تجارب على الجنين

تجارب على الجنين

تأليف

دكتورة/ منى فريد عبد الرحمن

الناشر

المكتبة الأكاديمية

١٩٩٢

حقوق النشر

الطبعة الأولى: حقوق التأليف والطبع والنشر © ١٩٩٢

جميع الحقوق محفوظة للناشر:

المكتبة الأكاديمية

١٢١ ش التحرير - الدقي - القاهرة

تليفون: ٣٤٨٥٢٨٢ / ٣٤٩١٨٩٠

تلكس: ٩٤١٢٤ ABCMN U N

فاكس: ٣٤٩١٨٩٠ - ٢٠٢

لا يجوز إستنساخ أي جزء من هذا الكتاب أو نقله بأي طريقة كانت إلا بعد الحصول على تصريح كتابي من الناشر.

بسم الله الرحمن الرحيم

تجارب على الجنين

د. منى فريد عبدالرحمن

فهـــرس

– مقدمة	١١
– اطلاق البيض والحيوانات المنوية	١٤
– التكاثر البكرى	٢١
– خرائط المصير	٢٤
– الحوافز الجنينية	٢٧
– المنظم	٣٤
– تجارب عزل الأنسجة	٣٨
– زراعة الأنسجة	٤٠
– طرق التعقيم	٤٢
– المحاليل التى تزرع فيها الخلايا والأنسجة	٤٧
– الأوعية المستخدمة فى زراعة الأنسجة	٤٩
– تطبيقات زراعة الأنسجة	٥٢
– التوائم	٥٥
– كيفية الحصول معمليا على توائم	٥٧
– المناعة	٦٠
– العمليات الجراحية فى الجنين	٦٥
– عبور حاجز النوع	٦٨
– تعويض الأعضاء فى الحيوان	٧١
– القوى التعويضية واسعة الأنتشار	٧٢
– خواص القدرة على التعويض	٧٥
– من اين تنشأ الخلايا التعويضية	٧٧
– استعراض المراحل المختلفة لعملية تعويض طرف ما فى البرمائيات الذيلية	٨٣
– براعم الأطراف تكون دائما الأجزاء البعيدة	٨٧
– هل الأعضاء المعوضة لها القدرة على التنظيم الذاتى	٩١
– نور الخلايا المختزنة فى التعويض	٩٢
– عملية البتر الذاتى	٩٥

صفحة

- العوامل المنشطة والمثبطة لعملية التعويض ٩٥
- التمركز والتدرج فى التعويض ١٠٣
- النمو الجنينى الشاذ ١١٠
- الإخصاب الخارجي فى الإنسان ١٢٥
- المراجع ١٤٠

مقـــدمة

التجارب على الجنين هي أحدث الدراسات الجنينية وهى تتناول العوامل التي تنشط أو تنظم أو تؤخر عمليات النمو وتشمل العمليات الجراحية التى تستهدف تصحيح النمو الشاذ أو زراعة الأجنة في الأنابيب لتلافى عيوب الجهاز التناسلي كما تشمل زراعة الأنسجة ونقل الأعضاء وكلها مجالات مهمة من الناحية العلمية والعلاجية، ويمكن تصنيف الدراسات الجنينية في المجالات التالية :

- ***تغيير الظروف البيئية :***

وهذا يحدث بواسطة عوامل ميكانيكية مثل الضغط أو الطرد المركزى أو بتعريض الجنين إلى تغيرات طبيعية مثل التغيير في درجة الحرارة أو الأشعاع أو تغيرات كيميائية مثل قلة الأكسجين أو زيادة أو نقص أحد المواد الكيميائية.، وينتج عن هذه الدراسات فكرة عامة عما يمكن أن يصيب الجنين لو تعرض لمثل هذه الظروف فى الحالة الطبيعية.

- ***زراعـة الأجنـة :***

وهذه الدراسات تشمل معرفة أنسب الظروف لنمو الجنين ومحاولة توفيرها للحصول على أجنة خارج أماكن نموها الطبيعية وهذا يفيد فى عمليات التهجين وتربية الحيوانات وانتاج سلالات جديدة. أو فى التغلب على مشكلات التكاثر الناشئة عن عيوب خلقية فى الجهاز التناسلى مثل انسداد قنوات فالوب أو ضعف الحيوانات المنوية للذكر وعدم قدرتها علي الوصول بنفسها إلى البويضة.

- ***زراعـة الأنســجة :***

يفصل جزء صغير من جنين أو تؤخذ أحد أنسجته وتنمى أما خارج الجسم فى أوانى زجاجية معقمة ومحتوية على مواد غذائية مناسبة وهذا يسمى بالزراعة الخارجية، أو تزرع هذه الأجزاء الجنينية فى جنين آخر بعملية تسمى الزراعة البين جنينية. وهذا يتيح فرصة أكبر لدراسة الأجنة وملاحظتها وتغيير الظروف المحيطة بها.

- ***تعويـض الأعضـاء :***

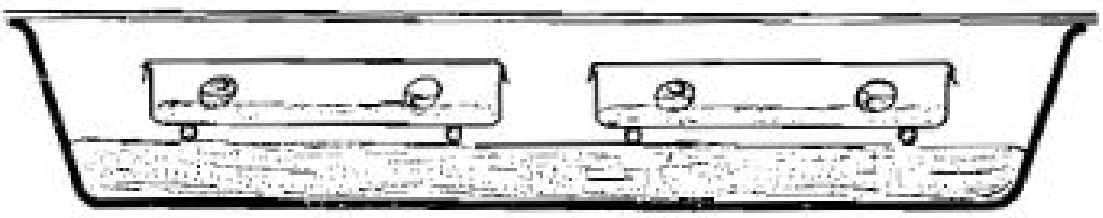
فى هذا النوع من التجارب يستأصل جزء من جنين نامى لدراسة قدرة الأنسجة

المجاورة على تعويضه والعوامل المنشطة والمهبطة لهذه العملية وكيفية حدوثها، وقد لوحظ أن القدرة على التعويض تقل بوجه عام فى الحيوانات الأكثر رقيا وتعقيدا وبزيادة سن الكائن الحى.

- استخدام العلوم الحديثة :

يمكن دراسة تأثير الهرمونات على الجهاز التناسلي وتتبع الذرات المشعة فى جسم الجنين لمعرفة كيفية استخدامها فى نموه وكيفية قيامه بعمليات هدم وبناء هذه المواد، كما استخدمت الأشعة السينية لأيضاح نمو الأجزاء الصغيرة الداخلية من الجنين، واستخدمت الموجات الفوق صوتية فى تصوير الأجنة داخل رحم امهاتها لأكتشاف أى عيب خلقي مبكرا ومحاولة علاجه، كما أمكن بأستخدام أشعة الليزر والحاق الأذى بأنسجة معينة دون المساس بالمكونات المحيطة تفهم بعض العوامل المؤثرة فى النمو، وحديثا فتح الميكروسكوب الألكترونى مجالا جديدا فى دراسة المكونات الخلوية والبين خلوية مما قرب بين علم الأحياء ودراسة الكيمياء العضوية.

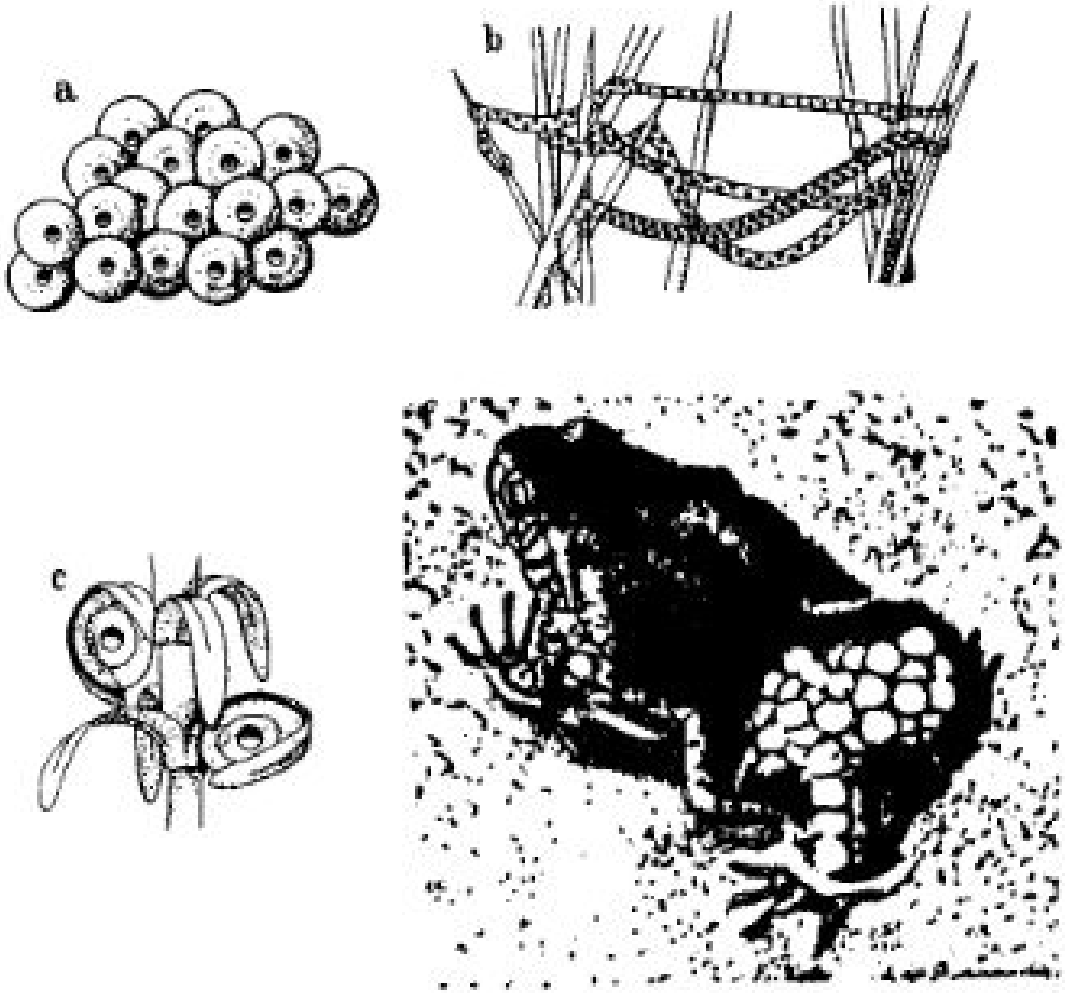
شكل ١: جنين كتكوت مشوه نتيجة لتعرضه إلى عقار مهدىء للأعصاب



شكل ٢: زراعة أجنة سمالى خارج جسم الأم فى أطباق زجاجية تحتوى على قطن مبلل وفى جو معقم

إطلاق البيض والحيوانات المنوية

يتحقق استمرار وجود الكائنات الحية إذا وصل أثنان من أبنائهما إلى سن البلوغ قبل أن يموت الوالدين. وبملاحظة الحيوانات المختلفة وجد تناقص فى عدد الأجنة كلما زادت قدرة الوالدين على الأعتناء بهم، فمثلا فى البرمائيات العادية تضع الأنثى آلاف من البويضات الحرة فى كل موسم أما فى الضفادع التى يحتفظ فيها الذكر بشريط البيض حول طرفيه الخلفيين ويحميه حتى موعد الفقس فتضع انثاه حوالى مائة بيضة فقط. ويتعرض الكثير من صغار الحيوانات للفناء أثناء النمو بحيث يعوض جيل الآباء فقط فى النهاية وهذا مايسمى بتوازن الطبيعة.

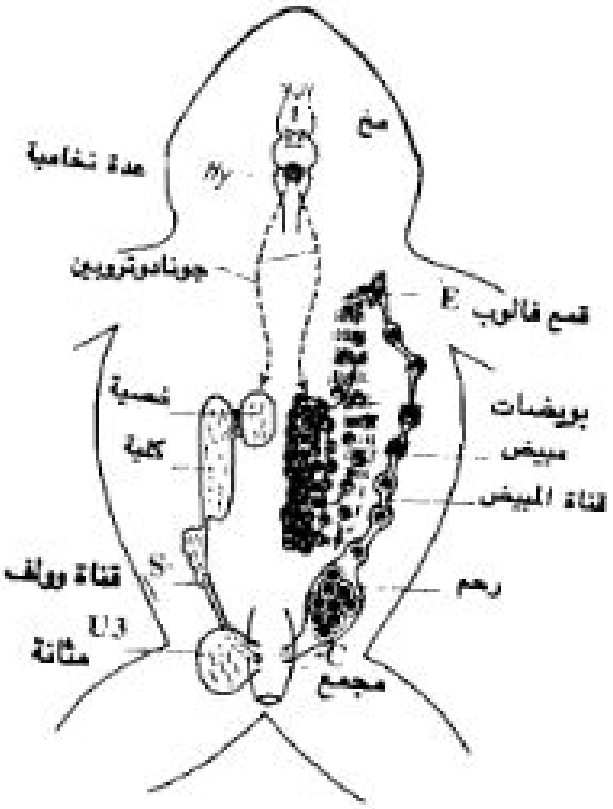


شكل ٣ : بيض الضفادع والطرق المختلفة للمحافظة عليه أما بأخفائه بين النباتات المختلفة أو بحمله بواسطة الذكر بين الطرفين الخلفيين

تأثير الهرمونات على وضع البيض :

يوجد في الضفادع مثل كل الفقاريات الأخرى عضو صغير يبرز من السطح السفلى للمخ يسمى الغدة النخامية وهو يفرز هرمونات معينة إلى الدم عند تلقيه لإشارة معينة من المخ القريب منه من منطقة تسمى الجسم السفلى لسرير المخ.

وتؤثر التغييرات الموسمية بطريقة غامضة على المخ فتدفع سرير المخ لأرسال إشارات إلى الغدة النخامية تدفعها إلي افراز هرمونات معينة فبأقتراب الربيع وزيادة الدفء تفرز الغدة النخامية هرمون الجونادوتروبين إلى تيار الدم الذى يحمله إلى المناسل في الضفادع البالغة فيفرز المبيض بويضاته وتفرز الخصية حيواناتها المنوية وقد أمكن تصنيع هذا الهرمون الآن بتركيزات عالية ووجد عند حقن كمية مناسبة منه تحت جلد أنثى حيوان برمائى يسمى النيوت أنها تضع كل البيض الموجود داخلها خلال يومين أو ثلاثة ويحدث نفس التأثير إذا استأصلت غدتين أو ثلاثة من بعض الضفادع وزرعت فى التجويف الليمفاوى تحت جلد أنثى ضفدعة أخرى.



