النادي الطبي

Histology

Lec : Lecture 1

Done by: Haneen Frehat

Histology - Introduction

Dr. Mustafa Saad

(2024)

في جسم الانسان يوجد اربعة انواع رئيسية من الانسجة فقط وال
Histology مهتم بدراسة هذة الانسجة وكيف يكون شكلها تحت المايكروسكوب

- ***Histology*** is the study of the various tissues of the body: how these tissues appear, how they interact with each other and how they are arranged to constitute an organ.

تشكيل

Differant Features = Differant functions

- Features of tissues cannot be seen by the un-aided eye. Therefore, their study is done by using a magnifying tool – the *Microscope*.

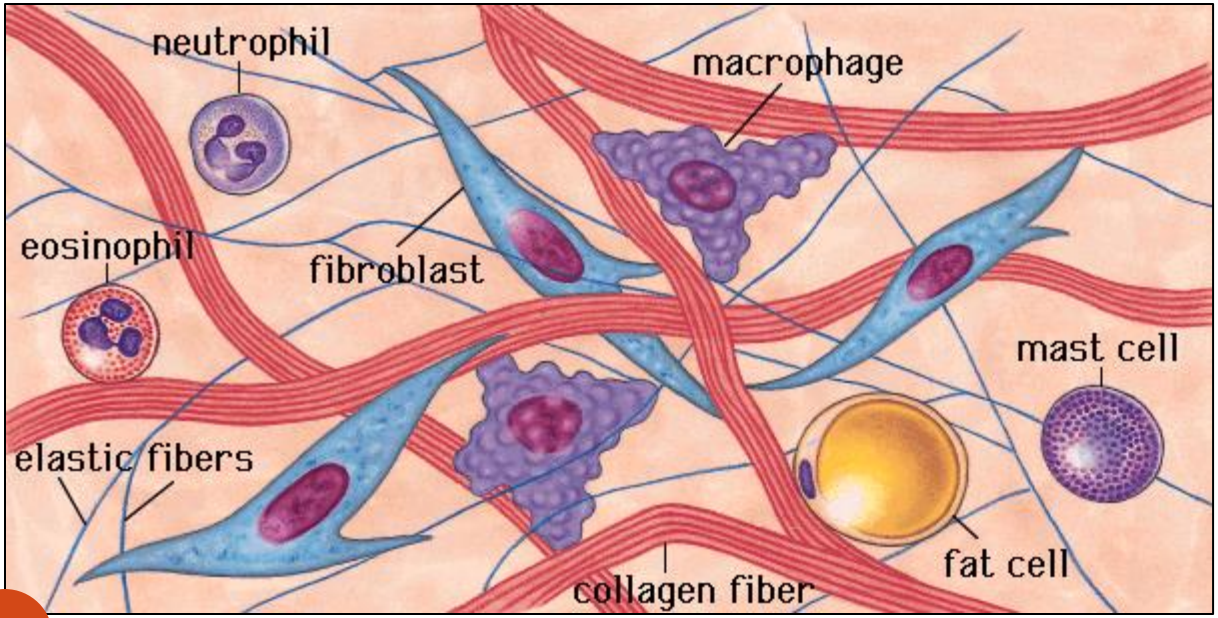
مكبرة

من المهم جدا دراسة
How these tissues appear لان ال **features** تعكس ال
Function 🧐من خلال فروقات بين الخصائص تعكس الوظيفة
(مثلا خلايا انسجة تحتوي عدد كبير من الميتوكندريا فهنا نعرف ان احد خصائصه وجود الميتوكندريا من اجل وظيفة معينة)reflect its function

مكونات الانسجة

Components of Tissues

- **Cells**
- **Extracellular Matrix**
  - Out side the cell
  - لا نطلق هذا المصطلح على كل المواد خارج الخلايا
  - Fibers
  - Organic and Inorganic molecules
  - Water



اختلاف انواع الانسجة في جسم الانسان يعود لاختلاف نوع الخلايا المكونه للنسيج واختلاف مكونات ال Extracellular Matrix

Fig.1: Image showing various components of tissues.

preparation

لو اخذت organ مثل ال liver وسلطت عليه ضوء لن استطيع رؤية الfeatures لان light can not pass through this so I have to take thin slices of organ that i have to study
,the light can pass through this thin slices

Tissues in body are soft
بالتالي لن نستطيع تقطيعهم بشكل مستقيم ومتوازي لانه ناعم بالتالي ممكن ان تتلف اجزاء من الانسجة
ونحن نحتاج ان تكون الشريحة preserve
The idea is to convert
My soft tissue into hard substance حتى يسهل تقطيعها

