

عملية تكوين النطف Spermatogenesis :

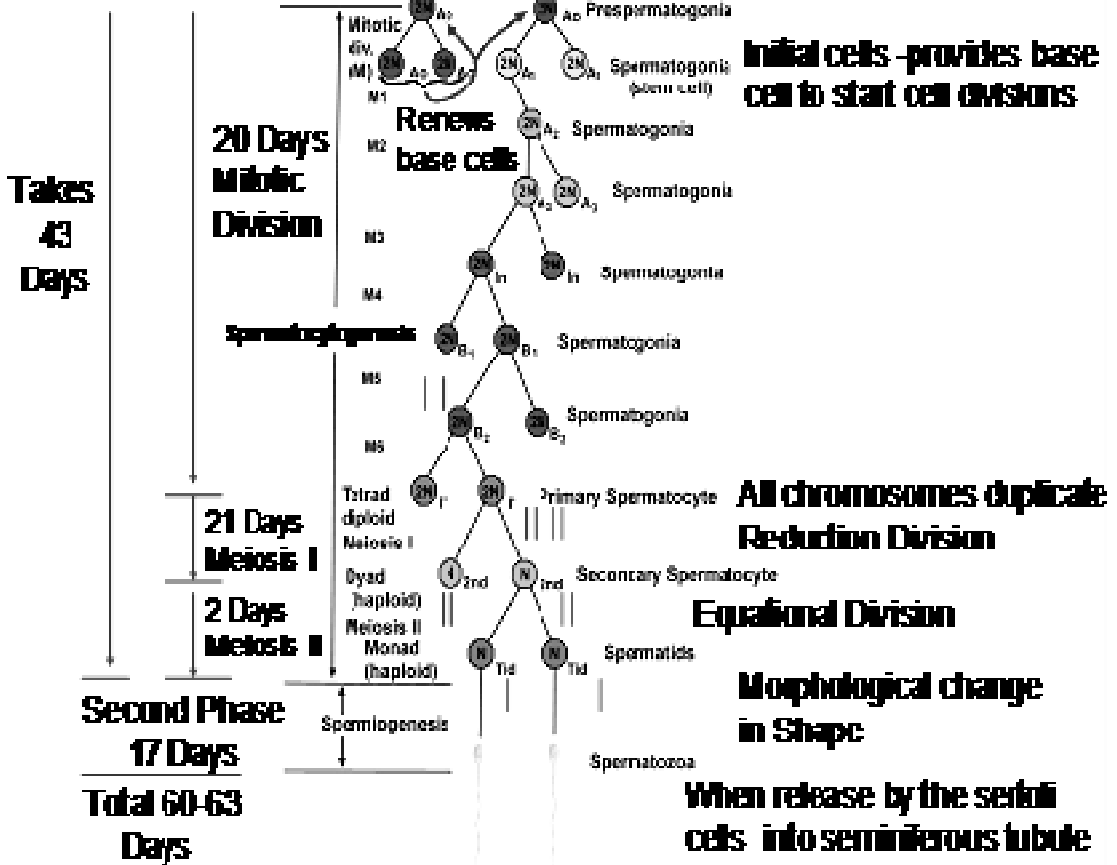
تتكون النطف sperms في الانبيبات المنوية للخصية وتمر النطف الى البربخ حيث تنضج فيه لحين قذفها ، وتتحلل العديد من النطف ويتم امتصاصها بواسطة ظهارة البربخ والقناة الدافقة ، وتضاف افرازات الغدد اللاحقة الى النطف في وقت القذف .

تمثل عملية تكوين النطف التغيرات الناتجة عن تحول الخلايا الجذعية stem cells او الخلايا الجرثومية الذكرية spermatogonia المبطنة للانبيبات المنوية الى النطف وتحدث هذه التغيرات بالقرب من خلايا سرتولي sertoli cells وتشمل عملية تكوين النطف مرحلتين هي :

