فصل ۱: مقدمات بافت‌شناسی ۵
فصل ۲: سلول The Cell ۱۱
فصل ۳: بافت پوششی - Epithelial tissue ۱۳
فصل ٤: بافت همبند Connective Tissue بافت چربی Adipose tissue ۲۰
فصل ٥: خون Blood ۲۷
فصل ٦: بافت غضروف Cartilage tissue ۳۲
فصل ۷: بافت استخوان Bone Tissue و مفصل (Joint) ۳٤
فصل ۸: بافت عضلانی Muscle Tissue ۳۹
فصل ۹: بافت عصبی Nervous Tissue ٤۳
فصل ۱۰: دستگاه گردش خون (Circulatory System) ٥۳
فصل ۱۱: بافت و ارگان‌های لنفوئیدی Lymphoid Tissues & Qrgans ٥۸
فصل ۱۲: دستگاه تنفس Respiratory system ٦٤
فصل ۱۳: دستگاه گوارش The digestive system ٦۹
فصل ۱٤: دستگاه ادراری The Urinary system ۱۱٤
فصل ۱٥: دستگاه تناسلی مرد Male Genital system ۱۱۹
فصل ۱٦: دستگاه تناسلی زن Female Reproductive system ۱۲٥
فصل ۱۷: غدد درون‌ریز Endocrine glands ۱۳۳
فصل ۱۸: پوست The Skin ۱۳۹
فصل ۱۹: حواس ویژه (چشم The Eye - گوش The Ear) ۱٤٤

www.abadisteb.pub

مقدمات بافت‌شناسی

بافت‌شناسی علم بررسی ساختار میکروسکوپیک سلول، بافت‌ها و اعضاء سالم می‌باشد. بدن انسان از بافت‌های گوناگون شامل پوششی، همبند، عضلانی و عصبی تشکیل شده است. هر بافت از دو جزء مهم سلول و ماتریکس خارج سلولی تشکیل‌یافته است. از ترکیب بافت‌های مختلف بدن اعضاء (organs) تشکیل می‌شوند. متداول‌ترین روش مطالعه بافت‌های بدن تهیه و بررسی برش‌های بافتی و استفاده از میکروسکوپ نوری معمولی می‌باشد.

آماده‌سازی بافت‌ها جهت مطالعات میکروسکوپی

مقاطع بافتی برای مطالعه با میکروسکوپ نوری باید مراحل آماده‌سازی بافتی (Tissue Processing) (شکل F 1-1) را طی کنند. برش‌های مورد مطالعه در آزمایشگاه بافت‌شناسی، از حیوانات آزمایشگاهی و گاهاً جسد انسان به‌دست‌آمده و طی مراحل زیر لام آزمایشگاهی برای مطالعه آماده می‌گردد.

