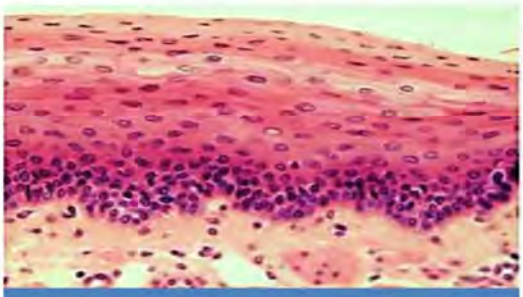
مدخل إلى علم النسج وكيفية دراسته

علم النسج Histology: هو علم يهتم بدراسة البنية المجهرية لأعضاء وأنسجة الجسم، ويدرس كيفية انتظام هذه الأنسجة لتشكيل الأعضاء.

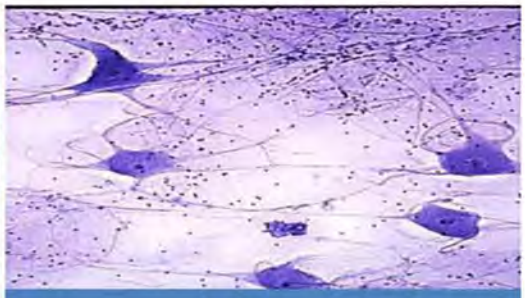
دراسة بيولوجيا الأنسجة ← دراسة البنية المجهرية للأعضاء والأنسجة ← دراسة الأنسجة وكيفية انتظامها

يُصنف علم النسج العام إلى:

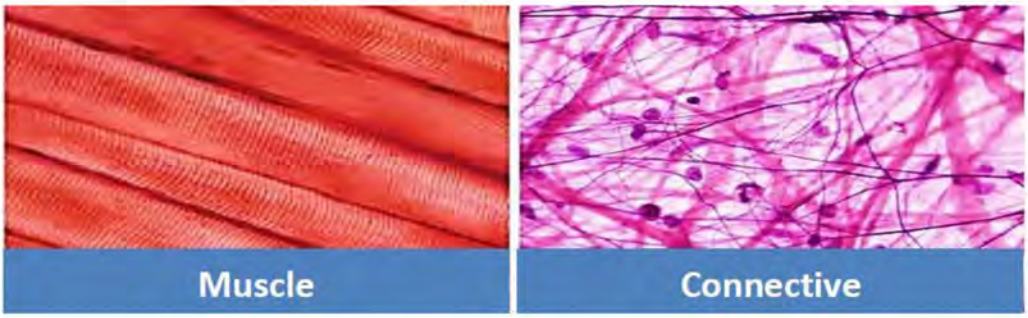
1. النسيج الظهاري Epithelial Tissue .
2. النسيج الضام Connective Tissue.
3. النسيج العضلي Muscle Tissue.
4. النسيج العصبي Nervous Tissue.



Epithelial



Nervous



أهمية دراسة علم النسج على صعيد العلوم الطبية:
1) دراسة مكونات الأنسجة السليمة و كيفية انتظامها لتشكيل الأعضاء.
2) ارتباط بنية النسيج بوظيفته.
3) يعد قاعدة أساسية لعلم المرضيات Pathology (التشريح المرضي).
4) سريريا يستخدم علم النسج بشكل روتيني في مخابر التشريح المرضي و زراعة الطعوم النسيجية و إجراء بحوث حول سرطان الدم و نقي العظم و عنق الرحم و الثدي و الاستنساخ و الهندسة الوراثية و الخلايا الجذعية.

يقصد بالمصطلح اللاتيني **Histo نسيج Tissue**، يكوّن مجموع الخلايا أنسجة، ويكوّن مجموع الأنسجة بدوره أعضاء، وبالتالي فإن أي عضو من أعضاء الجسم مكوّن من خليط من الأنسجة.

مثال:

1- الكبد:

- حيث يوجد فيه **جميع أنواع النسج الرئيسية الأربعة** لكن بنسب مختلفة.
- يشكل **النسيج الظهاري حوالي 90%** من مكوناته (فهو عضو ظهاري بامتياز).
- الخلايا الكبدية هي خلايا ظهارية تشكل صفائح، و **يتواجد النسيج الضام** بين هذه الخلايا كما يتواجد أيضا **النسيج العضلي (الأملس)** حول الشعيرات و الأوعية الدموية.
- بالإضافة لوجود **نسيج عصبي** عن طريق النهايات العصبية في الكبد.

2- الدماغ (الجهاز العصبي المركزي):

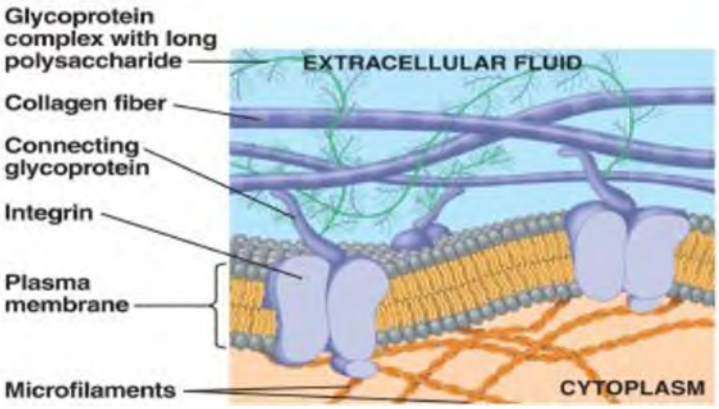
- **هو عبارة عن نسيج عصبي بالكامل (خلايا عصبية و خلايا دبق عصبي).**
- **لكنه يحتوي على نسيج ظهاري يتمثل ببطانة الأوعية الدموية.**
- **كما يحتوي على نسيج ضام ضئيل جداً يتركز حول الأوعية الدموية.**

تتكون جميع أنسجة الجسم من مُكونيين لهما تأثير متبادل: **خلايا** و**مطرق خارج خلوي** (مادة خارج خلوية ECM).

