التقنيات النسيجية

Histological techniques

كلية التـربية للعلوم الصرفة - قسم علوم الحياة

المستوى الاول (A) – المحاضـرة الثـالثة

2020-2019

د. هبة عباس جاسم

المصادر:

1- المطار ، عدنان عبد الامير، العلاف، سهيلة محمود و المختار، كواكب عبد القادر (1982) التحضيرات المجهرية. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي – الجمهورية العراقية.

2- الرطوط، اسامة خالد؛ عثمان، جمال محمد؛ الطردة، محمود محمد و أبو دية، محمد (2009) اساسيات علم التحضير النسيجي. دار الثقافة- المملكة الاردنية.

3- شاهين، جميل نعمان (2006) دليل العمل في مختبر الاحياء. دار عالم الثقافة، المملكة الاردنية.

4- المشني، يوسف حسني و فطاير، عبد الرحمن (2000) الكفايات العملية لفنيو المختبرات الطبية. دار المستقبل- المملكة الاردنية.

5- عبد القادر ، عمر (2012) التحضيرات المجهرية.

https://fac.ksu.edu.sa/sites/default/files/lthdyrt_lmjhry_ljz_lthny.pdf

الطرق العامة في التحضيرات المجهرية General methods in microscopic technique :

أولا: تحضيرات لامقطعية Non-sectioning methods

2- طريقة الهرس او السحق Squashing method:

تستعمل هذه الطريقة لعمل التحضيرات المؤقتة للانسجة التي ليست طرية بالقدر الذي يسمح لعمل مسحة منها ولا صلبة لدرجة تكفي لقطعها دون طمر مسبق. من العينات التي تخضع للهرس هي الهايدرا، القمم النامية في الساق والجذور والمياسم ، المبايض والغدد اللعابية لذبابة الفاكهة ، والعقد المفاوية والاورام الطرية والحويصلات المنوية والبربخ وبطانة المهبل وسقف الحلق ودراسة مراحل الانقسام الخلوي ومشاهدة الكروموسومات.

بصورة عامة يهرس النسيج بوضع العينة على شريحة نظيفة وتفرش تحت غطاء الشريحة بضغطها بشكل يمكن من نشر وفرد الخلايا ومن المعتاد ان تحاط العينة بسائل مناسب قبل هرسها ويعتمد اختيار السائل على طبيعة العينة والغاية من التحضير، فالقممم النامية للجذور او السيقان توضع عادة في محلول حامض الهيدروكلوريك HCl ليفكك جدران الخلايا قبل ان تصبغ بصبغة الاسيتوكارمين acetocarmine او اسيتواورسين acetoorcin، اما الهايدرا Hydra فيمكن هرسها في ماء او محلول رنجر Ringer solution لتوضيح خلاياها اللاسعة.

تحضير هرسة من سقف الحلق وباطن الفم:

تعد خلايا سقف الحلق وباطن الفم Buccal cells خلايا ظهارية epithelium حرشفية Squamous رقيقة وتشبه الحراشف ولديها حواف غير منتظمة. تتضمن ثلاثة انواع وهي: الخلايا الحرشفية القاعدية حيث يصطبغ السيتوبلازم باللون أزرق ، الأسطح غير الكيراتينية مثل خلايا الخد الداخلي تصطبغ باللون الوردي ، وفي الأسطح الكيراتينية مثل اللثة تصطبغ باللون البرتقالي. ويزداد وجود الانوية الصغيرة Micronucleus فيها في بعض الامراض مثل فقر الدم المنجلي Sickle cell anemia. هذا النوع من الخلايا يمكن الحصول عليها بسهولة.

المواد والاجهزة المستعملة Materials and tools :

1- سلايدات زجاجية Slides مع اغطيتها Cover slips
2- قطارة Dropper
3- عيدان الاسنان Toothpick او Cotton swap
4- صبغة ازرق المثلين Methylene blue
5- مجهر ضوئي مركب Compound light microscope

طريقة العمل Method :

1- ضع قطرة صغيرة من الماء المقطر وسط الشريحة.

2- حك او اقشط باطن الخد cheek بصورة دائرية بواسطة عيدان الاسنان toothpick او cotton swap بعد غسل الفم جيدا.

3- حرك نهاية عيدان الاسنان في قطرة الماء الصغيرة على الشريحة.

4- ضع قطرة من صبغة ازرق المثلين methylene blue على السلايد ثم حرك الخلايا الظهارية المقشوطة scraped epithelial cells في الصبغة بالضغط عليها بغطاء الشريحة.

5- افحص السلايد تحت المجهر على قوة التكبير الصغيرة X 10 ثم الكبيرة X40.

6- ارسم الخلايا الظهارية المختلفة بالتفصيل ووضح الفروقات بينها.

7- من الممكن تصبيغ الخلايا بطريقة اخرى تشمل استخدام صبغة كمزا Giemsa stain لمدة 20 دقيقة بعد تثبيتها بالميثانول لمدة 10 دقائق ثم تغسل بمحلول منظم (pH 6.8) ثم تجفف بالهواء.