- *ثابت سازی Fixation*: برای جلوگیری از تخریب و لیز بافت توسط آنزیم‌های رهاشده از سلول‌ها و موجودات میکروسکوپی و همچنین حفظ ساختار بافت، نمونه‌های مناسب تهیه شده از بدن، در محلول‌های ثبوت یا فیکساتیو (ترکیباتی که با پروتئین‌های غشاء ایجاد اتصال متقاطع می‌کنند)، غوطه‌ور می‌گردند. در آزمایشگاه بافت‌شناسی برای تهیه مقاطع، برش کوچکی از بافت یا عضو موردنظر نمونه‌برداری شده و در محلول ثبوت (فرمالین ۵ یا ۱۰ درصد) قرار می‌گیرد تا ثابت شود. به منظور ثابت‌کردن بافت‌ها، حداقل به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت، در محلول فیکساتیو قرار می‌گیرند. متداول‌ترین نوع ثابت‌کننده برای میکروسکوپ نوری فرمالین و جهت میکروسکوپ الکترونی محلول گلوتارآلدئید و تتراکسیداسمیوم بافر شده می‌باشد.
- *آب‌گیری Dehydration*: بافت‌ها بطور طبیعی دارای مقداری آب هستند که اگر از بافت خارج نگردد، مانع نفوذ برخی از مواد آماده کننده مانند پارافین به داخل بافت می‌گردد. در مرحله آب‌گیری، با شست‌وشوی پی‌درپی قطعات فیکس شده در محلول‌های افزایشی اتانول (۳۰ تا ۱۰۰ درصد) آب سلول خارج می‌گردد.
- *شفاف کردن Clearing*: پس از مرحله آبگیری جهت شفاف کردن ، یک حلال با قابلیت مخلوط شدن با الکل و ماده قالب‌گیری، جایگزین اتانول می‌شود. بدین منظور بافت داخل محلول‌هایی مانند کلروفرم، بنزن، گزیلل و تولوئن قرار داده می‌شود. متداول‌ترین شفاف‌کننده گزیلل می‌باشد.
- *آغشته سازی Infiltration*: در این مرحله نمونه را در داخل پارافین مذاب قرار می‌دهند تا پارافین به داخل بافت نفوذ کند و تهیه برش‌های نازک امکان پذیر باشد. پارافین در دمای اتاق جامد است و در حرارت ۶۰-۵۸ درجه به صورت مذاب در می‌آید. جهت مطالعه با میکروسکوپ الکترونی از رزین استفاده می‌شود. تا این مرحله از آماده سازی بافت، هم بطور دستی و هم بطور اتوماتیک توسط دستگاهی به نام Tissue Processor امکان‌پذیر است (شکل A 1-1).
- *قالب‌گیری Embedding*: بافت همراه با پارافین موجود در آن پس از خروج از آون، قالب‌گیری می‌شود. برای قالب‌گیری

www.abadisteb.pub

از ظرف‌های مخصوصی استفاده می‌شود. این ظرف‌ها انواع مختلف دارند؛ ولی معمولاً از قالب لوکهارت استفاده می‌شود این قالب‌ها از دو قطعه فلز برنجی یا آلومینیومی درست شده است که وقتی کنار هم قرار می‌گیرند شکل یک چهارگوش را درست می‌کنند. امروزه برای قالب‌گیری از ظرف‌های پلاستیکی بدون درب (تیشوکاست) هم استفاده می‌شود (شکل C ۱-۱). ظرف قالب‌گیری زیر شیر ریزش پارافین دستگاه پارافین دیسپنسر قرار می‌گیرد و مقدار بسیار کمی پارافین در داخل قالب ریخته می‌شود (شکل B ۱-۱). سپس بافت داخل لایه پارافین بسته شده قرار گرفته و تیشوتک پلاستیکی بدون درب داخل آن قرار گرفته و پارافین به مقدار لازم داخل آن ریخته می‌شود.

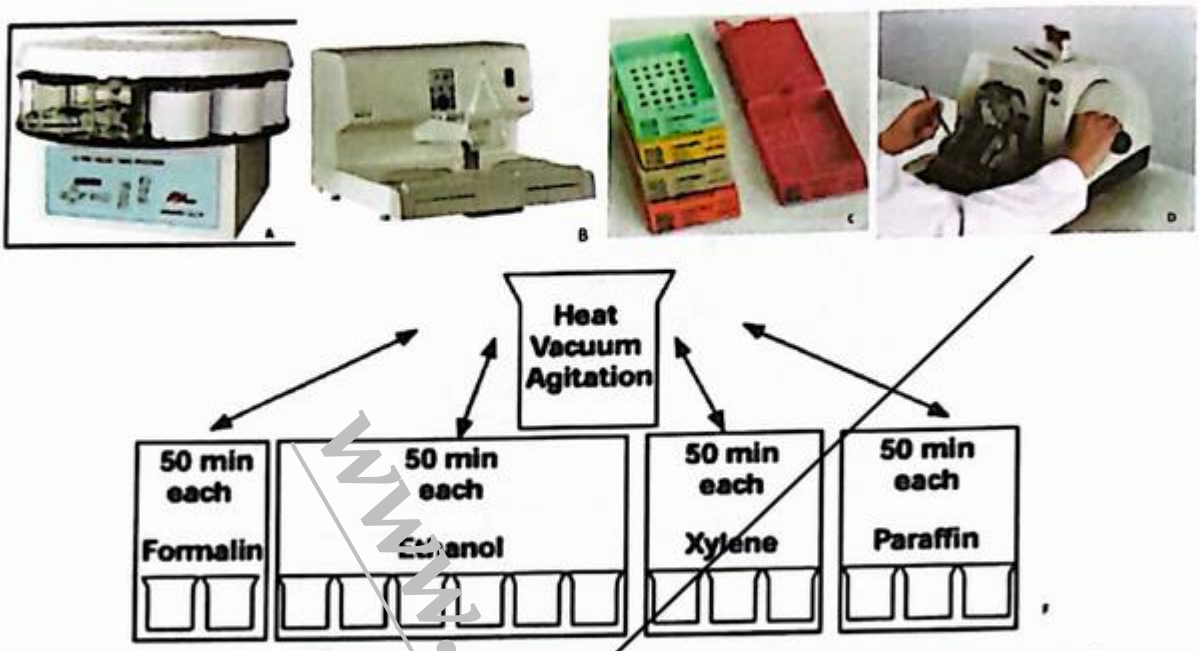
بافت‌هایی که با رزین پلاستیکی قالب‌گیری می‌شوند نیز در اتانول آب‌گیری شده و با حلال‌های پلاستیکی که با اضافه‌شدن پلیمرازهای با پیوندهای متقاطع سخت می‌شوند، تحت نفوذ (Infiltration) قرار می‌گیرند. قالب‌گیری با پلاستیک از چروکیدگی و به‌هم‌ریختگی بافت که درنتیجه حرارت زیاد لازم برای قالب‌گیری با پارافین استفاده می‌شود، جلوگیری می‌کند. قالب‌های پارافینی یا رزینی برای سالیان طولانی قابل نگهداری در محیط آزمایشگاه بوده و می‌توان بعداً از آن‌ها برش تهیه نمود.