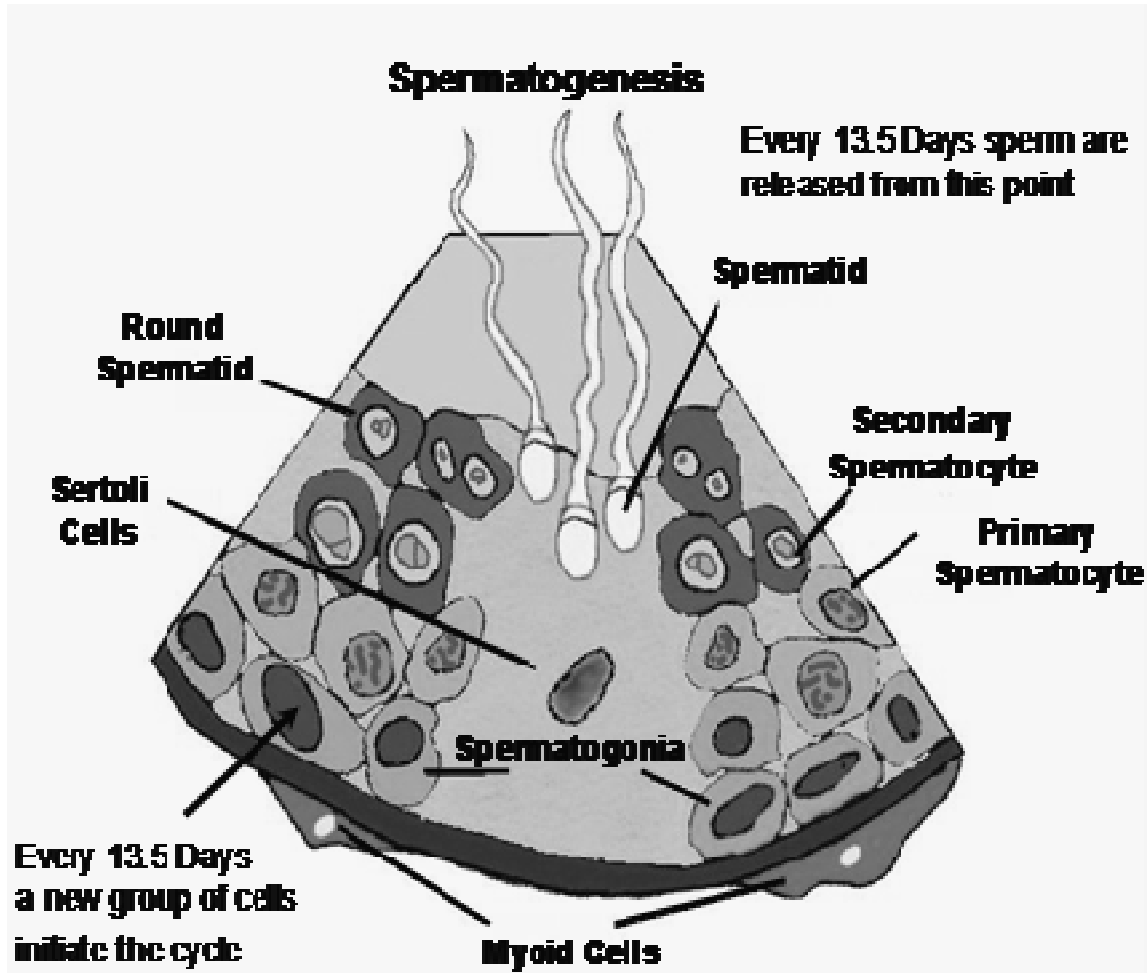
١- تكوين الخلية النطفية spermatocytogenesis وتمثل الطور التكاثري الذي تمر فيه الخلايا الجرثومية الاولى بسلسلة من الانقسامات الخيطية التي تعقبها انقسامات منصفة للكروموسومات .

