الفصل السابع

تغطية القطاعات

تستخدم العديد من الأوسط الطامرة Mounting media في التقنية النسيجية الخلوية. والوسط الطامر النموذجي هو الذي له معامل إنكسار (Refractive index) قريب ما أمكن من معامل انكسار النسيج المراد فحصه. كما يجب أن تتوفر عوامل أخرى بالوسط الطامر أهمها أن لا يتفاعل مع الأصباغ المستخدمة لصبغ النسيج المراد فحصه وأن يكون متعادل التفاعل حتى لا يلحق ضرراً بأجزاء النسيج ومكوناته.

الأوساط الطامرة إما أن تكون طبيعية أو شبه مصنعة أو مصنعة بالكامل. تستخدم الأوساط الطامرة الطبيعية من راتنجات نباتية مثل بلسم كندا. أما شبه المصنعة فإنها تحضر من مزيج من راتنجات طبيعية وبلمرات مصنعة بينما الأوساط الطامرة المصنعة فهي محاليل بلمرات صناعية بالكامل.

تصنف الأوساط الطامرة تبعاً لقابليتها للذوبان في الوسط المائي إلى أوساط طامرة مائية Aqueous mounting media وأوساط طامرة راتنجية Resinous mounting media وهذه الأخيرة لا تذوب في الوسط المائي بينما تذوب في المحاليل الهيدروكربونية كالتلوين والزايلين. وفي كل الأحوال يجب أن تتوفر الأمور التالية في الوسط الطامر: -

١ - المزج الكامل مع الوسط المستخدم بالترويق.

٢ - أن يكون معامل إنكساره قريب ما أمكن من معامل إنكسار الزجاج.

٣ - عدم التفاعل مع الصبغة أو مكونات الخلايا والأنسجة.

٤ - عدم التأثير بأي شكل مع مرور الزمن على تراكيب القطاعات النسيجية أو المسحات الخلوية.

الأوساط الطامرة المائية

ومن أمثلة هذه الأوساط التالي:

وسط جل الجليسرين Glycerine jelly

يحضر هذا الوسط كما يلي:

يذاب ١جم جيلاتين في ٦٠سم^{٣} ماء ساخن ثم يسخن حتى يذوب الجلاتين بالكامل. يضاف إلى المحلول ٧٠سم^{٣} جليسرين وكما تضاف قطرة من محلول الفينول المائي المشبع وترج المحتويات جيداً وترشح والمحلول ساخناً ثم يخزن هذا الوسط في الثلاجة عند ٤ م وقبل الإستخدام يجب صهرها بالماء الدافيء. ويستخدم هذا الوسط بشكل واسع عند طمر القطاعات للدراسات الإنزيمية والفلورنسية. ويفضل إحاطة الغطاء الزجاجي بشمع منصهر لمنع تبخر وتشقق الوسط الطامر.

وسط أباثي Apahty's medium

يحضر هذا الوسط من المواد التالية:

صمغ عربي ..... ٥٠ جم

سكروز ..... ٥٠ جم

ماء ..... ٥٠ سم^{٣}

ثايمول ..... بلورة واحدة صغيرة

تذاب هذه المواد عن طريق التسخين بواسطة حمام مائي أو بإستخدام الرج المغناطيسي لمدة ١٢ - ٢٠ يوماً. يمكن أن يحفظ هذا الوسط عند درجة حرارة الغرفة عدة أشهر.

وسط بايرولدون متعدد الفنيل Polyvinyl pyrrolidone medium

ويرمز لهذا الوسط بالرمز PVP ويحضر كما يلي :

يذاب بواسطة الرج المغناطيسي ٢٥ جم من مادة بايرولدون متعدد الفنيل في ٢٥سم^{٣} ماء مقطر ثم يضاف إليه واحد سم^{٣} من الجليسرين وبلورة صغيرة من الثايمول. يمكن أن يحفظ هذا الوسط لمدة سنتين عند درجة حرارة الغرفة.

وسط كري و ويز Gray and Wess`s medium

يحضر هذا الوسط من الآتي :

كحول متعدد الفنيل ..... ٢ جم

أسيتون (٧٠٪) ..... ٧ سم^{٣}

جليسرين ..... ٥ سم^{٣}

حمض اللاكتيك ..... ٥ سم^{٣}

ماء ..... ١٠ سم^{٣}

وسط فارانت Farrant's medium

يحضر هذا الوسط الطامر من المواد التالية :

صمغ عربي ..... ١٠٠ جم

ماء مقطر دافيء ..... ١٠٠سم^{٣}

جليسرول ١٠٠ سم٣

ثلاثي أكسيد الزرنيج غير المميء ..... ١ جم

Arsenic trioxide

ويمكن الإستعاضة عن ثلاثي أكسيد الزرنيخ بإضافة ٠,١ جم فينول (حمض الكربوليك Carbolic acid).