- برش گیری Sectioning: قالب‌های حاوی بافت و پارافین اطراف آن، برای مقطع‌گیری در دستگاهی به نام میکروتوم قرار می‌گیرد (شکل D ۱-۱). به طور معمول برای مطالعه با میکروسکوپ نوری بافت به قطعاتی با ضخامت ۱۰-۳ میکرومتر برش می‌خورد و روی لام شیشه‌ای (Slide) قرار می‌گیرد، درحالی‌که برای مطالعه با میکروسکوپ الکترونی مقاطعی با ضخامت کمتر از ۱ میکرومتر ایجاد می‌شود. بعضی کارشناسان آزمایشگاه قبل از برش‌گیری پیرایش (Trimming) قالب پارافینی را انجام می‌دهند. در پیرایش قالب پارافین از همه طرف برش داده می‌شود تا بافت در سطحی قرار گیرد که بتوان بخش موردنظر بافت را به‌راحتی یافته و برش داد. هدف از پیرایش، ایجاد یک سطح صاف و یکنواخت در ناحیه موردنظر در بافت است، به‌طوری‌که بافت‌شناسان هنگام تلاش برای به‌دست‌آوردن بخش‌های خوب نمونه مجبور نباشند تا عمق بلوک پارافین پیش بروند، ضمناً در مصرف پارافین هم صرفه‌جویی خواهد شد.
- *چسباندن Adhesion*: در این مرحله، جهت چسبیدن نمونه‌ها به لام، برش‌های تهیه شده روی لام آغشته با چسب آلبومین یا ژلاتین قرار داده می‌شود. پس از این مرحله، نمونه آماده رنگ آمیزی می‌باشد.
- *رنگ‌آمیزی Staining*: مقاطع تهیه‌شده جهت مطالعات میکروسکوپی، باید رنگ‌آمیزی شوند. معمول‌ترین روش رنگ‌آمیزی هماتوکسیلن - ائوزین (H- Eosin &Hematoxylin) می‌باشد. در این روش معمولاً سیتوپلاسم قرمز تا صورتی و هسته آبی تا بنفش‌رنگ می‌شود.
- پوشانیدن Mounting: مقاطع رنگ‌شده جهت مشاهده زیر میکروسکوپ توسط لامل پوشانده می‌شود. پس از چسبانیدن یک لامل (Coverslip) بر روی مقطع و خشک‌کردن آن، این مجموعه که نمونه (Specimen) خوانده می‌شود برای استفاده و مطالعه میکروسکوپی آماده است. این لام‌ها برای سالیان طولانی قابل نگهداری و استفاده هستند.