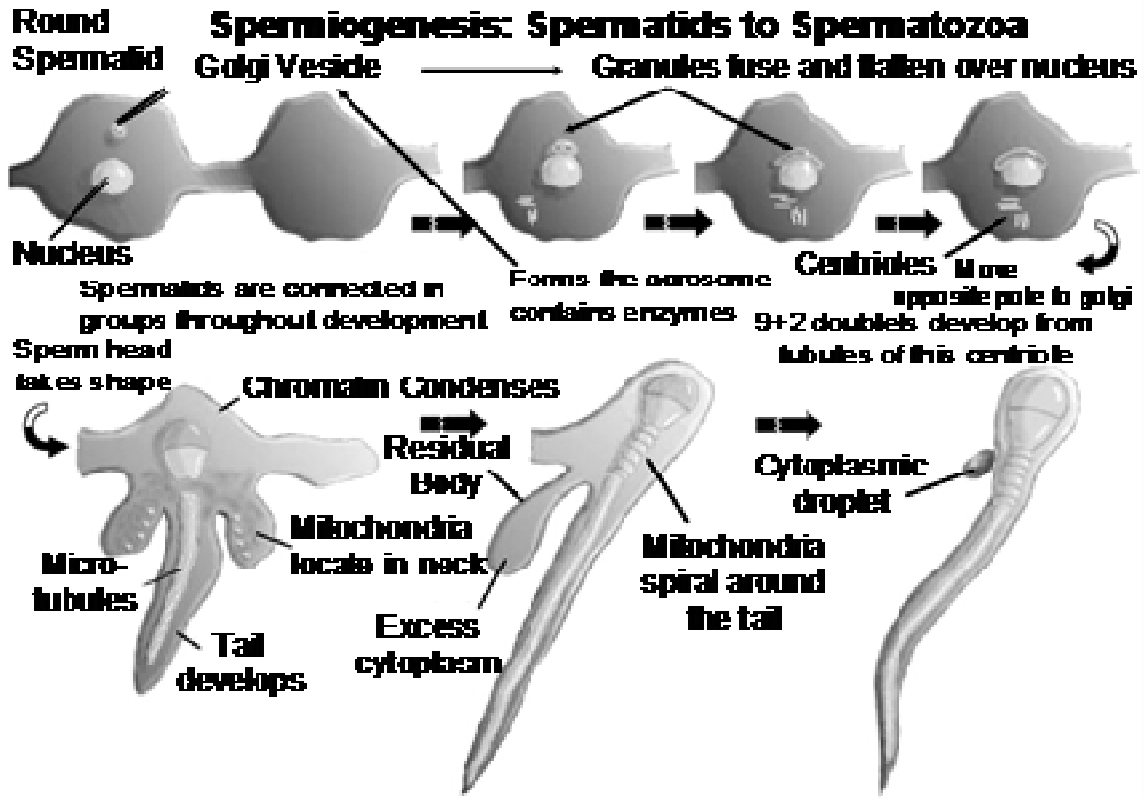
٢- تكوين الخلية النطفية الاولى (الناضجة) spermiogenesis وتحدث فيه تغيرات شكلية في النواة والهولي لتكوين خلية النطفة sperm cell. وتبدأ عملية تكوين النطف بالخلايا الجرثومية الذكرية الواقعة على الغشاء القاعدي وتستمر باتجاه تجويف الانبيب المنوي ، اذ تنقسم هذه الخلايا لتكوين الخلايا النطفية الاولى primary spermatocytes والتي تدخل الانقسام الاختزالي الذي ينتج عنه الخلايا النطفية الثلوية secondary spermatocytes ثم أرومات النطف spermatids ويشير تكوين أرومات النطف الى انتهاء مرحلة تكوين الخلية النطفية وابتداء عملية تكوين الخلية النطفية الاولى . وتبدأ عملية تكوين الخلية النطفية الاولى في الانبيبات المنوية وتنتهي في البربخ وتحدث الاشكال الطبيعية وغير الطبيعية للنطف في هذه المرحلة ان التحولات التي تحدث على أرومات النطف خلال المرحلة الثانية تتمثل : ان أرومات النطف spermatids هي عبارة عن خلايا دائرية حاوية على نواة مركزية وجهاز جولجي يحيط بحبيبة مركزية تدعى حبيبة الجسم الطرفي acrosomic granule وتعاني أرومات النطف سلسلة من التغيرات الشكلية لتحولها الى نطفة ، وتشمل هذه التغيرات تكوين القنسوة النووية (قنسوة الجسم الطرفي acrosomal cap .

Develops at the onset of Puberty **Bovine Spermatogenesis**



ويشير تكوين ارومات النطف الى انتهاء مرحلة تكوين الخلية النطفية وابتداء عملية تكوين الخلية النطفية الاولى . وتبدأ عملية تكوين الخلية النطفية الاولى في الانبيبات المنوية وتنتهي في البربخ وتحدث الاشكال الطبيعية وغير الطبيعية للنطف في هذه المرحلة ان التحولات التي تحدث على ارومات النطف خلال المرحلة الثانية تتمثل : ان ارومات النطف spermatids هي عبارة عن خلايا دائرية حاوية على نواة مركزية وجهاز جولجي يحيط بحبيبة مركزية تدعى حبيبة الجسيم الطرفي acrosomic granule وتعاني ارومات النطف سلسلة من التغيرات الشكلية لتحولها الى نطفة ، وتشمل هذه التغيرات تكوين القلنسة النووية (قلنسة الجسيم الطرفي acrosomal cap) من جهاز جولجي وتكثيف النواة وتكوين سوط متحرك ، كما تفقد الخلة كمية من الماء والكلايوجين ومعظم الحامض النووي RNA وبذلك تزداد كثافة الخلية ، وعليه تحتوي النطف الناضجة على كمية كبيرة من المواد الصلبة نسبة الى الماء وتحتوي معظم الخلايا الجسمية على حوالي 70% ماء بينما تحتوي النطف على حوالي 50% ماء .





