

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ.

*Кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии л/ф
РНИМУ им.Н.И.Пирогова*

Гистология — наука, изучающая закономерности развития, строения и жизнедеятельности **тканей** живых организмов.

Цитология — наука о развитии, строении и функциях **клеток** и их производных, а также механизмов их воспроизведения и взаимодействия.

Эмбриология — наука о закономерностях образования и развития зародыша. В том числе наука изучает **гистогенез** — совокупность процессов, приводящих к образованию и восстановлению тканей в ходе индивидуального развития или регенерации.

ТКАНЬ — исторически (филогенетически) сложившаяся система клеток и неклеточных структур, обладающая общностью строения, и, в ряде случаев, происхождения, и специализированная на кооперативном выполнении определенных функций.

Структурные компоненты ткани: клетки, производные клеток, межклеточное вещество.

Клетки — основные, функционально ведущие компоненты тканей. Практически все ткани состоят из нескольких типов клеток. Клетки каждого типа в ткани могут находиться на разных стадиях специализации (дифференцировки).

Производные клеток: симпласты, синцитии, постклеточные образования.

Межклеточное вещество (или *внеклеточный матрикс*) — продукт деятельности определенных клеток.

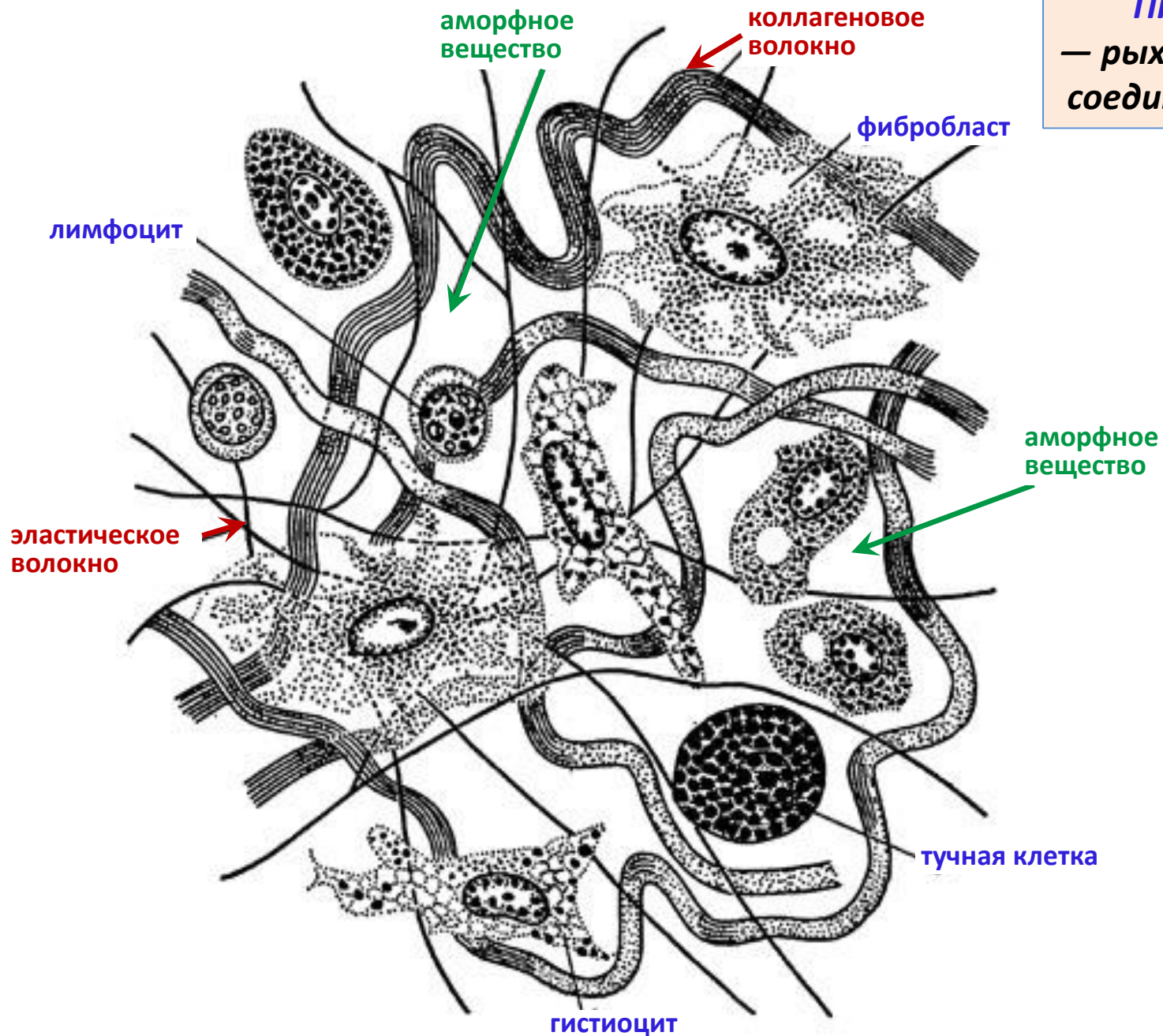
Межклеточное вещество включает:

1. основное (аморфное) вещество;
2. волокна (коллагеновые, ретикулярные, эластические).

Состав аморфного вещества, его количество и вид волокон специфичны для каждого вида тканей.

ПРИМЕР ТКАНИ

— рыхлая волокнистая
соединительная ткань



МЕЖКЛЕТОЧНОЕ ВЕЩЕСТВО **(волокна + аморфное вещество)**

ВОЛОКНА:

- Коллагеновые
- Эластические
- Ретикулярные

Функции волокон

- 1.опорная
- 2.обеспечение высоких механических свойств ткани (прочности)
- 3.обеспечение способности ткани к обратимой деформации
- 4.определение архитектоники ткани;
- 5.обеспечение взаимодействий между клетками и межклеточным веществом, а также связь между отдельными компонентами межклеточного вещества;
- 6.влияние на пролиферацию, дифференцировку, миграцию и функциональную активность различных клеток.

МЕЖКЛЕТОЧНОЕ ВЕЩЕСТВО **(волокна + аморфное вещество)**

АМОРФНОЕ ВЕЩЕСТВО (гелеобразная субстанция):

- Протеогликаны (белки + гликозаминогликаны)
- Гликопротеины (адгезивные белки)
- Вода, ионы, продукты метаболизма клеток и др.