وظائف المطرق خارج الخلوي:

1- تأمين الدعم الآلي.
2- نقل المواد الغذائية للخلايا.
3- طرح الفضلات الاستقلابية ومنتجات الإفراز.
4- يُنظم جزيئات المطرق أحياناً عمل الخلايا، لذا يوجد تبادل كثيف بين الخلايا والمطرق حيث تتعرف الخلايا على العديد من جزئيات المطرق وترتبط بها بواسطة مستقبلات موجودة على سطح الخلية كالأنتغرين integrins .

المطرق خارج الخلوي ECM
مادة أساسية
ألياف
بروتينات سكرية متعددة الالتصاقات
بروتيوغليكانات (سكريات بروتينية)
غليكوز أمينوغليكانات
ماء
عليها مواقع ارتباط لمكونات المادة خارج الخلوية
لب بروتيني توجد على جانبيه الـ GAGs بشكل أشواك.
تُصنَّع في جهاز غولجي وتتألف من:
حمض سكري
سكر أميني
يصنع جهاز غولجي 5 أنواع أساسية للـ GAGs وهي:
كبريتات الهيباران
كبريتات الديرماتان
كبريتات الكيراتان
كبريتات الكوندريتين
حمض الهيالورنيك


Glycoprotein complex with long polysaccharide
EXTRACELLULAR FLUID
Collagen fiber
Connecting glycoprotein
Integrin
Plasma membrane
Microfilaments
CYTOPLASM

تحضير الأنسجة للفحص المجهري:

نظراً لصغر حجم الخلايا فإنه لا يمكن دراستها بالعين المجردة، وإنما تحتاج إلى المجهر لنستطيع دراسة شكلها وحجمها ومكوناتها.

نستطيع دراسة النسج بواسطة المجهر الضوئي والالكتروني بأنواعهما، لكن قبل فحصها بالمجهر تخضع النسج لعملية تحضير تستغرق مدة من 12 ساعة إلى يومان ونصف حسب حجم النسيج ونوعية المثبت ووسط الإدماج وطريقة التلوين. وسنتطرق فيما يلي لمراحل التحضير:

1- التثبيت Fixation
2- التجفيف Dehydration .
3- الترويق Clearing.
4- الإدماج Embedding
5- التقطيع Sectioning.
6- التلوين Staining

1- التثبيت:

التثبيت هو قتل الخلايا مع المحافظة عليها وحمايتها من التحلل ذاتي (هضم الأنسجة بفعل أنزيمات الخلية) أو التعفن الذي يحصل بواسطة الجراثيم مع للمحافظة على التركيب الجزيئي والبنيوي للخلايا.

تُجرى عملية التثبيت بطرق كيميائية أو فيزيائية، حيث تُوضع العينات النسيجية مباشرة بعد استئصالها من الجسم وتقطيعها إلى قطع صغيرة في محاليل كيميائية ثابتة تدعى المثبات وتبقى حوالي 6 ساعات أو أكثر حسب نوع النسيج والمثبت.

يعد محلول فورم ألدهيد formaldehyde متساوي التوتر ذو التركيز % 33 أحد أفضل المثبتات المستخدمة في تحضير العينات النسيجية للمجهر الضوئي. أما عند دراسة العينة بالمجهر الالكتروني فإنها توضع بمحلول الغلوتار ألدهيد ثم توضع بمحلول رباعي أكسيد الأوسميوم Osmium tetroxide.

2- **التجفيف Dehydration** : وهو نزع الماء من الخلايا بواسطة وضع العينات المثبتة بسلسلة تراكيز متزايدة من الكحول يبدأ بكحول 70% وحتى الكحول المطلق.

3- **الترويق Clearing** : توضع العينات بمحلول من الكزيلول xylene وهو مذيب عضوي يعطي العينة شفافية.

4- **التشريب بالبارافين Infiltration**: توضع العينات في البرافين المذاب في فرن درجة حرارته حوالي 60° م حيث يتبخر المذيب و تمتلأ فراغات النسيج بالبارافين.

5- **الادماج Embedding:** تدمج عادة العينات النسيجية في وسط صلب حتى يسهل تقطيعها لذا تُوضع الأنسجة بمواد الإدماج لتكتسب قوام صلب وذلك ضمن قضبان تسمى قضبان لوكار أو ضمن عبوات بلاستيكية.

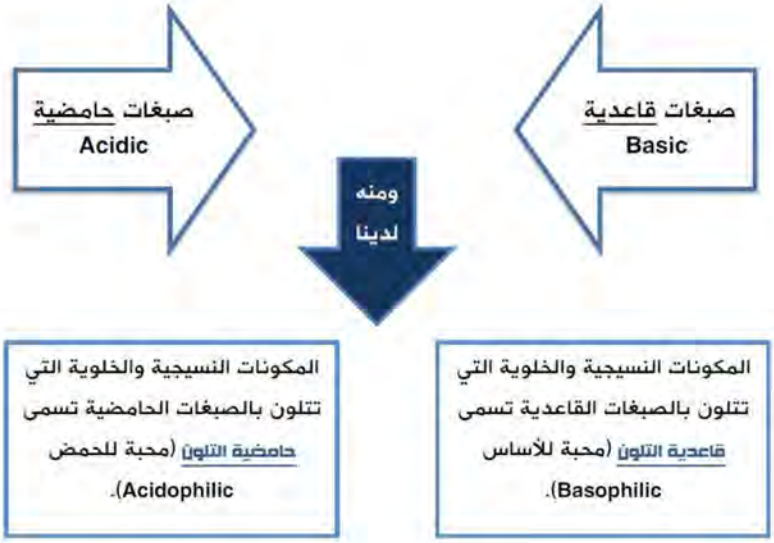
يستخدم البرافين بشكل روتيني في عمل قوالب المحضرات النسيجية في المجهر الضوئي بينما تستخدم الراتنجات البلاستيكية في تحضير المقاطع النسيجية للمجهر الإلكتروني.

6- **التقطيع Sectioning:** تُقطع القوالب الصلبة المحتوية على الأنسجة بواسطة مقطاع مجهري Microtome يحتوي على شفرة زجاجية أو فولاذية للحصول على مقاطع نسيجية بسماكة 1- 10 ميكرون.