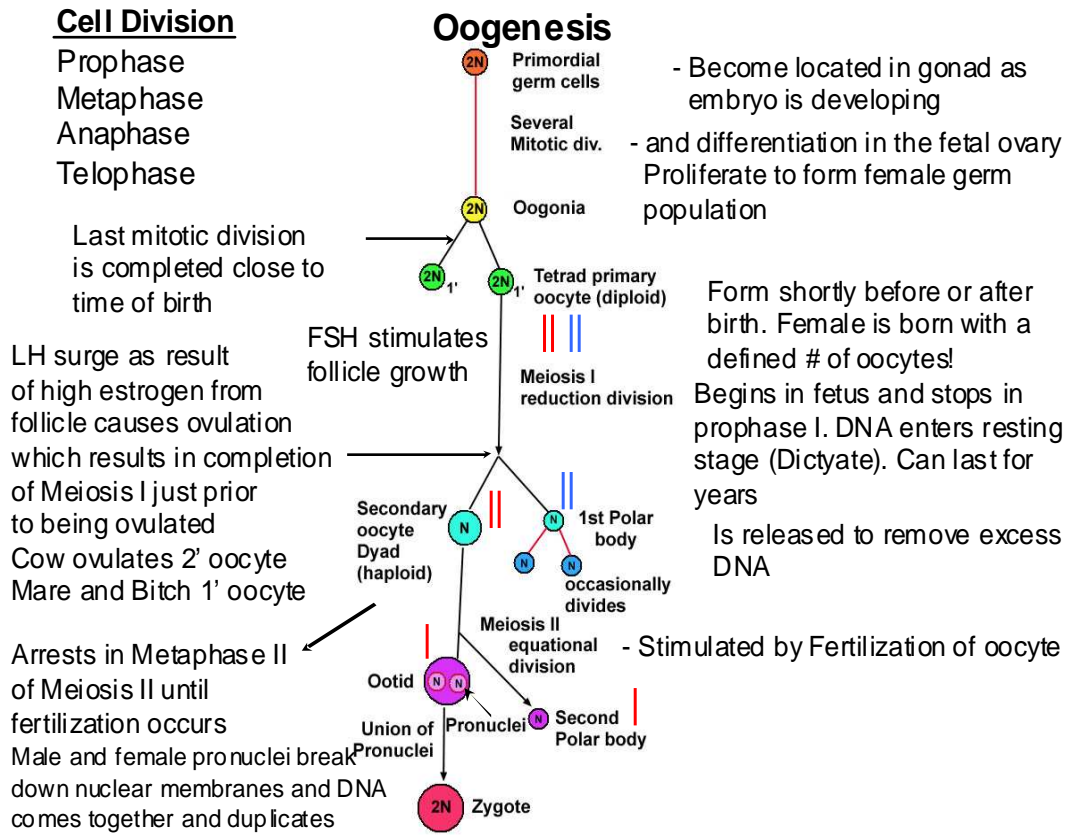
Oogenesis تكوين البويضة

تتكون الخلايا الجرثومية الانثوية Oogonia نتيجة الانقسام الخيطي للخلايا الجرثومية الاولية Primary primordial germ cells ثم تتكاثر الخلايا الجرثومية الانثوية لتكون الخلية البيضية الاولية Oocytes وتحول الخلايا الجرثومية الانثوية الى خلايا البيوض الاولية قبل او بعد الولادة مباشرة في الحيوانات الداجنة وتحاط هذه الخلية اثناء الطور الاول من الانقسام الاختزالي بطبقة مسطحة من الظهارة الجريبية مكونة مايعرف الجريب الاولي primary follicle وتبقى نواة الخلية البيضية الاولية في طور السكون لحين وصول الجريب الى مرحلة النضج. وبعد ذلك تتكون الخلية

البيضية الثانوية Secondary Oocyte والجسم القطبي الاول first polar body وتحتوي خلية البيضة الثانوية على نصف عدد الكروموسومات وكمية كبيرة من الهيولي ، اما الجسم القطبي الاول فيحتوي على نصف عدد الكروموسومات وكمية قليلة من الهيولي ، وفي معظم الحيوانات الداجنة ينتهي الانقسام الاختزالي الاول قبل ساعات من الاباضة ، بينما يحدث الانقسام الاختزالي الاول في الفرس وانثى الكلب بعد الاباضة.

كلية الزراعة / جامعة بعلب

تدخل خلية البيضة الثانوية الانقسام الاختزالي الثاني (باستثناء الفرس واثى الكلب) وعادة ما تكمل خلية البيضة هذا الانقسام عند اختراق النطفة للمنطقة الشفافة وينتج عن ذلك تكوين البويضة Ootid والجسم القطبي الثاني Secondary polar body ، كما ينقسم الجسم القطبي الاول مكونا جسمين قطبيين وتتحلل جميع الاجسام القطبية . وتمثل Ootid بعد نضجها خلية البيضة Ovum وتصل خلية البيضة المخصبة اوغير المخصبة الى الرحم خلال ٣٥ يوم بعد الاباضة ، وفي معظم الانواع تتحلل خلية البيضة غير المخصبة في الرحم .



عندما توصل Pincus و Enzman (الى ان بويضات الارنب المعزولة من جريباتها بإمكانها استئناف انضاجها مختبريا، كذلك اشاروا الى ان خلايا الجريبة في اللبائن تزود البويضة بمادة او مواد اساسية تثبط مباشرة انضاج النواة . ان انضاج البويضات يعتمد على مسارين الاول يتعلق بلضاج الساييتوبلازم ويشتمل على عملية ترتيب لمكونات ساييتوبلازم البويضة وللتنشيط (عند تكوين الانوية الاولى والتطور الجنيني المبكر قبل الانزراع ،اما المسار الثاني فهو يختص بأنضاج النواة حيث يشير الى قابلية البويضة للوصول الى التكامل الاختزالي Meiotic Competence) والذي يعرف بقابلية البويضات لبلوغ الـ GVBD ، وتعاقب الـ M-I مع بروز الجسم القطبي الاول والوصول الى طور الـ M-II .