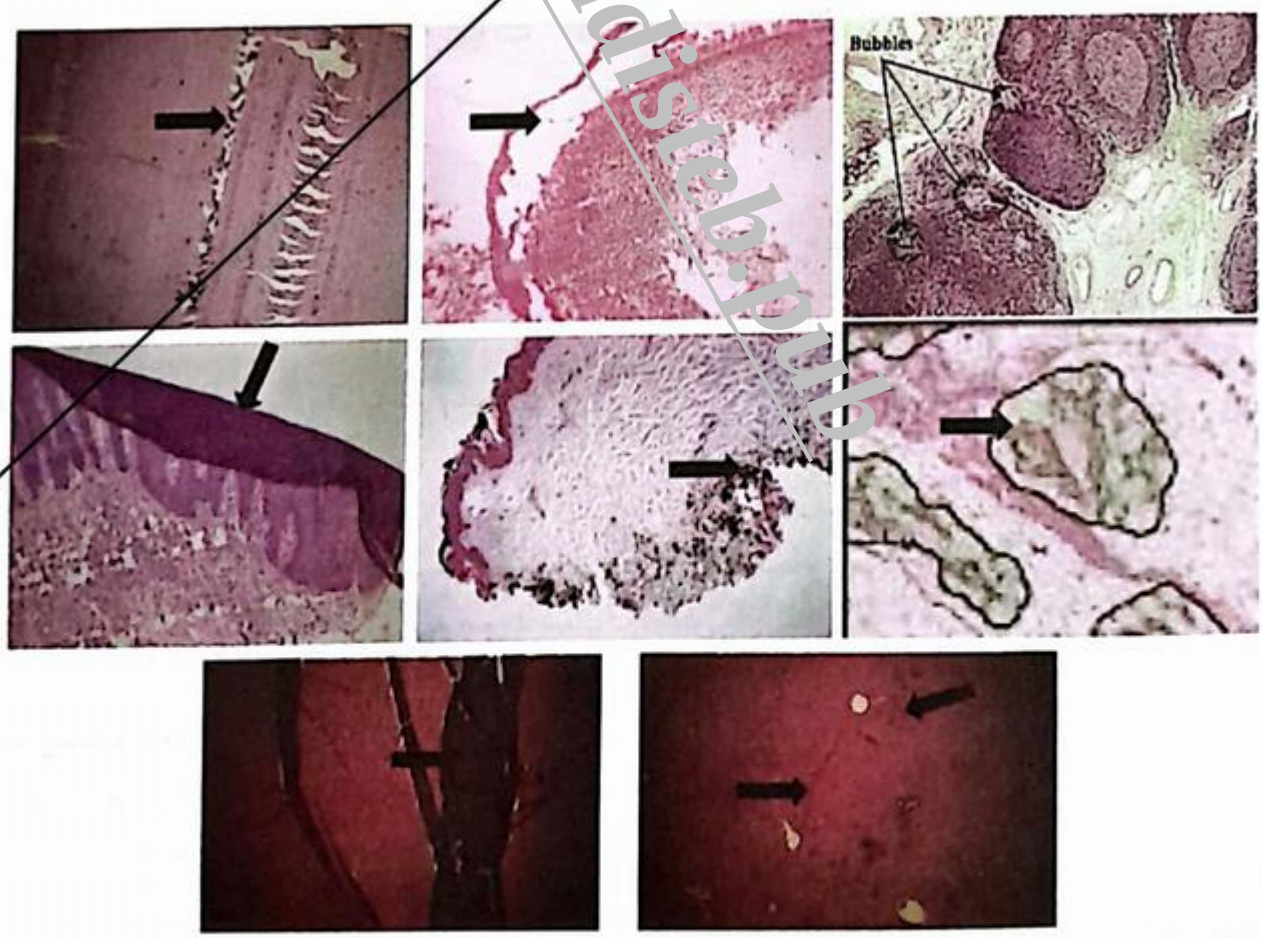
مشکلات موجود در مطالعه مقاطع بافتی (Artifacts)

