

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

روش‌های نوین و تکنیک‌های پیشرفته آزمایشگاهی، هیستوپاتولوژی و ایمونوهیستوشیمی

دکتر پرویز فرزادی‌نیا

دکتر ماریا نظهیری

دکتر آرشد خاکس

www.ketab.ir



دانشگاه علوم پزشکی
و خدمات بهداشتی درمانی بولنهر

به نام خداوند اندیشه و خرد

سرشناسه	فرزادی‌نیا، پرویز، ۱۳۴۳-فرزادی‌نیا، پرویز، ۱۳۵۲ -
عنوان و نام پدیدآور	روش‌های نوین و تکنیک‌های پیشرفته آزمایشگاهی، هیستوپاتولوژی و ایمنوهیستوشیمی / پرویز فرزادی‌نیا، ماریا ظهیری، آرش خاکی.
مشخصات نشر	بوشهر: دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی استان بوشهر، ۱۳۹۹.
مشخصات ظاهری	۱۶۲ص.
شابک	۹۷۸-۶۲۳-۹۷۱۹-۴۶-۶
وضعیت فهرست نویسی	فیبا
موضوع	بافت‌شناسی -- دستنامه‌های آزمایشگاهی
موضوع	Histology -- Laboratory manuals
موضوع	بافت‌ها -- آسیب‌شناسی -- دستنامه‌های آزمایشگاهی
موضوع	Histology, Pathological -- Laboratory manuals
موضوع	ایمنوهیستوشیمی تشخیصی
موضوع	Diagnostic immunohistochemistry
موضوع	آزمایشگاه‌های پزشکی -- وسایل و تجهیزات
موضوع	Medical laboratories -- Equipment and supplies
موضوع	آزمایشگاه‌های آسیب‌شناسی -- وسایل و تجهیزات
موضوع	Pathological laboratories -- Equipment and supplies
موضوع	میکروسکوپ‌ها
موضوع	Microscopes
شناسه افزوده	ظهیری، ماریا، ۱۳۵۵-
شناسه افزوده	خاکی، آرش، ۱۳۵۶ - خاکی، آرش، ۱۳۵۵ -
شناسه افزوده	دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی استان بوشهر
رده بندی کنگره	Q۱۱۵۵۶
رده بندی دیویی	۶۱۱.۱۸
شماره کتابشناسی ملی	۷۳۵۶۷۷۵
وضعیت رکورد	فیبا

روش‌های نوین و تکنیک‌های پیشرفته آزمایشگاهی، هیستوپاتولوژی و ایمنوهیستوشیمی

نویسندگان: دکتر پرویز فرزادی‌نیا، دکتر ماریا ظهیری و دکتر آرش خاکی

ویراستار و صفحه‌آرا: دارا جوکار

ناشر: انتشارات دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر

چاپ اول: زمستان ۱۳۹۹

چاپ: چاپ دیجیتال دیبا

شمارگان: ۱۰۰۰ نسخه



دانشگاه علوم پزشکی
و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر

بوشهر، خیابان معلم، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر

فهرست مطالب

پیشگفتار..... ۱

فصل اول: میکروسکوپ و لزوم استفاده از آن در مطالعات بافت‌شناسی

و آسیب‌شناسی..... ۵

۱-۲- آشنایی با میکروسکوپ..... ۸

۱-۳- تاریخچه میکروسکوپ..... ۹

۱-۴- انواع میکروسکوپ..... ۱۱

۱-۴-۱- میکروسکوپ نوری..... ۱۱

۱-۴-۱-۱- اجزاء یک میکروسکوپ نوری..... ۱۲

فصل دوم: شیوه تنظیم میکروسکوپ به منظور بررسی لام بافتی..... ۲۵

۱-۲- نحوه تنظیم میکروسکوپ جهت مشاهده لام بافتی..... ۲۷

۱-۱-۲- قرار دادن نمونه زیر میکروسکوپ..... ۲۷

۲-۱-۲- مشاهده نمونه..... ۲۷

۲-۱-۳- تنظیم عدسیهای چشمی با محور چشم..... ۲۸

۲-۱-۴- تنظیم درجه دیوپتری عدسیهای چشمی..... ۲۸

۲-۱-۵- تنظیم تصویر میکروسکوپ..... ۲۹

۲-۱-۶- تغییر بزرگنمایی در میکروسکوپ..... ۳۰

۲-۱-۷- به کار گیری کندانسور در میکروسکوپ..... ۳۱

۱-۱-۸- به کار گیری عدسی چشمی روغنی یا لنز شیئی ۱۰۰X

۳۱.....(Immersion objective):

۳۲- تذکرات بسیار مهم هنگام کار با میکروسکوپ.....

