الجزء النظري

Theoretical part

Scanned with CamScanner

أولاً – مقدمة:

إنّ وظيفة القلب الحفاظ على تزويد الجسم بكمية دم تكفي احتياجات الأنسجة المختلفة. والاحتياطي القلبي يمثل مقدرة القلب على مواجهة زيادة الطلب على كميات زائدة من الدم لاسيما في حالات الحمى والتمرين وفقر الدم والحمل ... إلخ. بالرغم من هذه المتغيرات فإن القلب قادر على تكييف نفسه لمواجهة مختلف المتطلبات الفسيولوجية والانحرافات المرضية، وتسمى هذه القدرة القلبية التعويض Compensation.

ثانياً – التغيرات الرمية:

تترهل العضلة القلبية بعد النفوق، ومع بداية التغيرات الرمية تنقبض الألياف العضلية مسببة اندفاع الدم من الأوعية الدموية المختلفة الأحجام، ويبقى فيها حتى مرحلة التجلط. بعد زوال التغيرات الرمية تترهل عضلة القلب من جديد، وعند فتح القلب تكون تجاويفه فارغة من الدم. يشير وجود الدم المتجلط في التجاويف إلى عدم حدوث التغير الرمي لاعتلال عضلة القلب ذاتها.

ثالثاً – التشوهات الولادية:

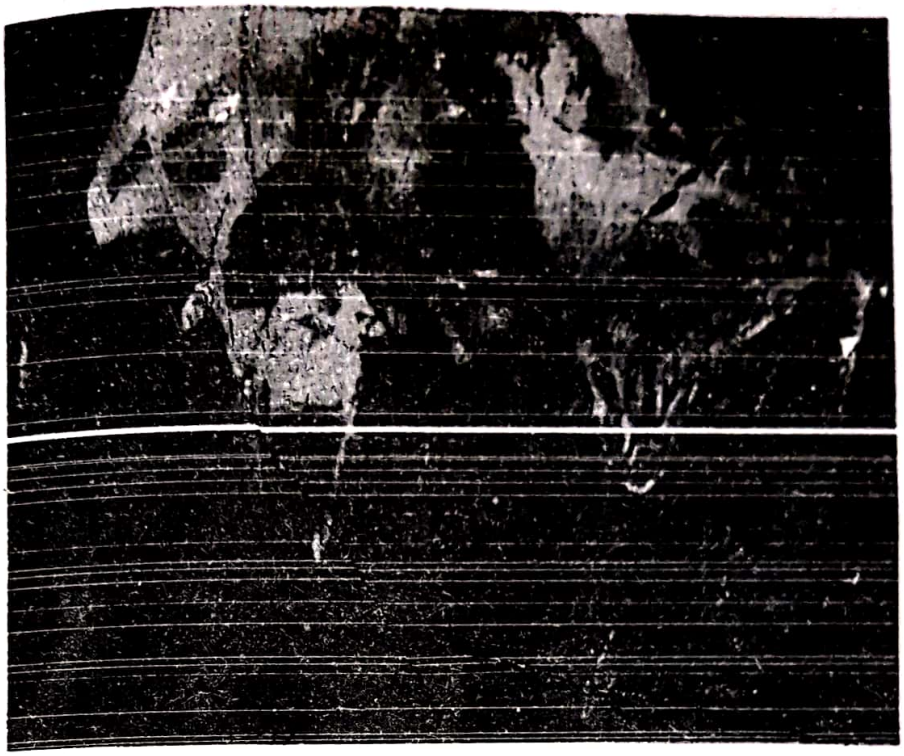
١- انفتاح الثقبة البيضوية Patency of foramen ovale:

تغلق بعد الولادة مباشرة الثقبة البيضوية التي تصل بين الأذينين الأيمن والأيسر، ويتحول الدم إلى الرئة. في حال إخفاق إغلاق هذه الثقبة يبقى الاتصال موجوداً بين المنطقتين فيسبب تضخم البطين الأيمن، شكل رقم ١.

٢- عيب الحاجز بين البطينين Interventricular formina:

هو ثقبة صغيرة تصل بين البطينين، وتؤدي إلى تغيرات وظيفية حيث يندفع الدم من البطين الأيسر إلى الأيمن، ومن ثم ارتفاع الضغط في البطين والشريان الرئوي.

Scanned with CamScanner



شكل رقم ١: الثقبة البيضوية السالكة بين الأذينين الأيمن والأيسر.

٣- وجود القناة الشريانية السالكة Patent ductus arteriosus:

الشريانية السالكة وعاءٌ دموي قصير يوصل الدم أثناء المرحلة الجنينية من الشريان الرئوي إلى الأبهر حاجباً الدم عن الرئة. تغلق الشريانية السالكة عادة خلال الأسابيع الأولى من الحياة، وعند إحباط إغلاق الفتحة الشريانية بعد الولادة يزداد معه الضغط في الشريان الرئوي ثم تضخم البطين الأيمن، وتعاني الحيوانات المريضة من الزراق Cyanosis.

٤- أم الدم الولادية Congenital aneurysm:

هي توسع كيسي موضعي في كلٍّ من الشريانين الأبهري والرئوي مما قد يسبب ضموراً ضغطياً للأنسجة المجاورة. من أهم مخاطرها حدوث نزف نتيجة رقة جدر هذه الأوعية.

٥- الكيسة الدموية Hematocysts:

توجد هذه الكيسات عادةً على حوافي الصمامات الأذينية البطينية عند صغار العجول. ولا تدوم هذه الكيسات طويلاً، وليست ذات أهمية مرضية.

Scanned with CamScanner

٦- تشوهات مختلفة:

هنالك العديد من التشوهات الولادية كوجود القلب خارج تجويف الصدر Ectopia cardis تحت الجلد في منطقة العنق عند العجول، وفي منطقة القص عند الإنسان، وفقدان القلب كاملاً Acardia (كما في حالة التوائم)، ووجود قلبين في صدر واحد Diplocardia أو فقدان أقسام منه. كل هذه العيوب تعارض مع استمرارية الحياة.

رابعاً – قصور القلب:

يحدث هذا القصور عند عجز القلب عن ضخ كمية كافية من الدم تتناسب مع احتاجات الأنسجة. ويقع قصور الدورة الدموية في أنماط عديدة:

١- **غشي القلب:** يطلق هذا التعبير عند زيادة شديدة في سرعة ضربات القلب أو بطئها الشديد.

٢- **قصور الدورة الطرفية:** يُعَّرف أنه أي انخفاض في حجم الدم الدوار في الأوعية الدموية وقصور في الدم الوريدي العائد إلى القلب، وهذا يؤدي إلى إنخفاض معدل كمية الدم الخارج من القلب. يحدث هذا القصور في حالتي الترف الحاد والصدمة.

٣- **قصور العضلة القلبية:** هو آفة مزمنة، وعند قصور البطينين معاً فإن التأثير العام هو أعراض قصور البطين الأيمن لأنه في الحالة الطبيعية تكون مقدرة البطين الأيمن على ضخ الدم أضعف منها في البطين الأيسر. يؤثر قصور البطين الأيسر تأثيراً عكسياً في أعضاء عديدة أشدها في الرئتين وأقلها في الدماغ والكليتين أما قصور البطين الأيمن فغير شائع بشكل منفرد، وغالباً ما يصاحب قصور البطين الأيسر. عيانياً يتمدد البطين والأذين الأيمن، وإكلينيكياً تنعكس الحالة على أجهزة الجسم الأخرى ما عدا الرئتين في هيئة احتقان أوردة عام ، وانخفاض كمية ضخ الدم القلبي.

Scanned with CamScanner

خامساً – التامور:

١- موه التامور:

يطلق تعبير موه التامور عندما يتجمع في كيس التامور سائل مصلي بكميات زائدة عن الحد الطبيعي. هذا السائل غير التهابي، قابل للامتصاص وعقيم، وشفاف مائل للاصفرار، وقد يحوي الفبرين أو الفبرينوجين. أسباب موه التامور عديدة، ويصاحب معظم الأمراض المترافقة بحمى أو إنتان دموي Septicemia.

٢- تقيح التامور:

يشاهد القيح في التامور غالباً في حالة التهاب التامور الرضحي. ويمكن أن يحصل التقيح في أخماج ثانوية مثل التهاب الجنبة القيحي، والتهاب الرئة القيحي، أو تمزق خراج في العضلة القلبية.

٣- تدمي التامور:

هو تراكم كميات من الدم في كيس التامور، وهذه الحالة أقل شيوعاً من موه التامور. ينتج التدمي عادة بسبب تمزق القلب أو الأبهر في الخيول أو تمزق الشريان الإكليلي أو حتى تمزق أحد الأذينين أو البطينين لأسباب مختلفة.

٤- الضمور المصلي للدهن تحت النخاب:

في الحيوانات التي تعاني من أمراض تؤدي إلى الضمور الغذائي أو الدنف فإن الدهن الموجود في أخاديد القلب يتحول إلى كتلة جيلاتينية.

٥- الترف على النخاب:

يشاهد نزف حبري على النخاب في حالات الصدمة، والسمدمية Toxemia الناتجة عن ذيفانات الجراثيم، وقلة التأكسج، والإصابة الحموية.

٦- التهاب التامور:

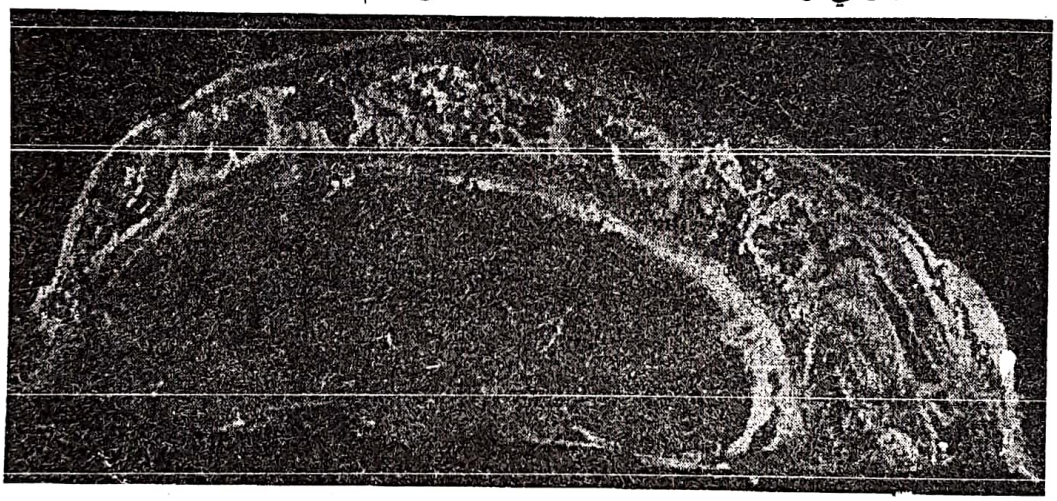
من الشائع حدوث التهاب التامور في الحيوانات وعادة بسبب الأخماج الجرثومية وثانوياً لأمراض أخرى. تصل مسببات الخمج بطرق عدة، منها:

Scanned with CamScanner

- عن طريق الدم Hematogenous:
- عن طريق اللمف.
- اختراق جسم غريب كما في حالة التهاب الشبكية الرضحي في الأبقار.
- كسر الضلوع.

أ- التهاب التامور المصلي: يتكون هذا التفاعل الالتهابي من سوائل مصلية رائقة صفراء اللون

ب- التهاب التامور الفبريني: هو حالة متقدمة عن سابقتها، حيث تتوضع كميات متفاوتة من الفبرين على طبقات التامور الجدارية والحشوية، فتلتصق ببعضها، وتقل فيها كمية السوائل. أكثر التهابات التامور الحادة هنا ذات أصل جرثومي وغالباً نتيجة إنتان دموي، الشكل رقم ٢.



شكل رقم ٢ : التهاب التامور الفبريني المزمن.

ج- التهاب التامور القيحي: يحدث هذا الالتهاب غالباً في أبقار عمرها يزيد عن عامين، حيث تتجمع كميات متفاوتة من مواد معدنية في الشبكية. قد تضم المواد المعدنية أدوات واخزة تنفذ عبر جدار الشبكية إلى الحجاب الحاجز ثم التامور فالقلب، ويسمى التهاب التامور الرضحي Traumatic pericarditis. في هذه الحالة يمتلئ بمواد القيح والفبرين والغازات أحياناً.

Scanned with CamScanner

د- التهاب النامور وحمض البول: ترسب على الطبقتين الحشوية والجدارية للنامور في الدواجن التي تعاني من النقرص الحشوي Visceral gout أملاح اليورات Urates وحمض البول بشكل إبري ذي لون أبيض.

سادساً – أمراض العضلة القلبية:

١- الضخامة:

عند تضخم العضلة القلبية يزداد حجم الألياف العضلية ما يؤدي إلى ثخانة جدار القلب. ويتأثر بهذه الحالة غالباً الطرف الأيسر من القلب، ويتأثر البطين الأيسر بشكل أكبر من الأذين الأيسر. تحصل الضخامة عادة عندما تجهد العضلة القلبية بحمل أكبر مما تتحمله كما هو الحال في قلوب خيول السباق وكلاب الصيد Grey hounds. تكمن أسباب تضخم القلب في إعاقة جريان الدم. وتتطلب زيادة حجم العضلة القلبية المزيد من التروية الدموية عن طريق الأوعية الإكليلية التي قد لا تكون كافية لكل ليف عضلي، وبذا تتراكم المستقلبات Metabolites في الألياف العضلية وما حولها. هذه العوامل تؤدي إلى تنكس الألياف مع استمرار عمل القلب فينعكس عليها بشكل قصور قلبي.

٢- التوسع:

هو كبر حجم أحد أو كل حجرات القلب بسبب عوز إفراغ الدم في مرحلة الانقباض، ويتأثر البطين الأيمن عادة بشكل أكبر. حيث لا يستطيع القلب التخلص من كامل الدم الداخل إليه، ويبقى جزء منه فتتوسع الحجرات. في المرحلة المزمنة تتكور العضلة القلبية، وترق جدرانها، وتضعف العضلات الحليمية في القلب وينتج من ذلك قصور قلب احتقاني.

٣- السمنة:

من الطبيعي أن يتوضع بعض الدهن تحت النخاب Subepicardium، ولكن الدهن لا يوجد في العضلة القلبية. في بعض الحالات تحدث السمنة، وهي

Scanned with CamScanner

ارتشاح النسيج الدهني الإكليلي بين ألياف العضلة القلبية، وقد تعيق الوظيفة القلبية مؤدية إلى قصور قلبي.

٤- تكلس العضلة القلبية:

التكلس الحثلي Dystrophic calcification في الألياف العضلية النخرة شائع الحدوث في مرض ابيضاض العضلات، وفي تسمم الأبقار بالمركبات العضوية كالزئبق، حيث تتنكس الألياف العضلية تنكساً زجاجياً يتبعه تكلس.

٥- الضمور البني:

يطلق هذا التعبير عند ترسب مادة اليبوفوكسين Lipousin - التي هي مجموعة أصباغ متجانسة تنشأ من تأكسد الدهون غير المشبعة - أو البروتينات الدهنية في الأنسجة. تزداد كمية هذه الأصباغ في حالات الهزال والتقدم في العمر إذ يكتسب العضو اللون البني.

سابعاً - تنكس والتهاب العضلة القلبية:

١- نخر عضلة القلب:

إن نخر عضلة القلب هو من النوع التخثري Coagulative necrosis. تترمم العضلة القلبية بعد النخر عن طريق التليف لغياب أو محدودية التجديد. وهذا التليف يحد من شدة التقلص العضلي للقلب. الاحتشاء القلبي Cardiac infarction نوع من النخر نتيجة صمات أو خثرات وعائية. تكون منطقة الاحتشاء باهتة عكرة اللون محيطها على شكل خط منكسر. مجهرياً تُنخر الألياف العضلية وتتقطع، وتحاط منطقة الاحتشاء بحدود عازلة غنية في بالأوعية الدموية، وفي حالة الشفاء تتشكل في منطقة الإصابة ندبة من نسيج ضام.

٢- التورم الغيمي:

نوع من تنكس عضلة القلب يحصل في العديد من الأمراض الجهازية كما في حالات فقر الدم والإنتانمية Septicemia وحالات الحمى والسمدمية

Scanned with CamScanner

Toxemia. عيانياً يكبر القلب قليلاً ويكون هشاً وذا مظهر باهت كاللحم المطبوخ.

٣- التنكس الدهني:

يكون المسبب أشد تأثيراً في التنكس الدهني عن سابقه إما بالسمدمية أو التسمم بالفوسفور أو الزرنيخ أو الكلوروفورم أو رابع كلوريد الكربون Carbontetrachlorid أو عوز شديد في فيتامين هـ. عيانياً يتضخم القلب ويأخذ اللون المصفر.

٤- التنكس الزجاجي:

أكثر ما يكون التنكس الزجاجي وضوحاً هو في مرض ابيضاض العضلات في العجول والحملان بسبب عوز فيتامين هـ ،في التهاب عضلة القلب المرافق للتسمم بالجسيبول في الخنازير، وعوز النحاس في الأبقار.

٥- التهاب عضلة القلب اللاقيحي Non suppurative myocarditis:

يحصل هذا الالتهاب عند وصول الخمج عن طريق الدم في حالات الإنتانميات والسمدميات وتجرثم الدم العام. الآفات عادة بؤرية وتتألف من مناطق باهته أو صفراء أو رمادية. مجهرياً تتنكس وتُنخر الألياف العضلية، وترشح باللمفاويات والخلايا المصورية والبلاعم والحمضات.

٦- التهاب عضلة القلب القيحي:

تشاهد هذه الحالة عند تقيح الدم Pyemia الذي يحدث في التهاب الضرع والتهاب الرحم والمفاصل. يكون الانتشار عن طريق الشرايين الإكليلية، أو امتداد مباشر من التهاب التامور القيحي والتهاب الشغاف أو التهاب الجنبة. عيانياً يحوي القلب العديد من الخراجات ذاوت الحدود المحتقنة وبعضها محفظ.

Scanned with CamScanner

٧- التهاب عضلة القلب الطفيلي:

- الكيسات اللحمية Sarcocystis tenella: شائعة الوجود في معظم دول العالم عند الأبقار والخنازير والأغنام وحتى في سورية (مقرش ونعمة ـــ مجلة جامعة البعث).
- المقوسات القندية Toxoplasma gondii: تكون في الألياف العضلية ككيسات كاذبة، وقد تتمزق محدثةً التهاباً موضعياً على شكل نخر مركزي محاط بخلايا التهابية مثل العدلات وخلايا منسجة ولمفاويات. في بعض الأحيان قد تتكلس منطقة النخر.
- الكيسة المذنبة البقرية Cysticercus bovis: توجد في قلوب الثيران، والكيسة المذنبة C. cellulosae توجد في قلوب الخنازير، والكيسية المذنبة الغنمية C. ovis توجد في قلوب الأغنام.
- الكيسات العدارية Hydatid cysts: قد تشاهد في الكلاب.

ثامناً – التهاب شغاف القلب الصمامي:

من أهم آفات الشغاف، ويتسبب بالعديد من الجراثيم أو الفيفانات المرافقة للأخماج المزمنة عن طريق الدم في الأبقار والأغنام والكلاب والقطط والخنازير. تنحصر الآفات بالصمامات Valves، وقد تمتد إلى شغاف القلب الجدارية Mural endocarditis. يسبب هذا الالتهاب العديد من الجراثيم لاسيما المقيحة منها. قد يكون مصدر الخمج الجرثومي التهاب المفاصل القيحي Purulent arthritis، أو التهاب الرحم Endometritis، أو التهاب الضرع Mastitis، أو استئصال القرون Dehorning.

تبدأ العملية الالتهابية بتشكل خثرة دموية قريباً من حوافي الصمامات الأذينية البطينية. وبتكرار الخمج تكبر بؤر الالتهاب على هيئة زهرة القرنبيط، وتلتحم بشكل أكبر مع الصمام فيؤدي إلى تشوه حوافي الصمام وعدم انغلاقه تماماً. وعندما تكون الخثرة كبيرة فإنها تدعى التهاب الشغاف الإنباتي Vegetative endocarditis. وفي

Scanned with CamScanner

حالة الالتهاب الإنباتي تكون الأفة كبيرة، رمادية صفراء محمرة، هشة القوام. ونتيجة عدم تماسك الأفات فإن قطعاً منها تنفصل عن الجسم الأساسي مع ما تحمله من جراثيم، وتجري في الدم على شكل صمات محدثة أضراراً موضعية أو بعيدة.

Scanned with CamScanner

أولاً – أمراض الشرايين:

ثمة العديد من أمراض الشرايين Arteries التي تسبب الموت للإنسان و وذات أهمية في الحيوانات لاسيما الحيوانات الصغيرة منها.

١- تصلب الشرايين Arteriosclerosis:

تصلب الشرايين آفة مزمنة تعني صلابة جدر الشرايين وفقدانها مرونتها وضيق لمعتها بسبب تغيرات تكاثرية وتنكس الطبقة الوسطى من الشريان. *عيانياً*، ثخانة خشونة في جدر الشرايين، و إكلينيكياً قد لا تكون هذه الحالة ذات أهمية كبيرة إلا في الشرينات.