شكل ٤ : تأثير هرمون الغدة النخامية على الخصية أو المبيض في البرمائيات

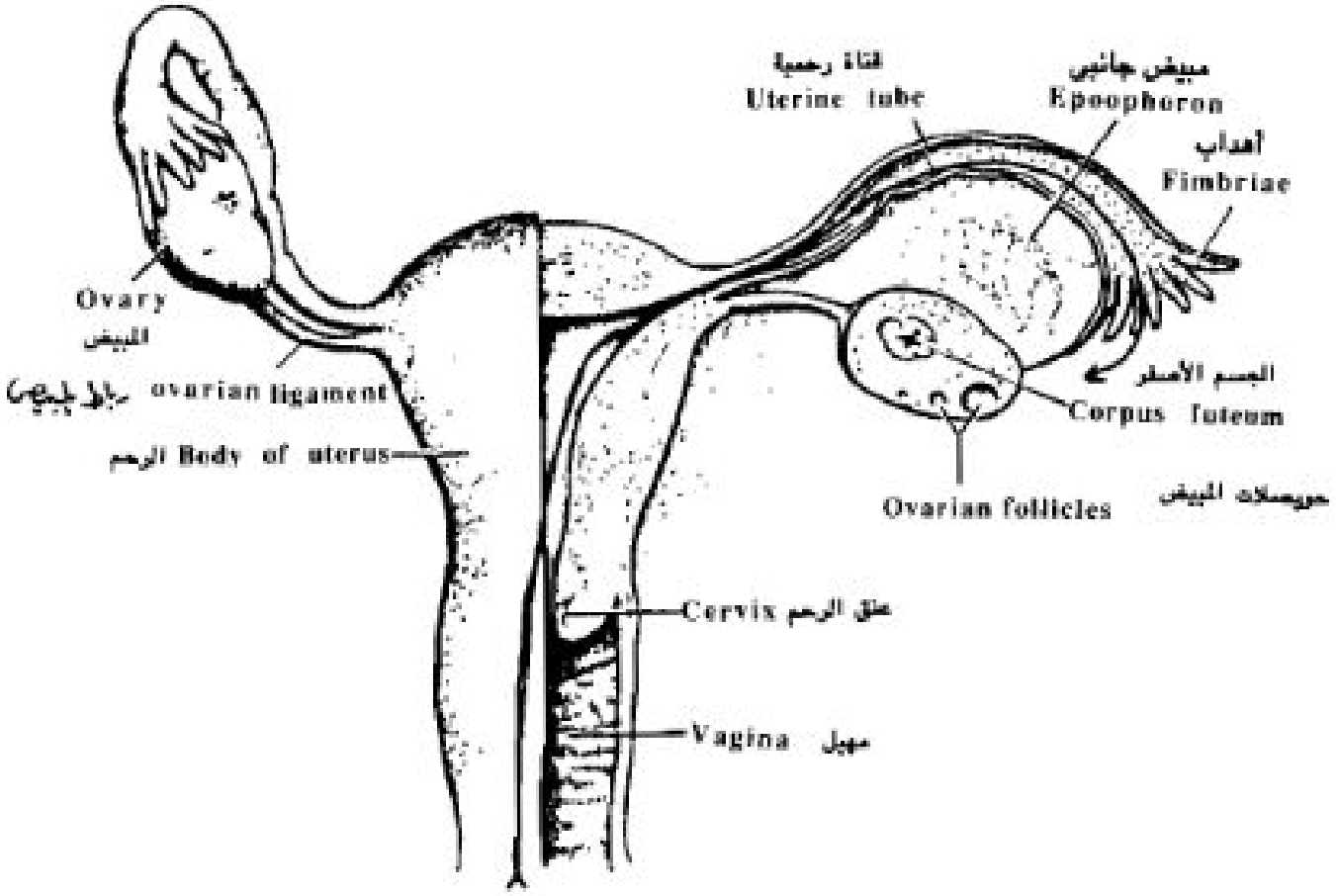
وتفرز النساء الحوامل كمية كبيرة من هرمون الجونادوتروبين في البول في أوائل فترة الحمل وهذا الهرمون يؤثر على الضفادع والأرانب بنفس الطريقة التي يؤثر بها هرمونها الخاص. واستخدم الأطباء هذه المعلومة في الأكتشاف المبكر للحمل، فيحقن بول السيدة الراغبة في الفحص في ضفدعة ناضجة من نوع الزينوبس، فإذا وضعت البيض خلال يومين إلى ثلاثة يكون هذا دليل على حدوث الحمل، وهذا الهرمون يسبب أيضا اطلاق الحيوانات المنوية في ذكور الضفادع وهذه تمر في القناة المنوية إلى المجمع ويمكن الأستدلال على وجودها بفحص بول الضفدعة تحت الميكروسكوب بعد سحبه بواسطة ماصة خاصة. وتسمى هذه الأختبارات تجربة زينوبس لأكتشاف الحمل وذلك نسبة إلى الضفادع المستخدمة في هذه الحيوانات.

مسيرة الحيوان المنوى إلى البويضة :

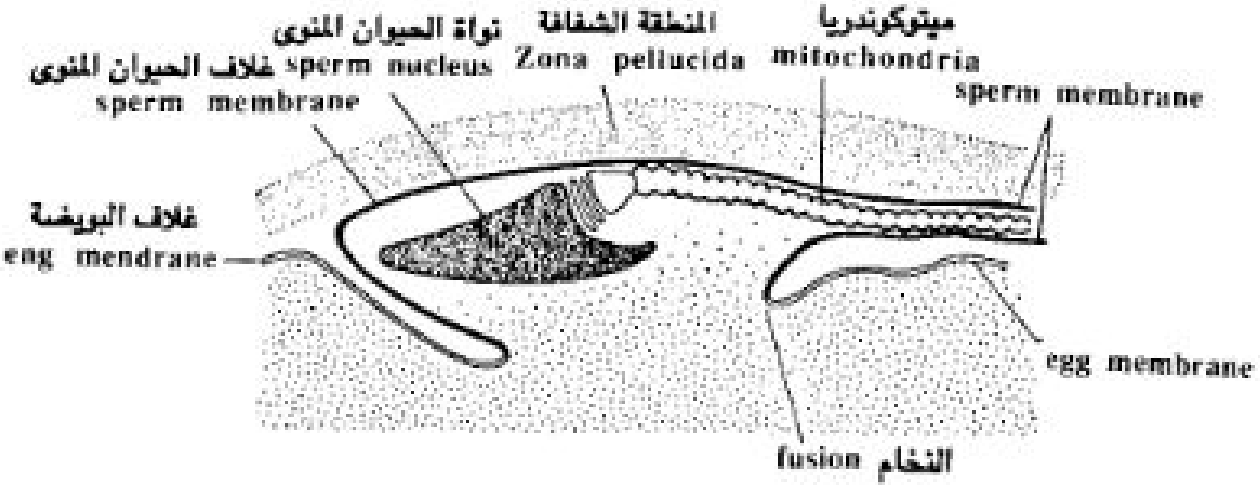
علي الحيوان المنوى في كل الحيوانات الرهلية ان يتحرك بعد وضعه في الجهاز التناسلي للأنثى حتى يصل إلى البويضة ويخصبها في بداية قناة البيض وقبل ان تفرز الأغشية حولها، ويظن ان بويضة الأنسان تخصب في التجويف البريتوني للجسم وقبل دخولها إلى قناة البيض. وتوجد أدلة كثيرة على أن الحيوان المنوى يجذب كيميائيا إلى البويضة في الحيوانات اللافقارية أما في الفقاريات فتوجد عوامل أخرى مساعدة فتقوم الأنقباضات الرحمية بدفع الحيوانات المنوية في اتجاه البويضة يساعدها في ذلك حركة الأهداب الداخلية والمخاط المفرز من الخلايا المبطنة للقنوات التناسلية للأنثى، والدليل على ذلك أن سرعة الحيوانات المنوية داخل الجهاز التناسلى للأنثى أكبر كثيرا من سرعتها العادية فمثلا سرعة الحيوان المنوى للثور هى مائة ملليمتر في الثانية وبذلك يلزمه ساعة ونصف لكى يصل إلى البويضة دون مساعدة خارجية ولكنه يصل عادة إلى البويضة بعد حوالى دقيقتين ونصف فقط بمساعدة العوامل الداخلية المذكورة وقد وجد أن الأنقباضات الرحمية تحدث بأنتظام فى الثدييات وتختلف سرعتها بأختلاف التوقيت في الدورة التناسلية.

التحام الحيوان المنوى مع البويضة :

من أهم النظريات التي توضح التحام الحيوان المنوى بالبويضة هي تفاعل المادة المخصبة التي تفرزها البويضة مع المادة المضادة للأخصاب المفرزة من الجسم القمى



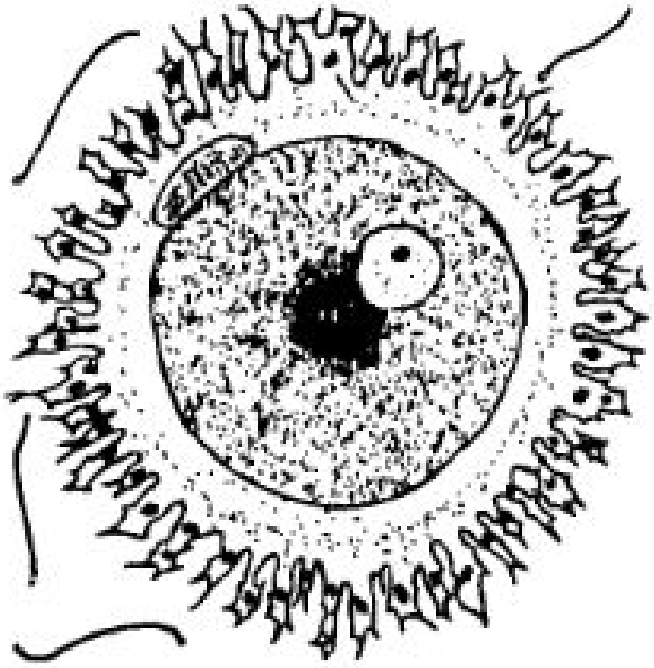
شكل ٥ : مسار الحيوان المنوى داخل الجهاز التناسلى لأنثى الثدييات



شكل ٦ : حيوان منوى لفأر بعد اخصابه للبويضة ويرى داخلها وقد التحم جدارهما

الموجود في مقدم رأس الحيوان المنوى وهى مواد بروتينية مع سكريات. وهذا التفاعل على درجة عالية من التخصص بحيث لايحدث إلا بين الأنواع المتشابهة جدا من حيوانات المجموعة الواحدة.

وتوجد طريقتان لدخول الحيوان المنوى إلي البويضة فهو أما أن يلتهم أو يخترق بنشاط جدار البويضة والطريقة الثانية هى الأكثر شيوعا بين الحيوانات. ففي بعض الديدان وفى الفأر يمتد جدار البويضة إلى الخارج على شكل مخروط ليقابل حافة الجسم القمي الموجود في رأس الحيوان المنوى وعند نقطة الألتقاء ينوب الغشاء المخى وتلتحم اغشية البويضة والحيوان المنوى، وتنتقل مكونات الحيوان المنوى إلى البويضة، وهذا الألتحام يمكن نواة الحيوان المنوى من الدخول إلى البويضة دون أن يعترضها غلاف الحيوان المنوى أو البويضة، وقد وجد بالفعل أنه إذا حقن حيوان منوى لقنفذ البحر داخل البويضة بواسطة ماصة دقيقة، لاتنشط البويضة أو تخصب ولا تتغير الأنوية وذلك لوجود غلاف الحيوان المنوى داخل جدار البويضة.

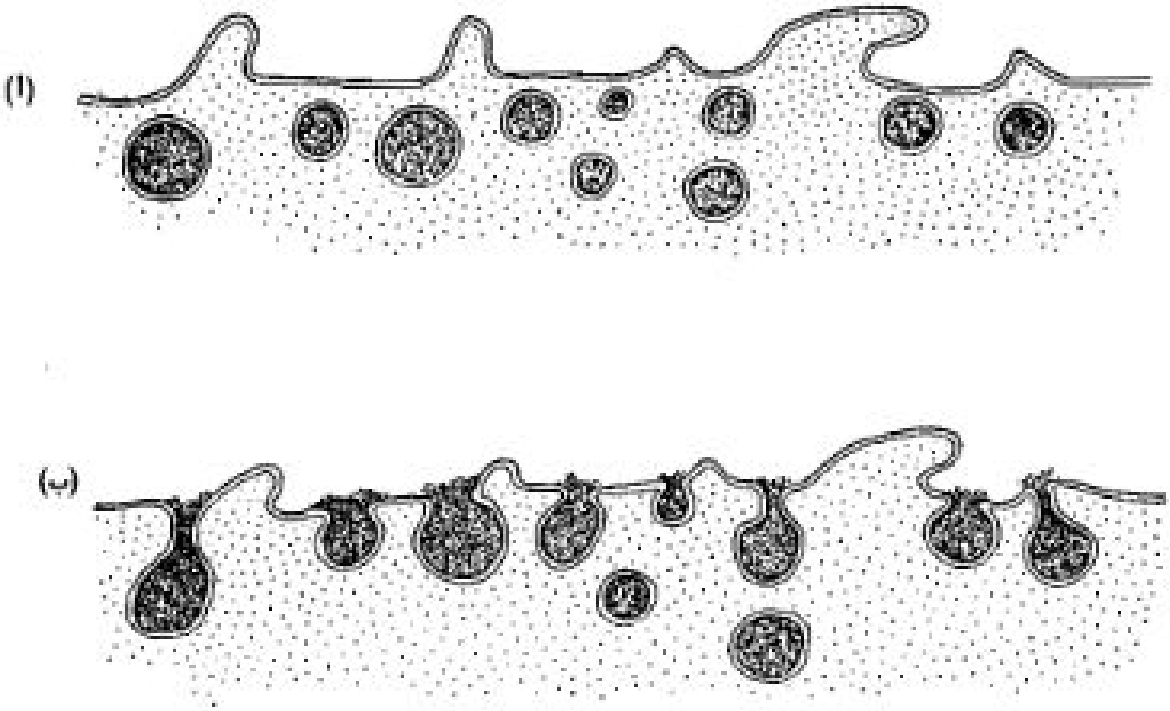


شكل ٧ : بويضة ناضجة للأنسان محاطة بالمنطقة الشعاعية والحيوانات المنوية

منع تعدد الحيوانات المنوية داخل البويضة :

بدخول أحد الحيوانات المنوية داخل البويضة والتحام النواتين الأوليتين لهما يستعاد الرقم الزوجي للكروموسومات، وتستطيع معظم الحيوانات منع أكثر من حيوان منوى واحد من الالتحام بالبويضة حتى لاتتضاعف اعداد الكروموسومات وذلك بأفراز غشاء الأخصاب الذى يتكون بعد دخول الحيوان المنوى إلى البويضة مباشرة ويمنع دخول اى حيوانات أخرى بعد ذلك، وهذا الغشاء يتكون فى خيار البحر والفئران بانفجار عدد كبير من الحبيبات الحافية الموجودة تحت جدار البويضة مباشرة وهى تتكون من جهاز جولجى وتختفى بعد عملية الأخصاب.

أما في البويضات الكبيرة الحجم مثل بيض الطيور فيدخل عدد كبير من الحيوانات المنوية إلى البويضة ولكن واحد فقط هو الذى يتحد بنواتها، ويقال أن الحيوانات المنوية الزائدة تتجمع حول القرص الجرثومى ثم تنقسم انقسامات اختزالية قبل أن تتحلل كلية.



