حفظ السائل المنوي Semen preservation

تعريف:

وهي عملية حفظ الحيامن خارج الجسم عدة ساعات أو أيام أو سنين واستعماله في التلقيح الاصطناعي على أن يحتفظ الحيمن بكامل حيويته عند استعماله .

تختلف طرق حفظ السائل المنوى حسب المدة اللازمة للتخزين و عموما تنقسم طرق الحفظ إلى:

1- الحفظ على درجة حرارة الغرفة.

2- الحفظ بالتبريد.

3- الحفظ بالتجميد.

أولا: الحفظ على درجة حرارة الغرفة:

حيث يتم تخفيف السائل المنوى بعد الجمع مباشرة ، و يتم وضع أنبوبة السائل المنوى المخفف فى قدح به ماء ، و يترك على درجة حرارة الغرفة ، و يمكن حفظ السائل المنوى بهذه الطريقة لبضع ساعات قليلة.

ثانيا : الحفظ بالتبريد:

بعد عملية تقييم السائل المنوى يتم تخفيفه ، ثم توضع أنبوبة السائل المنوي المخفف فى قدح به ماء ، ثم يوضع القدح فى الثلاجة على درجة 5 م. و يمكن حفظ السائل المنوى بهذه الطريقة لمدة تتراوح بين 3 - 7 أيام.

ثالثا : الحفظ بالتجميد:

و تستخدم فى حالة الحفظ لمدة طويلة قد تصل إلى عشر سنوات.

وهناك طريقتان يتم بهما حفظ السائل المنوى بالتجميد وهي :

أ - التجميد باستخدام ثانى أوكسيد الكربون الجاف (79 -) م.

ب - التجميد باستخدام النيتروجين السائل (196 -) م.

و التجميد باستخدام النيتروجين السائل أكثر شيوعا.

طريقة تجميد السائل المنوى باستخدام النيتروجين السائل:

من المعروف أن مخفف السائل المنوى المستخدم فى حالة حفظ السائل المنوى بالتجميد يحتوى على مواد تخفف من التأثير الضار لعملية التجميد ، و من هذه المواد الكليسرول Glycerol . و تختلف طرق التجميد حسب الطريقة التى يضاف بها الكليسرول ، فقد يضاف إلى المخفف الذى يستخدم فى عمليتى التخفيف و التجميد ، و هذه الطريقة يطلق عليها خطوة واحدة ، و فى حالة التجميد باستخدام مخفف مكون من جزئين ، الجزء الأول لا يحتوى على الكليسرول ، و يتم تخفيف السائل المنوى على درجة حرارة

الغرفة ، ثم يتم حفظه فى الثلاجة حتى يصل إلى درجة 5 م، و المخفف الذى يحتوى على الكليسرول يضاف على درجة 5 م بالتدريج ، و بعد الانتهاء من إضافة المخفف الذى يحتوى على الكليسرول يترك السائل المنوى المخفف فى الثلاجة لمدة معينة و يطلق على هذه الفترة بفترة التوازن Equilibration period وهي الفترة الزمنية مابين اضافته والتجميد ، ثم يتم تعبئة الأنابيب البلاستيكية straws و تقفل باستخدام مادة البولى فينيل الكحولية ، ثم توضع على ارتفاع 5 سم من سطح النيتروجين السائل لمدة 8 دقائق ، ثم تحفظ فى النيتروجين على درجة 196- م .

صور مختلفة لخزانات حفظ السائل المنوي بالتجميد (النتروجين السائل)

فوائد السائل المنوي المجمد:

1- تلبية حاجة المربي في الحصول على قذفات من الحيوان الممتاز لسنوات طويلة بعد هلاك الحيوان .
2- السائل المنوي المجمد يسهل اجراء اختبار النسل progeny testing
3- امكانية نقل السائل المنوي لمسافات بعيدة عن طريق ثلاجات خاصة دون حصول اي ضرر للسائل المنوي .