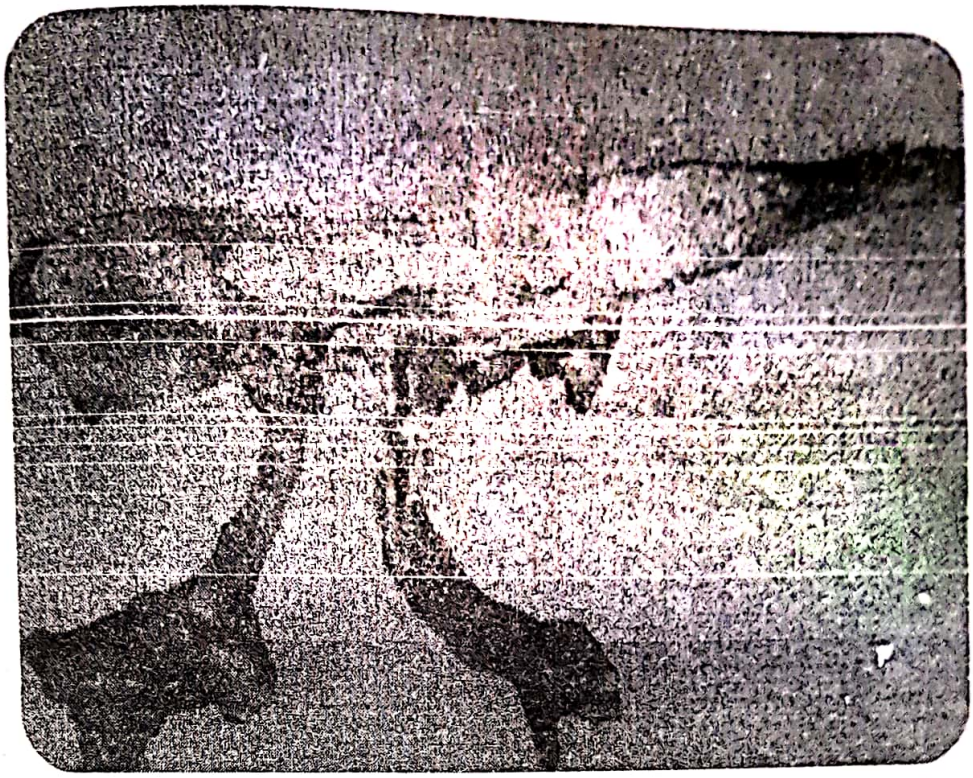
٢- التكلس Calcification:

يحصل التكلس في الطبقة الوسطى للشرايين الكبيرة متأذية أو غير مأذية وقد يكون أحد أسبابه اضطراب استقلاب الكالسيوم. أكثر الشرايين تأثراً بالتكلس هو الأبهران الصدري والبطني.

٣- التصلب العصيدي Atherosclerosis :

يُسمى أحياناً العصيدة Atheroma. و العصيدة مرض شرياني يتصف بتوضع بطيء على مدى طويل وبشكل بؤري للشحوم والنسج الضامة في باطنه الشرايين Intima ذوات الأحجام المختلفة. ويؤدي توضع المواد السابقة إلى ثخانة باطنة الشرايين فتضيق لمعتها، وتسبب إفقاراً دموياً Ischemia حاداً أو مزمناً. وإذا ما حصلت هذه التغيرات في شرايين القلب الإكليلية فإنها تسبب مرض إقفار الدم القلبي Ischemic heart disease، الشكل رقم ٣.

Scanned with CamScanner



شكل رقم ٣ : العصيدة تزيد ثخانة باطنة الشريان بلويحات صفراء بنية.

٤- التهاب الشرايين:

هو التهاب جدران الشرايين، ويحدث لأسباب عديدة، وقد يرافق العديد من أمراض الحيوان، ويكون الالتهاب حاداً أو مزمنا. وأسبابه هي :

- يمكن أن ينشأ التهاب الشرايين نتيجة انتشاره من النسج حول الأوعية، أو قد يتوافر العامل المسبب في مجرى الدم، ويتطفل على الخلايا المبطنة للشرايين ويخربها كما يحصل في الأمراض الحموية والريكتسيا Reckettsiae. تشمل الأمراض التي يحصل فيها التهاب الكبد الخمجي عند الكلاب ICH، والتهاب الشرايين في الخيل EA، والحمى الترلية الخبيثة MCF. عند تخريب الخلايا المبطنة يتسرب الدم من الأوعية، فيحدث نزف حبري أو كدمي، وقد يتشكل تخثر وعائي. ويحدث عادة في الأمراض الحموية استكفاف لمفاوي حول الأوعية.
- التهاب الشرايين الطفيلي Parasitic arteritis: يحدث التهاب الشرايين المزمن في الخيل نتيجة يرقات ديدان الأسطوانية الشائعة Strogylus vulgaris في الشريان المساريقي الأمامي. وفي الكلاب نتيجة ديدان القلب

Scanned with CamScanner

Dirofilaria immitis، حيث تعيش الديدان البالغة في البطين الأيمن للقلب والشريان الرئوي محدثة التهاب باطنه. ومن حالات التهاب الشرايين الطفيلي داء كلابية الـــذنب Onchocerciasis الـــذي تســـببه Onchocerca armillata التي تتطفل على جدار الأبهر لاسيما القوس الأبهري في الأبقـــار والجاموس والماعز.

٥- تمزق الشرايين:

يشاهد تمزق الشرايين الكبيرة كالأبهر عند الخيول بعد تمرين شـــاق دون تـــدرب تدريجي، ويكون موقع التمزق عادة في جذر الأبهر.

٦- انسداد الشرايين:

تحدث الصمات والخثرات الدموية انسداد الأوعية، وتعتمد نتائج هذه الخثـــرات على حجم الرغاء الدموي المسدود ومقدار الانسداد (كلي أو جزئي)، ووجود مدد دموي رادف.

٧- أمّ الدم:

هي اتساع موضعي في لمعة شريان معين، ويأخذ أشكالاً عدة، إما الشكل المغزلي Fusiform، أو الشكل الكيسي Saccular، أو المنسلخ Dissecting.

ثانياً- أمراض الأوردة والأوعية اللمفاوية:

أ- التهاب السرة:

قد يلتهب الحبل السري، فيحدث التهاب الســـرة Omphalophlebitis عـــن طريق الشغيلة الخيلية في الأمهار والقولونيات في العجول حيث يثخن الوريد السري ويحوي مواد نخر ثخينة ويرشح جداره بالكريات البيض على نحو كثيف.

ب-التهاب الأوردة:

قد يكون امتدادياً من منطقة مجاورة كما في حالات التهاب الرئة والتهاب الـــرحم والتهاب الضرع، حيث تعبر الممرضات المختلفة جدرَ الأوردة الرقيقة بسهولة أكبر من عبورها جدر الشرايين.

Scanned with CamScanner

ج-التهاب الأوردة القيحي:

غالباً ما يكون التهاب الأوردة على شكل التهاب قيحي أو خراج ينفجر في جدار وريد ما كما في حالة الأبقار المصابة بخراجات كبدية. كذلم فحقن الأدوية المهيجة قريباً من وريد ما يسبب التهابه.

د- انسداد الأوردة:

ينعكس انسداد وريد كبير في الجسم على شكل احتقان وتوذم المنطقة التي تصب في الوريد المعني.

ه- التهاب الأوعية اللمفاوية:

يحدث عادة نتيجة ارتشاح منطقة ملتهبة، وهذا الالتهاب غير شائع عند الحيوانات وأهميته محدودة.

ثالثاً – أورام القلب والأوعية الدموية:

١) أورام الأوعية الدموية:

ثمة ورمان شائعان في الأوعية الدموية، الأول يدعى: الوعاؤوم الدموي Hemangioma، والثاني الورم السرطاني الوعائي Hemangiosarcoma. الأورام الدموية شائعة الحدوث في الطحال والكبد والجلد. والأورام الحميدة كبيرة كتلية طرية ومحفظة، وتتواجد عادة في الجلد. أما الخبيثة منها فتوجد في الطحال والأذين الأيمن للقلب والكبد ومواضع أخرى نادرة.

٢) أورام قاعدة القلب Heart base tumor:

وتقع في قاعدة القلب على شكل عقدي ممحفظ، وقد لا يكون لها أهمية إكلينيكية، وتعد من أورام جسم الأبهر.

٣) عاؤوم لمفي Lymphagioma:

ورم نادر يصيب الخلايا البطانية للأوعية اللمفية.

Scanned with CamScanner

الفصل الثالث: أمراض الأنسجة اللمفية والمكونة للدم
Pathology of the hematopoietic and lymphoid tissues

أولاً – تخليق مكونات الدم:

تنشأ كريات الدم البدائية في المرحلة الجنينية من الخلايا البطانية Endothial cells المبطنة للعديد من الجزر الدموية ،وهي خلايا ذوات نوى بدائية تدعى أرومة الحمرErthroblasts. أرومة الحمر تحوي هيولى قاعدية ونواة كبيرة وعدة نويات، وتحّرر خضاباً بدائياً. تدوم هذه المرحلة من التكوين نحو ٨ أسابيع ليبدأ الطور الكبدي حيث تخلق الكريات الحمر في الجيبانات الكبدية حتى قبل الولادة بعدة أسابيع. أثناء هذه الفترة يبدأ ظهور الخلايا المحببة Granulocytes، وتكون غزيرة خلال الشهر الرابع من الحمل. كما إن للطحال دور في توليد الدم إذ تظهر أرومة الحمر فيه حتى الشهر الرابع، وفي هذا الوقت يتوقف التوليد أو التخليق النقوي Myelopoiesis ليقوم نقي العظام بتولي دور توليد الدم ،ويتناقص عدد الكريات الحمر المُنوَّاة في الدم. عند فقدان الدم الشديد لأسباب مختلفة فإن الكبد والطحال وبدرجة أقل يعودان إلى تخليق كريات الدم، وتسمى هذه الحالة تولد: الدم خارج النقوي Extramedullary Hemopoiesis.

بعد الولادة يقوم العظم بإنتاج الكريات الحمر والبيض والصفيحات الدموية بأعداد كافية للحفاظ على مستواها الطبيعي في الدم. ويحتوي نقي العظم أعداداً مختلفة من خلايا دموية ناضجة وغير ناضجة ضمن نسيج ضام رخو شبكي، ويتخلله (أي النسيج) جيوب عديدة مبطنة بخلايا بطانية. يحوي نقي العظام بلاعم متخصصة Macrophages لتخزين الفريتين Ferritin والهيموسيدرين لينقلا إلى الكريات الحمر المتطورة.

Scanned with CamScanner

ثانياً – أمراض الكريات الحمر:

١- كثرة الحمر:

هو زيادة عدد الكريات الحمر في الدورة الدموية ،وقد تكون الزيادة:

- زيادة نسبية Relative: في هذه الحالة يوجد نقصان في حجم الدم الكلي ومن ثم زيادة تركيز العدد الطبيعي للكريات الحمر. يحصل هذا النوع من الزيادة عندما يكون هناك نقصان في سوائل الجسم من ثم تركز الدم في حالة التجفاف الناتج عن التقيؤ المستمر والإسهال والتعرق الشديد والصدمة.
- زيادة مطلقة Absolute: تكون في عدد الكريات الحمر في حال وجود حجم دم طبيعي.

أ- قد تكون الزيادة المطلقة أولية أو حقيقية Polycythemia vera في حالة أورام الحمر في نقي العظم. وهي ذات أساس عائلي في بعض الكلاب والقطط والأبقار حيث يكون مولد الحمر Erythropoietin منخفضاً.

ب- ويمكن أن تكون الزيادة المطلقة ثانوية، فتشاهد في بعض المواليد لأسباب غير معروفة، وفي حالات فيسولوجية دائمة لدى الحيوانات التي تعيش في المرتفعات أو مؤقتة عند تقلص طحال كلاب وخيول السباق.

ج- أما الزيادة المرضية فهي تعويضية عند نقص الأكسجة لمدة طويلة كما في أمراض القلب والرئة.

٢ ــ فقر الدم:

يعبر عن فقر الدم بانخفاض مستوى حجم الخلايا الحمر المتراصة PCV أو خضاب الدم أي انخفاض معدل حمل الأوكسجين. وكما هو متوقع فإن فقر الدم المتقدم يؤدي إلى تغيرات تنكسية في جميع المجموعات الخلوية لاسيما الحساسة منها لقلة التأكسج. يحدث فقر الدم نتيجة فقدان شديد للدم أو إنتاج كميات غير ملائمة منه، لذلك يصنف فقر الدم على شكلين:

Scanned with CamScanner

☒ فقر الدم التجددي Regenerative anemia :

وهو فرط تنسج الكريات الحمر الأولية في نقي العظام كرد فعل على فقدان أو تخريب الكريات الحمر. من أهم مسببات هذا النوع من فقر الدم العدوى بالملقوّة الكلبية Ancylostoma caninum- وفقر الدم الانحلالي المرتبط بالمناعة Immune mediated hemolytic anemia - والعدوى الحمر بالحيوانات الأوالي. عند حدوث هذا النوع من فقر الدم فإن مُكونة الحمر Erythropoietin ،وهي هرمون يفرز من الكلية كرد فعل على قلة تأكسج الأنسجة، تفرز وتحرض على تمايز الخلايا الجذعية Stem cells في نقي العظم. في هذه الحالة يكون نقي العظم كثير الخلايا لاسيما الكريات الحمر الشبكية Reticulocytes التي تقذف مبكراً إلى الدورة الدموية فتكثر فيها.

☒ فقر دم غير تجددي Nonregenerative anemia:

في هذا النوع من فقر الدم يكون نقي العظم مصاباً بمرض ما أو قصور عرضي. من أهم أسباب هذا الفقر الدموي خلل في تكون الحمر أو عوز في هرمون مكون الحمر نتيجة أمراض الكلى أو أمراض الغدد الصم أو الأمراض المزمنة أو الأورام أو الإشعاعات أو الجوع أو نقص الحديد أو التسمم بالرصاص. يعطي الفحص المخبري صورة نقص تنسج نقي العظم أو غياب الكريات الحمر الشبكية في الدورة الدموية.

ثالثاً – أمراض الكريات البيض:

تلاحظ التغيرات التي تطرأ على الكريات البيض سواء في العدد أو الشكل أو الوظيفة في العديد من الأمراض. إن طبيعة رد فعل الكريات البيض غالباً ما تعطي الطبيب أدلة قيمة عن طبيعة المرض سواء أكان التهابياً أو تنكسياً. وكذلك تعطي أدلة إلى حد لا بأس به عن طبيعة العامل المسبب. عند التحدث عن تغيرات الكريات البيض فإن اللاحقة – osis و اللاحقة ilia تدلان على زيادة عدد البيض مثل كثرة العدلات

Scanned with CamScanner

Neutrophilia وكثرة وحيدات النواة Monocytosis، أما اللاحقة penia – فتدل على نقصان البيض في الدم. ومثال على ذلك، قلة العدلات وقلة اللمفاويات Neutropenia and lymphopenia. يضم تعبير الكريات البيض كلاً من العدلات Neutrophils والحمضات Eosinophils والوحيدة Monocyte واللمفاوية Lymphocyte والقعدات Basophils. تشترك جميع هذه الخلايا في الدفاع عنْ الجسم كلٌ حسب خاصيتها ووظيفتها.

١- العدلات:

تنتج العدلات من الخلايا الجذعية الدموية في نقي العظام بتأثير عامل تحريض المستعمرات CSF الذي يفرز من البلاعم Macrophages. وتمر هذه الخلايا عبر سلسلة من التطورات لتصل في ثلاثة أيام إلى المرحلة الشريطية Band stage. ثم المرحلة القطعية Segmental stage، ثم تخزن في مخازن خاصة تحوي مخزوناً احتياطياً لمدة خمسة أيام تقريباً. تحرر الخلايا عادةً الأقدم عمراً فالأقدم، ومتوسط حياة العدلات المحررة في الدورة الدموية ما بين٦ــ٨ ساعات.

- كثرة العدلات Neutrophilia: وتعود كثرة العدلات إما نتيجة لكثرة الكريات البيض المؤقتة، وهي حالة مفيدة للحيوانات وقابلة للعكس، أو قد تكون ذات طبيعة سرطانية على هيئة ابيضاض الدم Leukemia، وهي كثرة متقدمة غير قابلة للعكس.
- كثرة العدلات الفسيولوجية: تشاهد هذه الكثرة في حالة الحمل، وفي المواليد، وخلال التمارين والخوف، وعند التغذية على علف غني بالبروتين. آلية هذه الزيادة الفسيولوجية تتمثل بتحول مؤقت من عدلات هامشية Marginal إلى عدلات ضمن الدورة العامة كرد فعل على مادة الإبينفرين Epinephrine.
- كثرة العدلات التجددية Regenerative neutrophilia: عند تحريض نقي العظام تزداد العدلات في الدورة الطرفية، وقد تواجد العدلات غير

Scanned with CamScanner

الناضجة فيها لاسيما في المرحلة الشريطية بأعداد تزيد عن الحد الطبيعي، وهذا ما يسمى بالزيحان اليساري التنكسي Degenerative left - shift.

تحدث كثرة العدلات التجددية كرد فعل على متطلبات الأنسجة الوظيفية للبلعمة ،ولمواجهة هذا العوز تتحرك العدلات من نقي العظم مع زيادة معدل تكاثر طلائع العدلات. إذا زادت متطلبات الأنسجة عن الاحتياطي في نقي العظم تحدث قلة العدلات مع زيادة عدد الخلايا غير الناضجة في الدم.

٢- كثرة الحمضات:

تشاهد كثرة الحمضات في كثير من الأخماج الطفيلية وأمراض الجلد (الأكزيما والجرب) وفي أمراض خاصة بالعضلات، وبعد استئصال الطحال، وفي التسمم (كالزرنيخ والنحاس والسلفا)، وبعد التعرض القليل للإشعاعات.

٣- كثرة اللمفاويات:

تزداد اللمفاويات بعد الخمج بالحمات، وبعد الأخماج المزمنة بالجراثيم (كالسل والبروسيلة)، وفي طور الشفاء وبعد اللقاحات.

٤- كثرة وحيدات النواة:

تحدث كثرة وحيدات النواة في الخمج بالحيوانات الأولي، وبعد الشفاء من الأمراض الحادة، وفي مرض هَدْجكن Hodgkin's disease، والأمراض الجرثومية المزمنة.

٥- قلة الكريات البيض:

وهي انخفاض ملحوظ في عدد كريات الدم البيض في الدورة الطرفية ،وتتأثر الكريات البيض عادةً بشكلٍ متساوٍ نتيجة:

- انخفاض معدل الإنتاج: وذلك بسبب بعض الأمراض الحموية المعندة (الطاعون البقري والتهاب الكبد الخمجي عند الكلاب والإسهال البقري الحموي)، والجرثومية (البروسيلة والسل)، والفطور (داء النوسجات

Scanned with CamScanner

Histoplasmosis)، وفي الهزال والجوع، وبعض أمراض الاستقلاب والتسممات.

- زيادة تحطيم الكريات البيض: كما في حالات زيادة الجرعة الإشعاعية، وتشكل كميات كبيرة من القيح والنضح الالتهابي، وذيفانات الجراثيم (المطثيات والباستوريلة)، وفرط التنسج الطحالي كما في حال مرض هدجكن.
- تغير في التوزيع: تحدث هذه الحالة في الصدمة التأقية، فتحتبس الكريات البيض في جيبانات الكبد والطحال والرئة. كما إن عوامل الإجهاد وتحرير الكورتيزون من قشرة الكظر تؤدي إلى قلة الحمضات واللمفاويات.

٦- ابيضاض الدم:

يعد ابيضاض الدم من أورام نقي العظم والأنسجة الشبكية البطانية الأخرى المميتة والشائعة في الحيوانات المختلفة. يقسم ابيضاض الدم إلى: ابيضاض الدم اللمفي الذي يضم أورام المفاويات Lymphocytic leukemia، وابيضاض محبيات الدم Granulocytic leukemia والذي يضم أورام كل نوع من الحمضات والعدلات .. ألخ.

توجد في مجرى الدم خلايا غير ناضجة أو أرومات الخلايا Blast cells والتي تصعب معرفة نوع الخلية المنحدرة منها ،وبالتالي يصعب تحديد نوع الورم الخلوي من خلال اللطاخة الدموية فقط، لذلك يعتمد على لطاخة نقي العظم والفحص الإكلينكي. في حالة أن لطاخة نقي العظم تشير إلى وجود أرومة النقويات Myeloblasts مع تضخم الكبد والطحال ووجود عقد لمفاوية طبيعية فيرجح إن الورم ابيضاض دم نقوي. وعلى العكس وجود لطاخة نقي عظم شبه عادية مع إصابة كل العقد اللمفاوية يشير إلى ابيضاض الدم اللمفي. تتألف أورام الأنسجة المكونة للدم من نوعين خلويين أساسيين، هما الخلايا اللمفاوية والخلايا النقوية Myelocytes .

Scanned with CamScanner

رابعاً – الطحال:

١- وظيفة الطحال:

يعد الطحال نسيجاً لمفياً ثانوياً من مكونات الجهاز الشبكي البطاني وذا قوام إسفنجي. يحمل الطحال كميات كبيرة من الدم، ويعمل كموقع لتكوينه خارج نطاق نقي العظم عند الحاجة الضرورية لذلك. للطحال وظيفة دفاعية من خلال إنتاجه خلايا لمفاوية وأضداد بواسطة الخلايا المصورية ما يعطي الحيوان المقدرة على تشكيل رد فعل مناعي للمستضدات القادمة مع الدم، ولذا يقوم الطحال بمحاولة السيطرة على الجراثيم الدموية بكفاءة عالية في بداية الخمج. كما يقوم الطحال بترشيح الدم من خلال الجهاز الشبكي البطاني، وبلعمة كل الجزيئات والجراثيم والكريات الحمر الواهنة، وتحويل الخضاب إلى بيليروبين، وتخزين الحديد على شكل فريتين أو هيموسيدرين.