هذا كله قبل البدء بفحص النسيج

you can not to see all Features of tissue without use the magnifying tool(microscope)

نحتاج لاداة تكبير لرؤية تفاصيل وخصائص الانسجة الدقيقة بالتالي نحتاج المايكروسكوب فيقوم عمله كضوء يمر من خلال ال tissue ومن خلال مجموعة من العدسات المكبرة بالتالي نحصل على صورة مكبرة

Preparation of tissues for study

steps

الخطوة الاولى استخدام ال formalin لحفظ العينة

1. ***Fixation***: To prevent tissues from being degraded by tissue or bacterial enzymes, a suitable ***fixative*** must be added. These prevent the protein enzymes from functioning. The most common fixative used is ***Formalin*** (an aqueous solution of formaldehyde) which is used to preserve cadavers in anatomy labs.

الاكل عند تركه مدة من الزمن خارج الثلاجة ودون اي وسيلة للحفظ سيتلف وكذلك الانسجة لان انزيمات البكتيريا ستهاجمها وتتلفه و هذا يحدث في العينات التي نأخذها فمثلا عند اخذ عينه وتركها فترة طويلة بالمختبرستتلف ولا نستفيد منها لذلك يجب ان نحفظ العينات

I add substance to the tissue that will prevent the enzymes from activition

After some time

الخطوة الثانية تحويل العينة من نسيج ناعم لصلب لتسهيل تقطيعها

2. ***Embedding***: To facilitate the cutting process, the soft tissues must be first placed into a suitable hard medium (usually ***paraffin wax***).

نأخذ العينة ونضعها في ال paraffin wax في درجة حرارة الغرفة ثم i put it in the freezer حتى يتجمد شمع البارافين حتى يصبح عندي طبقة شمعية متجمدة في داخلها العينة بهذة الطريقة نحن حولنا ال soft tissue ل hard substance لتسهيل تقطيعها لشرائح

قديما كانوا يستخدموا السكينه العادية لتقطيع ال tissues وهي عملية غير سهلة قد تؤدي لتلف العينة اما حاليا اصبحوا يستخدموا اجهزة خاصة مثل ال microtome

الخطوة الثالثة التقطيع بواسطة ال microtome

3. *Sectioning*: The thick tissues do not allow light to pass through them. Therefore they must be cut into thin slices. This is usually done with a device called the ***microtome***.

نضع ال block of paraffin wax in microtom فيقطع لنا ال tissues الى slices بالمقاس الذي نريد

Fig.2: Microtome.