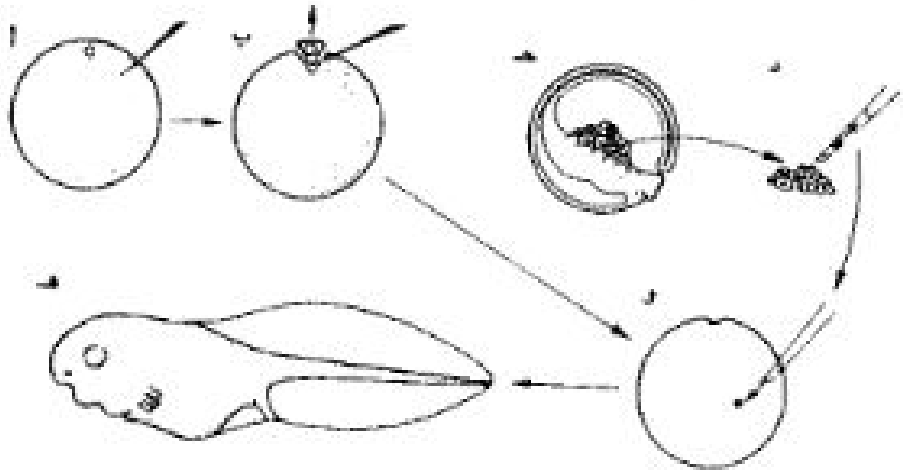
شكل ٨ : الحبيبات الحافية فى القار قبل الأخصاب (أ) وانفجارها بعد الأخصاب مباشرة (ب) لكى ينسكب منها سائل يكون غشاء الأخصاب حول البويضة ويمنع تعدد الحيوانات المنوية

التكـــاثر البكـــرى

قام عالم البيولوجي باتيلون في عام ١٩١٠ بثقب بيض ضفادع غير مخصب بواسطة ابرة معدنية، وتمكن بذلك من تنشيط البويضات ودفعها لتكوين يرقات أبى زنبية طبيعية، ونما بعض منها بالفعل مكونا ضفادع كاملة صغيرة، وتثبت تجارب التكاثر البكرى المشابهة أن البويضة بمفردها لها القدرة الكاملة على النمو لأنها تحتوى على نصف عدد الكروموسومات في نواتها وهذه تحمل مجموعة كاملة من الصفات الوراثية.

والتكاثر البكرى يحدث في معظم الرتب الحيوانية واصبح الطريقة الطبيعية للتكاثر في الكثير من الحشرات، وإذا كان التكاثر الجنسى هو طريقة التكاثر الطبيعية فإن المواد الكيماوية والحرارة والصدمات والتدخل الكهربائى والميكانيكى لها القدرة جميعا على تنشيط النمو فى غياب الحيوان المنوى، ولكن يتميز التكاثر الجنسى بتكوين أنواع جديدة من الأزدواجات الكروموسومية مما يساعد على تحسين النوع والقدرة على ملائمة البيئة.

وعلى الرغم من احتواء الحيوان المنوى على نفس عدد الكروموسومات الموجودة في البويضة فإن قدرته على تكوين كائنات جديدة بمفرده تكون صعبة لأنه يحتوى على كمية قليلة من السيتوبلازم الذى يحتوى على معظم المواد الغذائية ومصادر الطاقة اللازمة لبناء الجنين، ولكن تمكن العالم الألمانى تيودور بوفارى في نهاية القرن الماضى من الحصول على كائنات عديمة الأم بتكسير بيض ملقح لقنفذ البحر بخضه حتى تكسر إلى أجزاء صغيرة، ووجد بين هذه الأجزاء جزء يحتوى على نواة حيوان منوى فقط وقد نما بالفعل هذا الجزء بدون الجينات الأنثوية واعطى يرقات طبيعية. وتسمى مثل هذه الكائنات الناتجة من جزء فقط من البيض كائنات جزئية.

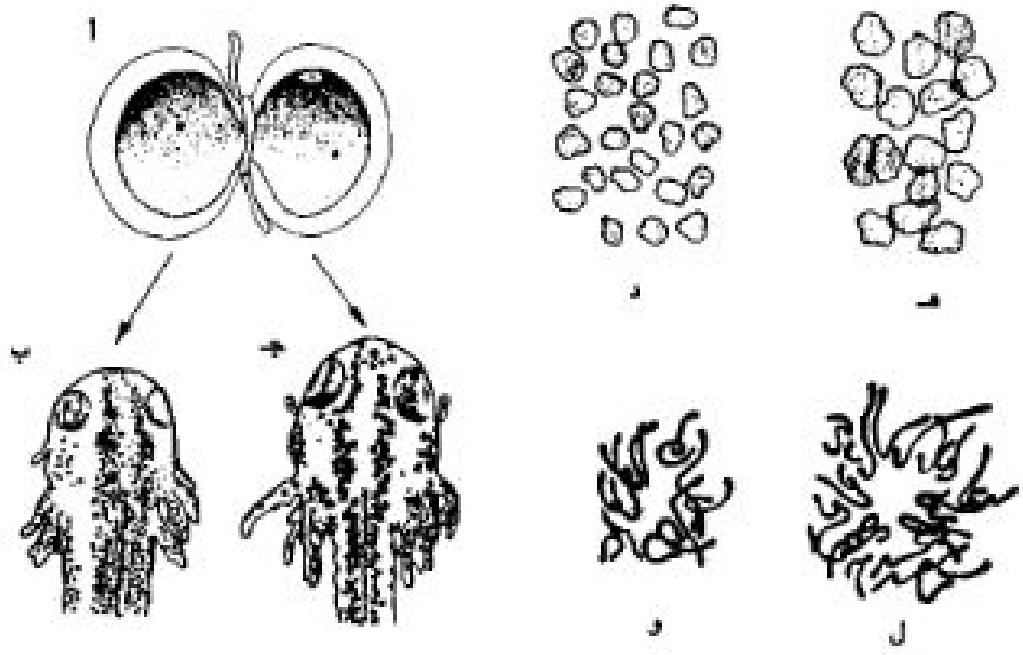


شكل ٩ : تجربة توضح إمكان تكوين يرقة ضفدعة من بيضة نشطت أولا بالوخز بأبرة ثم ازيلت نواتها ونقل إليها بواسطة ماصة نواة من جنين أكبر سنا

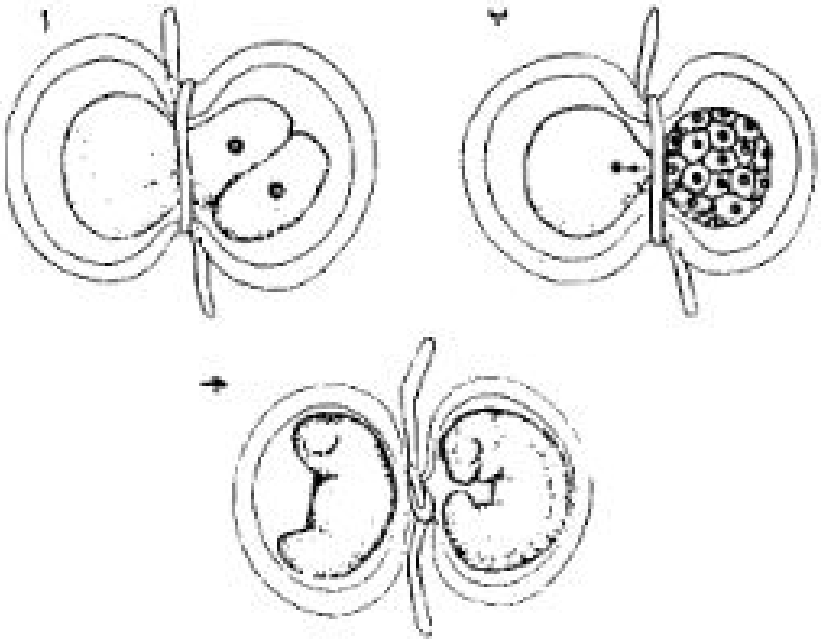
وقد تمكن العالمان سبيمان وبالتزر من الحصول على حيوانات جزئية بعد ملاحظتهم أن بويضات النيوت تخصب بعدة حيوانات منوية. فقاما بربط بيضة نيوت حديثة الوضع بشعرة طفل بحيث احتوى نصف البويضة على نواة والنصف الآخر ظل عديم النواة، وخصب كلا الجانبين بحيوان منوى أو أكثر، فأعطى النصف المحتوى على نواة البويضة حيوان طبيعى مزدوج الكروموسومات تحتوى كل نواة فى خلاياه على ١٢ كروموسوم قادم من الأم و١٢ كروموسوم قادم من الأب، بينما أعطى النصف الآخر المحتوى على النواة الذكرية فقط كائنا عديم الأم تحتوى كل خلية من خلاياه على نصف عدد الكروموسومات فقط، وتوضح هذه التجربة أيضا قدرة نصف البويضة على تكوين حيوان كامل، وهذا مايحدث فى حالات تكون الأجنة المتشابهة فى الثدييات.

ويمكن التفرقة بين يرقات النيوت ذات الكروموسومات الكاملة والأخرى المحتوية علي نصف عدد الكروموسومات ظاهريا لأن حجم الخلايا فى النوع الأول تكون أكبر وتكون افتح لونا، لأن الحيوان المحتوى على نصف عدد الكروموسومات يحاول تعويض النقص فى حجم الخلايا بزيادة الأنقسام الخلوى مما يجعله محتويا على عدد أكبر من الخلايا اللونية تكسبه لونا قاتما، كما يتيح عد الخلايا الموجودة على حافة الزعنفة وملاحظة حجمها التمييز بينها ولكن بالطبع عد الكروموسومات هو الأثبات المباشر على وجود حيوان جزئى.

وعلى الرغم من التفاوت الكبير فى مقدار النمو الحادث فى الحيوانات الجزئية فإن معظمها يفشل فى النمو عند مراحل أوليه فمعظم اليرقات المحتوية على نصف عدد الكروموسومات تظهر عليها اعراض مرضية فتكون ذات رؤوس مفلطحة وعيون صغيرة وخياشيم ضامرة، وهذه الأختلافات فى النمو ترجع الى تمثيل الجينات المتنحيه والغير مرغوب فيها وعدم وجود جينات مقابلة سائدة والتى تكون سليمة غالبا وتعمل على اخفاء الأثر السيىء للجينات المنتخية بواسطة الأخرى الطبيعية كما تصاب هذه الكائنات بالتشوه فى معظم الأحوال.



شكل ١٠ : تكوين كائن جزئي لحيوان النيوت بربط بويضته بشعرة طفل وجعل نصف البويضة ينمو بدون نواتها ليعطي كائن جزئي له نصف عدد الكروموسومات قادم من حيوان منوي للأب (ب) أما النصف الآخر المحتوى على نواة البويضة فيعطي حيوان طبيعي (ج) وتظهر خلايا الحيوان الجزئي صغيرة قاتمة (د) والأخرى كبيرة فاتحة (هـ) ونصف عدد الكروموسومات الموجودة في الحيوان الجزئي (و) والكروموسومات الزوجية العادية (ل).

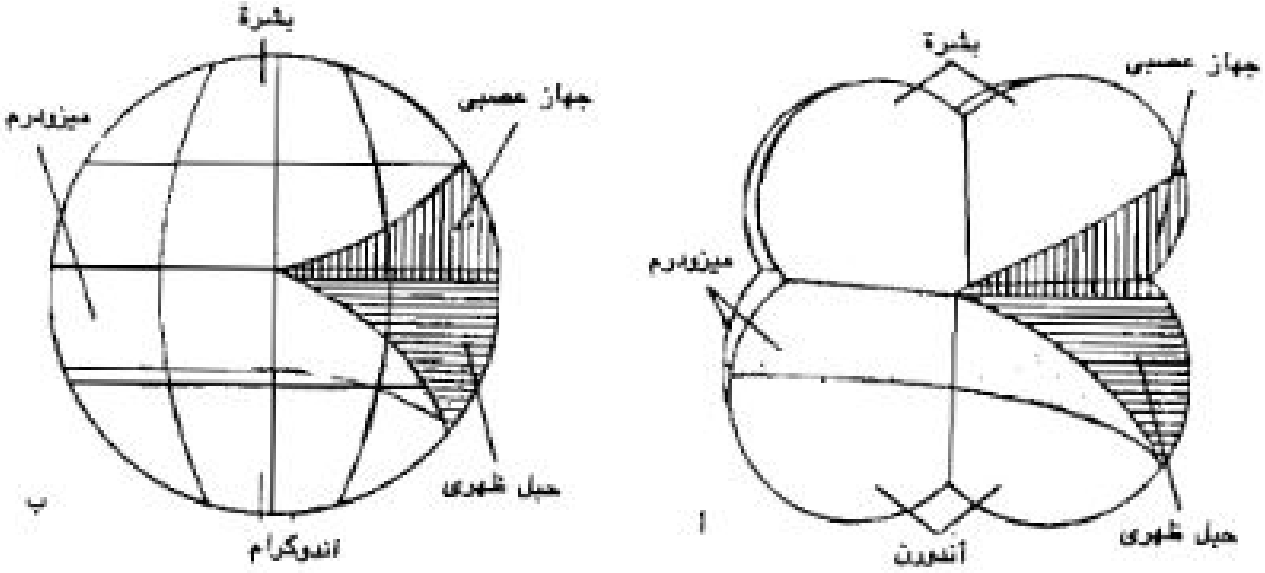


شكل ١١ : تجربة ربط فيها زيجوت النيوت بحيث احتوى جزء على النواه والآخر خاليا منها (أ) لفترة، ثم أطلقت نواة بعد فترة من الزمن من الجزء المنقسم إلى الخالي (ب) يتكون يرقتان طبيعيتان احداهما متقدمة في النمو عن الأخرى (جـ).

خرائـــط المصـــير

تتم عملية التبطين في أجنة الحيوانات المختلفة بطرق مختلفة، ففي السهيم حيث تكون البلاستله عبارة عن كرة ذات جدار متكون من صف واحد من الخلايا تحدث هذه العملية بانغماد الخلايا الكبيرة التي ستكون الأندودرم فيما بعد داخل الخلايا الأكتودرمية الصغيرة الحجم بطريقة مشابهة عند انضغاط كرة قدم خالية من الهواء. وتتم هذه العملية في البرمائيات بهجرة بعض الخلايا الكبيرة إلى داخل البلاستوله عن طريق فم البلاستوله وانغماد بعض الخلايا الصغيرة الموجودة عند الشفة العليا لفم البلاستوله والتي ستكون الحبل الظهرى فيما بعد وزحف الخلايا الصغيرة بواسطة الأنقسام الخلوى السريع لتغطى بقية الخلايا الكبيرة. أما فى البويضات الكثيرة المح للطيور حيث توجد كمية هائلة من المح تحت القرص الجرثومى فتتم عملية التبطين بواسطة انفصال الخلايا السفلية للقرص الجرثومى ثم تجمعها لتكون طبقة الأندودرم.

