| | |
|---|---|
| **كلية:** الصيدلة | **مقرر:** علم النسج والتشريح (الجزء العملي) |
| **الرمز: PHR209** | **مدرس المقرر:** أ. خلود حماد |

# علم التشريح و النسج

# Anatomy and Histology

## علم التشريح

هو العلم الذي يدرس مكونات الجسم دراسة عيانية من خلال تشريحه. أما

## علم النسج

فهو العلم الذي يدرس البنية المجهرية الطبيعية لمكونات جسم الانسان وعلاقتها الوظيفية به.

تشمل الدراسة النسيجية أربع مستويات وهي:

الخلية Cell: أصغر وحدة بنيوية ووظيفية في الجسم

النسيج Tissue: مجموعة من الخلايا المتشابهة في الشكل أو مرتبطة وظيفياً مع المادة الأساسية بين الخلوية.

العضو Organ: توضع لعدة أنسجة بشكل يؤمن وظيفة محددة لها مثل المري، المعدة، الأمعاء.

الجهاز System: يتالف من عدة أعضاء مرتبطة وظيفياً مثل جهاز الهضم، الجهاز البولي .

تكمن أهمية دراسة علم التشريح و النسج في:

- معرفة شاملة لمكونات الجسم البشري الطبيعية على المستوى العياني والمجهري.
- فهم علم وظائف الأعضاء Physiology من خلال فهم عمل الخلايا والأنسجة المختلفة.
- معرفة التبدلات المرضية التي تطرأ على الخلايا والأنسجة والاعضاء المختلفة (علم الأمراض Pathology).
- يرتبط هذا العلم مع بعض الحقول العلمية الحديثة ( اغتراس الاعضاء، زراعةالخلايا الجذعية، الدرات المناعية).
- قاعدة أساسية لدراسة العلوم الصحية.

# الجلسة الأولى

# إعداد المحضرات النسيجية

# Preparing Slides

إعداد أ. خلود حماد

يستخدم للدراسة النسيجة محضرات معدة وفق طريقة علمية ، كما يستخدم من أجل اعداد هذه المحضرات مجموعة من الأدوات والتجهيزات وهي:

جهاز الادماج الآلي، جهاز صب قوالب البارافين، قوالب الشمع للعينات النسيجية، حمام مائي ، جهاز التقطيع Microtome، جهاز التلوين الآلي، المجهر Microscope.

## التثبيت Fixation

هو عملية الحفاظ على شكل وحجم الخلايا و الأنسجة وجميع العناصر النووية والسيتوبلاسمية بحالة اقرب ما تكون إلى حالتها الطبيعية قبل التثبيت، وتهدف إلى قتل الخلايا الحية وتحويلها إلى حالة الصلابة، و إيقاف تغيرات ما بعد الموت.

- نقطع العينة التي حصلنا عليها أثناء العمل الجراحي بواسطة مشرط إلى قطع صغيرة حوالي 0.5 سم.
- نغمر العينة في المثبت ( الفورمالين المتعادل 10% ) بحيث لا يقل حجم المحلول المثبت عن 10–15 ضعف حجم العينة. يحافظ محلول الفورمالين على الخلية والنسيج ويمنع تعفن العينة وعملية التحلل الذاتي كما يخلصها من كريات الدم الحمراء.
- يمكن أن تحفظ العينة لمدة طويلة في المثبت بدون آثار سلبية، لكنها تحتاج إلى مدة 24 ساعة كحد أدنى للتثبيت.

## المعالجة النسيجية Histological processing

وهي مجموعة عمليات متسلسلة تجري على الأنسجة بعد تثبيتها وغسلها، وتهدف إلى إمكانية وضع العينة في قالب من مادة داعمة تدعى مادة الطمر أو الإدماج، وغالبا ما تكون مادة شمعية هي البارافين من أجل سهولة التحكم بها وتقطيعها إلى شرائح نسيجية رقيقة.

- ❖ تتم المعالجة النسيجية على مراحل تستخدم فيها تراكيز مختلفة من المواد وذلك لتهيئة النسيج لتقبل دخول مادة الطمر داخل النسيج والخلايا لتكسبها الدعامة اللازمة.
- ❖ تستخدم في كل مرحلة مادة أو محلول مناسب بحيث تستطيع هذه المادة تخليص النسيج من المادة المستخدمة في المرحلة السابقة وتهيئة النسيج لتقبل المادة اللاحقة، ولذا كان التسلسل ضرورياً في إجراء هذه العمليات.

تشتمل المعالجة النسيجية على العمليات التالية بالترتيب

### 1- التجفيف Dehydration :

هذه العملية تهدف إلى التخلص من مادة الغسل (الماء الجاري) وتتم عملية التجفيف باستخدام الكحول الإيتيلي حيث تغمر العينات النسيجية في تراكيز متسلسلة من الكحول الإيتيلي تبدأ بتركيز 70% ثم 95% ثم كحول مطلق 100% حوالي 60 دقيقة بالترتيب ابتداء من التركيز الأدنى و انتهاءاً بالتركيز الأعلى، على أن تكرر الخطوة الأخيرة مرتين.