گاهی ممکن است در هنگام تهیه مقاطع، رسوب رنگ بر روی برش‌ها باقی بماند و یا به هنگام تهیه برش توسط میکروتوم چین‌خوردگی (Fold)، فشردگی (Shrinkage)، شکاف (Nick in knife)، تشکیل حباب، له‌شدگی و غیره در بعضی مقاطع به وجود آید، در این صورت مناظر غیرطبیعی در زیر میکروسکوپ ایجاد می‌شود. این‌چنین عیب‌های تکنیکی را اصطلاحاً آرتیفکت (Artefact or Artifact) می‌نامند (شکل ۲-۱).

www.abdisteb.pub

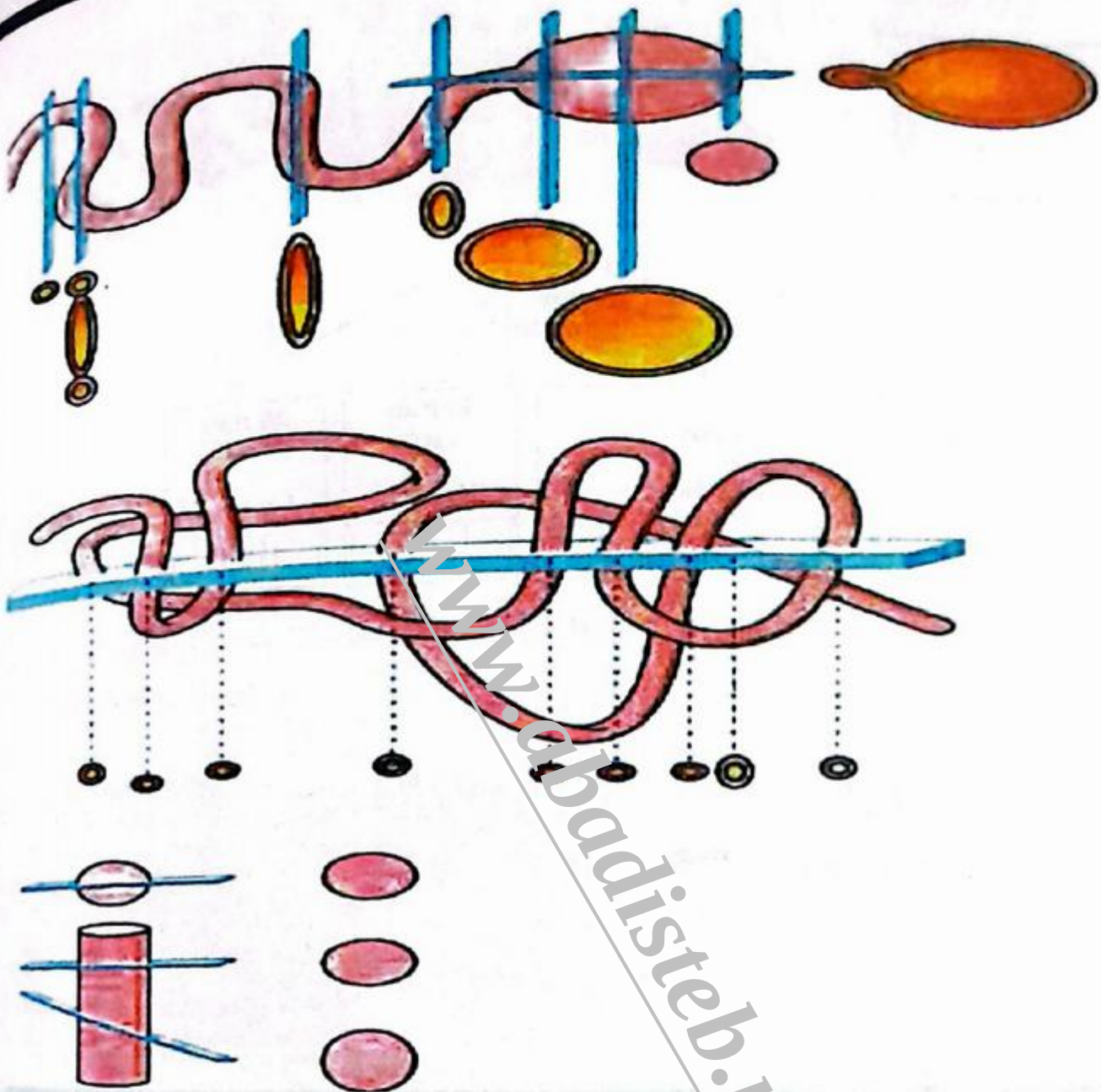


شکل ۱-۱. آماده‌سازی بافت: A) دستگاه پاساژبافتی- B) بارانر- C) تیشو کاست- D) میکروتوم- F) مراحل آماده‌سازی نمونه