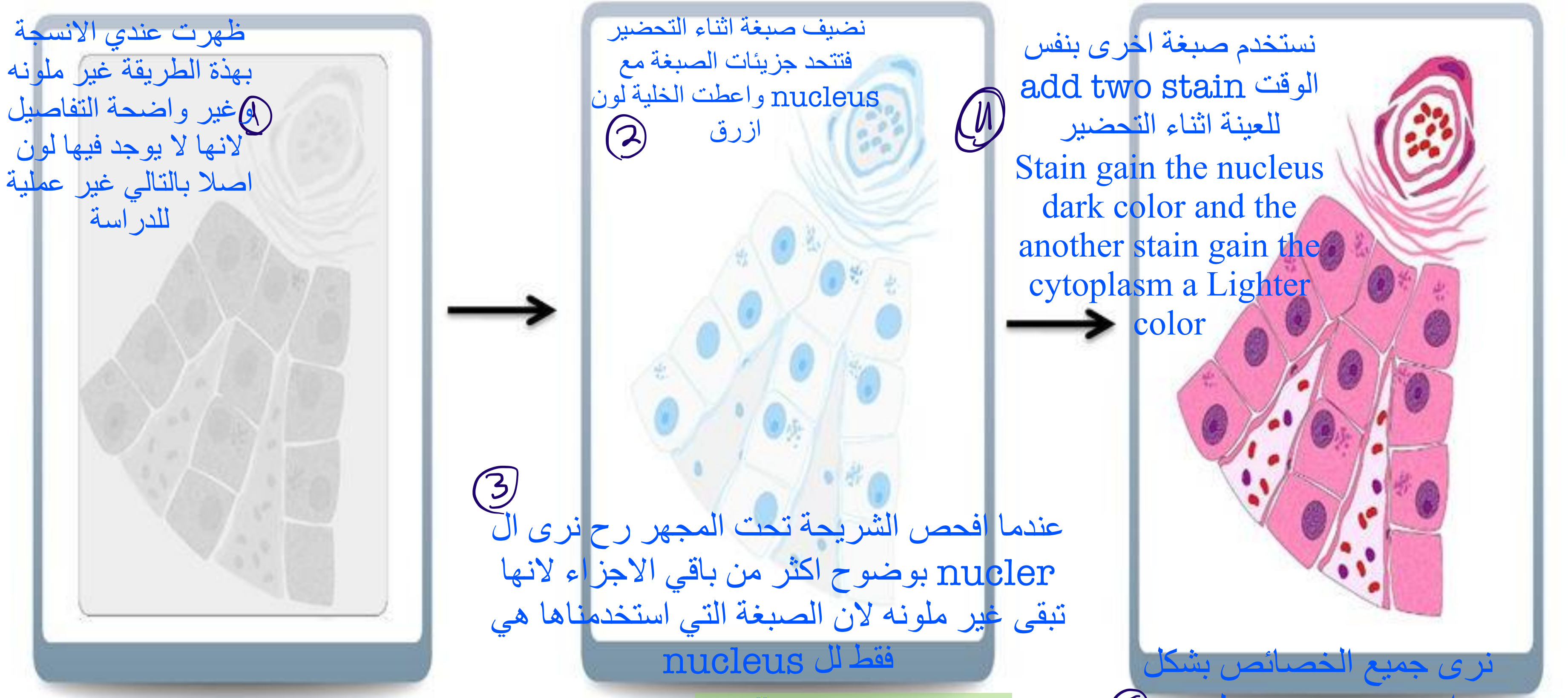
الخطوة الرابعة صبغ العينة

4. ***Staining***: Most tissues are colorless. To make them easily visible, they must be stained.

ملون

اكثر طريقة مستخدمة في دراسة الانسجة

Unstained | Stain 1 | Stain 1 + Stain 2



ظهرت عندي الانسجة بهذة الطريقة غير ملونه وغير واضحة التفاصيل لانها لا يوجد فيها لون اصلا بالتالي غير عملية للدراسة ①

نضيف صبغة اثناء التحضير فتتحد جزيئات الصبغة مع nucleus واعطاء الخلية لون ازرق ②

③ عندما افحص الشريحة تحت المجهر رح نرى ال nucler بوضوح اكثر من باقي الاجزاء لانها تبقى غير ملونه لان الصبغة التي استخدمناها هي فقط لل nucleus

④ نستخدم صبغة اخرى بنفس الوقت add two stain للعينة اثناء التحضير

Stain gain the nucleus dark color and the another stain gain the cytoplasm a Lighter color

⑤ نرى جميع الخصائص بشكل واضح بسبب وجود لونين وتباين بينهم

i usually use two or even more stains ; these different stains will give different parts with different colors

Fig.3: Benefit of staining.

Main Principle of Staining:

usually basic dyes is blue but is not necessary
ليس كل لون ازرق يعني basophilic وليس كل basophilic ازرق
لكن الاكثر شيوعا له اللون الازرق

- Components of cells/tissues with a ***net negative charge*** react (يتفاعل) with ***basic dyes*** (which are positively charged and usually blue). These components are, thus, called ***Basophilic***. Examples: ***DNA*** (In nucleus) ***and RNA*** (In ribosomes and cytoplasm for a short time), ***Glycosaminoglycans***, and others.

تتفاعل مع المكونات التي شحنتها سالبة

There are many ways to give color or to stain to tissue. This chemical reaction is the most common

$$Component^{-} + \mathbf{Dye}^{+}Cl^{-} \rightarrow \mathbf{Dye}Component + Cl^{-}$$

ملح الكلورايد سالب

ملح

Basophilic
المادة التي لها قابلية التتفاعل
مع ال basic dyes

الصبغة عبارة عن ملح المادة الكيميائية التي تعطي اللون (موجبة الشحنة)

- Components of cells/tissue with a ***net positive charge*** react with ***acidic dyes*** (which are negatively charged and usually red). These components are, therefore, called ***Acidophilic***. Examples: ***proteins (as in collagen fibers and mitochondria)*** and others.

positive charge

Fibers in Extracellular matrix

$$Component^{+} + Na^{+}\mathbf{Dye}^{-} \rightarrow Component\mathbf{Dye} + Na^{+}$$

Microscopes and Microscopy

- Several types of microscopes are used in histology.