إن التسلسل في التركيز من الأدنى إلى الأعلى يهدف إلى التخلص من المحتوى المائي للنسيج بطريقة تدريجية مع المحافظة على عدم حدوث انكماش للأنسجة و الخلايا.

**2- التنقية أو التشفيف Clearing**

- تهدف هذه العملية إلى تهيئة النسيج لتقبل ودخول مادة الطمر (البارافين) حيث أن مادة التجفيف لا تذوب في الشمع ولا تذيبه ، لذلك تجرى مرحلة التنقية لتخليص النسيج من مادة التجفيف و تهيئته لدخول مادة الطمر .
- ويعتبر الزايلين Xylene من أهم محاليل التنقية حيث يعطي شفافية جيدة للأنسجة بالإضافة إلى أنه سريع التطاير، لذلك يمرر النسيج على ثلاثة حمامات من الزايلين مدة الحمام 60±30 دقيقة .

**3- التشريب أو الإشباع Infiltration**

وهي عملية إدخال مادة داعمة بين خلايا النسيج لإكسابه التقوية اللازمة لعملية الإدماج ثم عملية الإشباع وفق الخطوات التالية:

1. يصهر الشمع في وعاء مذيب الشمع وذلك برفع درجة حرارته أعلى من درجة انصهار الشمع بدرجتين تقريبا (60-62°م ) ويتم تحضيره قبل الوصول إلى هذه المرحلة أي في اليوم السابق للعمل، ويجب وضع الإناء الحاوي على شمع البارافين في المحم كي يكتسب درجة حرارة 60° .
2. نغمر النسيج في الشمع المذاب لمدة ساعة إلى ساعتين.
3. ننقل النسيج إلى وعاء شمع آخر بنفس المدة السابقة لضمان تخلل الشمع المذاب بين أجزاء النسيج والخلايا.

تتناسب مدة الغمر في وعاء الشمع المذاب طرديا مع صلابة النسيج وحجم العينة.

**الطمر أو الإدماج Embedding**

وهي عملية تهيئة النسيج لعملية التقطيع وذلك بوضعه داخل قالب من الشمع Block بهيئة مناسبة لتقطيعه إلى مقاطع نسيجية رقيقة

- نسكب جزء من الشمع المنصهر في القالب وتثبت فيه العينة النسيجية بواسطة ملقط يسخن قبل الاستخدام ، بحيث يكون القطع المطلوب موازٍ لقاعدة القالب

- نملأ القالب بالشمع المنصهر بشكل يضمن عدم تكون طبقتين من الشمع او تكون فقاعات هوائية داخل الشمع، ويتم ذلك يسكب الشمع مرة واحدة دون تردد.
- نبرد القالب بسرعة.

## عملية قطع الأنسجة

- تتم دراسة المقاطع النسيجية تحت المجهر الضوئي لذلك يجب أن تكون رقيقة بحيث يخترقها الضوء و يتم الحصول على المقاطع الرقيقة بواسطة جهاز القطع Microtome .

MICROM

HM 320

## تحميل المقاطع على الشرائح

- هي عملية وضع الشرائط النسيجية على الشرائح الزجاجية لتكون جاهزة لعملية التلوين.

paraffin Section Mounting bath

**تجفيف المقاطع من الماء بعد وضعها على الشرائح**

- وذلك بوضعها في المحم بدرجة حرارة 45–50° لمدة 30 –60 دقيقة

**مراحل المعالجة النسيجية**

| المادة | المدة |
|---|---|
| 1 – كحول 70% | ساعة |
| 2– كحول 85% | ساعة |
| 3– كحول مطلقI | ساعة |
| 4– كحول مطلق II | ساعة |
| 5– كحول مطلق III | ساعتان |
| 6– كزايلين I | ساعة ونصف |
| 7– كزايلين II | ساعة |
| 8– كزايلين III | ساعتان |
| 9– بارافينI | طوال الليل |
| 10– بارافينII | ساعتان |
| 11– بارافين III | ساعتان |
| 12– الطمر بالبارافين | |

## التلوين

الهدف من عملية تلوين المقاطع النسيجية سهولة التمييز بين مكونات النسيج المختلفة

- النسيج الآن جاهز للتلوين
- طريقة التلوين الأكثر شيوعاً والعامة هي تلوين الهيماتوكسلين– ايوزين H/E
- يلون الهيماتوكسلين الأساسي النواة باللون الأزرق الغامق في حين يلون الايوزين الحامضي السيتوبلازما باللون الأحمر الوردي.
- تختلف طريقة التلوين والملونات المستخدمة وفقاً للغاية المطلوبة حيث تستخدم ملونات خاصة للكشف عن مكونات خلوية ونسيجية معينة منها:

الاورسين Orcein خاص بالكشف عن الالياف المرنة، Oil red لتلوين الشحوم Fats، كاشف شيف لتلوين السكريات.....الخ.

- تبدأ عملية التلوين بإذابة الشمع وذلك باستخدام مادة الكزايلين
- ادخال الماء باستخدام تراكيز متناقصة من الكحول
- ثم يلون النسيج بالملون المطلوب.
- عملية التغطية والستر باستخدام بلسم كندا أو مواد أخرى مثل DPX وهي مادة صنعية عديمة اللون تجف بسرعة.