibronectin and collagen during differentiation of mouse tooth germs.
Dev. Biol., 70: 116 -126 (1979).

- Trelstad R.L., Hay E.D. and Revel J.P.- Cell contact during early morphogenesis in the chick embryo. Develop. Biol., 16: 78-106 (1967).

- Zajdela P.-Autoradiographie. Dans: "Techniques de laboratoire". Masson, Paris, II : 545-569 (1963).

تقرير نهائي عن بحث عليّ



8 0000 88 87 SY

AECS-FRSR--3/5187

دراسة منشأ وتحول مكونات الغشاء القاعدي في سن
جنين الفأر بطريقة التصوير الإشعاعي الذاتي .

الدكتور محمد عثمان

قسم التطبيقات الصحية والبيولوجية

رقم ٢ / ٥ / ٨٧

ATOMIC ENERGY COMMISSION

P.O. BOX 8001 . DAMASCUS . SYRIA

هيئة الطاقة الذرية

ص.ب ٦٩١ - دمشق - سورية

الجمهورية العربية السورية
هيئة الطاقة الذرية

دراسة منشأ وتحول مكونات الفشاء القاعدي في سن
جنين الفأر بطريقة التموير الاشعاعي الذاتي .

الدكتور محمد عثمان

قسم التطبيقات المحيية والبيولوجية