

الباب السادس

إختبار الكفاءة التناسلية

اختبار الكفاءة التناسلية

(Testing Reproductive Capacity)

حيث يتم اختبار الكفاءة (الوظيفة) للتناسلية و الناجمة عن التأثيرات المختلفة للسموم و الملوثات البيئية و الكيماويات الصناعية المختلفة و العقاقير علي كلا جنسي مجموع الكائن الحي (الذكور و الإناث) موضع الدراسة ، شكل رقم (٦-١) كما يلي :

١- اختبار الكفاءة التناسلية الذكرية (Testing Male Reproductive Capacity):

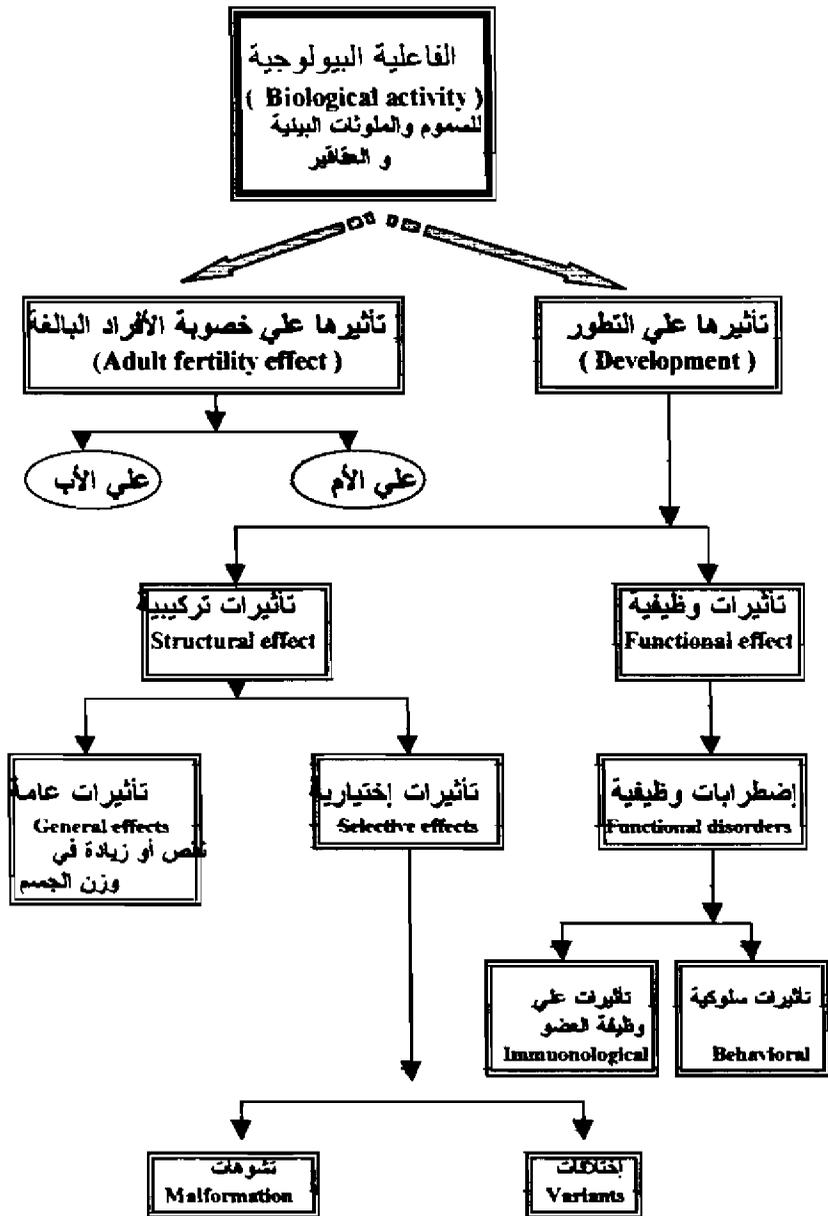
تتم اختبار الكفاءة التناسلية لمجموع الكائنات الحية الذكرية من خلال استخدام مجموعة من الاختبارات أو المقاييس (Parameters) المتنوعة مثل مقاييس الصفات المورفولوجية و البيوكيميائية و الوظيفة المستخدمة في تقدير سمية الكيماويات و السموم و الملوثات البيئية المختلفة على الوظيفة التناسلية لذكور حيوانات التجارب المعملية :

١-١- مسببات المرض الكبيرة (Gross Pathology) :

حيث يمكن الحصول على معلومات عظيمة الفائدة من خلال قياس وزن حجم الخصيتين و غدة البروستاتا و الأوعية المنوية و الغدد الجنسية و البربخ ، فللمظهر الخارجي أهميته الخاصة لتقدير التأثير و التغيرات الكبيرة بالغدة النخامية (Pituitary gland) و الغدة الكظرية (Adrenal gland) كطول القناة الجنسية (Genito canal) فعلى سبيل المثال طول القناة الجنسية أهميته في تقدير جنس الحيوانات الصغيرة كذلك تحديد مكان الخصيتين و هل نزلت في كيس الصفن أم مازالت معلقة داخله .

