بسم الله الرحمن الرحيم

المرشد العملي
لعلم الأجنة في مرحلة قبل الانغراس بالفئران وتقنية مساعدة التناسل البشري

تأليف

د. جعفر علي

دكتوراه فلسفة

المحرر

د. جيمس نورمان شيلتون

ترجمة

د. عبد الله بن محمد الدهمش

رئيس قسم التشريح – رئيس وحدة الخلايا الجذعية

د. علي محمد أحمد محمد

أستاذ مشارك بقسم التشريح

كلية الطب- جامعة الملك سعود

دار جامعة الملك سعود للنشر

ص ب ٦٨٩٥٣ - الرياض ١١٥٣٧ - المملكة العربية السعودية

ⓒ جامعة الملك سعود، ١٤٣٥هـ (٢٠١٤م)

هذه ترجمة عربية مصرح بها من مركز الترجمة بالجامعة لكتاب

A practical guide to Mouse preimplantation
Embryology and Human Assisted Reproduction
Technology
By:Jaffar Ali
©Lady brook Publishing, 2003.

فهرسة مكتبة الملك فهد الوطنية أثناء النشر

علي، جعفر

المرشد العلمي لعلم الأجنة في مرحلة قبل الانغراس بالفئران وتقنية مساعدة التناسل البشري./ جعفر علي ؛ جيمس نورمان ؛ شيلتون ؛عبدالله محمد الدهمش؛ علي محمد أحمد- الرياض، ١٤٣٥هـ

٢٤٣ص؛ ١٧×٢٤سم

ردمك: ٩-٢٤٨-٥٠٧-٦٠٣-٩٧٨

١- علم الأجنة أ. شيلتون ، جيمس نورمان (محرر) ب. الدهمش ،عبدالله محمد(مترجم) ج. محمد ، علي محمد أحمد (مترجم) د. العنوان

ديوي ٦١٢,٦٤ ١٤٣٥/٢٥١٨

رقم الإيداع: ١٤٣٥/٢٥١٨

ردمك: ٩-٢٤٨-٥٠٧-٦٠٣-٩٧٨

حكمت هذا الكتاب لجنة متخصصة، وقد وافق المجلس العلمي على نشره في اجتماعه الحادي والعشرين للعام الدراسي ١٤٣٣/ ١٤٣٤هـ المعقود بتاريخ ٣٠/ ٧/ ١٤٣٤هـ الموافق ٩/ ٦/ ٢٠١٣م.

النشر العلمي والمطابع ١٤٣٥هـ

إهداء

إهداء إلى والديَّ

جوهرة و عبدالله

مقدمة المترجمين

تم ترجمة هذا الكتاب ليكون مرشداً معملياً في مجال تقنيات مساعدة التناسل البشري والإخصاب خارج الجسم وتربية الأمشاج والأجنة لكلٍ من الإنسان والفئران، كما إنه يمكن الاستعانة بهذا الكتاب كمرشدٍ ودليلٍ لإقامة وتجهيز مختبرات تقنيات مساعدة التناسل البشري والإخصاب خارج الجسم.

ويتميز هذا الكتاب بأنه كتاب وصفي مبسط ومختصر لأهم التقنيات المعملية في مجال مساعدة التناسل البشري والإخصاب خارج الجسم التي ذُكرت بطريقة سلسة من خلال الأقسام المتعاقبة والواضحة، كما تم ترقيم الخطوات حتى يتسنى الانتقال بينها بسلاسة ويسر.

ولقد تمت ترجمة هذا الكتاب ليكون رافداً من روافد الأنشطة التعليمية في مجال تقنيات مساعدة التناسل البشري والإخصاب خارج الجسم في الكليات الطبية والكليات التي تعنى بتناسل الحيوانات ومراكز الأبحاث.

