إقرار لجنة المناقشة

نشهد نحنُ أعضاء لجنة المناقشة الموقعين في ادناه بأننا أطلعنا على الأطروحة الموسومة بـــ (دراسة نسجية تطورية للبراعم الطرفية العليا لدجاج الكهورن الابيض) وناقشنا الطالبة (زهراء صاحب موسى الكعبي) في محتوياتها وفيما له علاقة بها بتاريخ 2017/10/10 فوجدناها جديرة بالقبول لنيل درجة دكتوراه فلسفة في علوم الحياة / علم الحيوان بتقدير (امتياز) .

رئيس اللجنة

التوقيع :

الاسم : أ.د. سامي ارحيم الكاتب

المرتبة العلمية : أستاذ

التاريخ : 25 / 10 / 2017

عضو اللجنة

التوقيع :

الاسم : أ.د. عدنان وحيد البديري

المرتبة العلمية : أستاذ

التاريخ : 22 / 10 / 2017

عضو اللجنة

التوقيع :

الاسم : أ.م.د. هناء عناية ماهود

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

التاريخ : 22 / 10 / 2017

عضو اللجنة / مشرفاً

التوقيع:

الاسم : أ.م.د. حسين خضير الموالي

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

التاريخ : 22 / 10 / 2017

عضو اللجنة

التوقيع :

الاسم : أ.د. خالد كاطع الفرطوسي

المرتبة العلمية : أستاذ

التاريخ : 25 / 10 / 2017

عضو اللجنة

التوقيع :

الاسم : أ.م. د. رشا عبد الأمير العبيدي

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

التاريخ : 23 / 10 / 2017

عضو اللجنة / مشرفاً

التوقيع:

الاسم : أ.د. عبد الهادي صلال العبودي

المرتبة العلمية : أستاذ

التاريخ : 22 / 10 / 2017

مصادقة عمادة كلية التربية

التوقيع :

الاسم : أ.د. خالد جواد كاظم العادلي

المرتبة العلمية : أستاذ

التاريخ :

وزارة التعليم العالي والُبّحث العلمي

جامــعة القادسيـــــــــــــة

كلية التربيـــــــــــــــة

قسم علوم الحياة

دراسة نسجية تطورية للُبّراعم الطرفية العليا لدجاج الكهورن الأبيض

أُطروحة
مقدمة إلى مجلس كلية التربية / جامعة القادسية
وهي جزء من متطلُبّات نيل درجة دكتوراه فلسفة
في علوم الحياة / علم الحيوان

من قبل

زهراء صاحب الكعبي

باشراف

أ.د عبد الهادي صلاّل العبودي أ.م.د حسين خضير الميالي

2017 م 1438هـ

الخلاصـــــــــــة Abstract

أجريت الدراسة في مختبر التحضيرات النسجية في المعهد الفني/ الطبي/ الكوفة ، ومستشفى الصدر في النجف الاشرف وأستغرقت مدة الدراسة النسجية سنة وسبعة أَشهر من تاريخ 2015/3/15 ولغاية 5/ 2016/10، تم جمع (60) بيضةً محضنةً في مفقس النجف الحديث (أبو صخير) ، تم تفقيس عشرُ بيضاتٍ لكل مرحلة من المراحل العمرية الجنينية 8 ، 10، 12، 14، 16 ، 18 يوماً . وأُخرجت الأَجنة لإخضاعها للإجراءات المخبرية

ثم لونت المقاطع النسجية بالطرق التلوينية الآتية:-

أ- ملَونة الهيماتوكسلين – آيوسين Harris Haematoxylin – Eosin stain.

ب - ملَونة ماسون ثلاثي الكروم Masson's Trichrome stain.

ج - طريقة التلوين المزدوج Double staining method .

أَوضحت نتائج الدراسة النسجية الحالية أن الطرف الجنيني Embryonic limb في عمر ثمانية أيام يتكون فيه هيكل بدائي Rudimentary skeleton ذو قوام غضروفي ولا أثر للتعظم فيه تحيط به خلايا مولدة للعضلات Myogenic cells التحمت ببعض لتكون الأَنابيب العضلية Myotubes ، وتمايز جلد الطرف الجنيني إلى طبقتين ، عليا وهي الُبّشرة Epidermis والسفلى وهي الأَدمة Dermis. تترتب الُبّشرة بصفين من الخلايا، صفٌ إلى الخارج يغطي الجلد يسمى الُبّشرة المحيطية Periderm و صفُ إلى الداخل منها تسمى الطبقة القاعدية Basal layer ، الأَدمة هي عبارة عن نسيج ميزنكيمي رخو Loose mesenchymal tissue مكون من أَلياف ميزنكيمية Mesenchymal fibers وخلايا ميزنكيمية Mesenchymal cells ولوحظ تكون التكثف الأَدمي Dermal condensation إلى الأَسفل من الُبّشرة مكوناً بذلك براعم ريشية Feather buds قصيرة .

دلت النتائج في اليوم العاشر من العمر الجنيني على استكمال ظهور عناصر هيكل الطرف الُبّدائي ، وكان أَول هذه العناصر هو العضد Humerus ومن ثم الزند Ulna والكعبرة Radius و المشط الرسغي Carpo-metacarpus و الإصابع (الثاني ، الثالث ، الرابع) و ظهرت منطقة التعظم Ossification zone غنية بالأَوعية الدموية و صفائح عظمية Bone lamellae مسطحة تحجز داخلها فجوات Lacunae تحوي الخلايا العظمية Osteocytes ولوحظ أَن

التعظم يبدأ في منطقة الغلاف الغضروفي Perichonderium ، وأصطفت الأَنابيب العضلية Myotubes حول الغضروف الجنيني تعلوها الخلايا المولدة للعضلات و لوحظ زيادة في سمك الجلد وانتشار البراعم النامية باتجاه أَمامي– خلفي Anterior-Posterior في المنطقة الظهرية من البرعم الطرفي و إنغمدت الْبَشرة في معظمها عند قواعد البراعم مكونةً منخفضاً دائرياً وهو ما يطلق عليه بالجريبات الريشية Feather follicles والتي تبدأ بشرتها بالتفلج مكونةً حيود الأَسلات Barb ridges.

و في اليوم الثاني عشر ظهر التعظم في سلاميات phalanges الإصبعين الثاني والثالث ،ولوحظ أَن منطقة التعظم تحيط بغضروف العمد الْبَدائي Rudiment diaphyseal من الداخل على شكل حلقة تبطنها صفائح عظمية حديثة التكوين تظهر الخلايا الغضروفية منتفخة كثيراً في مراحل متعددة من عملية إندثارها ومن ثم اختفائها عن طريق الموت المبرمج ليحل محلها خلايا بانية للعظم Osteoblasts ، وظهرت الأَلياف الإبتدائية Primary fibers ذات أنوية مركزية ملتصقة بعناصر هيكل الطرف الجنيني بشكل منتظم موازية لْبَعضها ومقاطعة له ، علاَوة على تطور العضلات هناك تطوراً آخرَ حصل على الجريبات الريشية التي نمت وتعدت مرحلة البراعم حيث استطالت وبرزت للخارج مع نمو حيود الأَسلات و تطورّها بشكل واضح .

اتضح في اليوم الرابع عشر من العمر الجنيني توسعاً في منطقة التعظم وتراجعاً في الغضروف الجنيني وإستطالة في السمحاق العظمي وإمتداده على الجهتين ولوحظ أن الصفائح العظمية أصبحت أَكثر اتساعاً وتسطحاً وتلتحم ثم تعود لتتفرع وتتشابك حاجزة بعض الفراغات بينها ، ولوحظ تطور في العضلات وظهور الأَلياف الثانوية Secondary fibers والتي تكون انبوبية الشكل ذات أنوية عديدة تميل إلى أَن تكون جانبية الموقع ، وتم ملاحظة ريشة جنينية Embryonic feathers أَكملت نموها و فيها أَمكن تمييز جزئين ، جزءٌ خارجيٌ يبرز من سطح الجلد مكوناً من أسلات محاطة بالْبَشرة المحيطية التي تشكل غلافاً رقيقاً ،وجزءٌ منغرسٌ داخل الجلد في التجويف الجريبي ويظهر انحراف نموها نحو الخلف بسبب النمو الأَمامي -الخلفي .

وفي اليوم السادس عشر لوحظ إمتداد التعظم وإنحسار الغضروف إلى رؤوس العظام وتظهر الخلايا الغضروفية في المنطقة القريبة من منطقة التعظم منتفخة على وشك الإنحلال وتتشابك الصفائح العظمية في منطقة التعظم مكونّة فراغات تحجز بداخلها النقي الأَولي Primary marrow المكون من أَوعية دموية وخلايا بانية للعظم ويظهر السمحاق العظمي الخارجي مُحاطاً بالصفائح العظِمية ولوحظ اختفاء الكتل الغضروفية من منطقة التعظم نهائياً واقتصاره

على طرفيها ، وتظهر الألياف العضلية Muscular fibers منتظمة ومترتبة طولياً وتبدو إسطوانية الشكل تقريباً وأنويتها جانبية الموقع وهذا يعني أنها تقترب إلى أن تكون عضلات هيكلية Skeletal muscle ناضجة ما عدا أنها ما زالت فاقدة للتخطيط العضلي في هذه المرحلة من عمر الجنين ، يظهر الجلد مكوناً من بشرة أصبحت ذات طبقات عديدة وأدمة إمتلأت بألياف غراوية Collagen fibers وأرومات ليفية Fibroblast ولوحظ ظهور النسيج الدهني Adipose tissue تحت طبقة الأدمة ، و تظهر الجريبة الريشية وهي محاطة بطبقة بشروية تشكل جدارً الجريبة Follicular wall وفي المركز يظهر اللُبّ Pulp.

يلاحظ في اليوم الثامن عشر من العمر الجنيني أن الغضروف الجنيني ظهر على جانبي العظم على شكل كتلة ذات خلايا نشطة الإنقسام والنمو فهي مسؤولة عن نمو العظم و استطالته ويظهر ذلك بشكل صفائح عظمية تتخللها فجوات هي فجوات النقي الأولي ، أما الألياف العضلية الجنينية فقد أصبحت تحمل صفات العضلات الهيكلية Skeletal muscles كاملة النمو ذات شكل إسطواني غير متفرعة وأنوية متعددة جانبية الموقع وتظهر الخطوط واضحة ، وقد لوحظ تكامل نمو الجلد و تمايزه وظهور الطبقة المتقرنة Stratum cornium، فتظهر ريشة داخل التجويف الجريبي Follicular cavity يحيط بها جدارً الجريبة Follicular wall الذي ترتبط به ألياف عضلية ملساء ، علاوة على ذلك يظهر اللُبّ وقد إنحسر إلى كتلة كروية هي القبعة اللُبّية Pulp cap .

المقدمة

Introduction

يُعدَ جنين الطيور النموذج المفضل لتتبع نشأة وتشكل أعضاء أَجنة الفقريات و أستعمل في مجالات عديدة في الُبّحث العلمي والتعليم منذ زمن طويل بدأت مع أرسطو Aristotle (382-322 ق.م) الذي وصف جنين الدجاج بكافة مراحل نموه (Ruth and Mark, 2005) ، وبهذا هنالك تاريخ طويل وغني في إستعمال أَجنة الطيور لأنها تتميز بسهولة الحصول عليها ، وهي مصدر جنيني معتمد عليه في المراقبة والتجريب خلال النمو ومراحل تشكيل الأعضاء Organogenesis من دون أَن تعاني الانثى الوالدة أي أذى ولهذا يعدّ مصدراً رئيسياً عند دراسة اللُبّائن . (Pisenti *et al.*, 1999)

إن للطيور أهمية في زراعة الأَنسجة و تطعيمها بين الأنواع Interspecific tissue grafting وإنتاج مخلوقات الكايميرا Chimera (دمج الأَجنة) والتي تعني خلط خلايا من أَكثر من جنين واحد في أطوار مبكرة من النمو الجنيني إستفاد العلماء من خلالها في معرفة الخارطة المصيرية Fat map للقرص الارومي . (Wolpert *et al.*, 1998)

حازت دراسة نشأة أطراف الأَجنة و تطورها على عناية كثير من الُبّاحثين في علم الأَجنة ولأَكثر من ستين عاما نفذت دراسات جنينية كثيرة أدت إلى بروز اكتشافات حددت الخطوط العامة ، ومازالت أساسية لإجراء تجارب جديدة وبتقنية حديثة لاستيعاب الأسس الجزيئية لتطور الطرف ، هذه التجارب وضعت دراسة تطور الطرف في مكان متميز شجع العلماء على الُبّحث والتقصي وكشف الغموض عن أنماط نمو البرعم الطرفي أمثال جون ساندرز John Sanders ، جون فالون John Fallon و لويس ولُبّرت Lewis Wolpert . Towers (and Tickle, 2009)

إن أَول إشارة مرئية لتطور الطرف هو ظهور إنتفاخ صغير من الجنب الجسمي Somatopleure على جانبي الجنين يشبه المجذاف يُدعى البرعم الطرفي Limb bud يتكون من شبكة من خلايا ميزنكيمية متشابهة مغطاة بطبقة من الأديم الظاهر Ectoderm الذي يتثخن في جزئه الطرفي المحيط بالبرعم مكوناً تركيباً يُدعى حيد الأديم الظاهر القمّية Apical ectodermal ridge ، له دور مهم في نمو البرعم الطرفي .

أَثناء إستطالة البرعم الطرفي وإمتداده للخارج تبدأ الخلايا القريبة من جسم الجنين بالتمايز إلى مختلف الأَنسجة المتخصصة إذ يتكون أَولاً العضد humerus و من ثم الكعبرة radius والزند ulna وأخيراً الإصابع digits . (Barna *et al.*, 2005)

ينمو البرعم الطرفي بثلاثة محاور ، المحور الأَدنى الأقصى Proximodistal axis الذي يتضمن النمو القميّ للطرف ، المحور الظهري الْبّطني Dorsoventeral axis وهو مهم في تطور العضلات والمحور الأَمامي الخلفي Anteroposterior axis الذي له دور في نشأة الإصابع ، وكلّ محور من هذه المحاور يخضع لسيطرة مناطق نمو واشارات جزيئية مختلفة. (Logan *et al.*, 2002)

يبدأ تخلُّق البرعم الطرفي متاخراً نسبياً بالنسبة لنشأة باقي الأعضاء الداخلية وبالرغم من أَنه يبدو تركيباً بسيطاً ولكنه يحوي معلومات داخلية كافية لتوجه نموه وتنظم تطوره ولذلك اصبح من الممكن نقل البرعم الطرفي وزرعه في أي منطقة أخرى من جسم الجنين أَو نقله لكائن حي آخر ، ويحدث ذلك بسبب ان معظم الإشارات الجزيئية Molecular signals المهمة في نشأَة البرعم و تطورّه وتحفيز أَنسجته على النمو والتمايز تكون موضعية ضمن البرعم الطرفي نفسه. (Tickle, 2004)

إن الطرف عضو بارز يقوم بوظيفة آلية مهمة وهي الحركة التي تحتاج إلى قوة ومتانة تنجز من خلال ارتباط متداخل ومتناسق لأَنسجة عديدة متخصصة تنمو وتتطور من دون الحاجة إلى الأَنسجة المرتبطة بها ، ولهذا تابع العلماء تطور هذه الأَنسجة بعناية لتمييز النمو غير الطبيعي والطفرات والتشوهات التي تحصل في نمو العظام ، مثل التواء العظام وإضطراب التعظم داخل الغضروف وتعدُّ الدراسات الجنينية لمتابعة تطور عظام الهيكل الطرفي للطيور من أفضل الأنماط لمتابعة التشوهات الطارئة على عظام جنين الإنسان . (Cook, 2001)

إن الدراسة الجنينية لتطور أطراف الحيوانات الفقرية رائدة في معرفة الجوانب الأساسية لتطور الأَجنة و لاسيما جنين الدجاج الذي من خلاله استنبط العلماء كثيراً من الحقائق العلمية المفيدة في تطور الطرف و تمايز الأَنسجة التي تكوّنت من خلايا متشابهة نشأت في برعم صغير فتحوّلت إلى مختلف الأَنسجة لتقوم بوظائف متباينة ولهذا اهتمت الدراسة الحالية بتتبع تشكل البرعم

الطرفي ونظراً لقلة الدراسات النسيجية التي تتابع مراحل نمو أَجنة دجاج اللكهورين و تطورها داخل البّلد فقد أخذت هذه الدراسة على عاتقها دراسته نسيجياً منذ ظهوره عيانياً كطرف جنيني بارز في اليوم الثامن من عمر الجنين إلى اليوم الثامن عشر .

الهدف من الدراسة الحالية :-

1- تسليط الضوء على التطور الجنيني للبرعم الطرفي في أَجنة الدجاج خلال مراحل جنينية مختلفة وبالأَعمار (8، 10، 12، 14، 16، 18) يوماً .

2- دراسة الجوانب النسجية ، بإستعمال الملونأَت الروتينية والملونأَت الخاصة للكشف عن تمايز الخلايا الميزنكيمية خلال المراحل الجنينية الخاضعة للدراسة وتحوّلها إلى خلايا عضلية ، وخلايا غضروفية وعظمية فضلاً عن متابعة ظهور الجلد وملحقاته من الجريبات الريشية .

3- إجراء بعض القياسات المتعلقة بطول وعرض البرعم الطرفي وعضده الُبّدائي المتطور و طول التعظم في الأَعمار الجنينية آنفة الذكر ومتابعة التغيرات الشكلية التي تطرأ عليه .