Функции ПРОТЕОГЛИКАНОВ

1. Способны связывать другие молекулы
 - обеспечение связи между поверхностью клеток и компонентами межклеточного вещества
 - взаимодействие с молекулами коллагена и влияние на образование коллагеновых
2. Способны связывать большое количество молекул воды
 - обеспечивают проницаемость межклеточного вещества
 - играют важную роль в транспорте электролитов и воды;
 - регулируют процессы диффузии
3. Участвуют в регуляции пролиферации клеток

Функции ГЛИКОПРОТЕИНОВ

- опосредуют взаимодействия между клетками и межклеточным веществом

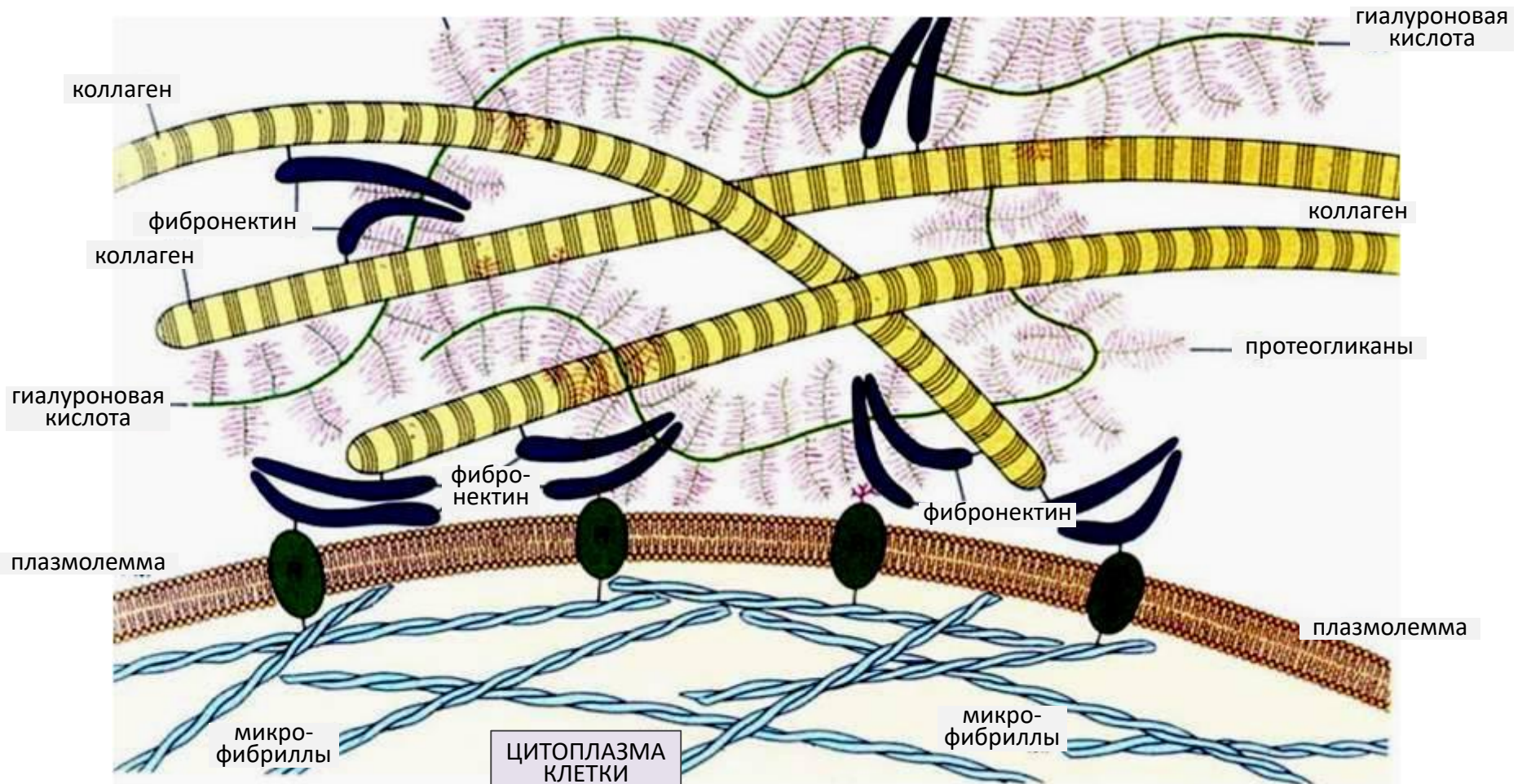
АМОРФНОЕ ВЕЩЕСТВО:

- Протеогликаны (белки + гликозаминогликаны)
- Гликопротеины (адгезивные белки)

ВОЛОКНА:

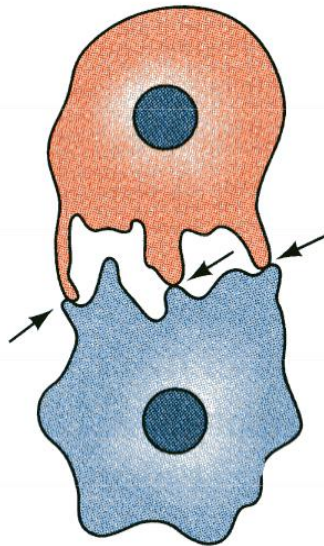
- Коллагеновые
- Эластические
- Ретикулярные

ПРИМЕР – МЕЖКЛЕТОЧНОЕ ВЕЩЕСТВО СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

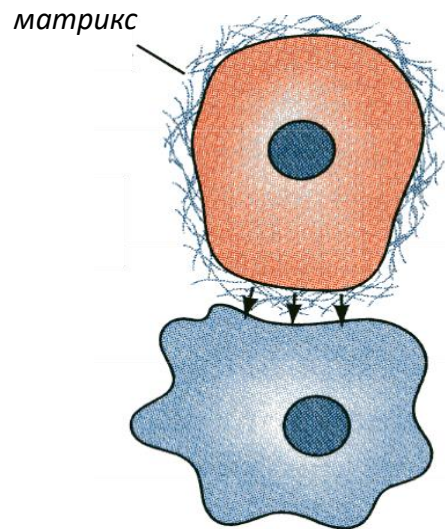


**МЕЖКЛЕТОЧНЫЕ
ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ
(примеры)**

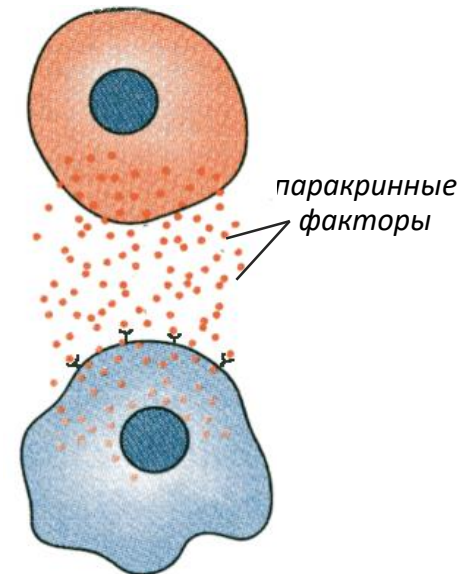
ТКАНЬ — ... система взаимодействующих клеток и неклеточных структур, специализированная на кооперативном выполнении определенных функций.