ويعدُّ مؤلف هذا الكتاب، الدكتور جعفر علي، من الخبراء المتميزين في مجال تقنيات مساعدة التناسل البشري والإخصاب خارج الجسم حيث تولى منصب مدير مختبر الإخصاب خارج الجسم بمؤسسة حمد الطبية بالدوحة بقطر، كما إنه حصل على دكتوراة الفلسفة في تربية الأجنة خارج الجسم وحفظها بالتبريد من كلية جون كورتين للبحث الطبي بجامعة استراليا الوطنية بكانبرا بأستراليا، حيث تتلمذ على يديّ كلٍ من الدكتور ويسلي ويتن وهو

الرائد الأول الذي قام بتركيب أول محلول لتربية الأجنة، والدكتور جيمس شيلتون والذي يعدُّ رائداً من رواد علم الأجنة قبل الانغراس، ولقد ساهم المؤلف بصورة إيجابية في تطوير تقنيات تربية الأجنة البشرية خارج الجسم وحفظها بالتبريد، كما حصل على عديدٍ من الجوائز لمساهماته البحثية.

المترجمان

تمهيد
Foreword

يمكن اعتماد الدكتور والتر هيب Walter Heap مؤسساً لتقنية مساعدة التناسل Assisted Reproduction Technologyعندما قام منذ أكثر من مائة عام بنقل الأجنة من قناة فالوب Fallopian tube من إحدى الأرانب إلى رحم أخرى حيث تم توالد صغارٍ سليمة جنينياً. وتعد أجنة الأرانب غير طبيعية حيث إنها تُحاط بسياج كثيف من المخاط mucus أثناء انتقالها بقناة المبيض oviduct حيث إن ذلك يحميها من التغيرات البيئية غير الملائمة كما أن هذا السياج يمنع الرؤية و التفقيس hatching خارج الجسم ويجب أن يُنسب فضل ملاحظة أجنة الثدييات بدون هذا السياج لمدة قصيرة خارج الجسم إلى وارين لويس Warren Lewis الذي لاحظ في عشرينيات القرن العشرين اكتناز القسيمات الجذعية blastomeres للفئران لتكوين التوتيات morulae وتسجيل الانقسام الميتوزى mitosis أثناء الانقسام الثاني لأجنة القرود بواسطة فن التصوير السينمائي cinematography. وفي أربعينيات القرن العشرين لاحظ أوستن AustinوسمايلسSmiles تكوين الأنوية الأولية الذكرية والأنثوية واقتران الأمشاج في بويضات الفئران المعلقة

بمحلول الملح الطبيعي باستخدام مجهر تباين الأطوار إلا أنهما لم يحاولا الحصول على مزيد من النمو خارج الجسم in vitro.

في عام ١٩٤٨م نجح جون هاموند (الابن) John Hammond Jr. مصادفة في الحصول على أجنة الفئران في مرحلة الخلايا الأربعة حتى الخلايا الثمانية لتنمو إلى طور الحويصلات الجذعية blastocysts في محلول ملح معاير مضاف إليه بياض بيضة دجاجة. ولقد عُزيَ ذلك إلى أن انقسام أجنة الثدييات في قناة المبيض في وجود بياض البيض، الذي يمثل إفرازاً لقناة المبيض في الفقاريات، قد يحتوي على المقومات الضرورية. وفي هذا الصدد، فإن كاتب افتتاحية هذا الكتيب قد تأكد من ملاحظات هاموند والحصول على نسبة نمو مقدارها ١٠٠٪ من أجنة ذات أربع وثماني خلايا إلى الحويصلات الجذعية في حالة استقرار تركيز الرقم الهيدروجيني عند ٧.٣ باستخدام أحمر فينول phenol red كمؤشر و٥٪ من ثاني أكسيد الكربون في الهواء كمرحلة غازية. كما أن المؤلف قد استبدل الزلالalbumin بزلال بيض نقي أو زلال مصل بقرى أو جليسين glycine أو إدتا EDTA إذا تم إضافة جزئيات ضخمة مثل بولى فينيل بيروليدون PVP ؛ لمنع التصاق الأجنة بالزجاج. كما أن إضافة لاكتات الصوديوم أو البيروفات pyruvate ساعد بدرجة كبيرة على النمو وأدى إلى تضخم مثير للحويصلة الجذعية وبروز الخلايا المغذية من خلال المنطقة الشفافة وتبع ذلك تفقيس كامل. ومع وجود اللاكتات lactate، فإن بعض أجنة الخليتين تنمو إلى حويصلات جذعية كما أن بيجرز Biggers وبرينستر Brinster أكدا هذه النتائج وأثبتا أن مزيجاً من البيروفات و اللاكتات أدى إلى تحسين النتائج، إلا أن تربية culturing اللاقحات بعد الانشطار الأول الوشيك ما زال غير ممكن. وأخيرا فإن المؤلف استطاع التغلب على هذه المشكلة بتربية اللاقحات في أنابيب زجاجية بسدادات مطاطية واختزال تركيز الأكسجين في مرحلة الغاز إلى ٥٪