وقد حاول العلماء اثبات هذه النظريات بالتجارب المعملية. كما حاولوا معرفة مصير كل منطقة من البلاستوله في الجنين القادرة. وقاموا بصبغ بلاستولة السهيم أو البرمائيات أو الطيور بوضع البيض بين رقائق الجيلاتين المشبع بالصبغة أو نثر كمية من هذه الصبغات الغير مؤذية علي سطح البيض المخصب فتتلون مناطق محددة من الأجنة يسهل تتبعها في مراحل النمو التالية.

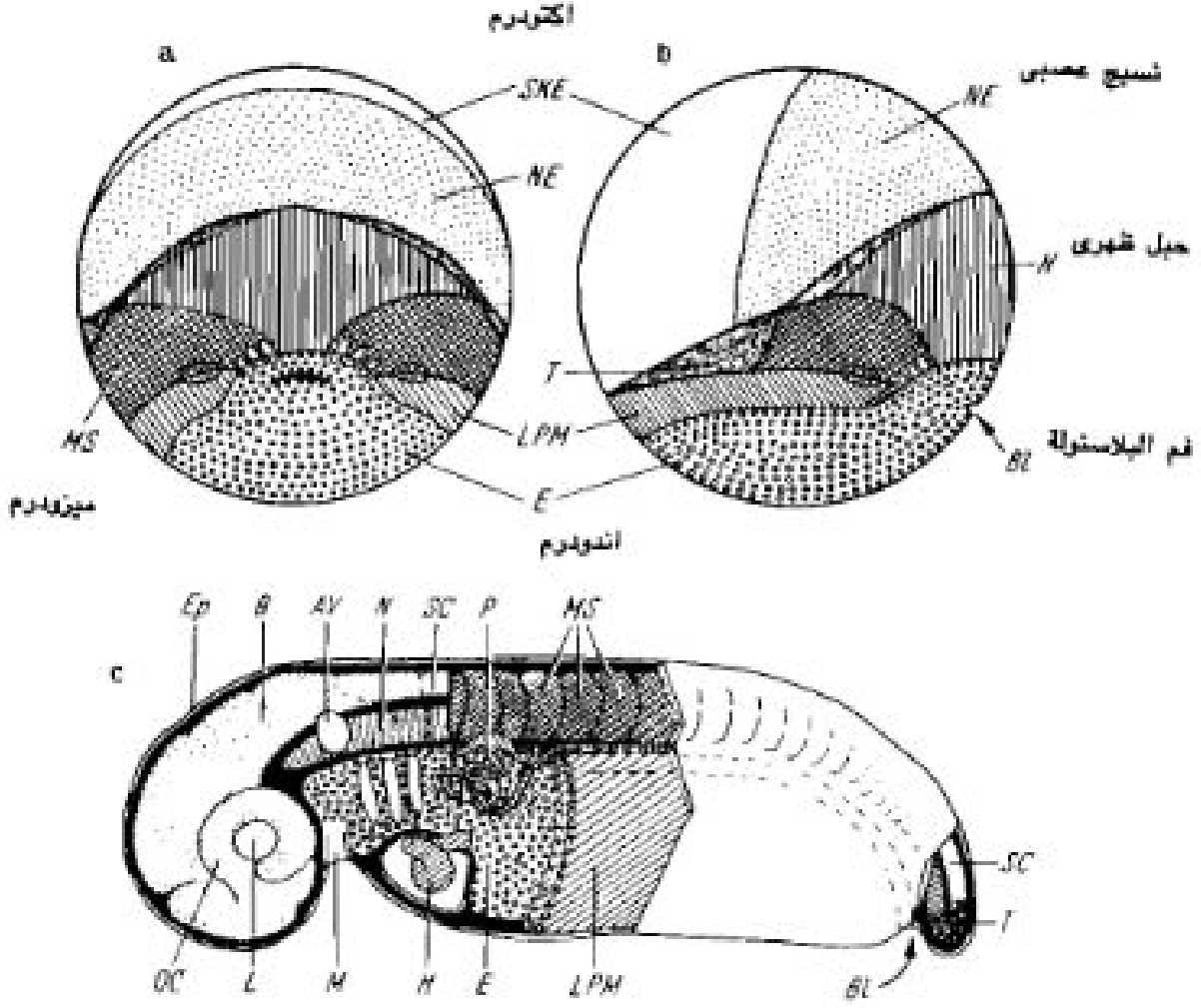


شكل ١٢ :

(أ) خريطة المصير لحيوان السهيم في مرحلة ٣٢ قلجة

(ب) خريطة المصير لجنين السهيم في مرحلة الثمان قلجات

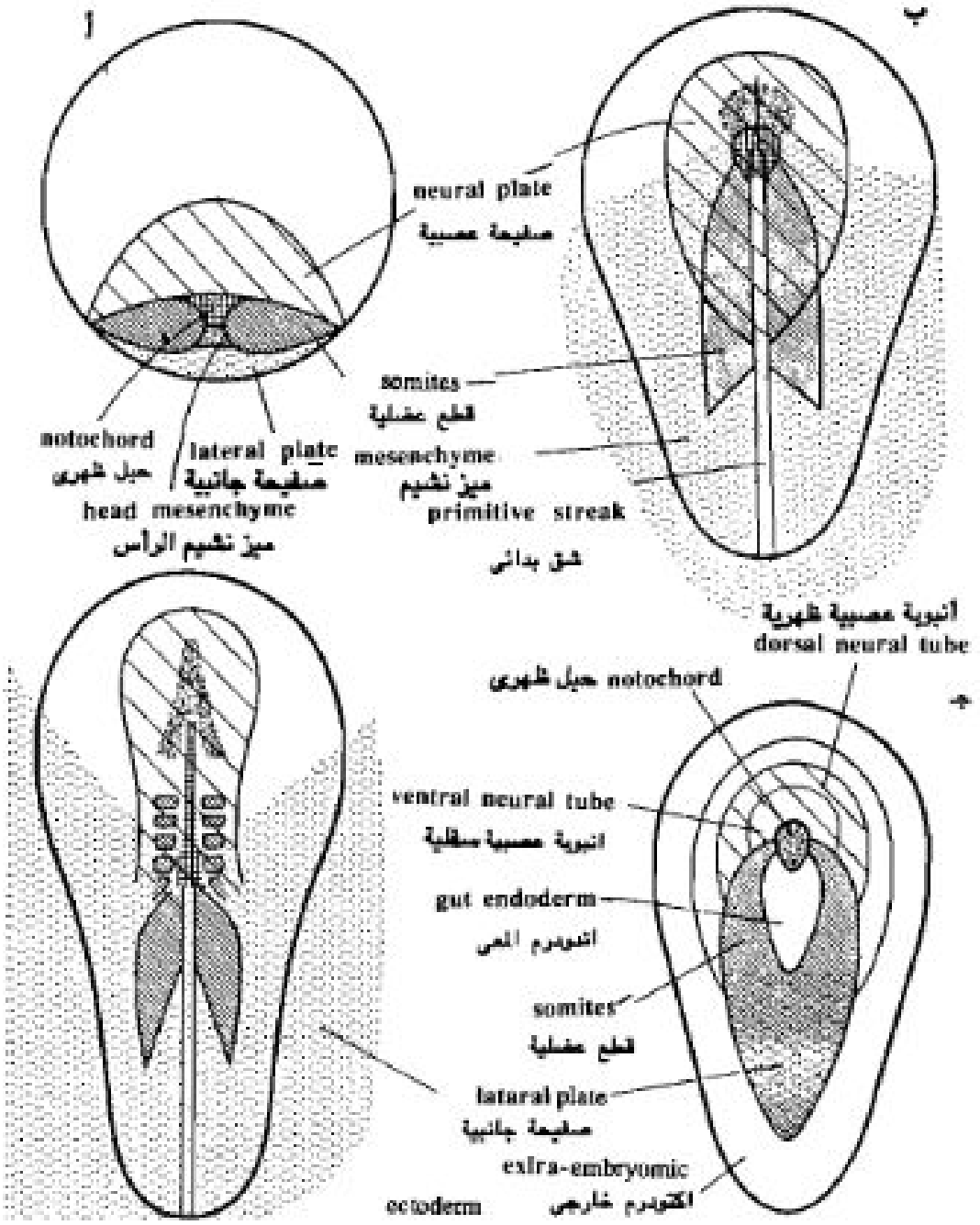
وأظهرت هذه التجارب أنه بالنظر للسطح الظهرى لهذه البويضات أن الجزء السفلى منها سوف يعطى الأندودرم والنصف العلوى سيكون الأكتودرم وتقع الصفيحة العصبية تحت الأكتودرم مباشرة. بينما يقع الحبل الظهرى المتكون أمام الأندودرم مباشرة، ويقع النسيج الذى سيكون الميزودرم فيما بعد على جانبى النسيج المكون للحبل الظهرى، أما فم البلاستولة الذى سيحدد النهاية الخلفية للحيوان الجديد فيقع فى وسط النسيج الذى سيكون الأندودرم.



شكل ١٢ : خريطة المصير لجنين الضفدعة، (أ) منظر ظهرى، (ب) منظرجانبى و(ج) برقة الضفدعة وقد تكونت أعضائها الأساسية.

وفى حالة جنين الطيور ينمى القرص الجرثومى خارج البيضة فى مزرعة جنينية أو تفتح نافذة فى قشرة البيضة وتغطى بزجاج معقم لرؤية الجنين أثناء نموه بالداخل، ويوضع على مناطق متفرقة من الجنين كربون أو كارمين أو أى صبغة أخرى غير مؤذية، وأوضحت هذه التجارب عدم وجود خلايا أندودرمية إطلاقا على سطح القرص

الجرثومى. أما الأنسجة التى ستكون الأكتودرم والنسيج العصبى والحبل الظهرى والميزودرم فتوجد فى مناطق مشابهة لتلك الموجودة فى السهيم والبرمائيات، وتقع الخلايا الأندودرمية فى الطبقة المبطنة للنهاية الخلفية للقرص الجرثومى (التى ستكون النصف الخلفى للحيوان بعد ذلك) ووجد أن الشق البدائى هو مكان انغماد النسيج الميزودرمى ويعمل بهذه الطريقة عمل فم البلاستولة فى السهيم والبرمائيات كما أنه يحدد الجزء الخلفى لجنين المستقبل ويبدأ تكوين الأندودرم اسفله.



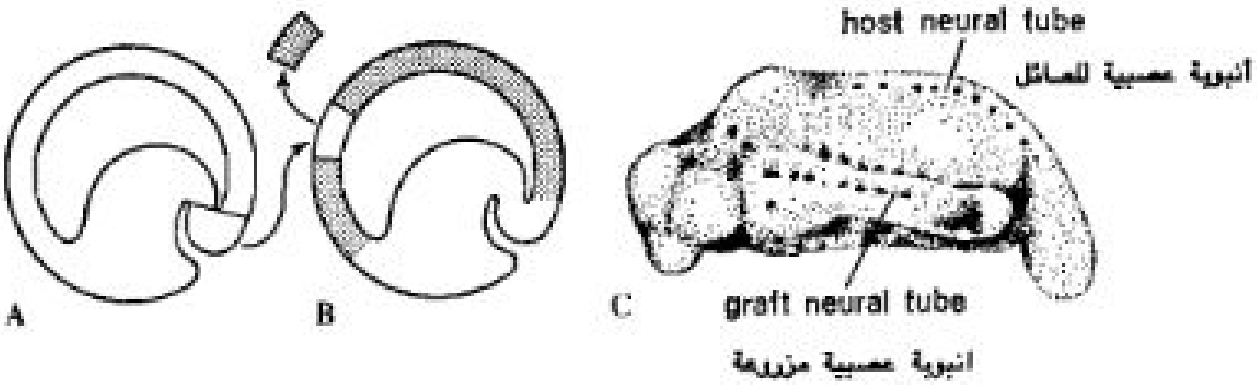
شكل ١٤ : خرائط المصير لجنين الكنكوت (أ) فى مرحلة بداية ظهور الشق البدائى (ب)، (ج) فى مرحلة ظهور زائدة الرأس، (د) فى مرحلة ظهور أربعة أزواج من القطع الميزودرمية أى فى حوالى عمر ٢٤ ساعة.

الحوافـــز الجنينيـــة

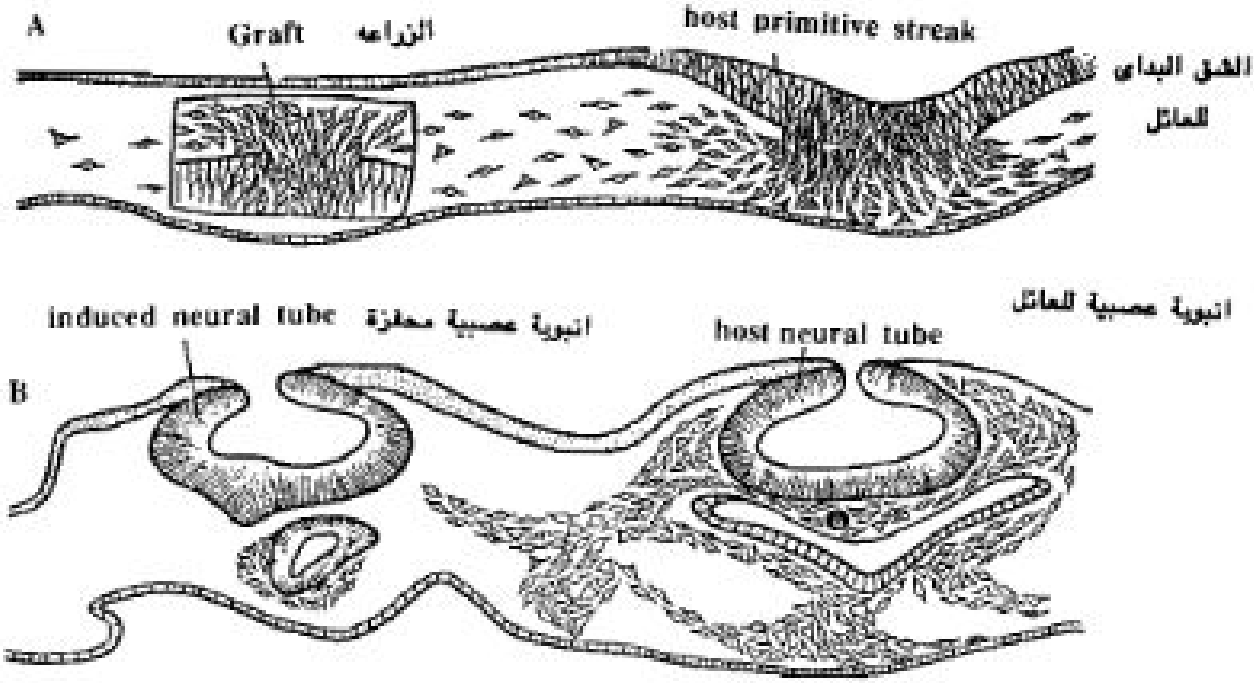
لوحظ أن الخلايا والأنسجة الجنينية تتأثر بوجود أو غياب الأنسجة المجاورة وتعتمد عليها في دفعها إلى التميز الطبيعي الخاص بها وهذا يسمى بالحافز أو التأثير الجنيني.