١ - منظمات انضاج البويضات

ان الدورة الخلوية الاختزالية يسيطر عليها بصورة رئيسية من خلال التنظيم المتسلسل لعملية الفسفرة - ومنع الفسفرة phosphorylation-dephosphorylation التي ترتبط بخطوات الانتقال من الطور البيئي Interphase الى M-phase مثل انكسار الغلاف النووي تكاثف الكروموسومات واعادة تنظيم اعضاء هيكل الخلية. حيث ان نموذج الفسفرة البروتينية يتغير مباشرة قبل الـ (GVBD) في الفئران الاغنام والابقار وفي الماعز ولأجل فهم الميكانيكية التنظيمية لاستئناف الانقسام الاختزالي من المهم معرفة المعلومات عن تنظيم فعالية تنشيط الـ protein kinase ومن هذه المنظمات

دور الـ Mitogen Activated Protein Kinase (MAPK) ويسمى عادة بالبروتين المنظم خارج الخلية Extracellular Regulated Kinase وهو عبارة عن بروتين Serin-Therion Kinase يتم تنشيطه بواسطة عملية الفسفرة Phosphorylation عند لحظة شروع البويضة بالانضاج لدى مختلف الانواع كما في نجم لبحر الفأر والخنازير والماعز.

ان تأثير الـ MAPK خلال عملية الانضاج غير معروف ، لكن من لمعلوم ان تنشيط الـ MAPK يكون ضرورياً لكل من استئناف الانقسام الاختزالي وادامة سكونه عند مرحلة (M-II). الى انخفاض فعالية الـ MAPK لدى البويضات غير الناضجة ومن ثم تتخفف فعاليته عند تكوين الانوية الاولية بعد الاخصاب ، ويتيح الـ MAPK حصول تغيرات ديناميكية للـ Microtubule تشترك بتكوين المغزل والتي تحدث خلال الانتقال من الطور البيئي الى الـ Metaphase

ج- دور الـ cAMP

يعتقد ان Cyclic Adenosine Monophosphate (cAMP) يلعب دور مثبط فسيولوجي للانقسام الاختزالي حيث ينتقل من الخلايا الركامية Cumulus Cells عن طريق الـ gap junction (gj) وبما ان الـ LH له دور في تكسير الارتباط بين الخلايا الركمية والبويضة فبالنتيجة سوف تمنع اوصول cAMP وعالية سوف يحفز على استئناف الانقسام الاختزالي ، كذلك اشترك cAMP في ادامة توقف الانقسام الاختزالي عند مرحلة السكون حيث ان هبوط مستوى cAMP داخل الخلية يكون كشارة لاعادة البويضة للدخول في تعاقب الانقسام الاختزالي، وان انخفاضاً معنوياً في مستوى cAMP داخل البويضة يحصل حال دخولها لمرحلة الـ (GVBD) من الانضاج الاختزالي سواءاً كان ذلك داخل الجسم او في الانضاج المختبري .

ميكانيكية تكيف النطف**تكييف النطف Sperm Capacitation**

ان الاحداث البيوكيميائية التي تنظم تركيب وسيولة Fluidity للغشاء البلازمي للنطف خلال التكيف وتفاعل الاكروسوم يمكن ان تصنف لى ثلاث تغيرات :-

أ- تغير في شحنة سطح النطف

ان جزءاً من عملية التكيف تتضمن حصول ازالة لمكونات السطح الخارجي للنطف خلال انتقاله ضمن البربخ Epididymis وامتزاجه مع البلازما المنوية ، ومن بين التحويرات الجزئية للغشاء البلازمي التي تعانيها النطف عند التكيف هو التغيير في شبكة الشحنة الكهربائية لسطح الخلية ، ان الانضاج في البربخ يتيح زيادة معنوية في شبكة الشحنة السالبة لسطح النطف ، لذا فلن تكيف النطف سوف يخفض الشحنة السالبة على سطح النطف ، وقد اقترح ان هذه الظاهرة تنتج عن ازالة المتبقي من حامض السيليك (Sialic) وبقايا الـ Sulfate سطح النطف خلال تحللها (hydrolysis) في اثناء وجودها في القناة التناسلية الانثوية. وقد اكدت هذه الميكانيكية بشكل معنوي حقيقة ان الـ Sterol والـ Sulfates تكون مواداً مثبتة لتكيف النطف والاحصاب المختبري لدى الهامستر .