وأصبح بعد ذلك ممكناً لهوب Hoppe استخدام هذا النظام للحصول على الإخصاب خارج الجسم in vitro ولنقل عدد كبير من اللاقحات إلى مرحلة الحويصلات الجذعية. وفى حالة تربية هذه الحويصلات الجذعية في المضيفين hosts ، فإنها تنتج عدداً متساوٍ تقريباً من الذرية من الذكور والإناث موضحة حدوث الإخصاب بدلاً من التنشيط العذري (البكري) parthenogenetic activation ولقد استطاع ثيبولت Thebault الحصول على الإخصاب خارج الجسم ببويضات الأرانب وبالفئران بواسطة شانج Chang وحيوان صغير من القوارض يشبه الجرذ hamster بواسطة بافيستر Bavister إلا أنه لم ينتج عن ذلك صغار أحياء. وعلى الرغم من ذلك فإن ويتينجهام Whittengham وويلز Wales حصلا على صغار حيوية عندما نقلا بويضات فئران ملقحة ناتجة من الإخصاب خارج الجسم إلى أمبولة قناة المبيض للأمهات المستقبلة وبذلك تم تجنب الحاجة لتربية الأجنة في محلول، حيث إن النمو قد لا يتعدى مرحلة الخليتين.

وقد اعتبرت معظم هذه الأعمال المبكرة كأبحاثٍ بحتة مع احتمالية تطبيقها في نمو موانع الحمل contraceptives لكن ستيبتو Steptoe وإدواردز Edwards بالمملكة المتحدة وود Wood ولوباتا Lopata باستراليا والإكلينيكيين بالولايات المتحدة الأمريكية ذكروا أن احتمالية تطوير علاج لبعض أشكال العقم infertility عند الرجال ممكناً. وفي الولايات المتحدة الأمريكية كان الاعتقاد السائد أن تطوير نموذج أولي صعب ومكلف جداً. ويتوقع البيطريون والعلماء الآخرون المهتمون بإنتاج الحيوانات استخدام تقنيات مساعدة التناسل ART في الحيوانات الأليفة للتعجيل بتحسن القطعان herd improvement كما أن التعامل المبكر مع أجنة الفئران أصبح ذا فائدة كبيرة لعلماء بيولوجيا النمو وعلماء الوراثة، وباستخدام محاليل محددة أصبح من الممكن إثبات أن اكتناز القسيمات الجذعية لتكوين التوتيات (morula) يعتمد على الكالسيوم. ولقد قام

تاركوفسكى Tarkowski ، وفيما بعد آخرون، بتجميع توتيات من بنيات وراثية مختلفة لإنتاج كائنات خرافية chimaeras، أما هوب و وايتن Whitten فقد حطما قسيمة جذعية من أجنة هجينية من خليتين لإثبات أن تثبيط الكروسوم إكس X-chromosome inactivation لا يحدث في الانقسام الأول، ولقد اكتشف شابمان Chapman وآخرون بروز الجينات الأبوية في أجنة الخلايا الثمانية.

وقد تجنب كاتب افتتاحية الكتيب أن ينهمك في نمو المحاليل الخاصة بتقنية مساعدة التناسل في البشر لإدراكه عدم وجود وسيلة للحصول على عدد كافٍ من البويضات بصورة أخلاقية لإجراء التجارب المهمة ولأنه يمكن إجراء أبحاث أساسية أكثر أهمية على الفئران وهذا هو الوضع الأمثل للمؤلف ولحسن الحظ فإنه قد ثبت أن أجنة الفئران تعد نماذج مفيدة لتقنية مساعدة التناسل البشري وأنها ما زالت تستخدم لتدريس تقنيات مساعدة التناسل ولابتكار تقنيات جديدة ولضبط المحاليل والأجهزة والتقنيات.