شکل ۲-۱. آرتیفکت‌ها: در برش‌های فوق پارگی، شکاف، تشکیل حباب در بافت، تاخوردگی، رسوب رنگ، تشکیل حباب ناشی از چسب، کثیفی لام ناشی از گرد و غبار دیده می‌شود.

www.abadisteb.pub



شکل ۳-۱. برش‌های مختلف از یک ساختار سه‌بعدی

www.abadisteb.pub

همانطور که می‌دانید در تهیه برش و لام در بافت شناسی از ساختارهای سه‌بعدی، تصاویر دوبعدی در زیر میکروسکوپ دیده می‌شود که معمولاً در هنگام تهیه برش بافتی مخصوصاً برش از رگ‌ها و مجاری در سطوح و جهات مختلف، مناظر گوناگونی به وجود می‌آید. در شکل ۳-۱، به صورت شماتیک نمایش داده شده است.

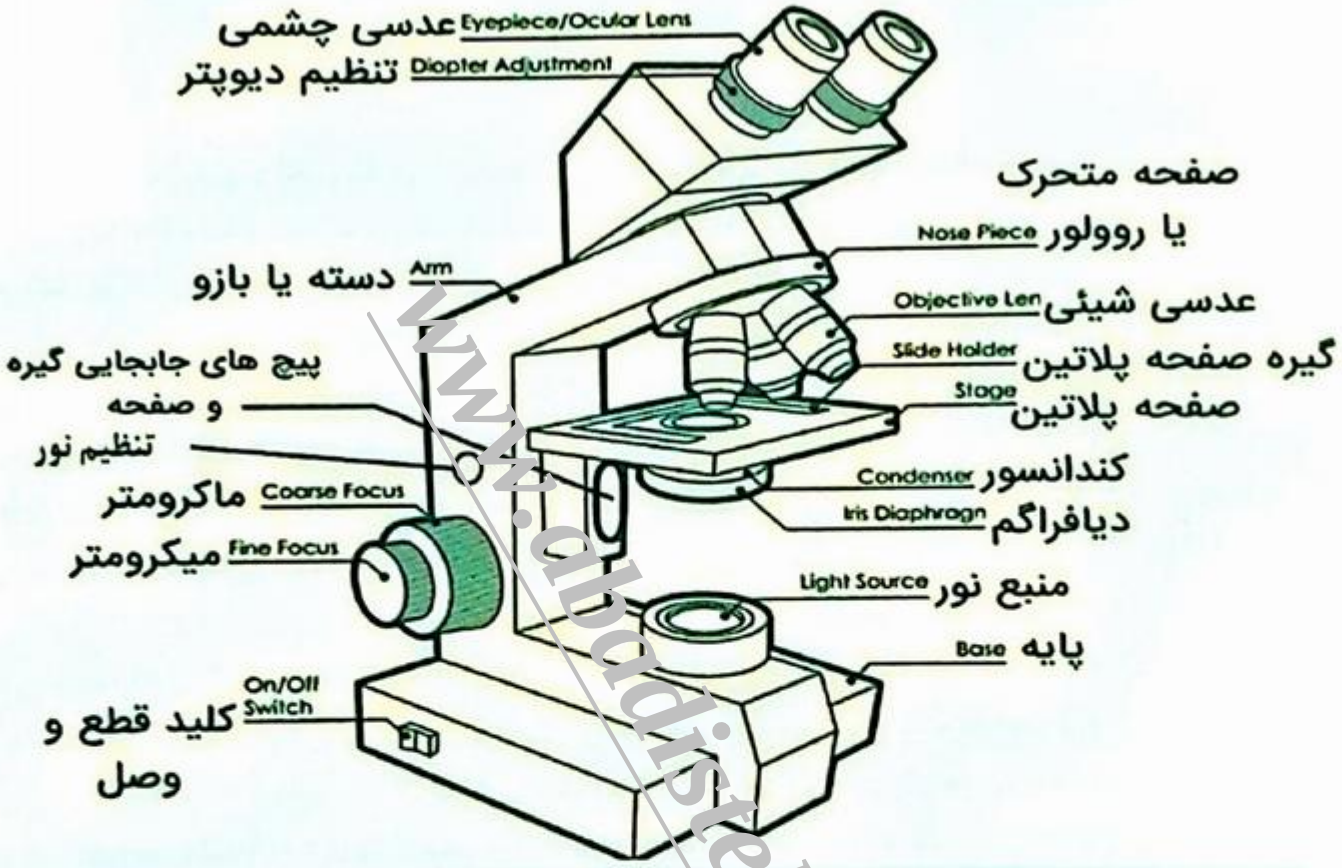
میکروسکوپ نوری

برای بررسی و آموزش بافت‌های بدن، اغلب از میکروسکوپ نوری معمولی (Light Microscope) استفاده می‌شود (شکل ۳-۱). میکروسکوپ نوری شامل دو بخش اصلی مکانیکی و نوری است.

بخش مکانیکی میکروسکوپ شامل پایه، بدنه میکروسکوپ، پیچ تنظیم بزرگ و کوچک (ماکرومتر و میکرومتر)، صفحه نگهدارنده لام (stage)، صفحه چرخان لنزها، بالا و پایین برنده کندانسور و پیچ تنظیم صفحه می‌باشد.

بخش نوری میکروسکوپ شامل قسمت متراکم‌کننده (Condenser) که نور را جمع و متمرکز می‌کند، عدسی‌های شیئی

اجزای میکروسکوپ نوری



شکل ۴-۱. میکروسکوپ نوری و اجزای تشکیل دهنده آن

(Objective) که تصاویر را بزرگ کرده و آن را در امتداد عدسی چشمی قرار می‌دهد و عدسی‌های چشمی (Ocular) تصاویر را بزرگ‌تر کرده و آن‌ها را بر روی شبکیه چشم منعکس می‌کنند.