КОНТАКТНОЕ
ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ



ДЕЙСТВИЕ
ЧЕРЕЗ МАТРИКС



ПАРАКРИННОЕ
ДЕЙСТВИЕ

ОБЪЕКТЫ - живые и фиксированные клетки и ткани, и их изображения, полученные в световых и электронных микроскопах.

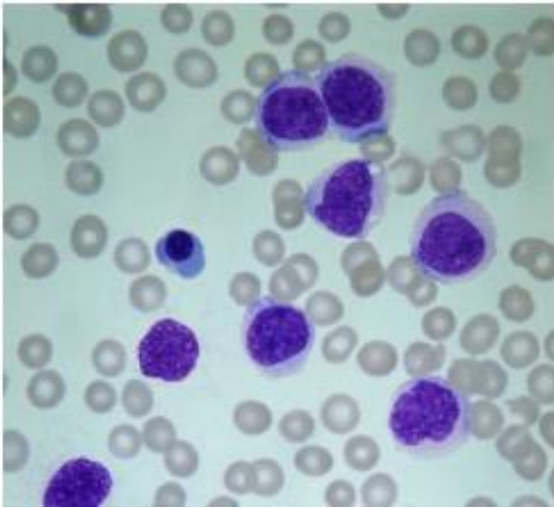
МИКРОСКОПИРОВАНИЕ — изучение гистологических препаратов с использованием микроскопа.

Виды микроскопии:

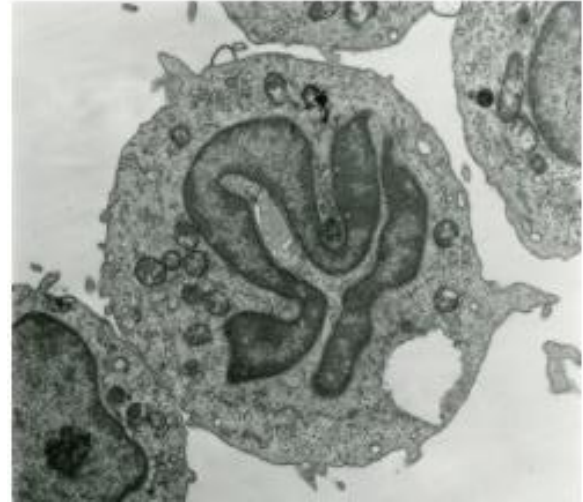
- 1) **световая микроскопия**
- 2) ультрафиолетовая микроскопия
- 3) люминесцентная микроскопия
- 4) фазово-контрастная микроскопия
- 5) поляризационная микроскопия
- 6) микроскопия в темном поле
- 7) микроскопия в падающем свете
- 8) **электронная микроскопия**

ВИДЫ МИКРОСКОПИИ

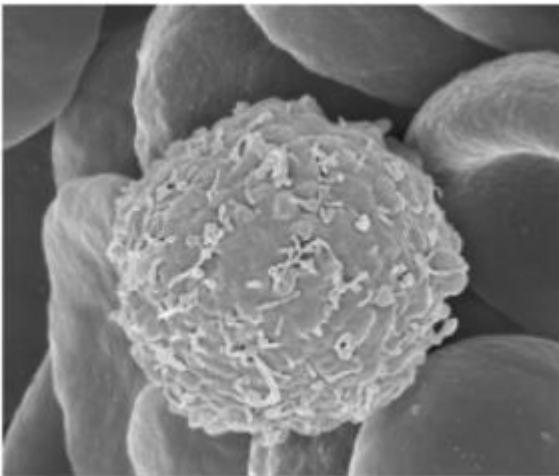
Световая



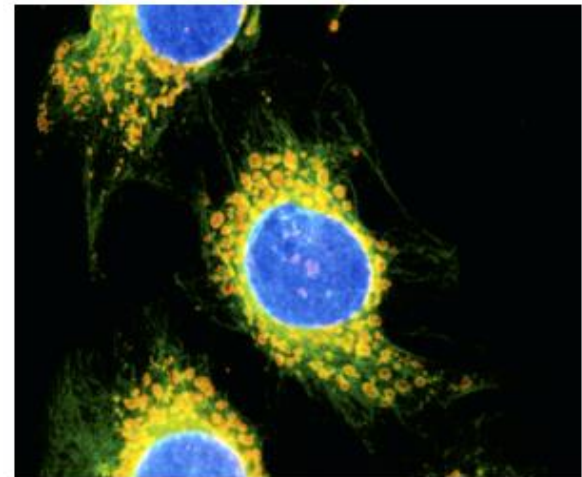
Электронная трансмиссионная

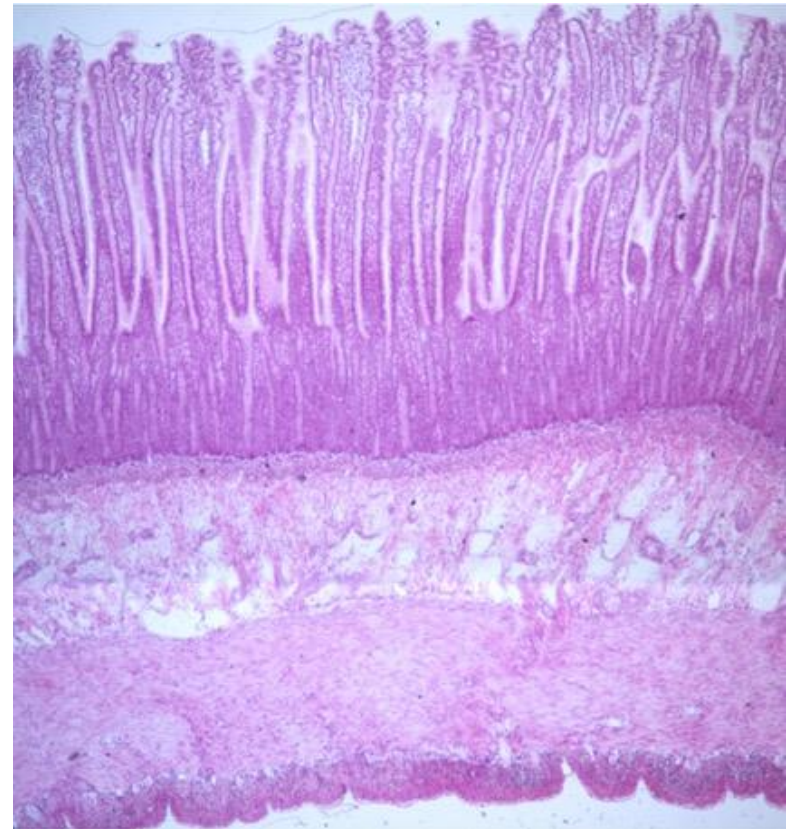
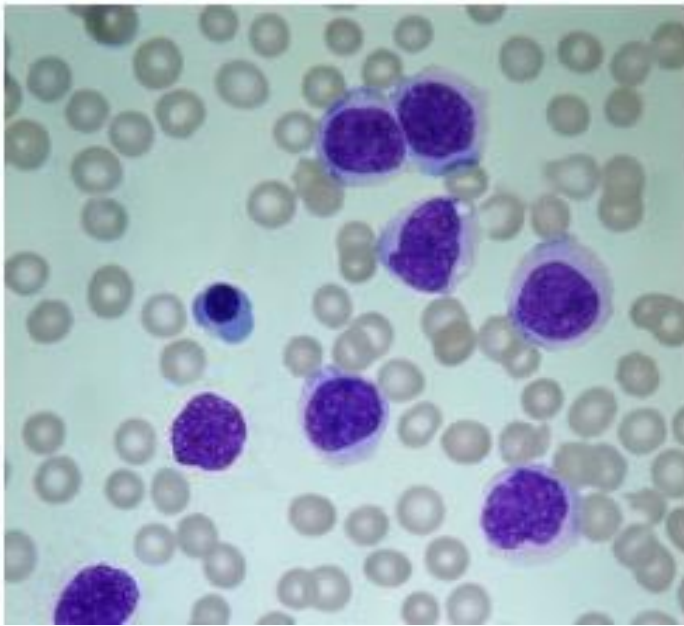