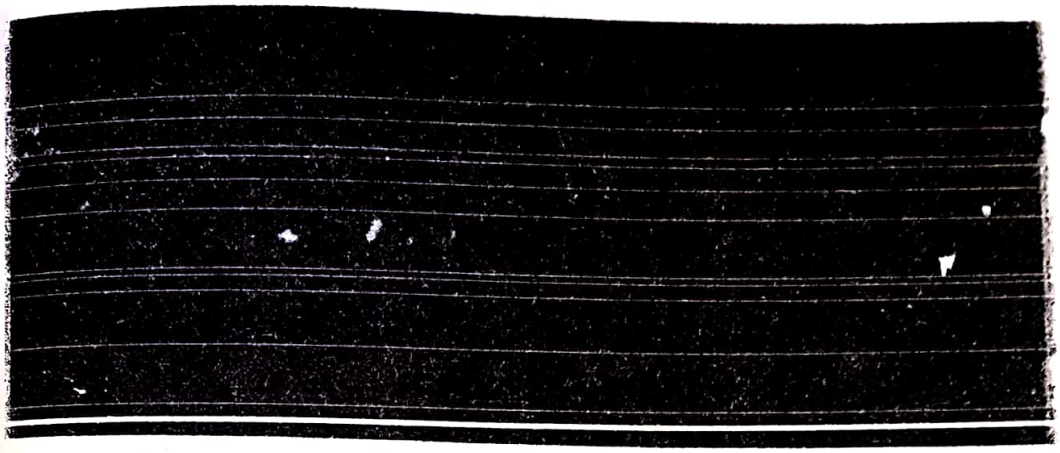
٢- ضمور الطحال:

قد يضمر الطحال في بعض الأخماج الحموية والإشعاع وإعطاء جرعات عالية من هرمونات قشرة الكظر. وضمور النسيج اللمفي شائع في الحيوانات المعمرة، وفي حالة الجوع المؤدي إلى الهزال، والأمراض الموهنة المزمنة، وقد يكون نتيجة الاحتقان وركود الدم لمدة طويلة. *عيانياً*، محفظة الطحال الضامر قاسية ومجعدة، أما *مجهرياً* فيكون النسيج اللمفي قليلاً وضامراً. وبعكس الضمور ثمة حالة فرط تنسج الطحال، ويظهر عادة في الحيوانات المعمرة، الشكل رقم ٤.

٣- شذوذات خلقية:

في بعض الحالات النادرة في الخيل قد يشاهد طحال على شكل كعكة دائرية ملفوفة وسطحها فارغ. وأحياناً أخرى يمكن أن يصدف وجود طحال بدائي مفصص أو قطع طحالية إضافية في الشرب Omenteum المعدي الطحالي.

Scanned with CamScanner



شكل رقم ٤ : فرط التنسج الطحالي العقيدي.

٤- التصبغ:

تحوي بلاعم الطحال كميات متفاوتة من الهيموسيدرين، وقد تكون هذه الكميات قليلة عند الكلاب كثيرةً عند الخيل والحيوانات المسنة. وإن زادت كمية الهيموسيدرين في غير هذه الظروف فإن ذلك يدل على زيادة تحطيم الكريات الحمر في الطحال بسبب حالات فقر الدم الانحلالي المناعي الذاتي أو الإصابة بالبابيزية.

٥- الاحتقان الحاد Acute congestion:

من الصعب تقدير الاحتقان في الطحال بسبب التغيرات الواسعة في حجمه، ويشيع احتقان الطحال الحاد في الأخماج الجهازية العامة مثل كإنتانات الدم الجرثومية (Entrotoxemia). يؤدي حقن الباربيتوريت والمخدرات الأخرى إلى احتقان الطحال الحاد حيث إن الباربيتوريت يسبب إرخاء العضلات الملساء وعند ارتخائها في الحويجزات والمحفظة فإن الدم يملأ العضو. في حالة قصور القلب يحصل احتقان الطحال الحاد كجزء من الاحتقان العام. *عيانياً*، يتضخم الطحال بشدة، ويكون هشاً وذا لون أسود مزرق، ويسيل منه الدم عند قطعه.

٦- التهاب الطحال: يكون التهاب الطحال إما حاداً أو مزمناً.

التهاب الطحال الحاد Acute splenitis من أكثر ملامح الأخماج الجهازية كداء السلمونيلة والأنابلازما Anaplasmosis عند الأبقار، وفقر الدم الخمجي عند الخيل، والجمرة الخبيثة. *عيانياً*، يتضخم الطحال ويميل إلى اللون

Scanned with CamScanner

الداكن بسبب الاحتقان والنضح الخلوي، ويكون قوامه هشاً. قد تتكون في الطحال خراجات عند الحمج بالجراثيم المقيحة. مجهرياً، يشاهد نخر اللب وترشح العدلات إلى الجيبانات المحتقنة، ومع ردود فعل المراكز الإنتاشية يلاحظ تكاثر اللمفاويات وبعض الخلايا المصوية.

إن التهاب الطحال المزمن Chronic splenitis أكثر مشاهدة في الأمراض المعندة كالسل والرعام وتقيح الدم والسل الكاذب في الأغنام وداء النوسجات. عيانياً، يكون الطحال المصاب متضخماً أيضاً ولكن قوامه قاسي الملمس. مجهرياً، من أكثر الملامح في هذه الأمراض المختلفة الالتهاب الورمي الحبيبي وتشكل خراجات.

عند حدوث التهاب الطحال الدموي يكون الطحال أحمر كبير الحجم، وتخرج من مقطعه سوائل دموية. مجهرياً يظهر احتقان شديد منتشر ونزف دموي في متن النسيج بالإضافة إلى بعض الخلايا الالتهابية (كالجمرة الخبيثة).

خامساً – التوتة :

التوتة عضو لمفي ظهاري أولي، وظيفتها احتواء الخلايا اللمفية القادمة من نقي العظام، وتحريضها على التكاثر والتمايز إلى خلايا تائية Tcells. تتكون التوتة نسيجياً من فصوص بناؤها الأساسي شبكة متفككة وخلايا شبكية فيهما تجمعات كثيفة من خلايا لمفاوية في منطقة القشرة، وأقلها في منطقة اللب الذي يحوي أساساً خلايا ظهارية وجسيمات توتية زهرية اللون تدعى بأجسام هاسل Hassels corpuscles. تنتج الخلايا الظهارة التوتية عدداً من الهرمونات العديدة الببتيد، ومنها التيموسين Thymosin، والتيموبيوتين Thymopietins، وكلاهما يسيطر على تمايز الخلايا التائية.

Scanned with CamScanner

١- ضمور التوتة:

تضمر التوتة في حالات الإجهاد والجوع والتمارين العنيفة والأمراض الجهازية العامة كرد فعل على ارتفاع نسبة الكورتيزول. هنا يجب التفريق بين حالة الضمور المرضي والأوب Involution التي تحدث بعد البلوغ الجنسي.

٢- نقص تنسج التوتة:

تعاني جراء بعض سلالات الكلاب من خلل في نمو التوتة وبالنتيجة من إصابات جرثومية متكررة. وتستجيب الجراء المصابة لحقن هرمون التيموسين أو هرمون النمو. بعض صغار الخيول العربية التي تعاني من عوز المناعة المزدوج Combined immune deficiency تكون فيها التوتة ناقصة التنسج وضامرة نتيجة العجز عن تكوين عدد كاف من اللمفاويات التائية والبائية.

سادساً – العقد اللمفاوية:

١- التشريح الوظيفي:

العقد اللمفية أنسجة لمفاوية تتوضع دائماً على امتداد الأوعية اللمفاوية، وتتألف من شبكة ألياف شبكية وكولاجينية تخترق العقد اللمفاوية بفراغات لمفاوية أو ما يسمى بالجيبانات. يتراوح حجم العقد اللمفاوية بين ١ إلى ٢٥ مم، وهي دائرية أو تشبه شكل الكلية. تقسم تشريحياً إلى قشرة Cortex، وجنيب القشرة Paracortex، ومنطقة لبية Medulla. تتكون هذه المناطق من خليط خلوي يتألف من بلاعم وخلايا تغصنية Dendritic cells، وخلايا لمفاوية تائية وبائية، ومتن شبكي. تعمل العقد اللمفية كمرشح للسوائل خارج الخلايا. تدخل السوائل العقد عن طريق الأوعية اللمفية الواردة، وبذلك تتفاعل مع المستضدات Antigens المختلفة، وتحضرها لعرضها على الخلايا المناعية.

Scanned with CamScanner

٢- ضمور العقد اللمفاوية:

تعاني العقد اللمفاوية من ضمور نسيجها في حالة تعرضها لبعض الأمراض الحموية والإشعاعات أو إعطاء جرعات زائدة من مركبات هرمون قشرة الكظر، وفي الحيوانات المعمرة السليمة، والأمراض المزمنة والهزال. تترافق ضمور العقد اللمفاوية لنقصان حجمها نتيجة استهلاك الخلايا اللمفية.

٣- فرط تنسج العقد اللمفاوية:

فرط التنسج عادة رد فعل على محرضات تحت حادة إلى مزمنة، وقد يكون فرط التنسج عاماً أو موضعياً. *عيانياً*، العقد المصابة تكبر حجماً، ويقسو قوامها وتكون جافة، وتأخذ اللون الأبيض الرمادي، وتكون الجريبات اللمفاوية واضحة، ولا تتليف طبعاً أو تتكلس. *مجهرياً*، يزداد عدد اللمفاويات كرد فعل تحريض مستضدي جرثومي أو حموي أو فطري أو تحسسي. تزداد المراكز الإنتاشية وتكثر الخلايا اللمفية في منطقة جنيب القشرة، وتعود العقدة إلى وضعها الطبيعي بعد زوال المسبب.

٤- نقص تنسج العقد اللمفية:

يؤدي نقص التنسج إلى تغير في حجم العقد اللمفاوية بسبب نقص عدد اللمفاويات ومن ثم غياب معالم الجريبات اللمفية Lymphoid follicle. يترافق نقص التنسج في معظم أسبابه مع أمراض العوز المناعي الخلقي الملاحظ في الحيوانات الصغيرة وعوامل سمية.

٥- التهاب العقد اللمفية:

قد يكون التهاب العقد اللمفاوية موضعياً أو عاماً، وتتأثر العقد اللمفية طبيعياً لأن وظيفتها ترشيح المؤذيات الموجودة في المنطقة التي ترشحها. من المسببات غير النوعية التي تؤدي إلى التهاب العقد اللمفاوية غير النوعي المهيجات الكيمياوية، ونواتج حالات الرضوض والحروق، والجراثيم المختلفة. وتبعاً للنضح الالتهابي يمكن تقسيم التهاب العقد اللمفية إلى:

Scanned with CamScanner

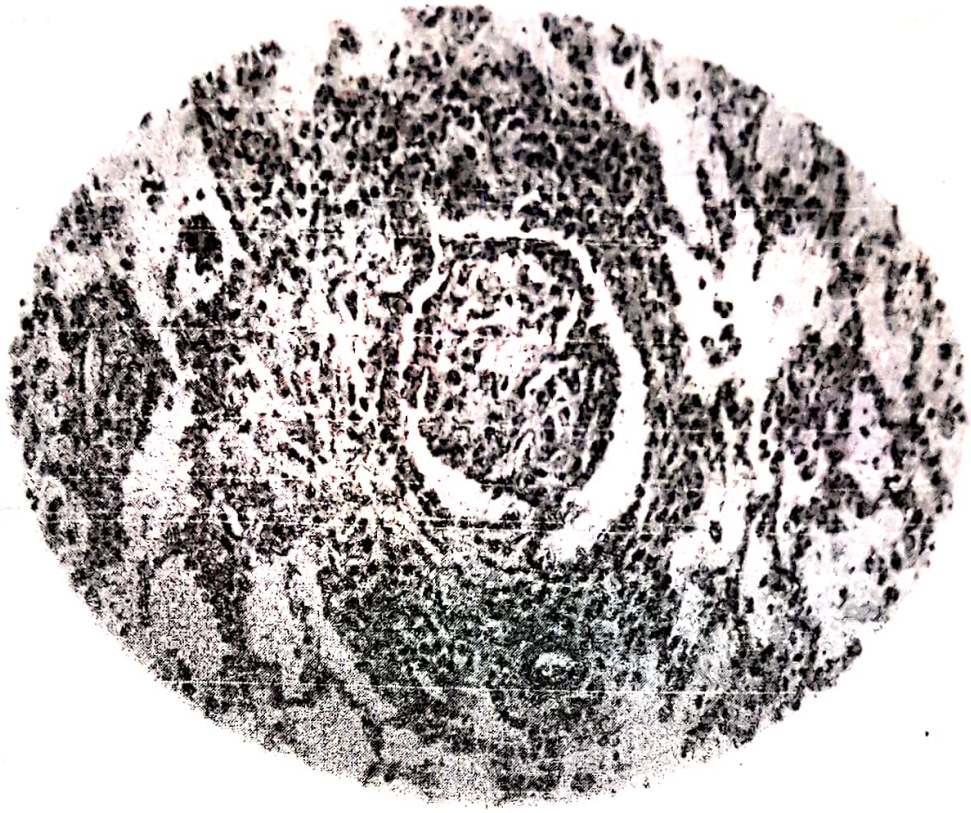
أ- **التهاب مصلي حاد:** يحدث الالتهاب المصلي في المراحل المبكرة للعديد من الأمراض الإنتانية الحادة. يتمخض عن الالتهاب ألم واحتقان وتضخم العقد مع طراوتها وتوذمها، ويرتشح النضح المصلي من العقدة عند أخذ مقطع لها. *مجهريا*، توجد سوائل زهرية اللون ضمن متن العقدة، واحتقان في الجيبانات بالكريات الحمر، وزيادة في نشاط الجهاز الشبكي البطاني (من لمفاويات وبلاعم وخلايا مصورية) وتوجد بعض العدلات.

ب- **التهاب دموي:** يحصل عندما يكون المسبب أعنف من الحالة السابقة كما في الجمرة الخبيثة والباستوريلة والعقد اللمفية المساريقية في حالة السمدمية المعوية Enetrotoxemia لدى العجول الرضيعة. *عيانياً*، يشاهد في المقطع العرضي احمرار محدد للحدود الخارجية على امتداد الحويجزات. *مجهرياً*، يحصل احتقان شديد، واختلاط النضح بالدم.

ج- **التهاب قيحي:** يسبب هذا الشكل من الالتهاب الجراثيم المقيحة مثل المكورات العقدية في الخيل Strangles، والعنقودية في الأبقار Mastitis، والوتدية في الأغنام Caseous lymphadenitis. *عيانياً*، يظهر في العقد اللمفية قيح، و*مجهرياً* يحدث نخر في متن العقدة ويتميع، ويكون النضح الالتهابي قيحياً، وتحوي الجيبانات كميات كبيرة من العدلات. قد يتطور الالتهاب القيحي إلى حالة تشكيل خراج، وإلى درجة تصبح العقدة خراجاً محفظاً بمحفظة العقدة، وقد تنفجر الخراجات باتجاه الوسط الخارجي عادة وإلى تجاويف الجسم أحياناً.

د- **التهاب العقد الورمية الحبيبي:** يصاحب عادةً الأخماج ذوات الطبيعة المزمنة مثل الإصابة بالسل ونظير السل والفُطَار البُرْعمي Blastomycosis وداء النوسجة ....إلخ. يتكون الالتهاب من كتل خلوية التهابية أساسها الخلايا الشبكية البطانية RES، وأحياناً الخلايا العملاقة.

Scanned with CamScanner



شكل رقم ٦ : التهاب القصبات الانسدادي.

سادساً – الرئة:

١ العنيبة الرئوية Pulmonary acinus :

تتألف العنيبة من القصيبات النهائية متصلة بالأسناخ الرئوية التي يحدد هيكلها نسيج ضام يحوي شبكة شعيرات دموية وتبطن بنوعين من الخلايا الرئوية. النوع الأول Type I Pneumocytes غشائية ترصف السنخ الرئوي، ويشبه شكلها البيض المقلي حيث يمثل صفار البيض نواة الخلية. تتجدد خلايا النوع الأول من النوع الثاني للخلايا الرئوية Type II التي تقع بين خلايا النوع الأول وهي عملاقة مكعبة الشكل محببة وذات زغيبات Microvilli. تنتج خلايا النوع الثاني فُعال بالسطح Surfactant فحافظ على شكل وتوسع السنخ الرئوي وتمنعه من الوهط Collapse خلال عملية الزفير، وتساعد على ترحيل بقايا الجزيئات Debris إلى الجهاز المخاطي الهدبي Mucociliary system للقصيبات التنفسية. تستمد الخلايا الرئوية الأوكسجين من هواء السنخ الرئوي

Scanned with CamScanner

وليس من الدم، والنوع الأول أكثر حساسية وأقل مقاومة لنقص الأوكسجين في الأسناخ. بقي أن نعلم أن الأسناخ الرئوية مزودة ببلاعم تنتج أصلاً من خلايا وحيدات النواة الدموية، وتتوضع حرة في الأسناخ. هذه البلاعم ذات مقدرة ضعيفة على قتل الجراثيم المبتلعة، ووظيفتها الأساسية تكمن في ابتلاع المواد المحتلمة في الأسناخ وترحيلها إلى الأعلى عبر القصيبات فالرغامى.

٢- طرق عدوى الرئة:

- إن عدوى الرئة عن طريق هواء الجهاز التنفسي هي الأكثر شيوعاً: فالجزيئات الصغيرة ذات قطر ١ - ٢ ميكرون فرصتها أكبر في الوصول إلى الأسناخ الرئوية، وفي حالة حدوث التهاب الرئة فإنه يميل للظهور في الفصوص الأمامية أو الفصيصات الأمامية البطنية لكل الفصوص.
- عدوى عن طريق الدم: تنتشر عدوى الدم في كافة فصوص الرئة عند وجود أعداد كبيرة من المادة المعدية ،وقد تكون أشدها في الفصوص الخلفية. في حالة وجود صمات Emboli جرثومية في الدم، فالكبيرة منها تأوي إلى أي فرع من الشريان الرئوي، والصغيرة منها تستقر في أطراف الفصوص.
- عدوى مباشرة: هي نادرة الحدوث إلا في حالة اختراق جسم غريب لشبكية الأبقار أو مريء الكلاب، أو انتقال العدوى من جدار الصدر أو تجويفه.

٣- الانخماص الرئوي:

يعني إخفاق نخماص فشل الأسناخ الرئوية في الاتساع وامتلاءها بالهواء أو عدم بقائها مفتوحة. ويوجد نوعان من الانخماص، الأول الانخماص الرئوي الولادي Neonatorum A الذي يحدث نتيجة قصور رئتي حديثي الولادة عن التمدد، فيولد الحيوان نافقاً دون تنفس نتيجة انسداد القصبات بالمخاط أو السوائل الجنينية أو تأذي الدماغ فيعيق حركة الرئة. أما النوع الثاني فهو الانخماص أثناء الحياة Pulmonary collapse، ويعني وهط الرئة الذي يشاهد في أي مرحلة من العمر للأسباب التالية:

Scanned with CamScanner

- انخماص انسدادي: حيث تنسد لمعة القصبة، ويمتص هواء السنخ الرئوي. أسباب الانسداد عديدة، منها: وجود أجسام غريبة أو قيح أو مخاط أو كتل من الطفيليات أو أورام أو استكفاف لمفي Lymphatic cuffs.
- ضغط خارجي على الرئتين أو أجزاء منهما، ويسمى بالانخماص الضغطي. مثال ذلك مَوَهُ الصدر وتقيح التجويف الصدري Pyothorax والأورام والاسترواح الصدري Pneumothorax.

الانخماص أثناء الحياة أو وهط الرئة يكون موضعياً حتماً، ولا يشمل كل الرئة حيث تكون المنطقة المصابة داكنة اللون أو حمراء قاسية الملمس ،منخفضة عن السطح السليم المجاور، وتغطى بجنبة مجعدة ثخينة وتغطس القطعة المنخمصة في الماء. مجهرياً، تخلو الأسناخ من الهواء وتكون منضغطة على شكل شقوق Slits، وتحوي كمية قليلة من الدم.

٤- النفاخ الرئوي:

النفاخ هو زيادة الهواء في الرئة، ويقسم عادة إلى:

- نفاخ الأسناخ الحاد: حيث تتوسع الأسناخ، ويزداد حجم الفراغ الهوائي فيها عن الحد الطبيعي. هذا النفاخ يمكن أن يكون تعويضياً لمناطق الالتهاب الرئوي أو الانخماص. كما إنه يحصل عند انسداد الممرات الهوائية حيث يسمح بدخول الهواء دون خروجه، كوجود الديدان الرئوية في معظم الحيوانات، والتهاب القصيبات المزمن عند الخيول. عيانياً، تكون المنطقة المصابة باهتة اللون نفيشة ناتئة عن السطح.
- نفاخ النسيج الخلالي الحاد: غالباً ما يحصل هذا النفاخ في الأغنام والأبقار، ويرافق عادة نفاخ الأسناخ الحاد عند تمزق جدرها، ويجتمع الهواء تحت الجنبة في الفراغ بين الفصيصات والممرات الهوائية والأوعية الدموية. يراوح حجم الفقاعات الهوائية بين ٢ ــ ٥ مم.

Scanned with CamScanner

عيانياً، يزداد حجم الرئة الكلي، وتكون حوافها غير حادة. تتحرك الفقاعات مع تقدم الحالة باتجاه سرة الرئة، وتذهب إلى المنصف ثم تنتشر في الأنسجة الضامة تحت الجلد لاسيما في منطقتي الكتف والظهر. حالة نفاخ الرئة هذه شائعة الحدوث عند الأبقار المصابة بضعف الممرات الهوائية نتيجة الإصابة الشديدة بالديدان الرئوية أو التهاب الرئة المزمن، أو تحدث طبيعياً في الحيوانات التي تنازع لمدة طويلة مع صعوبة في النفس.

٥- توذم الرئة:

يسبق التوذم عادة حالة التهاب الرئة إما بسبب الاحتقان السلبي في الرئة الناجم عن زيادة الضغط على الشعيرات الدموية السنخية الناجمة، أو عند إعطاء سوائل وريدية فتزيد الضغط الوريدي في الدورة الدموية الرئوية أو في حالة قصور البطين الأيسر للقلب. كما يحصل التوذم عند التعرض للمواد أو الغازات السامة مثل الكلورين والأمونيا وأكسيد النتريك، والتي تزيد من نفوذية الخلايا المبطنة للشعيرات الدموية السنخية. كذلك من أسباب التوذم ذيفانات الجراثيم وخاصة التي تنتج محلياً سواء أكانت ذيفانات داخلية أم خارجية.