وقام العالم سبيمان في عام ١٩١٨ بزراعة قطعة من الشفة العليا لفم البلاستولة لحيوان برمائي في منطقة الأكتودرم العصبي لجنين آخر مماثل في النوع وفي نفس المرحلة من النمو وحصل بهذه الطريقة على جنين ثان بجوار الأصلي. وتمكن هذا العالم في عام ١٩٢٤ من تعديل التجربة حتى يستطيع التمييز بين أنسجة الجنين المضيف والأنسجة القادمة من النسيج المزروع وذلك بأخذ النسيج المزروع من نوع آخر من البرمائيات يختلف عن النوع المضيف في لون الخلايا، وبذلك أصبح من السهل تمييز أنسجة المضيف من الأنسجة الناتجة من الجزء المزروع، ووجد أنه في الحيوان الزائد تكون الأنسجة العصبية قادمة من الحيوان المضيف أما الحبل الظهري فكان نسيجه خليط من الحيوان المضيف والنسيج المزروع.

ويتضح من ذلك أن الجزء المزروع قد أثر على أنسجة العائل لتكون حبل عصبي جديد كما وجد أن الأنسجة المأخوذة من مناطق أخرى من الحيوان المعطى لايمكنها أن تؤدي إلى هذه النتيجة. وفهم سبيمان من ذلك أن الشفة العليا لفم البلاستولة لها صفات خاصة تؤهلها لتنظيم الأنسجة المحيطة بها لتكون حبل عصبي.



شكل ١٥ : تجربة سبيمان الشهيرة التي توضح قدرة الشفة العليا لفم البلاستولة على دفع أنسجة الحيوان المضيف لتكوين حبل عصبي وظهري جديدين



شكل ١٦ : الحافز الجنيني في الطيور يظهر عند وضع قطعة من النهاية الأمامية للشق البدائي تحت الأكتودرم لجنين آخر مضيف وبعد ٢٤ ساعة من الحضانه تكون محور جنيني ثانوي.

واظهر العالم وادنجتون في عام ١٩٣٢ نفس النتائج في الطيور. فقد قام باستخراج القرص الجنيني للدجاج وزرعه خارج البيضة في زجاجة ساعة ثم استخرج عقدة هنسن من جنين آخر مماثل في النوع وفصلها عن كل الأنسجة الملتصقة بها من أسفل ثم زرعها تحت الأكتودرم في المنطقة الشفافة للقرص الجنيني للجنين الأول. وقد حفز النسيج المزروع تلك المنطقة لتكوين محور جنيني ثانوي لايتكون في الحالة الطبيعية للنمو، وتبين من ذلك أن عقدة هنسن المزروعة لها القدرة على العمل كحافز جنيني.

تعريف المحفز :

هو أي نسيج أو عامل يحفز أي نسيج آخر على التميز.

تجارب تثبت وجود المحفز :

التجربة الأولى :

إذا ازيل محفز لأحد الأعضاء أو بطل مفعوله فإن هذا العضو لايتكون، فمثلا عند إزالة الكأس البصرى لاتتكون العدسة إطلاقاً.

التجـربة الثانيـة :

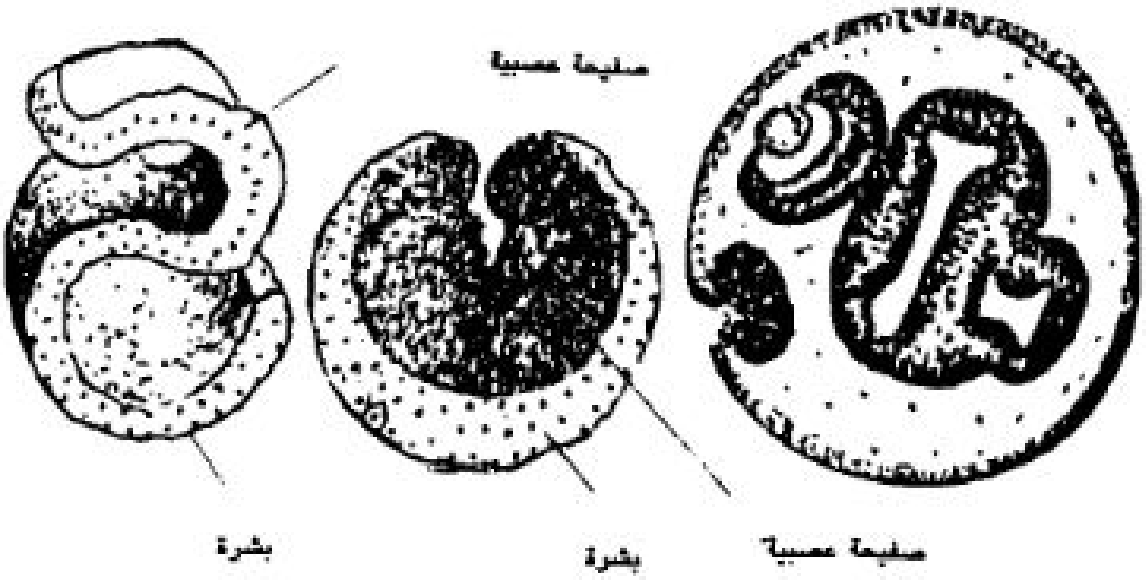
إذا زرع النسيج المتفاعل بعيدا عن المحفز فإنه لاينشط ولايمشي في مساره الطبيعي فعند زراعة النسيج الأكتودرمي المكون للعدسة بعيدا عن الكأس البصري يفشل في تكوين العدسة.

التجـربة الثالثـة :

إذا زرع النسيج المحفز في منطقة أخرى من الجنين فإنه يدفع النسيج في منطقة الزراعة إلى تكوين عضو لايكونه اصلا، فمثلا إذا زرع الكأس البصري تحت النسيج الأكتودرمي العصبي في مكان بعيد عن مكان العين الأصلي تتكون عدسة في هذا المكان الجديد الذي لاتتكون فيه طبيعيا.

التجـربة الرابعـة :

إذا جمع النسيج المحفز مع نسيج لايتفاعل معه في الحالة الطبيعية في الجنين أو خارج الجنين فإن تفاعل قد ينشأ بينهما في حالة إذا كان النسيج المتفاعل ذي أصل جنيني ملائم للمحفز.

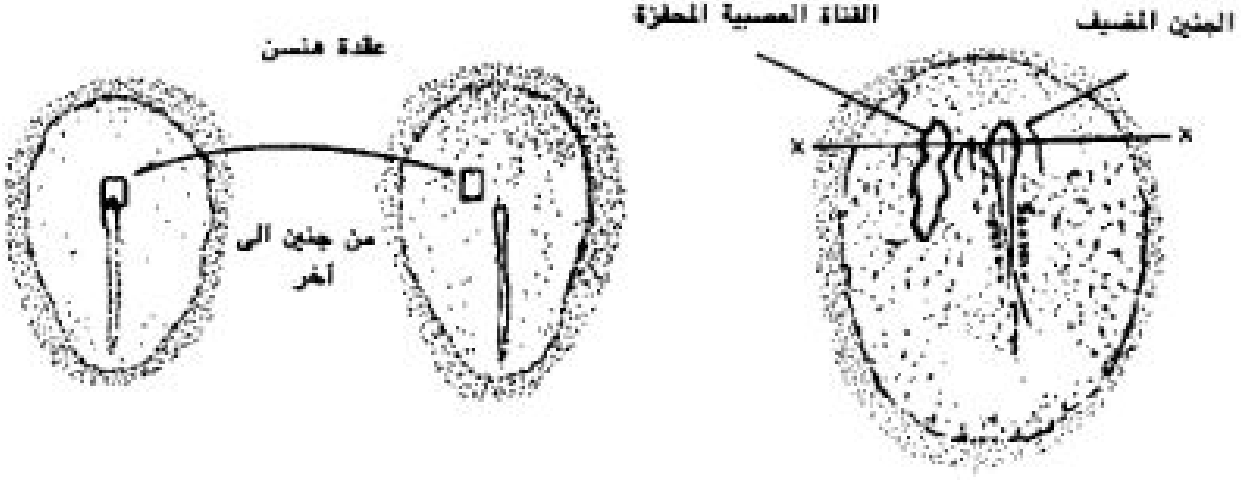


شكل ١٧ : تكوين وتميز الأنبوبة العصبية والعين والعدسة وعضو الشم من جزء صغير من الأكتودرم والأكتودرم العصبي لجنين السلامندر.

بعض خصائص المحفز :

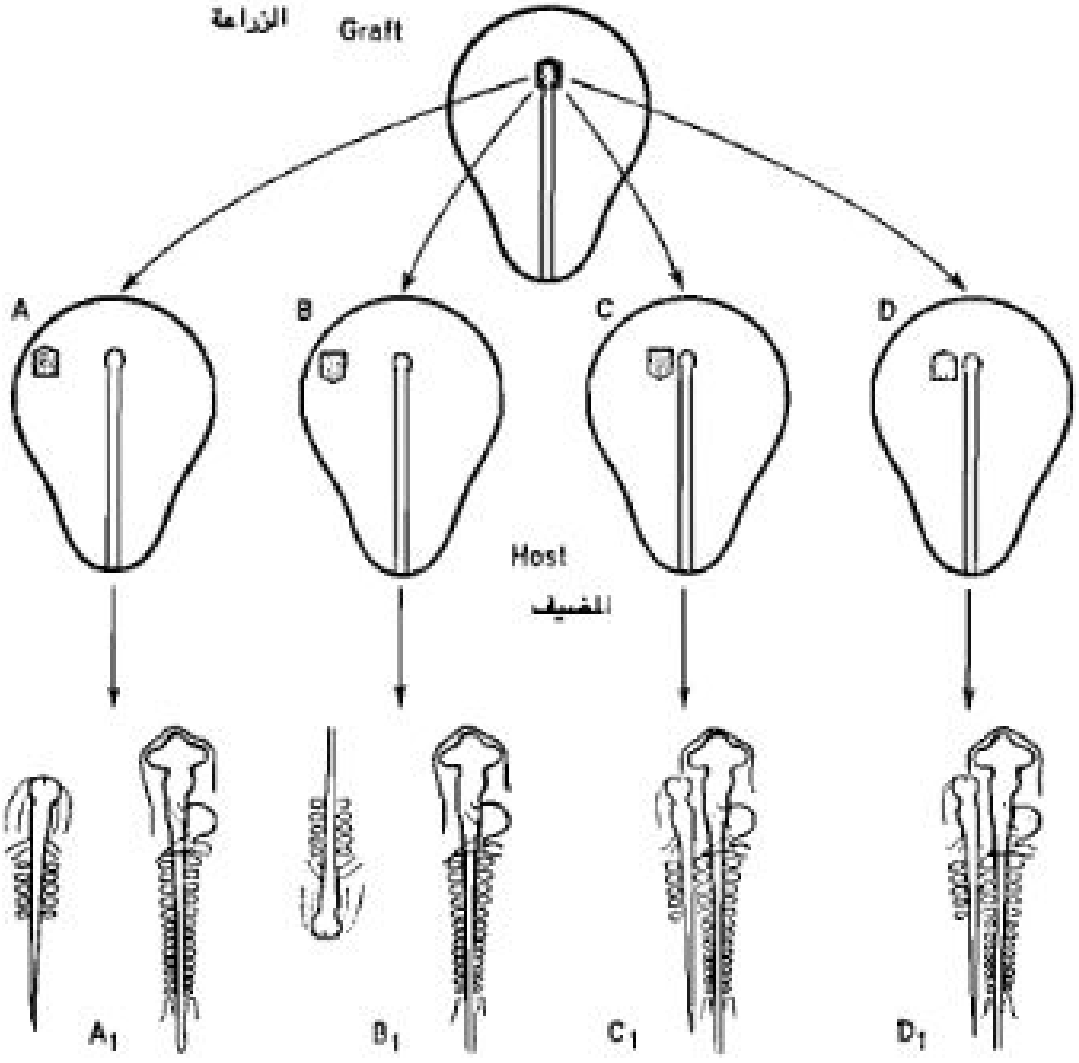
- تتأثر عملية التحفيز بموضع النسيج المحفز والنسيج المتفاعل فمثلا قطعة مزروعة من المحفز الذيلى لحيوان برمائى والموجودة فى آخر منطقة الأمعاء إذا دفنت فى منطقة رأس الجنين المضيف فإنها تدفعه لتكوين رأس جديد. وبالمثل إذا زرع الجزء الخلفى من الشق البدائى لجنين كتكوت، والذى يحفز فى الحالة الطبيعية تكوين الجزء الخلفى من الجنين، فى منطقة مجاورة لرأس الجنين المضيف فإنه يدفع هذه المنطقة لتكوين رأس ثان.

- إذا زرعت عقدة هنسن من جنين دجاجة فى مرحلة أكتمال الشق البدائى تحت اكتودرم جنين آخر فى نفس المرحلة من النمو فإنه يتكون أولاً فى الجنين المضيف مخ أمامى ثم مخ متوسط فمخ خلفى، وتعتبر عقدة هنسن أساسا مكونة للرأس ولكن أثناء رجوعها للخلف تدفع الجزع ثم الذيل للتكون، وتعتبر عقدة هنسن مفتاح تميز جنين الكتكوت داخل المنطقة الشفافة ووظيفتها مشابهة لوظيفة الشفة العليا لفم البلاستولة فى الحيوانات الأخرى.



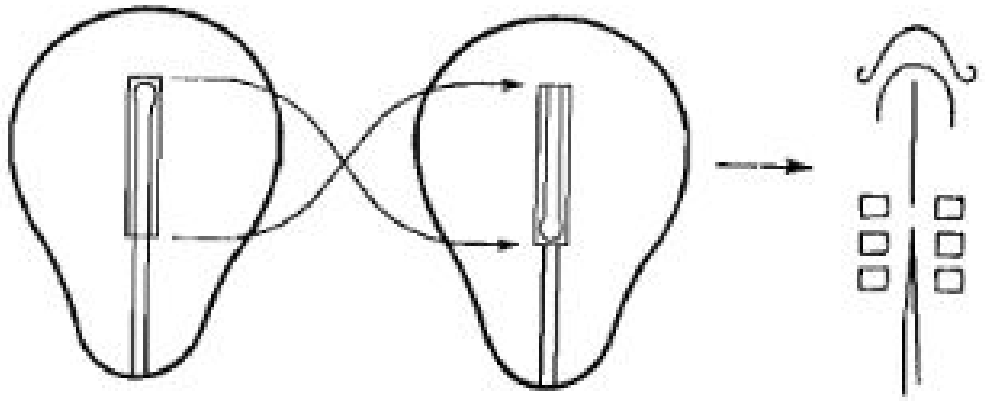
شكل ١٨ : أثر عقدة هنسن فى تكوين جنين كتكوت ثانوى بجوار آخر مضيف

- إذا زرعت المنطقة الأمامية من عقدة هنسن على حافة المنطقة الشفافة لجنين كتكوت مضيف فإنها تحتفظ بوضعها الأصلي وتفرضه على المحور الثانوى الذى تحفزه. ويحدث هذا حتى إذا كان وضع القطعة المزروعة بعكس وضع الجنين الأصلي، ولكن إذا وضعت القطعة المزروعة بجوار الشق البدائي للجنين المضيف مباشرة فإن المحور الجنيني الثانوى النامي يأخذ نفس وضع الجنين المضيف بصرف النظر عن وضعه الأصلي. وهذا يحدث نتيجة لتأثير نشاط المنطقة الأمامية للشق البدائي والأنسجة الموجودة حولها والتي تسمي مركز الجنين.