ومن الأهمية بمكان الأخذ في الاعتبار عند إجراء التجارب :

- أولاً على حيوانات متنوعة كالفئران و القطط و الكلاب
- وثانياً أنه يجب عند إجرائها على الحيوانات الكبيرة مراعاة وصولها إلي مرحلة البلوغ فالكلاب لا تصل لمرحلة البلوغ إلا بعد سنة في حين القروء تصل لمرحلة البلوغ بعد ٣ سنوات .



شكل رقم (٦-١): المظاهر المحتملة لتأثيرات المسوم والملوثات البيئية

١-٢- مصيبات مرضية نسيجية (Histopathology) :

يعد الفحص بالميكروسكوب الضوئي للخصية و البروستاتا و الأوعية الناقلة والغدة النخامية أهميتها في القياس فتعطي معلومات لها أهميتها في تأثير الكيماويات و السموم و الملوثات البيئية . و حديثا يستخدم الآن الميكروسكوب الإلكتروني المزود بشاشة (Transmission electron microscopy) خاصة مع خلايا الغدة النخامية فتمدنا بمعلومات إضافية ، كذلك يفيد أيضا ميكروسكوب المسح الإلكتروني : المقطعي (Scanning electron microscopy) في فحص الخلايا الجرثومية و خلايا الخصية و خلايا الغدة النخامية و البروستاتا .

١-٣- المقاييس البيوكيميائية (Biochemical Parameters) :

وتتضمن عدة إختبارات أهمها :

- إختبارات معدل تنفس الحيوان المنوي من خلال قياس الأوكسيجين المستهلك أو ثاني أكسيد الكربون الناتج .
- قياس نشاط إنزيم الكينيز (Kinase) و يعد من الأدلة الهامة على حدوث عملية الفسفرة .
- قياس معدلات تخليق الأحماض النووية و محتواها و الذي يتأثر كثيرا بالسموم و الملوثات البيئية .
- دراسة السنتيوبلازم و مستقبلات الإندروجين النووية (Nuclear androgen) بالأنسجة المستهدفة و مدى تأثيرها بالكيماويات و السموم و الملوثات البيئية من خلال قياس ثوابتها الخاصة للحكم على مدى تأثيرها .
- قياس النشاط الإنزيمي الدليلية (Marker) و التي تدل على الكشف الطبيعي أو الكشف المتأثر بالكيماويات و السموم و الملوثات البيئية (غير طبيعي) علاوة على إشارتها و مدلولها للعديد من الوظائف الهامة لكثير من الأنسجة و العصبية بالجهاز التناسلي مثل :
- قياس نشاط إنزيم الهيلورونيداز (H : Hyaluronidase)
- قياس نشاط إنزيم لاكتات ديهيدروجين (Lactate Dehydrogenase LDH-x)

- قياس نشاط إنزيم ألفا-جليسرو فوسفات ديهيدروجينيز
(α - Glycero Phosphate Dehydrogenase : GPDH)
- قياس نشاط إنزيم جلوكوز-٦ - فوسفات ديهيدروجينيز
(Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase : G-6-PDH)
- قياس نشاط إنزيم جليسر الدهيد -٣- فوسفات ديهيدروجينيز
(Glyceraldehyde-3- Phosphate dehydrogenase : G-3-PDH)
- قياس نشاط إنزيم أيزوستيرات ديهيدروجينيز (Iso-citrate dehydrogenase : ICDH)

حيث يتم تقدير نشاط هذه الإنزيمات بالحيوانات المتعرضة للكيمائيات ثم مقارنة تمثيلها بالغير معرضة (كونترول) ومن نتائج هذه البحوث قسم علماء السمية هذه الإنزيمات لمجموعتين :

- ♦ مجموعة إنزيمات (أ) : ونمط هذه المجموعة يتغير من المستويات المنخفضة للمرتفات مع التطور مثل :
إنزيم الهيالورونيداز (Hyalu ronidase : H)
إنزيم لاكتات ديهيدروجين
(Lactate Dehydrogenase LDH-x)
إنزيم ألفا-جليسرو فوسفات ديهيدروجينيز
(α - Glycero Phosphate Dehydrogenase : GPDH)
- ♦ مجموعة إنزيمات (ب) : ونمط هذه المجموعة يتغير من المستويات العالية (عند بدء عملية تكون الحيوانات المنوية) للمستويات المنخفضة مثل :
إنزيم جلوكوز-٦ - فوسفات ديهيدروجينيز
(Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase : G-6-PDH)
إنزيم جليسر الدهيد-٣-فوسفات ديهيدروجينيز
(Glyceraldehyde-3- Phosphate dehydrogenase : G-3-PDH)
إنزيم أيزوستيرات ديهيدروجينيز (Iso-citrate dehydrogenase : ICDH)

ويتداخل هذان النمطان معا عند الوصول
لمرحلة البلوغ .

كما يمكن تقييم وتوزيع مستوى إنزيمي : جلوكوز-6 - فوسفات
ديهيدروجينيز (Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase : G-6-PDH) و (SDH)
بالأوعية الناقلة و الأنسجة الخارجية للبربخ فعلى سبيل المثال تحتوى
الأنسجة الخارجية للأوعية الناقلة بالفنران البالغة على مستوى عالي من
إنزيم (SDH) ومستوى منخفض من إنزيم (G-6-PDH) والعكس كان قبل
البلوغ .
وكلتا الحالتين يتأثر فيها نشاط الإنزيم بالكيمويات تبعا لنوعها كما
يلاحظ ظاهرة هامة وهى ارتباط التغيرات الهستولوجية مع التغير فى
مستوى الإنزيم .