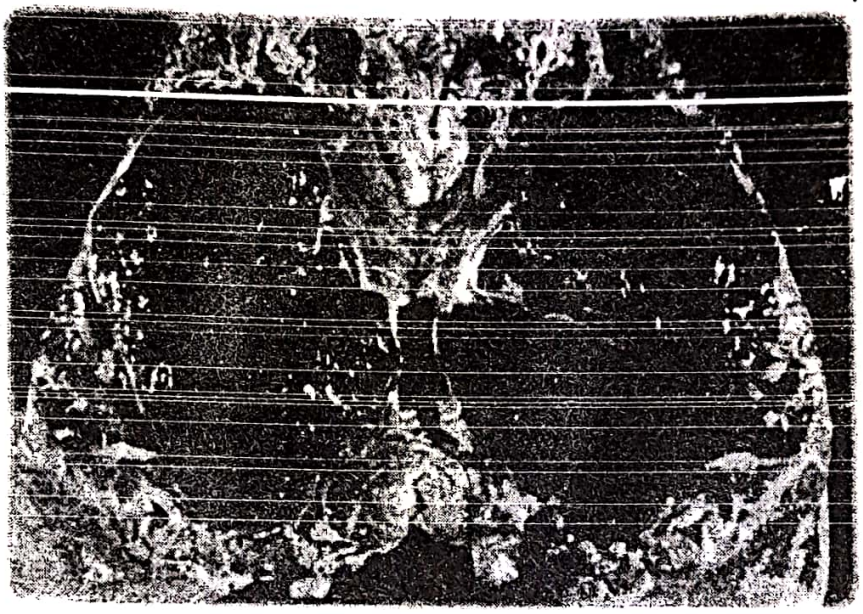
عيانياً، الرئة كبيرة وقاسية وتسيل من مقطعها سوائل وذمية، وتتضح للعيان الحواجز السنخية، كما تحوي الرغامى والقصبات رغوةً نتيجة اختلاط سوائل التوذم بالهواء. مجهرياً، تحوي القصيبات والأسناخ سوائل زهرية متجانسة الصبغة وتزداد صبغة السوائل بقدر احتوائها على البروتين. تعد سوائل التوذم وسطاً ملائماً لنمو الجراثيم، ولذا يكون التهاب الرئة لاحقاً بحالات التوذم.

٦- الترف الرئوي:

يدعى الدم في القشع بَنَفْث الدم Hemoptysis، وهي حالة نادرة، ويجب تمييزها عن الدم الذي يواجد في الرئة المرتشف بعد ذبح الحيوانات. أسباب النفث عديدة، منها: تمزق الأوعية الدموية ونزفها إلى القصبات بسبب الأمراض المختلفة مثل الجمرة الخبيثة والباستوريلة، أو الأجسام الغريبة، أو عيب في مقدرة

Scanned with CamScanner

الدم على التخثر. عيانياً، قد يكون الترف على شكل حبري أو كدمي أو كيسات دموية، ويكون الدم في الرغامى والقصبات رغوياً. تتجلى خطورة الترف الرئوي في إزاحة الدم للهواء في الأسناخ فيؤدي إلى قلة أكسجة مميتة أحياناً. مجهرياً، قد يواجد الدم في الأسناخ أو القصبات أو القصيبات، الشكل رقم ٧.



شكل رقم ٧ : الترف الدموي الشديد في الرئة.

سابعاً – التهابات الرئة:

التهاب الرئة شائع الحدوث في أنواع الحيوانات كافة، وقد يكون التهاب الرئة منتشراً Diffuse يشمل الرئة بكاملها أو معظمها، أو قد تكون الآفات بؤرية Focal منفردة أو متعددة Multifocal في كل أنحاء الرئة. هناك حالة التهاب الرئة البؤري الشديد Locally extensive، تكون فيه الآفات كبيرة مفردة أو مكونة من عدة آفات تحتل عدة فصوص.

يكون التهاب الرئة أولياً أو ثانوياً، وتنحصر الأسباب الأولية في التهاب الرئة بالمهيجات Irritants التي تدخل الرئة في معظمها عن طريق التنفس. تتضمن هذه العوامل الغبار والأجسام الغريبة والهواء الساخن والبارد، والجراثيم والحمات والطفيليات والفطور وعوامل كيمياوية كالغازات. هذا الضرب من الالتهاب يسمى الالتهاب القصبي الرئوي، ويكون محدداً بالرغامى والقصبات والقصيبات في الناحية البطنية للفصوص

Scanned with CamScanner

الأمامية. يستدل على الإصابة من خروج نضح التهابي من الممرات الهوائية عند الضغط عليها.

أما التهاب الرئة الثانوي فيكون نتيجة خمج عن طريق الدم من خلال بعض الأمراض الخمجية الخاصة. وغالباً ماتتوزع الإصابة في التهاب الرئة المنتشر عن طريق الدم في شتى أنحاء الرئة.

أ- مراحل الالتهاب الرئوي.

✓ مرحلة الاحتقان Stage of congestion: مرحلة مبكرة يسود فيها التبيغ Heperemia وظهور سوائل التوذم في الأسناخ وتميز باحتقان الشعيرات الدموية وتوسعها وامتلائها بالدم مع بداية نضح مصلي.

✓ مرحلة التصلد الأحمر Stage of red consolidation: تدخل هذه المرحلة بعد يومين من الإصابة حين تكون المناطق المصابة قاسية حمراء تغطس قطعها في الماء. ويبرز اللون الأحمر لوجود الكريات الحمر في الأسناخ نتيجة زيادة الاحتقان والترف الانسلالي، أما الصلابة فنتيجة امتلاء الأسناخ بالنضح الخلوي والفبرين.

✓ مرحلة التصلد الرمادي Stage of gray consolidation: يبقى التصلد موجوداً في هذه المرحلة، ويبدأ الاحمرار بالزوال نتيجة قلة الاحتقان، وبلعمة أعداد كبيرة من الكريات الحمر في الأسناخ. في هذه المرحلة يبقى النضح الخلوي موجوداً.

✓ مرحلة الانصراف Stage of resolution: تدخل بعد أسبوع من بدء الإصابة عند حدوث الشفاء، وتتحطم الجراثيم وتتميع الخلايا والفبرين بالإنظيمات المحررة من العدلات. هذه المواد مجتمعة إما أن ترحل إلى الحنجرة وتخرج عن طريق السعال أو تصرف بعيداً عن طريق الأوردة والأوعية اللمفاوية.

Scanned with CamScanner

٢- التهاب الأسناخ الرئوية:

. هو الشكل الأولي الحاد من التهاب الرئة، ويترافق هذا النوع من الالتهاب بوجود نضح سائلي وخلوي في لمعة الأسناخ مع رد فعل التهابي بسيط في تفرعات القصبات. وأفضل مثال على ذلك التهاب الأسناخ الفبريني المشاهد في حالات البستوريلة Pasteurellosis وبخاصة المحللة للدم P. hemolytica.

. في الالتهاب الفبريني للأسناخ يلاحظ امتلاء الأسناخ بنضح فبريني وخلايا التهابية مع نزف ونخر جدرها. إضافة إلى ذلك تتمدد الأوعية اللمفاوية الحاجزية بين الفصوص والموجودة في النسيج الضام تحت الجنبة مع تشكل سدادات فبرينية Pluges، وخثرات دموية في الشرينات والأوردة. قد يمتد التهاب الأسناخ إلى الجنبة محدثاً التهاب الجنبة الفبريني Fibrinous pleuritis.

ثامناً – التهاب الرئة القصبي:

١- التهاب الرئة القصبي الحاد:

التهاب الرئة القصبي من أكثر أنواع التهابات الرئة شيوعاً في الحيوانات. يشير هذا التعبير إلى وجود عدوى جرثومية في القصيبات وبالأقل في الأسناخ. *عيانياً*، تتوزع الآفات بشكل رقعي في الأجزاء الأمامية والبطنية من الرئة في هيئة تصلب الفصوص وانخفاضها عن السطح السليم المجاور. عند أخذ مقطع في الرئة تنضح مواد مصلية أو قيحية من القصبات والقصيبات. وتشاهد مراحل مختلفة من الإصابة في نفس الحيوان ونفاخ تعويضي بالقرب من المناطق المصابة. تخريب الأنسجة يتأتى من خلال إفراز سموم الجراثيم أو إنظيمات العدلات وبعض آليات التفاعل الالتهابي والمناعي كتثبيت المتممة واضطراب الدورة الدموية الموضعي. أما نتائج هذا الالتهاب فقد تكون:

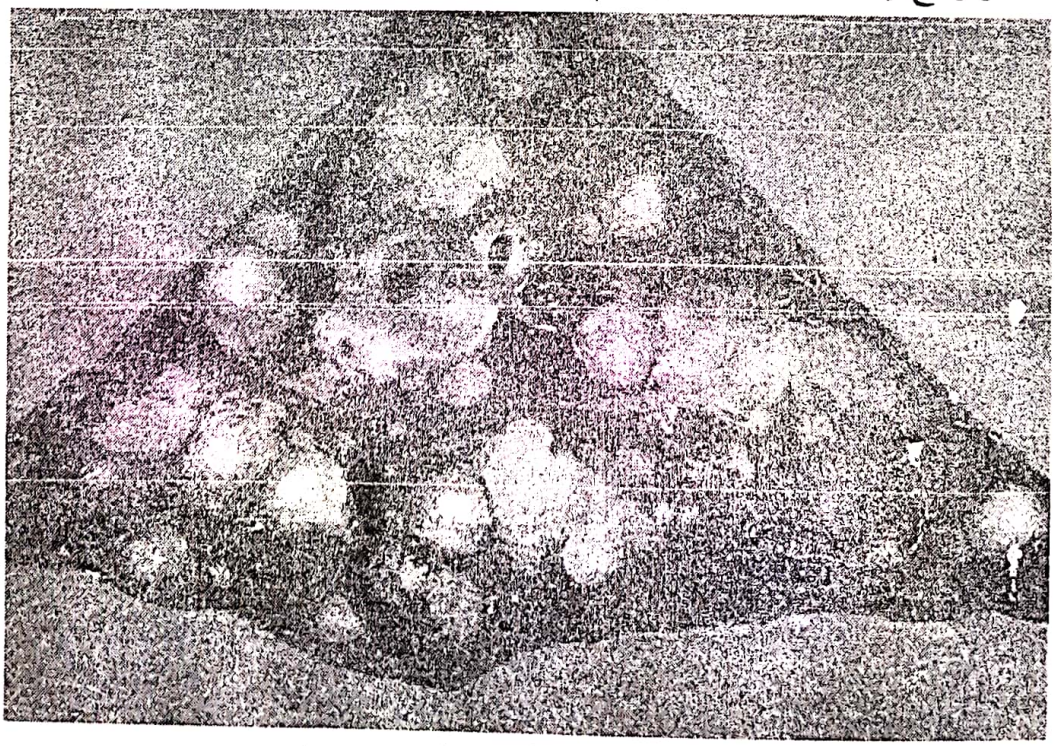
- النفوق: بسبب السمدمية Toximia أو قلة الأكسجة أو قصور القلب.
- الانخماص: ويحصل عندما تبقى القصيبات مسدودة بالنضح الالتهابي، وحتى بعد زوال النضح الالتهابي من الأسناخ.

Scanned with CamScanner

- شكل قيح أو خراج: لاسيما عندما يكون المسبب من النوع القيح Pyogenic.
- الموات: تحدث حالة الموات أو الغنغرينا عندما تدخل الجراثيم الرمية ثانوياً للخمج وخاصةً في التهاب الرئة الرشفي.
- الإنتانمية Septicemia: عند دخول العامل المسبب عن طريق الدم، وإحداثه التهاباً في أجزاء أخرى من الجسم كالتهاب المفاصل والتهاب السحايا ...إلخ.
- الانصراف غير الكامل: ينتج عنه تعضٍّ Organization للنضح في الأسناخ ،وقد يؤدي إلى تليف الرئة والجنبة أيضاً.

٢- الالتهاب القصبي الرئوي المزمن:

يحدث هذا النوع من الالتهاب كنتيجة لاستمرار التهاب الرئة الجرثومي الحاد في العديد من الأنواع الحيوانية. المناطق المصابة رمادية إلى بنية اللون مميزة عن النسيج السليم، وتكون الممرات الهوائية ممتلئة بالقيح (خاصة عند الأبقار) ،وقد تتوهط الأسناخ، وتتليف الحواجز بين الفصوص مع احتمال وجود خراجات وتوسع في القصبات، الشكل رقم ٨.



شكل رقم ٨ . التهاب القصبات القيحي وتوسعها.

Scanned with CamScanner

تاسعاً – أنماط خاصة من التهاب الرئة:

١- التهاب الرئة الرشفي:

يتسبب هذا الالتهاب باستنشاق المواد الغريبة المختلفة الموجودة في البلعوم أو الفم، وتبعاً لحجم هذه المواد فإن الصغيرة منها تصل إلى الأسناخ، والكبيرة ترسو في المستويات العلوية للشعب الهوائية. أمثلة هذه الحالة: رضاعة العجول من الدلو، واستنشاق الطعام أو مواد التقيؤ، ومواد قيحية من جراء التهاب الحنجرة النخري – الأدوية المعطاة خطأ في الرغامى بدلاً من المريء، وأخطرها الأدوية الزيتية. يترافق دخول هذه المواد إلى الرئة مع جراثيم مختلفة مسببة لالتهاب قصبي رئوي نخري. إذا حدث أن ترافقت المواد المستنشقة مع جراثيم رمية فإن الآفات المنتخرة تتميع، وتشكل التجاويف، وتتلون الرئة بلون أصفر مخضر إلى أخضر مسود. كما يصدر عن هذه الرئة رائحة عفنة، وتدعى الحالة بالتهاب الرئة الموائي P. Gangrenous.

٢- التهاب الرئة القيحي النقيل:

يسمى أيضاً التهاب الرئة الصمّي Embolic Pneumonia بسبب دخول صِمَات إنتانية قيحية إلى الدورة الدموية الرئوية آتية من آفات في أماكن أخرى في الجسم، مثل:

- التهاب شغاف القلب الأيمن.
- أو من جراء تمزق أحد الخراجات الكبدية في الوريد الأجوف السفلي.
- التهاب الضرع أو الرحم القيحي أو الخناق.

يلاحظ في هذا الشكل من الالتهاب أن الآفات متشابهة الأحجام، وموزعة بشكل رقعي Patchy في كل الفصوص في كلا الرئتين، ومنها تنتشر الجراثيم لتحدث خراجات رئوية. الفصوص الحاجزية أكثر تأثراً من غيرها، والعديد من البؤر تشاهد تحت الجنبة.

Scanned with CamScanner

٣- التهاب الرئة الركودي:

عند رقود الحيوان على أحد جانبيه لفترة طويلة فإن أجزاء الرئة السفلية تحتقن وتتوذم مهيئة الظروف والبيئة لتكاثر الجراثيم حيث تنخفض مقدرة الرئة على التخلص من المواد الغريبة. مثال على ذلك طول مدة التخدير في الحيوانات لاسيما الخيول.

٤- التهاب الرئة الاستكفافي:

هو أحد أنواع التهاب الرئة تحت الحاد إلى المزمن. أهم مسببات هذا النوع من الالتهاب الإصابة بأنواع المفطورة Mycoplasma. يأتي تعبير الاستكفاف من تراكم وتكاثر الجريبات اللمفاوية نتيجة رد الفعل المناعي حول القصيبات، فتضغط على جدرانها مؤدية إلى تضييق لمعتها.

٥- التهاب الرئة الورمي الحبيبي:

يشاهد في الحالات التي يكون فيها المسبب موجوداً في الآفة البؤرية لمدة طويلة تسود فيها البلاعم على بقية الخلايا الالتهابية. من أهم أسباب هذا الالتهاب:

- التهاب الرئة الدهني Lipid Pneumonia .
- التهاب الرئة السلي.
- التهاب الرئة المتسبب بالجسم الغريب.
- تغبر الرئة Pneumoconiosis.
- التهاب الرئة الفطاري Mycosis P. كالإصابة بالفطار البرعمي ،وداء الرشاشيات Aspergillosis ... إلخ .

Scanned with CamScanner

الجزء العملي

Practical part

Scanned with CamScanner

الفصل الأول: مدخل إلى علم فحص الأنسجة
Introduction to histological examination

أولاً – مقدمة: Introduction

إن الهدف الأساسي لعلم الأنسجةHistology هو دراسة التركيب الخلوي والنسجي للكائن الحي التي تغير في دراسة الوظائف التي تقوم بها هذه الخلايا والأنسجة في جسم الكائن الحي. ولتسمية هذا العلم أصول إغريقي ، فهو مكون من كلمتين: الأولى Histos وتعني نسيجاً، والثانية Logia وتعني علماً. هناك ارتباط وثيق بين علم الأنسجة Histology- الذي يعنى بدراسة الخلايا والأنسجة الطبيعية Normal cells and tissues دراسة مجهرية دقيقة من حيث التركيب، والعلاقات بين أجزاء ومكونات هذه الخلايا و الأنسجة – وبين علم الأمراض Pathology والمكون من كلمتي Patho وتعني مرضاً، و Logia وتعني علماً، والذي يُعنَى بدراسة خلايا الأنسجة غير الطبيعية أو المريضة Abnormal Cells and tissues، ومعرفة أسباب وأطوار وآلية تطور المرض. ولكي يتسنى لنا دراسة هذا العلم، لا بد من التعرف إلى بعض المصطلحات العلمية المهمة في هذا الحقل:

- الخلية Cell ،وهي وحدة البناء الأولى في الكائن الحي.
- النسيج Tissue ،وهو مجموعة من الخلايا المتشابهة التي تقوم بوظيفة معينة في جسم الكائن الحي، كالنسيج العظمي.
- العضوOrgan ،وهو مجموعة من الأنسجة المتشابهة أو المختلفة التي تقوم بوظيفة أو أكثر في جسم الكائن الحي، كالكبد.
- جهاز System، وهو مجموعة من الأعضاء تشكل جهازاً متكاملاً يقوم بأداء وظيفة أو عدة وظائف حيوية في الجسم، كالجهاز العصبي.
- الكائن الحيOrganism، وهو مجموعة من الأجهزة تشكل جميعاً جسم الكائن الحي الذي يقوم بجميع العمليات الحيوية كالتنفس والتغذية والتكاثر وإخراج

Scanned with CamScanner

الفضلات، كالإنسان. و لعلك تجد من خلال هذه التعريفات أن هنـــاك تسلســلاً تركيبياً للكائن الحي يبدأ بالخلايا Cells وينتهي بالكائن الحـــي Organism كالتالي:

خلايا (Cells) ⟸ نسيج (Tissue) ⟸ عضو(organ)
⟸ جهاز (System) ⟸ كائن حي (Organism).

ثانياً – أهمية علم الأنسجة: The importance of histology

تكمن أهمية علم الأنسجة في إمكانية التوصل إلى تشـــخيص مرضـــي دقيـــق للأمراض التي تصيب أجزاء الكائن الحي المختلفة من خلال الدراسة المجهرية لعينة مـــن هذه الأنـــــسجة تؤخذ من المريض أثناء العملية الجراحية، أو خزعة نسيجية يأخـــذها الطبيب المعالج من الجزء المصاب، حيث تحضر منها شرائـــح رقيقة جـــداً Sections يدرسها مجهرياً طبيب اختصاصي في عـــــلـــم الأمراض لتشخيصها. وهناك نوعـــان من العينات النسيجية:

١- **عينة من كائن حي** (Biopsy) وتؤخذ من الكائن الحي أثناء حياته، إمـــا علـــى شكل خزعة نسيجية من العضو المصاب، أو استئصال كامل للعضو المصاب.

٢- **عينة بعد الوفاة** (Autopsy) وتؤخذ من الكائن الحي بعد موته، و تفيد دراستها في معرفة مسببات الوفاة، و تشخيص المرض الذي أدى إليها.

Scanned with CamScanner

ثالثاً – تحضير الشرائح النسيجية:

Preparation of histological slides

تعتمد دراسة الشرائح النسيجية على المجهـــر الضوئيLight microscope اعتمادا كبيراً، ولذا كان من الضروري تحضير مقاطع رقيقة من النسيج لسهولة اختراق الضوء لها، وتمييز أجزاء ومكونات الخلايا تحت المجهر. وتمر العينات النسيجية بعدد من الخطوات منذ استلامها في مخبر الأنسجة حتى تسليمها لاختصاصي علم الأمراض على شكل مقاطع رقيقة مصبوغة ملصقة على شرائح زجاجية، و الذي يقوم بدوره بقراءتها تحت المجهر و تشخيصها:

- تبدأ مرحلة تحضير الشرائح النسيجية بتثبيت العينات، وذلك بغمرها بمثبت مناسب عند استئصالها من جسم المريض ووضعها في وعاء زجاجي مناسب، وإرســالها إلى المختبر بعد كتابة اسم المريض وعمره وجنسه ونوع النسيج واسم الطبيب والقسم على ملصق خاص يلصق على الوعاء. وعند وصول العينــة إلى مختــبر الأنســجة واستلامها من قبل الفني المسؤول مع النموذج الطبي المرفق بالعينة، والذي يحتــوي البيانات الضــروريـــة المذكـــورة على الملصــق، إضــافة إلى التشــخيص السريري للمريض تبدأ المراحل العملية لتحضـــــير الشرائح النسيجية.
- يقوم الطبيب الاختصاصي في مختبر الأنسجة بملاحظة وتسجــيل المشــاهـــدات العينية التي يلاحظها على العينة من حيث الحجم والوزن واللون والمحتوى وتثبيــت هذه الملاحظات على النموذج المرفق. ثم يقوم بتقطيع العينة إلى أجــزاء صــغيرة مناسبة لا تزيد أبعاد كل منها عن 10 ملم طولاً و 5 ملم عرضاً و 3 ملم ثخنــاً، وإذا كانت العينة صغيرة ضمن هذه الأبعاد فلا حاجة لتقطيعها.
- إذا كانت العينة من نسيج صلب كالعظام أو الأسنان أو الغدد المتكلسة فيجــب أن تمر بعملية نزع الكلس Decalcification باستخدام محاليل حامضية خاصة بهذا الغرض.