إستعراض المراجع

Literatures Revie

1-2 المراحل المبكرة لتخلُّق جنين الدجاج

Early stages of morphogenesis chick embryo

ما ان تحصل عملية الإخصاب Fertilization وتكوين الُبيّضة المخصبة Zygote حتى يبدأ التفلج Cleavage ويكون التفلج في بيضة الدجاج من النوع الجزئي Meroblastic لان التفلج لا يمرُّ خلال الُبيّضة لان حجم المادة المحية كبير و يقتصر ذلك على القرص الأَريمي Blastodisc ، وبعد نمو القرص الأَريمي وزيادة الخلايا فيه ينتقل إلى مرحلة التوتة Morula ثم الأريمة Blastula (Marianne, 2008 ; Tsunekawa *et al.* , 2000)، تستمر الأريمة بالنمو والإمتداد فيظهر الخط الُبدّائي Primitive streake فيدخل الجنين مرحلة المعيدة Gastrula ، وينتظم إلى ثلاث طبقات جنينية هي الأديم الظاهر Ectoderm والأديم المتوسط Mesoderm والأديم الُبّاطن Endoderm . (Sanders *et al.*, 1993)

بعد ظهور الخط الُبدّائي Primitive streak ، يبدأ تخلُّق الأُنبوب العصبي Neural tube ، ومن ثم تنشئ طبقة الأديم المتوسط من الشريط الُبدّائي و تمتد على جانبي الأديم الظاهر والُبّاطن و يسمى الجزء القريب من الحبل الظهري الأديم المتوسط المقسم Segmental plate mesoderm والذي بدوره يكوّن كتلاً صغيرة تسمى الُبدّينات Somites والتي تمتد على صفين في جانبي الحبل الظهري إذ يبدأ ظهور أَول زوج منها بعمر 23-26 ساعة ثم تتابع باقي الُبدّينات ظهورها وبتقدم العمر تعاني الُبدّينات عند النضج تغيرات ينتج عنها تكوّن القطعة الصلُبّة Sclerotome من الناحية الُبطّنية التي تساهم في تكوين الهيكل المحوري للجسم ، والقطعة العضلية الأَدمية Dermomyotome من الجهة الظهرية ، التي تكون كّلاً من العضلات و أدمة الجلد . (Isabel *et al.*, 2001 ; Dockter and Ordhal, 2000)

وتظهر صفيحة الأديم المتوسط الجانبي Lateral plate mesoderm كطبقتين متوازيتين، الطبقة العليا تسمى الطبقة الجسميةSomatic layer وتكون مع طبقة الأديم الظاهر الجنب الجسمي Somatopleure تدعى الطبقة السفلى بالطبقة الحشوية Splanchnic layer تكوَن مع الأديم الُبّاطن غلافاً يُدعى الجنب الحشوي Splanchnopleure ، أَما الأديم المتوسط الوسطي Intermediate mesoderm فيقع بين الُبدّينات و الأديم المتوسط الجانبي ويشارك في تكوين

الجهاز البُولي التناسلي ، أَما الأديم البُاطن Endoderm فإنه يكوَن القناة الهضمية Digestive tube . (Marianne, 2008; Robert and Matthias, 1998)

2-2 نشأة البرعم الطرفي Morphogenesis of limb bud

تعاني مجموعة من الخلايا الميزنكيمية في الطبقة الجسمية Somatic layer لصفيحة الأديم المتوسط الجانبي Lateral plate mesoderm إنقسامات خلوية متسارعة فتتكاثر دافعة الجنب الجسمي Somatopleure نحو الخارج بمستوى البدينات 15-20 في اليوم الثالث من عمر الجنين ، مكونة تركيباً بارزاً يشبه المجذاف مغطى بطبقة من الأديم الظاهر Ectoderm يُدعى البرعم الطرفي Limb bud . (Gail, 2001)

بعد انتفاخ البرعم الطرفي بقليل يظهر تثخن على طول حافته القمية في طبقة الأديم الظاهر فيتغير شكل الخلايا من ظهارة مكعبة Cuboidal epithelium إلى مطبق كاذب Pseudostratifid يُدعى حيد الأديم الظاهر القمي Apical ectodermal ridge (Jean *et al.*, 2014) ، تقع في الجهة المقابلة لحيد الأديم الظاهر القمي في الحافة الخلفية للبرعم الطرفي مجموعة من الخلايا الميزنكيمية النشطة تدعى منطقة الاستقطاب Polarizing region لها قابلية عالية على الإنقسام والانتشار . (Drossopoulou *et al.*, 2000)

ينمو البرعم الطرفي نتيجة التفاعل المستمر بين الأديم المتوسط و الأديم الظاهر ، يحفز الأديم المتوسط على تكوين حيد الأديم الظاهر القمي الذي بدوره يحفز النمو الخارجي للبرعم عن طريق تنشيط الإنقسام الخيطي من جهة ومنع تمايز خلايا الأديم المتوسط في أقصى الطرف من جهة أخرى . (Fallon *et al.*, 1983)

يحتوي البرعم في المرحلة المبكرة من النمو على أديمٍ متوسطٍ متكوّنٍ من خلايا ميزنكيمية متشابهة مطمورة في قالُبّ يحتوي على شبكة من أَلياف غراوية رخوة ومادة أساس جيلاتينية مع حامض الهايلورنيك Hyaluronic acid و كلايكوبروتينات Glycoproteins مجهز بشبكة وعائية جيدة التكوين متمركزة في لُبّ البرعم الطرفي ، أَما المناطق المحيطية أَسفل الأديم الظاهر فتبقى فاقدة للأَوعية الدموية و لا توجد أعصاب في المرحلة المبكرة من النمو (Towers and Tickle, 2009) .

ليس بالأمكان تمييز الخلايا الميزنكيمية إحداها عن الأخرى عن طريق الشكل الخارجي بالرغم من اختلاف مصادرها ، فالخلايا التي تشتق من صفيحة الأديم المتوسط الجانبية ستعطي منشأ

الهيكل العظمي ، النسيج الضام ، الأَوعية الدموية وأدمة الجلد ، أَما الخلايا الميزنكيمية المشتقة من الْبَدينات Somits والتي تهاجر نحو البرعم الطرفي فتكون مصدراً للعضلات والخلايا الاندوثيلية ، وهناك خلايا أخرى تهاجر من العرف العصبي Neural crest لتتحول إلى خلايا شوان Schwann cells في الأَلياف العصبية وخلايا الميلانية Melanocytes. (Todt and Fallon, 1984)

3-2 محاور نمو البرعم الطرفي

The axes of limb bud grouth

بينت دراسة لْلُبّاحث John Saunders أجريت على البرعم الطرفي لجنين الدجاج في عام 1970 ان نمو البرعم الطرفي يكون في ثلاثة محاور رئيسية شكل (2-1). (Summerbell *et al.*, 1973)

أ- المحور الأَدنى الأقصى Proximodistal axis

بعد ظهور البرعم الطرفي للعيان تبدأ خلايا الأديم الظاهر في قمة الطرف بالنمو والازدياد بالحجم مكوناً درزاً يمتد حول حافة البرعم الطرفي يُدعى حيد الأديم الظاهر القمي Apical ectodermal ridge والذي له دور مهم في نمو البرعم الطرفي نحو الخارج بالمحور الأَدنى الأقصى و في حالة إزالته يؤدي إلى بتر الطرف وعدم نموه جنينياً ، يرسل هذا الجسر إشارة جزيئية Signaling molecules هي عامل نمو الأَرومات الليفية Fibroblasts growth factor (FGFs) (Summerbell, 1977) ، التي تعمل على تحفيز الخلايا الميزنكيمية التي تحته على الإنقسام والتكاثر علاوة على منعها من التمايز و لذلك تدعى منطقة التقدم Progress zone ، الخلايا التي تقضي وقتاً قليلاً في هذه المنطقة سرعان ما تتمايز و تتخصص لتكوين التراكيب الدانية والتي تكون اقرب لجدارَ الجسم بينما الخلايا التي تقضي وقتاً أطولَ هناك فتكون مسؤولة عن نشأة التراكيب الْبَعيدة في الطرف (Tabin and McMahon, 2008) ، يمتد البرعم الطرفي تحت تأثير هذا النمو نحو الخارج وتبدأ الأجزاء القريبة من الجسم بالتمايز والتخصص أَولاً لتتحول إلى أَنسجة مختلفة كالغضروف والعظام ، يتبعها بالتعاقب أَكثر الأجزاء بعداً وتبقى الخلايا الميزنكيمية عند قمة الطرف محافظة على قدرتها الفائقة على التكاثر والإمتداد تحت تأثير فعالية الإشارة الجزيئية ونشاطها عامل نمو الأَرومات الليفية (FGFs) .

(Pascoal *et al.*, 2007)

إن النمو بمحور الأَدنى الأقصى له دور في تكوين هيكل الطرف ، في بادئ الأَمر يكون عبارة عن هيكل أَولي أساسه الغضروف ثم يستبدل تدريجياً بتقدم الجنين في العمر إلى عظام ، تتشكل عناصر هيكل الجناح بترتيب مطابق تقريباً لما في الفقريات الأخرى و بالتسلسل نفسه إذ يبدأ من المنطقة الدانية للقاصية بالكتف Shoulder ، العضد Humerus ، ومن ثم إلى الكعبرة Ulna و الزند Radius . (Sato *et al.*, 2007)

ب- المحور الأَمامي الخلفي Anteroposterior axis

تقع أَسفل الحافة الخلفية للبرعم الطرفي مجموعة من الخلايا الميزنكيمية المشتقة من الأديم المتوسط للبرعم و لها دور في نمو البرعم الطرفي إذ تمثل مركز الإشارات على طول المحور الأَمامي الخلفي Anteroposterior axis ومن اهم هذه الإشارات الجزيئية الوشيعي الصوتي Sonic hedgehoge (Shh) (Towers *et al.*, 2008) ، وتمثل هذه الخلايا منطقة النشاط الاستقطابي Zone of polarizing activity، بينت الدراسات الْبّحثية أَن لهذه الخلايا القدرة على إنتاج تشكل قابل للانتشار من المنطقة الأَمامية للبرعم إلى المنطقة الخلفية لتكون الإصابع فعند زراعتها في برعم طرفي نامٍ يتضاعف عدد الإصابع ' وكشفت الدراسات ان للإشارة الجزيئية Shh التأثير نفسه إذ ان مضاعفته تؤدي إلى مضاعفة عدد الإصابع ، و لهذه الإشارة دور مهم في نمو الأَنسجة وتنظيمها على طول المحور الأَمامي الخلفي للبرعم الطرفي و أيضاً يقوم بالحفاظ على تركيب ووظيفة حيد الأديم الظاهر القمي فعند غياب منطقة النشاط الإستقطابي أَو نقص شديد في الإشارة الجزيئية Shh فإن جسر الأديم الظاهر القمي يتراجع بالنمو . (Tickle *et al.*, 1975)

ج - المحور الظهري البُطني Dorsoventral axis

يتحكم في هذا النمو الأديم الظاهر الذي يشغل الحافات الجانبية للبرعم الطرفي ويتضمن الأديم الظاهر الظهري Dorsal ectoderm والأديم الظاهر البُطني Ventral ectoderm ، ومحور النمو هذا مسؤول عن تمايز العضلات المختلفة و تطّورها في البرعم الطرفي وهي العضلات البُطنية Venteral muscles ، القابضة Flexors والعضلات الظهرية Dorsal muscles ، والعضلات البّاسطة Extensors . (Tickle, 1996)

اثبتت تجارب الزراعة النسجية في المراحل المبكرة لنمو البرعم الطرفي أَن مركز الإشارات يقع عند الأديم الظاهر الظهري حيث وجد أَنه غني بالإشارة الجزيئية Wnt7a التي تعمل على تحفيز الميزنكيم الظهري للبرعم الطرفي ليتمايز إلى أَنسجة متعددة تساهم في نشأة العضلات و الأَوتار و جلد الطرف وملحقاته من الريش الكبير والأَعصاب ، وأظهرت الدراسات العملية أَن Wnt7a ضروري للحفاظ على إستمرارية إفراز Shh ، فعند حصول طفرة في الجين المنتج للإشارة الجزيئية Wnt7a يؤدي إلى هبوط سريع بمستوى (Shh) . (Dealy *et al.*, 1993 ; Parr *et al.*, 1993)

4-2 نشأة العضلات وتخلّقها في البرعم الطرفي

Morphogenesis of muscles in limb bud

تنشأ العضلات الهيكلية Skeletal muscles في البرعم الطرفي لجنين الدجاج من الأديم المتوسط حول المحوري Paraxial mesoderm الذي يتجزأ إلى الْبّدينات Somites على جانبي الأُنبوب العصبي والحبل الظهري (Christ and Ordahl, 1995) ، يعطي الجزء الظهري للبدينة ، القطعة الأَدمية العضلية Dermomyotome ، منشأ للأدمة الظهر والعضلات الهيكلية في الجسم والأطراف ، تنحدر عضلات الطرف من خلايا مشتقة من الْبّدينات الواقعة بنفس مستوى البراعم الطرفية .

تهاجر أَسلاف الخلايا العضلية الأَولية في جنين الدجاج بعمر يومين من الجزء السفلي للقطعة العضلية الأَدمية إلى الحقل الطرفي وتتجمع في الموقع الذي فيه الكتل العضلية الْبّطنية والظهرية وهناك تبدأ بالنشوء والتطور لترتبط مع أَنسجة الأَوتار Tendons الإفتراضية والتي بدورها تتصل من جهة أخرى مع التكاثف الهيكلي الْبّدائي المتطور وتعاني هذه الأَنسجة نمواً متناسقاً ومتماثلاً . (Tajbakhsh and Buckingham, 2000)

بينت دراسات زراعة الدجاج – السمان chick – quail grafting أَن هذه الهجرة تبدأ مباشرة بعد بداية نشوء البرعم الطرفي وتكون محصورة بحركة المحور الأَمامي الخلفي ، ولوحظ أَثناء مراحل الهجرة ودخول الخلايا المولدة للعضلات Myogenic cells البرعم الطرفي يتم إقصاؤها من مناطق معينة وهي منطقة التقدم Progress zone ولُبّ البرعم حيث مواقع تمايز هيكل الطرف (Christ *et al.*, 1983) ، لأَن هذه المناطق لا تملك وسطاً ملائماً يسهل الحركة والانتقال داخل البرعم الطرفي وربما تحوي مواد طاردة للخلايا المولدة للعضلات ولذلك تتحدد حركتها إلى مناطق معينة فتنقسم على كتلتين تتوزع على جانبي الطرف مكونة العضلات الظهرية والْبّطنية الأَولية التي تتمايز وتنمو لتكون العضلات الهيكلية الْبّالغة. (Hayashi and Ozawa, 1991 ; Schramm and Solursh, 1990 ; Newman *et al.*, 1981)

تؤدي جزيئات القالْبّ الخارج الخلوي Extra cellular matrix molecules دوراً حيوياً لتسهيل هجرة الخلايا المولدة للعضلات من البدينات للبرعم الطرفي ومن هذه الجزيئات الفايبرونكتين Fibronectin و لامنين Laminin التي تتوزع بشكل غير متجانس في الأديم المتوسط فتزداد نسبة وجودها حول البرعم الطرفي أَثناء هجرة الخلايا المولدة للعضلات التي لها القدرة على الإلتصاق بالخلايا وتوجيه حركتها نحو البرعم الطرفي(Godferyn *et al.*, 1988)

يساهم الهياليرونيت Hyaluronate في تنظيم حركة الخلايا المولدة للعضلات و تدفقها وتسهيل هجرتها داخل البرعم الطرفي ، إذ يوجد بنسبة عالية في المناطق المحيطية للبرعم الطرفي في فترة الهجرة . (Lance-Jones, 1988)

تعتمد هجرة الخلايا المولدة للعضلات على وجود مستقبل تايروسين كاينيز Tyrosine kinase receptor الذي يتفاعل مع عامل عامل نمو الخلايا الكبدية Hepatocyte grouth factor (HGF) وله دور في تحديد مسار الهجرة (Dietrich *et al.*, 1999) ، فقد بينت الدراسات وجوده في المراحل المبكرة جداً من نمو البرعم الطرفي وقبل الحدوث الفعلي لهجرة الخلايا المولدة للعضلات (Bladt *et al.* 1995 ; Thery *et al.* 1995) ، وعند حصول طفرة تؤدي إلى فقدان HGF تختفي العضلات الهيكلية من الاطراف . (Schmidt *et al.*, 1995)

إن آلية نمو العضلات تنفصل إلى طورين ، طور فرط التكوين Hyperplasia وطور التضخم Hypertrophy ، يحصل طور فرط التكوين أَثناء النمو الجنيني ففي هذا الطور تهاجر الخلايا الميزنكيمية وتتكاثر ومن ثم تتطور إلى خلايا مولدة للعضلات والتي تعاني عدة إنقسامات لتزداد بالعدد فتلتصق وتلتحم لتكون أَنابيبَ عضلية Myotubes عديدة النوى Multinucleated لتتمايز أخيراً إلى أَلياف عضلية Muscles fibers تامة النمو. (Swartz *et al.*,1994)

خلال فترة النمو الجنيني لا تنشأَ وتتطور الأَلياف العضلية جميعاً في وقت واحد ، وان أَول مجموعة تتكون من الأَلياف العضلية تدعى الأَلياف الإبتدائية Primary fibers ذات أنوية مركزية الموقع تتمايز الأَلياف الإبتدائية إلى الأَلياف الثانوية Secondary fibers التي تتواجد في قاعدة الأَلياف الإبتدائية ، وبعد تكون الأَلياف الثانوية تبدأ خطوط Z بالظهور فتنشأَ وحدة التقلص في العضلة ،التي تدعى القطعة العضلية Sarcomere وعندها يكتمل نمو الليف العضلي وينضج إذ يحدث هذا في المراحل المتاخرة من نمو الجنين ، قبل الفقس بقليل . (Smith, 1963)

تحاط الأَلياف العضلية الناضجة وتدعم بثلاث طبقات من أَنسجة ضامة تتضمن الغلاف الداخلي Endomysium ، والغلاف المحيطي Perimysim والغلاف الخارجي Epimysium ، وتنفصل هذه الأَغلفة بمسافات بينية لها دور في الحفاظ على الأَلياف العضلية من التحلل .

(Velleman *et al.*, 2003 ; Dransfield and Sosnicki, 1999 ; Wilson *et al.*, 1990)

يتكون القالُبّ خارج خلوي للأَنسجة الضامة المكونة للأَغلفة العضلية من شبكة بروتينات وسكريات عديدة تفرز من الخلايا العضلية وتتمركز في طبقات النسيج الضام المحيط بالأَلياف العضلية ، وان الُبّروتينات تكون ليفية وغير ليفية تشتمل الكولاجين Collagens ، الُبّروتوكلايكان Proteoglycans والكلايكوبروتين شبيه فايبرونكتين Glycoproteins like fibronectin (Miura *et al.*, 2006) .

يؤدي القالُبّ خارج خلوي دوراً حيوياً في تطور النسيج العضلي الهيكلي فهو يقوم بأيصال المعلومات إلى الخلايا وتنظيم التعبير الجيني ،و للُبّروتوكلايكان دور في التحكم بنمو الخلايا المولدة للأَلياف إذ يقوم بتحفيز قدرة هذه الخلايا على سحب عامل النمو للاروما ت الليفية 2 FGF2 (Fibroblast growth factor) ، الضروري في تنشيط إنقسام الخلايا المولدة للعضلات أَثناء النمو الجنيني ، و بينت الدراسات الحديثة أَن زيادة عامل FGF2 في الجنين يؤدي إلى زيادة عدد الأَلياف العضلية و لاسيما في منطقة الصدر مما يزيد كمية اللحم في الطيور . (Liu *et al.*, 2003, 2002)

بعد الفقس يبدأ الطور الثاني من نمو الأَلياف العضلية وهو طور التضخم Hypertrophy وليحدث هذا يحتاج إلى زيادة في صنع الُبّروتين الذي يحتاج إلى مضاعفة الإستنساخ Transcription والترجمة Translation وهذا يتطلُبّ زيادة في الحامض النووي منقوص الأَوكسجين DNA ومن ثم زيادة في عدد الأنوية ولأن عدد الأنوية المتكوّنة في الخلايا المولدة للعضلات يكون ثابتاً بعد الفقس فإن الأنوية الجديدة تشتق من نوع آخر من الخلايا ضئيلة السايتوبلازم ولذلك أَطلق عليها اسم الخلايا الفراغية Satellite cells التي تكون محشورة بين الغشاء الُبّلازمي والطبقة السفلية للأَلياف العضلية الهيكلية . (Allen and Goll, 2003)

بينت دراسات الُبّاحثين ان معظم الأنوية في الأَلياف العضلية الناضجة مصدرها الخلايا النجمية حيث تلتحم الخلايا النجمية بعد الفقس مع الأَلياف العضلية مسببة زيادة أَو تضخماً Hypertrophy في حجم الأَلياف العضلية . (Goll *et al.*, 2003)

بعد أَن يكتمل نمو الأَلياف العضلية الهيكلية وتنضج تصبح إسطوانية الشكل ومتعددة النوى ، والنواة الواحدة تكون بيضوية محيطية الموقع إذ تقع تحت الغشاء العضلي Sarcolemma ، يحوي السايتوبلازم العضلي Sarcoplasm على خيوط طويلة متوازية تمتلك تخطيطاً عرضياً تدعى الليفات العضلية Myofibrils ، يشبه الليف العضلي في الطيور بالتركيب والوظيفة ما موجود في اللُبّائن (Barnard *et al.*, 1982) ، له نمط التخطيط نفسه إذ تظهر فيه أَشرطة معتمة

A تتبادل مع اشرطة فاتحة I ، ينصف الخط H الشريط A والذي يكون فاتح اللون ، ويظهر في كل شريط I منطقة مركزية أَغمق لوناً هو خط Z ، تدعى القطعة التي بين خطي Z بالقطعة العضلية Sarcomere وهي الوحدة التركيبية لليف العضلي الهيكلي و أساس التقلص . (Ashmore and Doerr, 1971)

5-2 نشأة الهيكل وتخلُّقهِ في البرعم الطرفي

Morphogenesis of skeleton in limb bud

ينشأ الهيكل عن طريق تجمع الخلايا الميزنكيمية في مواقع عناصر الهيكل الإفتراضية الذي يبدأ بعد عمر ثلاثة أيام ونصف من عمر الجنين وهناك تتكاثر الخلايا الميزنكيمية ومن ثم تتكاثف Condensation وتصبح مستديرة ومتراصة وتقوم بترسيب الليفات الغراوية ضمن المادة الُبّينية وكذلك الُبّروتوكلايكان Proteoglycan والذي يشكل المادة الأساسية في الغضروف وبذلك تتحول إلى الخلايا المولدة للغضروف Chondroblasts ، تستمر هذه الخلايا بتوسيع المادة بين الخلوية فتبتعد عن بعضها تدريجياً وتحيط نفسها بفجوات عندها تأخذ صفات خلايا الغضروف الناضجة وتتمايز إلى الخلايا الغضروفية Chondrocytes . (Wuelling and Vortkamp, 2011 ; Provot and Schipani, 2005)

إن الغضروف الجنيني لا ينفصل في بداية نشوئه عن الأَنسجة المجاورة ، ولكن عند تقدمه بالنمو وفي اليوم الخامس من عمر الجنين يتكوّن حاجز من خلايا تترتب محيطياً حول المنطقة المركزية من العمد الُبّدائي Rudiment diaphyseal هذه الخلايا هي الأَرومات الليفية Fibroblasts والتي تتطور لتكون غلافاً ليفياً يحيط بعناصر الغضروف ، يتكون غلاف الغضروف Perichondrium الحقيقي بعد اليوم السادس من عمر الجنين عندما الأَرومات الليفية في الحاجز تصبح ممتدة ،موازية للمحور الطولي ومتشابكة وفي عمر ثمانية أيام يصبح الغلاف الغضروفي متكوناً من طبقتين ، الطبقة الخارجية مسطحة ترتبط بها الخلايا المولدة للأَلياف ارتباطا وثيقاً ، أَما الطبقة الداخلية فتتكون من الخلايا الُبّانية للعظم Osteoblasts . (Henderson and Carter, 2002)

تتكاثر الخلايا في الغضروف الجنيني وتزداد بالحجم وتتضخم ومن ثم تنتفخ تحت تأثير الإشارة الجزيئية Indian Hedgehog (IHH) التي تعمل على تحفيز الخلايا الغضروفية على التكاثر والتمايز ومن ثم التضخم (Hilton *et al.*, 2005) ، وعندما يحين وقت التعظم تزداد انتفاخاً ومن ثم تبدأ بالانحلال والموت عن طريق الموت الخلوي المبرمج Apoptosis وتستبدل بالخلايا

الُبّانية للعظم الغازية التي تكتسح المواقع المركزية لعناصر الهيكل الغضروفي وبالتدريج تتراجع مناطق الغضروف الجنيني و تقتصر على نهايات العظام (Wuelling and Vortkamb, 2010) .