- They can be generally divided into 2 types:
  - ***Light microscopes***: which use the ordinary beam of light

  - ***Electron microscopes***: which use a narrow beam of electrons

The Light Microscope

1) Bright-Field Microscope

اي مصدر للضوء الاعتيادي

(الشمس // الكهرباء)

The most common type of microscope

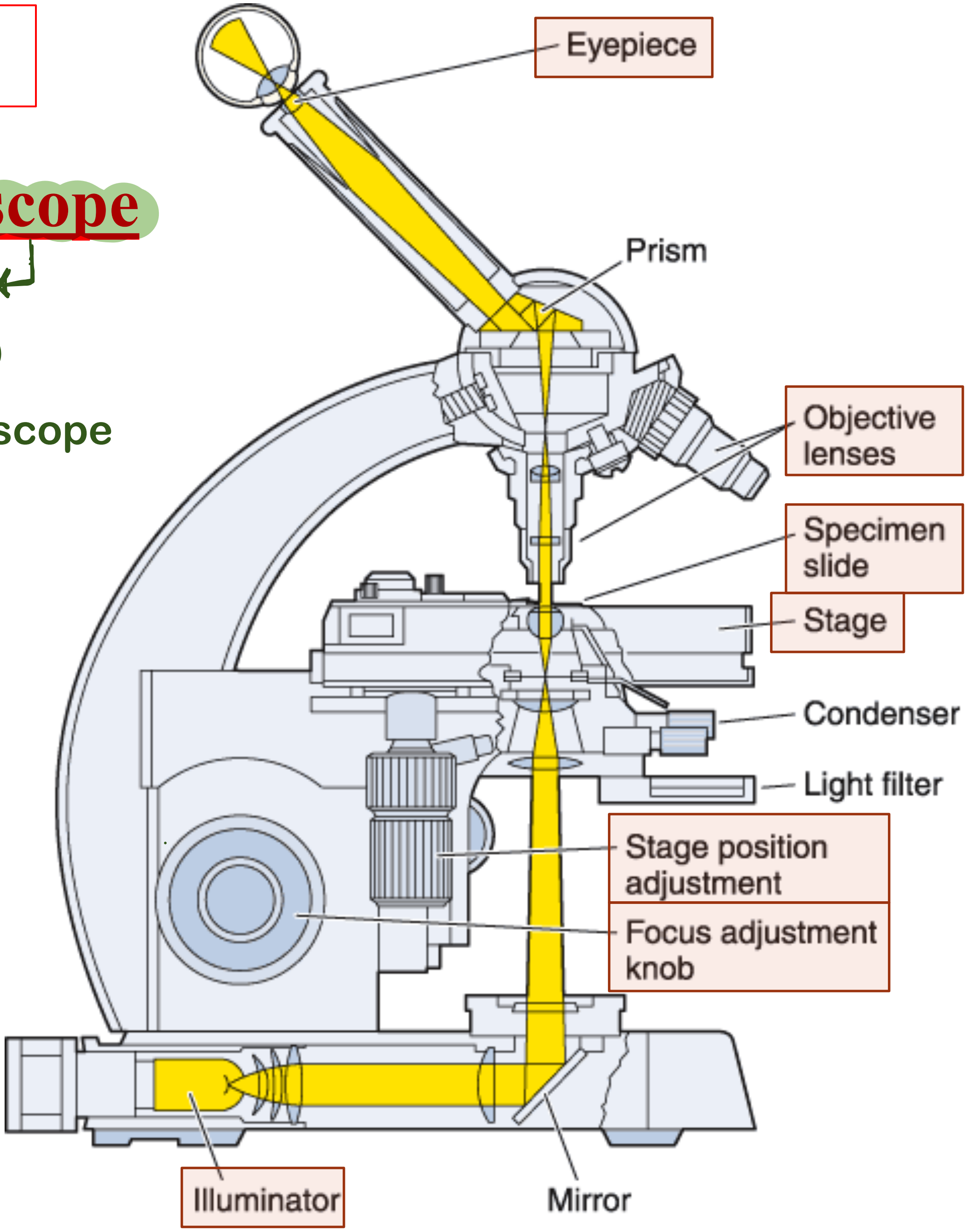


Fig.4: Image showing various parts of a Bright-field light microscope.

البعد//المسافة//التمييز//التفريق

- The Resolving power of the light microscope is about 0.2μm. → 10^{-6}

- ***Resolving power***: the minimum distance between two points that enable the device to recognize (see) them as two points*.