التغيرات البيولوجية و الكيميائية الناجمة عن تجميد السائل المنوى:

1- انخفاض النسبة المئوية للحيوانات المنوية المتحركة.

2- زيادة النسبة المئوية للحيوانات المنوية الميتة.

3- زيادة النسبة المئوية للحيوانات المنوية المشوهة.

4- حدوث تغيرات فى تركيز العناصر المعدنية.

5- حدوث تغيرات فى نسبة الأحماض الدهنية غير المشبعة إلى نسبة الأحماض الدهنية المشبعة.

6- خروج بعض الإنزيمات من داخل الحيمن.

7- حدوث تغيرات فى الأكروسوم (غطاء رأس الحيمن).

أسباب نجاح تجميد السائل المنوى للثيران مقارنة بالسائل المنوى للكباش :

ترجع أسباب نجاح تجميد السائل المنوى للثيران بالمقارنة بالسائل المنوى للكباش إلى:

1- الحيوان المنوى للثيران يتحمل مجالا أوسع من الضغط الازموزي بالمقارنة بالحيوان المنوى للكباش ، و بالتالى فإن غشاء خلية الحيمن للثيران أقل عرضة للتلف عند التجميد.

2- الفوسفوليبد phospholipid للحيوانات المنوية للثيران أكثر ثباتا عن مثيلتها فى الحيوانات المنوية للكباش ، حيث نجد أن إنزيم الفوسفوليبيز phospholipase أكثر نشاطا فى السائل المنوى للكباش ، مما يؤدى إلى سرعة تحلل أنواع الفوسفوليبد المختلفة ، و التى لها دور هام فى حماية الحيوان المنوى.

3- وجد أن الحيوان المنوى للثور يحتوى على الحامض الدهنى المسمى Docosapenoic (DHA) ، و هو من مشتقات الحامض الدهنى لينولييك Linoleic ، و يعتقد أن هذا الحامض له أهمية كمكون للغشاء الخلوى . و هذا الحامض غير موجود فى الحيوان المنوى للكباش.

الاثر الضار للتجميد:

1- تكون البلورات الثلجية الكبيرة crystals والصغيرة تساعد على تشقق جدار الحيمن .
2- امتصاص السوائل الداخلية يزيد من التركيز الخلوي داخل خلية الحيمن (التركيز الخلوي هو زيادة تركيز المواد عدا الماء) .

فوائد الكليسرول :

1- يزيد من درجة انجماد السوائل وبالتالي يقلل من حصول البلورات الثلجية .
2- دخوله الى داخل خلية الحيمن يحل محل السوائل المجمدة وبالتالي يوازن الضغط الاوزوموزي.

شروط اضافة الكليسرول :

1- كميته : افضل نسبة كليسرول تحقق افضل نسبة اخصاب في جميع المخففات بأستثناء الحليب الكامل و الفرز هي 7 % وفي الحليب الكامل و الفرز 13 %.
2- طريقة اضافته : يجب ان يقسم المحلول المخفف الى جزئين متساويين A و B .
يحتوي الجزء A على 3 % كليسرول مع الخفف و صفار البيض وكذلك يحوي القذفة .
اما الجزء B فيحتوي على المخفف وصفار البيض و يحتوي على 11 % كليسرول .
ثم يضاف الجزء B الى الجزء A بهدوء تدريجيا مع التحريك ، لمنع ما يسمى صدمة الضغط الازموزي osmotic shock.
3- الفترة الزمنية مابين اضافته والتجميد التي تسمى فترة التوازن : لوحظ ان افضل فترة بقاء للمخفف مع الكليسرول 3- 4 ساعات قبل التجميد تحقق افضل نسبة اخصاب لكي ينتشر الكليسرول بشكل متوازن داخل خلايا الحيمن وتبقى الخلايا بفعاليتها .