يبدأ التعظم في اليوم السابع من عمر الجنين عندما ترسب الخلايا الُبّانية للعظم تحت الغلاف الغضروفي مادة التعظم التي تتضمن الأملاح اللاعضوية، ان تعظم الهيكل الُبّدائي في طرف أَو جناح جنين الدجاج يكون من النوع داخل غضروفي Endochondral ossification ، ان العظم الُبّدائي Woven bone يكون ذو أَلياف سميكة والصفائح العظمية غير متمايزة (Lanske *et al.*, 1996) ، وان أَول علامات التعظم هو غزو الأَوعية الدموية لغلاف الغضروف وإندفاعها إلى الداخل ومن ثم تكاثر الخلايا الُبّانية للعظم وتبدأ بتكوين العظم في مركز العمد الغضروفي بشكل حلقة ، ويتحول غلاف الغضروف في هذه المنطقة إلى السمحاق العظمي الخارجي Periosteum ، تتخلل المادة الُبّينية تجاويف تدعى فراغات النقي الأَولي Primary marrow spasces وتحتوي على أَوعية دموية وخلايا ميزنكيمية التي تتمايز إلى خلايا بانية للعظم تقوم بترسيب المادة العظمية حولها ، تتم عملية تحفيز تكاثر الخلايا الُبّانية للعظم وتمايزها بالإشارة الخلوية BMPs (Bone morphogenesis proteins) التي تقوم بالسيطرة والتحكم بعملية التعظم داخل الغضروف . (Badugu *et al.*, 2012)

أَول ما يتكون من عناصر الهيكل الجنيني في برعم الطرف الأَمامي لجنين الدجاج هو العضد Humerus في اليوم الخامس من عمر الجنين ومن ثم الكعبرة Radius و الزند Ulna بعمر ستة أيام ويتزامنان في وقت النشوء ويتماثلان في النمو ، يظهر الرسغ Carpal والمشط Metacarpal بين اليومين السادس والثامن من عمر الجنين ، وفي بداية تكون الرسغ ينقسم الرسغ على ثلاث عشرة قطعة ولكن عندما يصل الجنين لعمر ثلاثة عشر يوماً تلتحم مع بعضها أَو مع المشط ، يختزل الرسغ إلى خمس قطع إثنان منها حرة هما الرسغ الكعبري Radial carpal و الرسغ الزندي Ulnar carpal أَما القطع الثلاثة الُبّاقية من الرسغ فتلتحم مع المشط وهكذا يتكون المشط الرسغي Carpo-metacarpus الذي يتكون في بداية نشأَته من اربعة غضاريف ، الأَول يتلاشى ويختفي ويلتحم الثالث والرابع بعيدا عند نهايتيهما. (Ruth and Mark, 2005)

يبدأ تكون اللوح الإصابعي Digital plate بعمر خمسة أيام ويستمر بالنمو والإمتداد بتقدم الجنين بالعمر ، وتظهر حزوز بين الإصابع وبسبب موت الخلايا وانحلالها تتشكل الإصابع ، في

جناح الطيور هناك تحوير في تركيب هذه الإصابع لأداء وظيفة الطيران فالسلامية الأَولى لا تمتد للخارج كأصبع ويعتقد انها واحدة من العظام الرسغية الثلاثة عشر الملتحمه ، الإصابع من الثاني إلى الخامس تصبح محورة ، الإصبع الثاني والثالث يكونان هما الأطول بينما الرابع يبقى قصيرا ويلتحم مع الخامس . (Yander and Searle,1980)

6-2 نشأة الجلد وتخلُّقهِ في البرعم الطرفي

Morphogenesis of skin in limb bud

يبدأ نشوء الجلد في طرف جنين الدجاج بعمر سبعة أيام الذي يتكون من الُبّشرة Epidermis وتحتها الأَدمة Dermis وهناك تداخل بينهما و مع انهما يتميزان من ارتباطهما الوثيق ببعضهما إلا إنهما مختلفان في نشأَتهما الجنينية . (Sengel, 1976)

أ - تكوّن الُبّشرة Formation of epidermis

تتكون الُبّشرة من الأديم الظاهر Ectoderm و الذي ينشأُ من الأريمة العليا Epiblast في المراحل الجنينية المبكرة ، يتألَّف الأديم الظاهر من طبقة واحدة من خلايا ظهارية (Edgar *et al.*, 1999)، تتكاثر تدريجياً وتمتد عند ذلك ليتغير شكلها من كروية مسطحة إلى مكعبة وأخيراً إلى عمودية ، فتتكون الُبّشرة الُبّدائية Preliminary epidermis (Garcia –Martinez *et al.*, 1993) ، التي تعاني من إنقسامات متتالية وتمايز مكونة طبقة خارجية إنتقالية تتكون من خلايا ظهارية حرشفية تدعى الُبّشرة المحيطية Periderm . (Kitamura *et al.*, 1990)

بعمر ثمانية أيام تبدأ المناطق الريشية Feathers tracts في الجهة الظهرية للطرف بالظهور (Ting-Berreth and Chuong, 1996) و التي تتصف بظهور تراكيب بارزة مستديرة الشكل تظهر بشكل تدريجي لتكون تجمعات متقاربة تسمى الصفيحات الُبّشروية Epidermal placodes (Tanaka *et al.*, 1987) ، التي تبدأ تدريجياً بالإمتداد والتوسع في مناطق الجلد المريشة التي تعاني نمواً وتغيراً في الشكل لتتحول إلى البرعم الريشي Feather bud الذي ينمو

بشكل تناظري أَمامي- خلفي Anterior-Posterior، حيث ان النمو يكون متجها نحو الخلف بعدها يتكون البرعم الطويل Long bud الذي ينمو باتجاه الأَدنى- الأقصى distal - Proximal . (Wang *et al.*, 1999)

تبدأ الُبّشرة بالتمايز النهائي في المراحل المتأخرة من نمو الجنين (Carolyn *et al.*, 2003)، أَما البراعم الريشية فتدخل المرحلة الخيطية Filament stage يصاحبها توالد مستمر لكل من الخلايا الُبّشروية و الأَدمية لتكوين المناطق المريشة Feather tracts أَو ما يُدعى بمنابت الريش Pterylae والتي تنمو بشكل خاص معطيةً شكلاً أُنبوبياً للبّرعم الريشي الذي يستطيل ليتحول إلى ريش جنيني خيطي Embryonic feather filaments ، تزداد كثافة منابت الريش في الجهة الظهرية للجناح عنه مما هو موجود في جهته الُبّطنية(Roger and Loren, 2003) قبل الفقس تتثخن الُبّشرة ويتكامل تمايزها النهائي بتكوّن الطبقة المتقرنة Stratum corneum وتعاني الُبّشرة المحيطية الإضمحلال(Carolyn *et al.*, 2003)،وتبدأ الطبقة المتقرنة بالإنسلاخ مع الُبّشرة المحيطية بحدود اليوم الثامن عشر من الحضانة(Ruth and Mark, 2005) ، بعد الفقس يكتمل نمو البشرة و تكوّنها إذ تتألف من طبقة مولدة Basal layer مكونة من صفين من الخلايا، الداخلية مكعبة الشكل والخارجية عديدة السطوح، تعلوها الطبقة المتوسطة Stratum intermedium وهي طبقة إنتقالية من عدة صفوف من خلايا مسطحة، وإلى الخارج منها تقع الطبقة المتقرنة Stratum corneum إذ تتكون من خلايا مسطحة ومتقرنة تميل الخارجية منها للإنفصال من السطح والتقشر Flakes منتجة قشوراً جافة تظهر على الجلد . (Hodges, 1974)

ب - تكون الأَدمة Formation of dermis

تشتق الأَدمة في طرف جنين الدجاج من الجنب الجسمي Somatopleure في حين تشتق أدمة الظهر من الُبّدينات (Ruth and Mark, 2005) ، تظهر الأَدمة بعد اليوم السادس من عمر جنين الدجاج إذ يتكثف الجزء العلوي من النسيج الميزنكيمي الرخو Loos mesenchymal tissue مكوناً أدمة كثيفة Dense dermis التي بدورها تكون التكثف الأَدمي Dermal condensation وهو عبارة عن تجمع لخلايا ميزنكيمية تحت الصفيحة الُبّشروية لتشكيل الملحقات الجلدية . (Isabel *et al.*, 2001)

تظهر الأَدمة في مناطق منابت الريش غزيرة الخلايا الميزنكيمية والتي تتمايز إلى الأَرومات الليفية بعد تكوّن مناطق الريش والتي تكون على نوعين ، النوع الأَول هو المسؤول عن التكثف

الأَدمي ومَنْ ثمَّ تكوين الريش، أَما النوع الآخر فهو المسؤول عن تكوّن الأَدمة الاعتيادية Ordinary dermis بين منابت الريش Inter-feathers pterlae (Jiang *et al.*, 1999) ، بالاضافة إلى الخلايا الميزنكيمية المهاجرة هناك خلايا مهاجرة أخرى والتي هي خلايا الميلانين والتي تشتق من خلايا العرف العصبي حيث أن هذه الخلايا تبدأ بالهجرة في اليوم الثالث من عمر الجنين أَسفل الأديم الظاهر وفوق الْبَدينات ثم تتخصص لتصبح خلايا الميلانين (Kunio *et al.*, 1992) ، وتستقر أخيراً في بشرة براعم الريش لتندمج مع خلاياها إذ تعاني إنقسامات واسعة وتتضخم ومن ثم تبدأ بإفراز الميلانين في اليوم الثامن أَو التاسع تقريباً من عمر الجنين . (LeDouarin and Kalcheim, 1999)

عندما تتم الأَدمة تمايزها و تتكوّن مناطق الريش، تصبح الأَدمة عبارة عن نسيج ضام ليفي Fibrous connective tissue يحتوي على أَوعية دموية وأعصاب وأَلياف غراوية مع كمية قليلة من الأَلياف المرنة وتطمر فيه جريبات الريش Feather follicles بالإضافة إلى خلايا دهنية وأَلياف عضلية ملساء تقترن بكل جريبة ريشية . (Hodges, 1974)

7-2 تكوّن الريش Formation of feathers

يبدأ تكون منابت ريش الطرف بعد اليوم الثامن من عمر الجنين (Nohno *et al.*, 1995). أَما المناطق شبه معدومة الريش من الجهة الْبّطنية للطرف فيبدأ تكوّنها بعد بضعة أيام . (Dhouilly *et al.*, 2004)

أَول علامات تكوّن الريش هو ظهور إنتفاخات بشروية تسببها التكثفات الأَدمية (شكل 2- 2) التي تحفز الْبّشرة لتكوين البراعم الريشية والتي تبدأ بالانتشار في المناطق المريشة وعند اليوم العاشر تتحفز خلايا براعم الريش بالإنقسام و تتكوّن حافات شعاعية التناظر Radially symmetric ridges موازية لمحور البرعم الريشي من خلايا الطبقة القاعدية لمنطقة الْبّشرة التي تقع فوق البرعم الريشي ، تعمل هذه الحافات على تكوين تراكيب خيطية تدعى الأَسلات Barbs (Harris *et al.*, 2002)، و تنغمد Invaginate الْبّشرة التي تحيط بقاعدة البرعم الريشي داخل الأَدمة ، وعندما يزداد عمق الانغماد يتكون جدارً جريبة الريشة Feather follicle wall وتكون فيما بعد على شكل نقره عميقة يبرز منها تركيب إسطواني طويل هو برعم الريشة (Sawyer and Knapp, 2003) ، بعدها يتمايز جدارً الجريبة الريشية ويتكون تجويف الجريبة Follicular cavity بين جدارًها وغمد الريشة Feather sheath ويكتمل نمو الطوق الْبّشروي Epidermal collar عند قاعدة جريبة الريشة (Randall *et al.*, 1997) ، يعاني التكثف الأَدمي إنقسامات خلوية عديدة فيتكون اللُّب Pulp الذي يحتوي على خلايا ميزنكيمية وشريان محوري وتغزو تجويفه أَلياف عصبية في اليوم الرابع عشر من عمر الجنين، بعد ذلك يبدأ تجويف الجريبة بالاختفاء إذ تشغل الريشة المتكونة كامل الجريبة وعندها ينضم الجزء السفلي من بطانة الجريبة إلى غمد الريشة بإحكام ليكونان طبقة واحدة هي الطوق الْبّشروي الذي يُعد الطبقة الفعالة التي تمتلك خلايا متوالدة . (Mingke *et al.*, 2004)

خلال المراحل المتأخرة من عمر الجنين تصبح طبقة الْبّشرة للريشة متعددة الطبقات وتبدأ بالتمايز لتنشأَ خلايا مختلفة الأنواع، فتكون اسطوانة الريشة الجنينية لها طبقة قاعدية في الجهة الداخلية للريشة التي تواجه منطقة اللُبّ تليها طبقة متوسطة ومن ثم طبقة إنتقالية أَما الطبقة الخارجية فتصبح غمد الريشة Feather sheath ، وأَثناء نمو الريشة يزداد توالد خلايا الطوق الْبّشروي مما يؤدي إلى دفع الخلايا القديمة إلى أَعلى لتمتد خارج الجريبة فتكوَن ريشة جنينية خيطية ويسمى الجزء السفلي منها القلم أَو سويق الريشة Calamus . Chih-Min *et al.* (, 2006)

في المراحل المتقدمة من بناء الريشة، يتم امتصاص كل اللُبّ و تتشكل القبعة اللُبّية النهائية في أَسفل سويق الريشة و هي كتلة من خلايا متوالدة تساهم في نمو وديمومة توالد ريشة جديدة في حالة سقوطها فتنمو ريشة اخرى بالمكان نفسه ولها الصفات نفسها ، بعد الفقس تكون الريشة الجنينية مغطاة بغلاف رقيق هو الغمد ما إن يجف حتى تتقشر قمة غمد كل ريشة وتنبثق الريشة الزغبية مع أَسلاتها . (Mingke *et al.*, 2004 ; Chia and Cheng, 1999)

8-2 تجهيز الأَلياف العصبية والأَوعية الدموية في البرعم الطرفي

Nerve fibers and blood vessels supply in limb bud

لا توجد أعصاب و أَوعية دموية في المراحل المبكرة من نمو البرعم الطرفي لأَن تطورهما يتوافق مع تطور العضلات والهيكل الطرفي الْبّدائي لإِرتباطهما الوثيق مع بعضهما (Shellswell and Wolpert, 1977) ، تمتد الأَعصاب من الحبل الشوكي المتطور وتنمو باتجاه البرعم الطرفي لتكون قريباً منه ضفيرة تنشأَ منها أَلياف عصبية تبدأ بغزو ميزنكايم البرعم الطرفي بعمر ثلاثة أيام ونصف ، تمتد الأَلياف العصبية وتتفرع بين الكتل العضلية الظهرية والْبّطنية للبرعم الطرفي حتى اليوم الخامس من عمر الجنين (Swanson, 1985) ، أَما خلايا شوان Schwann cells فهي تنشأَ في العرف العصبي Neural crest ثم تهاجر إلى البرعم الطرفي وهناك تتجمع حول الأَلياف العصبية المتطورة لتحيط بها . (Bennett *et al.*, 1980)

تتفرع الأَوعية الدموية في البراعم الطرفية الأَمامية من الأَبهر Aorta القريب من منها ، بعمر ثلاثة أيام ونصف تبدأ شبكة من الأَوعية الدموية الشعرية المبكرة بالظهور في مركز البرعم الطرفي (Hamburger and Hamilton, 1951) ، التي تلتحم لتكوّن الشريان والوريد تحت الترقوي Supclavian وباستمرار تطور البرعم الطرفي تتكون ضفيرة وريدية كبيرة على طول الحافة الخارجية لميزنكايم البرعم الطرفي أَما الشريان فيكون مركزي الموقع ذو تفرعات واسعة . (Wilson and Orr-Urtereger, 1986)

9-2 موت الخلايا المبرمج programmed cell death (Apoptosis)

يتصف الجنين بإمتلاكه خلايا ذات قدرة إنقسامية عالية وإضافة لهذه المناطق التكاثرية توجد أيضاً مساحات جنينية تحدث فيها نسبة عالية من موت الخلايا ، هذا يعني أَن هناك مناطق تتوسع بالإنقسامات الخلوية السريعة على حساب تآكل أخرى وتقلصها . (Sanders and Parker, 2001)

موت الخلايا المبرمج programmed cell death أَو ما يُدعى بمصطلح Apoptosis له دور مهم في عملية التخلُّق Morphogenesis وتحديد شكل الأعضاء ونمطها وهو يتركز في مناطق جنينية عالية الخصوصية وفي فترات زمنية محددة (Keyes and Sanders, 1999) . ان آلية موت الخلايا المبرمج في الجنين غير مفهومة بشكل كامل ،ولكن الأبحاث العلمية وضّحت أَن الموت المبرمج يشمل تنشيط مستقبلات سطح الخلايا فتجبر هذه الخلايا على تنشيط منظم لانزيمي الُبّروتيز Proteases و النيوكليز Nucleases التي تعمل على تحطيم بروتينات الخلية وأَحماضها النووية وتدريجياً تلتهما خلايا أُخرى . (Gilpert, 2003)

يحدث الموت المبرمج في البرعم الطرفي واصابع القدم عند جنين الدجاج بشكل ظاهر ومميز ، ويكون محصوراً في منطقتين هما منطقة النخر الأَمامية Anterior necrotic zone ومنطقة النخر الخلفية Posterior necrotic zone ، هاتان المنطقتان ليس لهما دوراً في تحديد شكل الطرف فحسب وإنما أيضاً في مراكز التخلُّق الذي يوزع ويتفاعل مع باقي الأَنسجة ويؤديان دوراً أساسياً في تنميط الطرف . (reviewed by Paulsen, 1994)

تقوم الإشارة الجزيئية BMP بدور فعال في تنشيط موت الخلايا المبرمج وتنظيمه الذي يحدث بين الإصابع وبغياب هذه الإشارة يؤدي إلى حالة إلتحام الإصابع Syndactyly . (Gilpert, 2003)

المواد والطرائق Materials and Methods

1-3 المواد Materials :

1-1-3 أَجنة الدجاج Chicken embryos

تم جمع (60) بيضة من دجاجِ الليكهورن الأبيض White Leghorn من حاضنات مفقس النجف الحديث (أبو صخير) ، ثم بوشر بفقس عشرُ بيوضات لكل عمر من الأَعمار الجنينية التالية : 8، 10، 12، 14، 16 ، 18 يوم . أخرجت الأَجنة لإخضاعها للإجراءات المختبرية .

