محاضرة بعنوان :

شرح وعمل المخففات المستعملة في تخفيف السائل المنوي

مقدمة عن المخففات

المخففات هي مواد تُستخدم في تخفيف السائل المنوي بهدف الحفاظ على جودة وحيوية الخلايا المنوية لفترات أطول، سواء للاستخدام المباشر في التلقيح أو للتخزين قصير أو طويل المدى. تُعد عملية التخفيف ضرورية لزيادة كمية السائل المنوي المتاح، مما يسمح بتلقيح عدد أكبر من الإناث باستخدام عينة واحدة.
تعمل المخففات على حماية الخلايا المنوية من التأثيرات الضارة التي قد تحدث نتيجة التغيرات في الظروف البيئية مثل الحرارة أو التبريد أو التجمد. كما تساعد المخففات في تحسين صلاحية السائل المنوي عن طريق تثبيت الرقم الهيدروجيني (pH)، وتوفير الطاقة اللازمة للخلايا المنوية من خلال السكريات، وتقليل التأثير الضار للبكتيريا عن طريق إضافة المضادات الحيوية.
تمثل المخففات خطوة أساسية في برامج التلقيح الاصطناعي، حيث تعزز من كفاءة نقل واستخدام السائل المنوي، مما يسهم في تحسين معدلات الإخصاب في الحيوانات المزرعية.

المكونات الأساسية للمخففات ودورها:

1- الماء المقطر أو المحاليل المائية:

- الدور: يُستخدم كقاعدة أساسية لتذويب المكونات الأخرى ويضمن توفير بيئة أسموزية متوازنة.
- الشرط: يجب أن يكون خاليًا من الشوائب أو أي مواد تؤثر سلبًا على الخلايا المنوية، لذلك يُفضل استخدام الماء المقطر أو منزوع الأيونات.

2- السكريات (مثل الجلوكوز والفركتوز):

- الدور: تعمل كمصدر طاقة أساسي يدعم العمليات الحيوية وحركة الخلايا المنوية.
- الشرط: يُضاف بنسبة محددة لضمان توفير الطاقة دون التأثير على التوازن الأسموزي.

3- البروتينات (مثل صفار البيض أو الحليب):

- الدور: تحمي غشاء الخلية المنوية من التلف الناتج عن التغيرات البيئية مثل التبريد أو التجميد، وتساعد في استقرار الخلايا.
- الشرط: يجب فصل الصفار بعناية لتجنب التلوث بالبروتينات الأخرى وضمان نقاء المكون.

4- المواد المنظمة للحموضة(Buffers):

- الدور: تعمل على تثبيت الرقم الهيدروجيني (pH) للمخفف بين 6.8-7.4، مما يحافظ على استقرار البيئة الداخلية للسائل المنوي.
- الشرط: يتم ضبط الرقم الهيدروجيني بدقة باستخدام حمض الهيدروكلوريك (HCl)أو هيدروكسيد الصوديوم.(NaOH)

5- المضادات الحيوية(Antibiotics) :

- الدور: تمنع نمو الكائنات الدقيقة الضارة التي قد تقلل من جودة السائل المنوي أو تسبب تلف الخلايا المنوية.
- الشرط: تُضاف بتركيزات محددة لمنع التلوث دون الإضرار بالخلايا المنوية.

6- مادة مضادة للتجمد (مثل الجليسرول):

- الدور: تُستخدم في التجميد لتقليل الأضرار الناتجة عن تكوين بلورات الجليد داخل الخلايا المنوية.
- الشرط: تُضاف فقط عند تحضير المخففات للاستخدام في التجميد الطويل المدى.

الخطوات العملية لتحضير المخفف

1. تعقيم الأدوات والمكونات: تأكد من أن جميع الأدوات مثل أنابيب القياس والزجاجات معقمة باستخدام الأوتوكلاف أو المحاليل المعقمة، واستخدم قفازات معقمة لتجنب التلوث.

2. تحضير القاعدة الأساسية: قم بخلط 90-95% من المحلول الملحي أو PBS مع السكريات (مثلاً 1-2% من الفركتوز أو الجلوكوز) لتوفير بيئة متوازنة وأسموزية. تحقق من درجة الحموضة باستخدام جهاز pH واضبطها بين 6.8-7.2 باستخدام حمض الهيدروكلوريك (HCl) أو هيدروكسيد الصوديوم (NaOH).

3. إضافة صفار البيض: افصل الصفار عن البياض بعناية لتجنب التلوث بالبروتينات الأخرى.

- أضف حوالي 10-20% من الصفار إلى المحلول الملحي واخلطه بلطف لضمان تجانس المحلول.

4. إضافة مادة مضادة للتجمد (اختياري): أضف 5-10% من الجليسرول إلى المحلول إذا كان الهدف تخزين السائل المنوي بالتجميد.

5. إضافة المضادات الحيوية: أضف تركيزاً مناسباً من البنسلين أو الستربتوميسين لمنع التلوث البكتيري.