Scanned with CamScanner

- بعد ذلك تمر العينات النسيجية بعدة عمليات متسلسلة تبدأ بالغسل Washing للتخلص من بقايا محلول التثبيت ويتم بالماء أو الكحول، ثم التجفيف Dehydration لإزالة الماء من النسيج، ثم التنقية Clearing لجعل العينة شفافة، وتتم باستخدام محاليل خاصة غالباً ما تكون متطايرة شفافة كالزايلين، ثم الإشباع Impregnation بشمع البارافين المنصهر.
- تطمر العينات بقوالب مناسبة من شمع البارافين، ثم تتلم حواف القالب لتتطليعها إلى مقاطع رقيقة تحوي مقاطع من النسيج تمهيداً لإلصاقها على الشرائح الزجاجية وصباغتها بصبغات خاصة لدراستها مجهرياً بعد تغطيتها بوسط شفاف مناسب، ثم تغطيتها بغطاء زجاجي رقيق Cover slide ليقراءها اختصاصي علم الأمراض Pathologist .

Scanned with CamScanner

أولاً – مقدمة: Introduction

التثبيت هو عملية الحفاظ على شكل وحجم الخلايا والأنسجة والأنظمة النسيجية و جميع العناصر النووية Nuclear elements ، والهيولية Cytoplasmic element بحالة أقرب ما تكون إلى حالتها الطبيعية قبل التثبيت. لهذا يجب الإسراع قدر الإمكان في إجراء عملية التثبيت تفادياً من حدوث التغيرات التي تطرأ على النسيج بعد انفصاله عن جسم الكائن الحي وموت خلاياه، وهذه التغيرات تسمى تغيرات ما بعد الموت Postmortem changes، وهي:

١- إذا تركت العينات النسيجية في الهواء، فإنها تجف وتتقلص بسبب فقدانها للمحتوى المائي بعملية التبخر Dehydration.

٢- إذا وضعت العينات النسيجية في محلول ذي تركيز معين، فإنها سوف تخضع لظاهرة الانتفاخ الأسموزي Osmotic swelling، أو التقلص الأسموزي Osmotic shrinkage.

٣- **التفسخ التعفني أو الجرثومي Microbil putrefaction**: وهو تحطم وتفسخ الخلايا والأنسجة بسبب انتشار وتكاثر البكتريا والفطريات فيها، حيث تقوم البكتريا والفطريات بإفراز خمائرها لتحلل مكونات الخلايا وتؤدي إلى تعفنها وتحطمها.

٤- **التحلل الذاتي Autolysis**: وهو تحلل وتفسخ الخلايا بفعل الخمائر Enzymes التي تتحرر من الجسيمات الحالة Lysosomes الموجودة في سيتوبلازم الخلية بشكل طبيعي، حيث تبدأ هذه الجسيمات الحالة بعد موت الخلية بالتمزق وتحرير خمائرها داخل نفس الخلية مما يؤدي إلى تحلل مكونات الخلية الداخلية وتحويلها إلى وسط هلامي متجانس ليس له معالم محددة. وهذه الخمائر والتي تعرف بمجموعة الـ Cathepsin وجدت أصلاً لبناء

Scanned with CamScanner

جـــزيـــئـــات البروتين من الأحماض الأمينية، وهي تقوم بعد موت الخلايا بعمل عكسي حيث تقـــوم بتحطيم البروتين الذي يكوّن معظم أجزاء الخلية وتحوله إلى أحماض أمينية.

ثانياً: الهدف من التثبيت Purpose of fixation

تهدف عملية التثبيت إلى قتل الخلايا الحية وتحويلها إلى حالة الصلابة، و إيقـــاف تغيرات ما بعد الموت المذكورة سالفاً، لذلك يجب اختيار محلول يستطيع منع الجفـــاف أو الانتفاخ أو التقلص، وكذلك يقوم بقتل البكتريا والفطريات ومنع انتشارها ويوقف كذلك نشاط إنزيمات التحلـــل الـــذاتي، ويعـــرف مثـــل هـــذا المحلـــول بالحـــافظ Prerservative. أما المحلول المثبتFixative فهو إضافة إلى كونه محلولاً حافـــظاً يمتاز بخصائص أخرى تجعله قادراً على:

أ- تهيئة النسيج لمقاومة العديد من المعاملات الكيمياوية اللاحقة التي قد تتلف العينات النسيجية مثل عمليات التجفيف Dehydration، والإشباع والطمـــر بشـــمع البارافين الساخن.

ب- زيادة قابلية سطوح الأنسجة لتقبل الصبغات والتلون بها.

ج- زيادة معامل الانكسار Refractive index في أجزاء الخلية وهو مـــا يســـهل تمايـــزها وضوحها تحت المجهر Microscope.

د- تحويل مكونات الخلية من حالة شبه سائلة إلى صلبة دون تغـــيـــر في شـــكل و حجم هذه المكونات. ولإجراء عملية التثبيت بالشكل المناسب، يجـــب اختيـــار المثبت الذي يحقق أكبر قدر من هذه الخصائص. وعموماً عنـــد اختيـــار المثّبـــت فيجب أن تكون له القدرة على تحقيق الأهداف التالية:

- التغلغل السريع داخل النسيج وقتل الخلايا فوراً وتقليل أثر تغيرات مـــا بعـــد الموت إلى أكبر حد ممكن.
- أن يحافظ على العلاقات التركيبية بين أجزاء النســـيج ومكونـــات الخليـــة في صـــــورة أقرب ما تكون إلى صورتها وهي حية.

Scanned with CamScanner

- العمل على تصلب النسيج وتحويل سيتوبلازم الخلايا من حالة شبه السيولة إلى الصلابة عن طريق تخثر البروتينات المكونة للخلايا.
- زيادة تقبل سطوح الأنسجة للصبغات، وذلك بإيجاد فروقات بين معاملات انكسار أجزاء الخلية.

ثالثاً: إجراء التثبيت Fixation procedure

بعد اختيار المثبت المناسب اعتماداً على نوع النسيج المراد فحصه، تحضر العينات النسيجية للتثبيت حسب الخطوات التالية:

١- تقطع العينات النسيجية إلى قطع صغيرة لا يزيد ثخنها عن 0.5 سم للتحضير اليدوي، وعن 1 ــ 3 ملم للتحضير الآلي، وهو يتيح المجال للمثبت للتغلغل السريع داخل النسيج. ويُفضَّل أن تقطع العينات بواسطة مشرط حاد، ولا يفضل استخدام المقص لأنه قد يتلف جزءاً من العينة نتيجة الضغط عليها.

٢- تشطف العينات بشكل سريع باستخدام المحلول الفسيولوجي المتعادل (0.85 % Nacl) لإزالة أثر للدم، لأن وجود الدم على العينة قد يقلل من سرعة التثبيت، و يجب الانتباه إلى عدم جفاف العينة.

٣- تغمر العينة النسيجية في المثبت المناسب بعد وضعها في كبسولة مرقمة وفق رقمها التسلسلي، بحيث لا يقل حجم المحلول المثبت عن 10 ــ 15 ضعف حجم العينة، ثم يرج الوعاء لضمان وصول المحلول إلى جميع أجزاء سطح النسيج.

Scanned with CamScanner

رابعاً ــ طبيعة المثبتات: The nature of fixatives

تعتبر المثبتات الكيمياوية المكونة من محاليل كيمياوية، هي من أكثر المواد المثبتة المستخدمة في عملية التثبيت في علم الأنسجة، وقد استعملت لهذا الغرض مجموعة كبيرة من المحاليل الكيمياوية المثبتة، غالبيتها العظمى مكونة من أكثر من مركب كيميائي واحد، وذلك لتعذر قدرة مركب كيميائي واحد على تحقيق جميع أهداف المثبت الجيد. لذا نجد أن معظم المثبتات الكيمياوية مكونة من أكثر من مادة كيمياوية واحدة، وذلك للاستفادة من مواصفات أكثر من مادة لتحقيق أكبر قدر ممكن من أهداف التثبيت باستثناء بعض المثبتات التي تحقق معظم الأهداف كالفورمالين.

- **المثبتات العامة Routine fixatives:**

يمكن ترك الأنسجة مدة طويلة في هذه المركبات دون أن تترك عليها آثاراً سلبية، لكنها تحتاج إلى ٢٤ ساعة كحدٍّ أدنى للتثبيت.

- **فورمالين متعادل ١٠% ويتكون المركب من:**

✓ فورمالين (١٠%) ١٠٠٠ مل .

✓ فوسفات الصوديوم الثنائي القاعدة ٤ غم (Na H2PO4 H2O).

✓ فوسفات الصوديوم الأحادي القاعدة اللامائي ٦.٥ غم (Na2 HPO4).

ومن أهم ميزاته:

١) تثبيت الشبكة الكروماتينية.

٢) تثبيت معظم أنواع الأنسجة تثبيتاً منتظماً ومتساوياً.

٣) يمنع تكون رواسب في الأنسجة.

٤) لا يسبب انكماش الخلايا بدرجة كبيرة.

ومن أهم سيئاته:

١) يحتاج لوقت طويل نسبياً لتحضيره. ٢) بطيء النفوذية.

٣) له أثر سيء على الجلد والأغشية المخاطية عند التعرض لبخاره.

٤) يؤدي إلى ظهور أصباغ في الأنسجة الغنية بالدم.

Scanned with CamScanner

- **محلول بـــويـــن Bouin's solution:**

يفضل استخدام محلول بوين لتحضـــيرات الأنســـجة الحيوانيـــة بشـــكل عـــام، وللتحضيرات الجنينية بشكل خاص، ويتكون من:

✓ حامض البكريك	٧٥ مل
✓ فورمالين (١٠%)	٢٥ مل
✓ حامض الخليك الثلجي	٥ مل

يحتاج هذا المثبت إلى ٦ – ٢٤ ساعة للتثبيت، ويفضل غسل الأنســـجة بكحـــول ٥٠ % لإزالة اللون الأصفـــر الذي يتركه حامض البكـــريك على الأنسجة.

من أهم ميزات هذا المحلول:

١) لا يسبب تلفاً كبيراً للأنسجة.

٢) مفيد في التحضيرات الجنينية وتثبيت الأجنة.

ومن أهم سيئاته:

١) يتلف أنسجة الكلية.

٢) يؤدي إلى ظهور أشكال مصطنعة كثيرة في الأنسجة بسبب الانكمـــاش الـــذي يحدثه حامض البكريك، ولذا تظهر فجوات كبيرة / Artifacts /.

- **محلول زنكر Zenker's solution:**

تعد محلول زنكر من أكثر المحاليل اســـتعمالاً في الدراســـات النســـيجية بصـــورة عـــامـــة والمرضية بصورة خاصة. و يحتاج إلى ٢٤ ساعة للتثبيت تغسل بعدها العينات بالماء الجاري مدة ١٢ ساعة .

✓ ماء مقطر	١٠٠ مل
✓ كلوريد الزئبق	٥ غ
✓ كبريتات الصوديوم	١ غ
✓ ثنائي كرومات البوتاسيوم	٢.٥ غ
✓ حامض الخليك الثلجي .	٥ مل

Scanned with CamScanner

من أهم ميزات هذا المحلول:

١) تسهيل عملية الصباغة وتقبل الصبغة من قبل النسيج.

٢) تثبيت النوية بشكل جيد بفعل كلوريد الزئبق.

من أهم سيئاته:

١) عدم ثباته بسبب وجود حامض الخليك الثلجي. لهذا يضاف حامض الخليك الثلجي إلى بقية المكونات قبل الاستخدام مباشرة.

٢) سوذية مكونات المحلول متفاوتة، لذا يفضل أن تكون العينات صغيرة الحجم و لا يتعدى ثخنها ٣-٤ مم للحصول على تثبيت جيد لجميع أجزاء العينة.

- **محلول فليمنغ Flmming's solution:**

يستخدم هذا المحلول كمثبت خلوي تقليدي يفيد في تثبيت المركبات النووية حيث يحفظ الكروموسومات بشكل جيد، ويستخدم لدراسة مراحل الانقسام الخلوي (Mitosis). ويتكون من:

✓ رابع أكسيد الأوزميوم تركيز ٢%	٢٠ مل
✓ حامض الكروميك بتركيز ١%	٧٥ مل
✓ حامض الخليك الثلجي	٥ مل

يتميز هذا المحلول بعدم ثباته وارتفاع تكلفته، ولذا يفضل تحضيره قبل الاستخدام مباشرة وبكميات قليلة حسب الحاجة. تستغرق مدة التثبيت من ١٢-٤٨ ساعة ، ويفضل أن لا يزيد ثخن العينة عن ٢ ملم لبطء اختراق المحلول للأنسجة. تغسل العينات بالماء الجاري مدة ٢٤ ساعة بعد التثبيت. من **سيئات** استخدام محلول فليمنج عدم صباغة الأنوية بالهيماتوكسيلين بعد التثبيت ، و يمكن استخدام صبغة السفرانين كصبغة بديلة.

Scanned with CamScanner

- **محلول ألتمان Altmans solution:**

يفيد هذا المحلول في تثبيت الدهون والمتقدرات بشكل خاص، وتستغرق مدة التثبيت نحو ١٢ ساعة. ويتركب هذا المحلول من:

✓ ثنائي كومات البوتاسيوم المائي بتركيز ٥ % ١٠ مل

✓ رابع أكسيد الأوزميوم المائي بتركيز ٢% ١٠ مل

يغسل النسيج المثبت بهذا المحلول بالماء الجاري ١٢ ساعة.

خامساً – أسس اختيار المثبت المناسب:

Choosing the suitable fixative

يعتمد اختيار المثبت على عدة أسس، هي:

١– طبيعة الدراسة النسيجية المطلوبة، سواء أكانت عامة للنسيج ككل أو متخصصة في جزء معين من الخلية، فللدراسة العامة نختار مثبتاً روتينياً عاماً، وللدراسة المتخصصة بجزء معين نختار مثبتاً خاصاً يثبت الجزء المطلوب.

٢– صلابة النسيج، حيث يعتمد تغلغل المثبت داخل النسيج على صلابته، وكذلك ترتبط لقدرة على التشت بصلابة النسيج وفق علاقة عكسية، فكلما كان النسيج أصلب كانت القدرة على التثبيت أقل، لهذا يجب اختيار المثبت ذي النفوذية المرتفعة العالية للنسيج الأكثر صلابة، والعكس صحيح .

٣– زمن التثبيت، حيث يعتمد الوقت اللازم لغمر النسيج في المثبت على عوامل رئيسة، هي:

أ- فعالية المثبت .

ب- معدل النفوذية داخل النسيج.

ج- ثخن النسيج.

لذلك يجب اختيار المثبت المناسب للنسيج مع الأخذ بالاعتبار العوامل المذكورة سالفاً، حيث إن هناك مثبتات تقوم بالتثبيت فور ملامستها لأجزاء النسيج،

Scanned with CamScanner

وخاصة التي تحتوي محاليل مخثرة للبروتين كمحلول بوين لاحتوائه على حامض البكريك. وهناك مثبتات تقوم بالتثبيت بشكل تدريجي اعتماداً على مدة الغمر.

٤- درجة القساوة التي يحدثها مثبت النسيج:

حيث تعتمد درجة القساوة التي يحدثها مثبت النسيج على نوع المثبت المستخدم، لذا يجب اختيار المثبت المناسب على أساس إحداث درجة قساوة معتدلة، حيث إن القساوة الزائدة تصعب عملية القطع Sectioning فيما بعد، كذلك إذا بقي النسيج بعد التثبيت ليناً بدرجة كبيرة، فإن ذلك سيشكل صعوبة في التحكم في النسيج وتقطيعه بشكل جيد.

سادساً - الغسل: Washing

بعد انتهاء عملية تثبيت الأنسجة الطرية، وانتهاء عملية نزع كلس الأنسجة الصلبة، تمر العينات النسيجية بمرحلة الغسل، ويستهدف تحقيق فائدتين هما:

١- الحد من الإفراط في تثبيت العينة Overfixation تجنباً للآثار السلبية التي قد تطرأ على النسيج إذا طالت مدة التثبيت.

٢- منع تداخل بقايا المثبت غير المتحدة بالمواد الأخرى المستخدمة في الخطوات اللاحقة لاسيما عملية الصبغ Staining. ويمكن استخدام عدة سوائل للغسل اعمادياً على مكونات المثبت في مرحلة التثبيت:

١) الماء الجاري Tapewater: فعند استخدام المثبتات المائية Aqueous fixatives، وهي المثبتات التي يدخل الماء في تحضيرها، يجب غسل الأنسجة بماء الصنبور الجاري، وذلك بوضع العينات النسيجية المثبتة في وعاء زجاجي مناسب تحت الصنبور، و فتح تيار مائي رفيع في زاوية الوعاء ليتسنى للماء أن يبقى جارياً على النسيج المدة المطلوبة، حيث تتناسب مدة الغسل طردياً مع قوة المثبت، ونوعه وفترة التثبيت، وحجم النسيج.

Scanned with CamScanner

٢) الكحول الإيتيلي Ethyalacohol: حيث يستخدم الكحول لغسل العينات المثبتة بمثبتات غير مائية Non -- Aqueous fixatives ، وهي التي يدخل الكحول في تحضيرها بدل الماء إذ تغسل الأنسجة بتراكيز كحولية مساوية لتراكيزها في المثبت. و يفضل أن تعامل الأنسجة بمحلول اليود المشبع في كحول 70% بعد غسلها بالكحول في حالة استخدام مثبتات كيمياوية تحتوي مادة كلوريد الزئبق للتخلص من بقايا هذه المادة في النسيج .

Scanned with CamScanner

الفصل الثالث: نزع الكالسيوم من الأنسجة

Decalcification of tissues

أولاً – نزع الكلس Decalcification:

إن من بين العينات النسيجية التي يطلب تحضير شرائح منها لتشخيص أمراضها، عينات من أنسجة العظام و الأسنان، والغضاريف، وبعض الأنسجة والغدد المتكلسة أو المتدرنة. جميع هذه الأنسجة ذوات تركيب صلب بسبب وجود أملاح الكالسيوم بشكل رئيس، و بعض العناصر الأخرى بين خلاياها وأجزائها، ما يجعل إمكانية تقطيعها إلى مقاطع رقيقة لتحضير الشرائح صعباً جداً. وللتخلص من هذه العقبة في تشخيص حالات أمراض العظام والأنسجة الصلبة بشكل عام، وجد أنه من الضروري التخلص من هذه الأملاح وإزالتها من النسيج الصلب، وتحويله إلى نسيج طري يَسْهُل التعامل معه كأي نسيج اخر، وهذه العملية هي ما يسمى عملية نزع الكلس (Decalcification).

ثانياً – محاليل نزع الكلس (Decalcifies):

وقد وجد أن هذه العملية يمكن أن تتم باستخدام محاليل تتفاعل مع أملاح الكالسيوم و ترسبها من بين خلايا وأجزاء النسيج، و هذه المحاليل تسمى محاليل نزع الكلس Decalcifiers. و قد استخدمت لهذا الغرض عدة محاليل تشترك جميعها بأنها تتكون من:

- **الحموض القوية Strong acids:**

من أهمها حمضا النيتريك Nitric acid والهيدروكلوريك Hydrochloric acid. تستعمل هذه الحموض على شكل محاليل مخففة بنسبة ٥ – ١٠%، وتمتاز بقوتها وسرعتها في نزع الكلس، ولكن إذا طالت مدة غمر النسيج بها فإن لها آثاراً سلبية على النسيج بإحداث بعض التغيرات في النسيج كاللون الأصفر الذي يكسبه حمض النتريك للنسيج خاصةً إذا كان الحامض قديم التحضير، ولتلافي هذا الأثر

Scanned with CamScanner

يستخدم حامض النتريك الطازج أو تضاف إليه ١% يوريا عند تحضيره كمادة حافظة. وتستخدم الحموض القوية في الحالات الطارئة، وفي الحالات التي تكون فيها صلابة النسيج قليلة نسبياً. وتستخدم الحموض القوية كمحاليل نازعة للكلس وفق الأشكال التالية:

١- محلول حمض النيتريك Aqueous nitric acid:

- ✓ حمض النيتريك المركز (٧٠%) ٥-١٠ مل
- ✓ ماء مقطر نكمل الحجم إلى ١٠٠ مل

٢- محلول بيرنييز Perenyls' fluid:

- ✓ حمض النيتريك بتركيز ١٠% ٤٠ مل
- ✓ كحول إيثيلي مطلق (١٠٠%) ٣٠ مل
- ✓ حمض الفورميك تركيز ٠.٥% ٣٠ مل

وتخلط المكونات قبل الاستعمال مباشرة.

٣- محلول حمض النيتريك – فورمالين
Aqueous nitric acid Formalin

و يتكون من:

- ✓ فورمالين ٣٧ -٤٠ % ١٠ مل
- ✓ ماء مقطر ٨٠ مل
- ✓ حامض النيتريك المركز (٩٠%) ١٠ مل

- **الحموض الضعيفة Weak acids:**

١- حمض الفورميك Formic acid

٢- حمض الخليك Acetic acid

٣- حمض البكريك Picric acid

Scanned with CamScanner

يستخدم حمض الفورميك فقط من بين هذه المحاليل كنازع للكلس بشكل مباشر، أما حمض الخليك وحمض البكريك فهما يدخلان في تركيب بعض المحاليل المثبتة كمحلول كارنوي Carnoy fluid ، ومحلول هايدنهين Heidenhains fluid، ويعملان خلالهما كمحولين نازعين للكلس إضافة إلى عملهما كمحولي تثبيت. و يمكن استخدام حمض الفورميك على شكل محلول بنسبة 5 ــ 10 % منفرداً أو مضافاً إليه بعض المحاليل الأخرى كالفورمالين أو محلول منظم Buffer لتخفيف الأضرار الناجمة من أثر الحمض في النسيج. وينصح باستعمال حمض الفورميك في الحالات غير الطارئة أو الروتينية، لأنه يحتاج إلى وقت طويل في نزع الكلس من العينات النسيجية. و يتم تحضير حمض الفورميك بالأشكال التالية:

١- محلول حمض الفورميك Aqueous formic acid:

ويتكون من:

- حمض الفورميك تركيز ٩٠% ٥-١٠ مل
- ماء مقطر يكمل الحجم إلى ١٠٠ مل

٢- محلول حمض الفورميك – فورمالي Formic acid-Formalin:

ويتكون من:

- حمض الفورميك بتركيز ٩٠% ٥-١٠ مل
- فورمالين ٥ مل
- ماء مقطر يكمل الحجم إلى ١٠٠ مل

٣- محلول حمض الفورميك الملطف Buffered formic acid:

ويتكون من :

- ٢٠% محلول سترات الصوديوم ٦٥ مل
- حمض الفورميك تركيز ٩٠% ٣٥ مل
- و تكون درجة الحموضة لهذا المحلول نحو ٢-٣ .