شكل ١٩ : تجربة توضح أثر قرب أو بعد النسيج المزروع عن النسيج المضيف في تكوين الجنين الثانوى

- يقع الشق البدائي تحت تأثير المنطقة الشفافة ككل فإذا نزع النصف الأمامي من الشق البدائي وزرع مرة أخرى في جدار البلاستولة في اتجاه عكسي فإن وضعه يتأثر بشدة بالأنسجة المحيطة به بحيث ينمو مرة أخرى حسب تأثيرها عليه وليس حسب وضعه المعكوس، ولكن هذا التأثير مرتبط بالإتجاه الأمامي الخلفي للحيوان وليس بالإتجاه الظهري البطني، فإذا زرع الشق البدائي بحيث يكون سطحه البطني لأعلى يستمر في النمو بهذا الشكل ولاينعكس وضعه تبعا للأنسجة المحيطة.



شكل ٢٠ : إستئصال الشق البدائي للمنطقة الشفافة ككل

- يلاحظ أن هناك تناسق بين أعضاء الجنين المضيف وأعضاء المحور الثانوي فتميل الرأسان لأن تكونا على نفس المستوى وبالمثل يكون مستوى القلب والقطع الميزودرمية في الجنين المضيف والمزروع، أما إذا تقارب محوري الجنينين بدرجة كبيرة يحدث التحام بين بعض أنسجتهما المتجاورة.

- تسمى قابلية نسيج ما علي التفاعل قدره، ويكون النسيج قادراً على التفاعل فى فترة معينة فقط من النمو، وكلما كان الجنين اصغر سنا كلما كان أكثر قدرة على التفاعل وبالمثل يفقد النسيج المزروع قدرته علي التحفيز بزيادة السن، ويظن أنه بمجرد انغماد الحبل الظهري وإتخاذ القطع الميزودرمية لمواقعها فإنها تفقد الكثير من قواها على التحفيز.

- يختلف الوقت اللازم لحدوث تحفيز بين قطعة مزروعة ونسيج متفاعل متجاورين من فصيلة حيوانية إلى أخرى فمثلا فى الأكسولتل يظهر الحافز العصبى بعد نصف ساعة

فقط من وضع القطعة المزروعة بجوار النسيج المتفاعل، بينما تستغرق العملية ست ساعات في جنين الكتكوت.

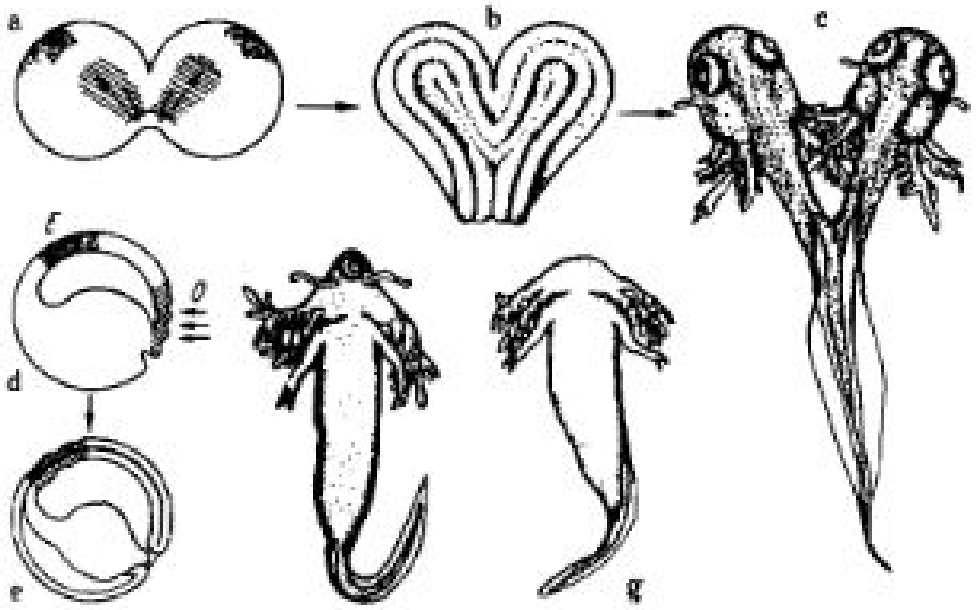
- يلزم تقارب شديد بين النسيج المزروع والنسيج المتفاعل حتى تنجح عملية التحفيز لأن هذه العملية تعتمد على إنتشار بعض المواد الكيميائية بين النسيج المزروع والجنين المضيف، وقد وجد عمليا أن النسيج المتفاعل يمكنه التجاوب والتمييز إذا وضع فى محلول سبق أن وضع فيه النسيج المحفز، كما أمكن تحفيز تكوين جهاز عصبى فى البرمائيات بواسطة إضافة أيونات الصوديوم أو البوتاسيوم فقط إلى الوسط التي تربى فيه.

المنظـــــم

عرف سبيمان المنظم بانه النسيج الميزودرمي الحبلي القادر بعد ذراعته في جنين آخر على تحفيزه لتكوين محور ثانوى جنينى. وقد قام هذا العالم بعمل عدة تجارب تعرف منها على طبيعة المنظم في البرمائيات.

التجـربة الأولـى :

كسر سبيمان بيض البرمائيات الذيلية إلي نصفين طوليين فى مراحل مختلفة من النمو بادئا بالبيضة الملقحة، ووجد أن كل نصف يعطى جنين كامل إذا أجريت العملية فى أى مرحلة قبل إكتمال الجاستروله، وأثناء عملية تكوين الجاستروله تنخفض بسرعة قدرة نصف البيضة على التكيف وتكوين جنين كامل، وعند نهاية عملية التبطين يعطى كل نصف بيضة نصف جنين فقط مهما كان مستوى القطع الحادث.



شكل ٢١ : تجربة سبيمان لتوضيح ان ربط الجنين قبل مرحلة الجاسترولة الكاملة يؤدى لتكوين جنينين، أما الحاق الضرر بالشفة العليا لفم البلاستولة فيؤدى لتكوين أجنة عديمة الرأس أو مشوه

التجـربة الثانـية :

قام سبيمان بعملية تبادل بين قطعة بيضاء من جلد ترتيون كريستاتس وقطعة بنية اللون من الصفيحة العصبية لترتيون تنياتس.

أولا :

قام سبيمان بهذه التجربة في بداية تكوين الجاسترولة وكانت النتيجة أن قطعة الجلد البيضاء التي زرعت في النسيج العصبي أعطت صفيحة عصبية مثل الأنسجة المحيطة.

وأعطت القطعة البنية من الصفيحة العصبية المزروعة في جلد التريتون الابيض جلدا مثل الأنسجة المحيطة بها. وبهذا يمكن القول أن قطعتي النسيج نمتا حسب المنطقة المحيطة بهما وليس حسب المنطقة القادمين منها في الأصل.

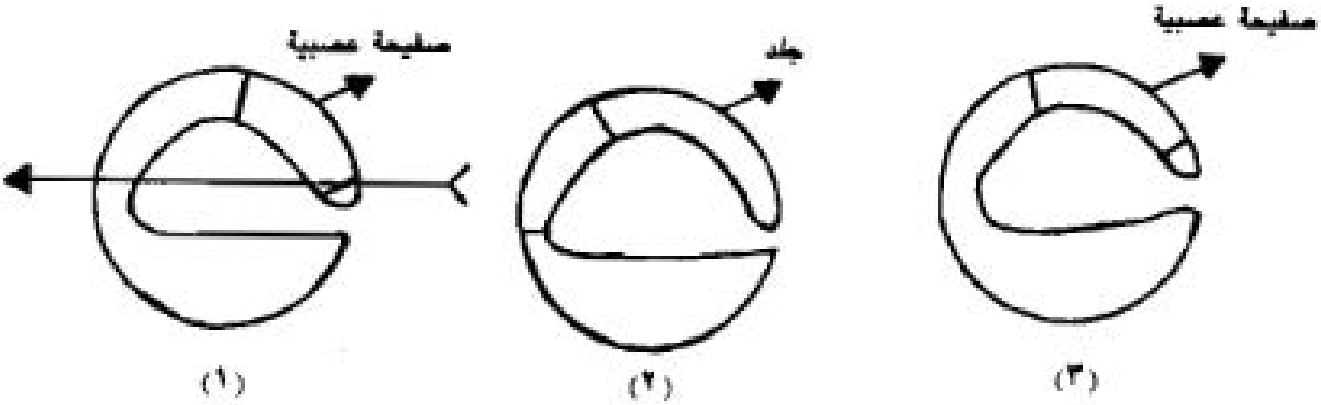
شكل ٢٢ : تجربة توضح تبادل قطعة جلد بيضاء ونسيج عصبي أسمر اللون بين اجنة البرمائيات الذيلية.

ثانيا :

قام سبيمان بنفس التجربة في الجاسترولة المتأخرة وكانت النتيجة عكسية تماما، فأعطت قطعة الجلد البيضاء المزروعة في منطقة الصفيحة العصبية جلدا، وقطعة النسيج العصبي البنية اللون والمزروعة في الجلد الأبيض صفيحة عصبية.

وقد فهم سبيمان من هذه التجربة أن تحديد نوعية الأنسجة ينتهي قرب نهاية مرحلة الجاسترولة، وتصبح أعضاء الجنين في هذا الوقت محددة المصير ولها القدرة على التميز الذاتي، كما عرف من هذه التجربة الفترة التي يتحدد فيها نوعية الأنسجة.

التجـربة الثالـثة :

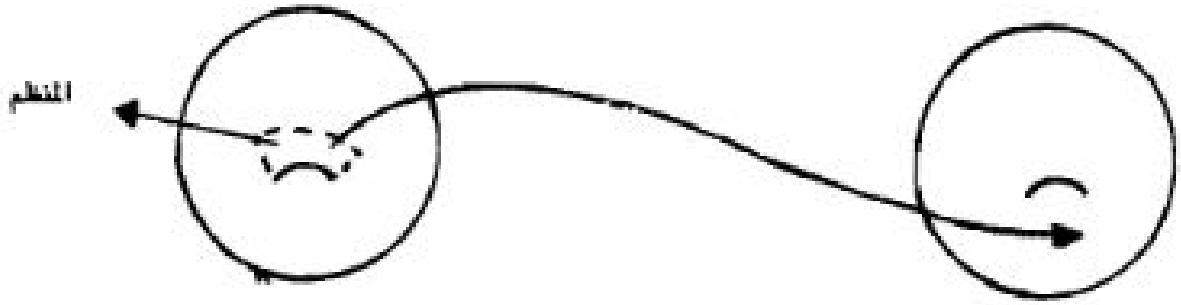


شكل ٢٣ : تجربة سبيمان للف النصف العلوى لجاسترولة البرمائيات ١٨٠°

أخذ سبيمان جاسترولة تنياتس وقطعها بالعرض إلى نصفين وأدار النصف العلوى نصف دورة بحيث تبادلت مناطق تكوين الجلد والصفيحة العصبية. وعندما التأمت الجاسترولة واستمرت فى النمو وجد أن الصفيحة العصبية تكونت كالمعتاد امام فتحة البلاستوبور، وهذا مكان طبيعي بالنسبة للنصف السفلى للجنين وغير طبيعي بالنسبة للنصف العلوى لأنه نما فى منطقة تكوين الجلد.

وقد وضحت هذه التجربة ان المحدد لنوع الأنسجة لابد أن يكون موجودا فى النصف السفلى للجنين واقترح سبيمان أن يكون مكانه هو فم البلاستولة.

التجـربة الرابعـة :



شكل ٢٤ : تجربة توضح زراعة الشفة العليا لفم البلاستولة
فى جنين مضيف من نفس النوع من البرمائيات

قام سبيمان بزراعة قطعة من فم البلاستولة في مناطق أخرى من البيض ووجدها تنمو في كل الأحوال لتعطي جزء من الحبل الظهرى وتحفز أو تدفع النسيج الأكتودرمى للعائل ليعطى أنبوبة عصبية في هذه المنطقة. أما قطع الأكتودرم المزروعة فهي لاتنمو في شكل معين ولكنها تنمو حسب المنطقة الجديدة المحيطة بها في الحيوان المضيف.

وهذه التجربة تظهر أن البلاستوبور مهم لتكوين المحور الجنينى وكمركز تنتظم حوله جميع أجزاء البيضة ويظن سبيمان أن وضع الزرعة الأكتودرمية بالنسبة للبلاستوبور هو المحدد الأساسى لمصيرها. كما تظهر التجربة بوضوح أن البلستوبور هو المنطقة المحددة لمصير الأنسجة حولها في الجنين. وقد ظهر فيما بعد أن المنطقة المحيطة بفم البلاستولة لها القدرة على تحديد مصير المناطق الأخرى وتزيد هذه القدرة كلما كانت المنطقة أقرب لفم البلاستولة وتضعف كلما بعدنا عنه.

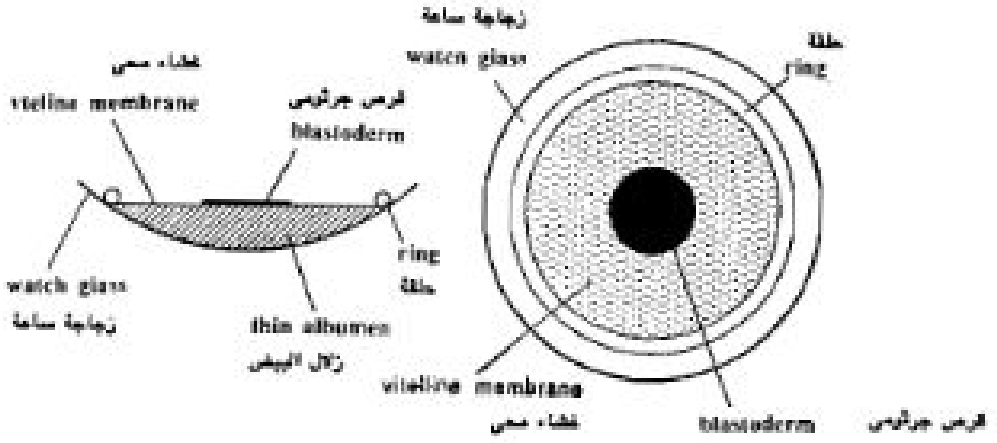
وقد أطلق سبيمان اسم المنظم علي قطعة النسيج التى تحدد مصير الأنسجة المحيطة بها بالطريقة السابق ذكرها، وأطلق اسم مركز التنظيم على الجزء من الجنين الموجودة فيه هذه القطعة. وقد وجد أن مركز التنظيم هو النسيج الذى سيكون الميزودرم فى المستقبل والذى ينغمد في فم البلاستولة وينتشر بعد ذلك داخل الجنين وفى بداية إنتشاره يكون على هيئة لسان فوق النسيج المكون للأمعاء، وفى هذا المكان يحفز أو يدفع النسيج الأكتودرمى الواقع فوقه لتكوين صفيحة عصبية. والنسيج الواقع على جانبى الصفيحة العصبية ليكون الجلد.