يدين الأزواج الذين يعانون من العقم وفي شديد الحاجة لتكوين أسرة بالفضل إلى إدواردز وستيبتو اللذين حافظاً بصبر على نمو تقنيات مساعدة التناسل البشرى، ويذكر في هذا المجال لويز براون Louise Brown التي ولدت منذ حوالي ٢٥ عاماً وقد أعقبها فوراً النجاحات التي حدثت في ملبورن بواسطة لوباتا وجونستون وآخرين ولقد أصبح واضحاً أن هناك حاجة لتنوع التقنيات القياسية للإخصاب خارج الجسم وكان أولها نقل الأمشاج GIFT داخل قناة فالوب والتي تبعها نقل اللاقحة داخل قناة فالوب وتبع ذلك تقنيات أخرى منها التلقيح داخل سيتوبلازم البويضة وقد أحدثت هذه التقنية تقدماً مفاجئاً عظيماً والتي ابتكرها يانا جيماتشي Yanagimachi ، ومن التقنيات

التي لا يمكن إغفالها تقنية الحفظ بالتبريد للحيوانات المنوية والأجنة التي ابتكرها بولج وويتينجهام على الترتيب.

لقد أخرج الدكتور جعفر على كتيباً علمياً وجيزاً وممتازاً لمختبرات تقنيات مساعدة التناسل البشري بادئاً بالاقتصاد في نفقات مستعمرة الفئران وتربية أجنة الفئران كما ذكر تفاصيل واضحة لاختيار مواد التفاعلات الكيماوية وإعداد المحاليل وعدّ الأنوية وتحضير منثور spread الكروموسومات وجميع هذه الأعمال تعدُّ ضرورية لاختبار المحاليل مع أجنة الفئران كما أورد التحذيرات عن المخاطر التي قد تتعرض لها مكونات المحاليل أو حينما لا يمكن ضمان الأمن للمنتج وعلى سبيل المثال فإن زلال المصل البشري قد يحتوي على بريونات مرض كروتزفلت – جاكوب Creutzfeldt-Jacob والأمراض المرتبطة، كما اختتم الدكتور جعفر كتيبه الوجيز بذكر قائمة المشتريات لإنشاء مختبر لتقنية مساعدة التناسل البشري ويمكن أن يعتبر هذا الكتيب أيضاً مرجعاً يدوياً لتأسيس وتشغيل مختبر تقنية مساعدة التناسل البشري مع جميع الاختلافات الحديثة أو قد يكون مرجعاً لهؤلاء الذين يريدون أن يصبحوا خبراء في تقنية مساعدة لتناسل.

ويسلى ويتن

بكالوريوس علوم بيطرية

دكتوراه في العلوم

مقدمة
Preface

لقد تقدمت تقنية مساعدة التناسل البشري بسرعة عظيمة جداً في العقدين الأخيرين والهدف الرئيس لهذا الكتيب المختبري الموجز أن يخدم بوصفه مرشداً علمياً مختصراً للعاملين في حقل تقنية مساعدة التناسل البشري ولقد حاول المؤلف عرض الإجراءات المختلفة لتقنية مساعدة التناسل البشري بطريقة شاملة ومنظمة كما أن تعاقب أقسام الكتيب تم ترتيبها طبقاً للتسلسل الزمني لإجراءات تقنية مساعدة التناسل البشري وتم استعراض محتويات الكتيب على هيئة نقاط لتسهيل مراجعة الصفحات ولم يتضمن الكتيب الخلفيات النظرية التفصيلية الكاملة عن علم أجنة الثدييات.