I have two points A & B

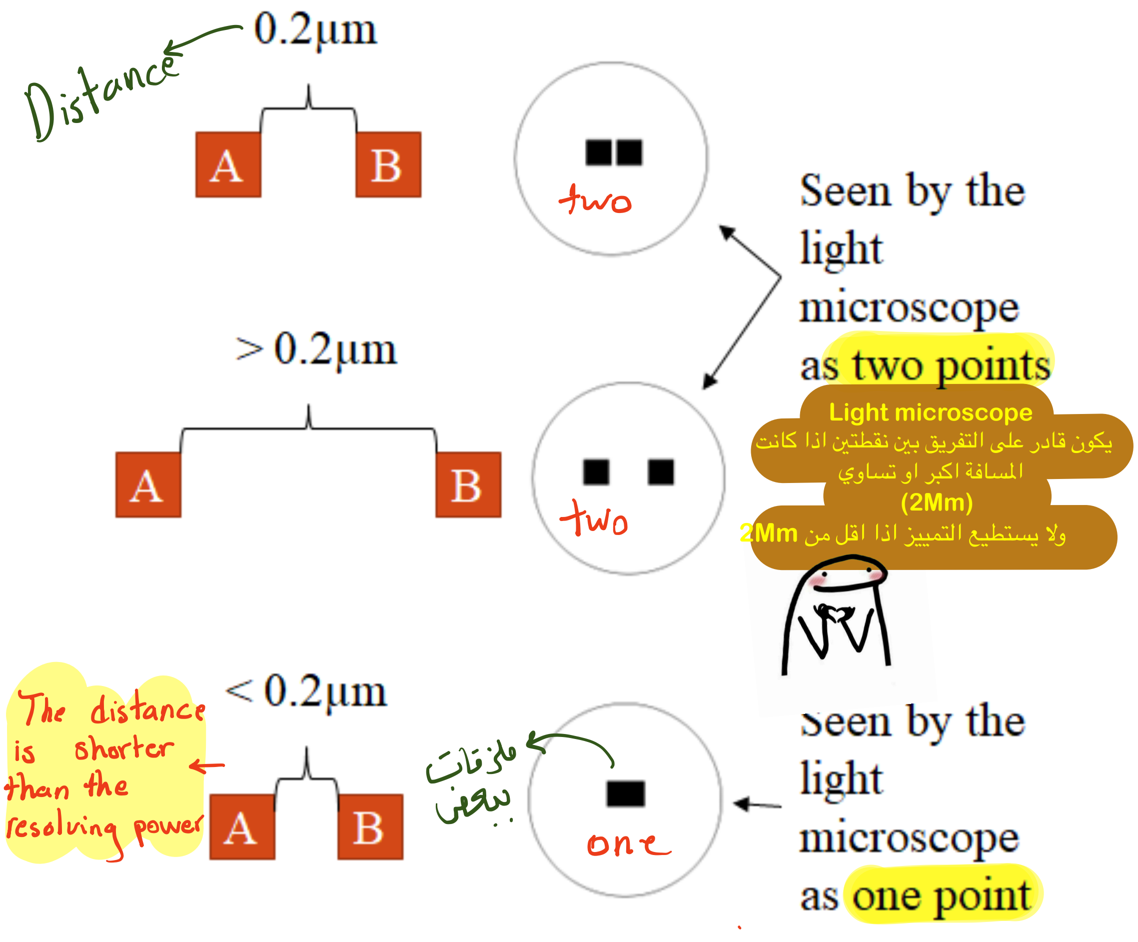


Fig.5: How distance between two points affects their appearance under the microscope.

لو كانت ال **resolving power** للجهاز ضعيفة فإن عدد النقاط التي سوف يراها الجهاز ستكون قليلة فهذا يعني إن **details** للصورة سيكون قليل

* This same definition of resolving power can be used for cameras, television sets, computer monitors, and the human eye. ⇒ نفس التعريف