فصل سوم: شیوه‌های معمول نمونه‌برداری برای آزمایشگاه بافت‌شناسی

و بررسی‌های اولیه.....

۱-۳- نمونه‌برداری و انواع آن.....

۱-۱-۳- بیوپسی.....

۱-۱-۳-۱- بیوپسی با سوزن.....

۱-۱-۳-۲- نمونه‌برداری پانچ.....

۱-۱-۳-۲- بیوپسی.....

۱-۱-۳-۳- مقاطع انجمادی.....

فصل چهارم: روش‌های آماده‌سازی جهت مطالعه سلول و بافت.....

۱-۴- شیوه‌های تهیه مقاطع جهت مطالعه بافت.....

۱-۴-۱- روش گسترش.....

۱-۴-۲- روش تهیه برش‌های ضخیم.....

۱-۴-۳- روش برش‌گیری نازک.....

۱-۴-۴- روش پرافین یا موم.....

۱-۴-۵- روش سلوئیدین.....

۱-۴-۶- روش انجمادی.....

۲-۴- آماده‌سازی بافت.....

۱-۲-۴- تثبیت.....

۱-۲-۴-۱- تثبیت‌کننده‌های رایج.....

۵۳ ۴-۲-۱-۱-۱- آلدئیدها
۵۴ ۴-۲-۱-۱-۲- مرکوریالها
۵۴ ۴-۲-۱-۱-۳- الکلها
۵۴ ۴-۲-۱-۱-۴- عوامل اکسید کننده
۵۵ ۴-۲-۱-۱-۵- پیکراتها
۵۵ ۴-۲-۱-۲- فاکتوهای مؤثر در تثبیت
۶۴ ۴-۲-۱-۳- پردازش بافت
۶۵ ۴-۲-۲- آبیگری و شفافسازی
۶۶ ۴-۳-۳- قالب گیری
۶۷ ۴-۲-۴- مقطع گیری
۶۸ ۴-۲-۵- چسباندن
۶۹ ۴-۲-۶- رنگ آمیزی مقاطع
۷۱ ۴-۲-۷- آبیگری مجدد
۷۲ ۴-۲-۸- مشاهده
۷۳ فصل پنجم: مراحل آماده سازی بافت های سخت
۷۵ ۵-۱- مقدمه
۷۵ ۵-۲- کلسیم گیری بافتها
۷۶ ۵-۲-۱- تهیه بافت
۷۶ ۵-۲-۲- ثبوت
۷۶ ۵-۲-۳- مکانیسم عمل کلسیم گیری
۷۷ ۵-۲-۳-۱- محلول های کلسیم گیر
۷۷ ۵-۲-۳-۲- انواع محلول های کلسیم گیر
۷۹ ۵-۲-۳-۳- الکتروفورز

- ۷۹ ۴-۳-۲-۵- پایان عمل کلسیم‌گیری
- ۸۰ ۵-۳-۲-۵- خنثی کردن اسید
- ۸۱ فصل ششم: رنگ آمیزی
- ۸۳ ۱-۶- مقدمه
- ۸۴ ۲-۶- لزوم استفاده از رنگ آمیزی
- ۸۵ ۳-۶- تأثیر ثابت‌سازی بر روی رنگ آمیزی
- ۹۰ ۷-۶- تعامل رنگ با سلول‌ها
- ۹۰ ۱-۷-۶- رنگ‌های اسیدی
- ۹۰ ۲-۷-۶- رنگ‌های بازی
- ۹۲ ۳-۷-۶- انواع هماتوکسیلین
- ۹۲ ۱-۳-۷-۶- هماتوکسیلین آلوم
- ۹۳ ۲-۳-۷-۶- رنگ مخالف یا معادل
- ۹۳ ۳-۳-۷-۶- هماتوکسیلین هریس
- ۹۴ ۴-۳-۷-۶- هماتوکسیلین مایر
- ۹۵ ۵-۳-۷-۶- هماتوکسیلین ارلیچ
- ۹۶ ۶-۳-۷-۶- هماتوکسیلین آهن
- ۹۷ ۸-۶- رنگ‌های اختصاصی
- ۹۷ ۱-۸-۶- واکنش شیف
- ۹۸ ۲-۸-۶- واکنش PAS
- ۹۹ ۳-۸-۶- واکنش فولگن
- ۱۰۲ ۹-۶- رنگ آمیزی بافت همبند برای کلاژن
- ۱۰۲ ۱-۹-۶- تری کروم ماسون
- ۱۰۴ ۲-۹-۶- تکنیک وان گیسون