و تضمن القسم الأول من الكتيب عناصر علم أجنة الفئران قبل الانغراس حيث إن تطوير تقنية مساعدة التناسل البشري لا يمكن تحقيقها بدون اختبارات أولية على نماذج الفئران وأن معظم الإجراءات المستخدمة في تقنية مساعدة التناسل البشري قد تم تطويرها أولياً في الفئران وعلاوة على ذلك فإن إجراءات ضبط الجودة في تقنية مساعدة التناسل البشري ما زالت تعتمد على أجنة الفئران كما أن المؤلف يرحب بمقترحات القراء لتطوير الطبعة القادمة.

كما أني أودّ التعبير عن شكري وتقديري لزوجتي عليمه زينات، وأطفالى نفيسة على وبركات عمر على ؛ لمعاونتهم الفعالة في كتابة وإعداد النسخة المطبوعة من هذا الكتيب ولصبرهم ودعمهم المعنوي في إستكمال هذا العمل. كما أني أُقر بالجميل لمعلميّ الدكتور جيمس شيلتون (بكالوريوس ودكتوراه علوم بيطرية) والدكتور ويسلي ويتن (بكالوريوس علوم بيطرية ودكتوراه العلوم) لدعمهما وتوجيهاتهما ولقد قام الدكتور جيمس شيلتون بتحرير هذا الكتيب وإعداده للنشر كما قام بتصحيح عديد من الأخطاء التي ارتكبتها في اللغة الانجليزية، أما الدكتور ويتن فقد زودني بعرض تاريخي لتطوير تقنية مساعدة التناسل البشري في الافتتاحية، كما أنني مدين لإدارة مجموعة حمد الطبية لمساندتهم وبصفة خاصة للدكتور عبد الله العبادي (زميل كلية أطباء الأطفال FRCP) المدير الطبي لشركة حمد الطبية – الدوحة – قطر لتدخلاته بين الحين والآخر والتي ساهمت في التعجيل بطباعة هذا الكتيب، كما أني أشكر عديداً من الآخرين الذين يصعب ذكرهم بأسمائهم لكثرتهم الذين قاموا بمساعدتي في استكمال هذا الكتيب.

المؤلف

قائمة بالاختصارات
List of Abbreviations

AH : مساعدة التفقيس

AI : التلقيح الصناعي

AID : التلقيح الصناعي من متبرع (حيوانات منوية)

AIDS : مرض نقص المناعة المكتسبة

AIH : التلقيح الصناعي من الزوج (حيوانات منوية)

ART : تقنية مساعدة التناسل

BSA : زلال مصل الدم البقري

BT : نقل الحويصلة الجذعية

CJD : مرض كروتزفلت – جاكوب

CUMD : تقنية تربية الأجنة المتواصل في قطيرة فائقة الدقة

DPBS : محلول دولبيكو لملح الفوسفات

EBSS : محلول ملح إيرل القاعدي.

ECM : محلول تربية الأجنة (بيئة تربية الأجنة)

EDTA : حمض رباعي الخليك ثنائي الأمينات الايثيليني (إدتا)

ET : نقل الأجنة

FCS : مصل عجل جنيني

FET : نقل الجنين المجمد بعد الإذابة

FICSIT : نقل التلقيح داخل السيتوبلازم لقناة فالوب

FSH : الهرمون المستحث لحويصلات المبيض (الهرمون المستحث للجُريبات المبيضية)