6. مزج المكونات: اخلط جميع المكونات جيداً في أنبوب مخبري معقم باستخدام جهاز خلاط دوار (Magnetic Stirrer) بسرعة منخفضة لتجنب تدمير البروتينات.

7. التخزين المؤقت للمخفف: احفظ المخفف المحضر في درجة حرارة 4°C إذا لم يُستخدم فوراً، قم بتسخين المخفف إلى درجة حرارة الجسم (37°C) قبل استخدامه للسائل المنوي.

الطرق المختبرية في تقييم جودة السائل المنوي

تُعد تقييم جودة السائل المنوي خطوة أساسية في تحديد كفاءته للاستخدام في التلقيح الصناعي أو برامج الإخصاب. وتشمل الطرق المختبرية المستخدمة مجموعة من الفحوصات التي تُقيّم الخصائص الفيزيائية، الكيميائية، والوظيفية للسائل المنوي :

1. الفحص الفيزيائي للسائل المنوي

أ- الحجم (Volume): يُقاس حجم السائل المنوي باستخدام أنابيب مدرجة مباشرة بعد الجمع.
المعدل الطبيعي1-5 مل (حسب نوع الحيوان).

ب- اللون (Color): يتم ملاحظة لون السائل (أبيض، كريمي، أو مائل إلى الأصفر). أي تغيّر كبير قد يدل على تلوث أو مشاكل صحية.

ج- اللزوجة (Viscosity): تُقيّم لزوجة السائل المنوي عبر سحبه باستخدام ماصة. الزيادة في اللزوجة قد تعيق حركة الحيوانات المنوية.

د- درجة الحموضة (pH): يُقاس باستخدام شرائط أو أجهزة قياس الحموضة، ويجب أن تكون بين 6.8-7.4 لضمان بيئة ملائمة للحيوانات المنوية.

2. الفحص المجهري

أ - تركيز الحيوانات المنوية (Sperm Concentration): يتم قياس عدد الحيوانات المنوية في المليمتر المكعب باستخدام غرفة العد (مثل نيوبيور أو الهيموسيتوميتر).
المعدل الطبيعي يختلف حسب النوع، ويُعبر عن التركيز بعدد الحيوانات المنوية في المليمتر المكعب.

ب- الحركة (Motility): تُحدد نسبة الحيوانات المنوية المتحركة باستخدام المجهر المزود بشريحة مدفأة،.يتم تصنيف الحركة إلى:

a- حركة تقدمية سريعة.
b- حركة تقدمية بطيئة.
c- حركة غير منتظمة.
d- غير متحركة.

ج - المعدل الطبيعي: ≥70% من الحيوانات المنوية ذات حركة تقدمية.

د- الشكل الطبيعي (Morphology): تُفحص عينة ملطخة بصبغات خاصة (مثل صبغة بابانيكولاو) لتقييم الشكل الخارجي للحيوانات المنوية. يتم تصنيف الخلايا إلى طبيعية وغير طبيعية (تشوهات في الرأس، العنق، الذيل).

3. الفحوصات الكيميائية :

أ- تركيز الفركتوز: يُستخدم لقياس تركيز الفركتوز في السائل المنوي، والذي يمثل مصدر الطاقة الرئيسي للحيوانات المنوية. أي انخفاض في تركيزه قد يشير إلى مشاكل في الحويصلات المنوية.

ب- اختبار السلامة الغشائية (Hypo-osmotic Swelling Test): يُستخدم لتقييم سلامة الغشاء البلازمي للحيوانات المنوية عبر وضعها في محلول ناقص التوتر ومراقبة الانتفاخ.

4. الفحص الحيوي :

أ- اختبار البقاء (Viability): يُستخدم صبغات مثل الإيوسين أو النيجروسين لتحديد الخلايا الحية (غير المصبوغة) والخلايا الميتة (المصبوغة).

ب- المعدل الطبيعي: ≥70% خلايا حية.

ج- اختبار اختراق الهلام (Penetration Test): يُستخدم لتقييم قدرة الحيوانات المنوية على اختراق مواد تشبه مخاط عنق الرحم، مما يعطي مؤشرًا على قدرتها على الإخصاب.

5. اختبارات خاصة لتقييم الكفاءة الوظيفية:

أ- اختبار تفاعل الأكروسوم (Acrosome Reaction): يُستخدم لتقييم قدرة الحيوانات المنوية على تفاعل الأكروسوم، وهو أساسي لاختراق البويضة.

ب- اختبار الحمض النووي (DNA Fragmentation): يُستخدم لتقييم سلامة المادة الوراثية للحيوانات المنوية باستخدام تقنيات مثل TUNEL أو Comet Assay.

6. التقييم باستخدام التقنيات الحديثة:

أ - التحليل بالحاسوب (Computer-Assisted Sperm Analysis - CASA): نظام متطور يقوم بقياس الحركة، التركيز، والشكل بدقة عالية.

ب - الفحص باستخدام الفلوروسنس (Fluorescence Microscopy): يُستخدم لصبغ الحيوانات المنوية بأصباغ فلورية لتقييم سلامة الغشاء والبنية الداخلية.