Электронная сканирующая

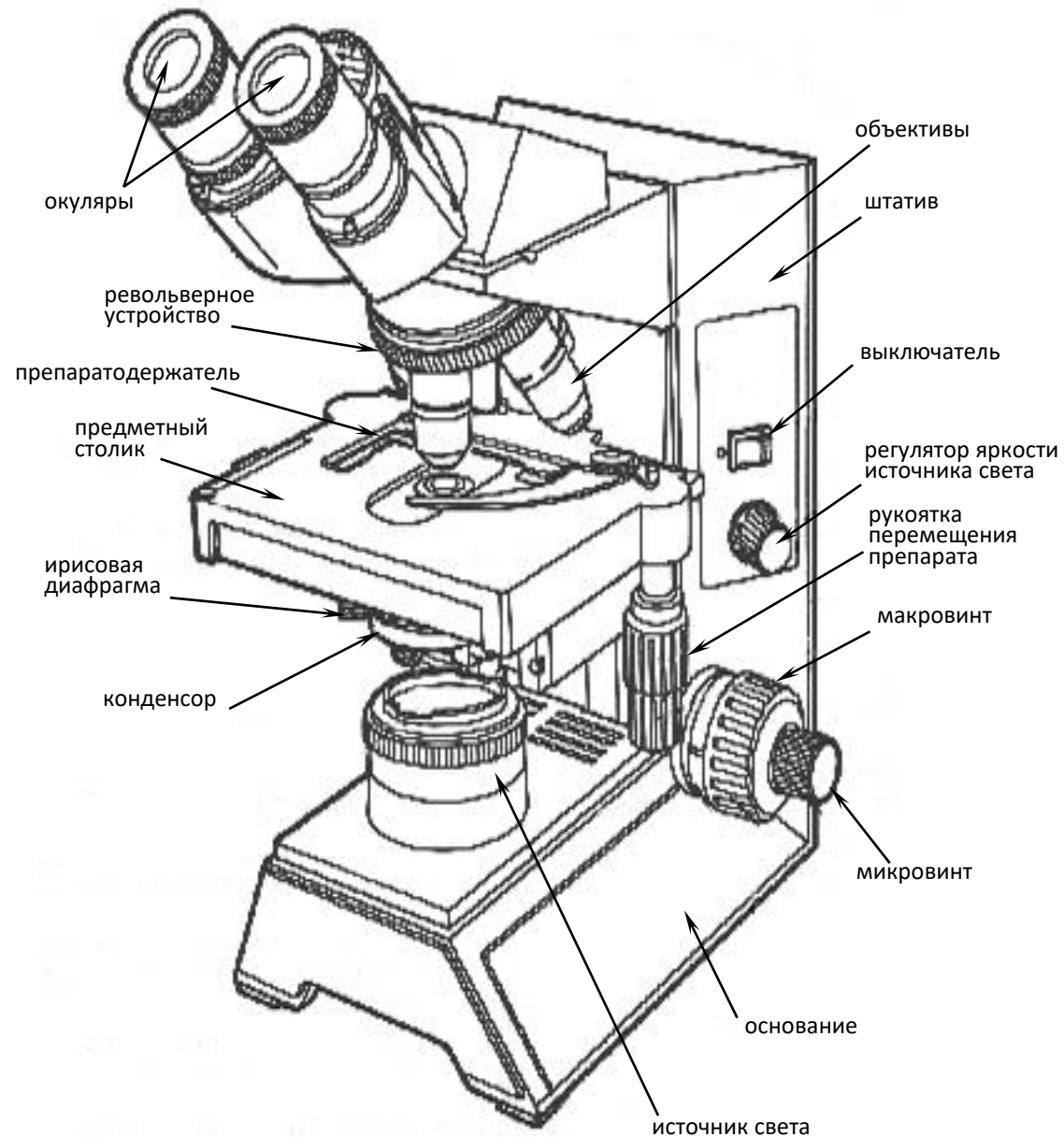


Конфокальная





БИНОКУЛЯРНЫЙ МИКРОСКОП СО ВСТРОЕННЫМ ИСТОЧНИКОМ ОСВЕЩЕНИЯ

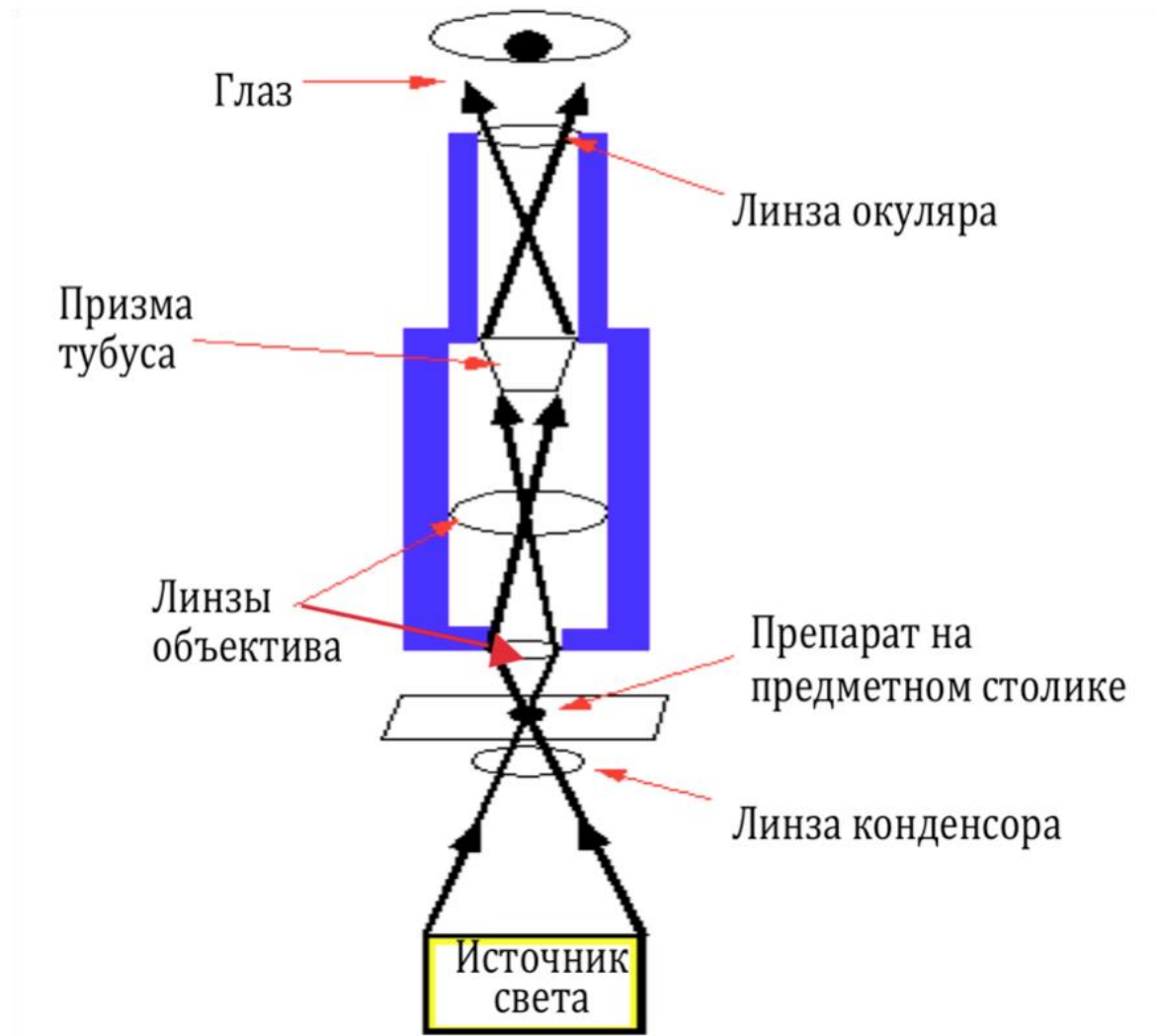


РАБОТА С МИКРОСКОПОМ (ролик)
<https://www.youtube.com/watch?v=40kDf1yIApo>

ОСНОВНЫЕ ЭТАПЫ РАБОТЫ С МИКРОСКОПОМ:

1. Гистологический препарат устанавливается на предметном столике покровным стеклом вверх. Структурные элементы среза ориентируются с учетом того, что формируется перевернутое изображение изучаемого объекта.
2. Первоначально изучение проводится на *малом увеличении*. Четкость изображения настраивается с помощью *макровинта*. Тубус микроскопа опускают, следя за тем, чтобы не раздавить препарат (~1 см от препарата).
3. Переход на большое увеличение осуществляется вращением револьвера (**не трогая макровинт!**).