هناك طريقة أخرى للتثبيت هي التثبيت بالتجميد حيث تتثبت الأنسجة فيزيائياً و ليس كيميائيا و تصبح بنفس الوقت صلبة وجاهزة للتقطيع بواسطة مقطاع جليدي يدعى كيروستات Cryostat مصمم لتقطيع الأنسجة المجمدة.تستخدم عادة طريقة تجميد العينات النسيجية في المستشفيات لدراسة العينات أثناء العمليات الجراحية نظرا لكونها تسمح بتحضير سريع للمقاطع النسيجية دون المرور بعملية الإدماج التي ذكرت سابقاً، كما تعتبر هذه الطريقة فعالة في الدراسات الكيميائية النسيجية للأنزيمات الحساسة أو الجزئيات الصغيرة، وذلك لأن التجميد لا يبطل فعالية معظم الإنزيمات على عكس التثبيت، كما أن دراسة النسج التي تحوي على نسيج شحمي تكون أفضل بطريقة التجميد وذلك لأن الكزيلول المستخدم بطريقة التثبيت يعمل على حل الدهون من النسج.

7- **التلوين Staining:** نقوم بتلوين الشرائح النسيجية ليسهل علينا رؤيتها تحت المجهر الضوئي وبالتالي نستطيع تمييز مكونات الأنسجة بشكل واضح. ونستخدم من أجل التلوين صبغات مختلفة حسب نوع الخلايا ومحتوياتها التي نريد إظهارها والكشف عنها. مُعظم الصبغات هي **مركبات حمضية** (ذات شحنة سالبة) أو **أساسية** (ذات شحنة موجبة) والتي تميل لتشكيل روابط كهربائية ساكنة (أملاح) مع الجذور الكيميائية القابلة للتأين في الأنسجة.

تُدعى المكونات النسيجية التي تتلون بسهولة **بالصبغات الأساسية** بالمكونات المحبة للأساس (قاعدية التلون) **Basophilic**، حيث تلون الصبغة الأساسية ذات الشحنة الموجبة المكونات الخلوية و النسيجية **الحاوية على شحنة سالبة كمجموعة الفوسفور و الكبريت و الكاربوكسيل**، بينما تدعى المكونات النسيجية التي تتلون **بالصبغات الحمضية** بالمكونات المحبة للحمض **acidophilic** (حامضية التلون)، حيث تلون الصبغة الحمضية ذات الشحنة السالبة المكونات الخلوية و النسيجية الحاوية على شحنة موجبة كتلك الحاوية على **مجموعات أمينية متأينة مثل الكولاجين.**



الصبغات القاعدية	الصبغات الحامضية
تملك شحنة إيجابية	تملك شحنة سلبية
تنجذب للمكونات النسيجية التي تملك مجموعات كيميائية ذات شحنة سالبة مثل (المجموعات الفسفورية والمجموعات الكربوكسيلية ومجموعة الكبريت)	تنجذب للمكونات النسيجية التي تملك مجموعات كيميائية ذات شحنة موجبة مثل (المجموعات الأمينية المتأينة في البروتين)
مثال على الصبغات القاعدية: الهيماتوكسيلين Hematoxylin.	مثال على الصبغات الحامضية: الأيوزين Eosin.

من أهم الملونات:

- **ملون الهيماتوكسلين والإيوزين** Hematoxylin and Eosin (H & E) من أكثر الصبغات شيوعاً. يلون الهيماتوكسلين نواة الخلية والبنى الحمضية باللون الأزرق بالمقابل يلون الأيوزين هيولى الخلية والكولاجين باللون الوردي.

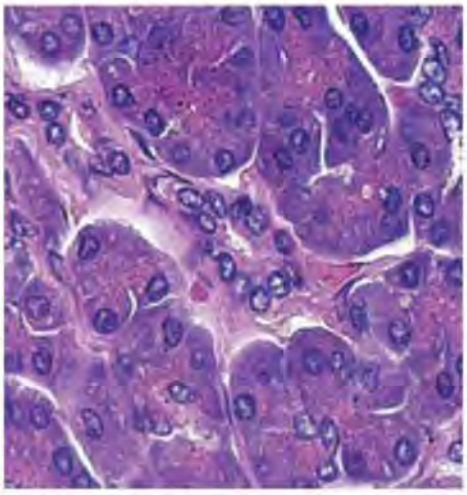
✓ النواة ذات شحنة سالبة (لاحتوائها على مجموعات الفوسفور الموجودة في النكليوتيدات المكونة للـDNA وللـRNA وكذلك وجود البروتينات المحتوية على مجموعة الكبريت وغيرها الكثير) وبالتالي تتلون بالهيماتوكسيلين القاعدي موجب الشحنة باللون الأزرق.
✓ الهيولى تتلون بالإيوزين الحامضي سالب الشحنة باللون الزهري.

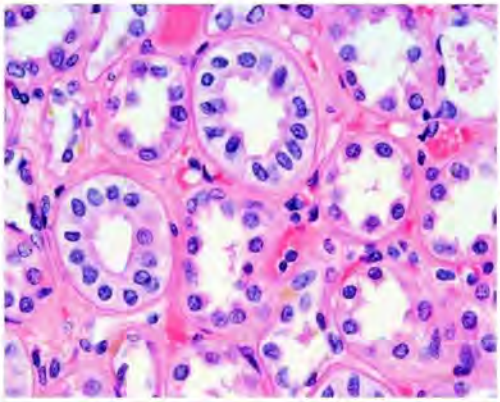
- **كاشف حمض البيريوديك شيف** Periodic Acid Schiff Reagent (PAS):
يعتمد هذا الكاشف على تحويل مجموعات غليكول 1 و2 الموجودة في جزيئات السكر إلى زمر ألدهيدية تتفاعل مع كاشف شيف معطية لون وردي أو أرجواني و يستخدم للكشف عن: الغليكوجين Glycogen والبروتينات السكرية Glycoproteins.
- **صبغة أزرق الألسيان** Alcian blue: تتميز **البروتيوغليكانات Proteoglycans والغليكوزأمينوغليكانات Glycosaminoglycans** بأنها لا تتفاعل مع PAS نظراً لاحتوائها العالي على مجموعات الكاربوكسيل المتأينة ولهذا فإنها تتفاعل بشدة مع ازرق الألسيان والملونات القاعدية الأخرى.