أجريت الدراسة النسجية في مختبر التحضيرات النسجية في المعهد الفني الطبي/ الكوفة واستغرقت مدة الدراسة سنة وسبعة أَشهر من تاريخ 2015/3/15 ولغاية 5/ 2016/10 .

2-1-3 **الأجهزة Instruments :** أَستعملت الأَجهزة أدناه المجهزة من الشركات الآتية:

3-1-3 المواد الكيميائية Chemical Materials أُستعملت المواد الكيميائية أدناه المجهزة من الشركات الآتية :

4-1-3 المحاليل Solutions :

حُضّرت المحاليل والطرق التلوينية المستخدمة في الدراسة الحالية بالإعتماد على Luna, (1968) .

أ- المحاليل المستعملة في التثبيت :

مثبت الفورمالين Formalin Fixative :

فورمالديهايد	Formaldehyde %40	10 ml.

مـــــاء	Water	90 ml.

ب- المحاليل المستعملة في المقاطع النسجية :

1 – محلول الإيثانول Ethanol Solution :

كحــول أثيلي مطلق	Ethanol 100%	
مـــاء مقطــر	Distilled water	

2 - أُح ماير Mayers' Albumin :

اح الُبّيض	Eggs albumin	50 ml.
كليسيرين	Glycerine	50 ml.
ثايمول	Thymol	1 gm.

ج - المحاليل المستعملة في الطرق التلوينية :

1- **ملونة هاريس هيماتوكسلين - آيوسين Hariss Haematoxyline- Eosin Stain**

أ - محلول الهيماتوكسلين Haematoxyline solution :

هيماتوكسلين	Haematoxyline	1gm.
كحول الأثيلي	Ethanol 100%	10 ml.

شب الُبّوتاس	Potassium alum	20 gm.
أَوكسيد الزئبق	Mercuric oxide	0.5 gm.
حامض الخليك الثلجي	Glacial acetic acid	3 ml.
مـــــاء مقطر	Distilled water	200 ml.

ب- محلول الآيوسين Eosin solution :

آيوسين	Eosin	0.5 gm.
كحــول أثيلي % 95	Ethanol 95 %	100 ml.

2- ملونة ماسون ثلاثي الكروم Masson's Trichrome stain

أ – محلول باون Bouin's Solution :

حمض الُبّكريك (المشبعة)	Picric acid (saturated)	75 ml.
فورمالديهايد	Formaldehyde (37-40%)	25 ml.
حمض الخليك الثلجي	Glacial acetic acid	5 ml.

ب – محلول هيماتوكسلين الحديد ويكرت Weigert 's Iron Hematoxylin Solution :

محلول A :

هيماتوكسلين	Hematoxylin	1 gm.
كحول 95%	Alcohol	100 ml.

محلول B :

كلوريد الحديديك 29% Ferric chloride في الماء		4 ml.
ماء مقطر	Distilled water	95 ml.

حامض الهيدروكلوريك	Hydrochloric acid	1 ml.

ج – محلول الُبّيبريك القرمزي - الفوكسين الحامضي :

Biebrich Scarlet-Acid Fuchsin Solution:

الُبّيبرك القرمزي ، المائي 1%	Biebrich scarlet, aqueous	90 ml.
الفوكسين الحامضي ، المائي 1%	Acid fuchsin, aqueous	10 ml.
حامض الخليك الثلجي	Glacial acetic acid	1 ml.

د – محلول الفسفوموليبديك - الفسفوتنغستيك :

Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Solution:

حامض الفسفوموليبديك	Phosphomolybdic acid	5 gm.
حامض الفسفوتنغستيك	Phosphotungstic acid	5 gm.
مـــاء مقطــر	Distilled water	200 ml.

هـ – محلول الأنيلين الأَزرق Aniline Blue Solution :

الأنيلين الأَزرق	Aniline blue	2.5 gm.
حامض الخليك الثلجي	Glacial acetic acid	2 ml.
مـــاء مقطر	Distilled water	100 ml.

و – محلول حامض الخليك الثلجي 1% Acetic Acid Solution

حامض الخليك الثلجي Glacial acetic acid 1 ml.

مـــاء مقطر Distilled water 99 ml.

3– التلوين المزدوج Double staining (Whitaker and Kathleen, 1979)

1 – حجم واحد 0.3% (300 mg.) يرشح الألسيان الأزرق Alcian blue في كحول أثيلي 70% (100 ml.) .

2 – حجم واحد 0.1% (100 mg.) يرشح الأليزارين الأحمر Alizarin red-s في كحول أثيلي 95% (100 ml.) .

3 – حجم واحد حامض الخليك الثلجي Glacial acetic acid (100 ml.) .

4 – سبعة عشر حجم كحول أثيلي 70% (1700 ml.) .

2-3 الدراسة النسجية Histological Study :

أتبعـــت طريقة Al-hajj (1998) لأغراض الدراسة النسجية بأتباع الخطوات الآتية:

1- غسلت عينات البراعم الطرفية للأجنة بالمحلول الملحي لكلوريد الصوديوم (0.9%) بعد ان قطعت بواسطة مقص تشريح من الأجنة المتحصل عليها من البُيوض.
2- وضعت العينات في مثبت الفورمالين (10%) لمدة 48 ساعة بعدها غسلت في ماء الحنفية الجاري لمدة ست ساعات للتخلص من المثبت .
3- نكزت العينات Dehydration وذلك بتمريرها بسلسلة من التراكيز المتصاعدة من الكحول الأثيلي (70% ، 80% ، 90% ، 95% ، 100%)ولمدة ساعتين في كل منها .
4- روقت Clearing بإستعمال الزايلين لمدة (1 – 1.5) ساعة .
5- شربـــت Infiltration بشمـــع البُرافيـــن المنصهـــر بدرجـــة (56 – 58 مْ) ولمدتيـــن(1 – 1.5 ساعة / مرة) .
6- طمرت Embedding الأنسجة في شمع البُرافين المنصهر وتركت لتتصلّب .

7- قطعت العينات بوساطة جهاز المشرح الـدوّار Rotary Microtome وبسمك (5) مايكروميتراً .

8- سطحت المقاطع بدرجة حرارة(40- 45مْ) بحمام مائي وثبتت النماذج على شرائح زجاجيــة بإستعمال لاصــق آح مايــر Meyer's albumin .

9- قسمت الشرائح النسجية على ثلاث مجموعات لغرض إستعمال الطرق التلوينية المعتمدة في الدراسة الحالية لأغراض الدراسة النسجية.

3-3 الطرق التلوينية المستخدمة:

أ- طريقة الهيماتوكسلين – آيوسين Harris Haematoxylin – Eosin method.
(Luna, 1968)

ب - طريقة ماسون ثلاثي الكروم Masson's Trichrome method. **(Luna, 1968)**

ج - طريقة التلوين المزدوج Double staining method .
(Whitaker and Kathleen, 1979)

بعد عمل الطرائق التلوينية، حملت المقاطع Mounting بالـ DPX و تم تغطيتها بالغطاء الزجاجي Cover slip ، وفحصت بإستعمال المجهــر الضوئـــي نــوع Olympus تحــت قـــوة تكبيـــر (x10، x20 ، x40) لتحديد التغيرات النسجية في نسيج البرعم الطرفي وصورت المقاطع بإستعمال كاميرا سوني .

ولدعم الدراسة النسجية في متابعة التطورات الجنينية في برعم طرف أَجنة الدجاج في المراحل الجنينية المحددة في الدراسة الحالية، تم قياس طول البرعم الطرفي بواسطة القدمة Vernea وقياس سمك العضد وطوله ومقدار التعظم فيه بإستعمال المصغرين العيني والمسرحي Ocular and stage micrometer لمعايرة المجهر وأخذ القياسات المطلوبة .

4-3 التحليل الإحصائي Statistical Analysis :

أخذت القياسات لكل جنين ولكل المراحل و اختيرت عشرة أَجنة لكل مرحلة و قيس فيها طول وسمك كل من البرعم الطرفي و العضد الُبّدائي ومقدار التعظم حللت نتائج الدراسة الحالية بإستعمال الُبّرنامج الإحصائي SPSS ، وطريقة تحليل التباين ذو اتجاهين Two way Anova وتحليل الارتباط Correlation. (Galigher and Kozloff, 1964)

4- النتائج Results

1-4 التركيب النسجي للبرعم الطرفي في اليوم الثامن من عمر جنين الدجاج

أَوضح الفحص العياني للجنين في عمر ثمانية أيام أن جسمه صغير و خالٍ من الريش و ذو برعم طرفي قصير ورقيق التركيب (الشكل 4-1-A) ، وأظهرت الدراسة الإحصائية (جدول،مخطط 4-1) ، ان معدل طول البرعم الطرفي و سمكه في اليوم الثامن من عمر الجنين كان **(0.12 ± 8)** مليمتراً و **(0.58 ± 3)** مليمتراً على التوالي وبعد تثبيته بالفورمالين لمدة خمسة أيام (الشكل 4-1-B) ، ظهر بروز الإصبع الثاني جلياً و اختفى بعد معاملة الطرف بطريقة التلوين المزدوج Double staining ، وأظهرت نتائج هذه الملونة أن هناك عناصر هيكلية بدائية قد بدأَت بالظهور(الشكل 4-1-C) ، و تتلّون باللون الأَزرق مما يدل على أنها مكونة من نسيج غضروفي ولا اثر للتعظم فيه ، أَول هذه العناصر هو العضد Humerus الذي كان طوله **(0.29 ± 2.5)** مليمتراً وسمكه **(0.06 ± 0.3)** مليمتراً ،(جدول ، مخطط 4-2) ، ويظهر الزند Ulna مشابهاً للكعبرة Radius ولكن يفوقه في السمك ، وهناك نشوء أَولي للرسغ والذي يبدو انه ألتحم مع المشط وتمايز إلى أربعة غضاريف هي المشط الرسغي Carpo-metacarpus كما يظهر في المقطع النسجي مع ملونة الهيماتوكسلين-آيوسين (H&E) (4-1-D)، الذي أخذ من الشريحة المجهرية مباشرة .

بينت نتائج الدراسة النسجية أَن هيكل الطرف هو غضروف جنيني Embryonic cartilage ، وكما يلاحظ من الشكل (4-2-A) ، أنه يتكون من خلايا مستديرة الشكل هي الخلايا الغضروفية Chondrocytes وتظهر النواة مفككة وغير منتظمة مما يدل على أَنها في اطوار إنقسامية مختلفة حيث إن الغضروف الجنيني يمر بمراحل نمو سريعة واتساع في الحجم لتكوين الهيكل الْبّدائي Rudiment skeletal للبرعم الطرفي وقد تجمعت حوله مجموعات كبيرة من الخلايا الميزنكيمية Mesenchymal cells تمر بعملية التمايز إلى خلايا مولدة للعضلات Myogenic cells والتي تلتحم مع بعضها مكونة أَنابيب عضلية Myotubes متعددة الأنوية تعلو الغضروف الجنيني (الشكل 4-2-B)، وفي هذه الأَثناء يحصل نمو وتطور في الجهة الخارجية من البرعم الطرفي ، حيث تمايز الجلد إلى طبقتين ، العليا وهي طبقة الْبّشرة Epidermis والتي تترتب بصفين من الخلايا، صف من خلايا مسطحة إلى الخارج تغطي الجلد تسمى الْبّشرة المحيطية

Periderm ويقع إلى الأَسفل منها مباشرة الأديم الظاهر والذي يظهر في المقطع الطولي بشكل طبقة من خلايا مكعبة إلى عمودية الشكل (الشكل 4-2-C،D) ، وتسمى الطبقة المولدة Stratum germinativum أَو الطبقة القاعدية Basal layer.

ظهرت منطقة الأَدمة Dermis إلى الأَسفل من الْبَشرة وتكون عبارة عن نسيج ميزنكيمي رخو Loose mesenchymal tissue مكوَن من أَلياف وخلايا ميزنكيمية ولوحظ تكوَن الأَدمة الكثيفة Dense dermis إلى الأَسفل من الطبقة المولدة ، تظهر هناك زيادة في سمك وكثافة مناطق الأَدمة الكثيفة لتكوَن التكثف الأَدمي Dermal condensation الذي يرتفع إلى الأَعلى دافعاً معه الْبَشرة مشكلاً لُبّها مكوناً بذلك براعم ريشية Feather buds قصيرة (الشكل 4-2-C،D).

لوحظ مع ملونة ماسون ثلاثي الكروم Masson's Trichrome stain تجمعات ميزنكيمية كثيفة في منطقة عناصر الهيكل الْبَدائي للبرعم الطرفي (الشكل 4-3-A) مع تجهيز دموي عالي كما تكون هذه الخلايا ملتصقة مع بعضها بشكل وثيق ومتكورة لتأخذ شكلاً كروياً إستعداداً للتمايز إلى الخلايا المولدة للغضروف Chondroblasts التي تساهم في تخلُّق النسيج الغضروفي الجنيني وكما هو واضح في الشكل (4-3-B) ، وقد أَظهرت الشكل (4-3-C،D) نسيجي الْبَشرة والأَدمة في منطقة البراعم الريشية والمناطق الخالية منها يتغلُبّ عليهما اللون الأَحمر مع ملونة ماسون ثلاثي الكروم ، في حين تتلّون الأَلياف الغراوية باللون الأَخضر الفاتح .

2-4 التركيب النسجي للبرعم الطرفي في اليوم العاشر من عمر جنين الدجاج

أظهر الفحص العياني للجنين في عمر عشرة أيام (الشكل 4-4-A،B) ، زيادة بلغت (**2**) مليمتراً عن العمر السابق فبلغ طول البرعم الطرفي وسمكه (**10 ±0.35**) و(**5 ±0.5**) مليمتراً على التوالي ، (جدول ، مخطط 4-1) ، ولوحظ ان الهيكل الُبّدائي للطرف قد ظهر فيه التعظم بشكل واضح مع طريقة التلوين المزدوج (الشكل 4-4-C) ، حيث ظهر باللون الأحمر وكان يساوي **(0**± **2**) مليمتراً في العضد الذي بلغ طوله وسمكه (**5 ± 0**) و(**0.8 ± 0.12**) مليمتراً على التوالي (جدول ، مخطط 4-2) ، ويظهر التعظم في عناصر الهيكل الُبّدائي الأخرى (الزند ، الكعبرة والمشط الرسغي) أَما الإصابع (الثاني ، الثالث ، الرابع) فهي خالِية من التعظم تقريباً في هذه المرحلة العمرية وكذلك يظهر التعظم في العضد بشكل منطقة بيضاء في المقطع النسجي الكامل للبرعم الطرفي مع ملونة الهيماتوكسلين –آيوسين (H&E) ، ولوحظ وجود جريبات ريشية لم تكن ظاهرة بصورة واضحة في الفحص العياني للجنين(شكل 4-4-D)

بينت نتائج الدراسة النسجية للبرعم الطرفي أن منطقة التعظم كانت تقطع الغضروف الجنيني في عناصر الهيكل الُبّدائي إلى جزئين وتكون هذه المنطقة غنية بالأَوعية الدموية وتقطع فراغاتها صفائح عظمية Bone lamellae مسطحة تحجز داخلها فجوات Lacunae تحوي الخلايا العظمية Osteocytes ولوحظ ان التعظم يبدأ في منطقة الغلاف الغضروفي Perichondrium حيث تكون أَكثر إتساعاً وتسطحاً (شكل 4-5-A،B) ، تظهر الشكل (4-5-C) ، اصطفاف الأَنابيب العضلية Myotubes حول الغضروف الجنيني تعلوها الخلايا المولدة للعضلات التي تمايزت من الخلايا الميزنكيمية ويظهر الجلد في المناطق غير المريشة مكوناً من بشرة وأدمة مستمرة بالنمو والإتساع ولوحظ زيادة سمك الجلد وانتشار البراعم الريشية في المنطقة المريشة من الطرف الجنيني ، وفي مقطع طولي لُبّرعم ريشي طويل (شكل 4-5-D) ، ازدادت صفوف خلايا البشرة بسبب سرعة توالدها وتحيط بالتكثف الأَدمي الغني بالأَوعية الدموية ، ويبدو منحرف نحو الخلف بسبب النمو الأَمامي- الخلفي و انغمدت قاعدته داخل الأَدمة فتكون قد دخلت مرحلة الجريبة الريشية و كذلك ظهرت فيها الُبّشرة وهي تعاني من تفلج في بعض المناطق مما يؤدي إلى تكوين حيود الأَسلات Barb ridges ، واتصفت منطقة الأَدمة تحت البراعم الريشية بغزارة التجهيز الدموي وكثافة عالية للأَلياف الميزنكيمية والخلايا الميزنكيمية ،أَما الأَدمة في المناطق الخالية من البراعم الريشية فتظهر مفككة وأَقل غزارة في المكونات مما هي عليه في المناطق المريشة (الشكل 4-5-C) .

ظهر الغلاف الغضروفي مع ملونة ماسون ثلاثي الكروم يحيط بالغضروف وقد تلّون باللون الُبّني الغامق تحيط به مجموعة كبيرة من الخلايا المولدة للعضلات والأَنابيب العضلية الملتحمة مع بعضها (الشكل 4-6-A) ، وتظهر الشكل (4-6-B) ، غضروفاً جنينياً في طور التكوين وتظهر الخلايا الغضروفية كروية الشكل ذات نواة مركزية متلّونة باللون الأحمر يحيط بها قالُبّ غضروفي ذو لون أَخضر براق وكما هو ملاحظ يحيط به من الخارج خلايا متباعدة هي الخلايا المولدة للغضروف Chondroblasts تستعد للتمايز ، تظهر الشكل (4-6-C) ، برعم ريشي قصير تتوضح فيه الُبّشرة و تحاط بالتكثف الأَدمي المزدحم بالخلايا الميزنكيمية ذات اللون الأحمر الغامق ، ولوحظ إمتداد أَوعية دموية طويلة في الجلد بين البراعم الريشية يقوم بتجهيز البراعم الريشية بالدم اللازم لنموها وتطورها (الشكل 4-6-D) .