ب- تغير نسبة الكوليسترول الى الدهون المفسفرة

ان مرونة الغشاء الخلوي ونفاذيته تنظم جزئياً من خلال المكونات الدهنية للغشاء والتي تعتبر ذات اهمية في تكيف النطف ، حيث يعد الكوليسترول منظماً لسيولة ونفاذية الاغشية وان نفاذ او تفرغ محتوى الكوليسترول لغشاء النطف سوف يؤدي الى تخفاض في نسبة الكوليسترول الى كتلة الفوسفوليبيدات (C/P) Cholesterol/phospho lipid متيحاً تكيف النطف و كنتيجة لزيادة سيولة الغشاء ونفاذيته مما يساعد على عملية التكيف ، نتيجة لوجود مركبات عالية الكثافة مثل الـ Lipoprotein, Lecithin و Albumin في وسط التكيف مثل مصل الدم ، قناة البيض والسائل الجريبي ، ان الكوليسترول يتبادل بين الغشاء البلازمي للنطف وعوامل التكيف بشكل ينتج عنه انخفاض في نسبة (C/P) في الغشاء البلازمي للنطف والتي يمكن ان يفسر على اساس التغيير في الخواص التناضحية مع زيادة نفاذية الغشاء البلازمي لايون الكالسيوم Ca+2 كما يلاحظ زيادة في للنطف المتكيفة

ج-التغيرات في الـ Phospholipid لغشاء النطفة

نتيجة لزيادة نفاذية غلاف النطفة ، سوف يزداد نفاذ ليونات الكالسيوم الى داخل النطفة مما ينشط الانزيمات المنبئية للاحماض الدهنية الموجودة داخل الجسم الطرفي مثل انزيم الـ phospholipid A ، وهذا ما يؤكد اهمية الدهون المفسفرة في تفاعل الاكروسيوم ، فقد وجد ان نور الـ Phospholipid في الانسان كمثبط له المقدره على ايقاف تفاعل الاكروسيوم مختبريا.

تكييف النطف داخل الجسم

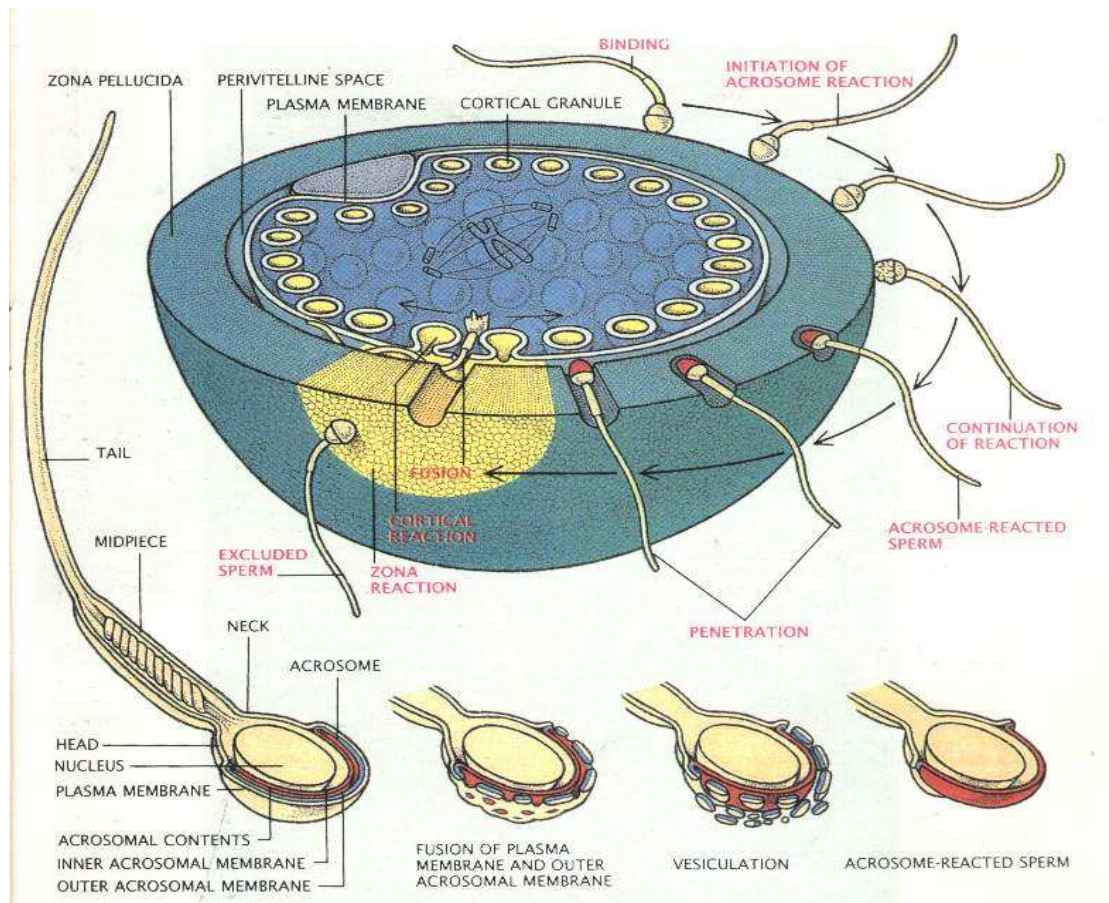
نطف اللبائن تبقى في بيئة فسلجية ثابتة لمدة من الزمن قبل ان يتم قذفها عند التزاوج ، حيث ترتبط بعض البروتينات مع الغشاء البلازمي للنطف فضلاً عن السوائل المتأئية من الغدد المساعدة عند قذف النطف داخل السيل التناسلي الانثوي ، حيث تكون غير قادرة على اخصاب البويضات ، وبعد فترة من ايداعها داخل القناة التناسلية الانثوية تصبح لها القدرة على الاخصاب بعملية التكييف (Capacitation) ، حيث تتضمن عملية التكييف ازالة العوامل مانعة التكييف (Decapacitation) المتأئية من البروتينات الموجودة في منطقة الـ Cauda من البربخ او مع سوائل الغدد الجنسية الملحقة وهذه العملية تستغرق لدى الابقار حوالي ست ساعات داخل الجهاز التناسلي الانثوي.