- **صبغات قابلة للانحلال بالشحوم** Lipid soluble dyes : لتجنب خطوات التحضير النسيجي التي تؤدي إلى إزالة الشحوم كالمعالجة بالحرارة و الكزيلول و البرافين، تستخدم مقاطع نسيجية مجمدة تغمر في محاليل كحولية مشبعة بصبغة محبة للشحوم كصبغة السودان الأسود .تنحل الصبغة في قطيرات الشحم الخلوية و البنى الأخرى الغنية بالشحم و تصبح ملونة بالأسود.

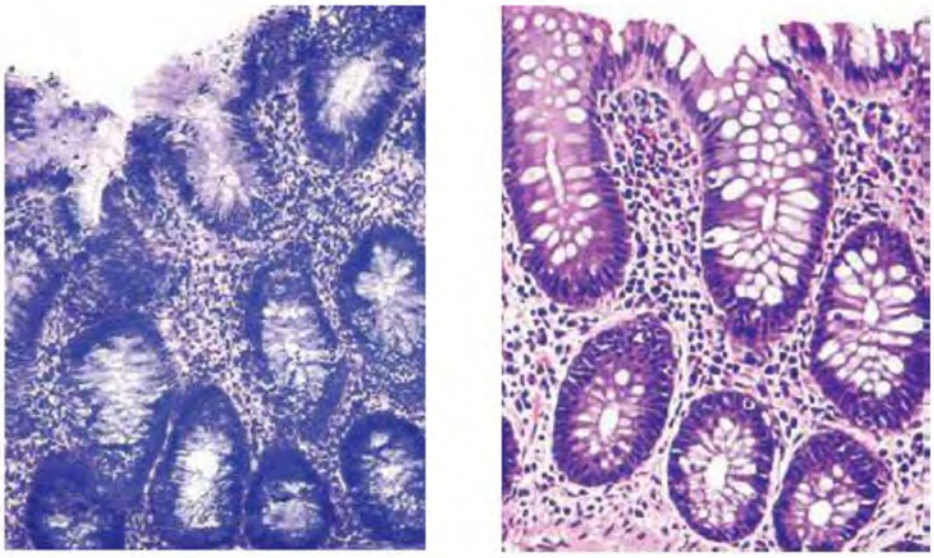
تتجلى أهمية التقنيات المتخصصة **بتحديد أماكن تواجد أو تموضع الكوليسترول** و الشحوم الفوسفورية و الشحوم البروتينية و السكرية في تشخيص الأمراض الاستقلابية التي تتميز بتراكم مختلف أنواع الشحوم داخل الخلايا.

- **تقنيات التشرب بالمعدن** Metal impregnation techniques : تُستخدم **أملاح الفضة** لرؤية ألياف معينة في المطرق خارج الخلوي و مكونات خلوية نوعية في النسيج العصبي.

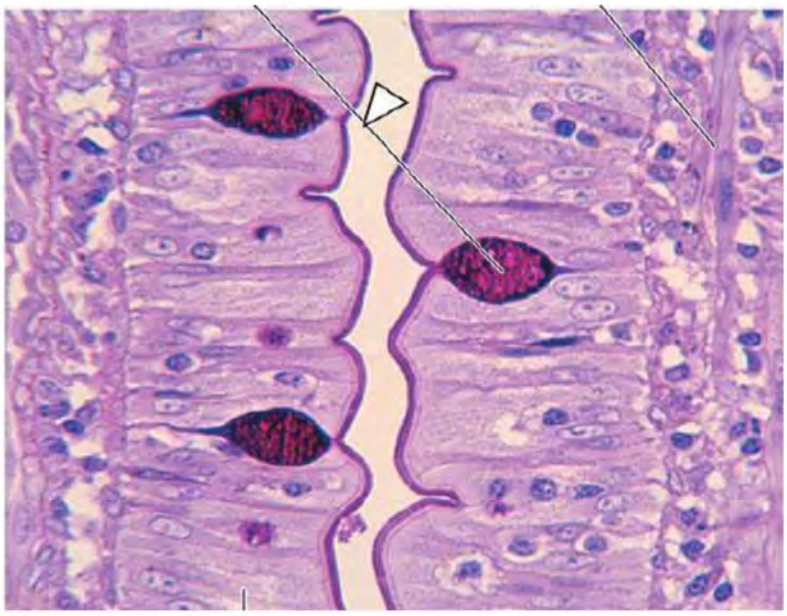




صورة مجهرية لمقطع في النبيب الكلوي ملونة بالهيماتوكسيلين إيوزين H&E



صور لبعض العينات النسيجية الملونة بوساطة H&E.



صورة مجهرية لظهارة اسطوانية مبطنة للأمعاء الدقيقة تفاعل حمض البيروديك شيف(**PAS**) مع البروتينات السكرية

مشاكل دراسة المقاطع النسيجية Problem in the study of tissue sections

- وجود الأشكال غير النموذجية بسبب اختلاف مستويات القطع.
- المنتج الذي يشاهد تحت المجهر هو نهاية سلسلة من العمليات بدأت بتثبيت العينة و انتهت بوضع ساترة على الشريحة.
- تختلف البنى النسيجية المشاهدة تحت المجهر بشكل طفيف عن البنى النسيجية في جسم الكائن الحي.
- تسبب الخطوات العديدة في تقنية تحضير المقاطع النسيجية تشوه Distort في النسيج مشكلة تغيرات أو شذوذات بنيوية تدعى خدعات نسيجية artifact التي تتمثل بـ:

1)إنكماش الجزئي للخلايا :

بسبب المحاليل العضوية التي توضع فيها الأنسجة (الكحول الذي يمتص الماء) أو الحرارة المستخدمة في عملية إدماج البرافين، ويؤدي الإنكماش لظهور فراغات مصطنعة (زائفة) بين الخلايا ومكونات النسيج الاخرى.

2)التلوين:

الخلية تتكون من حجرتين النواة والهيولى ولا تتلون جميع العضيات في الخلية باستخدام ملون واحد، لذلك نكون بحاجة لملونات متعددة لإظهار صفات مختلفة في الخلايا.