برای قراردادن نمونه در زیر میکروسکوپ ابتدا گیره نگهدارنده لام را بازکرده و لام را به حالتی که لامل و برچسب آن به سمت بالا باشد، روی صفحه قرار داده و به‌آرامی گیره کنار لام قرار داده می‌شود. گیره نگهدارنده، لام را بر روی صفحه ثابت نگه می‌دارد. صفحه را می‌توان با دسته موجود در کنار آن که دارای دوپیچ است به‌طرف راست و چپ، عقب و جلو حرکت داد.

با روشن شدن میکروسکوپ نور از طریق کندانسور و دیافراگم به نمونه تابیده می‌شود. در میکروسکوپ‌ها با کلید تنظیم‌کننده می‌توان نور را کم و زیاد کرد. دو عدسی چشمی را با فاصله چشم خود تنظیم کرده و در فاصله‌ای قرار داده می‌شود که تصویر دو دایره در زیر میکروسکوپ بر هم منطبق و کاملاً یکی شود.

بر روی پایه میکروسکوپ دوپیچ تنظیم بزرگ و کوچک قرار دارد که صفحه را به بالا و پایین حرکت می‌دهد و تصویر را واضح می‌کند. پیچ تنظیم بزرگ(ماکرومتر) با سرعت بیشتری صفحه را بالا و پایین می‌برد و در هنگام استفاده از عدسی شیئی ×۴ می‌توان از این پیچ استفاده کرد. هنگامی‌که از عدسی شیئی ×۱۰ یا بالاتر استفاده می‌شود باید از پیچ کوچک(میکرومتر) که دارای حرکت آهسته‌تری است، برای تنظیم تصویر استفاده کرد. برای تغییر بزرگ‌نمایی باید عدسی‌های شیئی روی صفحه چرخان را تغییر داد. هرقدر بزرگ‌نمایی بیشتر شود، فاصله عدسی شیئی با لام کمتر می‌شود.

www.abadisteb.pub