تكييف النطف مختبريا In Vitro capacitation

ان ازالة البروتينات المنوية وافرازات لغدد المساعدة المغطية لغشاء النطفة في السائل المنوي كجزء من عملية التكييف التي تجري للنطف مختبريا تحصل بشكل مشابه لما يحصل طبيعيا داخل الجسم ، وقد وجد ان الهيبارين وهو من مجموعة الـ GAGs له القابلية على ربط البروتينات الموجودة في البلازما المنوية ، مما يحسن من عملية التكييف مختبرياً) ، كما ويساعد الهيبارين على حث التغيرات الفسلجية الضرورية للحصول على تفاعل الجسيم الطرفي ، وعند وجود الكلوكوز في الوسط الزرعى سوف يثبط عمل الهيبارين فيستعاض عنه بالبايروفيت واللاكتيت كمصدر للطاقة ، الى قابلية الخلايا الركامية على انتاج الـ GAGs عندما تحفز بواسطة هرمون FSH ، كذلك امكانية استخدام السائل الجريبي في تكييف النطف لاحتوائه على احد مركبات الـ GAGs الموجودة في المبيض ، الرحم وقناة البيض والذي يعرف بعامل الحركة التموجية والذي يزيد من ايض النطف ومن ثم ترتفع الحركة التموجية من خلال تقليل الـ ATP وارتفاع الـ AMP للنطف .

٢ | تفاعل الكروسوم Acrosome Reaction

بعد حصول الاباضة فان النطفة المتكيفة سوف ترتبط بالبويضة وتعلي تفاعل الاكروسوم حيث توجد مستقبلات على رأس النطف (Sperm Receptor) ومواقع الارتباط على البويضة (Egg-binding) شكل (١) ، ان تفاعل الاكروسوم يوصف شكليا باندماج لغشاء البلازمي وغلاف الاكروسوم الخارجي في مواقع عديدة مكونا حويصلات صغيرة متعددة ويعتبر ايون الكالسيوم المحرك الرئيسي الذي يساعد على تفاعل القلنسوة ، حيث ان زيادة نفاذية الغشاء البلازمي للنطفة باتجاه Ca^{+2} خارج الخلية واتلحة التغيرات التركيبية للبروتينات والدهون في الغشاء البلازمي ليكون باعثاً لتفاعل القلنسوة ونتيجة لدخول الـ Ca^{+2} وتجمعه في غطاء رأس النطفة مترافقا مع دخول الماء من الخارج ، سوف تزداد نفاذية غشاء النطفة مسببا انتفاخ غطاء رأس النطفة (Acrosome swelling) وبالتالي يلاحظ تكون فجوات (Vesiculation) في الجزء الامامي للقلنسوة (Crozet ، ١٩٨٤) ، ويتم خروج محتويات رأس النطفة مباشرة بعد الاندماج مع الخلايا المحيطة بالبويضة .



الإخصاب Fertilization

ان طريق الإخصاب للعديد من اللبائن يشتمل على تلك الاحداث التي تجري بشكل متسلسل ويمكن اجمالها بما يأتي :-

- ارتباط النطف الخاص بالنوع سليم الاكروسوم الى النطاق الشفاف حيث يسند هذا الارتباط من خلال التداخل بين مستقبلات النطف والبروتين المرتبط بالبويضة Sperm Receptor و egg-binding protein
- اتمام تفاعل القلنسوة من خلال ارتباط النطفة بالنطاق الشفاف، ويشمل تفاعل القلنسوة على اندماج غلاف (الاكروسوم) القلنسوة الخارجي مع الغشاء البلازمي عند لمنطقة الامامية لرأس النطفة مكونا اغشية حوصلية مع كثف الغلاف الداخلي للاكروسوم.
- اختراق النطاق الشفاف بواسطة تفاعل القلنسوة للنطفة .
- اندماج نطفة واحدة مع البويضة .