١-٤- قياس وظيفة الخلية المساعدة (Accessory cell function) :

توجد بين الخلايا الجرثومية خلايا تعرف بخلايا سيرتولي (Sertoli)
وهى كبيرة نسبيا وتمد الحيوان المنوي بالغذاء ويعتقد أنها تلعب دورها فى
ثبات حازر الدم للخصية وتحتوى على مستويات عالية من إنزيم ألفا -
جلوتاميل بيتيديز (α - glutamyl peptidase) و البروتينات الحاملة والمرتبطة
بالأندروجين (ABP) والتي تنقل الأندروجين للخلايا الجرثومية (Premeiotic) .

أما الخلايا من النوع (Leydig cells) والكائنة بالأنسجة الداخلية بين
الأتاييب المنوية فهى غنية بإنزيم : ٣-بيتا - كيتوستيرويد ديهيدروجينيز
(3- β -Keto steroid dehydrogenase) و تفرز مادة تستوستيرون (Testosterone)
كما يمكن قياس مستوى التستوستيرون على فترات قصيرة (٤ ساعة) فى
البلازما كقياس لمدى التأثير السام .

وتتضمن عملية تكوين الحيوان المنوي (Spermatogenesis) العديد من
الهرمونات فأحد أدوار الحويصلة المنبه للهرمون (Follicle stimulating

(FSH : hormone المنبه لخلايا سيرتولى لإنتاج الأندروجين المرتبط بالبروتين (ABP) لنقل الأندروجين للخلايا الجرثومية المتكشفة .

وللخصية وظيفة هورمونية منوية (Spermatogenic function) ويعد الأندروجين هرمونات الخصية الأساسية : فهرمون التستوستيرون والمفرز بخلايا (Leydig) الموجود بالأستجة البينية (Interstitial) بين الأتابيب (Seminiferous tubules) بين خلايا سيرتولى هرمون الإستروجين (Estrogen) من التستوستيرون كما تفرز خلايا قشرة الأدرينال كميات صغيرة من الأندروجين و الإستروجين بكل من الجنسين .

والفشل الأولى في حوصلات الخصي (Primary testicular failure) يرجع لتأثير الكيماويات و السموم و الملوثات البيئية مباشرة على العضو بينما الفشل الثانوي يرجع لتفاعلات الخصية و تتداخلها (Interaction of Adeno hypophyseal tests)

١-٥- تحليل الحيوانات المنوية (Sperm analysis) :

وذلك من حيث عدد الحيوانات المنوية بالرغم من عدم الاعتماد عليه كثيراً كمؤشر لوظيفة الخصيتين كالحده الأدنى لها في الإنسان ٦٠ مليون حيوان منوي / ملل ولكن التركيز يعد أكثر أهمية كمؤشر لتخريب سام أكثر أهمية من العدد الكلى . حيث لوحظ إنخفاض في الحيوانات بالرجل الأمريكي على مدي ٢٥ سنة و بلغ معدل النقص ٢٢% .

أما الشكل الخارجي للحيوانات فيعد مؤشر قوى و جيد لإظهار السمية مع أنه يوجد ٤٠% من الخلايا غير طبيعية أساسا .

كما تستخدم حركة الحيوان المنوي كمؤشر لعدد الحيوانات القادرة على الحركة و الانتقال في خط مستقيم كذلك توجد عدة طرق لقياس حيوية الحيوان المنوي كمؤشر للسمية و التي تعتمد على حركته و تركيزه .

ويلاحظ أن وصول أعدادها إلى ٢٠ مليون حيوان / ملل يؤدي لعقم الرجل رغم أن البويضة تلقح بحيوان منوي واحد إلا أن العدد الهائل منها الواصل للرحم يعمل على التغلب على العديد من المصاعب الكيماوية و النسيجية و التنشيرية للرحم أثناء رحلته بها وحتى البويضة حيث يصل إليها آلاف قليلة من العدد كله .

و رغم أن معدل سرعة الحيوان المنوي ٣ ملليمتر / دقيقة إلا أنه يصل إلى قناة المبيض بعد حوالي ٤٥ دقيقة من وضعهم في الرحم و هنا تلعب الأعضاء التناسلية الأنثوية دورها في إنتقال الحيوان المنوي حيث تعد بلازما الحيوان المنوي هي بينته الغذائية و المحلول المنظم لحركته .