4. При *большом увеличении* микроскопа четкость изображения устанавливается **только** с помощью *микровинта*.
5. После завершения изучения гистологического препарата вращением револьвера устанавливается малое увеличение и препарат снимается с предметного столика (манипуляции с макро- и микровинтом не требуются)

ПРОХОЖДЕНИЕ СВЕТОВОГО ПУЧКА ПРИ СВЕТОВОЙ МИКРОСКОПИИ



ОБЩЕЕ УВЕЛИЧЕНИЕ = увеличение окуляра $\times$ увеличение объектива

РАЗРЕШАЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ МИКРОСКОПА —

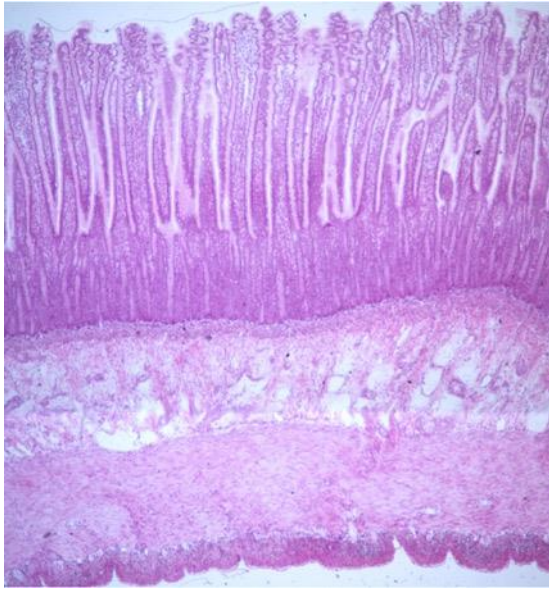
- способность микроскопа давать раздельное изображение двух близких друг к другу линий.

НАИМЕНЬШЕЕ РАЗРЕШАЕМОЕ РАССТОЯНИЕ (d_0) -

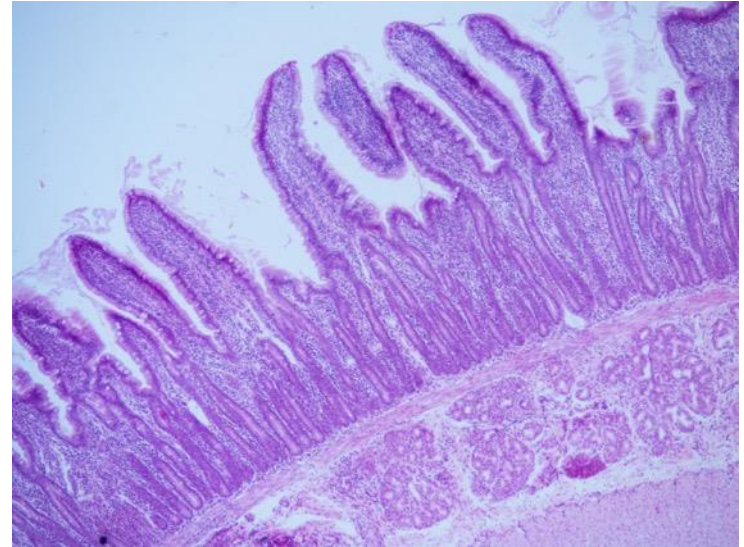
- размер самой маленькой структуры, которую можно видеть в микроскопе. Зависит от длины световой волны λ , выражается формулой: $d_0 = \lambda/2$.