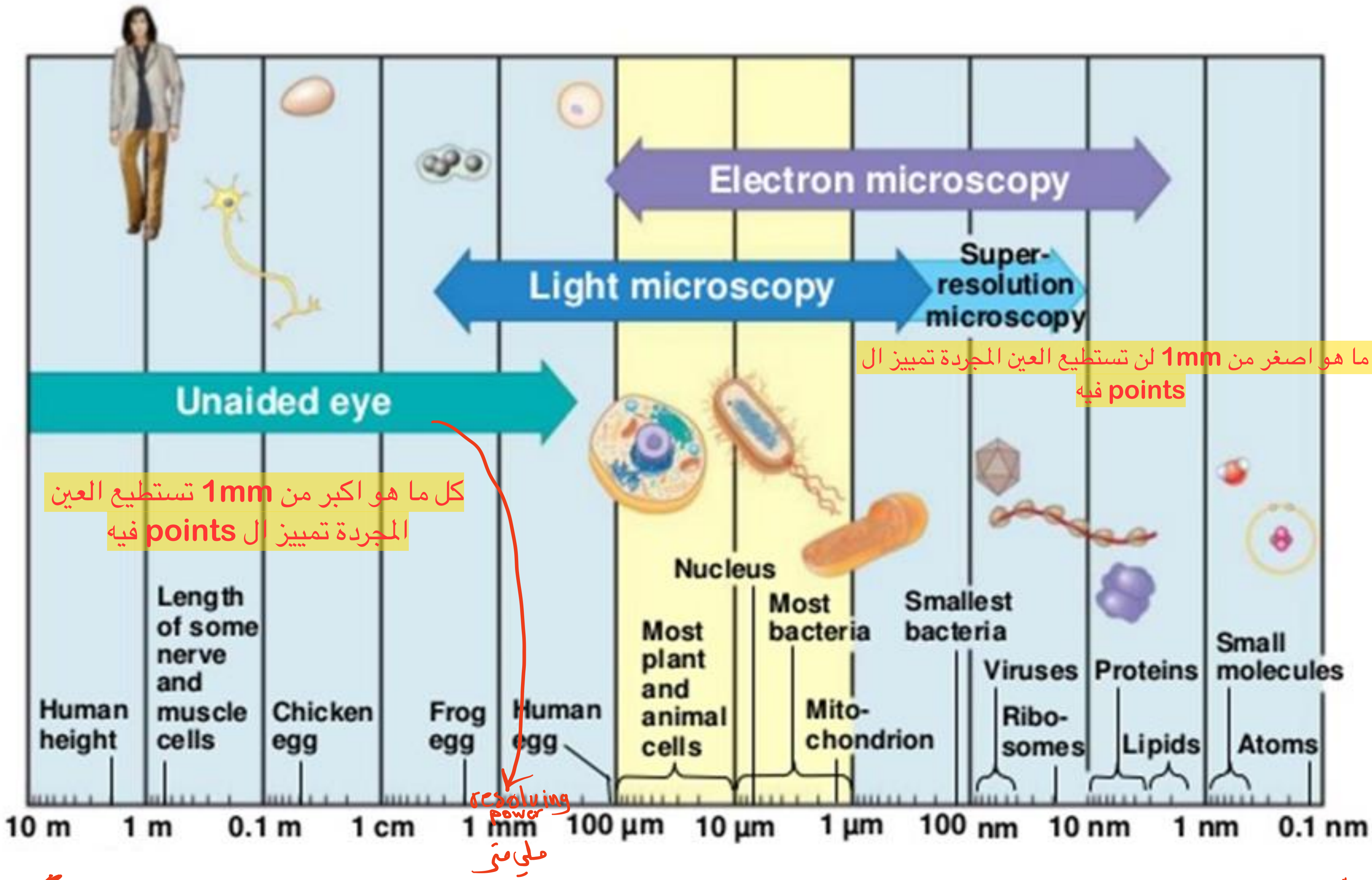


Fig.6: Resolving power of various optical devices.

خاصية ال fluorescence هي خاصية طبيعية للمادة موجودة في بعض المواد في الطبيعة فهي موجودة في بعض المواد في الطبيعة (بعض انواع الصخور ،الكائنات الحية مثل marine animals الكائنات البحرية ، Fungi)
المادة التي تمتلك هذة الخاصية نسلط عليها اشعاع بطول موجي معين وتعطينى اشعاع بطول موجي اخر

2) Fluorescence Microscopy

إشعاع

- When certain substances are irradiated by a ray of a certain wavelength, they emit an electromagnetic wave of a, usually, longer wavelength. This is called ***fluorescence***.

طول موجي — يبعث — موجات

الاشعة فوق البنفسجية — الانبعاث

- When UV light is used, the emission is in the visible spectrum.

طيف

اشعة فوق بنفسجية ...ضوء مرئي واطوال موجية مختلفة (ازرق اخضر،،)

نستخدم هذة الخاصية احيانا لصبغ الانسجة

- During tissue preparation, certain substances with this characteristic can be added to the tissue. These will bind to the various structures and make them fluorescent.