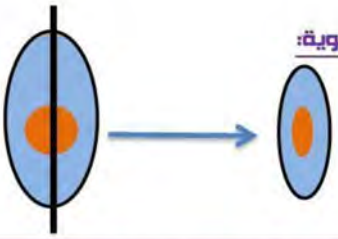
3)غياب البعد الثالث:

لأننا نفحص الخلية تحت المجهر ببعدين (نصفي القطر أو الطول والعرض وذلك حسب الشكل) فيجب على الشخص عند فحص أي مقطع نسيجي أن يضع نصب عينيه بأن شي ما مفقود أمام أو خلف المقطع النسيجي، لأن العديد من البنى النسيجية تكون أكثر سماكة من المقطع النسيجي.

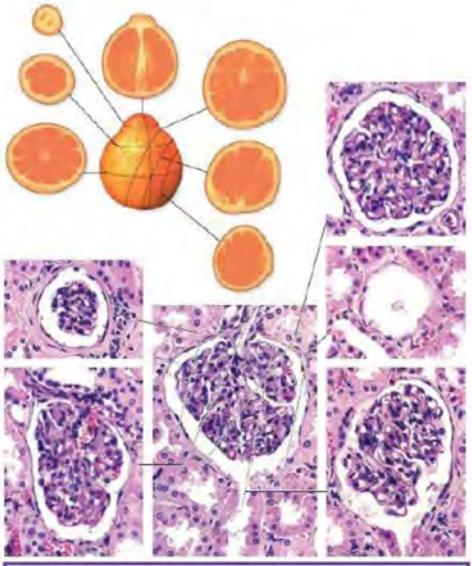
4)مستوى القطع:

الخلية بيضوية لكن القطع ليس بمستوى النواة :

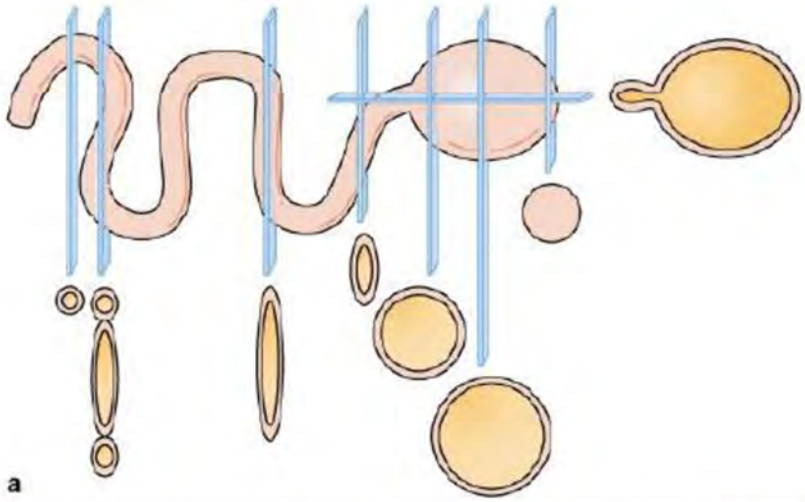
القطع بمستوى النواة و الخلية بيضوية:



فنسبة الخلايا التي نراها في المقاطع النسيجية والتي تكون بالشكل النموذجي الموجود في الكتب 25% أو أقل.

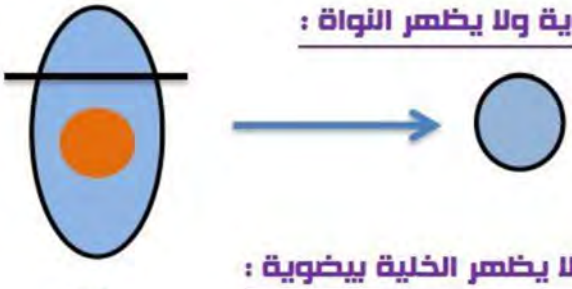


صورة توضح تأثير مستوى القطع في ما نراه تحت المجهر



صورة للأنابيب المعوجة بالعين المجردة و المقاطع حيث تختلف باختلاف مستوى القطع (بيضوي - دائري -متطاولل)

المقطع لا يظهر الخلية بيضوية ولا يظهر النواة :



القطع بمستوى النواة ولكن لا يظهر الخلية بيضوية :

أنواع المجاهر:

المجهر الضوئي Light Microscope: يعتمد المجهر الضوئي على تركيز الضوء على الشيء المراد فحصه و تفاعل حزمة الضوء مع المكونات الخلوية في العينية فيسهل بذلك الكشف عن العينية المراد فحصها .هذا بالإضافة إلى كونه أداة تكبير تعمل على مرحلتين : تقوم العدسة الجسمية بالتكبير الأولي، ثم تقوم العدسة العينية بتكبير الصورة الأولية مرة ثانية.

يتألف المجهر الضوئي من جزئين :

- **ميكانيكي:** مكون من قاعدة، حامل، ضوابط صغيرة وكبيرة، لوحة متحركة، مخروط حامل للعدسات، أنبوبين للعدسات العينية
- **بصري:** يحتوي على ثلاث مجموعات من العدسات وهي المكثف والعدسة الجسمية والعدسة العينية.

يجمع المكثف الضوء ويركزه، فينتج عنه مخروط من الضوء يضيء الشيء المراد فحصه.
تقوم العدسات الجسمية بتكبير وإظهار الصورة المضيئة للشيء باتجاه العدسة العينية .تكبر العدسة العينية أيضاً هذه الصورة وتبرزها إلى شبكية الشخص الفاحص أو على صفيحة تصويرية أو على الكشاف للحصول على صورة رقمية.
يمكن حساب التكبير الإجمالي من خلال حاصل ضرب القوة التكبيرية للعدسة الجسمية مع العدسة العينية.

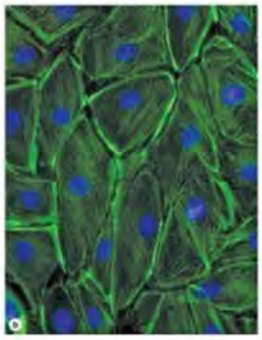
القدرة التمييزية Resolving Power:

هي أصغر مسافة يمكن تمييزها بين شيئين منفصلين، كالمسافة بين متقدرتين، وتعتمد جودة الصورة ووضوحها وغناها بالتفاصيل على القدرة التمييزية، وتقدر بحوالي 0,2 مكرون في المجهر الضوئي.