УВЕЛИЧЕНИЕ (световая микроскопия)

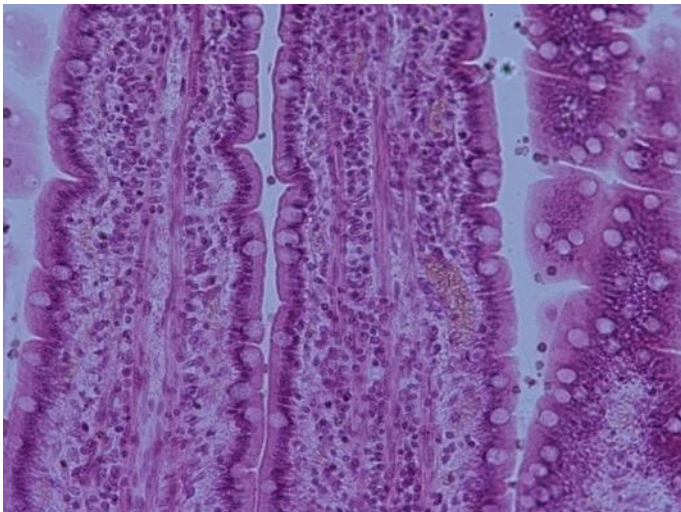
x40



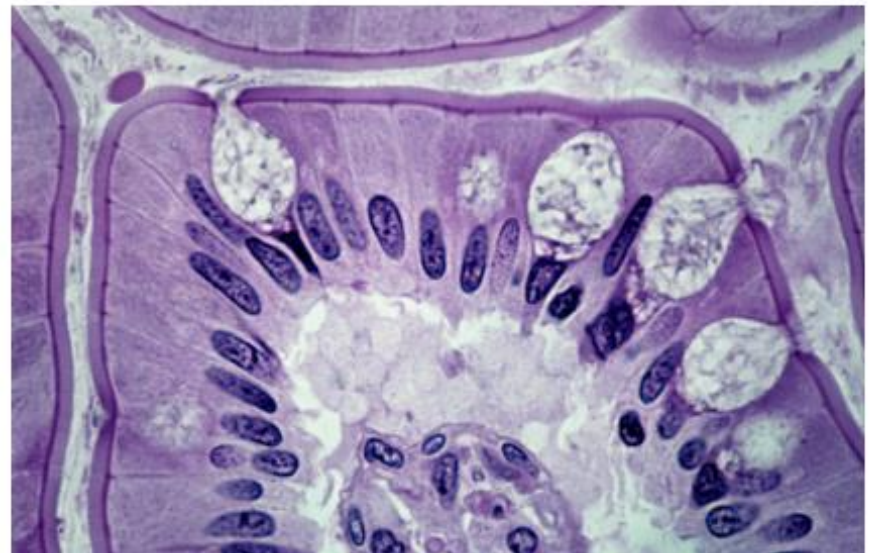
x70



x200



x1000

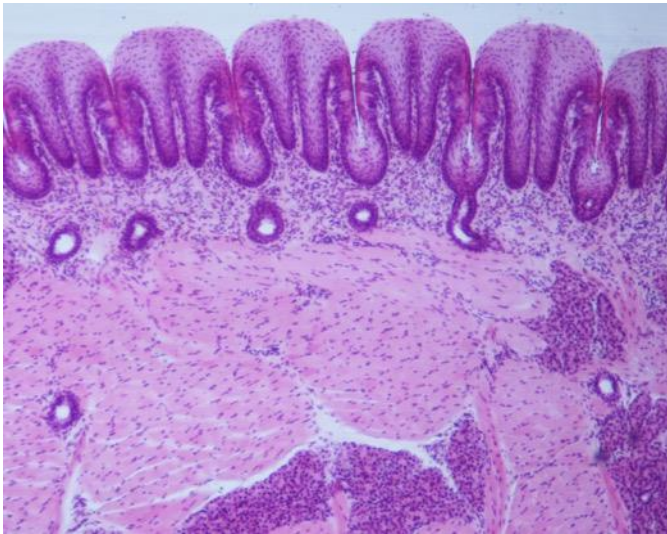


ВИДЫ ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

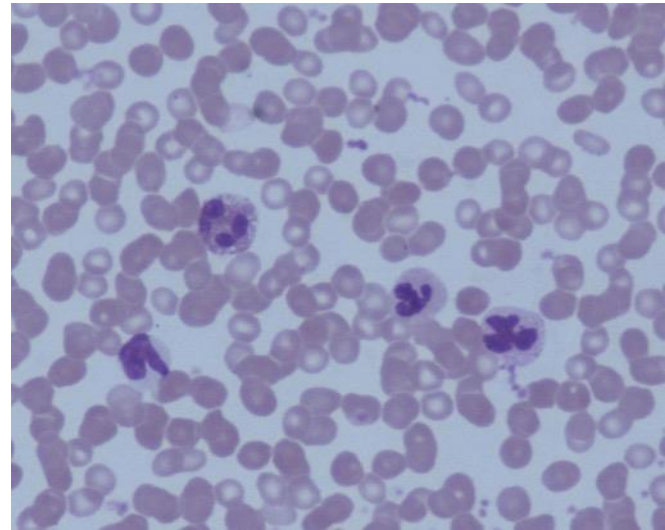
- **МАЗОК** - если ткань имеет жидкую консистенцию (например, кровь, костный мозг, слюна, спинномозговая жидкость и др.),
- **ОТПЕЧАТОК** - для ломких паренхиматозных органов проводят разлом органа, затем к месту разлома прикладывают предметное стекло, на которое приклеиваются свободные клетки (например, селезенки, тимуса, печени),
- **ПЛЕНОЧНЫЙ ПРЕПАРАТ** - из ткани путем растягивания или раздавливания между двумя стеклами (например, соединительной ткани или брюшины, плевры, мягкой мозговой оболочки),
- **ТОТАЛЬНЫЙ ПРЕПАРАТ** - (половые клетки, зародыши ранних стадий развития),
- **ТОНКИЙ СРЕЗ** ткани или органа - используется чаще всего, может долго храниться и многократно использоваться для изучения тканей, клеток и субклеточных структур.
- **СРЕЗ для ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ** - исследуют ультраструктуру клеток и других элементов ткани вплоть до атомно-молекулярного уровня.