Scanned with CamScanner

ثالثاً ــ أسس اختيار محلول نزع الكلس:

The basic criteria to choose the decalcifies

يعتمد اختيار محلول نزع الكلس المناسب على عدة عوامل أهمها:

١- درجة استعجال الحالة

٢- درجة صلابة النسيج

٣- طريقة الصبغ المستخدمة بعد تحضير الشرائح لتأثر الصبغة بمحلول نــزع الكلــس المستخدم.

رابعاً ــ إجراءات نزع الكلس: Decalcification procedures

توجد عدة إجراءات لنزع الكالسيوم من الأنسجة العظمية حيث:

١- يفضل أن تكون العينة بحجم صغير يسمح لمحلول نزع الكلس بالنفاذ لجميع أجزاء النسيج (يجب أن لا يــزيد ثخن العينة عن ٥ ملم).

٢- تعلق العينة في الثلث العلوي من المحلول.

٣- تغمر العينة في المحلول بهذه الطريقة مدة من الزمن تختلف اعتماداً على عدة عوامل

أ- تركيز المحلول.

ب-درجة الحرارة.

ج- حجم المحلول.

د- حركة العينة داخل المحلول

وتتناسب مدة غمر العينة تناسباً عكسياً مع جميع هذه العوامل، ويفضل أن يكون حجم المحلول كبيراً نسبة إلى العينة نحو (٢٠ ضعفاً)، ويجب تغيره يوميا.

٤- تفحص العينة يومياً لمعرفة درجة نزع الكلس.

٥- عند الانتهاء من نزع الكلس يُعادل الوسط الحمضي للنســيج بإضــافة قاعــدة ككبريتات الصوديوم ٥٥ %.

Scanned with CamScanner

٦- يغسل النسيج بالماء الجاري طوال الليل أو بكحول بنسبة ٩٠% ثم ٧٠% مدة ١٢-١٨ ساعة، وذللك حسب محلول نزع الكلس المستخدم.

٧- متابعة المعالجة النسيجية كأي نسيج طري.

سادساً طرائق معرفة الانتهاء من نزع الكلس:

Evaluation of end point of decalcification

تستخدم عدة طرائق لمعرفة درجة نزع الكلس من الأنسجة الصلبة للتحقق من انتهاء نزع الكلس تماماً من العينة قبل إتمام المعالجة النسيجية. وهذه الطرائق هي:

١- الطريقة الكيميائية Chemical method:

نستخدم في هذه الطريقة محلول الأمونيا المركزة: ومحلول أكسلات الأمونيوم المائية المشبعة، و تتم الطريقة الكيمياوية حسب الخطوات التالية:

أ- نأخذ ٥ مل من محلول نزع الكلس المستخدم في أنبوب اختبار ونغمر به ورقة عباد الشمس التي تأخذ اللون الأحمر لأن الوسط حمضي.

ب- نضيف محلول الأمونيا المركزة إلى الأنبوب نقطة نقطة حتى يتحول الوسط إلى وسط متعادل، ويكشف عنه بتحول لون ورقة عباد الشمس إلى اللون البنفسجي.

ج- نلاحظ تكون راسب هو هيدروكسيد الكالسيوم دلالة على عدم انتهاء عملية نزع الكلس، وإذا لم يتكون الراسب تكون العملية منتهية.

د- للتحقق من انتهاء نزع الكلس نضيف كمية من محلول أكسلات الأمونيوم المائية المشبعة إلى الأنبوب و نتركه مدة نصف ساعة، ثم نلاحظ تكون الراسب، فإذا لم يتكون الراسب تكون عملية نزع الكلس منتهية تماماً، وأما إذا تكون الراسب فتكون العينة بحاجة إلى مدة إضافية في محلول نزع الكلس لإتمام العملية. وهذه الطريقة جيدة و غير مكلفة.

Scanned with CamScanner

٢- طريقة التصوير الشعاعي Radography:

وتتلخص بتصوير العينات بواسطة الأشعة السينية (X-ray)، فإذا ظهرت في صور العينات مناطق قاتمة، دل ذلك على وجود بقايا أمـــلاح الكالســـيوم في النسيج، أي أن عملية نزع الكلس لم تنتهه بعد. وهذه طريقة سهلة لكنها مكلفة.

٣- طريقة الكشف بالجس أو الوخز بواسطة الإبر Needling test:

وتتم بوخز العينة من جميع الجهات بواسطة إبرة رفيعة للتحقق من تحولهـــا إلى عينة طرية تنغرز فيها بسهولة دلالة على انتهاء نزع الكلس، و لكـــن لهـــذه الطريقة عدة مساوئ أهمها إتلاف النسيج وأنها ليست أكيدة .

Scanned with CamScanner

تُعرَّف المعالجة النسيجية أنها مجموعة عمليات متسلسلة تجري على الأنسجة بعد تثبيتها وغسلها، وتستهدف هذه العمليات إمكانية وضع العينة في قالب من مادة داعمة تدعى مادة الطمر والإدماج، وغالباً ما تكون مادةً شمعية هي البارافين Paraffin من أجل سهولة التحكم فيها وتقطيعها إلى شرائح نسيجية رقيقة. ولما كانت مادة الطمر غير ذائبة في الماء المستخدم في مرحلة الغسل، كان لا بد من مرور العينة النسيجية بعدة مراحل باستخدام عدة مواد بتراكيز مختلفة لتهيئة النسيج لتقبل دخول مادة الطمر في النسيج والخلايا فتكسبها الدعامة اللازمة.

يجدر بالذكر هنا أنه في كل مرحلة من مراحل المعالجة النسيجية تُستَخدم 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. وتشمل عمليات المعالجة النسيجية على الترتيب:

أولاً – التجفيف Dehydration:

تستهدف عملية التجفيف التخلص من مادة الغسل والتي غالباً ما تكون الماء الجاري، وذلك باستخدام محاليل تجفيف لها القدرة على إخراج الماء من النسيج وتهيئته لاستقبال المادة المستخدمة التي تلي التجفيف.

- **محاليل التجفيف الشائعة Common dehydrating fluids:**

١ – الكحول الإيثيلي Ethanol (C_2H_5OH):

الكحول الايثيلي سائل نقي عديم اللون قابل للاشتعال، وله رائحة مقبولة، وهو من المواد المحبة للماء Hydrophilic ويذوب في الماء و المذيبات العضوية بشكل جيد، ولذلك يستخدم كمحلول تجفيف شائع الاستخدام في علم الأنسجة إلا أنه مكلف نوعاً ما.

Scanned with CamScanner

٢- الكحول الميثيلي Methanol(CH_3OH):

الكحول الميثيلي سائل نقي عديم اللون قابل للاشتعال، لكنه سام وذو رائحة مزعجة وغير محببة، وهو يذوب في الماء والكحول الأيثيلي و معظم المذيبات العضوية، ولذا نادرا ما يستخدم هذا المحلول للتجفيف في الأنسجة ، ولكن يمكن استخدامه بطريقة الكحول الإيثيلي نفسها.

٣- الأسيتون Acetone(CH_3COOH_3):

الأسيتون سائل نقي عديم اللون قابل للاشتعال أيضاً، وله رائحة قوية مميزة، يذوب في الماء والكحول الإيثيلي ومعظم المذيبات العضوية. وما يميزه أنه متطاير أكثر من أي من المحاليل السابقة، وقوي المفعول كمجفف لكنه يكسب النسيج صلابةً زائدة و جفافاً شديداً، وهذا ما يجعله غير مستخدم كمجفف روتيني في عمليات المعالجة الآلية لسرعة تطايره، وتقسيته الزائدة للنسيج. غير أنه يعد محلول التجفيف الأفضل عندما يراد إجراء العمليات النسيجية بسرعة للحصول على تشخيص سريع.

- **كيفية إجراء عملية التجفيف:**

سنشرح عملية التجفيف باستخدام الكحول الإيثيلي Ethanol حيث يُعد الكحول الإيثيلي الأكثر شيوعا بين محاليل التجفيف.

١- تحضر عدة تراكيز متسلسلة من الكحول الإيثيلي بدءً بتركيز 70% ، ثم 80% ، ثم 96% ، ثم كحول مطلق Absolute (100%)، ويفضل أن تبدأ التراكيز بـ 30% للعينات الطرية و الهشة كالعينات الجنينية.

٢- تغمر العينات النسيجية في كل تركيز مدة مناسبة من الزمن غالباً ما تكون ساعة واحدة، بالترتيب ابتداء من التركيز الأقل، وانتهاءً بالتركيز المطلق، وتكرر الخطوة الأخيرة مرتين، أي يُغمَر النسيج في وعائين من الكحول المطلق في كل وعاء مدة ساعة. يهدف التسلسل في التركيز من الأقل إلى الأعلى التخلص من المحتوى المائي للنسيج بطريقة تدريجية مع المحافظة على عدم حدوث انكماش

Scanned with CamScanner

للأنسجة والخلايا نتيجة الاختلاف في الضغط الأسموزي بين خارج وداخل الخلية أثناء الغمر حيث إنه إذا غمر النسيج في الكحول المطلق مباشرة فإن الماء سيخرج من الخلايا بشكل مفاجئ نتيجة الاختلاف الكبير في الضغط الأسموزي بين داخل وخارج الخلية.

ثانياً – الاشفاف أو التنقية Clearing:

سميت هذه العملية بالتنقية نسبةً إلى مظهر النسيج بعد إجراء هذه العملية حيث يصبح أكثر شفافية ونقاءً، وتستهدف عملية التنقية تهيئة النسيج لتقبل ودخول مادة الطمر والإدماج في الخطوة اللاحقة، والتي غالباً ما تكون شمع البارافين. وحيث إن مادة التجفيف لا تذوب في الشمع ولا تذيبه، جاءت مرحلة التنقية لتخليص النسيج من مادة التجفيف و تهيئته لدخول مادة الطمر، ولذا كان من الضروري أن تكون مادة التنقية قادرة على إذابة كل من المادة السابقة (مادة التجفيف) والمادة اللاحقة (مادة الطمر).

هناك عدة محاليل تستخدم للتنقية تشترك جميعها في قدرتها على إذابة كل من الكحول والشمع. ولاختيار محلول التنقية المناسب نعتمد على عدة أسس منها:

- ✓ سرعة إزالة الكحول من النسيج.
- ✓ سهولة استبداله بمادة الإشباع والطمر(الشمع).
- ✓ تقبل الأنسجة لمادة التنقية وأن لا يكون لها أثر سلبي في النسيج.
- ✓ قابليته للاشتعال ويفضل عدم استخدام المواد القابلة للاشتعال كأساس للوقاية والسلامة العامة في المختبرات.
- ✓ درجة السمية ، حيث يفضل استخدام المحاليل الأقل سميةً بشكل عام.
- ✓ تكلفة وتوافر المحلول، حيث يفضل اختيار المحلول المعتدل الكلفة والمتوافر باستمرار في السوق.

Scanned with CamScanner

- **أهم المحاليل المستخدمة للتنقية:**

١- الزايلين Xylene:

يعدُ الزايلين من محاليل التنقية الشائعة الاستخدام في الأغراض الروتينية، وهو قابل للاشتعال بشدة، لهذا يعد على درجة عالية من الخطورة، ولكنه يعطي شفافية جيدة للأنسجة، وهو سريع التطاير رخيص الثمن.

٢- التولوين Toluene:

يمتلك التولوين خصائص الزايلين نفسها تقريباً، إلا أنه أقل تأثيراً في تحطيم النسيج إذا طالت مدة غمر النسيج فيه، ويفيد كمحلول تنقية في طرائق المعالجة الآلية، ولكنه باهظ الثمن، وقابل للاشتعال، ويصعب إزالته من النسيج أثناء مرحلة الإشباع.

٣- الكلوروفورم Chloroform:

يتميز الكلوروفورم كمحلول تنقية ببطء فعاليته بالنسبة للمحلولين السابقين، وكذلك يؤدي بقاء أية أثار للكلوروفورم في النسيج إلى صعوبة في التقطيع، وبالرغم من أن بخاره غير قابل للاشتعال، إلا أنه يحرر غازاً ساماً يسمى فوسجين Phosgene عند تعرض بخاره للحرارة.

٤- البترين Benzene:

يمتاز البترين بخصائص شبيهة بالزايلين من حيث سرعة التطاير، وقابليته للاشتعال، وتخلله السريع في الأنسجة، إلا أنه لا يُنصَح باستخدامه بسبب بخاره السام والمسرطن.

٥- زيت خشب الأرز Cedarwood oil:

يعد زيت خشب الأرز من محاليل التنقية بطيئة الفعالية، ولكنه يمتاز بتسببه بأقل قدر من التقسية والانكماش في اللنسيج، لذا فهو يستخدم للأغراض العملية والدراسات الجنينية بشكل خاص أكثر من استخدامه روتينياً.

Scanned with CamScanner

ثالثاً – التشريب أو الإشباع Infiltration:

تُعرَّف عملية التشريب أو الإشباع أنها عملية إدخال مادة داعمة بين خلايا النسيج لإكسابه التقوية اللازمة للعملية اللاحقة وهي الإدماج، وتستعمل في عملية الإشباع عدة مواد من أهمها مادة شمع البارافين Paraffin wax.

❖ خصائص شمع البارافين Paraffin wax:

شمع البارافين مزيج من الهيدروكربونات الناتجة من تفكك الزيوت المعدنية، وهو من أكثر مواد الإشباع و الإدماج لسهولة استخدامه ورخص ثمنه وتوافره باستمرار. ويوجد نوعان من شمع البارافين:

- شمع البارافين الطري Soft paraffin:

تراوح درجة انصهاره من 50 ــ 55 مئوية، ويمكن استخدامه للحصول على مقاطع نسيجية ثخينة متصلة على شكل شريط نسيجي Ribbon. ويستخدم الشمع الطري في الأنسجة الطرية Soft paraffin، والأماكن ذات الحرارة المنخفضة حيث لا يمكن استعماله في المناطق الحارة جداً.

- شمع البارافين الصلب Hard paraffin:

تراوح درجة انصهاره من 56 ــ 68 مئوية، ويفضل استعماله عند الحاجة إلى مقاطع رقيقة Thin sections، وكذلك يستخدم في الأنسجة الصلبة Hard tissues، لضرورة التجانس بين النسيج و الشمع، وهو النوع المفضل في المناطق الحارة لمقاومته ارتفاع درجة الحرارة.

❖ إجراء عملية الإشباع: تتم عملية الإشباع وفق الخطوات التالية:

- يُصهَر الشمع في وعاء مذيب الشمع وذلك برفع درجة حرارته أعلى من درجة انصهار الشمع بدرجتين تقريباً.
- يغمر النسيج في الشمع المذاب مدة ساعة إلى ساعتين.
- ينقل النسيج إلى وعاء شمع آخر ضمن المدة السابقة نفسها لضمان تخلل الشمع المذاب بين أجزاء النسيج والخلايا. وتتناسب مدة الغمر في وعاء الشمع المذاب طرديا مع صلابة النسيج وحجم العينة.

Scanned with CamScanner

رابعاً – الطمر أو الإدماج Embedding:

عملية الإدماج آخر العمليات التي تُجرَى على النسيج قبل تقطيعه إلى شـــرائح نسيجية رقيقة. و تُعرف هذه العملية أنها تهيئة النسيج لعملية التقطيع، وذلك بوضـــعه داخل قالب من الشمع Block بهيئة مناسبة لتقطيعه إلى مقاطع نسيجية رقيقة. تستعمل في الإدماج عدة مواد، من أهمها:

- **شمع البارافين Paraffin wax**: يستعمل للأغراض الروتينية.
- **السلودين Cellodin**:

يستعمل لإدماج العينات النسيجية الصلبة كالعظام والأسنان، وكـــذلك لشـــرائح الأعضاء الكاملة.

- **البارابلاست Parablast** :

يستعمل للأغراض الروتينية التي تحتاج إلى شرائح رقيقة.

- **الجيلاتين Gelatine**:

يستخدم لإدماج العينات المقطعة بجهاز التقطيع الجليدي.

ولكل مادة من هذه المواد استخدامات خاصة، وتُختَار مادة الإدماج المناسبة اعتمـــاداً على نوع النسيج، وسمك المقطع المطلوب. وسنشرح عملية الإدماج بشمع البـــارافين بالتفصيل. وتتم إجراءات الطمر بشمع البارافين وفق التالي:

أ- يُطلَى القالب المعدني أو البلاستيكي أو الورقي الذي يسكب فيه الشمع بكميـــة قليلة من مادة زيتية كالجليسرول لسهولة إخراج القالب الشمعي Block.

ب- يُسكَب جزء من الشمع المنصهر في القالب وتثبت فيه العينة النسيجية بواسطة ملقط يسخن قبل الاستعمال بحيث يكون سطحَ القطع المطلوب موازياً لقاعدة القالب.

ج- يُملأ القالب بالشمع المنصهر بشكل يضمن عدم تكون طبقتين من الشمع أو تكون فقاعات هوائية داخل الشمع، ويتم ذلك بسكب الشمع مرةً واحدة دون تردد.

ح- يُبرد القالب قي الماء البارد بسرعة أو ينقل إلى الصفيحة الباردة في جهاز الطمـــر الحديث إذا كان متوافراً.

Scanned with CamScanner

أولاً ــ جهاز القطع Microtome:

حتى تتم الدراسة النسيجية تحت المجهر، يجب أن تكون المقاطع رقيقة بحيث يخترقها الضوء، ويحصل على المقاطع الرقيقة بواسطة جهاز القطع Microtome. يتركب أي جهاز تقطيع من:

- سكين القطع وحامل السكين وحامل العينة.
- آلة دفع العينة أو السكين أثناء القطع.
- آلة ضبط ثخانة المقاطع.

إن أغلب الأجهزة مصنوعة بحيث تبقى السكين وحامل العينة هما المتحركين إلا أن بعضها يكون فيه القالب ثابت والسكين هي المتحركة، وتوجد خمسة أنواع من أجهزة التقطيع تستعمل لأغراض التدريس والمختبرات الطبية والأبحاث العلمية.

ثانياً ــ أنواع أجهزة القطع : Types of microtomes

١- جهاز التقطيع المرزRocking microtome:

جهاز بسيط سهل الاستعمال والصيانة يستعمل لأغراض التدريس، تكون فيه السكين ثابتة وقالب النسيج هو المتحرك. ويتركب الجهاز من قاعدة حديدية تحمل مثبتاً للسكين وذراع متحرك، ترتكز على قاعدة في الوسط وفي طرف الذراع المقابلة للسكين يوجد حامل القالب الشمعي، والطرف الآخر يستعمل كمقبض للحركة ،ويلاحظ أن شريط المقاطع التي تقطع بهذا الجهاز يكون منحنياً قليلاً وذلك بسبب تحرك العينة أمام السكين بشكل قوسي، وعند استعمال الجهاز يفضل وضعه على وسادة إسفنجية لمنع انزلاقه حيث إنه خفيف الوزن.

٢- جهاز التقطيع الدوار Rotary microtome:

من أكثر الأنواع شيوعاً في مختبرات الأبحاث والتحاليل الطبية، وسمي بالدوار لأن آلية الدفع فيه تُدَار بشكل دائري بواسطة عَجَلٍ دوار على أحد

Scanned with CamScanner

حوانب الجهاز، وتكون فيه السكين ثابتة وحامل العينة هو المتحرك. ومعظم هذه الأجهزة تحتوي غطاءً معدنياً يحفظ الآلات الميكانيكية بداخله من الغبار والأذى الخارجي، وتوجد ضوابط لتثبيت السكين وتحديد درجة ميلها، ويتحرك حامل القالب في جميع الاتجاهات. ونتيجة للدوران اليدوي تحرك العينة إلى الأمام نحو السكين حسب الثخانة المطلوبة بحيث تكون الحركة صعوداً وهبوطاً. ومن ميزاته أنه يعطي شريطاً متسلسلاً من المقاطع الجيدة.

٣- جهاز التقطيع الانزلاقي Sliding microtome:

وفيه تكون السكين هي المتحركة والعينة ثابتة، ويستعمل في مختبرات الأبحاث لإنتاج مقاطع نسيجية كبيرة قد تغطي عضواً كاملاً أو جسماً كاملاً (كائنات صغيرة). ومن ميزاته أنه يمكن قطع الأنسجة المطمورة في وسائط البلاستيك والسيلودين والجيلاتين وتكون فيه السكين أطول من سكاكين جهاز القطع الدوار ما يقلل الحاجة لشحذ السكاكين، وسُمي بالانزلاقي لأن السكين تنزلق على قالب النسيج.