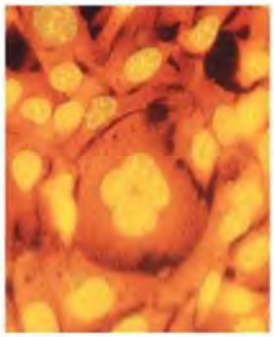
صورة توضيحية لمجهر ضوئي

المجهر المتألق Flourescence Microscope :

- ✓ عند تعرض مواد معينة للإشعاعات من ضوء ذو موجات محددة الطول يصدر عنها ضوء ذو موجات أطول تدعى هذه الظاهرة بالتألق Flourescence
- ✓ يُستخدم في المجهر المتألق إما ضوء فوق البنفسجي أو ليزر لذا تظهر المواد متألقة بشكل متوهج أو ملون في أرضية داكنة.
- ✓ تستخدم عادة مركبات متألقة (كالصبغات المتألقة) تتحد مع الجزيئات الكبيرة في الخلية فمثلا تتحد مادة الأكردين البرتقالي مع DNA وRNA، و عند مشاهدتها بالمجهر المتألق يظهر معقد DNA أكردين البرتقالي على شكل ضوء أصفر مخضر، بينما يصدر معقد RNA و الأكردين البرتقالي ضوءاً أحمر برتقالي، وبذلك يمكن معرفة مكان توضع الأحماض النووية في الخلية.



DAPI (4',6-diamino-2-phenylindole) and with phalloidin

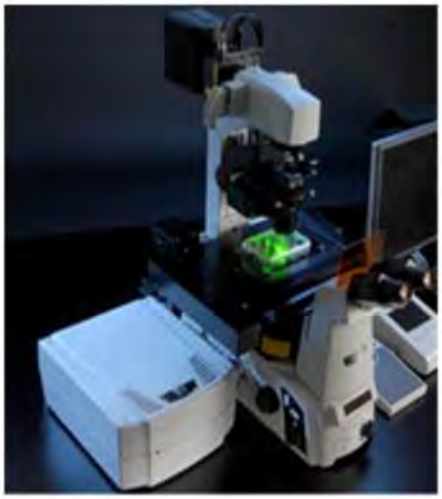


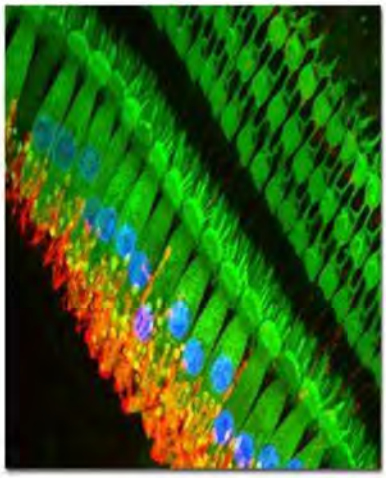
acridine orange

Figure 1

المجهر متحد البؤر Confocal Microscope

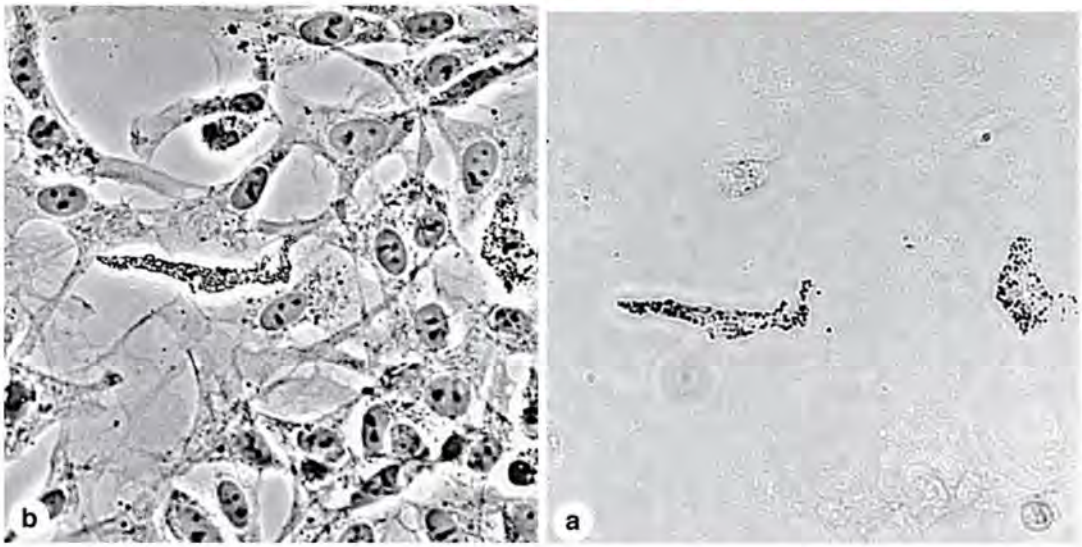
يعتمد هذا المجهر على إضاءة العينة بحزمة ضوئية صغيرة جداً من أشعة الليزر يمر في ثقب موجود في الصفيحة إلى كاشف للصور بينما في المجهر الضوئي تكون الحزمة الضوئية كبيرة وتغمر العينة الخلوية بالكامل.





المجهر متباين الطور Phase-contrast Microscope :

يعتمد المجهر المتباين الطور على تغير سرعة حزم الضوء أثناء مرورها في التراكيب البنيوية الخلوية وخارج الخلوية بمعامل انكسار مختلفة حيث تظهر التغيرات في التراكيب البنيوية أكثر داكنة أو أكثر شحوبا مما يجعل هذا المجهر أداة قوية لمشاهدة الخلايا الحية . يُستخدم في المجهر متباين الطور مجموعة من العدسات تنتج صور مرئية من أشياء شفافة كالعينات البيولوجية غير الملونة . لذا يستخدم لمشاهدة الخلايا الحية والمزارع الخلوية فهو من الأدوات المهمة في جميع مخابر المزارع الخلوية والنسجية.