سرعة بدء منع تعدد النطف عند الغشاء البلازمي للبويضة استجابة لاندماج النطفة والبويضة .

- اتمام التفاعل القشري Cortical Reaction المرتبط باندماج النطف بالبويضات .
- اتمام تفاعل النطاق Zona Reaction المرتبط مع مكونات الحبيبات القشرية.

■ In Vivo Fertilization الإخصاب الطبيعي

ان ملايين النطف تصل الى القناة التناسلية في اللبائن بعد التلقيح ، لكن عدة الاف منها تعبر منطقة الuterotubal junction الى داخل البرزخ Isthmus في قناة البيض ، حيث تكون مستودعاً للنطف كما في الالبقار) ، الخيول والخنازير والفئران والاعنام)، حيث ان خزن النطف قد سهل تنظيم تكيف النطف وزيادة حركتها Hyperactivation Motility. بعدها تنقل النطف الى منطقة الإخصاب وهي الامبورة Ampulla) ضمن قناة البيض حيث يتم الإخصاب باختراق النطفة للبويضة

■ In Vitro Fertilization الإخصاب الخارجي

ان عملية انضاج البويضات هي الخطوة الاولى لانجاح الإخصاب الخارجي (IVF) ، وذلك لما يحدث من تغيرات اثناء مرحلة الانضاج لتؤهل البويضة للإخصاب. وان عملية الإخصاب الخارجي تعتمد على التغيرات الفسلجية التي يجب ان تمر بها النطف كي تصبح قادرة على إخصاب البويضة وذلك من خلال عملية التكيف، الى ضرورة تقادي حصول الإخصاب المتعدد (polyspermy) من خلال حساب تركيز

كلية الزراعة / جامعة ديالى

النطف عند الاخصاب ، وتوصل Cognie وزملاؤه (٢٠٠٣) الى ان انسب تركيز للنطف هو 1×10^6 نطفة/ مل

العوامل المؤثرة في انضاج واخصاب البويضات مختبريا

ان العديد من العوامل تؤثر في انضاج واخصاب البويضات مختبريا ومنها:

١ - الموسم Season

ان تأثير الاجهاد الحراري قبل التلقيح يترافق مع انخفاض الخصوبة لدى الابقار والاعنام ، وان بعض اسباب عدم الاخصاب ربما تعكس الخلل في تطور البويضة ، حيث اشارت البحوث الى امكانية اعطاء الدليل على التكامل التطوري للبويضة من خلال تقدير نسبة التطور بعد الاخصاب المختبري (IVF) ، ولاحظوا انها تكون منخفضة في الصيف عما هو عليه في الشتاء ، ان الاجهاد الحراري يقلل نمو الجريبات الرئيسية مسيياً عدم نمو الجريبات السلدة ومؤديا الى حصول انخفاض في نمو الجريبات الثانوية وان ارتفاع الحرارة المترامن مع حصول الاجهاد لدى الابقار بامكانه ان يثبط مباشرةً وظائف البويضة كما هو الحال في بقية خلايا الجسم . اشار Edwards و Hansen (١٩٩٧) الى انه من المحتمل ان يكون تأثير ارتفاع الحرارة ضارا على نمو البويضة ، تصنيع البروتين وتكوين المستسختات الضرورية لتتابع التطور الجنيني ، واكد Wolfenson وزملاؤه (١٩٩٥) ان الاجهاد الحراري يؤثر في تطور الجريبة من خلال تقليل انتاج هرمون الستيرويد مما يعطل نمو البويضة .

٢ قطر البويضة Oocyte Diameter

اشار Tan و Lu (١٩٩٠) و Lonergan وزملاؤه (١٩٩٤) الى تأثير التكامل التطوري للبويضات المنضجة مختبريا بحجم الجريبة ونوعية الجريبة ، وقد تم وصف العلاقة بين التكامل التطوري للبويضة مع حجم الجريبة كمؤشر غير مباشر للارتباط بين نمو البويضة والتكامل التطوري ، حيث لصح بالامكان استخدام قطر البويضة كمؤشر انتخابي لتقنية استغلال الكتلة (Mass Harvesting Techniquis) مع انتخاب البويضات لانتاج الاجنة مختبريا ، ان ارتفاع في نسبة بلوغ البويضات المنضجة والمخصبة مختبريا الى مرحلة الكيس العصيفي مع ازدياد قطر البويضة وحجم الجريبة ، وفي كثير من الاحيان لا يمكن التعرف على حجم الجريبة خصوصا عند جمع البوض .