ربط

- **Example** of fluorescent substances:

استخدمنا ال DAPIbمع ال DNA لان لها قابلية في الاتحاد مع ال nucleus بالتالي سيعطي لون للنواة اما باقي اجزاء الخلية لا نستطيع رؤيتها لانها غير مصبوغة وال DAPI يتحد فقط مع النواة ويصبغها باللون الازرق

1) Diamidinophenylindole (DAPI) binds to DNA → ***Blue***

2) Phalloidin binds to actin filaments → ***Red***, ***Green***

خيوط الاكتين

intropiratic

3) Tetracycline binds to newly formed bone → ***Green***

العظم المكون الجديد في جسم الاسنان بدل العظم القديم

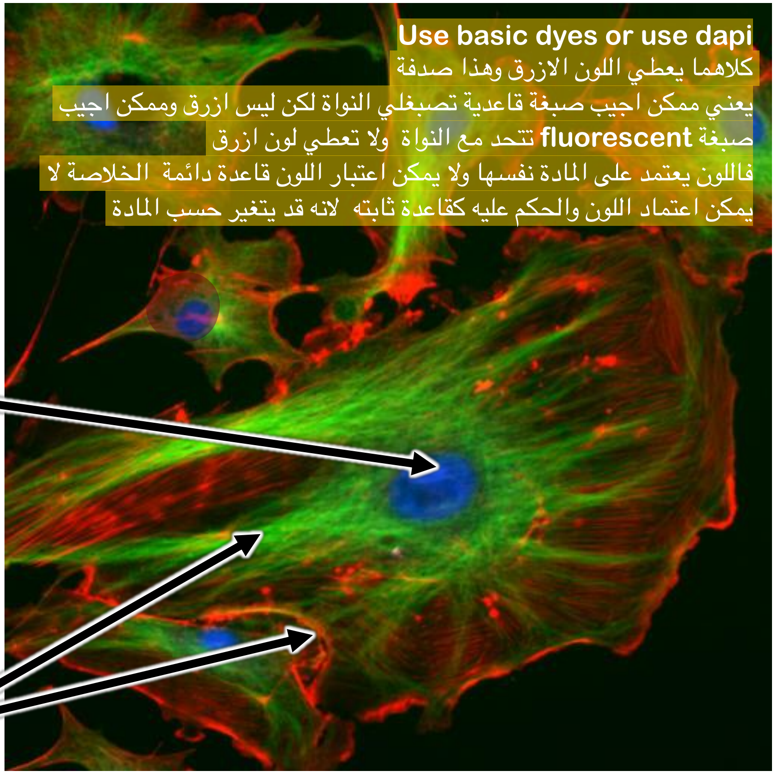


Fig.7: Different colors produced by different fluorescent dyes.

The Electron Microscope

- Uses a beam of electrons instead of light photons.

بدلاً من

- It gives a much higher *resolution* than the light microscope (resolving power = 3nm).

10^{-9}

اكثر دقة من المايكروسكوب الضوئي

I can to see more details

Types

- It could be either Transmission Electron Microscope (TEM) or Scanning Electron Microscope (SEM).

1) TEM

- The beam of electrons interact differently with the different parts of the section.
- Some are deflected, some pass through, and some are reflected.
- Electrons passing through the section are detected to produce an image.