3-4 التركيب النسجي للبرعم الطرفي في اليوم الثاني عشر من عمر جنين الدجاج

بينت النتائج الإحصائية (جدول، مخطط 4-1) ، للدراسة الحالية أن هناك تزايداً ملحوظاً في طول البرعم الطرفي بلغت **(8)** مليمتراً فبلغ **(18 ± 0.58)** مليمتراً أَما السمك فكانت الزيادة **(2)** مليمتراً فبلغ معدله **(7 ± 0.06)** مليمتراً ، تظهر الشكل (4-7-A) ، جنيناً بعمر اثنتي عشر يوماً وقد غطى برعمه الجنيني الريش (4-7-B) ، أَما مع التلوين المزدوج (4-7-C) فكان واضحا إمتداد الهيكل الطرفي بالطول حيث بلغ طول العضد وسمكه **(8 ± 0.23 ، 0 ± 1)** مليمتراً على التوالي وزيادة معدلات التعظم (اللون الأحمر) في العضد فبلغ (**3 ± 0.17**) مليمتراً (جدول ، مخطط 4-2) ، وكذلك في باقي العناصر الهيكلية الأخرى وظهوره في سلاميات الإصابعين الثاني والثالث ، وفي الشكل (4-7-D) ، يبدو التعظم أيضاً ممتداً أَكثر (اللون الأبيض) في عناصر الهيكل الْبّدائي ويظهر الريش الجنيني كثيفاً وبارزاً إلى الخارج .

أَظهرت نتائج الدراسة النسجية للطرف أَن منطقة التعظم تحيط بغضروف العمد الجنيني من الداخل على شكل حلقة تبطنها صفائح عظمية حديثة التكوين تظهر الخلايا الغضروفية منتفخة كثيراً في مراحل متعددة من عملية إندثارها ومن ثم إختفائها عن طريق الموت المبرمج Apoptpsis ليحل محلها خلايا بانية للعظم Osteoblasts ويظهر غزواً واسعاً للأَوعية الدموية إلى مركز حلقة التعظم (الشكل 4-8-A) ، وتبين الشكل (4-8-B) ، حلقة التعظم وقد إمتلأت بالأَوعية الدموية وصفائح عظمية وبعض الكتل لما تبقى من الغضروف الجنيني الذي هو على وشك الانحلال ، ومن التطورات الجنينية التي ظهرت جلية في المقاطع النسجية (الشكل4-8-B،C) هي الأَلياف الإبتدائية ، إذ أعقب مرحلة تطور الأَنابيب العضلية في المرحلة السابقة ظهور الأَلياف الإبتدائية ذات أنوية مركزية ملتصقة بعناصر هيكل الطرف الجنيني بشكل منتظم موازية لُبّعضها ومقاطعة له ، علاَوة على تطور العضلات هناك تطور آخر حصل على الجريبات الريشية التي نمت وتعدت مرحلة البراعم لتدخل مرحلة الجريبات الريشية حيث إستطالت وبرزت للخارج مع نمو وتطور الأَسلات بشكل واضح (الشكل 4-8-D) .

يتوضح مع ملونة ماسون ثلاثي الكروم سمحاق العظم الخارجي Periosteom الذي تلّون باللون الأَحمر (الشكل 4-9-A) الذي يحيط بمنطقة التعظم ويمتد إلى مناطق غضروف أخرى لتبدأ بالدخول بمراحل التعظم، وفي الشكل(4-9-B) ، تبدو الجريبات الريشية كبيرة الحجم بحيث

إجتازت الْبَشرة لتصل إلى أَعماق طبقة الأَدمة وأصبحت تشغل حيزاً كبيراً منها لتكون قريبة من هيكل الطرف الجنيني الذي تلّون باللون الأَخضر ، في الشكل (D-9-4) ، ريشة جنينية صغيرة داخل جريبة ريشية ما زالت في طور التكوين ويظهر فيها التثخن البشروي واضحاً في قمتها مع تفلجات عديدة لتكوين الأَسلات ،و أَما الجلد غير المريش فيبدو منتظماً أَكثر حيث تمتد الْبَشرة أُفقياً متكونة من خلايا ظهارية متراصة وتقع تحتها الأَدمة والتي تبدو أَقل سمكاً من أدمة المناطق المريشة و تصطف أَلياف عضلية في طور النمو ذات لون أحمر غامق وقريبة من غضروف في طور التعظم (الشكل C-9-4) .

4-4 التركيب النسجي للبرعم الطرفي في اليوم الرابع عشر من عمر جنين الدجاج

بينت النتائج الإحصائية (جدول ، مخطط 4-1) ، للدراسة الحالية أن هناك زيادة في طول البرعم الجنيني وقدرها **(7)** مليمتراً فاصبح (**0 ± 25)** مليمتراً أَما السمك فكانت زيادته بالقيمة نفسها في المراحل السابقة وهي **(2)** مليمتراً واصبح يساوي (**0.17 ± 9**) مليمتراً ، تظهر الشكل (A-10-4) ، جنيناً بعمر أَربعة عشر يوماً وقد غطى طرفه ريش جنيني (الزغب) وظهور بعض الجيوب لجريبات ريش الطيران على حافته الخلفية (الشكل D،B-10-4) ، وقد بينت نتائج التلوين المزدوج ان عظام الطرف بدت أَكثر طولا وسمكاً وكانت معدلات طول العضد وسمكه (**0.5 ± 10** ، **0.29 ± 1.5**) مليمتراً على التوالي واللون الأحمر لمناطق التعظم إزداد عمقاً مما يدل على تركيز أَعلى في المادة العظمية وأَصبح أَكثر إتساعاً على حساب مناطق الغضروف ذات اللون الأَزرق الفاتح التي انحسرت مقابل تمدد التعظم حيث بلغ مقدار تعظم العضد (**0.29 ± 6)** مليمتراً (الشكل C-10-4) .

أَما الدراسة النسجية للطرف فقد أَظهرت توسعاً في منطقة التعظم وتراجعاً في الغضروف الجنيني وإستطالة في السمحاق العظمي وإمتداده على الجهتين ولوحظ ان الصفائح العظمية أصبحت أَكثر إتساعاً وتسطحاً (الشكل A-11-4) ، وتلتحم ثم تعود لتتفرع وتتشابك حاجزة بعض الفراغات بينها أَما الخلايا العظمية فبدت صغيرة الحجم وأَكثر تباعداً على حساب زيادة في القالُبّ العظمي (الشكل B-11-4) ، وتظهر في الشكل (C-11-4) ، الأَلياف الثانوية والتي تكون إنبوبية الشكل ذات أنوية عديدة تميل إلى ان تكون جانبية الموقع والتي تطورت وتمايزت عن الأَلياف العضلية الإبتدائية التي تكون نواتها مركزية الموقع ، أَما في الشكل (D-11-4) ، فيتوضح فيها جريبة ريشية جنينية أكملت نموها و امكن فيها تمييز جزئين ، جزءٌ خارجي يبرز من سطح الجلد مكوناً من اسلات

محاطة بالْبَشرة المحيطية التي تكون غلافاً رقيقاً ،وجزءٌ منغرس داخل الجلد في التجويف الجريبي ويظهر إنحراف نموها نحو الخلف بسبب النمو الأَمامي الخلفي .

أظهرت المقاطع النسجية مع ملونة ماسون ثلاثي الكروم النسيج الغضروفي متلّوناً بلون أَخضر فاتح (الشكل 4-12-A) ، وخلاياه مستديرة ومنتفخة إستعداداً للإضمحلال والاستبدال بالخلايا العظمية وتظهر منطقة التعظم باللون الأحمر مليئة بالأَوعية الدموية وخلايا بانية للعظم وأَلياف وتبدو الأَلياف العضلية في الشكل (4-12-B) ، حمراء اللون إنبوبية الشكل كثيفة متلاصقة مع بعضها وحولها تمتد أَلياف غراوية ذات لون أَخضر ، و في المقطع العرضي لجلد الطرف الجنيني ظهرت الجريبة الريشية على شكل تركيب مستدير مطمر في الأَدمة (الشكل 4-12-C)، حيث ظهر اللُبّ باللون الأحمر في مركز التجويف الجريبي محاطاً بالأَسلات ذات لون أحمر مسود والتي يحيطها من الخارج الجدارَ الجريبي والذي يكون بلون أسود ، أَما الجلد الخالٍ من الريش فتظهر الْبَشرة مكونة من عدة طبقات بسبب ظهور الطبقة المتوسطة في المنطقة غير المريشة بين الطبقة القاعدية والْبَشرة المحيطية (شكل 4-12-D) ، وقد تميزت الأَدمة عن المراحل السابقة بكثافة عالية من الأَلياف الغراوية التي تلّونت باللون الأَخضر أَما الخلايا الميزنكيمية فقد تمايزت إلى الأَرومات الليفية ولكن بأَعداد أَقل.

5-4 التركيب النسجي للبرعم الطرفي في اليوم السادس عشر من عمر جنين الدجاج

أَظهرت الدراسة الإحصائية وجود زيادة معنوية في معدل طول وسمك كلاً من البرعم الطرفي (جدول ، مخطط 4-1) ، **(0.29± 30** ، **0±11**) مليمتراً وعضده (جدول ، مخطط 4-2)، **(0.5± 10** ، **0.29 ± 1.5**) مليمتراً على التوالي وكما هو واضح في اللوحتين (4-13-A،B) ، هناك زيادة في حجم الجنين وطرفه الجناحي وكثافة في الريش الذي استطال وملأ المناطق المريشة ومع التلوين المزدوج يظهر الطرف الجنيني ذا هيكل منتظم الشكل وأصبح قريب الشبه لجناح الطيور من حيث إنخفاض العضد وإرتفاع الزند والكعبرة وبروز الإصبع الثاني والثالث إلى الأَمام بشكل مدبب بسبب نمو وتعظم السلامية الثانية أَما الإصبع الرابع فيبدو أن التعظم لم يصلٍ اليه حتى هذه المرحلة المتأخرة من عمر الجنين ، ولوحظ إمتداد التعظم (اللون الأحمر) وشغله معظم عمد العظم Diaphysis حيث بلغ مقداره **(0.15± 8)** مليمترا وإنحصار الغضروف (اللون الأَزرق الفاتح) عند مشاشة العظم Epiphysis قريباً من مفاصل الطرف (الشكل 4-13-C) وهذا أيضاً ما بينته الشكل (4-13-D) ، المقطع النسجي الكامل للطرف الجنيني مع صبغة الهيماتوكسلين –آيوسين حيث من الملاحظ إمتداد التعظم (المنطقة الْبّيضاء) وإنحصار الغضروف (اللون الْبّنفسجي) في رؤوس العظام وتبدو فيها جيوب جريبات ريش الطيران أَكثر بروزاً وإستطالة .

أَوضحت الدراسة النسجية (الشكل 4-14-A) ، تقلصاً في حجم النسيج الغضروفي وتظهر الخلايا الغضروفية في المنطقة القريبة من منطقة التعظم منتفخة على وشك الإنحلال وتتشابك الصفائح العظمية في منطقة التعظم مكونة فراغات تحجز بداخلها النقي الأَولي Primary marrow المكون من أَوعية دموية وخلايا بانية للعظم ويظهر السمحاق العظمي الخارجي محاطاً بالصفائح العظمية ولوحظ اختفاء الكتل الغضروفية من منطقة التعظم نهائياً واقتصاره على طرفيها ، وفي الشكل (4-14-B) ، تظهر الأَلياف العضلية منتظمة ومترتبة طولياً وتبدو إسطوانية الشكل تقريباً وأنويتها جانبية الموقع وهذا يعني أَنها تقترب إلى أن تكون عضلات هيكلية ناضجة ما عدا انها ما زالت فاقدة للتخطيط العضلي في هذه المرحلة من عمر الجنين ، وفي الشكل (4-14-C) ، يظهر الجلد غير المريش مكوناً من بشرة أصبحت ذات طبقات متعددة وأدمة إمتلأت بأَلياف غراوية وخلايا مولدة للأَلياف ومن التطورات الجنينية التي ظهرت جلية هو ظهور النسيج الدهني Adipose tissue تحت طبقة الأَدمة ، أَما الجلد المريش (الشكل 4-14-D) ، فتظهر الأَدمة مرتبطة مع هيكل الطرف مباشرة وقد انغرس فيها ريش الجناح الكبير بعمق ويكاد يلامس عظام

الطرف و تظهر الجريبة الريشية وهي محاطة بطبقة بشروية تشكل جدارً الجريبة Follicle wall ،يحتضن التجويف الجريبي Follicular cavity الريشة الجنينية مع أَسلاتها وفي المركز يظهر اللُبّ الغني بالخلايا والأَلياف و هناك الأَوعية الدموية التي تخترق قاعدة تجويف اللُبّ قادمة من النسيج الضام للأدمة في الوقت ذاته يلاحظ ان اللُبّ قد بدأ بالانحسار والامتصاص تدريجياً ً وبذلك يبدو الجزء العلوي منه على شكل قصبة فارغة هي سويق الريشة Calamus.

أظهرت نتائج المقاطع النسجية مع ملونة ماسون ثلاثي الكروم أن التعظم ما زال مستمراً ومحاطاً بغضروف متراجع تلّون باللون الأَخضر الفاتح (الشكل 4-15-A) ، وتمتد حوله العضلات التي بدت أَكثر تطوراً وتمايزاً وأصبحت على شكل حزم طويلة إسطوانية الشكل تتكدس على شكل قطع بلون أحمر حول الهيكل الطرفي (الشكل 4-15-B) أَما الجلد فظهرت بشرته حمراء متعددة الطبقات تقع أَسفل منها الأَدمة التي اكتظت بأَلياف غراوية متموجة تحيط بالخلايا المولدة للأَلياف وفي مقطع عرضي للجريبة الريشية (الشكل 4-15-D) تظهر الأَسلات ذات لون احمر تلتف حول اللُبّ ويحيط بها جدارً جريبي ترتبط به أَلياف عضلية ملساء .

6-4 التركيب النسجي للبرعم الطرفي في اليوم الثامن عشر من عمر جنين الدجاج

تبين الشكل (4-16-A) ، جنين دجاج بعمر ثمانية عشر يوماً وقد اكمل نموه وغطى الريش الجنيني (الزغب) جسمه بالكامل وكذلك طرفه الجناحي أصبح جناحاً مكتملاً النمو فبلغ طوله **(0.53 ± 35)** وسمكه **(0.29± 13)** مليمتراً، ولوحظ ظهور ريش الطيران الكبير في حافة الطرف (الشكل 4-16-B) ، قد نما وظهر ممتدا للخارج مما يدل على أَن ريش الطيران وهو ريش غير جنيني ينشأ ويتطور خلال المراحل المتأخرة من النمو الجنيني ، وعند معاملة الطرف الجنيني مع التلوين المزدوج ظهر هيكله متلّوناً باللون الأحمر(العظم) مع مناطق ضيقة ذات لون أزرق شاحب (الغضروف) وبدا العضد طويلا وأَكثر سمكا فاصبح طوله وسمكه **(0.58± 13** ، **0.29± 3**) مليمتراً على التوالي أَما التعظم فيه فبلغ **(0.58± 10)** مليمتراً .

بينت نتائج الدراسة النسجية أَن الغضروف الجنيني حصر على جانبي العظم على شكل كتلة ذات خلايا نشطة الإنقسام والنمو (الشكل 4-17-A) ، فهي مسؤولة عن نمو العظم و إستطالته والذي يظهر في الشكل (4-17-B) ، بشكل صفائح عظمية تتخللها فجوات هي فجوات النقي الأَولي ، أَما الشكل (4-17-C) ، فتظهر الأَلياف العضلية الجنينية قد أَصبحت تحمل صفات العضلات الهيكلية كاملة النمو ذات شكل إسطواني غير متفرعة وأنوية متعددة جانبية الموقع وتظهر بعض تخطيطات عضلية شاحبة اللون ، أَما الشكل (4-17-D) ، فتظهر ريشة داخل التجويف الجريبي يحيط بها جدارَ الجريبة الذي ترتبط به أَلياف عضلية ملساء ، و يظهر اللُبّ وقد إنحسر إلى كتلة كروية هي القبعة اللُبّية Pulp cap .

أظهرت نتائج ملونة ماسون ثلاثي الكروم أَن كلا من الغضروف ومناطق التعظم مستمرة بالنمو والإمتداد فيظهر الغضروف بلون أَخضر فاتح تتخلله منطقة التعظم التي إمتلأت بأَوعية دموية وخلايا بانية للعظم تملا فجوات النقي الأَولي (الشكل 4-18-A) ، وظهرت الأَلياف العضلية الهيكلية حمراء اللون واضحة التخطيط إسطوانية الشكل وغير متفرعة وذات خلايا جانبية منتظمة الترتيب وقد أصبحت متباعدة بسبب زيادة كبيرة في طول الليف العضلي (الشكل 4-18-B) ، و في الشكل (4-18-C) ، يبدو ريش الجناح الكبير ذا شكل دورقي ممتداً بعيداً في الأَدمة بحيث يلامس الهيكل الطرفي ويتكون من اللُبّ وساق الريشة وتترتب الأَسلات في الأَعلى على شكل خيوط تصطف مع بعضها بترتيب منتظم ، أَما الجلد فقد أكمل نموه وتمايزه إذ ظهرت الطبقة المتقرنة للُبّشرة واضحة ، (الشكل 4-18-D) ، وقد إزداد سمك كل من الُبّشرة والأَدمة وقد

تميزت الُبّشرة إلى طبقة مولدة وطبقة سطحية متقرنة تظهر بشكل خيوط قشرية تنسلخ من فوق الُبّشرة و تتوسط هاتين الطبقتين طبقة رقيقة من خلايا إنتقالية هي الطبقة المتوسطة ، أَما الأَدمة فظهرت على شكل نسيج ضام ليفي متكونة من الأَلياف الغراوية و تلّونت باللون الأَخضر وبينها تقع خلايا مولدة للأَلياف و الأَوعية الدموية .

5- المناقشـــة Discussion

5-1 التركيب النسجي للبرعم الطرفي في اليوم الثامن من عمر جنين الدجاج

أجريت الدراسة الحالية لتتبع المراحل الجنينية لنمو البرعم الطرفي وتطوره باختيار أَجنة الدجاج وذلك لسهولة الحصول على الأَجنة من المفاقس المنتشرة في أَماكن عديدة في محافظة النجف وان عملية اخراج الجنين سهلة ولا تسبب أي ضرر للام مما يقلل عدد العينات التي يتم خسارتها جراء الدراسة الْبَحثية ، وأَوضح Logan *et al.* (2002) ، أن كثيراً من الْبّحوث التقليدية التي أجريت لتتبع تطور اطراف الفقريات ونموا كانت تتضمن جنين الدجاج بسبب سهولة الدخول والمتابعة المستمرة لتطور الجناح أَو الساق وان معظم المراحل المبكرة لنمو البراعم الطرفية عند الدجاج مشابهة لما عند الفئران .

تم إختيار اليوم الثامن من عمر الجنين بسبب اكتساب أَنسجته الميزنكيمية الرقيقة بعض القوة والمتانة وإمتداده للخارج ونمو بعض عناصر الهيكل الْبّدائي بشكل أَولي وبشكل يمكن قياسه واخضاعه للعمليات الروتينية لتكوين المقاطع النسجية والطرق التلوينية المختلفة بالإعتماد على كثير من الدراسات إذ أكدت الدراسات أن البرعم الطرفي يعاني من زيادة في الطول أَكثر من بقية الأيام التي سبقته من عمر الجنين مع نمو وتطور واضحين في أنسجته الجنينية التي كانت مكونة فقط من خلايا جنينية متشابهة تعاني إنقسامات متتالية ونمو وإنتشار واسعين . (Olea and Sandoval, 2012 ; Ruth, and Mark, 2005 Todt and Fallon, 1984)

أَوضحت الدراسة الحالية أَن البرعم الطرفي في هذه المرحلة العمرية يكون على شكل برعم طويل ممتد للخارج عارٍ من الريش ذي هيكل بدائي غضروفي تظهر عناصره بشكل متتابع هي العضد أَولاً ومن ثم الزند والكعبرة وأخيراً المشط ويبرز الإصبع الثاني كإمتداد لحمي خالٍ من السلاميات وأشار إلى ذلك الْبّاحثان Ruth and Mark (2005) أَول ما يتكون من عناصر الهيكل الجنيني في برعم الطرف الأَمامي لجنين الدجاج هو العضد Humerus في اليوم الخامس من عمر الجنين ومن ثم الكعبرة Radius و الزند Ulna بعمر ستة أيام مع تزامنهما في وقت النشوء وتماثلهما في النمو ، يظهر الرسغ Carpal والمشط Metacarpal بين اليومين السادس والثامن من عمر الجنين .