GIFT : نقل الأمشاج داخل قناة فالوب

GV : حويصلة جرثومية

HBM : محلول هيبيس

hCG : الهرمون المشيمي المستحث للغدة التناسلية البشرية

HIV : فيروس نقص المناعة البشري

HO : هوكست ٣٣٣٤٢

HAS : زلال مصل الدم البشري

ICM : كتلة الخلايا الداخلية

ICSI : تلقيح داخل السيتوبلازم

Ig : جلوبيولين مناعي

IUI : تلقيح داخل الرحم

IVF : إخصاب خارج الجسم

IVM : نضج خارج الجسم

LAH : مساعدة التفقيس بالليزر

LAL : ليسات ليمبولاس واميبوسايت

MEM : محلول الحد الأدنى الضروري

Metaphase I : الطور الاستوائي الأول من الانقسام الخلوي

Metaphase II : الطور الاستوائي الثاني من الانقسام الخلوي

MTDL : الطبقة المباشرة متعددة الأنابيب

OCCC : مجموعة البويضة والتاج والمتجمعة

OPU : التقاط البويضة

OR : استشفاء البويضة

PBS : محلول ملح فوسفاتي

PGD : التشخيص الجنيني (الوراثي) قبل الانغراس

PI : أيوديد البروبيديام

PMSG : الهرمون المستحث للغدة التناسلية بمصل أنثي الخيل الحامل

PN : النواة الأولية

PROST : بروباندیول أو جليكول بروبيلين

PROST : نقل أنبوبي لمرحلة النواة الأولية

PVP : بولي فينيل بيروليدون

PZD : تشريح (قطع) جزئي للمنطقة الشفافة

Qs : كواكينبوش خاص

RO : التناضح العكسي (الضغط الأوسموزي العكسي)

SO : سلالات سويسرية

SUZI : التلقيح تحت المنطقة

TB : صبغة تريبان الزرقاء

TET : نقل الجنين داخل قناة فالوب

TROP : الطبقة الجذعية الظاهرة

UMD : القُطيرة فائقة الدقة

UME : بيئة فائقة الدقة

VS : محلول تزجيج

VS14 : محلول تزجيج في إس ١٤

WBC : كرات الدم البيضاء

WHO : منظمة الصحة العالمية

ZHOPT : اختبار تثقيب بويضة هامستر الحرة من المنطقة الشفافة

ZIFI : نقل اللاقحة داخل قناة فالوب

ZT : نقل اللاقحة (داخل الرحم)

المحتويات
Contents

إهداء ..... هـ

مقدمة المترجمين ..... ز

تمهيد ..... ط

مقدمة ..... س

قائمة بالاختصارات ..... ف

الباب الأول: علم الأجنة قبل الانغراس الجنيني بالفئران

الفصل الأول: مختبر علم أجنة الفئران ٣

الفصل الثاني: تقنيات علم الأجنة الأخرى ٤٥

الباب الثاني: علم الأجنة البشري قبل وبعد الانغراس

الفصل الثالث: مختبر تقنية مساعدة التناسل البشري ٥٩

الفصل الرابع : الممارسات المختبرية القياسية والموصى بها ٦٣

الفصل الخامس : آلات وموارد مختبر تقنية مساعدة التناسل ٦٩

الفصل السادس : تنقية الماء بتقنية مساعدة التناسل..... ٧١
الفصل السابع : تنظيف وتعقيم الأدوات الزجاجية ٧٣
الفصل الثامن : تقييم وتحضير السائل المنوي ٧٧
الفصل التاسع : محاليل الأجنة والأمشاج البشرية ٨٥
الفصل العاشر : تقنيات مساعدة التناسل ٩٥
الفصل الحادي عشر: تحضير الحيوانات المنوية للإخصاب واستشفاء البويضة المتكسية.... ١٠٥
الفصل الثاني عشر: الإخصاب وتربية الأجنة..... ١٢٧
الفصل الثالث عشر: طرق نقل البويضة والجنين ١٥١
الفصل الرابع عشر: تقنيات المعالجة المجهرية لمساعدة التناسل..... ١٥٩
الفصل الخامس عشر: حفظ الجنين بالتبريد ١٨١
الفصل السادس عشر : حفظ النطفة المنوية بالتبريد ١٩١
الفصل السابع عشر: اختبار وجود وعدم وجود المنطقة الشفافة البشرية ١٩٩
الفصل الثامن عشر: اختبار تثقيب بويضة هامستر ٢٠١
الفصل التاسع عشر: تحليل كروموسومات الأجنة ٢٠٥
الفصل العشرون : ضبط الجودة في مختبر تقنية مساعدة التناسل ٢٠٧
الفصل الحادي والعشرون : قائمة محتويات مختبر مساعدة التناسل ٢١١
ثبت المصطلحات ٢٢٥
أولاً: عربي – إنجليزي..... ٢٢٥
ثانياً: إنجليزي – عربي ٢٣١
كشاف الموضوعات..... ٢٣٧