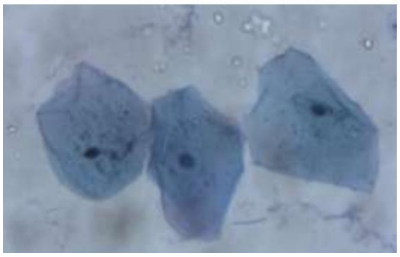
النتائج Results:

1- الخلايا الطبيعية Normal buccal cells ذات نواة بيضوية او دائرية مصبوغة بصورة متناسقة.

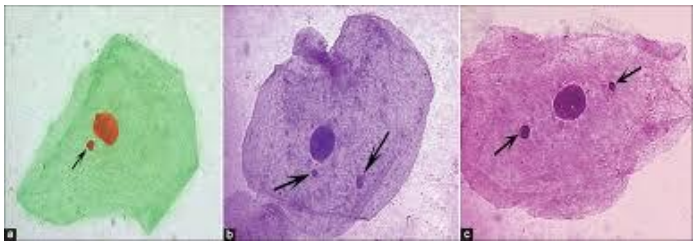
2- خلايا حاوية على نواة رئيسية مع بعض النوى صغيرة الحجم Micronucleus (MN).

3- Karyolytic cells وهي خلايا ظهارية غير حاوية على نواةUn-nucleated buccal cell.

4- ثنائية الانوية Binucleated cells حيث تحتوي على نواتين.

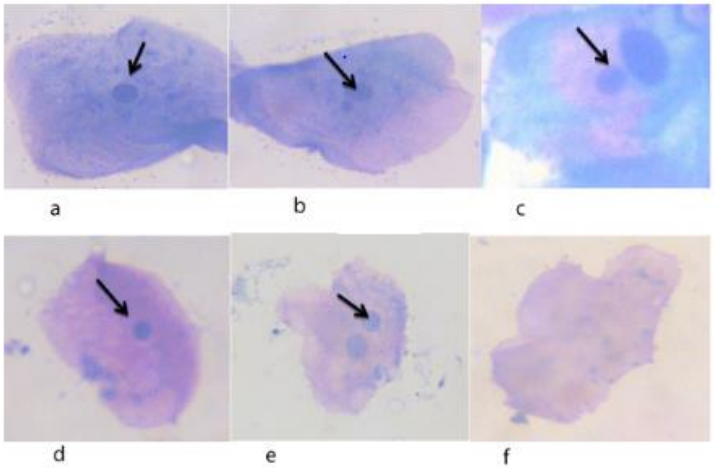


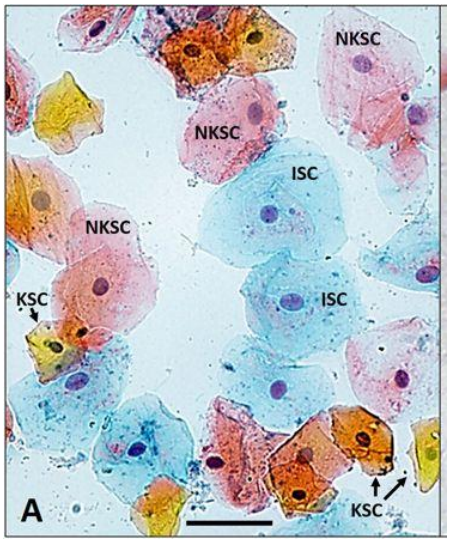
خلايا حرشفية طبيعية



خلايا حرشفية حاوية نوى صغيرة

Image showing (a) Normal buccal cell, (b) & (c) Buccal cell with micronuclei, (d) Pyknotic cell, (e) Binucleated cell, (f) Karyolytic cell.





شريحة لخلايا سقف الفم تتضمن:

1- blue intermediate squamous cells (ISC),
2- Pink non-keratinised superficial squamous cells (NKSC)
3- Orange keratinized squamous cells (KSC).

القياسات المجهرية:

ذكرنا سابقا بان للمجهر وظفتين هما التكبير والتميز حيث يمكن قياسهما كما يلي:

قياس قوة التكبير المستخدمة:

تحسب قوة تكبير المجهر المستخدمة في مشاهدة عينة وفق المعادلة التالية:

قوة التكبير = قوة تكبير العدسة العينية المستخدمة * قوة تكبير العدسة الشيئية المستخدمة

حيث ان: اذا كانت قوة تكبير العدسة العينية X 10 وقوة تكبير العدسة الشيئية X 100 فما قوة التكبير الكلي؟

قوة التكبير = X 10 * X 100

= X 1000

قدرة التمييز:

وهي اقصر مسافة بين جسمين يمكن ملاحظتهما كجسمين منفصلين عند النظر اليها باي نوع من العدسات المكبرة .

يتم استخراج قوة التمييز عن طريق علاقة صغيرة يطلق عليها علاقة آبي Abbes relationship وتشمل:

$$d = \frac{0.6 * \lambda}{n * sin\theta}$$

حيث ان :

d= قدرة التمييز

0.6= ثابت لكل العدسات

λ = الطول الموجي للشعاع المستخدم في اضاءة النموذج

n*sin θ = البعد البؤري للعدسة الشيئية

س/ جد قوة التكبير والتمييز لعينة خلايا حرشفية تم قياسها بالعدسة العينية X10 و الشيئية X40، باستخدام شعاع بطول موجي A°60 علما ان البعد البؤري للعدسة الشيئية 1.6؟