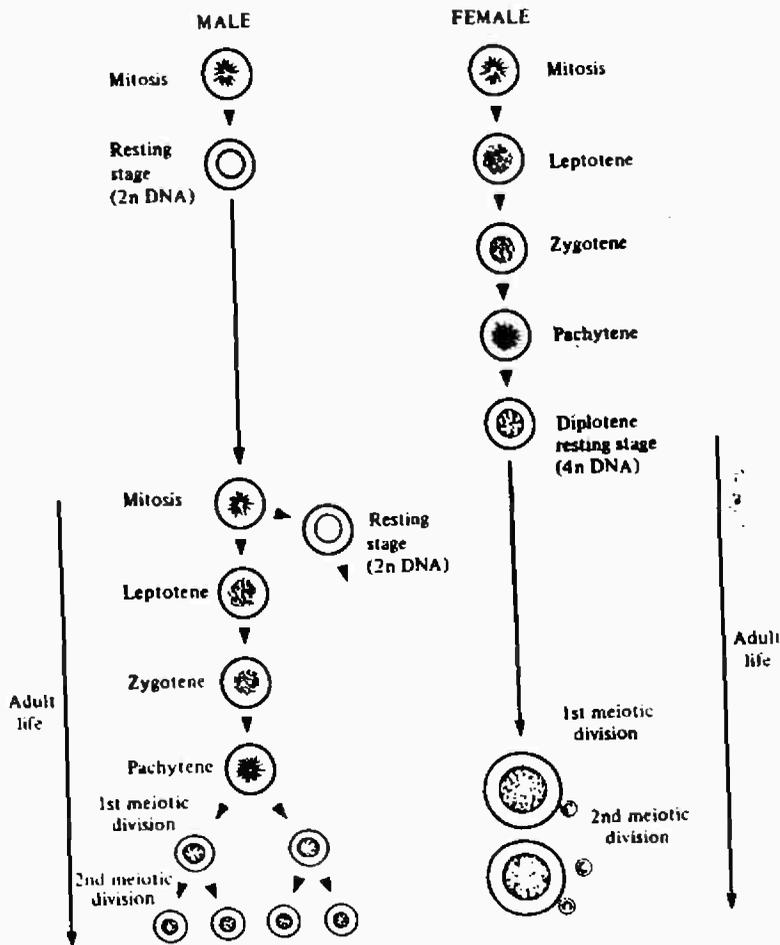
أما غدة كوبر (Cowper's gland) فتفرز إفرازات محدودة (Scent) ومنتجات الخصيتين و البربخ و الأوعية الناقلة و تتراكم بالأوعية المصدرة . و يأتي حوالي ٣٠ % من حجم المنى من البروستاتا و يكون غني بإنزيم الفوسفاتيز الحامضي و الليسوزيم و حمض الستريك و الأنزيمات الناقلة للأمين و الزنك .

أما التحليل الكيماوي للمنى فيعتمد على درجة حموضة و لزوجته حيث يحول المنى الكثيف إلى سائل خلال دقائق (٢٠ دقيقة) .

١-٦- فصل الخلية المنوية (Separation of Spermatoocyte) :

نظرا لصعوبة إجراء فصل الخلية المنوية فإن ذلك يحد من إجراء الدراسات البيوكيميائية عليها و لذا تستخدم في الأبحاث طرق التصوير بالإشعاع الذاتي و الطرق الهستولوجية و الهستوكيميائية و قد يستخدم الطرد المركزي المتكرج أو الترسيب بسرعة الجاذبية الأرضية أو كلاهما . و قد رسيه العالم Lam عام ١٩٧٠ بالترسيب بالسرعة لفصل معلق منوى بغرض تقييم السمية و لقد تم تقدير إشتراك الثميدين و اليوريدين و الليوسين بأنواع من الخلايا الفردية و لقد أمكن التعرف المبني لتسعة أنواع من الخلايا المنوية ، شكل رقم (٦-٢) مثل :

دبلوتين (Diplotene) و باكتين (Pachytene) و الزيجوتين (Zygotene) و الخلية المنوية الثانوية (Sec. Spermatoocyte) و طلائع المنى المستديرة (round Spermatic) و طلائع المنى المتطاولة المتأخرة (late elongated spermatid) حيث كان النوع الأول أكثرها و أسرعها في معدل الترسيب و كانت طلائع المنى المستطيلة المبكرة و المتأخرة أقل سرعة في الترسيب .



شكل رقم (٦-١) : أشكال الخلايا الذكرية والأنثوية

ولوحظ إختلاف (أخذ) التيميدين المشع بمنحني خلايا أمهات المنى مما يشير لاختصاصها في تخليق حمض الديزوكسي نيوكليك (DNA) .
 واستخدام المواد المطفرة (MMS) أظهر دخول التيميدين وانخفاض في تخليق حمض الديزوكسي نيوكليك (DNA) لحدوث تخريب به دخول المادة المطفرة . و تقيد طرق الترسيب بالسرعة في تقدير مدى الكفاءة الخلوية للخلايا المنوية المستطيلة المتأخرة والمبكرة وأمهات المنى حيث توجد علاقة تنافس بين طلائع المنى و الكاديوم والزنك .

١-٧- الوظيفة التناسلية (Reproductive function) :

تعد طريقة التزاوج المتعاقب أو المتسلسل لحيوانات التجارب (الفئران) اختبار جيد ومفيد للطفرات المميتة ومعرفة تأثير المواد المطفرة وكذلك الوظيفة التناسلية للذكر فعقب المعاملة بالمادة الكيماوية المراد اختبارها يتم تسكين كل ذكر مع أنثى لم تخصب من قبل (virgin) لسبعة أيام لتمكن الأنثى من المرور بدورة الطمث كاملة أثناء فترة التربية حيث يتم اختبارها و اختبار حالة الرحم نوريا كل ٧ أيام للتأكد من عدم تداخل المادة الكيماوية و تأثيرها مع حالة الحمل وكفاءة التزاوج وبعد ٧ أيام تبذل الأنثى .