- ۱۰-۶- برخی اشکالات رایج در ارتباط با رنگ‌ها..... ۱۰۵
- فصل هفتم: دستورالعمل پردازش بافت به صورت کاربردی..... ۱۰۷
- ۱-۷- مقدمه..... ۱۰۹
- ۲-۷- جداسازی بافت و تثبیت..... ۱۰۹
- ۳-۷- آبگیری..... ۱۱۱
- ۴-۷- نفوذ و قالب‌گیری..... ۱۱۲
- ۵-۷- نفوذ..... ۱۱۲
- ۶-۷- قالب‌گیری..... ۱۱۳
- ۷-۷- مقطع‌گیری..... ۱۱۳
- ۸-۷- قرار دادن مقاطع بر روی لام‌های میکروسکوپیک..... ۱۱۴
- ۷-۸-۱- نکات مؤثره توجه در ارتباط با لام‌های میکروسکوپیک..... ۱۱۴
- ۹-۷- چسباندن مقاطع بر روی لام‌های میکروسکوپیک..... ۱۱۵
- ۱۰-۷- شفاف‌سازی و رنگ‌آمیزی..... ۱۱۵
- ۱۱-۷- شفاف‌سازی و آب‌دهی..... ۱۱۶
- ۱۲-۷- آماده‌سازی مقاطع چسبانده شده به صورت دائمی..... ۱۱۸
- فصل هشتم: خطاهای احتمالی طی روند تهیه لام بافتی و شیوه رفع آن‌ها..... ۱۲۱
- ۱-۸- مشکلات مقطع‌گیری قالب‌های بافتی..... ۱۲۳
- ۱-۸-۱- مقاطع نواری برش نخورده و تک به تک جدا..... ۱۲۳
- ۱-۸-۲- نوار مقاطع به محض تشکیل انحنا می‌یابد..... ۱۲۳
- ۱-۸-۳- مقاطع به صورت چروکیده‌اند..... ۱۲۴
- ۱-۸-۴- مقاطع در قسمت وسط برآمدگی دارد..... ۱۲۴

پیشگفتار

بافت‌شناسی مطالعه ساختارهای سلولی بافت‌ها و ارگان‌های بدن می‌باشد. این لغت از ریشه یونانی histos به معنی بافت یا شبکه گرفته شده و به مفهوم علم مطالعه بافت‌ها است. بافت یک مفهوم ساختاری آناتومیکی محسوب می‌شود که نخستین بار توسط یک جراح فرانسوی به نام Bichat معرفی شد. این جراح نمای اختصاصی بخش‌های مختلف بدن را به نمای مشاهده شده از بافت لباس تشبیه کرد. به همین دلیل لغت بافت^۱ از کلمه یونانی TEXER گرفته شده است. در ابتدا به منظور مطالعه بافت‌های بدن به طور وسیع از میکروسکوپ نوری استفاده می‌شد. ولی در ادامه اختراع میکروسکوپ الکترونی تا حد زیادی منجر به گسترش جزئیات مرتبط با ساختارهای درون سلولی گردید. در حال حاضر موضوع بافت‌شناسی دیگر صرفاً با ساختار سلول‌ها و بافت‌های بدن مرتبط نیست، بلکه با عملکرد اجزاء مختلف بدن نیز در ارتباط می‌باشد. در واقع بافت‌شناسی دارای ارتباط مستقیمی با رشته‌هایی مانند زیست‌شناسی سلولی، بیوشیمی، فیزیولوژی، جنین‌شناسی، آناتومی و پاتولوژی بوده و برای درک آن‌ها ضروری می‌باشد.

^۱ Tissue