ВИДЫ ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

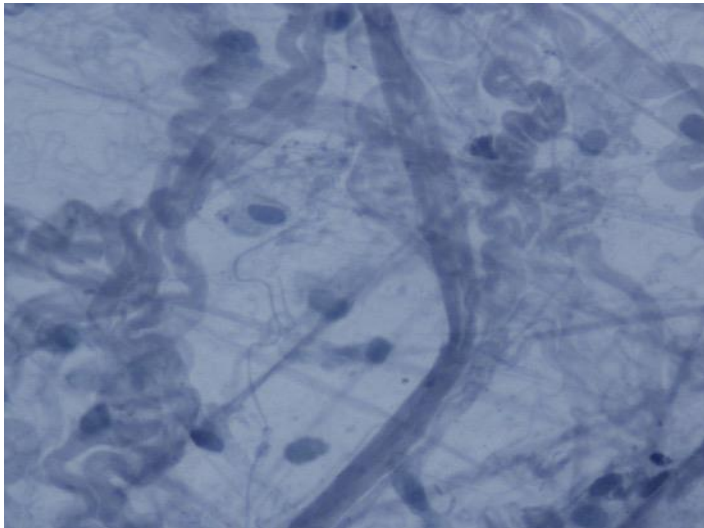
Срез



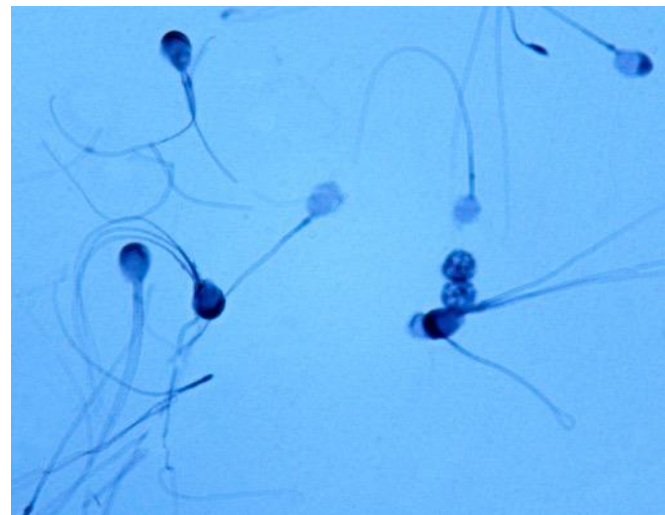
Мазок



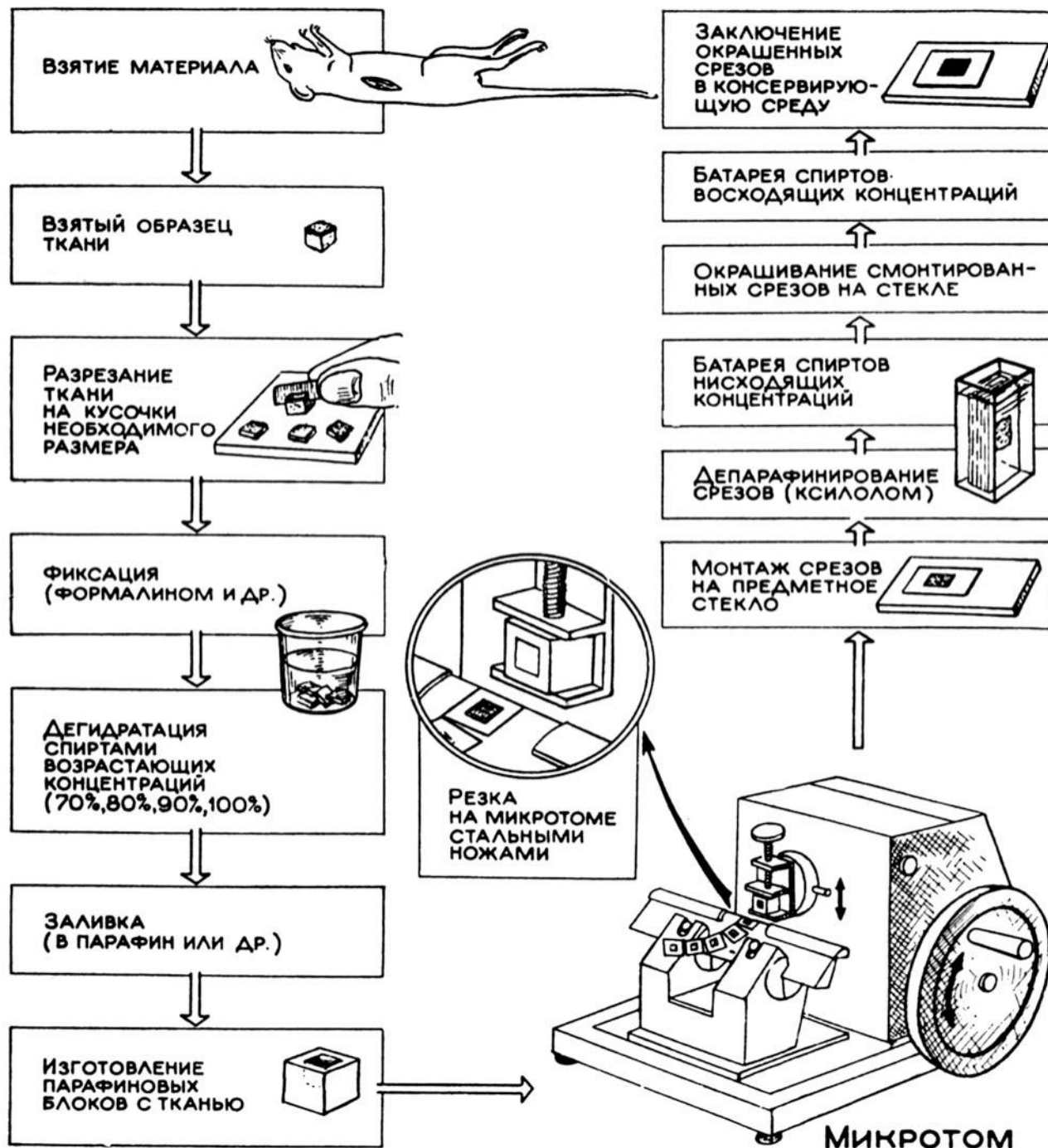
Пленочный препарат



Тотальный препарат



ЭТАПЫ ПРИГОТОВЛЕНИЯ ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО СРЕЗА



ВИДЫ ОКРАСКИ

- **Основные** красители – обычно красящие соли оснований (гематоксилин, метиловый синий, толуидиновый синий, азуры и др.), связываясь с кислотными группами внутри клеток и в межклеточном веществе, вызывают их окрашивание. Структуры, воспринимающие основные красители, называются *базофильными*.

- **Кислые** красители – кислоты и их соли (эозин, пикрофуксин, эритрозин), связываясь с основными соединениями внутри и вне клетки, вызывают их окрашивание в цвета красителя. Структуры, воспринимающие кислые красители, носят название *оксифильные* (ацидофильные, эозинофильные).

