(3) **الترويق** clearing :

توضع العينات في مادة مروقة مثل الزيلين ، والتلوين ، والبنزين وبعض الزيوت مثل زيت خشب الأرز والغرض من ذلك أن تحل هذه المواد المروقة محل الكحول لتجعل العينة رائقة 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 .

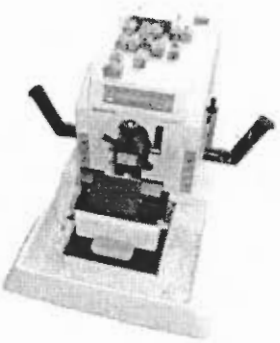
(5) **الطمر** embedding :

بعد الانتهاء من الخطوات السابقة تصبح العينة جاهزة للخطوة التالية وهى الطمر ويكون ذلك بنقل العينات إلى شمع نقى 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 mμ (ميكرومترات : 1000 ميكرومتر = 1 مم) وذلك للميكروسكوب الضوئى ، وبسمك 80 – 100 nm (نانومتر، 10000000 نانومتر = 1 مم) للميكروسكوب الإلكترونى ، 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 الإلكترونى . 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 كى 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 هى :

- **التقنية الهستولوجية التقليدية :**

تصلب الأنسجة بإحلال البرافين محل الماء ، يعمل الميكروتوم على تجهيز شرائح يتراوح سمكها ما بين 2 – 2.5 µm (ميكرومتر) التى يمكن وضعها على شريحة الميكروسكوب ، وبصبغها يمكن فحصها بالميكروسكوب الضوئى .

- **القطاعات المتجمدة :**

تصلب الأنسجة الغنية بالماء بالتجميد وتقطع إلى شرائح بواسطة الميكروتوم وهى بحالتها المتجمدة ، تصبغ القطاعات وتفحص بالميكروسكوب الضوئى ، وهذه الطريقة أسرع من السابقة وتقترن بالعمليات الطبية لسرعة التشخيص .

- **الميكروسكوب الإلكترونى :**

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 الإلكترونى النافذ transmission electron microscopy وكثيرا ما يطلق على هذا الجهاز بالمقطع فائق القدرة (ألتراتوم) ultratome ، يستخدم الألتراتوم بعد تركيب سلاح زجاجى أو من الماس لتجهيز قطاعات للفحص المبدئى التى 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 .

الصباغة staining

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

الإيوسين والهيماتوكسلين (H & E) Hematoxylin , Eosin 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 الإلكترونى .

يوجد مئات الأنواع المستخدمة في صباغة 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 لاظهار 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 .