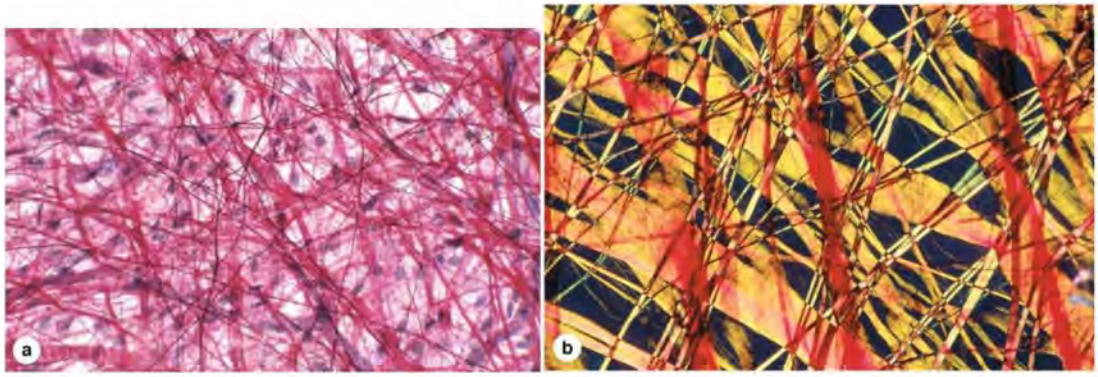
نمو خلايا العرف العصبي في المزارع الخلوية: a في المجهر الضوئي b في المجهر متباين الأطوار تظهر صفات كل الخلايا

المجهر المستقطب Polarizing Microscope :

يسمح المجهر المستقطب بتميز البنى المكونة من جزئيات منتظمة للغاية كالسيللوز والكولاجين والنبيبات الدقيقة والخيوط الدقيقة.

فعند عبور الضوء الطبيعي من خلال مرشح مستقطب (كمادة البولاريود Polariod) يخرج الضوء مذبذباً باتجاه واحد، إلا أنه عند فحص البنى النسجية المكونة من جزيئات كبيرة عالية

التوجه بين مرشحين مستقطبين فإن بنيتها المتتالية تقوم بتدوير محور الضوء المنبثق من المقطاب Polarizer وتظهر كبنى متوهجة في ساحة مجهرية مظلمة .



a ألياف كولاجينية في المجهر الضوئي ذات لون أحمر مع ألياف مرنة داكنة ونوى خلوية

b تظهر الألياف الكولاجينية ثنائية الانكسار في المجهر المستقطب بلون أحمر لامع أو أصفر ولا تظهر الألياف المرنة ونوى الخلايا لأنها خالية من الجزيئات الكبيرة عالية التوجه

المجهر الالكتروني Electron Microscopy:

يعتمد هذا النوع من المجاهر على تفاعل الالكترونات مع المكونات النسيجية وله نوعان:

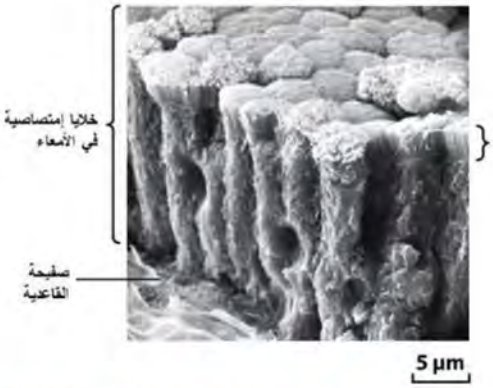
المجهر الالكتروني النافذ Transmission Electron Microscope

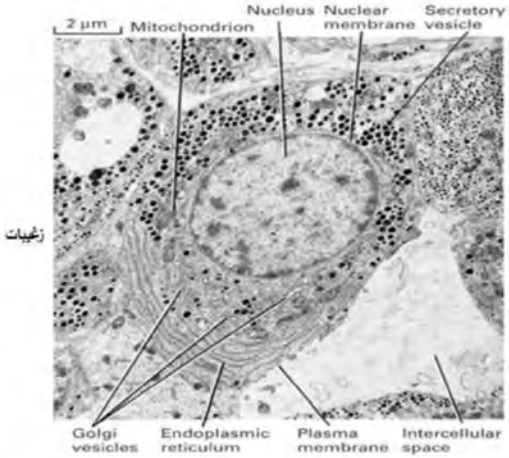
المجهر الالكتروني الماسح Scanning electron Microscope

المجهر الإلكتروني النافذ TEM	المجهر الإلكتروني الماسح SEM
يسمح برؤية التفاصيل الدقيقة في العينة بأبعاد ثنائية، وقدرته التمييزية من الناحية النظري تصل لـ 0,05 نانومتر، وعمليا إلى 1-10 نانومتر	يسمح برؤية ثلاثية الأبعاد للعينة المدروسة، وقدرته التمييزية أقل من نظيره النافذ.
يعتمد على مبدأ تفاعل الإلكترونات مع المكونات الخلوية ومتابعة مسارها، وبعضها يمر دون تفاعل فيصل عدد كبير منها إلى العدسات الجسمية ثم لعدسات أخرى.	يعتمد على انعكاس الإلكترونات عن سطح العينة، والتي تكون مغطاة بطبقة من ذرات معدنية صعبة الاختراق من قبل الإلكترونات.
تستقبل الإلكترونات على شاشة متألقة في كلا النوعين وموصولة لحاسوب	

SEM

TEM





الكيمياء النسيجية والكيمياء الخلوية Histochemistry & Cytochemistry:

تُستخدم هذه الطريقة لتحديد أو معرفة تموضع البنى الخلوية في المقاطع النسيجية عن طريق استخدام النشاط الأنزيمي في هذه البنى أو عن طريق تفاعلات الانجذاب الشديدة بين الجزيئات، وعند الكشف عن النشاط الانزيمي يتم استخدام أنسجة غير مثبتة او مثبتة بشكل طفيف

للمحافظة على أنزيمات هذه التقنية، ويستخدم المقطاع الثلجي لتجنب تأثيرات الحرارة والبارافين على النشاط الأنزيمي.

تشمل آلية عمل الانزيم في الكيمياء النسيجية ما يلي:

1- تُغمر المقاطع النسيجية في محلول يحتوي على مادة كاشفة للأنزيم المراد معرفة مكان وجوده.

2- يُسمح للأنزيم بالتفاعل مع المادة الكاشفة.

3- يُوضع المقطع النسيجي بعدها في وسط يحوي مادة موسومة.