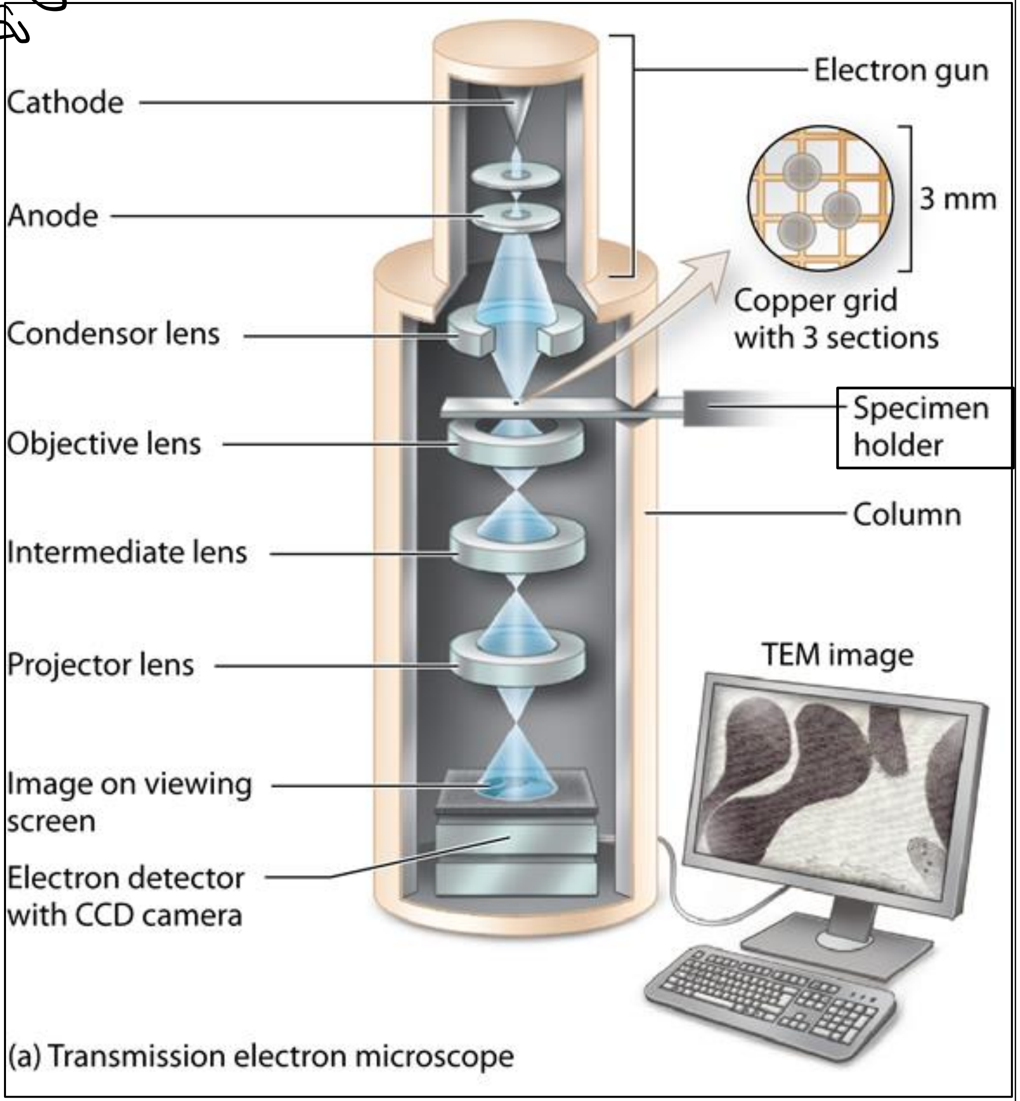
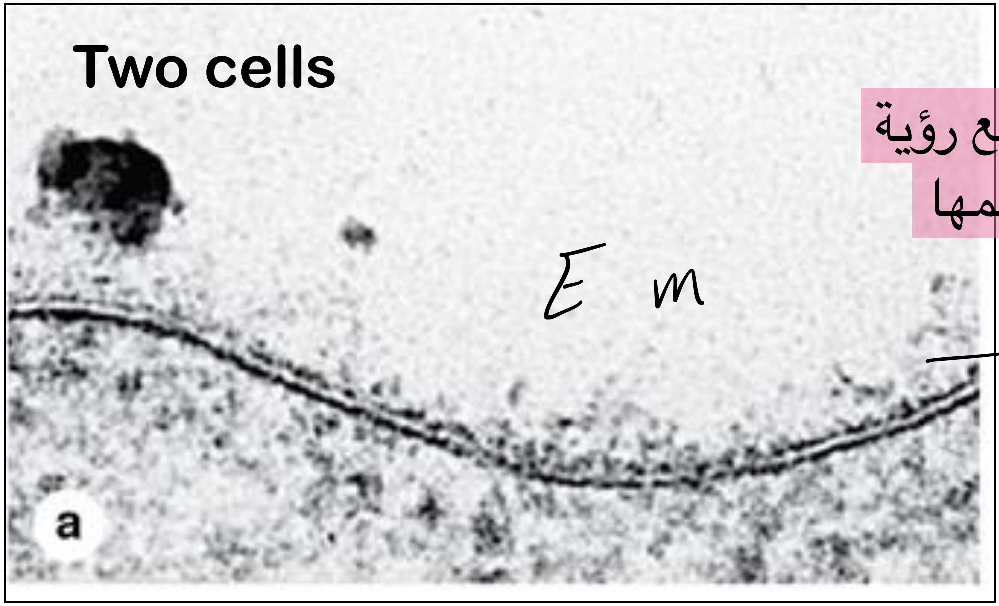


Fig.8: Schematic drawing of TEM.



ال light microscope لا نستطيع رؤية
ال cell membrane في معضمها

more detailes

Fig.9: (a) A TEM image of the cell membrane. Note how it appears to be formed of a white line between two dark lines. In the light microscope image (b), the cell membrane appears as a very thin line (arrows). With the electron microscope, we obtained an image with a higher resolution giving us more details about the structure studied.