

### (3) التزويق clearing :

توضع العينات في مادة مروقة مثل الزيولين ، والتلوين ، والبنزين وبعض الزيوت مثل زيت خشب الأرز والغرض من ذلك أن تحمل هذه المواد المروقة محل الكحول لتجعل العينة راتقة وشفافة .

### (4) التشريب impregnation :

ويكون ذلك باستخدام الشمع المنصهر عند درجة 60م° وبهذه الطريقة يحل الشمع المنصهر محل المروقات السابق استخدامها ، وتصبح مكونات الخلايا والأنسجة محاطة بالكامل بالشمع المنصهر وبذا تكون أقرب ما تكون إلى حالتها الطبيعية .

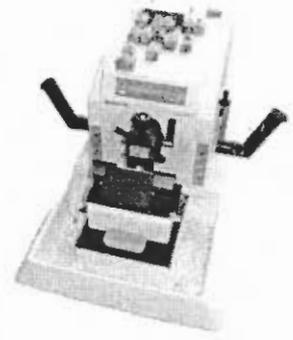
### (5) الطمر embedding :

بعد الانتهاء من الخطوات السابقة تصبح العينة جاهزة للخطوة التالية وهى الطمر ويكون ذلك بنقل العينات إلى شمع نقي منصهر ، ثم يترك ليبرد فيتحول إلى كتلة صلبة تحتوى على العينة بداخلها .

## التقطيع

يجب تثبيت النسيج البيولوجى في إطار صلب حتى يمكن تقطيعه إلى قطاعات رفيعة بسمك 5  $\mu\text{m}$  ( ميكرومترات : 1000 ميكرومتر = 1 مم ) وذلك للميكروسكوب الضوئى ، وبسمك 80 - 100 nm ( نانومتر ، 10000000 نانومتر = 1 مم ) للميكروسكوب الإلكتروني ، يستخدم الميكروتوم لتجهيز القطاعات والشرائح . تستخدم الأسلحة من الصلب في تجهيز قطاعات من الأنسجة النباتية أو الحيوانية المراد فحصها بالميكروسكوب الضوئى ، بينما تستخدم الأسلحة الزجاجية في تجهيز شريحة قطاع للميكروسكوب الضوئى وشرائح رقيقة للغاية للميكروسكوب الإلكتروني . تستخدم الأسلحة المصنعة من الماس لتجهيز شرائح من المواد الصلبة مثل العظام والأسنان لكل من الميكروسكوب الضوئى والإلكترون .

الميكروتوم microtome هو أداة ميكانيكية لتجهيز عينات بيولوجية في قطاعات رقيقة شفافة كي يتسنى لنا فحصها تحت الميكروسكوب ، الميكروتومات مجهزة بأسلحة من الصلب أو الزجاج أو الماس يتوقف ذلك على نوع العينة المراد تجهيز شرائح منها أو سمك القطاع المراد الحصول عليه .



**أشهر استخدامات الميكروتومات هي :**

• **التقنية الهستولوجية التقليدية :**

تصلب الأنسجة بإحلال البرافين محل الماء ، يعمل الميكروتوم على تجهيز شرائح يتراوح سمكها ما بين 2 - 2.5  $\mu\text{m}$  ( ميكرومتر ) التي يمكن وضعها على شريحة الميكروسكوب ، وبصبغها يمكن فحصها بالميكروسكوب الضوئي .

• **القطاعات المتجمدة :**

تصلب الأنسجة الغنية بالماء بالتجميد وتقطع إلى شرائح بواسطة الميكروتوم وهي مجالها المتجمدة ، تصبغ القطاعات وتفحص بالميكروسكوب الضوئي ، وهذه الطريقة أسرع من السابقة وتقرن بالعمليات الطبية لسرعة التشخيص .

• **الميكروسكوب الإلكتروني :**

عقب طمر الأنسجة بالراتينجات epoxy resin يزود الميكروتوم بسلاح من الماس لتجهيز قطاعات رقيقة للغاية ( 60 - 100 ) نانومتر . تصبغ القطاعات بصبغة مائية مناسبة وتفحص بالميكروسكوب الإلكتروني النافذ transmission electron microscopy وكثيرا ما يطلق على هذا الجهاز بالمقطع فائق القدرة ( أتراتوم ) ultratome ، يستخدم الأتراتوم بعد تركيب سلاح زجاجي أو من الماس لتجهيز قطاعات للفحص المبدئي التي تسبق الفحص الدقيق ، هذه القطاعات المبدئية يبلغ

سمكها عادة 0,5 - 1 ميكرومتر وتوضع على شريحة زجاجية .

### • الميكروتوم الخاص بالنباتات :

المواد الصلبة مثل الخشب والعظم والجلد ، تحتاج إلى ميكروتوم من نوع خاص مزود بأسلحة ثقيلة .

## الصبغة staining

هى وسيلة لزيادة مقدار التضاد contrast بين المكونات المختلفة للخلايا والأنسجة والتي تكون عادة شفافة ويصعب فحصها تحت الميكروسكوب الضوئى أو الإلكتروني ، تستخدم الصبغات لإظهار التضاد .

الإيوسين والهيماتوكسيلين ( H & E ) Hematoxylin ، هما أكثر الصبغات انتشارا عند استخدام الميكروسكوب الضوئى ، Hematoxylin يصبغ النواة باللون الأزرق ، Eosin يصبغ السيتوبلازم باللون القرنفلى .

الـ Urnayl acetate , lead citrate شائعة الاستخدام لإظهار التضاد عند الفحص بالميكروسكوب الإلكتروني .

يوجد مئات الأنواع المستخدمة في صبغة الخلايا والمكونات الخلوية . من أمثلتها . safranin , oil red o , congored , fast green FCF , silver salts .

كيمياء الأنسجة Histochemistry هو العلم الذى يدرس التفاعلات الكيميائية بين كيماويات المعامل والمكونات الموجودة في الخلية . واحد من أشهر تقنيات كيمياء الأنسجة هو تفاعل Perls Prussian blue الذى يستخدم لإظهار بقع الحديد السوداء في بعض الأمراض مثل hemochromatosis .

الصبغات Dyes والألوان Colors هى مواد تتميز بخاصية امتصاص بعض مكونات ألوان الطيف بينما تسمح بانعكاس البعض الآخر الأمر الذى يجعلها مرئية بلون خاص مميز ، تعتمد هذه الخاصية على وجود روابط مزدوجة بالتبادل مع روابط منفردة في جزيئات المادة مما يسمح للإلكترونات بالتذبذب بينها .