وقد مكن هذا الأكتشاف علماء الأجنة التجريبى من التحكم فى نمو الأنسجة وتغيير مسار البعض منها.

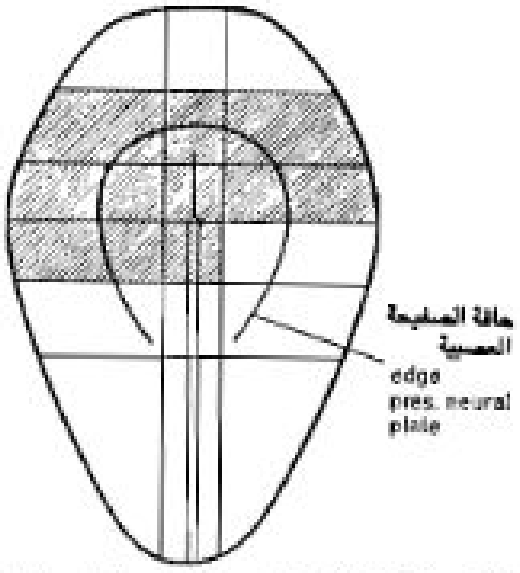
تجـــارب عـــزل الأنســـجة

من أكثر التجارب في القرن العشرين اثارة للاهتمام هي التجارب التي أجريت لدراسة كيفية تصرف قطع صغيرة من الأنسجة بعيدا عن المحيط الطبيعي لها. وبمعزل تام عن الخلايا الأخرى وذلك بزراعتها في مزارع للأنسجة أو بوضعها بين غشائي السلى والألنتويس (السجق) لجنين آخر.

وأكثر طرق زراعة الأنسجة شيوعا خارج الجسم هي طريقة استخدام زجاجة الساعة للعالم وادنجتون (١٩٣٢) فقد قام بزراعة اجزاء من جنين في بداية مراحل التكون لفترات تبلغ ٢٤ ساعة في محلول مناسب في زجاجة ساعة ثم غير المحاليل بصفة منتظمة كلما استهلكت، وبذلك تمكن من فحص الأجنة أثناء نموها. كما تتيح هذه الطريقة دراسة التأثير الناتج عن التغير البيئي على الأجنة النامية.



شكل ٢٥ : طريقة زراعة جنين كتكوت صغير في زجاجة ساعة.



شكل ٢٦ : زراعة الأنسجة بين غشائي الرهل والسلى لجنين الكتكوت.

اما فى زراعة الأنسجة فى الغشاء السلوى الألنتويسى فتستخدم قطع صغيرة نسبيا من الأنسجة ولكن يمكن أن تنجح زراعتها لفترات طويلة نسبيا تمتد حتى عشرة أيام وذلك لتوفر الأمداد الغذائى الطبيعى والأخراج المستمر.

وقد درست نتائج تجارب عزل الأنسجة بتوسع كبير وخصوصا تلك التى تزرع فيها الأنسجة بين غشائى السلى والألنتويس لأن الأنسجة فى هذه التجارب تعطى أنسجة أكثر تنوعا مما لو زرعت أو فحصت فى أماكنها الطبيعية. فمثلا النسيج المكون للصفيحة العصبية يقع فى الحالة الطبيعية على جانبى الجزء الأمامى من الشق البدائى، ولكن راڤول فى عام ١٩٣٦ امكنه الحصول على نسيج عصبى من المنطقة الشفافة من أجزاء متفرقة وأكثر بعدا عن هذه المنطقة. وبذلك تكون تجارب عزل الأنسجة مفيدة على الرغم من إنها لاتعطى نتائج دقيقة عن مصير المناطق المختلفة ولكنها توضح قدرة الأنسجة على التكيف والتحول فى المرحلة الأولى من العمر.

زراعـــة الأنســـجة

زراعة الأنسجة هى طريقة يمكن بواسطتها تربية خلايا حية في جهاز معزول، فتؤخذ خلايا منفردة أو مجموعات من الخلايا وتوضع فى أطباق من البلاستك أو الزجاج المعقم في محلول يحتوى على مواد غذائية منوعة في صورتها البسيطة. وقد تمكن العلماء من هذه التجارب من معرفة كيفية تجمع الخلايا لتكوين الأنسجة. وكيفية اتحاد الأنسجة فى أنبوبة الأختبار لتكون اجزاء صغيرة من الأعضاء مثل الكلية أو الكبد. ولكن يجب الأخذ فى الأعتبار ان زراعة الأنسجة ليست طريقة صحيحة للنمو لأن الخلايا النامية ليست فى اماكنها الطبيعية.

وتنجح زراعة الأنسجة بصفة خاصة فى الكائنات الدقيقة وحيدة الخلية مثل البكتريا لأنها تعيش فى الطبيعة بمفردها منطلقة واحتياجاتها محدودة. وتتيح زراعتها دراسة تأثير البيئات المختلفة عليها وطرق القضاء عليها للحماية من التلوث والأمراض وتوجد قواعد أساسية للحصول على مزارع أنسجة ناجحة منها :

أولا : توفير البيئة المناسبة :

للحصول على نمو صحيح للخلايا خارج أماكنها الطبيعية يجب أن تحفظ الخلايا فى ظروف أقرب مايمكن لتلك الموجودة فى بيئتها الطبيعية بمراعاة العوامل الآتية :

درجـــة الحـــرارة :

تربى أنسجة معظم الطيور والحيوانات الثديية بنجاح فى درجات حرارة تتراوح بين ٢٧م° – ٣٨م°، اما الحيوانات ذات الدم البارد مثل الأسماك والبرمائيات فإن درجة الحرارة المناسبة لنمو انسجتها تتراوح بين ١٢ م° – ٢٢م°. وبصفة عامة لاتتحمل الأنسجة المزروعة درجات الحرارة العالية، فإذا رفعت درجة الحرارة خمسة درجات فوق معدلها الطبيعي تموت الخلايا خلال ساعة واحدة. ولكنها تتحمل درجات الحرارة المنخفضة وتنمو وتنقسم فيها ولكن ببطىء أكثر من المعتاد. وإذا بردت الخلايا تحت درجة تجمدها تموت بسبب تكون حبيبات الثلج فى سيتزبلازمها، ويمكن حفظ الخلايا تحت درجة التجمد بإضافة مادة حافظة مثل الجلسرين للوسط الذى تربى فيه الخلايا وتخفض درجة الحرارة تدريجيا حتى درجة ٧٠ م° تحت الصفر، ويمكن تخزين الخلايا في هذه الدرجة لعدة شهور.

تركيز الأيون الأيدروجينى :

يجب الأحتفاظ بتعادل الوسط الذى تحفظ فيه الأنسجة بقدر الأمكان حتى يسمح بأعلى معدل لأنقسام الخلايا، وبصفة عامة تتحمل معظم الأنسجة تغيرات واسعة فى تركيز الأيدروجين. ويقع التركيز المناسب للطيور والثدييات بين ٢ر٧ – ٤ر٧، وللبرمائيات بين ٦، ٧، – ٨.

توفير مواد البناء الأساسية :

يجب أن يحتوى الوسط الذى تربى فيه الأنسجة على المواد الغذائية الأساسية الموضحة فى الجدول التالى :

المجموعة البنائية	المثـــــال
املاح غير عضوية	صوديوم – بوتاسيوم – كالسيوم – مغنسيوم – حديد – مركبات الكبريت والبيكربونات
احماض أمينية	يوجد ثمانية عشر حمض امينى أساسى مثل البرولين والفالين والأرجنين.
فيتامينات	فيتامينات المجموعة أ ، ب تعتبر أساسية.
هرمونات	تعتبر الهرمونات مهمة بالرغم من أن دورها غير معروف حتى الآن ولكنها أساسية فى زراعة الأنسجة التى تفرزها أو التى تتأثر بها .
سكريات	جلوكوز – بيروفات الصوديم
دهنـــيات	حامض اللينولين
بروتينـات	فوتين
غـــازات	أكسجين – ثانى أكسيد الكربون (٥ ٪)
مـــــاء	وهو الوسط الذى تذاب فيه جميع العناصر السابقة.

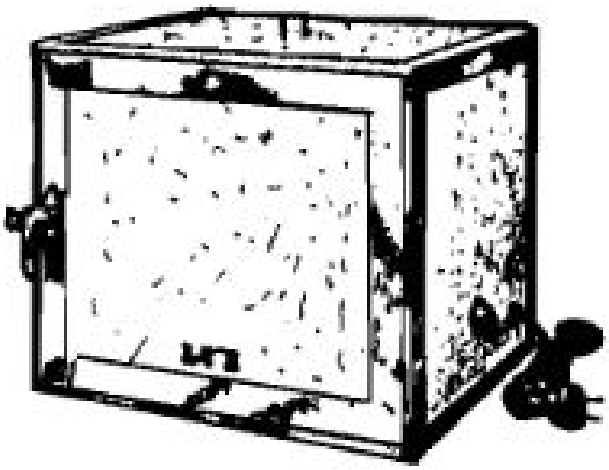
السطح الذى تنمو عليه الأنسجة :

يختلف الشكل الظاهرى للخلايا المزروعة عن شكلها فى الحالة الطبيعية لأن نموها فى أطباق زجاجية يجعلها تميل إلى الألتصاق بالقاع. وبذلك تنمو في اتجاهين فقط من الفراغ حيث لاتوجد خطوط تمركز، ولكن إذا سمح للخلايا بالنمو في اوني تحتوى على سليولوز ومواد مضادة للألتصاق تنمو الخلايا في أتجاهات الفراغ الثلاثة.

طرق التعقيم :

- *التعقيم بالحرارة الجافة :*

تستخدم هذه الطريقة لتعقيم الأوانى الزجاجية التى لاتضار بدرجات الحرارة العالية، وتوضع هذه الأوانى عادة فى فرن لمدة ٩٠ دقيقة عند درجة حرارة ١٦٠م داخل أوعية محكمة من الصفيح أو داخل رقائق الألونيوم.



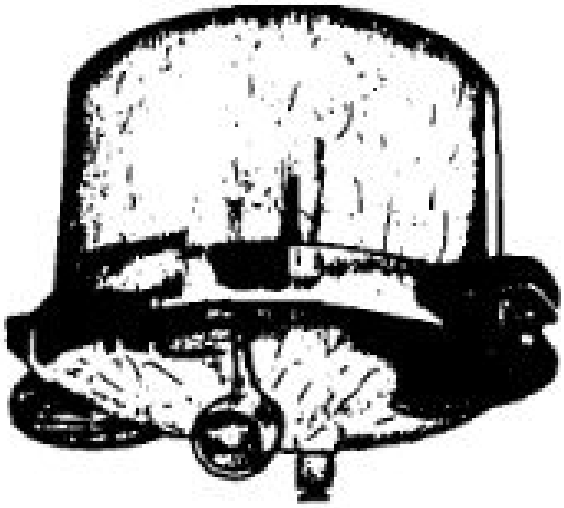
شكل ٢٧ : فرن تعقيم بالحرارة الجافة

- *التعقيم بالحرارة الرطبة :*

تستخدم هذه الطريقة إذا كانت درجة الحرارة العالية تؤذى العينة. ويجرى هذا التعقيم فى جهاز الأوتوكلاف حيث توضع المواد المراد تعقيمها في الجهاز لمدة عشرين دقيقة عند درجة حرارة ١٥١ °م. ويجب أن توضع العينات في درجة حرارة ١١٥ °م لمدة ١٥ دقيقة على الأقل. ويستخدم الأوتوكلاف عادة لتعقيم المحاليل التى يتغير تركيبها

بالحرارة، فتوضع هذه العينات فى زجاجات أو أنابيب اختبار أو قوارير مخروطية مسدودة بالقطن ومغطاة برقائق الألومنيوم.

كما يستخدم الماء المغلى في تعقيم الحقن الزجاجية وأدوات التشريح المعدنية ويستحسن استخدام أدوات من البلاستك يستغنى عنها بعد كل مرة واحدة من الاستعمال.



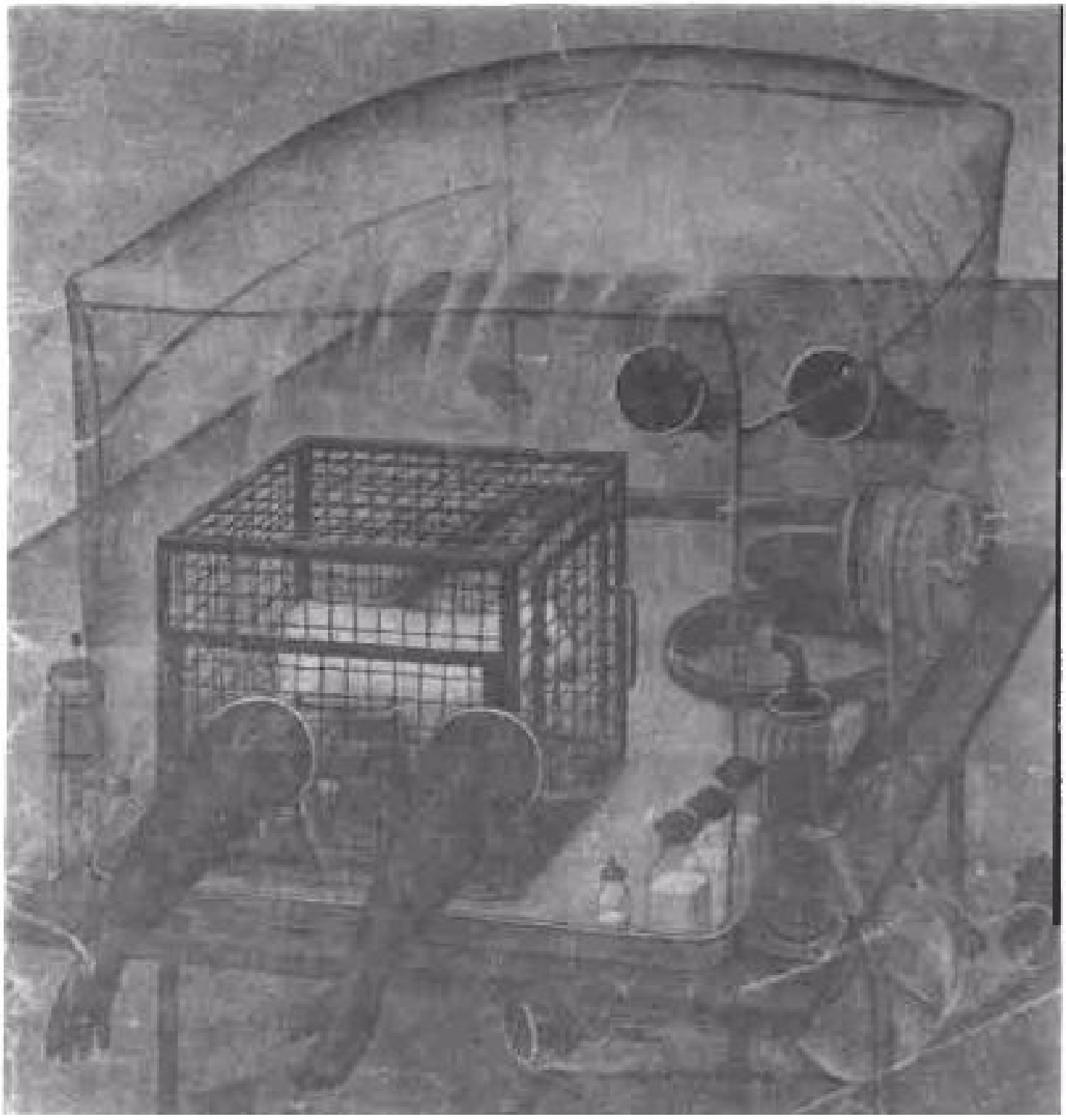
شكل ٢٨ : حلة للتعقيم بالبخار

- *التعقيم بالأشعاع* :

يعقم الهواء بواسطة مصباح أشعة فوق بنفسجية، ويجب عدم استخدام هذا المصباح أثناء إجراء التجربة لأنه يؤذى العين والجلد كما يؤذى النسيج المزروع ذاته. ويستخدم هذا المصباح لتعقيم المكان الذى تجرى فيه التجربة والهواء الموجود وبضاء قبل إجراء التجربة لمدة ١٥ دقيقة ثم يغلق ويقف الباحث خلف زجاج غير منفذ لهذه الأشعة أثناء إضائة المصباح.