وتستمر هذه التربية سبعون يوما وبعد ٩ يوم من نهايتها تكون لأنثى حامل في مدة تعادل تقريبا ١٢,٥ يوم حيث يتم نبح الإناث وفحص المهبل و الأجنة وتسجيل عدد الميت منها و الحي وتقدر النسبة المنوية للخصوبة وتمثيلها بيانياً بمتحنى يعبر عن خصوبة الذكور بعدد الإناث التي تم حملها . و أظهرت هنا التجارب أن الفترة النسبية لخلايا أمهات المنى هي تسعة أيام بينما كانت في خلايا المنى إحدى عشرة يوما و في طلائع المنى ١٤ يوم و بالحيوان المنوي سبعة أيام .

ويحدد التزاوج المتتابع الكفاءة البيولوجية لخلايا الحيوان المنوي ويعطى أنماط للخصوبة و التي تتناسب عكسيا مع المرحلة الخاصة بتكوين الحيوانات المنوية المصابة نتيجة المعاملة .

فعدت دراسة مادة سيتوزين أرابينوزيد (Cytosine arabinoside) والمؤثرة على أمهات المنى ولربما على خلايا المنى (Spermocyte) لتأثيرها على معدل تخليق DNA فهي مثبط لإنتاج بلمرة الحمض (DNA) و الذي يوقف تخليقها كذلك مادة (Vincristine) والموقفة للإنقسام الميتوزي .

١-٨- السلوك التناسلي (Reproductive behavior) :

من الأسئلة التي تحتاج لإجابة بأي دراسة تناسلية هو أي الحيوانات المنوية بالفعل لقحت أي تم تزاوجها ؟

ويفيد استخدام صبغة شيف الحمضية (periodic acid Schiff) بغوض التعرف على الخلايا المفرزة للمخاط بالمهبل والرحم . و أيضا يمدنا الميكروسكوب الإلكتروني (T.E.M) بمعلومات إضافية أدق عن المبيض والغدة التخامية في حين يمدنا الميكروسكوب الإلكتروني الماسح (SEM) قد يكشف عن تغيرات عديدة مبكرة بالمهبل وعنق الرحم والرحم .
و أثناء الفحص يتم تسجيل عدد البويضات والحوصلات بمراحلها المختلفة ومقارنتها بالكونترول لمعرفة مدى تأثير المادة السامة و كذلك أيضا يفيد القياس الطولي لهذه الأجزاء ومن خلال ذلك يتم :

- حساب متوسط عدد الحوصلات بالقطاع (عدد كمي)
- حساب نسبة الحوصلات الرديه المركزية (atritic)
- نسبة الحوصلات الأولية والثانوية و حوصلات جراف .

٢-٣- المقاييس البيوكيميائية (Biochemical parameters):

حيث تجرى دراسة لمستقبلات الهرمونات السيوتوبلازمية والتواءة في الأنسجة المستهدفة وهي دراسات تطورت سريعا مثل مستقبلات هرمون الإسترايول (Estradiol) والبروجيسترون (Progesterone) حيث يتنافس معها الكيماويات و السموم و الملوثات البيئية وقد تغير من شكلها وتركيبها .
فالحقن اليومي بهرمون الاسترايول أدى إلي زيادة وزن الرحم وبناء مستقبلات هرمون البروجيسترون (تأثير عكس حيث وضعف نظرية تشير بأن هرمون البروجيسترون يصاد فعل الإستروجين (Esterogen) بخفض مستويات مستقبل الإستروجين بينما يعتقد بعض العلماء بأن عمل البروجيسترون بعد تكوين مستقبل الإستروجين يتم انتقاله ليصاد فعل الإستروجين .

ويعد تكوين المستقبلات الإسترويدية عملية هامة لفهم نظريتي السمية التناسلية فقد يلعب مستقبل الإستروجين دورة في السمية الأولية لكثير من العوامل البيئية فمثلا نواتج تمثيل مركب الدنت و مركب (BMBA) و البيفينولات عديدة الكلور (PCB.s) وكيماويات أروماتية أخرى مماثلة ترتبط بمستقبل الإستروجين السيوتوبلازمي ولهذا فالتفاعلات المتداخلة بين المركبات الحيوية الغير هورمونية والمستقبلات الخلوية للهورمونات تؤدي

لاستجابة غير متوقعة هورمونية (agonist) أو يعمل على كبت الاتزان الهورموني الطبيعي (Antogonist) و بكلتا الحالتين تظهر مظاهر غير طبيعية .

وقد يتحور المحتوى البروتيني من المستقبلات الهورمونية بتعرضها للكيمواويات السامة و السموم و الملوثات البيئية و قد تغير من استجابة الأنسجة المتأثرة بالحث الهورموني المتتابع .

ولقد أصبح التقدير الكمي لمستقبلات الإستروجين السيتوبلازمي في سرطان الثدي (breast cancer) مؤشر هام جدا لتشخيصه والتخليق الحيوي للإسترايديول و تمثيله إلى استرويل (Estroil) بالمبيض دليل هام على المناقصة التامسية (حيث يتم هدم هذه الإسترويدات بالكبد) كذلك تتضمن عملية التمثيل إقترانه بحمض الجليكورونيك (Glucuronic) وهذه المسارات تتأثر بالعديد من الكيمواويات السامة الخارجية بالبيئة .

