

طرق تخدير الحيوانات المخبرية وتثبيتها المحاليل الفيزيولوجية المستعملة في التجارب

للتعامل مع حيوانات التجارب بسهولة ويسر ولتفادي الآلام والحركات الزائدة التي تعيق القيام بالعمل والتي يمكن أن تؤثر على النتائج، يجب شل حركة حيوانات التجارب.

ويستعمل لشل حركة الضفادع في التجارب الحادة: التخدير أو تخريب الجملة العصبية المركزية بواسطة إبرة، وهذه الطريقة هي الأكثر استعمالاً.

ويستعمل أيضاً لتخدير الضفادع الإيتير أو الحمول وأحياناً الكلوروفورم، وفي كل الحالات يحصل التخدير خلال بضع دقائق، وتسبب الزيادة في كمية المخدر الموت، لذلك يجب الانتباه جيداً للضفدع أثناء التخدير ورفعها فوراً من المخدر عند توقفها عن الحركة، ووضعها على ظهرها على اللوحة الفلينية الخاصة بالضفدع، فإن لم ينقلب الضفدع على بطنه فهذا يعني أن التخدير قد حصل ويمكن البدء بالتجربة.

✓ التخدير بالإيتير أو الكلوروفورم:

يوضع ناقوس زجاجي أو قمع مغلق الفتحة العلوية بقطنة على طبق صغير ونضع الضفدع تحت الناقوس مع قطنة مبللة بالإيتير. وفي أثناء التجربة يجب الاستمرار بالتخدير بوضع قطنة مبللة بالايتر على خياشيم الحيوان أو على جلد البطن.

هذا ويمكن استخدام الإيتير أو الكلوروفورم لتخدير الحيوانات المخبرية كالأرانب وخنزير غينيا والكلاب.

✓ التخدير بالكحول:

يسكب في إناء التجفيف $\frac{1}{2}$ لتر من محلول 10% كحول ونضع الضفدع فيه. يغلق الإناء بالغطاء، نلاحظ في أن الضفدع يتحرك بنشاط، بعد ذلك تهدأ وتغطس في محلول الكحول وتتوقف عن الحركة.

✓ طرق تخريب الجملة العصبية:

يمكن القيام بتخريب الجملة العصبية المركزية للضفدع بإحدى طريقتين: الأولى تفقد الضفدع كمية كبيرة من الدم، وفي الثانية تكون خسارة الدم قليلة بسيطة بالمقارنة مع الأولى.

أ- الطريقة الأولى: نلف الضفدع بشاشة بحيث تكون قوائمها الأمامية مضغوطة الى الجذع. ويبقى الرأس مكشوفاً. تمسك الضفدع باليد اليسرى ويضغط بقوة على ظهره وبطنه بالإبهام والأصبع الثالث، و يدخل في فم الضفدع أحد طرفي المقص ونعمل قطع سريع بحركة واحدة بحيث يقطع الرأس خلف العين مباشرة، ثم يدخل المسبار الخاص في العمود الفقري ويخرب النخاع الشوكي.

ب- الطريقة الثانية: نلف الضفدع بقطعة قماش كما ذكر أعلاه ويمسك باليد اليسرى ويضغط بالإبهام على الظهر وبالأصبع الشاهد على الرأس. عند ذلك يشكل الرأس والعمود الفقري زاوية، في هذه الزاوية تكون نقطة تمفصل الجمجمة مع العمود الفقري والتي تشكل مع العين مثلثاً، يلاحظ في هذا المكان انخفاض صغير، نقوم بغرس المسبار فيه بشكل عمودي وندخله إلى عمق 2 مم تقريبا مع الفتل، ثم ندخله في الجمجمة ونقوم بحركة دورانية جانبية للمسبار للتخريب الدماغ، بعد ذلك نسحبه إلى الخلف وقبل رفعه من الثقب المحدث ندخله في العمود الفقري مع ملاحظة أن إدخاله في قناة العمود الفقري لا يواجه أي صعوبة أو مقاومة. وبحركات دورانية جانبية يخرب النخاع الشوكي. ونؤكد من تخريب النخاع الشوكي إذا لاحظنا تشنج الطرفين السفليين، في هذه الطريقة تكون كمية الدم المفقودة قليلة جداً.

- تثبيت الضفدع:

يثبت الضفدع في وقت التجربة على لوحة خاصة، وذلك بشبك طرفها بواسطة الدبابيس (الشكل 1) والأفضل لهذا الهدف استعمال صفيحة من الفلين فإذا كان الحصول عليها غير ممكن يمكن استعمال صفيحة خشبية، حيث تثقب في أمكنة تثبيت الأطراف وتعبأ الثقوب بسدادات فلينية، وتوضع أيضاً بعض القطع الفلينية لتثبيت أقطاب التنبيه.

- الأدوات التشريحية:

يجب أن تكون هذه الأدوات مصنوعة من معدن غير قابل للصدأ وهذه الأدوات هي الآتية:

1- مقص بطول /12/ سم، مستقيم ذو نهايات حادة.