4- تتفاعل المادة الموسومة مع الجزيئة الناتجة عن تفاعل الأنزيم والمادة الكاشفة.

5- ينتج عن التفاعل مادة غير منحلة تترسب فوق الأماكن الحاوية على الأنزيم وتبدو عندها هذه الأماكن بالمجهر الضوئي أو الالكتروني مغطاة بملون أو مادة كثيفة إلكترونياً.

فمثلا يمكن الكشف عن **أنزيم الفوسفاتاز Phosphatase** باستخدام فوسفات الرصاص أو كبريتات الرصاص كمادة تتفاعل مع الفوسفاتاز الحمضي في الجسيمات الحالة.

الشوارد Ions : يمكن الكشف أو معرفة توضع العديد من الشوارد (مثل الكالسيوم ، الحديد ، الفوسفات)باستخدام تفاعلات كيميائية تؤدي إلى ظهور مركب داكن غبر منحل في الأنسجة.

الأحماض النووية: يتم تحديد موضع و كمية الـ DNA: من خلال استخدام تفاعل فيولجين Feulgen reaction حيث يظهر DNA بلون أحمر.

قليل السكاريد و متعدد السكاريد : يستخدم تفاعل حمض البيروديك شيف (PAS) للكشف عن الغليكوجين و البروتينات السكرية كالمخاط في الخلايا.

الشحوم: تستخدم محاليل كحولية مشبعة بالملونات، كالسودان الأسود والذي ينحل في قطِرات الشحم الخلوية و تصبح ملونة بالأسود.

التطبيقات الطبية: تستخدم العديد من الطرائق الكيميائية الخلوية بشكل روتيني لتشخيص الأمراض للكشف عن أمراض اختزان الحديد والغليكوجين ومعرفة تموضع مكان الكوليسترول

والاستيرات والليبيدات الفوسفورية و الليبيدات البروتينية في الخلايا لتشخيص الأمراض الاستقلابية.

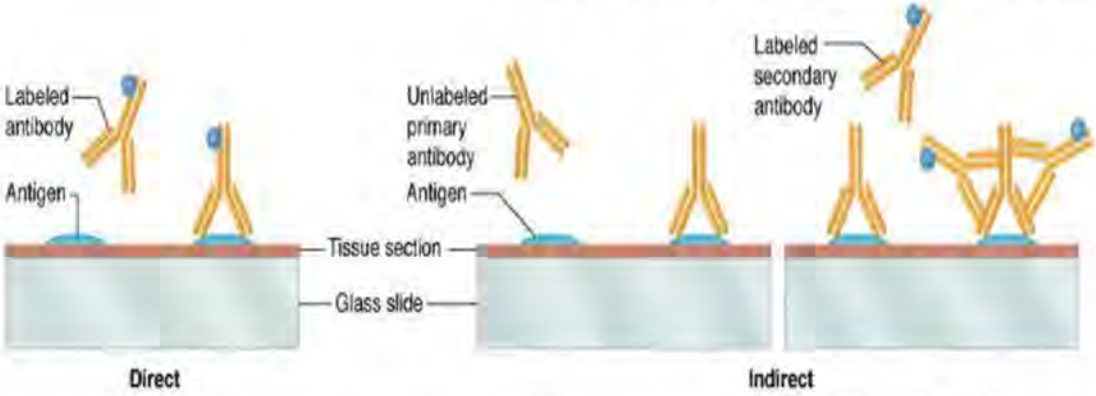
تقنية الكيمياء المناعية النسيجيةImmunohistochemistry :

تعتمد هذه التقنية على التفاعل بين المستضد antigens والضد antibody وتعد من أكثر التفاعلات النوعية بين الجزيئات، ولهذا السبب أصبحت تقنيات الأضداد الموسومة ذات أهمية بالغة في معرفة أماكن توضع العديد من البروتينات.

ولذلك يجب توفر ضد للبروتين المراد الكشف عنه لإجراء المناعة الكيميائية الخلوية، ولتحقيق ذلك يجب عزل البروتين وتنقيته بتقنيات بيوكيميائية قبل إنتاج الأضداد، ويتم الكشف بطريقتين:

المناعة الكيميائية الخلوية المباشرة: يوسم الضد (وحيد أو متعدد النسيلة)بواسم مناسب و يحضن المقطع النسيجي بالضد الموسوم لبعض الوقت ليتفاعل و يرتبط الضد الموسوم مع بروتينX ثم يفحص المقطع مجهرياً لمعرفة مكان توضع هذا البروتين.

المناعة الكيميائية الخلوية غير المباشرة: أكثر حساسية وتتطلب استخدام ضدين وخطوات أخرى، فبدلاً من وسم الضد مباشرةً يوسم ضد ثانوي منتج من حيوان آخر ويمثل ضد مضاد للغلوبولين المناعي الذي ينتمي إليه الضد الأولي.



التطبيقات الطبية: تتجلى أهمية المناعة الكيميائية الخلوية في بحوث بيولوجيا الخلية والأنسجة وفي التشخيص المخبري للعديد من الأورام والسرطانات والأمراض.

تقنية التصوير الإشعاعي الذاتيAutoradiography

هي طريقة تستخدم لتحديد أماكن تموضع الجزيئات الكبيرة المصنعة حديثاً كالـ DNA وRNA والبروتينات والبروتوغليكانات وعديدات السكاريد في المقاطع الخلوية والنسيجية، حيث تجمع هذه الطريقة بين الكيمياء النسيجية واستخدام العناصر المشعة.

تقدم هذه التقنية الكثير من المعلومات حول أماكن تموضع المشعات في الخلايا والأنسجة، فمثلا يمكن استخدام الطلائع المشعة للـ DNA كالتيميدين المشع لمعرفة نوع وعدد الخلايا الجاهزة للانقسام في النسيج.

تقنية التهجين Hybridization techniques

التهجين هو عبارة ارتباط بين سلسلتين مفردتين من الحموض النووية DNA مع DNA أو RNA مع RNA أو DNA مع RNA التي تتعرف على بعضها إذا كانت سلاسل متممة.

يسمح التهجين بالكشف عن تسلسلات نوعية في ال DNA وRNA وتحديد مكان جين في صبغي معين.