في عملية التجميد يتم فقدان 40-50 % من الحيامن ، لذلك يوضع في القصبة الواحدة حوالي 22 مليون حيمن لتلقح بقرة واحدة .

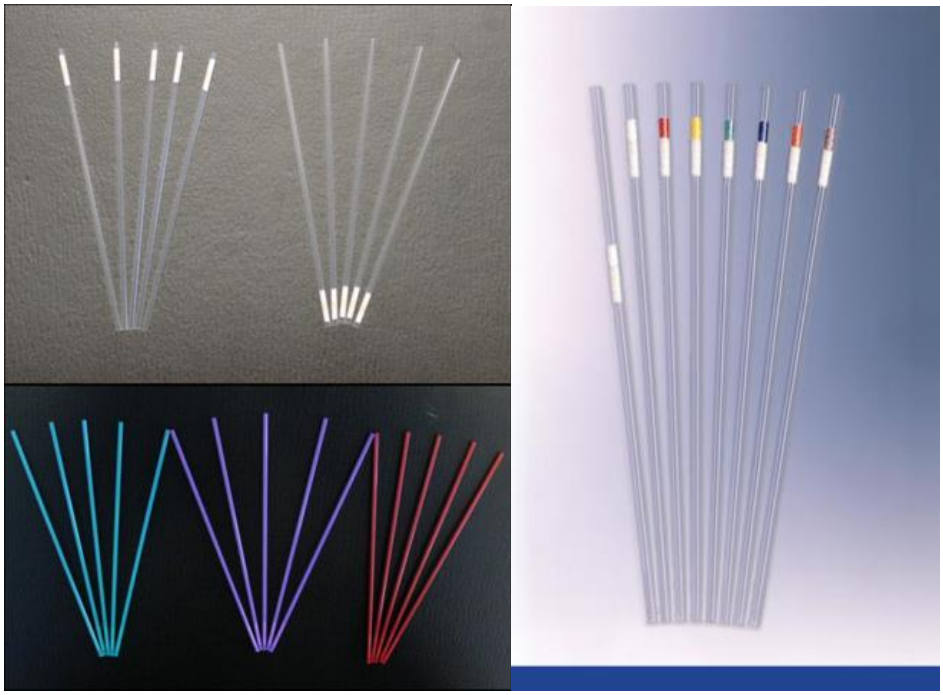
كيفية تعبئة السائل المنوي المجمد :

اولا : القناني الزجاجية (الامبولات الزجاجية) : تشبه امبولات الماء المقطر الخاص بتخفيف ابرة الدواء وتستوعب 1سم^3 .

لوحظ ان هذه الطريقة فيها مساوئ :

أ- عدم امكانية نقلها لمسافات طويلة لتعرضها للكسر .
ب- تأخذ مجال واسع اثناء الخزن .
ت- يتم فقدان جزء من السائل المنوي يعادل 15 % من حجم القنينة .

ثانيا : طريقة القصبات plastic straw : تكون بحجمين هي 0,25 مل او 0,50 مل .



مميزاتها :

أ- امكانية نقلها لمسافات طويلة.
ب- لا تأخذ مجال واسع بالخزن .
ت- لا تفقد جزء من السائل المنوي .
ث- امكانية الكتابة عليها . القصبة بها سدادة في الجزء المغلوق منها و تعبأ ثم يوضع مسحوق لاصق في الجزء المفتوح مع ضغط حراري .

بعد التعبئة تجمد ويجب ان تكون مراحل تجميد تدريجية وكالاتي :

1- توضع القصبات بدرجة 5 م لمدة 5 دقائق .
2- توضع في تجميد اولي 48 – م لمدة 9 دقائق .
3- توضع في درجة 76- م لمدة 10 دقائق.
4- ثم تنقل الى درجة 196- م .

ملاحظة : عند الاستعمال يتم إسالة الأنابيب فى ماء على درجة 37 م تدريجيا ولمدة دقيقة واحدة .