2- مقص صغير ذو نهايات حادة.

3- مشرط.

4- ملقط كبير تشريحي.

5- ملقط جراحي ذو نهايات رفيعة.

6- ملاقط خاصة ذات نهايات حادة رفيعة لتشريح الأعصاب.

7- خطاف أو كلاب زجاجي لتشريح الأعصاب.

8- ملقط كبير للأعمال الخشنة.

9- إبر جراحة.

وللحفاظ على هذه الأدوات لمدة طويلة يجب تنظيفها باستمرار وعدم استعمال أدوات القديمة في الأعمال الخشنة.



الشكل (1): تثبيت الضفدع على لوحة الفلين.

- السوائل المغذية المستخدمة للحفاظ على وظائف النسيج المعزولة:

تجرى العديد من التجارب الفيزيولوجية الطبية والطبية البيطرية على أعضاء والنسج المعزولة. والمستحضرات المعزولة تحتفظ بنشاطها الحيوي خلال العديد من الساعات فيما إذا وضعت أثناء التجربة في الوسط ذي الخواص أو الصفات الكيميائية والفيزيائية المناسبة، أي إذا كانت مغموسة في محاليل تحتوي على الأملاح الضرورية والحرارة المناسبة و PH الوسط المناسبة ووصول الأوكسجين بشكل كافٍ.

وتستعمل في التجارب الفيزيولوجية المختلفة مستحضرات الأنسجة. والتجارب الأكثر شيوعاً تجرى على أنسجة الضفدع، وذلك لأن هذه الأنسجة تقوم بوظائفها بشكل جيد بدرجة حرارة الغرفة. أضيف إلى ذلك أنّ الأكسجين ينتشر بسهولة في المحلول المسكوب في حوض غير عميق حيث نجد المستحضر. وفي تجارب أخرى تستعمل أنسجة الجرذان والأرنب أو خنزير غينيا.

وتستخدم خلال التجارب الفيزيولوجية التي تجري على الأعضاء والنسج المعزولة أنواعاً متعددة من السوائل المغذية التي هي مصول فيزيولوجية خاصة Physiologic Serums. وتؤمن هذه السوائل بقاء مختلف النسج والأعضاء المعزولة في حيوية مناسبة طوال فترة التجربة. ومن هذه السوائل (المحاليل) المغذية نذكر:

1- سائل رنجر- لوك: Ringer- Loke

ويتكون هذا السائل من:

كلور الصوديوم (Na Cl) 6.5 غرام.

كلور البوتاسيوم (K Cl) 0.14 غرام.

كلور الكالسيوم (Ca Cl₂) 0.12 غرام.

بيكربونات الصوديوم (NaHco₃) 0.20 غرام.

ماء مقطر 1000 غرام.

(PH= 7.2).

يستعمل محلول رنجر- لوك في التجارب على قلب وعضلات الضفدع.

2- المحاليل المغذية المستعملة لمستحضرات أنسجة الثدييات:

يوجد العديد من هذه المحاليل المغذية ومنها:

أ- سائل رينجر- لوك لمستحضرات القلب:

كلور الصوديوم (Na Cl): 9 غرام.

كلور البوتاسيوم (K Cl): 0.42 غرام.

كلور الكالسيوم (Ca Cl₂): 0.24 غرام.

بيكربونات الصوديوم (NaHco₃): 0.15 غرام.

غلوكوز: 1 غرام.

ماء مقطر: 1000 غرام.

(PH= 7.4- 7.3).

ب- محلول تيرود الخاص بالعري المعوية:

كلور الصوديوم (Na Cl): 8 غرام.

كلور البوتاسيوم (K Cl): 20 غرام.

كلور الكالسيوم (Ca Cl₂): 0.20 غرام.كلور المغنيزيوم (Mg Cl₂): 10 غرام.بيكربونات الصوديوم (NaHco₃): 1 غرام.فوسفات الصوديوم (NaH₂po₄): 0.05 غرام.

غلوكوز: 1 غرام.

ماء مقطر: 1000 غرام.

(PH= 7.4- 7.3).

ت- محلول كريبس لمستحضرات الحجاب الحاجز:

كلور الصوديوم (Na Cl): 6.9 غرام.

كلور البوتاسيوم (K Cl): 0.35 غرام.

كلور الكالسيوم (Ca Cl₂): 0.28 غرام.بيكربونات الصوديوم (NaHco₃): 2.1 غرام.فوسفات الكالسيوم (KH₂po₄): 0.16 غرام.كبريتات المغنيزيوم (MgH₂so₄): 0.29 غرام.

غلوكوز: 2 غرام.

ماء مقطر: 1000 غرام.

(PH= 7.4).

تمرين عملي: قم بتثبيت ضفدع على لوحة تثبيت وطبق ماسبق ذكره من تجارب.