٤- جهاز التقطيع الجليدي Freezing microtome:

يستعمل هذا الجهاز لإجراء مقاطع أنسجة غير مثبتة أو مطمورة لإجراء مقاطع التشخيص النسيجي حال الحاجة إليها، وكذلك يستخدم لدراسة الدهون والإنزيمات التي تتغير حالتها عند المرور بخطوات التحضير النسيجي من التثبيت إلى الطمر. ولا يصلح هذا الجهاز لإجراء مقاطع متسلسلة. وفي هذا الجهاز تكون قاعدة حمل العينة متصلة بأسطوانة ثاني أوكسيد الكربون لتبريد العينة والسكين بسرعة، وذلك لتجميد العينة وسهولة قطعها. ويسمى الجهاز المتطور بجهاز الكريوستات Cryostat، إذ يزود بنظام لمنع تكون الضباب، وبمصرف للثلج، وهناك أيضاً أماكن لحفظ حاملات الأنسجة، تبلغ درجة الحرارة في ثلاجة جهاز الكريوستات بين (- ٥) إلى (-٣٠) درجة مئوية.

Scanned with CamScanner

٥- جهاز التقطيع الدقيق Ultramicrotome:

ويستعمل للدراسات المتعلقة بالمجهر الإلكتروني في مختبرات الأبحاث حيث يمكن الحصول على مقاطع فائقة الرقة تراوح ثخانتها بين ٥٠-١٠٠ نانو متر. ويحتاج هذا الجهاز إلى أنواع خاصة من السكاكين لقطع القوالب الصغيرة، فتكون من الزجاج أو الماس. ويعمل جهاز القطع آلياً، ويتم القطع تحت مجهر ضوئي خاص.

ثالثاً ــ أنواع سكاكين القطع: Types of cutting knives

من أهم العوامل التي يعتمد عليها في إجراء مقاطع جيدة جودة السكين وتوجد أنواع مختلفة من السكاكين.

١- السكاكين الفولاذية:

مصنوعة من الفولاذ وشائعة الاستعمال في التحضيرات المجهرية الضوئية، وتوجد عدة أشكال حسب شكل المقطع العرضي للسكين:

- ذات الحافة المستوية Wedge-shaped: ويكون جانبا الحد القاطع مستويين، وهي شائعة الاستعمال، وتستخدم في مقاطع الأنسجة المطمورة في قوالب البلاستيك أو الشمع أو العينات المجمدة.
- المقعرة الوجهين Biconcave: ويكون جانبا الحد القاطع مجوفين قليلاً وتستعمل لقطع قوالب الشمع.
- المقعرة المستوية Plano-concave: ويكون أحد جانبي الحد القاطع مستوياً والأخر مجوفاً قليلاً وتستعمل لقطع قوالب البلاستيك والسلويدين.
- سكاكين على شكل إزميل النجار Tool-Edge: وتستعمل لقطع الأنسجة الصلبة المتكلسة، ولا تستعمل في الأعمال اليومية.

٢- السكاكين الزجاجية Glassknive:

تستعمل للحصول على مقاطع رقيقة جداً من القوالب الشمعية، ويمكن استعمالها في المبشرة الجلدية للغرض نفسه، وتستعمل أيضا في التحضيرات المجهرية الإلكترونية.

Scanned with CamScanner

٣- السكاكين الماسية Diamond knives:

وهي باهظة الثمن وتستعمل للتحضيرات المجهرية الالكترونية.

٤- سكاكين تستخدم لمرة واحدة فقط، وتعطي مقاطع رقيقة جداً، ولا تحتاج إلى شحذ.

رابعاً ـ الحد القاطع للسكين وزوايا القطع:

Knife cutting edges and angels

يُعرف الحد القاطع للسكين أنه مكان التقاء سطحي السكين في زاوية تقارب ١٤ درجة، وتُدعى بزاوية حد السكين Cutting angle ،أما الزاوية التي تمثل نقطة التقاء حد السكين القاطع بسطح القالب (من أسفل حد السكين) فتعرف بزاوية الخلوص Clearance angle (تقارب ٥-١٠درجة). فإذا كانت هذه الزاوية كبيرة فسيحدث تجعد للمقاطع وتلتف على شكل أسطواني، أما إذا كانت صغيرة فإن المقاطع ستلتصق في أعلى القالب بدلاً من انزلاقها على سطح السكين الحر. وهناك زاوية أخرى تعرف بزاوية الانحدار أو الجرف rake angle . يستحسن أن تكون قاعدة السكين عريضة لضمان القوة والصلابة عند القطع، وأن يكون لحدها القاطع طول معقول وتنظف السكين قبل وبعد الاستعمال بفرشاة شعر الجمل أو قطنة مبللة بالزايلين، ويجري التنظيف من القاعدة إلى الحد القاطع وليس العكس، كما أن تنظيف الحد القاطع بواسطة أشياء صلبة كالمشرط يعرضها للتلف. وتحفظ السكاكين عادة في علب خاصة ونظيفة، ويمكن ملاحظة الثلم في السكين بفحصها تحت المجهر التشريحي.

- **شحذ السكين Knife sharpening:**

الاستعمال المتكرر للسكاكين فإنها تصبح غير حادة وقد تتثلم لذا نلجأ إلى عملية الشحذ لإزالة آثار التثلم، فنجعل حد السكين القاطع حاداً تماماً، ويمكن شحذ السكاكين الكليلة بطريقتين هما: السَّن والصقل.

Scanned with CamScanner

- **عملية السَّن Honing:**

تستعمل عندما يكون الحد القاطع للسكين عريضاً وبها ثلم كبيرة متعددة، والمسَّن حجر صخري خاص له عدة أنواع حسب طبيعة الصخر، فمنه حجر الكاربوراندوم Carborundum ،ومنه أيضاً الرخام البلجيكي الأسود Yellow Belgium stone ،والأخير هو أفضل الأنواع وأغلاها ثمناً لاحتوائه على أكسيد الحديد الذي يُعد أجود مكونات حجر المسَن، وكلما كان حجر المسن خشناً كان أكثر صلابة لشحذ السكاكين. وإذا لم تتوافر أحجار المسن يمكن استخدام قطع من زجاج البلور plate glass بحافات مشطبة (غير حادة) بحيث يزيد طولها عن طول السكين بنحو ٥ سم، وتستعمل هنا مادة حاكه هي مسحوق أكسيد الألمنيوم التي تختلف في حجم جزيئاتها، فعند الجلخ تستخدم حبيبات بحجم ٢٠ ميكرون، وعند التلميع بحجم ٤ ميكرونات. وكلما كانت الثلم أكثر عدداً تطلب ذلك حبيبات أكبر حجماً أو مسناً أخشن ما يوفر الوقت والجهد. وقبل البدء باستعمال حجر المسن يجب طلاء سطحه بمادة زيتية مثل زيت الزيتون أو زيت الخروع، وتجري عملية السن بإمساك السكين من مقبضها، ووضعها بصورة مسطحة مائلة قليلاً على أحد الأطراف، ثم تسحب السكين على المسن بحيث تكون حافتها الحادة متجهة إلى الأمام وقاعدتها مبتعدة عن نهاية المسن، وعند الوصول إلى نهاية الأخرى تقلب السكين على سطحها الآخر وتُسحب بالطريقة نفسها إلى النهاية الأخرى من ١٠- ٢٠ مرة. وبعد الانتهاء من عملية السن يمسح السكين والمسن بقطعة من الشاش المبلل بالزايلين، ويحفظ كل في محفظته الخاصة.

- **عملية الصقل Stropping:**

بعد عملية السن تختفي الثُلم، ويمكن فحص ذلك تحت المجهر التشريحي، ثم تتبع ذلك عملية تلميع وصقل حد السكين باستعمال المشحذ الجلدي Razor strop الذي يصنع من جلد منطقة الردفين في الحصان، ويكون الجلد معلقاً أو مثبتاً على قاعدة صلبة. تجري عملية الصقل بأن ينظف الجلد ويشبع بمادة زيتية (زيت الخروع)

Scanned with CamScanner

وتحرك السكين بطريقة مماثلة لعملية السن ولكن باتجاه معاكس، حيث يكون حدها القاطع إلى الخلف والقاعدة إلى الأمام، وتستمر العملية نحو ٢٠-٣٠ مسحة، ثم يُنظف السكين والحزام الجلدي لإزالة الأوساخ وحبيبات الكاربوراندوم التي قد تكون عالقة، ثم توضع السكين في صندوق خاص.

- **جهاز الشحذ الآلي Automatic knife sharpener:**

يوفر الوقت والجهد، لذا لا غنى عنه في مختبر التحضيرات النسيجية. وهو قرص زجاجي ثخين موضوع بصورة أفقية ويدور بسرعة معينة، وتمسك السكين بماسكة معينة لترتد بصورة طليقة على سطح القرص، وتوضع على القرص مادة حاكة كأكسيد الألمنيوم مع زيت الخروع، وتتحرك إلى الأمام ثم إلى الخلف أثناء دوران القرص الزجاجي، وتنقلب السكين من حين إلى أخر على فترات متساوية لكي يتساوى جانبا الحد القاطع.

ويعتمد الحصول على مقاطع جيدة على عدة عوامل، منها ما هو قبل عملية القطع ومنها ما هو أثناء العملية:

١- أن تكون العينات النسيجية قد مرت بجميع مراحل المعالجة بطريقة سليمة ولمدة كافية، والمحاليل المستعملة بحالة مناسبة للمعالجة، وأن تكون الأنسجة الصلبة قد مرت بمحاليل نزع الكلس.

٢- تقليم القلب الشمعي Trimming: وتستهدف من هذه الخطوة الحصول على مقاطع متسلسلة serial sctions وسهلة العزل عن بعضها البعض، ووضع مقاطع أكثر في الشريحة الواحدة، وكذلك فهي توفر الوقت والجهد والمواد، ويقصد بها إزالة الشمع الزائد حول العينة المطمورة حتى يحصل على قالب مربع أو مستطيل حافتاه العليا والسفلى متوازيتان، ويكون النسيج بعد عملية التقليم ظاهراً أو جاهزاً لعملية التقطيع، وتتم عملية التقليم بواسطة مبسط ساخن spatula (وهنا يجب توخي الحذر من وصول المبسط للعينة النسيجية) أو باستخدام شفرة

Scanned with CamScanner

حادة، وكذلك يمكن الاستفادة من ظاهرة زيادة ثخانة في الجهاز لحين الوصول لبداية العينة.

٣- جودة جهاز القطع وحدة السكين : ولعل الفشل في إجراء عمل مقاطع جيدة يعود أولاً وأخيراً إلى سكاكين غير حادة شريطة أن تكون مرحلة الإشباع بالبرافين قد جرت بصورة متقنة.

٤- ميل السكين: يجب أن تكون إمالة السكين نحو قالب الشمع مناسبة، فإذا كانت الإمالة كبيرة فإن السكين ستكشط القطع كالإزميل ولا تقطع، أما إذا كانت الإمالة غير كافية، فإن سطح القالب الشمعي سيكون مضغوطاً إلى مؤخرة السكين والذي سيؤدي إلى الحصول على مقاطع ثخينة.

٥- سرعة القطع: حتى نحصل على مقاطع ذوات ثخن متماثل يجب أن تكون سرعة القطع منتظمة. أما القطع في الأنسجة الرخوة (كالمخ)له خصوصية حيث يطمر بوسط طري ويقطع ببطيء لأن السرعة تؤدي إلى ضغط المقاطع.

٦- درجة حرارة مكان العمل: إذا كانت منخفضةً فإن المقاطع ستتلف ولا يتكون الشريط، ويعالج ذلك إما بالنفخ على السكين أو العمل قرب لهب. ويؤدي ارتفاع الحرارة عن الحد الملائم إلى طراوة الشمع فيصعب الحصول على مقاطع رقيقة، ويُعالج ذلك بتبريد السكين أو القالب بقطع ثلجية.

خامساً ــ مشاكل عملية التقطيع (أسبابها وحلولها): Cutting problems

إن الصعوبات في الحصول على مقاطع جيدة قد تكون أسبابها خطأً أو أخطاء حصلت أثناء تحضير قالب الشمع، ومنها ما يلي:

١- النقص في عملية التجفيف.

٢- النقص في عملية التنقية (الاشفاف).

٣- النقص أو الزيادة في عملية الإشباع بشمع البرافين.

وفيما يلي شرح لأهم المشاكل التي تواجه الفني أو الطالب في مختبر التحضيرات النسيجية خلال التقطيع:

Scanned with CamScanner

المشكلة	السبب	العلاج
انشقاق المقاطع طولياً	• وجود ثُلم في حد السكين القاطع • وسط الطمر يحتوي على شوائب صلبة • وجود تكلسات في النسيج • وجود بلورات وشوائب على حد السكين	• تغيير مكان السكين أو شحذها • إعادة الطمر في شمع نقي • إزالة الكلس من النسيج • تنظيف حافة السكين بالزايلول
عدم تماثل ثخن المقطع	• عدم ثبات القالب والسكين • جهاز التغذية غير مضبوط • انحناء السكين زائد • السكين مثلمة	• شد الأزرار لتثبيت القالب والسكين • صيانة الجهاز • تقليل انحناء السكين • شحذ السكين
التفاف المقاطع إلى أعلى السكين	• الشمع صلب وغير مناسب الثخن والحرارة • السكين غير حادة • انحناء السكين زائد	• تقليل ثخانة المقطع ورفع حرارته السكين أو قالب ،غمر القالب في شمع طري • تغيير السكين أو شحذه • تقليل انحناء السكين
عرض المقطع أقل من عرض القالب	١- الحد القاطع عريض جداً ٢- انحناء السكين زائد	• شحذ السكين بطريقة صحيحة • تقليل انحناء السكين

Scanned with CamScanner

تكون شريط متسلسل ملتوٍ	أ- عدم تساوي حدة السكين ب- عدم توازي حافتي القالب العليا مع السفلى. ج- سخونة أحد جانبي القالب أكثر من الآخر. د- حواف القالب غير متوازية مع السكين	• شحذ السكين جيداً • إعادة التقليم • تبريد القالب في الثلج • تعديل موقع السكين ليصبح موازياً للقالب
عدم تكوين شريط منسلسل من القاطع	أ- الشمع صلب بالنسبة للنسيج والظروف المحيطة. ب- عدم توازي حافتي القالب العليا والسفلى ج- وجود شوائب على سطح وحد السكين	أ ـــ النفخ على سطح القالب أو إعادة الطمر في شمع طري. ب ـــ إعادة التقليم. ج ـــ تنظيف السكين بالزايلين.
التصاق المقاطع بالقالب الشمعي	أ- زاوية الخلوص صغيرة ب- وجود شوائب على طرف السكين والقالب ج- الشريط مشحون بالكهرباء الساكنة.	١- زيادة زاوية الخلوص (تقليل انحناء السكين). ٢- تنظيف السكين وإزالة شوائب القالب باستعمال شفرة. ٣- إيصال المبشرة بقطب أرضي أو تأين الهواء المحيط بواسطة اللهب.
انضغاط القاطع	أ- سكين غير حادة أو شمع دافئ. ب- شمع طري لا يناسب الثخن المرغوب.	١- إعادة الشحذ وتغيير مكان القطع وتبريد القالب. ٢- إعادة الطمر في شمع قاس وزيادة الثخانة

Scanned with CamScanner

إحداث صوت أثناء انتقطيع	أ- قساوة زائدة للنسيج ب- تعريض النسيج للكحول مدة أطول من اللازم. ج- وجود بلورات أو كلس في النسيج	أ و ب يصعب العلاج ،نقع النسيج بالماء مدة كافية. ج ــ استخدام عينة جديدة و/أو استبدال المحاليل وسط الطمر.
تفتيت المقاطع النسيجية أثناء القطع.	أ- إزالة الماء و/أو التشريب غير كافٍ ب- زيادة مدة التشريب (طبخ النسيج). ج- حدة الشمع عند التشريب كانت عالية د- الشمع طري لا يناسب العينة.	أ- إعادة إزالة الماء و /أو التشريب ب- لا علاج، عمل عينة أخرى. ت- لا علاج عمل عينة أخرى ث- تبريد القالب بالثلج أو إعادة الطمر بشمع طري.

سادساً ــ تحميل المقاطع على الشرائح Mounting of sections:

هي عملية وضع وحمل الشرائط النسيجية على الشرائح الزجاجية لتكون جاهزة لعملية الصباغة. إذا ما أريد تأخير عملية التحميل فإنه يجب وضع شرائط المقاطع في صندوق ورقي واسع وغير عميق لحين تحميلها، ويجب هنا تغطية الصندوق لإبعاد الغبار عن المقاطع النسيجية، كما يجب أن يكون اتجاه الشرائط وتسلسلها صحيحاً إذا ما أُريد الحصول على مقاطع متسلسلة. وقبل التحميل يجب توافر الأدوات والمواد التالية:

- صفيحة ساخنة أو حمام مائي، وفرشاة شعر من الجمل Camel hair brush أو ملقط حاد، وشريحة زجاجية نظيفة، وحامل شرائح، ومادة لاصقة، وماء دافئ. يجب استعمال شرائح زجاجية نظيفة تماماً من آثار المواد الزيتية. وإذا كانت غير نظيفة ويجب غسلها بالكحول بتركيز ٩٥% ومسحها بواسطة الشاش النظيف، ويستخدم قلم ماسي أو رصاصي (إذا كانت الشريحة مصنفرة) وذلك لوسم الشرائح.

Scanned with CamScanner

- **أوساط اللصق Section adhesives:**

إن وضع المقاطع على الشرائح بدون وسط لاصق يعرضها إلى السقوط أثناء عملية الصبغ خصوصاً في الحالات التالية :

أ- استخدام مثبتات مخرجة للبروتين (مثبت بوان).

ب-الأنسجة التي تحوي دماً متخثراً أو عظاماً.

لذا، ينصح باستعمال أوساط اللصق بشكل روتيني في جميع الحالات للتأكد من لصق المقاطع، وهذه الأوساط هي:

١- زلال البيض مع الجليسرول (لاصق ماير) Mayer' s adhesive:

ويتكون من:

✓ زلال البيض ٥٠ مل

✓ جليسرول ٥٠ مل

يمزج المحلول جيداً، ويُرَشَّح بعدة طبقات من الشاش، ثم يضاف زهاء ١٠٠ ملغم من بلورات الثايمول Thymol وذلك كمطهر يمنع نمو الفطريات فية.

٢- وسائط أخرى: من وسائط اللصق الأخرى المصل الطازج Fresh serum، وحُبضيبات النشا مع Hcl والجيلاتين.

- **عملية لصق القاطع: وتتم بطريقتين:**

١- طريقة التعويم في الحمام المائي The water bath method: وُيستخدَم هنا حمام مائي ذو درجة حرارة أقل بعشر درجات مئوية من درجة ذوبان الشمع (٤٠-٤٥)، ومن الأفضل غليان الماء قبل الاستعمال وذلك بهدف التخلص من فقاعات الهواء المذاب في الماء، والذي قد يستقر تحت المقاطع ويسبب سقوطها عن الشرائح في خطوات لاحقة. وتؤخذ المقاطع عن السكين باستخدام ملقط حاد أو فرشاة شعر الجمل وتعوم على سطح الماء، وعندما يفرش المقطع على سطح الماء ندخل شريحة نظيفة داخل الماء بزاوية مناسبة تحت المقطع في وسطه،

Scanned with CamScanner

ويمكن الاستعانة بإبرة تشريح طويلة لوضع المقطع على الشريحة في مكانه المناسب.

٢- طريقة الصفيحة الساخنة The hot plate method: توضع شريحة زجاجية نظيفة على صفيحة ساخنة، ويوضع على الشريحة ماء مقطر، وبالاستعانة بفرشاة الجمل يحمل مقطع أو شريط من المقاطع ليوضع على سطح نقطة من الماء وتتم عملية بسط المقطع بإمساك طرفيه بإبرتي التشريح ومده على الشريحة (يجب الانتباه حتى لا تتمزق المقاطع).

- **عملية تجفيف المقاطع من الماء بعد وضعها على الشرائح:**

إن عملية تجفيف المقاطع بعد اللصق هي من العمليات التي يجب أن تتم بصورة جيدة وذلك لأن أي أثر قليل من الماء يسبب سقوط المقاطع خلال عملية الصبغ. ويسحب الماء الزائد باستعمال ورق الترشيح، ثم تجفف المقاطع بإحدى الطرائق التالية:

أ- توضع في حاضنة بدرجة ٣٧م مدة ٢٤ ساعة، وهذه أفضل الطرائق خصوصاً عند التعامل مع الأنسجة العصبية التي تتمزق بالحرارة العالية.

ب- توضع في فرن بدرجة حرارة ٤٥-٥٠ م مدة ٣٠ دقيقة إلى ساعة واحدة.

ج- تُوضع على صفيحة ساخنة بدرجة ٤٥ مدة نصف ساعة واحدة.

Scanned with CamScanner

الفصل السابع: الأصباغ وطرائق تحضيرها

Staining and preparation methods

أولاً ــ مقدمة: Introduction

الأصباغ مواد كيماوية تحضر لصباغة أجزاء الخلية المختلفة بألوان تمكن المختصين من معرفة المكان الذي حدث فيه تغير مرضي، وقد توصل العلماء إلى تلوين أجزاء الخلية والأنسجة بألوان مختلفة.

ثانياً ــ الأصباغ وطرائق تحضيرها:

Staining and preparation methods

تقسم الأصباغ من ناحية دورها في صباغة أجزاء الخلية إلى نوعين أساسيين:

- **أصباغ النوى وأهمها:**

الهيماتوكسلين Haematoxylin:

وتصبغ النوى بلون بنفسجي أو أزرق، وهناك نماذج مختلفة من هذه الصبغة تعتمد على طريقة التحضير.

➢ هيماتوكسلين هاريس Harrus Haematoxylin:

- بلورات هيماتوكسلين	١ غ
- إيثانول ١٠٠%	١٠ مل
- شب الأمونيوم أو البوتاسيوم	٢٠ غ
- ماء مقطر	٢٠٠ مل
- أكسيد الزئبق	٠.٥ غ

يُذاب الهيماتوكسلين في الإيثانول والشبة في الماء بواسطة الغلي، ثم يخلط المحلولان ويستمر الغلي مدة دقيقة فقط، ثم يرفع عن النار ويضاف أكسيد الزئبق بحذر، ويُبرد محلول الصبغة ثم يضاف قليل من حامض الخليك الثلجي لتحسين الصبغة، وترشح الصبغة ويُسجل عليها تاريخ التحضير.