بيّنت الدراسة الإحصائية أَن طول البرعم الطرفي يبلغ (ثمانية) مليمتراً وسمكه ثلاثة مليمتراً وهذا ما أكده الُبّاحثان Carter and Beaupre (2001) بأن البرعم الطرفي في عمر ثلاثة أيام يبلغ طوله وعرضه مليمتراً واحداً بينما في عمر ستة أيام يقفز طوله إلى (ستة) مليمتراً وسمكه يبقى مليمتراً واحداً ولكنه يزداد مليمترين فقط طولا وسمكا في عمر ثمانية أيام .

تتفق الدراسة الحالية مع ما وصفه كثير من الُبّاحثين في أن العضلات تنشأ من خلايا ميزنكيمية مهاجرة من الُبّدينات إلى البرعم الطرفي وهناك تتجمع حول الهيكل الُبّدائي وتبدأ بالتكاثر والتمايز إلى خلايا مولدة للعضلات إن هذه الهجرة تبدأ مباشرة بعد بداية نشوء البرعم الطرفي وتكون محصورة بحركة الأَمامي الخلفي ، ولوحظ أَثناء مراحل الهجرة ودخول الخلايا المولدة للعضلات Myogenic cells البرعم الطرفي يتم إقصاؤها من مناطق معينة وهي منطقة التقدم Progress zone ولُبّ البرعم حيث مواقع تمايز هيكل الطرف .

(Tajbakhsh and Bukingham, 2000 ; Christ and Ordahl, 1995; Christ *et al.*, 1983)

تناولت كثير من الدراسات التركيب النسجي للُبّشرة و الأَدمة في البرعم الطرفي لجنين الدجاج في هذا العمر (Kitamura *et al.*, 1990 ; Dhouailly, 1977) ،وجاء موافقاً لما بينته الدراسة الحالية إذ ظهر الجلد في هذا العمر مكوناً من بشرة مكونة من طبقتين، طبقة داخلية تمثل الطبقة القاعدية تعلوها طبقة رقيقة غامقة اللون هي الُبّشرة المحيطية وهي طبقة جنينية تختفي في الجلد الُبّالغ أَما الأَدمة فظهرت على شكل نسيج ميزنكيمي تنتشر فيه الخلايا الميزنكيمية والتي تكون نجمية الشكل ، و أَلياف ميزنكيمية قليلة مع وجود أَوعية دموية متفرقة وتظهر البراعم الريشية مكورة الشكل مدفوعة إلى الخارج بفعل نمو كثيف للأدمة .

2-5 التركيب النسجي للبرعم الطرفي في اليوم العاشر من عمر جنين الدجاج

بينت نتائج الدراسة الحالية أَن كلاً من البرعم الطرفي وعضده إزداد طولها وقد اتفقت الدراسة الحالية مع كثير من الدراسات التي تشير إلى تجلي ظاهرتين على مستوى التطور النسجي في هذا العمر الجنيني ناتجة عن الإنقسامات السريعة والتمايز في خلايا عناصر الهيكل الْبّدائي للبرعم الطرفي نتج عنه ظهور التعظم داخل العناصر الغضروفية عند منتصف العمد الْبّدائي والظاهرة الثانية هي تشكل سلاميات الإصابع الغضروفية . Tabin and Suzuki, 2013; Sawad *et al.*, 2009 ; McMahon, 2008)) وقد وصف الْبّاحث Alder (2000) التعظم بدقة وذكر ان العظم في بداية تكوينه يكون نسيجاً غير ناضج ، غير منتظم يتألَّف من أَلياف غراوية ، كذلك يحتوي على خلايا عظمية ، وإن هذا النسيجُ يعدُّ عظماً مؤقتاً Temporary bone وأَثناء التطور والنمو الجنيني يتحول هذا النسيج إلى صفائح عظمية Lamellar bone ، وأضاف Sawad *et al.* (2009) أن التعظم أَو التكلس الذي يحصل في عظام أَجنة الطيور لاسيما عظام الأطراف هو من نوع التعظم داخل الغضروفي Intrachondral calcification ، والذي يبدأ من مركز العظام ويمتد باتجاه النهايات القاصية والدانية لعظام الأطراف ، والتي تبقى هذه المناطق الغضروفية تفصل ما بين عمد العظم وكردوسه (أطراف العظام) والذي يطلق عليه متحول العظم Metaphysis أَما نهايات العظام فتغطى بغضروف زجاجي تمفصلي Articular cartilage ، وأشار الْبّاحث Schepelmann ، (1990) أن هيكل أَجنة الطيور ناجم من تكوين الغضروف الذي يتعظم بالتعاقب خلال تقدم الجنين بالعمر أَثناء المراحل التطورية ، وفي هذه الحالة يطلق على هذا النوع من العظام بالعظام الغضروفية Cartilage bones ، وعلى النقيض فإنَّ العظام المسطحة الغشائية تستمد تعظمها مباشرة من أَنسجة الأديم المتوسط وقد جاء وصف الْبّاحثين أعلاه متفقاً مع ما توصلت إليه الدراسة الحالية.

بيّن Lanske *et al.* (1996) أَن التعظم يبدأ في اليوم السابع من عمر الجنين بينما أشار الْبّاحث Saunder (1998) بأن عظام الأطراف الأَمامية تظهر فيها مراكز التعظم بعمر عشرة أيام في أَجنة الدجاج ، وعند الفئران يكون بعد ذلك بيومين ، في حين أظهرت الدراسة الحالية وجود التعظم في الهيكل الطرفي بعمر عشرة أيام وإنعدامه في المرحلة العمرية السابقة (ثمانية أيام) إذ بلغ مقدار التعظم في العضد 2 مليمتراً وهو مقدار كبير نسبياً إذا ما اعتبرنا أَن يوم العاشر هو اليوم الأَول الذي يبتدأ فيه التعظم وهذا يعني أن التعظم ربما بدا قبل اليوم العاشر أي في اليوم التاسع من عمر الجنين ، وهذا يدل أن هناك اختلاف بين موعد التعظم في هيكل الطرف الجنيني عند أَجنة الدجاج

وقد يعزى ذلك إلى أسباب قد تكون الظروف الْبّيئية المحيطة أَو طريقة الحضانة أَو العرق وربما التغاير الفردي الذي يكون واضحاً ومميزاً أَثناء النمو الجنيني .

ظهر واضحاً في الفحص النسجي للبّراعم الريشية وقد وصفها الْبّاحث Chuong *et al.* (1996) أنها تراكيب مؤقتة سرعان ما تتحول إلى بروزات ممتدة من الجلد وتعد بداية الريشة الجنينية و تستمر بالنمو والإرتفاع لتكوّن الجريبات الريشية والتي بين الْبّاحث Wang *et al.* (1999) أنها تتخذ نمواً يسمى النمو الأَمامي – الخلفي جاعلةً البرعم يتجه نحو الخلف وأيضاً هناك النمو بمحور الأَدنى – الأقصى الذي يزيده طولاً ، وممكن ملاحظة حيد الأسلة المتكونة في البراعم التي إنغمدت إلى داخل الأَدمة لتكوين الجريبات الريشية وهذا ما أكده كثير من الْبّاحثين إذ أَوضحوا أن هاتين الظاهرتين يتزامن حدوثهما في هذه المرحلة من النمو الجنيني للجلد (Harris *et al.*, 2002 ; Dhouilly, 1975). ووصف Sengel (1976) الخلايا الْبّشروية للْبّراعم الريشية في عمر عشرة أيام التي يحصل فيها تكاثرسريع يؤدي إلى زيادة في سمك الْبّشرة ولكنها تعاني من تشقق فتكون حيود الأَسلات .

3-5 التركيب النسجي للبرعم الطرفي في اليوم الثاني عشر من عمر جنين الدجاج

بينت نتائج الدراسة الحالية أن هناك طفرة في محور النمو الأَدنى –الأقصى المسؤول عن الزيادة بطول الهيكل الطرفي مقارنة بمحور النمو الظهري-الْبّطني الذي يعمل على زيادة في سمك الطرف الجنيني نتيجة لنمو العضلات إذ إن الزيادة في الطول عن المرحلة السابقة بلغت 8 مليمتراً وهذا يعني أَن عناصر الهيكل الطرفي تعاني من نمو سريع يسبق نمو العضلات بكثير فيؤدي ذلك إلى إمتداد الطرف الجنيني إلى الخارج وزيادة طوله وقد فسر الْبّاحثان Ruth and Mark (2005) ذلك وذكرا أَن التعظم يبدا بين اليومين الثامن والثاني عشر وبعد حصوله ينمو الهيكل الْبّدائي بشكل سريع نتيجة الإنقسام الخلوي لنسيجي الغضروف والعظم وحصول زيادة واضحة في طول مراكز التعظم الإبتدائية في كُلٍّ من الأطراف العليا والأطراف السفلى تزامناً مع مراحل التطور الجنيني ، وأكد Badugu *et al.* (2012) ، ان أَول علامات التعظم هو غزو الأَوعية الدموية لغلاف الغضروف واندفاعها إلى الداخل ومن ثم تكاثر الخلايا الْبّانية للعظم وتبدأ بتكوين العظم في مركز العمد الغضروفي بشكل حلقة ، ويتحول غلاف الغضروف في هذه المنطقة إلى السمحاق العظمي الخارجي Periosteum ، وقد توافق هذا مع نتائج الدراسة الحالية .

أَوضحت الدراسات أَن الخلايا الميزنكيمية بعد هجرتها من الُبّدينات تشغل المناطق حول المحور الطرفي لتتحول إلى خلايا مولدة للعضلات التي تعاني عدة إنقسامات لتزداد بالعدد فتلتصق وتلتحم لتكون أَنابيب عضلية Myotubes متعددة النوى تتمايز إلى الأَلياف الإبتدائية ذات أنوية مركزية الموقع ، والتي يمكن أَن تظهر في (11-12) يوماً في أَجنة الدجاج بينما تظهر بعد ذلك عند الفئران في (14-16) يوماً من عمر الجنين ، تكون الأَلياف الإبتدائية في بداية تخلُّقها ذات كتلة صغيرة ومجاورة لعناصر الهيكل الطرفي الإفتراضية ،

(Duxon and Sheard, 1995 ; Swartz et al., 1994; Kenneth and Alan, 1977 ; Smith, 1963) ، وقد اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ما ذُكِر في هذا الخصوص.

بينت نتائج الدراسة الحالية أن بشرة وأدمة جلد الجنين في هذا العمر قد إزداد سمكها وكثافة مكوناتها وقد اتفقت هذه النتائج مع كثير من الدراسات التي تشير إلى أَن الإنقسامات السريعة في خلايا الُبّشرة و الأَدمة نتج عنها انغماد بشرة البرعم الريشي داخل الأَدمة عند قاعدة اتصاله مع الُبّشرة لتكوين الجريبة الريشية و تشكل حيود الأَسلات نتيجة تمايز خلايا الطبقة القاعدية للُبّشرة، لذا يقل عدد البراعم الريشية والتي تكون بأَعداد كبيرة في العمر السابق مع زيادة في عدد البراعم التي دخلت مرحلة الجريبة الريشية والتي تتميز ببروزها خارج حدود الُبّشرة كتركيب إسطواني محاط ببشرة سميكة متفككة لتكوين الأَسلات والأَسيلات ويشغل مركزه اللُبّ المكون من مجاميع ميزنكيمية كثيفة وأَوعية دموية ومثل ما يمتد إلى الخارج ينغمد إلى الداخل عميقاً في الأَدمة. (Sawyer and Knapp, 2003; Harris *et al.* , 2002 ; Cheng-Ming *et al.* , 2000 ; Dhouailly, 1970)

4-5 التركيب النسجي للبرعم الطرفي في اليوم الرابع عشر من عمر جنين الدجاج

أَوضحت الدراسات أَن العظم له صفة تركيبية خاصة هي الترتيب الصفائحي فمادة القالُبّ المتكلسة تكون بشكل طبقات أَو صفائح Lamellae تترتب بطرق وأَشكال مختلفة ، وتحتوي المادة الُبّين خلوية على فراغات صغيرة تدعى فجوات Lacunae تحتوي على خلايا عظمية Bone cells (Alder, 2000 ; Schepelmann, 1990) والتي تنشأ من أَسلاف الخلايا العظمية Osteoprogenitor cells التي تشتق من خلايا ميزنكيمية ، وتكون هذه الخلايا ذات قدرة إنقسامية عالية وتوجد في الجزء الداخلي من سمحاق العظم الخارجي و تتمايز إلى الخلايا الُبّانية للعظم Osteoblasts التي تترافق مع تكوين العظم وتتواجد قريبة من سطوح الصفائح العظمية وما ان تحيط نفسها بالمادة الُبّينية للعظم تتحول إلى الخلايا العظمية .

(Carter and Beaupre , 2001 ; Amprino , 1984) وبين Lanske *et al.* (1996) ، أَن العظم في بداية تكوينه يُدعى العظم الُبّدائي Woven bone ويكون ذو أَلياف سميكة والصفائح العظمية غير متميزة في حين ذكر Badugu *et al.* (2012) أَن أَول علاَمات التعظم هو غزو الأَوعية الدموية لغلاف الغضروف واندفاعها إلى الداخل ومن ثم تكاثر الخلايا الُبّانية للعظم وتبدأ بتكوين العظم المؤلف من صفائح مسطحة تتلاقى وتفترق لتحجز بينها فراغات هي فراغات النقي الأَولي واكد Carter *et al.* (1998) ان العظم الُبّدائي عند الجنين يكون عبارة عن عظم إسفنجي Spongy bone (Cancellous) والّذي يتميز ببساطة تركيبه ويتأَلف من حواجز أَو صفائح مكوناً شبكة ذات فجوات محتوية على خلايا عظمية وتكون هذه الصفائح غير واضحة لأنَّ الأَلياف العظمية تكون شبكة غير منتظمة وهذه صفة مميزة للتكوين السريع للعظم ، فضلاً عن توافق نتائج الدراسة الحالية مع ما أشار إليهِ الُبّاحثون أعلاه، فقد أَوضحت أن الخلايا العظمية في هذه المرحلة العمرية تظهر على الصفائح العظمية الحديثة التكوين في فجوات صغيرة و بأَعداد قليلة ومتفرقة محاطة بمادة القالُبّ الكلسية وقد جاء ذلك متفقا مع Sawad *et al.* (2009) .

ذكر Huang and Christ (2003) أَن الأَلياف العضلية الجنينية تظهر بمراحل تمايزية مختلفة وتكون تلك القريبة من الهيكل الطرفي هي الأَكثر تمايزاً ونضجاً وإنها تزداد نمواً وتوسعاً تحت تاثير محور النمو الظهري – الُبّطني ، وأَوضح Smith (1963) ان الأَلياف الإبتدائية تتمايز إلى الأَلياف الثانوية التي تشغل المناطق السفلى منها والقريبة من هيكل الطرف النامي وتتميز بانها إسطوانية الشكل ذات أنوية جانبية ولكنها تكون فاقدة للتخطيط العضلي وقد جاء ذلك متفقاً مع ما

توصلت إليه الدراسة الحالية والتي بينت ان الأَلياف الثانوية في طرف جنين الدجاج بعمر أربعة عشر يوماً تكون انبوبية الشكل ذات أنوية عديدة تميل إلى أن تكون جانبية الموقع .

أَوضحت الدراسات أن الريشة الخيطية تزداد طولاً وتبرز للخارج وتتخذ البراعم شكلاً ًأُنبوبياً يحصل في اليوم الرابع عشر(Mingke *et al.* , 2004 ; Randall *et al.* , 1997) وحصول توالد متزايد لكل من الخلايا الْبّشروية و الأَدمية لنمو وتطوّر منابت الريش Pterylae(Roger and Loren, 2003) ، وأَوضح Mingke *et al*. (2004) أن الإنغماد في البراعم يستمر عميقاً داخل الأَدمة لتكوين الجريبة الريشية ، وفي هذه المرحلة تبدأ الْبّشرة عند قاعدة الجريبات في منطقة الأَدمة بالتكاثر والإنقسام السريعين دافعاً بذلك الخلايا القديمة في بشرة البرعم الريشي إلى الأَعلى إذ يستمر بالنمو والتمايز ليتحول إلى ريشة جنينية خيطية Embryonic feather filament والتي بين Dhouilly (1973) أنها تتكون في اليوم الرابع عشر وتتشكل من الأَسلات والأَسيلات يحيط بها غلاف هو غمد الريشية الجنينية في حين ذكر Sawyer and Knapp (2003) أَن ذلك يحصل في اليوم الثالث عشر من عمر الجنين وأكد Carolyn *et al.* (2003) أن الْبّشرة في هذه المرحلة تكون قد بدأت بالدخول في مرحلة التمايز النهائي ، واتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ما أشار إليهِ الْبّاحثون أعلاه، أَوضحت أيضاً أن خلايا الطبقة القاعدية في الْبّشرة الموجودة في المناطق بين الجريبات الريشية تعاني إنقسامات سريعة مكونة طبقة جديدة هي الطبقة المتوسطة Intermediate layer وقد جاء ذلك متفقاً مع Hodges (1974) و Gary *et al.* (1977).

5-5 التركيب النسجي للبرعم الطرفي في اليوم السادس عشر من عمر جنين الدجاج

أَوضحت نتائج الدراسة الحالية زيادة في طول وسمك كل من الطرف الجنيني وعضده وأيضاً هناك زيادة في مناطق التعظم وذلك نتيجة استمرار التكاثر السريع لكل من الغضروف الجنيني والعظم الْبّدائي وقد بين كثير من الْبّاحثين أَن الخلايا في الغضروف الجنيني تتكاثر وتزداد حجماً وتتضخم ومن ثم تنتفخ تحت تأثير الإشارة الجزيئية Indian Hedgehog (IHH) التي تعمل على تحفيز الخلايا الغضروفية على التكاثر والتمايز ومن ثم التضخم ، ويستمر الغضروف الجنيني بالنمو فيزداد بالطول عن طريق النمو الْبّيني Interstitial growth بينما تكون الزيادة في السمك ناتجة عن النمو التراكمي Appositinoal growth وعندما يحين وقت التعظم تزداد بالانتفاخ ومن ثم تبدأ بالانحلال والموت عن طريق الموت الخلوي المبرمج Apoptosis وتستبدل بالخلايا الْبّانية للعظم الغازية التي تكتسح المواقع المركزية لعناصر الهيكل الغضروفي وبالتدريج تتراجع مناطق الغضروف الجنيني وتقتصر على نهايات العظام والتي تدعى بالمنطقة الغضروفية الاحتياطية إذ تبقى مستمرة بعملية الإنقسام لكنها تختزل في الطول نتيجة تقدم تعظم عمد العظم (Wuelling and Vortkamb, 2010 ; Hilton *et al.*, 2005 ; Goldberg and Nathan , 1987) ، علاوة على ذلك فان معظم الزيادة في سمك الطرف الجنيني تعزى إلى نمو وتمايز الأَلياف العضلية فقد أَوضح Swartz *et al.* (1994) أن آلية نمو العضلات تنفصل إلى طورين ، طور فرط التكوين Hyperplasia وطور التضخم Hypertrophy ، يحصل طور فرط التكوين أَثناء النمو الجنيني ففي هذا الطور الخلايا الميزنكيمية تهاجر وتتكاثر ومن ثم تتطور إلى خلايا مولدة للعضلات والتي تتمايز إلى أَلياف ابتدائية وأَلياف ثانوية وتتكاثر الأخيرة وتنمو ثم تزداد بالحجم لتتحول إلى ليف عضلي تام النمو، أَما طور التضخم فيحصل بعد الفقس والذي يؤدي إلى زيادة الكتلة الْبّروتوبلازمية لليف العضلي .