٢-٤ - وظائف الخلايا المساعدة (Accessory cell function) :

للحويصلة وخليتها الجرثومية منشأ ثنائي (Dual origin) من خلايا السترومة (theca: stroma) الناشئة من الأنسجة الضامة الجنينية (Fetal connective tissue) بواسطة المبيض ومن الخلايا المحببة من خلايا القشرة وعلى أساس منشأها الجنيني فكلا من السترومة والخلايا المحببة تكون مقارنة بمثيلتها بالذکر حيث تنشط خلايا الأسترومة و السيرتولي و خلايا (leydig) بالغدد الصماء بينما خلايا سارتولي و خلايا (Leydig) بالذکر خاملة بالنسبة للغدد الصماء .

والخلايا المحببة تأتي من المبيض كما يمكن زراعتها كما يمكن تقدير فاعلية مستقبلات الجونادو تروبين (Gonado tropin) بزيادة تخليق هورمون البرجيسيترون بالاستجابة لهرمون (LH) أما الخلايا الداخلية فيتم تحضيرها من خلال هضمها إنزيميا على خطوات معقدة متعددة و حفظها في مزرعة لتقييم استجابتها الهرمونية .

٢-٥- الحالة الهرمونية (Hormonal status) :

- حيث يوجه اهتمام خاص للبحوث بمرحلة الطمث (Estrus) فيتم :
 - تقدير دوراتها من خلال مسح مهبلي للحيوانات في المعمل (Vaginal smear) .
 - كذلك يجب تقدير طول مرحلة الدورة .
 - و أيضا تقدير مستويات الهرمون المسؤولة عن حفظ وظيفة المبيض الطبيعية والممكن استخدامها لقياس نشاط الجوناد (Gonado tropic) .
 - كذلك تقدير نشاط (FSH) و (LH) باستخدام الراديوم المشع .
 - كذلك تقدير الإستروجين والبروجيستيرون بطرق متنوعة .
- ولمبيض الأنثى وظيفة ثنائية و هي إنتاج وتحرير البويضات و إنتاج هرمونات الجنس الإسترويدية وكلاهما يلعب دوره في تجهيز الرحم للحمل (Pregnancy) والتغيرات في هرمونات الغدة النخامية والمبيض أثناء دورة الطمث فنجد أن نشاط الغدد الصماء للمبيض يتم تحت سيطرة جزء من الغدة النخامية و التي تفرز نوعين من الهرمونات المحثة (Gonadotropins) :
- هرمون محث للحويصلة (FSH) و يبدأ تكوينه من بداية دورة الطمث وهو المحدد لنمو الحويصلة
 - وهرمون (LH) ويفرز بوسط الدورة ويعمل على نفس الوقت مع هرمون (FSH) لبداية عملية التبويض (Provok ovulation) كما ينبه عملية تكون الجسم الأصفر (Corpus luteum) .
- وتحت تأثير هرمونات (hypophyseal gonadotropins) فإن نشاط الغدد الصماء للمبيض له مرحلتين :
- الأولى : إفراز الإستروجين
 - الثانية : إفراز البروجستيرون حتى قبل تكون الجسم الأصفر .
- ولهرمونات الجنس الإسترويدية دور تنظيمي هام في نمو وتطور والمحافظة على أعضاء الجنس الأنثوي .
- و للحويصلات ثلاثة أدوار هامة هي طبيعة نشأتها و إنفراد البويضة الناضجة وإفراز الإستروجين أثناء نمو البويضة ثم تحول بعد النضج

والانفراد إلى الجسم الأصفر و الذى يفرز كلا من الإستيروجن و البرجسترون .

ويمنع الحمل موت الجسم الأصفر بتأثر هورمون (Lautcatropic) ويتصل كل مبيض بقناة تؤدى للرحم و الانتباضات المتلاحقة تؤدى لتوجيه و دفع البويضة الجديدة لقناة المبيض . ويتكون جدار قناة المبيض من طبقات عضلية على إستقامتها مع الخلايا الهدبية المخاطبة الداخلية حيث حركة الأهداب و التموجات بالجدار العضلي أثناء فترة التبويض هي المسؤولة عن توجيه البويضة من قناة المبيض للرحم .

و تفرز الخلايا المخاطية لقناة المبيض سائل يزيد كفاءة إخصاب الحيوان المنوي (Capicitation) حتى يستطيع الحيوان المنوي اختراق سطح البويضة .

أما الرحم فعضو عضلي يقوم بثلاث وظائف رئيسة وهى توفير المكان والظروف الضرورية للحمل فيكون الجسم الأمي للمشيمة (Maternal portion of placenta) و الضروري للتغذية وعمليات التبادل بين الأم والجنين وينمو الرحم متناسبا مع النمو السريع للجنين . وللرحم طبقة عضلية قوية تعرف باسم (Myometrium) والمحاطة داخليا بالمخاط ويطلق عليها (Endometrium) وكلا الطبقتين حساستين للإفراز الهرموني للمبيض وتدخل طبقة (Endometrium) في تغيرات دورية مع دورات المبيض . ويحاط المبيض بطبقة سميكة من الخلايا الطلانية والتي تدخل بدورها فى تغيرات دورية مع دورات المبيض وتوجد علاقات عكسية بين هرموني المبيض كالاستيروجن والبرجسترون والغدة المنتجة لهورمونات (FSH) و هورمون (LH) و هورمون (LTH) والمسؤولة عن تأثيرات الجهاز العصبي المركزي وتنظيم التبويض وتجهيز طبقة الإندوميتريم لتغذية البويضة المخصبة .