ثانيا: منع التلوث :

يعتبر الوسط الذى تنمي به الأنسجة غنى بالمواد الغذائية ليس فقط بالنسبة للأنسجة المزروعة ولكن أيضا للبكتريا والطحالب. وهذه الكائنات الصغيرة الضارة تنمو بسرعة أكبر من سرعة نمو الخلايا المزروعة وتفرز مواد سامة مميتة للأنسجة المزروعة، لذلك كان من الضرورى تجنب التلوث واستخدام طرق زراعة معقمة.



مصادر تلوث الأنسجة المزروعة :

- الأدوات المستخدمة فى التجربة.
- الوسط الذى تعيش فيه الخلايا.
- النسيج المزروع نفسه.
- الجو المحيط بمكان إجراء التجربة.
- الفرد الذى يقوم بالعمل.
- الأثاث الذى توضع عليه الأدوات.

ويمكن منع التلوث اما بالتعقيم وهو التخلص من الميكروبات الموجودة بالفعل أو باستخدام الطرق المطهرة وذلك لمنع تلوث الأشياء المعقمة بالفعل وذلك بالأحتفاظ بها معزولة بأحكام فى درجات حرارة منخفضة جدا.

- التعقيم باستخدام المطهرات :

تستخدم مطهرات خاصة لتطهير المعمل والأرفف والمناضد لقتل البكتريا الموجودة، ويستخدم عادة لهذا الغرض كحول اثيلى بتركيز ٧٠٪ لأنه متطاير ولكن يجب ملاحظة أن بعض هذه المضادات يكون سما بالنسبة للخلايا المزروعة. ويستخدم بنسلين الصوديوم بتركيز ٢٠ – ٥٠ وحدة للمليمتر المكعب وهذا التركيز غير ضار بالخلايا المزروعة ولكنه قاتل للبكتريا. كما يمكن استخدام الأستربتومايسين فى حالة وجود كائنات مقاومة للبنسلين بتركيز ٥٠ مج/مم . ويمكن استخدام هذه المركبات بتركيزات أعلى لتعقيم الأنسجة الملوثة.

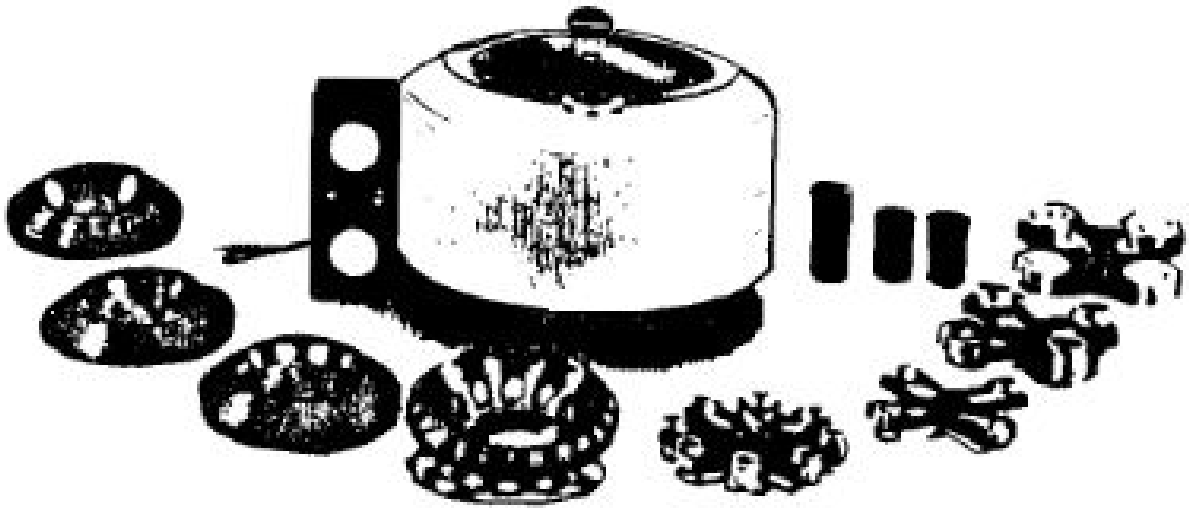
- الترشـــيح

تستخدم طريقة الترشيح لتعقيم المحاليل القابلة للتفكك أو التغير بالحرارة الجافة أو الرطبة. ويجب أن يكون ورق الترشيح نو ثقوب دقيقة تمنع مرور الكائنات الدقيقة إلى السائل المرشح.

شكل ٣٠ : أقماع لترشيح السوائل

- *الطـــرد المركـــزى :*

يمكن تنقية المحاليل الملوثة بدرجة كبيرة بواسطة الطرد المركزى قبل ترشيحها، وهذه العملية تجرى عادة فى جهاز الطرد المركزى العالى السرعة وفى الفراغ عند درجات حرارة منخفضة جدا.



شكل ٢١ : جهاز الطرد المركزى وقطع غياره

ثالثا: التخلص من نواتج الهضم :

يجب تغيير الوسط الذى تزرع فيه الأنسجة كل يوم للتخلص من المواد الأخراجية المؤذية والتوكسينات والسوائل الغذائية المستهلكة.، ويجب توزيع الخلايا على أطباق زراعة جديدة كلما ازدحمت فى الطبق لتجنب التعويق الناتج عن التلامس.

المحاليل التى تزرع فيها الخلايا والأنسجة

تعتبر المحاليل أو الوسط الذى تزرع فيه الأنسجة من العوامل المهمة المؤثرة في الزراعة، وهى أما أن تكون محاليل طبيعية أو خليط من مواد كيميائية وبعض المواد الطبيعية.

الأوساط الطبيعية لزراعة الأنسجة :

- *الجلطـــات*

كان يستخدم فى زراعات الأنسجة التقليدية جلطات من السائل الليمفى كوسط للتربية ولكن انتشرت بعد ذلك جلطات البلازما، ويحصل على البلازما عادة من جنين الكتكوت.

- *الســوائل البيولوجيــة* :

أ - الســـيرم

يؤخذ السيرم من دم الأنسان البالغ أو من دم الحبل السرى للجنين أو من دم الحصان أو العجل، ويحضر السيرم بالسماح للدم ككل بالتجلط ثم يفصل السيرم المتنحى ويجب أن يرشح السيرم وأن يختبر تعقيمه ونسبه السمية فيه.

ب - السائل الأمنيوسى

يستخدم السائل الأمنيوسى من مصادر متعددة فى زراعة الأنسجة ويؤخذ من أرحام تحمل أجنة، حيث يسحب السائل الأمنيوسى فى أوعية خاصة وتختبر درجة تعقيمه.

ج - السوائل المرضية أو البللورية

تستخدم هذه السوائل أيضا فى زراعة الأنسجة وتؤخذ من مرضى السرطان البريتونى ويحصل عليها من المستشفيات، ويختبر نقائها قبل استخدامها. كما يستخدم السائل البللورى الناتج من بعض امراض الرئة ويجب ملاحظة أن بعض هذه السوائل يكون ضارا لوجود بعض الأدوية فيه مما يتعاطاه المرضى.

د - السائل المائى للعين

يعتبر السائل المائى للعين وسطا ملائما لزراعة الأنسجة، ويستخدم عادة السائل المأخوذ من عين الثور.

- ***خلاصـــة الأنســـجة :***

معظم أوساط زراعة الأنسجة تحتوى على بعض خلاصات الأنسجة وخصوصا خلاصة الأجنة، وتحتوى خلاصات الأنسجة على الأحماض النووية التى تحسن من نمو الأنسجة المعزولة حديثا . وتستخدم أجنة من أعمار مختلفة وتدق وتخفف بمحلول بارث ثم تجرى لها عملية طرد مركزى يكون بعدها السائل العلوى صالحا للأستخدام.

الأوساط الصناعية لزراعة الأنسجة :

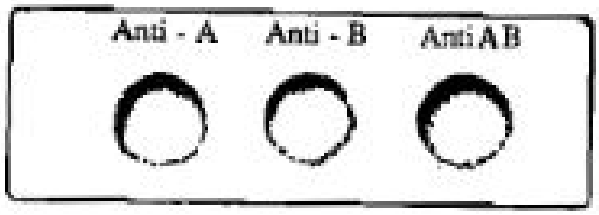
يجب أن تحتوى أوساط الزراعة الصناعية على المواد الغذائية الأساسية التى ذكرت من قبل، كما يجب ملاحظة أن كل نوع من الحيوانات وكل نسيج يحتاج الى وسط خاص به.

الأوعية المستخدمة في زراعة الأنسجة

الأوعية المستخدمة في زراعة الأنسجة معظمها من الزجاج أو البلاستك المعقم وهى ذات أشكال مختلفة تناسب كل نوع من الأنسجة الموضوعة داخلها ومنها مايلى:

- *الشـرائح المجـوفة* :

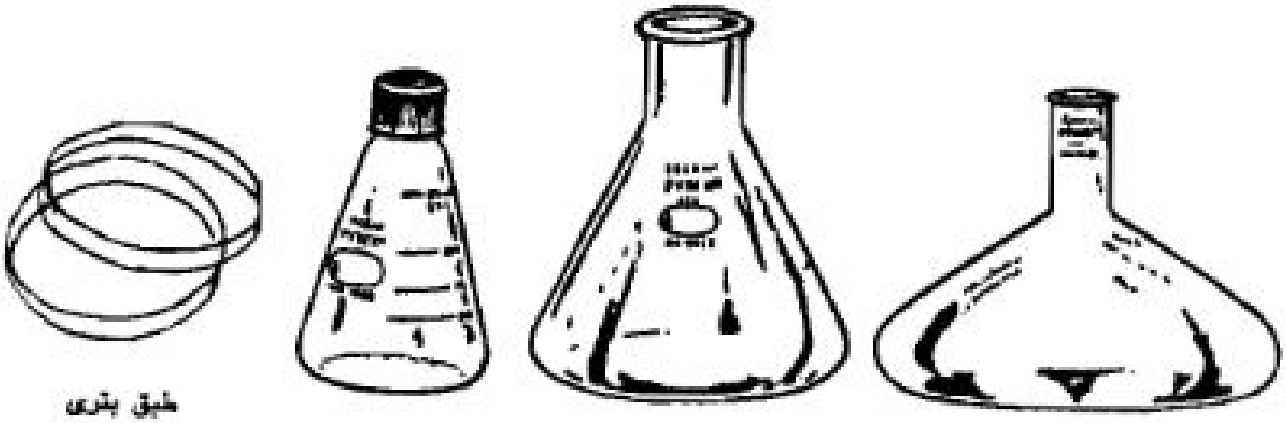
تزرع قطع صغيرة من الأنسجة فى جلطة علي غطاء شرائح، ثم يقلب غطاء الشريحة فوق تجويف شريحة زجاجية ثم يلحم الغطاء بالشريحة بواسطة شمع برافين سائل ساخن ويترك حتى يبرد ويلصقهما . وهذه الطريقة غير مكلفة وتنتشر فيها الخلايا بطريقة تمكن من فحصها ميكروسكوبيا وتصويرها وهى حية. كما يمكن تثبيت الخلايا وصباغتها بسهولة وتحويلها إلى عينات مستديمة. وفي حالة الخلايا السريعة النمو يجب تقسيمها علي شرائح جديدة كل يوم. ويمكن استخدام وسط سائل بدلا من الجلطات بفرده على هيئة طبقة رقيقة وتقلب العينة بسرعة فوق الشريحة الموجوفة وتلحم بالشمع الساخن.



شكل ٣٢ : شريحة مجوفة

- *دوارق كارل وأطباق بترى* :

تستخدم دوارق كارل وأطباق بترى بكثرة في زراعة الأنسجة وتكوين انواع جديدة من الخلايا المزروعة ولأختبار تأثير المواد المضافة للوسط علي هذه الأنسجة، وتتميز بأنها تتيح الأحتفاظ بالنسيج المزروع في نفس الدورق لمدة طويلة ويمكن استخدام كمية كبيرة من الوسط ومن الأنسجة المزروعة، كما يمكن التحكم فى الغازات الموجودة وقياس كمية الوسط بسهولة.



شكل ٣٢ : دوارق كارل

- أنابيب الأختبار :

أنابيب الأختبار العادية مفيدة جدا في زراعة الأنسجة حيث يمكن استخدامها في تحضير اعداد كبيرة من المزارع وهي رخيصة الثمن سهلة الأستخدام ولكنها يعيبها أن خواصها البصرية ضعيفة ويصعب فحص محتوياتها ميكروسكوبيا .

- زجاجات الساعة :

تستخدم زجاجات الساعة لزراعة أعضاء جنينية كاملة مع الأحتفاظ بشكلها الطبيعى وتوضع جلطة بلازما أو وسط سائل فى زجاجة ساعة ويوضع فوق الوسط السائل نوع مخصوص من ورق الترشيح ينفذ من خلال ثقوبه السائل المغذى إلى النسيج الموجود إلى أعلى.