أَوضحت نتائج الدراسة الحالية ان الْبّشرة أصبحت ذات طبقات متعددة والأَدمة إمتلأت بالأَلياف وظهور النسيج الدهني أَسفل منها ويتّفَق مع Sengel (1976) إذ أَوضح أن الْبّشرة والأَدمة تعاني زيادة في سمكهما كلما تقدم الجنين بالعمر حيث تزداد كثافة الأَلياف الغراوية والخلايا المولدة للأَلياف والخلايا الدهنية وغزارة بالأَوعية الدموية ، إن ظهور النسيج الدهني تحت طبقة الأَدمة يدل على أَنَّ الجنين في هذه المرحلة بدأ بخزن الدهون كمصدر للطاقة يستفاد منه بعد الفقس للحركة والقيام بفعالياته الحيوية ، وهذا ما أكده Hodges (1974) .

وقد بين كثير من الْبّاحثين أن الجريبات الريشية تظهر بشكل تراكيب إسطوانية محاطة بطبقة بشروية هي جدار الجريبة ، ويحتل مركز الجريبات لُبّ غني بالأَلياف والخلايا المولدة للأَلياف

والأَوعية الدموية .

(Sawyer and Knapp,2003 ; Harris *et al.* , 2002 ; Wessels, 1965)

ويأتي ذلك دعماً لما ظهر في الصور النسجية في نتائج الدراسة الحالية علاوة على ذلك أن اللُبّ ينحسر إلى كتلة من الخلايا عند قاعدة الجريبة الريشية وبذلك يكون الجزء الطرفي من لُبّ الريشة فارغاً على شكل قصبة يسمى سويق الريشة Calamus واتفقت النتائج مع Mingke *et al.* (2004) و Chuong *et al*. (2006) .

6-5 التركيب النسجي للبرعم الطرفي في اليوم الثامن عشر من عمر جنين الدجاج

أظهرت النتائج في هذا العمر أن البرعم الطرفي قد أنهى مراحل التمايز والتطور و أكمل نموه وتعظمه مقابل موت وانحسار في الكتلة الغضروفية الجنينية ، وقد اكد Sawad *et al.* (2009) ، أنه عند فقس جنين الدجاج كانت العظام تحت التعظم التام وكان هناك إختلاف في نوع هذا التعظم إذ إن بعض عظام الجمجمة قد تكونت بواسطة التعظم داخل الغشاء Intramembranous ossification بينما كان نوع التعظم الذي حدث في الأطراف هو تعظم داخل الغضروف Intrachondral ossification ، وكان مركز غضاريف عظام الرسغ وسلاميات الإصابع للجناح والقدم تحت طور التعظم ، فضلاً عن حصول زيادة واضحة في طول مراكز غضاريف عظام الرسغ وسلاميات كل من الجناح والقدم قبل عملية الفقس ، مع زيادة واضحة أيضاً في طول مراكز التعظم الإبتدائية في كل الأطراف العليا والسفلى تزامناً مع مراحل التطور الجنيني الإضافية ، وأضاف هذا الُبّاحث أَن التعظم في عظام الأطراف يبدأ من مركز العظام ويمتد باتجاه النهايات القاصية والدانية لعظام الأطراف ، والتي تبقى هذه المناطق الغضروفية تفصل ما بين عمد العظم Diaphysis وكردوسه (أَطراف العظام) Epiphysis ، والذي يطلق عليه متحول العظم Metaphysis ، أَما نهايات العظام فتغطى بغضروف زجاجي تمفصلي Articular cartilage ، وقد وصف كثير من الُبّاحثين التعظم في جنين الدجاج بانه يبدا بعد غزو الأَوعية الدموية لغلاف الغضروف وهو يتولى القيام بوظيفة تكوين العظم حيث تتحول الخلايا المجاورة له إلى خلايا بانية للعظم مما يؤدي إلى انتفاخ الخلايا الغضروفية وإندثارها بالتدريج بعملية روتينية تحصل بشكل متكرر في خلايا أَنسجة الجنين النامية وهي عملية الموت المبرمج وهذا يؤدي إلى إنحسار الغضروف وتراجعه مقابل إمتداد سريع للصفائح العظمية الُبّدائية التي يزداد نموها وتشابكها مع بعضها بتقدم الجنين بالعمر حاجزة بينها فراغات هي فجوات النقي الأَولي تتخلله أَوعية دموية ومجاميع من خلايا بانية للعظم . Janina *et al.* , 2003; Jenning , 1999; (Shapiro , 1992)

أَوضح Gilpert (2003) ، أَن آلية موت الخلايا المبرمج في الجنين غير مفهومة بشكل كامل ولكن الأبحاث العلمية وضحت أَن الموت المبرمج يشمل تنشيط مستقبلات سطح الخلايا فتجبر هذه الخلايا على تنشيط منظم لانزيمي الُبّروتيز Proteases و النيوكليز Nucleases التي تعمل على تحطيم بروتينات الخلية وأحماضها النووية وتدريجياً تلتهمها خلايا أُخرى .

وذكرPaulsen (1994) أنّ الموت المبرمج يحدث في البرعم الطرفي وأصابع القدم عند جنين الدجاج بشكل ظاهر ومميز ، ويكون محصوراً في منطقتين هما منطقة النخر الأَمامية Anterior necrotic zone ومنطقة النخر الخلفية Posterior necrotic zone ، هاتان المنطقتان ليس لهما دوراً في تحديد شكل الطرف فحسب وإنَّما هما أيضاً مراكز التخلُّق الذي يوزع ويتفاعل مع باقي الأَنسجة ويلعبان دوراً أساسياً في تنميط الطرف ، وقد بينت نتائج الدراسة الحالية حصول الموت المبرمج بشكل واضح عند نمو البرعم الطرفي لاسيما عند حصول عملية التعظم وأيضاً عند نمو الإصابع .

لقد وصف تطور العضلات الهيكلية و تمايزها في المراحل المتأخرة لعمر جنين الدجاج من بعض الُبّاحثين وبينوا أنها تنشأ من خلايا مهاجرة تتموقع وتتكاثر حول عناصر هيكل الطرف الإفتراضية تحت تأثير عامل النمو FGF2 وتنتقل من تمايز لآخر فتبتدأ بخلايا مولدة للعضلات إلى أَنابيب عضلية متعددة النوى ومن ثم إلى أَلياف عضلية إبتدائية وثانوية وبعد تكوّن الأَلياف الثانوية تبدأ الخطوط بالظهور وعندها يكتمل نمو الليف العضلي وينضج وهذا يحدث في المراحل المتأخرة من عُمرِ الجنين ، قبل الفقس بقليل . (Liu *et al.* , 2003, 2002 ; Swartz *et al.* , 1994 ; Smith, 1963) ، وقد بينت نتائج هذه الدراسة ظهور التخطيط في العضلات الهيكلية للطرف الجنيني باليوم الثامن عشر من عمر الجنين ولم يظهر ذلك في الأيام السابقة .

أَظهرت النتائج في هذا العمر أن الجلد مكون من طبقات عديدة وأَصبح مشابهاً للجلد الُبّالغ وقد بين Verna *et al.* (1989) أن الُبّشرة تظهر فيها الطبقة المتقرنة ووصف Carolyn *et al.* (2003) بشرة هذا العمر بدقة وبيّن أن الُبّشرة تتثخن وتتقرن وتعاني الُبّشرة المحيطية من الإضمحلال ومن ثم الإنسلاخ مع الطبقة المتقرنة التي تتكون من صفوف من خلايا مسطحة ومتقرنة تميل الخارجية منها للإنفصال من السطح والتقشر Flakes منتجة قشوراً جافة تظهر على الجلد، ووضح Bruce *et al.* (2008) تركيب جلد أَجنة الطيور قبل الفقس وبيّن أَنه مشابه للمجاميع العليا من الفقريات ولكنه أَقل سمكاً وهو فاقد للغدد العرقية والدهنية عدا غدة دهنية في قاعدة الذيل تدعى الغدة الزمكية Preening gland تستخدم لتزييت الريش ، ويأتي ذلك دعماً لما ظهر في الصور النسجية في نتائج الدراسة الحالية إذ عند فحص الشرائح المجهرية لنسيج الجلد الجنيني لم تظهر أَي نوع من أَنواع الغدد الجلدية ولكل مراحل نمو الجنين التي تم دراستها.

أَوضح الُبّاحث Hodges (1974) تركيب الأَدمة في هذه المرحلة العمرية، أن الجريبات الريشية ترتبط بطريقة محكمة إذ تكون على شكل شبكة من العضلات الملساء تقوم بربط الجريبات الريشية المتجاورة .

بينت النتائج ظهور القبعة اللُبّية ، وقد وصف ذلك الُبّاحث Mingke *et al.* (2004) مبيناً أن الحليمة الأَدمية تتكون من التكثف الأَدمي والتي تكون اللُبّ في مراحل نمو الريشة المبكرة وعند اكتمال نموها يبدأ اللُبّ بالإمتصاص ليترك كتلة كروية هي القبعة اللُبّية التي تقع في نهاية الريشة وهذا ما أكدته نتائج الدراسة الحالية.

الأستنتاجات Conclusion

1- يتكون البرعم الطرفي في جنين الدجاج بعمر ثمانية ايام من هيكل غضروفي يتكون من العضد والزند والكعبرة وأربعة قطع رسغية ما زالت غير متمايزة .

2- يظهر التعظم واضحاً بعمر عشرة أيام بإستعمال طريقة التلوين المزدوج ويكون هذا التعظم من النوع الداخل الغضروفي .

3- يزداد البرعم الطرفي و عضده طولاً وسمكاً كلما تقدم الجنين بالعمر ولكن تحصل الزيادة بالطول بمعدلات متفاوتة بين المراحل العمرية المختلفة أَما السمك فتكون الزيادة ثابتة كلما تقدم الجنين بالعمر.

4- تتكون العضلات الهيكلية في طرف جنين الدجاج من خلايا ميزنكيمية تتحول إلى خلايا مولدة للعضلات تلتحم مع بعضها مكوّنة الأَنابيب العضلية التي تتمايز إلى أَلياف عضلية إبتدائية وثانوية وتتطور الأخيرة إلى عضلات هيكلية ناضجة وتامة النمو عندما تظهر فيها الخطوط .

5- يتكوّن جلد الطرف الجنيني من بشرة وأدمة ، اَثناء النمو تتطور كل منها وتزداد سمكاً وتغزوهما البراعم الريشية التي تتحول إلى جريبات ريشية ومن ثم إلى ريش جنيني .

6- يظهر ريش بالغ هو ريش الجناح الكبير في الجهة الطرفية من البرعم الطرفي قبل الفقس و بعمر ثمانية عشر يوماً من عمر الجنين .

التوصيات Recommendation

1- إستعمال مزارع نسجية خاصة يتم فيها تتبع نمو البرعم الطرفي وتطوره من بداية تكوينه حتى تمايز جميع خلاياه الميزنكيمية المتشابهة .

2- إجراء الدراسة الحالية على مستوى المجهر الألكتروني لتتبع التطورات الجنينية بصوره دقيقة .

3- فتح المجال بشكل واسع لإجراء بحوث مختلفة على أَجنة الطيور وإنشاء مختبرات متطورة يتم فيها عمل دراسات نسجية وفسلجية وكيموحيوية تخص علم الأَجنة .

4- الاهتمام بشكل أَكبر بعلم الأَجنة التجريبي ومحاولة إنتاج مخلوقات الكايميرا وهي ناتجة عن دمج الأَجنة بخلط خلايا أَكثر من جنين واحد في أطوار مبكرة من النمو الجنيني.

References المصادر

Al-hajj, H.(1998). Light microscopic techniques, theory and practice. 1st.Ed.Jordan book center, Amman- Jordan.

Alder, C.(2000). Bone and bone tissue . Normal anatomy and histology in bone disease . Sp. Verlag. Berlin. Heidberg.NewYork. 1-30.

Allen, R. E., and D. E. Goll. (2003). Cellular and developmental biology of skeletal muscle as related to muscle growth. in Biology of Growth of Domestic Animals. Colin Scanes, ed. Iowa State Press, Ames. 148–169.

Amprino, R. (1984). The development of the vertebrate limb. Clin Orthop; *188*:263–284.

Ashmore, CR., and Doerr L.(1971). Postnatal development of fiber types in normal and dystrophic skeletal muscle of the chick. Neurol. 431–446.

Barna, M., Pandolfi; P. P. and Niswander, L. (2005). Gli3 and Plzf cooperate in proximal limb patterning at early stages of limb development. Nature *436*, 277-281.

Barnard, E.A., ; Lyles M.J. and, Pizzey J.A. (1982). Fiber types in cnicken skeletal muscles and their changes in muscular dystrophy. J.physiol, *331*. 333-345.

Badugu, A.; Kraemer, C.; Germann, P.; Menshykau, D. and Iber, D. (2012). Digit patterning during limb development as a result of the BMP--receptor interaction. Scientific reports *2*, 991.

Bennett, M. R.; Davey, D. F. & Uebel, K. E. (1980). The growth of segmental nerves from the brachial myotomes into the proximal muscles of the chick forelimb during development. J. comp. Neurol. *189*, 335-357.

Bladt, F.; Riethmacher D.; Isenmann S.; Aguzzi A.; Birchmeier C. (1995). Essential role for the c-met receptor in the migration of myogenic precursor cells into the limb bud . Nature *376*: 768-771.

Bruce, H. ; Ashley, W. ; Babak, S. ; and AlDam . (2008). Avian skin and Feathers . Biosecurity Education Initiative . Univ. Guelph. Factsheet 5.3.

Carter, D. and Beaupre, G. (2001). Skeletal Function and Form: Mechanobiology of Skeletal Development, Aging, and Regeneration. Cambridge, UK: Cambridge University .

Carter, D. R., Beaupre, G. S., Giori, N.J., and Helms, J. A.(1998). Mechanobiology of skeletal regeneration. Clin Orthop *355*: S41–S55 .

Carolyn, B. ; Matthew, H. and Kerry N. (2003).covering the limb. Formation of the integument. J. Anat; *202*: 113 – 124.

Cheng-Ming, C. ; Rajas C. ; Randall, B. and Ting-Xin,J. (2000) . Evo – Devo of feathers and Scales : building complex epithelial appendages . curr. Opin.Genet. Dev. , *10* : 449-456 .

Chia, W. and Cheng , M. (1999). Avian Integument provides Multiple possibilities to analyse Different Phases of Skin Appendage Morphogenesis . J. Invest. Dermatol. Symp. Procee. *4* : 333-337 .

Christ, B. ;Christ M. and Jacob, H-J. (1983). On the origin of the

ventrolateral abdominal muscles in the avian embryo . Anat. Embryol ; *166*: 87-101.

Christ, B. and Ordahl, CP. (1995). Early stages of chick somite development. Anat. Embryol. *191*:381–396.

Chuong , C. ; Widelitz , R. ; Ting-Berreth , S. ; and Jiang, T. (1996). Early events during avian skin appendage regeneration : Dependence on epithelial mesenchymal interaction and order of molecular reappearance .J. Invest. Dermatol. *107*:639 – 646.

Chuong, C.; Plikus, M.; Jiang T. and Widelitz R.(2006). Engineering stem cells into organs: topobiological transformations demonstrated by beak, feather, and other ectodermal organ morphogenesis. Currtop Dev. Biol. *72*:237-274.

Cook , M. (2001) . Skeletal deformittes and their causes:Introduction . Poult . Sci. ; *79* : 982 -984 .

Dealy , C. N.; Roth, A.; Ferrari, D.; Brown, A. M. C. and Kosher, R. A. (1993). Wnt-5a and Wnt-7a are expressed in the developing chick limb bud in a manner suggesting roles in the pattern formation along the proximodistal and dorsoventral axis. Mech. Dev. *43*, 175-186.

Dhouailly, D. (1970) . The determination of specific differentiation of neoptile and teleoptile feathers in the chick and the duck . J. Embryol . EXP. Morphol. *24* : 73 – 94 .

Dhouailly, D. (1973) . Dermo – epidermal interactions between birds and mammals : differentiation of cutaneous appendages . J. Embryol . EXP. Morphol . *30* : 587 – 603 .

Dhouailly, D. (1975) . Formation of cutaneous appendages in dermal epidermal recombinations between reptiles , birds , and mammals . Wilhelm Roux. Arch. Dev. Biol. , *177* : 323 – 340 .

Dhouailly, D. (1977) . Dermo – epidermal interactions during morphogenesis of cutaneous appendages in amniotes . front . Matrix Biol . *4* : 86 – 121 .

Dhouailly, D; Olivera – Martinez, I. ; Fliniaux, I. ; Missier, S. ; Viallet, J. and Thelu, J. (2004) . skin field formation : Morphogenetic events . Int J. Biol , *48* : 85 – 91 .

Dietrich, S.; Abou-Rebyeh F.; Brohmann H.; Bladt F.; Sonnenberg-Riethmacher E.; Yamaai T, *et al.* (1999). The role of SF/HGF and c-Met in the development of skeletal muscle. Development. *126*:1621–1629.

Dockter ,J. and Ordahl,C . (2000) . Dorsoventral axis determination in the somites : a re–examination. Dev. *127* : 2201–6.

Dransfield, E., and A. A. Sosnicki. (1999). Relationship between muscle growth and poultry meat quality. Poult. Sci.*78*:743–746.

Drossopoulou, G.; Lewis, K.E.; Sanz-Ezquerro, J.J.; Nikbakht, N.; McMahon, A.P.; Hofmann, C. and Tickle, C.(2000). A model for anteroposterior patterning of the vertebrate limb based on sequential long- and short-range Shh signalling and Bmp signalling. Development *127*, 1337–1348.

Duxon, M. and Sheard, P.(1995). Formation of new myotubes occurs exclusively at the multiple innervation zones of an embryonic large muscle . Dev.DYN. ; *204*:391-405.

Edgar, P.; Stefan, S. and Michael, K. (1999). Ectodermal patterning in the avin embryo : epidermis versus neural plate. Dev., printed in Great Britain©the company of Biologists limited,*126*:63 –73.

Fallon, J.; Frederick , J.; Carrington , J. ; Lanser , M. and Simandl , B. (1983) . studies on a limbless mutant in the chicken embryo : In Fallon and Caplan , Ed.1. part 1 . Limb development and regeneration . 33-43 .

Gail, M. (2001). Making a vertebrate limb:new players enter form the wings . Bio Essays ; *23*: 865- 868 .

Galigher, A. and Kozloff, E., N. (1964). Essential practical micro-technique, Lea & Febiger. United states of America.

Garcia-Martinez , V. ; Alvarez , I. and Schoenwolf , G. (1993) . Locations of the ectodermal and nonectodermal subdivisions of the epiblast at stages 3 and 4 of avian gastrulation and neurulation. J. Exp. Zool . *267* : 431 – 446 .

Gary, L.; Peter, M. and Bruce W. (1977) .Effects of Retinoic acid on embryonic chick skin. J. Invest. Dermatol, *69* :463 – 476.

Gilbert, S. (2003) . Developmental Biology , 7th edetion . Sinauer Associates , Inc. , MA : 147 – 149 .

Goll, D. E.; Thompson, H.; Li, W. Wei, and J. Cong. (2003). The calpain system. Physiol. Rev. *83*:731–801.

Goldberg, I. and Nathan, H. (1987). Anatomy and pathology of the sesamoid bones.The hand compared to the foot. Int Orthop *11*:141–147 .

Godfrey, E. ; Siebenlist, R. ; Walkskog, P. ;Watters,L.;Bolender,D.and Yorde,D. (1988). Basal lamina Components are concentrated in Premuscles masses and at early acetylcholine receptor clusters in the chicken embryo hind limb muscles.Dev.Bio.;*130*:471-486.

Hamburger, V. & Hamilton, H. (1951). A series of normal stages in the development of the chick embryo. Morph. *88*: 49-92.

Hayashi, K. and Ozawa, E. (1991). Vital labelling of somite derived myogenic cells in the chicken limb bud.Wilhelm Roux's Arch Devi Biol; *200*: 188-192.