الأوساط الطامرة الراتنجيـــة

تتكون هذه الأوساط من راتنجات مذابة في أوساط هيدروكربونية. ومن أشهر هذه الأوساط المستخدمة في التقنية الخلوية والنسيجية ما يلي :

وسط الكلاريت Clarite

هذا الوسط الطامر له معامل إنكسار = ١,٥٤ ويستعمل كمحلول مذاب بالزايلين بنسبة ٦٠٪.

وسط د.ب.إكس. Distrene-Plasticizer-Xylene

يحضر هذا الوسط من مزيج من البولسترين (Polystrene) وثلاثي كرسيل الفوسفات Tricresyl phosphate والزايلين. إلا أن بعض الشركات المنتجة تستبدل ثلاثي كرسيل الفوسفات بمادة ثنائي بيوتيل الفثاليت Dibutyl phthalate . وكما تحضره بعض الشركات من الدسترين Distrene وملدن Plasticizer وزايلين. ومن هذه المواد الثلاث إكتسب إسمه المختصر. D.P.X ويحضر كالآتي :

دسترين ..... ٢٥ جم

ملدن ١٨,٧٥ سم٣

Tricresyl phosphate

زايلين ١٠٠ سم٣

يستخدم هذا الوسط بشكل واسع في تقنيات الأنسجة والخلايا حيث أن معامل انكساره حوالي ١.٥٢ يقترب كثيراً من معامل انكسار معظم الأنسجة ولا يحتوي على مواد حمضية أو مختزلة.

وكما يصلح هذا الوسط الطامر للأنسجة المراد دراستها بالمجهر الفلوروسيني حيث إنه وسط غير فلوروسيني. وتجدر الإشارة إلا أن هذا الوسط لا يصلح استخدامه للصق القطاعات السللوئيدينية.

وسط كبرات السليلوز Cellulose caprate medium

يحضر هذا الوسط من إذابة ١٠٠ جم من كبرات السليلوز في ١٠٠سم٣ من الزايلين وتصلح هذه المادة لتغطية القطاعات بعد صبغها بتفاعل أزرق بروشيا وكذلك القطاعات المصبوغة بالهيماتوكسلين والإيوسين.

وسط الإيوبرال Euparal medium

يحضر هذا الوسط من خليط من البارلدهيد والكمسال Camsal وحمض السندراك Sandarac ومستخلص الكافور Camphor واليوكالبتول Eucalyptol ويستخدم هذا الوسط لتغطية القطاعات بعد صبغها ومعاملتها حتى كحول ٩٥٪ من عملية نزع الماء خاصة في تلك الفحوص التي يتسبب الكحول المطلق في تلف الصبغة أو النسيج. ويحضر هذا الوسط من الآتي :

الكمسال ١٥ سم٣

(يحضر من مزج كميات متساوية من الكافور وسلسلات الفينول)

صمغ السندراك ..... ٤٠ جم
البارالدهيد ..... ١٠ سم^{٣}
ديوكسان ..... ٢٠ سم^{٣}
يوكالبتول ..... ٢٠ سم^{٣}

وسط بلسم كندا Canada balsam

كان هذا الوسط شائع الاستخدام إلا أن استخدامه بدأ بالتلاشي بسبب العيوب العديدة التي يسببها حيث يكسب النسيج لوناً أصفر ويستغرق فترة طويلة حتى يجف إضافة إلى تشققه مع مرور الوقت بعد تبخر المذيب. كما أن استخدام هذا الوسط يلحق الضرر ببعض التفاعلات الكيميانسيجية مثل تفاعل بروشيا بسبب الرقم الهيدروجيني الحمضي لوسط بلسم كندا.

وبلسم كندا عبارة عن مادة راتنجية غير مصنعة تستخرج من سيقان نبات البلسم تحتوي على حمض الكربوكسيليك وحمض الأبيتيك Abieitic acid وصيغته الكيميائية $C_{19}H_{24}COOH$. يحضر هذا الوسط من إذابة ٦٠ جم من بودرة بلسم كنداً في ١٠٠سم^{٣} من الزايلين.