Scanned with CamScanner

➢ هيماتوكسلين ماير Mayer's Haematoxylin:

- شب الأمونيوم ٥٠ غ
- هيدرات الكلور Chloral hydrate ٥٠ غ
- بلورات هيماتوكسلين ١ غ
- حامض السيتريك ١ غ
- ايودات الصوديوم ٠.٢ غ
- ماء مقطر ١٠٠٠ مل

يُذاب الهيماتوكسلين في الماء، وباستخدام لهب هادئ، تضاف أيودات الصوديوم والشب، ويحرك على فترات، ثم تذاب حامض النيتريك وهيدرات الكلور، ويسجل تاريخ التحضير على الصبغة.

- **صبغات الهيولى:**

وأهمها الأيوزين Eosin، وهي مجموعة أصبغة تصبغ السيتوبلازم باللون الأحمر أو الزهري، ومنها: Phloxin، Eosin Y , Eosin B ،وقد تحضر في الكحول أو الماء.

أ- الأيوزين الكحولي:

- بلورات أيوزين ١ غ
- ماء مقطر ٢٠ مل
- كحول مطلق ٩٥% أو ٨٠ مل
- حامض الخليك الثلجي ٠.٥ مل

ب- الأيوزين المائي:

- بلورات أيوزين ١ غ
- ماء مقطر ١٠٠ مل
- فورمالدهيد ٤٠% ٠.٢٥ مل (يمنع نمو الفطريات)

Scanned with CamScanner

ثالثاً: الخطوات العملية للصباغة Steps of staining

من أهم الطرائق المستخدمة في الصباغات الروتينية طريقةُ صبغة الأنسجة بالهيماتوكسلين – أيوزين Haematoxylin and Eosin Technique، وهي طريقة متبعة في معظم مخابر العالم، وتعتمد على عدة خطوات:

١- **عملية إزالة شمع البرافين:** توضع الشرائح المحملة بالمقاطع في أوانٍ تحوي الزايلين مرتين متتاليتين مدة كل منهما دقيقتان.

٢- **عملية إضافة الماء إلى النسيج:** توضع الشرائح في أناء يحوي كحولاً مطلق، ثم في أوانٍ تحوي كحولاً بعدة تراكيز: ٩٥% و ٧٠% و ٥٠% ثم في الماء، ومدة كل خطوة دقيقتان.

٣- **صبغة الهيماتوكسلين:** تُوضع الشرائح في جرة صبغة هيماتوكسلين هاريس مدة ١٥ دقيقة.

٤- تغسل الشرائح بماء الصنبور الجاري لإزالة الصبغة الزائدة.

٥- **عملية التمييز:** تُوضع الشرائح في محلول التمييز Acid – alcohol مدة ٣ ثوانٍ لإزالة الصبغة الزائدة في النسيج، وتُفحص الشرائح تحت المجهر، فإذا كانت الصبغة أكثر من اللازم، ترجع الشرائح إلى لمحلول التمييز مرةً أخرى، وإذا كانت أقل من اللازم، تعاد لمحلول الصبغة لمدة ٥ دقائق.

٦- تغسل الشرائح بماء الصنبور الجاري لإزالة آثار الكحول الحمضي. وكذلك لتغيير لون المقاطع إلى اللون الأزرق (يستخدم الماء كمحلولٍ قاعدي).

٧- **صبغة الأيوزين:** توضع الشرائح في صبغة الأيوزين المائية مدة ٣ دقائق.

٨- **عملية نزع الماء من النسيج:** توضع الشرائح في أوانٍ تحوي الماء (٣ دقائق)، إيثانول ٧٠% (دقيقة واحدة)، إيثانول ٩٥% (دقيقة واحدة)، وفي الإيثانول المطلق مرتين مدة كل منهما دقيقة واحدة.

٩- **ترويق المقاطع بالزايلين:** تروق المقاطع بالزايلين مرتين متتاليتين مدة كل منهما ٣ دقائق.

Scanned with CamScanner

١٠-**عملية تغطية المقاطع:** تغطى المقاطع بالوسط المناسب وبغطاء زجاجي مناسب.

النتيجة: تظهر النواة زرقاء اللون، والهيولى بظلال اللون الأحمر، وتظهر الغضاريف وترسبات الكالسيوم بلون أزرق داكن.

رابعاً ــ تغطية المقاطع: Mounting of Section

بعد تلوين المقاطع النسيجية المثبتة على الشرائح الزجاجية يجب أن تُغَطى بأغطية زجاجية Coverslips، وذلك لحماية المقاطع المصبوغة التي تكون شديدة وسرحيعة التهلك نتيجة الاحتكاك بالعوامل الخارجية، وكذلك لمنع فساد الصبغة من التأكسد. وعند التغطية يجب استعمال أوساط أو مواد خاصة لإلصاق هذه الأغطية على الشرائح. ومن مميزات وسط التغطية الجيد ما يلي:

١- يجب أن تجفف وتتصلب بسرعة نسبياً.

٢- يجب أن تحافظ على الأصباغ، وأن لا تتحول إلى مادة حمضية التفاعل مع الزمن حتى لا يؤثر في أصباغ الأنيلين (الأيوزين والهيماتوكسلين).

٣- يجب أن لا يتكون فيهه شقوق أو حبيبات.

٤- يجب أن يكون معامل انكساره للضوء قريباً من معامل انكسار الزجاج، وذلك لرؤية مكونات النسيج بشكل أفضل.

٥- الامتزاج الكامل بوسط الترويق.

- **بلسم كندا Canada balsam:**

مادة طبيعية تُفرز من سيقان نبات البلسم Albies balsam، وقد تكون لزجة طبيعياً أو جافة تذاب في الزايلين ،وهي شائعة الاستعمال. ومن ميزات هذا الوسط:

١- معامل انكساره ١.٥٢، وهو قريب جداً من معامل انكسار الزجاج.

٢- يذوب في الزايلين بسهولة.

٣- شفاف ولا لون له ولا يتشقق أو يتحبب.

Scanned with CamScanner

ومن عيوبه أنه يسبب شحوباً لكثير من الصبغات لأنه يصبح حمضياً مع الزمن، وكذلك يسبب اسوداداً للمقاطع، ويحضر بطريقتين:

- ✓ الطريقة الأولى: البلسم المتعادل Neutral Balaam: حيث يُذاب البلسم في الزايلين بنسبة ٤٠ – ٥٠%، ويضاف حمض السالسيليك Salicylic acid بشكل زائد مع التحريك الجيد، ثم يُترَك المحلول ليترسب، ويؤخذ الطافي في عبوات خاصة يكتب عليها تاريخ التحضير، ويترك الراسب.
- ✓ الطريقة الثانية البلسم الحمضي Acid Balsm: حيث يُذاب البلسم في الزايلين بنسبة ٤٠ ــ ٥٠ % ويضاف حمض السالسيليك Salicylic acid بشكل زائد مع التحريك الجيد، ثم يترك المحلول ليترسب، ويؤخذ الطافي في عبوات خاصة يكتب عليها تاريخ التحضير، ويترك الراسب.

خامساً ــ طريقة التغطية: Method of mounting sections

١. يُحضَّر غطاء شريحة Cover slip نظيف ذوات حجم مناسب لعدد المقاطع على الشريحة.

٢- يُزال الزايلين الفائض عن الشريحة بواسطة قطعة شاش نظيفة، وأمّا المقاطع فيزال عنها الزايلين الزائد بتحريك الشريحة بقوة في الهواء مع المحافظة على عدم لمس المقاطع.

٣- تُوضع قطرة من اللاصق على المقطع، ثم تقلب الشريحة رأساً على عقب بحيث يكون المقطع إلى الأسفل حتى يلامس اللاصق غطاء الشريحة، وعندما يبدأ الوسط اللاصق بالانتشار بين الغطاء والشريحة، تُرجع الشريحة حلاً إلى الوضع الطبيعي، ويمكن تعديل الغطاء الزجاجي بواسطة قضيب زجاجي رفيع.

٤- تُوضع الشرائح الزجاجية المغطاة في فرن شمع البرافين مدة ١٢ – ١٨ ساعة، أمّا مقاطع الجهاز العصبي فتوضع في حاضنة بدرجة ٣٧ مْ مدة ١٢ ساعة.

Scanned with CamScanner

ملحوظة:

إن وجود بقايا زايلين على المقاطع عند التغطية يؤدي إلى ذوبانه في وسط التغطية وتكوين فقاعات هواء تحت الغطاء الزجاجي فيفسد التحضير. وإذا لوحظ وجود فقاعات هوائية فيجب إرجاع التحضير إلى الزايلين حتى يسقط الغطاء ومن ثم تعاد عملية التغطية من جديد.

بعد الانتهاء من عملية التغطية يجب تنظيف ووسم وخزن الشرائح الجاهزة، فينصح بإزالة المواد المصبوغة حول المقاطع النسيجية قبل عملية التغطية باستخدام إبرة تشريح ملفوفة على طرفها قطنة مبللة بالزايلين. كما ويجب إزالة الوسط اللاصق الفائض خارج أغطية الشرائح بواسطة شفرة حادة، ثم تُمسح المتبقية بواسطة قطنة مبللة بالزايلين مع أخذ الحذر حول حواف الغطاء كي لا يذوب الوسط اللاصق تحت الغطاء. ويمكن استعمال الكحول بتركيز ٩٥% حول حواف الغطاء لإزالة آثار مادة التغطية ،وبعد ذلك تغسل الشرائح في محلول الصابون مدة قليلة، ثم تُلمع بقطعة شاش نظيفة. تعد عملية وسم الشرائح ضروريةً جداً لئلا يحدث التباس بين الشرائح، وتتم بطريقتين حسب نوع الشريحة:

أ- الشرائح المصنفرة: وهذه الشرائح أحد طرفيها مصنفر يمكن الكتابة عليه بقلم الرصاص أو الحبر الصيني.

ب- شرائح عادية: وهنا توضع ورقة وسم على أحد طرفي الشريحة، والمعلومات التي تكتب على الشريحة هي: اسم المريض، أو رقمه، ونوع النسيج، واسم المثبت والصبغة، وتاريخ تحضير الشريحة.

تُخزن الشرائح الجاهزة في عُلَب خاصة متنوعة قد تكون أفقية تُوضَع فيها الشرائح أفقياً، أو عمودياً تحتوي أخاديدَ خاصة وتركب فيها الشريحة عمودياً، وقد يطول عمر التخزين بإغلاق غطاء الشرائح بمادة دهان ملونة من نوعٍ خاص.

Scanned with CamScanner

الفصل الثامن: المقاطع الجليدية والتجميد الجاف

Frozen sections and freeze drying

أولاً ــ مقدمة: Introduction

لقد تبين لنا مما سبق أن عملية تحضير الشرائح النسيجية بهدف تشخيصها تستغرق وقتاً طويلاً نسبياً ما بين تثبيت ومعالجة وطمر وصبغ، ولما كانت هناك حاجة ماسة للحصول على شرائح نسيجية محضرة خلال وقت قصيرة جداً كما في الحالات الطارئة أثناء إجراء العمليات الجراحية، إذ يحتاج الطبيب الجراح إلى تقرير يشخص حالة النسيج المأخوذ من المريض أثناء الجراحة ليتخذ القرار الحاسم باستئصال العضو المصاب، أو اتخاذ أي إجراء علاجي سريع آخر، لذلك كان لا بد من تطوير تقنية نسيجية تلبي هذه الحاجة، وكانت هذه التقنية هي عملية القطع الجليدي.

وتُعرف عملية التقطيع الجليدي، أنها عملية تحضير مقاطع نسيجية في ظروف معينة من أهمها درجة الحرارة المنخفضة جدا، وغالبا ما تكون عدة درجات تحت الصفر.

ولقد استعملت هذه التقنية النسيجية أيضاً للتحضيرات النسيجية التي تتعارض مع الطريقة الروتينية التي ذكرت سابقاً، كدراسة بعض مكونات الأنسجة والخلايا التي قد تختفي وتذوب أثناء العمليات النسيجية التي تجري في درجات حرارة عالية كالإشباع والطمر. وأهم هذه المواد هي الإنزيمات والدهون في بعض الحالات المرضية التي ترتفع فيها نسبة الإنزيمات والدهون في الخلايا كالأورام الدهنية Lipoma، وبعض أمراض الكبد والكلى. مما سبق يمكن تلخيص أهمية التجميد السريع بعدة نقاط، أهمها:

١- تحضير شرائح نسيجية ودراستها في الحالات الطارئة أثناء إجراء العمليات الجراحية حيث يمكن الحصول على شرائح جاهزة، وتشخيصها خلال مدة قصيرة جداً لا تتعدى ١٠ دقائق.

Scanned with CamScanner

٢- دراسة الإنزيمات والدهون في بعض الحالات المرضية.

٣- تحضير شرائح نسيجية من الأنسجة الطرية الهشة كالجهاز العصبي، والتي لا يمكن تحضيرها بالطرائق النسيجية الروتينية المطولة، حيث يمكن أن يتحطم النسيج أثناء خطوات المعالجة.

ثانياً ــ نظرية التجميد والقطع الجليدي:

Theory of freezing and freeze cutting

عند استئصال جزء من النسيج كعينة نسيجية Biopsy وتجميدها بشكل سريع مفاجئ فإن المحتوى المائي للنسيج يتحول إلى جليد يكسب الدعامة والصلابة اللازمتين للتحكم فيه وتقطيعه إلى مقاطع رقيقة، وهذا يغني عن إجراء عملية الطمر بالشمع. وكذلك فإن عملية التجميد تعد طريقة فعالة من طرائق التثبيت ومنع تغيرات ما بعد الموت التي قد تحدث للنسيج، وهو ما يغني عن مرحلة التثبيت التي تستغرق وقتاً طويلاً في الغالب. وإذا استطعنا الاستغناء عن مرحلة التثبيت نكون قد اختصرنا عمليات المعالجة أيضاً، وبذلك يمكن الحصول على مقاطع نسيجية، وتحضير شرائح سريعة تصبغ بطرائق مختصرة أيضاً خلال مدة زمنية قياسية محققةً الأهداف المذكورة سالفاً.

وقد وجد أن هناك علاقة طردية بين برودة النسيج وصلابته، حيث إنه كلما انخفضت درجة حرارة النسيج أمكن الحصول منه على مقاطع أفضل. ولكن اختيار حرارة التقطيع المناسبة يعتمد على نوع النسيج، وبشكل عام فإن درجة حرارة التقطيع لمعظم الأنسجة غير المثبتة والخالية من الدهون تراوح حول -٢٠ مْ، ويمكن تحضير بعض الأنسجة المثبتة بطريقة القطع الجليدي بدرجة — ١٠ مْ.

Scanned with CamScanner

ثالثاً ــ تحضير المقاطع الجليدية: Preparation of freezing sections

الأجهزة المستخدمة: تستخدم في هذه التقنية عدة أنواع من أجهزة القطع.

أ- جهاز القطع الجليدي Freezing microtome:

لقد سبق ذكر بعض خصائص هذا الجهاز، فهو لا يعطي مقاطع متسلسلة على شكل شريط نسيجي Ribbon، ويعتمد مبدأ هذا الجهاز على أن السكين عادة هي التي تمر بسطح القالب وتأخذ المقطع منه، بعكس جهاز القطع الدوار الذي يعتمد على مبدأ ثبات السكين وحركة القالب. وجهاز القطع الجليدي مزود بأسطوانة غاز co2 المضغوط على شكل سائل لتبريد منطقة القطع بشكل مستمر. وهناك أجهزة قطع جليدي مزودة بوحدة قياس حراري Thermo module كبديل عن غاز ثاني أكسيد الكربون المضغوط، وهذه الوحدة تعتمد على استخدام تيار كهربائي مباشر لتبريد منطقة القطع.

ب- جهاز القطع منتظم البرودة Cryostat:

هو جهاز قطع جليدي مطور، يتكون من غرفة مبردة كهربائيا تحتوي جهاز القطع بداخلها، وغالباً ما يكون من النوع الدوار، ويتم التحكم في الجهاز من خارج الغرفة. وقد كان أول جهاز Cryostat استحدث على يد البريطاني Pearse سنة ١٩٥٤م، وتتراوح درجة حرارة جهاز Cryostat بين ٥ إلى ٣٠ مْ .

سكين القطع:

تستخدم سكاكين القطع ذوات الشكل الإسفيني المستوية الحافة والمصنوعة من الكوبالت لقدرتها على مقاومة صلابة النسيج ومقاومة الصدأ والتآكل.

ثخن المقاطع:

لا يمكن الحصول على مقاطع جليدية يقل ثخنها عن ٥ ميكرونات في الغالب باستخدام القطع الجليدي، وجهاز القطع الجليدي المزود بأسطوانة Co2 لا يعطي مقاطع يقل ثخنها عن ١٥ ميكروناً، وتكون المقاطع غير متصلة.

Scanned with CamScanner

تحضير المقاطع الجليدية في الحالات الطارئة: تُحضير المقاطع الجليدية في الحالات الطارئة دون الحاجة إلى أيٍّ من عمليات التثبيت أو المعالجة كما مر سالفاً، ولكن تؤخذ العينة من المريض، وتُبرد بأقصى سرعة ممكنة، ثم تقطع بواسطة جهاز القطع الجليدي أو جهاز Cryostat ،ثم تصبغ هذه المقاطع وتفحص مجهرياً من قبل الطبيب المختص في علم الأمراض ،وتتم هذه العملية خلال وقت لا يتعدى ١٠ دقائق.

تحضير المقاطع الجليدية في الحالات غير الطارئة:

ذكرنا فيما سبق أن تقنية القطع الجليدي يمكن استخدامها في دراسة بعض مكونات الأنسجة التي يمكن أن تختفي أو تذوب في المعالجة النسيجية العادية كالإنزيمات والدهون. وهذه التحضيرات النسيجية تمر بمرحلتي تثبيت وطَمْر باستخدام مثبت خاص ومادة طمر خاصة أيضاً.

المثبت المستعمل:

يُستخدم لهذا الغرض مثبت الفورمالين الكلسي ١٠ %، ويتكون من:

فورمالين	١٠٠ مل
ماء مقطر	٩٠٠ مل
كلوريد الكالسيوم ١٠%	١٠٠ مل

وتتم عملية التثبيت على درجة حرارة ٤ م ،وتصل مدة التثبيت إلى ١٨ ساعة.

مادة الطمر:

تستخدم لطمر هذه الأنسجة مادة الجيلاتين على شكل محلول جليسرين. ويتكون من:

جيلاتين	١٦غم
جليسرين	١٥غم
ماء مقطر	٧٠غم
ثايمول	قطعة صغيرة كمادة حافظة من التعفن

Scanned with CamScanner

يحفظ هذا المحلول في درجة ٤ مْ، ويسخن عند الاستخدام في حمام الماء حتى إلى حالة السيولة.

طريقة الطمر بالجيلاتين:

١) يثبت النسيج في الفورمالين الكلسي ١٠% .

٢) يغسل النسيج في الماء الجاري مدة ١٢ ساعة .

٣) يغمر النسيج في محلول جليسرين جيلاتين مدة ٦ ساعات في درجة حرارة ٣٧ مْ.

٤) يُطمر النسيج في محلول جليسرين – جيلاتين، ثم يبرد حتى يتصلب في الثلاجة.

٥) يُقلم القالب بالطرائق المعروفة.

٦) يُحفظ القالب في مثبت الفورمالين الكلسي ١٠% حتى يكتسب صلابة أكبر.

٧) يقطع النسيج إلى مقاطع رقيقة بطرائق سريعة مختصرة، ثم تقرأ تحت المجهر.

صبغ المقاطع الجليدية:

لقد أوضحنا أن تحضير المقاطع الجليدية من تقطيع وصباغة يتم خلال مدة قصيرة جداً، لهذا لابد أن تكون عملية الصباغة مختصرة أيضاً وسريعة.

رابعاً ــ إجراءات الصبغ: Staining procedures

ــ تثبيت المقاطع الجليدية في الفورمالين ١٠% مدة ٦ – ٣٠ ثانية في درجة حرارة الغرفة.

ــ تغسل في كحول تركيز ٧٠% .

ــ تغسل في الماء الجاري.

ــ تُغطى الشريحة أو تُغمر في صبغة هيماتوكسيلين هاريس مدة دقيقة.

ــ يغسل بالماء للتخلص من الصبغة الزائدة.

ــ تغمس المقاطع في محلول التمييز وهو كحول حامضي ٠.٥% عدة غمسات.

ــ يغسيل بالماء العادي.

ــ يوضح اللون الأزرق بغمر الشرائح في محلول كربونات الليثيوم.

Scanned with CamScanner

— يغسيل مرتين بالماء الجاري.

— تُغمر المقاطع في صبغة الأيوسين الكحولية ١% مدة ٢ — ١٠ ثوان.

— تُغمر المقاطع في محلول الايثانول ٩٥% مرتين، عدة غمسات كل مرة.

— تُجفف المقاطع باستخدام كحول مطلق مرتين عدة غمسات كل مرة.

— تُروَّق المقاطع في الزايلين مرتين.

— تُغطَّى المقاطع بوسط تغطية مناسب كبلسم كندا.

تعد عملية التجميد الجاف Freeze drying من الطرق النسيجية السريعة جداً في تحضير المقاطع النسيجية في بعض الحالات الطارئة ،أو في تحضيرات دراسة بعض الإنزيمات، وتتلخص هذه الطريقة بالتجميد الفوري المفاجئ للنسيج باستخدام غاز النيتروجين المضغوط في درجات حرارة تصل إلى — ١٦٠مْ. تُنظيف ويُنقى النسيج من بلورات الجليد المتكونة باستخدام جهاز الشفط في درجات حرارة تصل إلى — ٤٠ مْ، ثم تنقل المقاطع إلى جو ودرجة حرارة الغرفة، حيث تُثبت ببخار الفورمالين، أو تطمر بوسط طمر مناسب، ثم تقطع وتُصبَغ.

Scanned with CamScanner