Harris , M. ; Fallon , J. and Prum ,R. (2002). Shh-Bmps signaling module and the evolutionary origin and diversification of feathers . J. EXP. Zool . *294* : 160 – 76 .

Henderson, J. and Carter, D. (2002). Mechanical Induction in Limb Morphogenesis: The Role of Growth-generated Strains and Pressures. Bone, *6* :645–653 .

Hilton, M.J.; Cook, J.; Hu, H. and Long, F. (2005) . Ihh controls cartilage development by antagonizing Gli3, but requires additional effectors to regulate osteoblast and vascular development. Development, *132*: 4339--4351.

Hodges.R.(1974).The Histology of the Fowl. Academic Press Inc. (London) Ltd 24 – 28 Oval Road, fifth edition .

Huang, R.; Zhi, Q. and Christ, B. (2003) .The relationship between limb muscle and endothelial cells migrating from a single somite. Anat. Embryol. *206*: 283 - 9 .

Isabel. O. ; Jacques, T. ; Marie-Amee, T. and Danielle, D. (2001) . Dorsal dermis development depends on a signal from The dorsal neural tube, Which can be substituted by Wnt-1 . Mech. Dev. *100* : 233 – 244 .

Jean – Denis , B. and Rolf ,Z. (2014) . Vertebrate limb Development : Moving from classical Morphogen Gradients to an integrated 4-Dimensional patterning system . http: //csh perspectives . cshlp.org/November 19 .

Jiang , T. ; Jung , H.; Widelitz , R.; and chuong C. (1999) . Self-organization of periodic patterns by dissociated feather mesenchymal cells and the regulation of size , number and spacing of Primordia . Dev . *126* : 4997 – 5009 .

Janina, Z.; Z. Violeta and R.Renata, (2003). The influence of azathioprine on the osteogenesis of the limbs. Medicina, *39*: 79-82 .

Jenning, A. , 1999. Ossification long answer includes procedure to Gayle callis, *4*:23-70.

Keyes, W.M. and Sanders E.J. (1999) Cell death in the endocardial cushions of the developing heart. J. Mol. Cell Cardiol. *10*:15-23.

Kitamura, K.; Sezaki, M. and Yanazawa, M. (1990) . Analysis of embryonic chick periderm by monoc lonal antibody specific against periderm . Dev. Growth & Differ. *32* : 157 – 163 .

Kunio, K. ; Keiko, T. ; Mariko, S. ,*et al* (1992) . Avian neural crest cells express amelanogenic trait during early migration from the neural tube : observations With the new monoc lonal anti body , "MEBL-1" . Dev. *114* : 367 – 378 .

Lanske, B.; Karaplis, A. C.; Lee,K.; Luz, A.;Vortkamp, A.; Pirro, A. ; Karperien, M.; Defize, L.H.; Ho,C.; Mulligan,R.C.,*et. al.(*1996). PTH/PTHrP receptor in early development and Indian hedgehog- regulated bone growth. Science *273*: 663--666**.**

Lance-Jones C. (1988). The somitic level of origin in embryonic chick hindlimb muscles. Dev Biol *126*: 394-407.

Le Douarin , N. and Kalcheim, C. (1999) . The Neural crest, 2nd . Cambridge university press , Cambridge .

Liu, X.; K. E. Nestor; D. C. McFarland and S. G. Velleman. (2002). Developmental expression of skeletal muscle heparan sulfate proteoglycans in turkeys with different growth rates. Poult. Sci. *81*:1621–1628**.**

Liu, X.; D. C. McFarland; K. E. Nestor and S. G. Velleman.(2003). Expression of fibroblast growth factor 2 and its receptor during skeletal muscle development from turkeys with different growth rates. Domest. Anim. Endocrinol. *25*:215–229.

Logan, M.; Martin, J. F.; Nagy, A.; Lobe, C.; Olson, E. N. and Tabin, C. J. (2002). Expression of Cre Recombinase in the developing mouse limb bud driven by a Prxl enhancer. Genesis *33*: 77-80.

Luna, L.G. (1968). Manual of histology staining methods of the armed forces institute of pathology 3th(ed):Mc. Grew.-Hill.32-153.

Marianne, B. (2008) . Avian Embrology .2nd Edition . Academic press is an imprint of Elsevier . Printed and bound in USA .

Mayerson, P.L. and Fallon, J.F. (1985) The spatial pattern and temporal sequence in which feather germs arise in theWhite Leghorn chick embryo. Dev. Biol.*109*: 259-67.

Mingke,Y. ;Zhicao,Y. ;Ping, W. ,*et.al.*(2004).The developmental biology of feather Follicles . Int. J. Dev. Biol. *48* : 181 – 191 .

Miura, T.; Y. Kishioka; J. Wakamatsu; A. Hattori; A. Hennebry ;C. J. Berry; M. Sharam; R. Kambadur and T. Nishimura.(2006). Decorin binds myostatin and modulates its activity to muscle cells. Biochem. Biophys. Res. Commun. *340*:675–680.

Newman, SA. ; Pautou M-P Kieny M. (1981). The distal boundary of myogenic primordia in chimeric avian limb buds and its relation to an accessible population of cartilage progenitor cells. Dev Biol ; *84*:440-448.

Nohno,T. ; Kawakami, Y. ; Ohuchi, H. ; Fujiwara, A. ; Yoshioka, H. and Noji, S. (1995) . Involvement of the Sonic hedgehog gene in chick feather formation . Bioch. Biophys. Res. Commun. ; *206*: 33-39 .

Olea, G. and Sandoval, M.(2012). Embryonic development of Columba livia (Aves:columbiformes) from an altricial-precocial perspective. Corrientes, Argentina. Rev Colomba Chenc Pecu *25*:3-13.

Parr, B. A.; Shea, M. J.; Vassileva, G. and McMahon, A. P. (1993). Mouse Wnt genes exhibit discrete domains of expression in the early embryonic CNS and limb buds. Development *119*: 247-261.

Pascoal, S.; Carvalho, C. R.; Rodriguez-Leon, J.; Delfini, M. C.; Duprez, D.; Thorsteinsdottir, S. and Palmeirim, I. (2007b). A molecular clock operates during chick autopod proximal-distal outgrowth. J. Mol. Biol. *368*:303 -309.

Paulsen, D.F. (1994) Retinoic acid in limb-bud outgrowth: review and hypothesis. Anat. Embryol. *190*: 399-415.

Pearse, R. V.; Scherz, P. J.; Campbell, J. K. and Tabin, C. J. (2007). A cellular lineage analysis of the chick limb bud. Dev. Biol. *310*:388 -400.

Pisenti , M. ; Delany ,R.; Taylor , J. , *et. al* (1999) . Avian Genetic resources for biological research . RePort No. 20 . University of califoornia Division of Agriculture and Natural Resources , Genetic Resources Conser Vation Program , Davis CA USA.120.

Provot, S. and Schipani, E. (2005). Molecular mechanisms of endochondral bone development. Biochemical and biophysica research communications *328*: 658--665.

Randall, B. ; Ting-Xin, J. ; Alexander, N., *et.al.* (1997) . Molecular Histology in skin Appendage Morphogenesis. Microscopy Research and Technique *48* : 452 – 465 .

Robert, E. and Matthias, J. (1998) . Embrynic Growth and Development . Oxford University Press , New York second edition.:1-20.

Roger, H. and Loren, W. (2003) . Avian Skin Development and the Evolutionary Origin of Feathers . J. Exp. Zool. (Mol Dev Evol) *298B* : 57 – 72 .

Ruth, B. and Mark, O. (2005) . The Atlas of chick Development. Elsevier Academic Press , California, second edition .105-109.

Sanders , E. ; Varedi , M. and French , A. (1993). Cell proliferation in the gastrulating chick embryo : A study using BrdU incorporation and PCNA localization . Dev. *118* : 389 – 99 .

Saunder, A. (1998). The proximo-distal sequence of the origin of the parts of chick wing and the role of ectoderm . J.Exp.;*108*:363-403 .

Sanders, E.J. and Parker, E. (2001) Ablation of axial structures activates apoptotic pathways in somite cells of the chick embryo. Anat. Embryol. *204*: 389-98.

Sato, K.; Koizumi, Y.; Takahashi, M.; Kuroiwa, A. and Tamura, K. (2007). Specification of cell fate along the proximal-distal axis in the developing chick limb bud. Development *134*:1397 -1406.

Sawad, A.;Balsam,A. and Anwar,N.(2009). Morphological study of the skeleton development in chick embryo (Gallus domesticus). International Journal of Poultry Science;*8*:710-714.

Sawyer, R. and Knapp, L.(2003).Avian skin development and the evolutionary origin of feathers.JExp Zoology. Part B Mol. Dev.vol.*298*:57-72.

Sawyer, R.; Salvatore, B. ; Potylicki, T. ,*et al* . (2003) . origin of feathers : Feather beta (B) Keratins are expressed in discrete epidermal cell populations of embryonic scutate scales . J. EXP. Zool. (Mol Dev Evol) *295B* : 12 – 24 .

Shapiro, E. (1992). Vertebral development of chick embryo during days 3-19 of incubation. J. Morph., *213*:317-333.

Schepelmann, K . (1990). Erythropoietic bone marrow in the pigeon : development of its distribution . Comparative Hematology Inter. ;9:193-197.

Schmidt, C.; Bladt F ;Goedecke S. ; Brinkmann V.; Zschiesche W.; Sharpe M, *et al.* (1995). Scatter factor/hepatocyte growth factor is essential for liver development. Nature. ; *373*:699–702.

Shellswell, G. and Wolpert, L. (1977). The pattern of muscle and tendon development in the chick wing. In: Ede, D.A., *et al.* (Eds.), Vertebrate Limb and Somite Morphogenesis, Cambridge University Press, Cambridge, 71–86.

Schramm, C. and Solursh M. (1990). The formation of premuscle masses during chick wing development. Anat Embryo. ; *182*: 235-247.

Sengel, P. (1976) . Morphogenesis of skin . In Developmental and Cell Biology Series, Cambridge University. Press, Cambridge .second edition.

Smith, J. H. (1963). Relation of body size to muscle cell size and number in the chicken. Poult. Sci. *42*:283–290.

Summerbell, D.; Lewis, J. H. and Wolpert, L. (1973). Positional information in chick limb morphogenesis. Nature *244*:492 -496.

Summerbell, D. (1977). Regulation of the deficiencies along the proximal distal axis of the chick wing-bud: a quantitative analysis. J. Embryol. Exp. Morphol. *41*:137 -159.

Suzuki, T. (2013). How is digit identity determined during limb development? Dev Growth Differ. ; *55* :130-8.

Swanson,G (1985). Paths taken by sensory nerve fibres in aneural chick wing buds. J. Embryol. exp. Morph. *86*:109-124 .

Swartz, D. R.; S.-S. Lim; T. Faseel and M. L. Greaser. (1994). Mechanisms of myofibril assembly. Reciprocal Meat Conf. Proc. *47*:141–153.

Tajbakhsh, S. and Buckingham, M. (2000). The birth of muscle progenitor cells in the mouse: spatiotemporal considerations. In: Ordahl CP, editor. Current Topics in Developmental Biology, Somitogenesis. London: Academic Press; 225–268.

Tanaka, S. ; Sugihara,Y. and Kato, Y. (1987) . Epigenesis in developing avian scales . I. stage-specific alterations of the developmental program caused by 5-bromodeoxyuridien . Dev. Biol. *121* : 467 – 477 .

Tabin, C. J. and McMahon, A. P. (2008). Developmental biology. Grasping limb patterning. Science *321*:350 -352.

Ting-Berreth, S. and Chuong, C. (1996) . Sonic hedgehog in feathers morphogenesis : Induction of mesenchymal consendation and association with cell death. Dev. Dyn. ; *207* : 157- 170 .

Tickle, C. (1996). Vertebrate limb development. Sem. Cell Dev. Biol. *7*: 137-143.

Tickle, C.; Summerbell, D. and Wolpert, L. (1975). Positional signalling and specification of digits in chick limb morphogenesis. Nature *254*:199 -202.

Tickle, C.(2004). The contribution of chicken embryology to the understanding of vertebrate limb development. Mechanisms of Development *121*: 1019–1029.

Thery C, Sharpe MJ, Batley SJ, Stern CD, Gherardi E.(1995). Expression of HGF/SF, HGA/MSP and c-met suggests new functions during early chick development. Developmental Genetics ; *17*: 90-101.

Todt, W. and Fallon, J. (1984) Development of the apical ectodermal ridge in the chick wing bud . J. Embryol. exp. Morph. *80*: 21-41 .

Towers, M.; Mahood, R.; Yin, Y. and Tickle, C. (2008). Integration of growth and specification in chick wing digit-patterning. Nature *452*:882 -886.

Towers, M. ; and Tickle,C.(2009) Growing models of vertebrate limb development. Development *136*: 179-190 .

Tsunekawa, N.; Naito, M.; Sakai, Y.; Nishida, T. and Noce, T. (2000) Isolation of chicken vasa homolog gene and tracing the origin of primordial germ cells. Development *127*:2741-50.

Verna, J.; Fichard, A. and Saxod, R. (1989) . Differentiation of pure chick embryo epidermis grown in primary serum-free culture . Biol. Struct. Morphol . *2(2)* : 60 – 6 .

Velleman, S. G.; J. W. Anderson; C. S. Coy and K. E. Nestor.(2003). Effect of selection for growth rate on muscle damage during turkey breast muscle development. Poult. Sci. *82*:1069–1074.

Wang, W. ; Widelitz, R. ; Jiang, T. and Chuong, C.M. (1999) . Msx-2 and the regulation of organ size : epidermal thickness and hair length . J. invest. Dermatol. Symp. Proc. *4*: 79 – 82 .

Wessells, N.(1965) .Morphology and proliferation during early feather development . Dev. Biol. *12*: 131 – 153 .

Whitaker, J. and Kathleen, M. D. (1979). Double staining technique for rat fetus skeleton in teratological studies. Lab. Anium. *13*: 309-310.

Wilson, D.J. and Orr-Ureterger, A. (1986). Aspects of vascular differentiation in the development chick wing . Acta Histochem. 32:151-7.

Wilson, B. W.; P. S. Nieberg, and R. J. Buhr. (1990). Turkey muscle growth and focal myopathy. Poult. Sci. *69*:1553–1562.

Wolpert, L.; Beddington R. Brockes J . ; Jessell T . ; Lawrence P . and Meyerowitz E . (1998) . Principles of Development Oxford press .NY.

Wuelling, M. and Vortkamp, A. (2010). Transcriptional networks controlling chondrocyte proliferation and differentiation during endochondral ossification. Pediatricnephrology *25*: 625--631.

Wuelling, M. and Vortkamp, A. (2011). Chondrocyte proliferation and differentiation. Endocrine development. Pediatric nephrology. *21*: 1-11.

Yander, G. and Searle, R.L. (1980) A scanning electron microscopic study of the development of the shoulder, visceral arches, and the region ventral to the cervical somites of the chick embryo. Am. J. Anat.*157*: 27-39.

Abstract

This study was investigated in the lab of histological preparations of technical institute / Kufa laboratory medical dept. and Al-Sadr hospital in Najaf. The period of histological study is year and seven months from 15/3/2015 to 5/10/2016 , sixty eggs of chicken were collected, from Al Najaf Alhadeeth hathchery (Abu Sakhir). Ten eggs were hatched for each embryonic stage of 8, 10, 12, 14,16 and 18 days . Samples of embryos limbs were removed and subjected to histological procedures and used three different stains:

1- Haematoxylin- Eosin stain (H&E).
2- Masson's Trichrome stain .
3- Double staining .

The results of current histological study showed that the embryonic limb at the age of eight days in which a Rudiment skeletal a form of cartilage and not found any ossification which is surrounded by Myogenic cells which connected to form Myotubes . The skin differentiated in to two layers: Upper layer is epidermis, which arranged in two rows of cells, the outer row is the periderm and the inner row is the basal layer The dermis which formed from loose mesenchymal tissue, it contains mesenchymal cells and fibers. In this stage, dermal condensation can be seen under epidermis that give short feather buds .

Observed on the tenth days embryonic stage, the elements of rudiment skeletal in the limb had completed its appearance, and the first of these is the Humerus then Ulna , Radius , Carpo-metacarpus and fingers (II, III, IV) , ossification zone was rich in blood vessels and bone lamellae flat contains osteocytes within lacunae, it was appeared when ossification

begins in perichondrium, and lined Myotubes surrounded the embryonic cartilage enclosed by myogenic cells , the skin increased in thickening in addition to distribution of large number of anterior- posterior orientation long feather buds where their bases begin to sink creating a circular moat. becomes feather follicles. Epidermis of which forms ingrowing thickenings where barb ridges start to form.

On the twelfth day ossification appeared in the phalanges of the second and third fingers, it was revealed that the ossification zone surrounded by rudiment diaphyseal cartilage from the inside ring-shaped newly formed of bone lamellae, cartilaginous cells appear swollen so much in the various stages of the extension process and then disappeared through apoptosis to replace by osteoblasts and appeared primary fiber of central nuclei attached to the elements of the embryonic skeletal in the limb regularly parallel to each other , as well as the development of muscle there another development became feather follicles that grew and exceeded buds stage where elongation to out with the growth and development of barb clearly .

On the fourteenth-old embryonic day expansion of the ossification zone and the declined in the embryonic cartilage and elongation in the periosteum of bone and its extension on both sides, it was noticed that bone lamellae became wider and flatter and fuse then return to branch out and interconnecting trabeculae with much intervening space , noticed the development of the muscles and the emergence of secondary fibers, which are form of tubes with many nuclei tend to be side-site, were observed embryonic feathers completed their growth and where possible distinguished in to two parts, part externally protrudes from the surface of the skin component of barbs surrounded by a

periderm that make up the envelope thin, and part inserted into the skin in the cavity follicular shows deviation growth toward the back because of the anterior -posterior growth.

In the sixteenth day was observed along the ossification and decline of the cartilage to the bone heads and showed the cartilage cells in the vicinity of ossification zone swollen on the verge of disintegration and intertwined bone lamellae in ossification zone composed spaces reserved inside primary marrow spasces component of the blood vessels and osteoblast shows periosteum perimeter of bone lamellae was showed the disappearance of cartilaginous blocks from the final ossification zone and confined to the ends, and show muscle fiber systematic and consequential longitudinally and appeared cylindrical structures in shape unbranched and the nuclei located at periphery , which means it is close to that skeletal muscles mature except it still lacked the striations at this stage of embryonic life , the epidermis of skin are becoming multiple layers, and dermis filled of collagen fibers and fibroblasts , it was noted adipose tissue emergence of the subcutaneous layer, and the follicle of feather showed which is surrounded by epidermal layer form the wall of the follicle, in the center pulp .

In the eighteenth day-old embryo that cartilage embryonic confined on both sides of the bone in the form of a block with active division and growth is responsible for bone growth and elongation which appears bone lamellae with much intervening spaces are primary marrow spasces , either embryonic muscle fiber have become bear the characteristics of skeletal muscles are fully developed with a cylindrical shape is multiple cells side site and show the striations clearly , has been observed

integration of the growth and differentiation of skin with stratum cornium , appears feather inside the cavity follicular surrounded by a wall of the follicle, which are linked by smooth muscle fibers , moreover it showed the pulp has to the spherical mass It is Pulp cap .

Ministry of Higher Education and Scientific Research

University of Al-Qadisiyah

Collage of Education

Histological and Developmental Study of Fore Limb Buds in White Leghorn Chickens

A thesis

Submitted To The Council of the College Of Education / University of Al-Qadisiyah In a Partial Fulfillment of The Requirements for the Degree of Doctor of Philosophy In Biology - Embryology

By

Zahraa Sahib Al-kaabi

M.Sc. Biology / Zoology

Supervised by

Prof.Dr.Abd-Al-Hadi Sallal Assist.Prof.Dr.Hussein Kdeiar

1438 H 2017 AM

رقم الأيداع في دار الكتب والوثائق ببغداد .....لسنة.....