٢-٦- الوظيفة التكاثرية (Reproductive function) :

يعد قياس الخصوبة طريقة سهلة لتتبع التأثيرات السامة على الجهاز التناسلي للأنثى والمقدرة على الحمل و إحداث الحمل والتطورات اللاحقة بالنسل وطريقة السعة (الكفاءة) الكلية للتناسل تكون ملائمة بصفة خاصة

لدراسة السمية المزمنة وهذا النوع من طرق البحث المتميز بأنه إذا فقدت الحويصلات البيضية (Oocytes) فلا يحل محلها حويصلات أخرى . ويتم بحجز الأنثى مع الذكر البالغ المخصب في قفص بمفردهما ويتم عملية التربية بإزالة الصغار المولودة أول بأول فتكون الأنثى مقبولة دوما للذكر . كما يمكن إحداث تطوير لهذه الطريقة لاختيار التأثيرات المميّنة السائدة كما يستخدم في دراسة التأثيرات اللاحقة للعقار الهرموني النشط داي ايثيل ستيل بسترول (DES : Diethyl stilbesterol) وكذلك الكيماويات و السموم و الملوثات البيئية.

و بعد معاملة الهرمون مع زيت الذرة تحت الجلد بالفئران وعقب ١٦ يوم من الحمل (Gestation) انخفضت كفاءة التناسل بالإناث الفاشلة (Female off spring) وتم ملاحظة الفئران على مدى ٣٢ أسبوع و تراوحت التأثيرات من الحد الأدنى للخصوبة (Sub - fertility) وتمثل ٩٥% من الكونتزل عند أول جرعة تسبب عقم الإناث وعند الجرعتين العاليتين ويجب الإشارة إلى أن الجرعة العالية من هرمون داي ايثيل ستيل بسترول (Diethyl stilbesterol : DES) وهي ١٠٠ ميكروجرام لكل كيلو جرام كانت أكثر عدة مرات من مثيلتها و التي يمتصها الحيوان من الغذاء نتيجة لاستخدام الهرمون ولكن كمحفز للنمو (Growth promotor) .

ويمكن إحداث التبويض بالتحكم بتعاطي الجونادوتروبين (Gonadotropins) ثم فحص كمية و نوعية البويضات (Ova) و كذلك يمكن تقدير عدم حساسية الرحم (Uterus) الهرمونية (وزن الرحم / وزن الجسم) من خلال التحكم في جرعات الاستيروجين . وتكون التوقعات السلوكية للتناسل هامة هنا وبعض الاستجابات مثل (Lordosis quotients) يمكن الحصول عليها بسهولة .

٢-٧-١-٢-٧-٢ الإحتياجات التنظيمية (Regulatory requirements) :

٢-٧-١-٢-٧-٢ إختبارات تقدير وظيفة التناسل (Tests for assessing reproductive function)

و تستخدم كأساس لتقدير وظيفة التناسل لمعرفة الاحتياجات المنظمة والمختلفة وتستخدم مثل هذه الدراسات بشكل تقليدي في حيوانات التجارب كالفئران (Rat - mice) وذلك لنضجها الجنسي المبكر وفترة حملها القصيرة وكذلك فترات رضاعتها (Lactational) علاوة على سهولة التعامل معها بغرض معرفة التأثيرات والعيوب العامة التناسلية (Reproductive failures) ولكن لا تعطى معلومات عن جزء خاص بالعملية التناسلية المتتابة . كذلك تجرى دراسات أخرى بشكل روتيني أيضا لمعرفة التأثيرات التشويهية والطفرية الحادثة (Teratogenic & mutagenic) ويستخدم هنا نوعين من الإختبارات :

▪ إحداهما خاص بالعقاقير (Drugs)

▪ والثاني خاص بالإضافات الغذائية (Food additives)

وتختلف الطريقتان تبعاً للطريقة التي يصل بها المركب للفرد المستهلك حيث يعطى العقار بشكل مقصود ويجرعات تحدث تأثيرات بيولوجية لذا فالتعرض له يمكن التحكم فيه أما الإضافات الغذائية والملوثات البيئية كالسموم والمبيدات فتدخل وبمستويات لا يمكن التحكم فيها وغالبا ما تكون بمستويات منخفضة .

٢-٧-٢- دراسة تعدد الأجيال (Multi generation) :

وتظهر أهمية هذه الدراسة في تقدير التأثير على أداء الجهاز التناسلي خلال فترة الحمل وتستمّر ذلك على أفراد الجيل الثاني . وقد يتضمن ذلك دراسة الأورام كجزء من هذه الدراسة وهذا البرتوكول يقدم مميزات لمراحل ما قبل الكشف لأبء الجيل الأول (F_1) دون الحاجة لوقت إضافي أو التكلفة التي يحتاج إليها للدراسة التقليدية للجنين (Classic 2nd generation study) وعادة ما تتكون هذه التجارب من ثلاث مجاميع للمعاملة ومجموعة للمقارنة وكل مجموعة تتكون من ٢٠ أنثى بكر تتراوح مع عشرة ذكور بالغة مع الأخذ في الاعتبار أن أقصى جرعة مستخدمة تكون في حدود درجة الحمل .

أما مستويات الجرعتين المنخفضتين فتختار في صورة متوالية هندسية

وتعطى المواد المختبرة عن طريق الفم أو تخلط بالطعام أو ماء الشرب ويتم معاملة جيل الآباء (F.) في بداية الحمل أو في وقت التزاوج .
 يتم الاختيار من الصغار المولودة بالجيل الأول (F₁) عشرون أنثى وعشرة ذكور عشوائيا لتكون هي الآباء للحمل الأول وتسجل أوزانها وعند وصولها لمرحلة النضج الجنسي (البلوغ) يتم تزاوج كل ذكر مع أنثيتين من نفس المجموعة ويتم تقدير التزاوج الناجح و الذي يستدل عليه بوجود دم في المهبل و إذا لم تظهر الأنثى هذه العلاقة في دورة الطمث التالية يتم إعادتها إلى قفصها الأصلي وفي نهاية دورتين للطمث يتم إعادة تعريض الذكور للإناث المختلفة في نفس المجموعة و لا يجب تزاوج الأنثى بأكثر من ثلاث أثناء دورة التريبة .

ومن خلال ملاحظة عدد مرات تلقيح الذكر للإنثى وعدد مرات دورات الطمث اللازمة للتزاوج وعدد نتاج الحوامل وذلك لإتمام عمليات حسب دليل الخصوبة (Index) ويحسب :

$$1- \text{ دليل التزاوج (Mating index)} = \frac{\text{عدد الحيوانات المتزاوجة}}{\text{عدد مرات الطمث اللازمة} \times 100}$$

$$2- \text{ دليل الخصوبة (Fecundity index)} = \frac{\text{عدد الحوامل}}{\text{عدد الحيوانات المتزاوجة} \times 100}$$

$$3- \text{ دليل خصوبة الذكر (Male fertility)} = \frac{\text{عدد الذكور المنصبة للإناث}}{\text{عدد الذكور المعرضة للإناث خصبت ولم تحمل} \times 100}$$

$$4- \text{ دليل خصوبة الإناث (Female fertility)} = \frac{\text{عدد الإناث الحوامل}}{\text{عدد الإناث المعرضة لذكور خصبة} \times 100}$$

$$5- \text{ حدوث المخاض (Incidence parturition)} = \frac{\text{عدد الحيوانات المتمخضة}}{\text{عدد الحوامل} \times 100}$$

ويلاحظ أن جميع حيوانات التجربة (F_{2b} , F_{2a} , F_{1a}) تم اختبارها من حيث خصائصها الغير طبيعية عند الميلاد حيث يتم تسجيل هذه الملاحظات يوميا (عدد الأحياء خاصة عند اليوم ١, ٤, ١٢, ٢١) كذلك وزن الأفراد خاصة في اليوم الحادي و العشرون من الرضاعة ومنها يحسب :

دليل الحياة عند الميلاد (Life birth index) =

عدد الأحياء المولودة حية ÷ العدد الكلي للحيوانات المولودة × ١٠٠

دليل الحياة بعد ٢٤ ساعة من الميلاد (24-hr survival) =

عدد الأحياء باليوم الأول للرضاعة ÷ عدد الحيوانات المولودة حية × ١٠٠

دليل الحياة بعد ٤ يوم من الميلاد (4-days survival) =

عدد الأحياء باليوم الرابع للرضاعة ÷ عدد الحيوانات المولود حية × ١٠٠

دليل الحياة بعد ١٢ يوم من الميلاد (24-days survival) =

عدد الأحياء المولودة باليوم الثاني عشر ÷ عدد الحيوانات المولودة حية × ١٠٠

دليل الحياة بعد ٢١ من الميلاد (21-days survival) =

عدد الأحياء المولودة بعد ٢١ لرضاعة ÷ عدد الحيوانات المولود حية × ١٠٠

وبعد الفطام لصغار الجيل الثاني (2 nd litter) أي بعد ٣٣ أسبوع تذبح عشرة ذكور وعشرة إناث من آباء الجيل الأول بكل مجموعة و تسجل الملاحظات للمسيبات المرضية حيث توزن الأعضاء البطنية والغدد الصماء والغدد الجنسية وحساب نسبة كل منها لوزن المخ والجسم كذلك يتم فحص وتثبيت (Fixing) للجهاز العصبي المركزي والمحيطي و (visera) الصدرية والبطنية وفحص أنسجة خمسة ذكور وخمسة إناث نسيجيا و ميكروسكوبيا /مجموعة و مقارنتها بالكونتروال للتركيزات الأعلى فالأقل وهكذا لتسهيل الفحص وهكذا أيضا مع آباء الجيل الأول والثاني ثم تجدول النتائج متضمنة وزن الآباء و الأعضاء الداخلية ومعدل إستهلاك الغذاء ونسبة الموت بالآباء وفترة الحمل وقياس الدلائل السابقة لتقييم الضرر الناتج من المعاملة حالة وجوده .