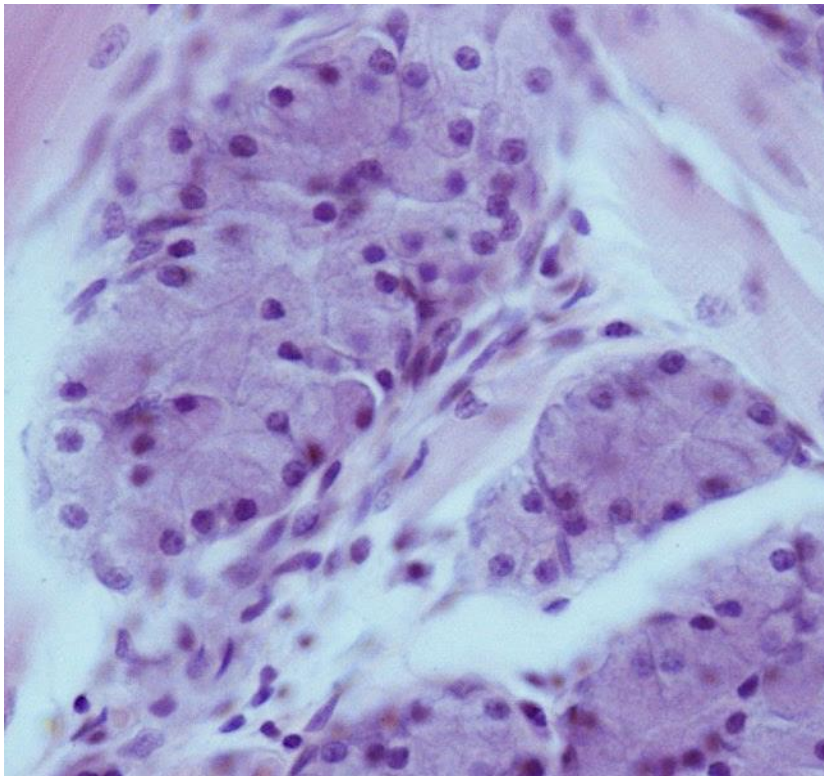
Нейтральные красители содержат как основные, так и кислые красящие компоненты.

Кроме этих трех красителей используется ряд **специальных** методов окраски

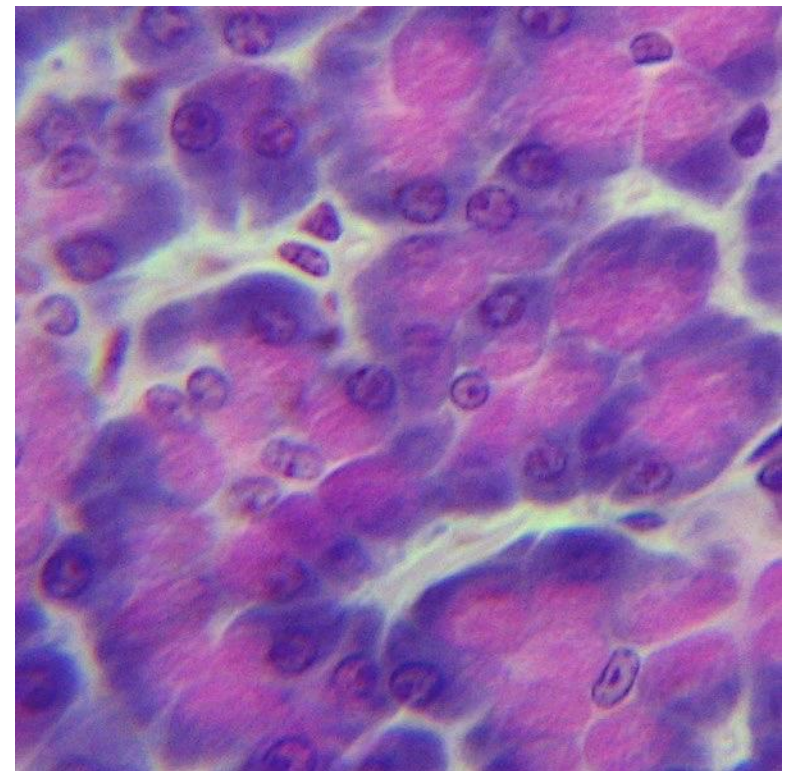
НАИБОЛЕЕ ЧАСТО ИСПОЛЬЗУЕМАЯ ОКРАСКА

Гематоксилин - *Эозин*

синий, фиолетовый
базофильные структуры:
ядро, ядрышко, грЭПС



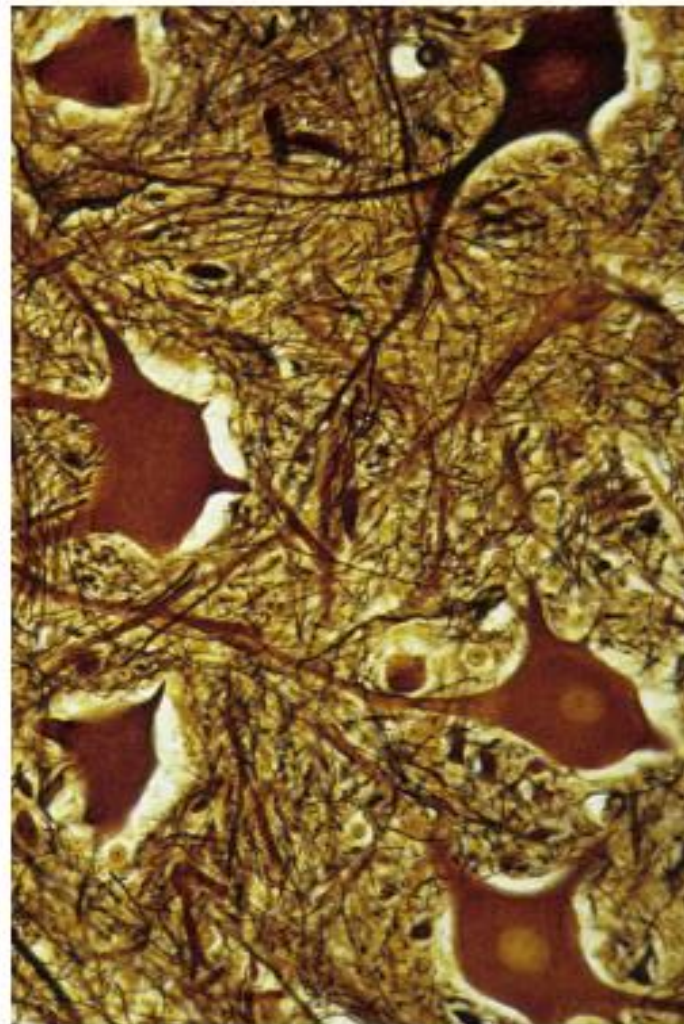
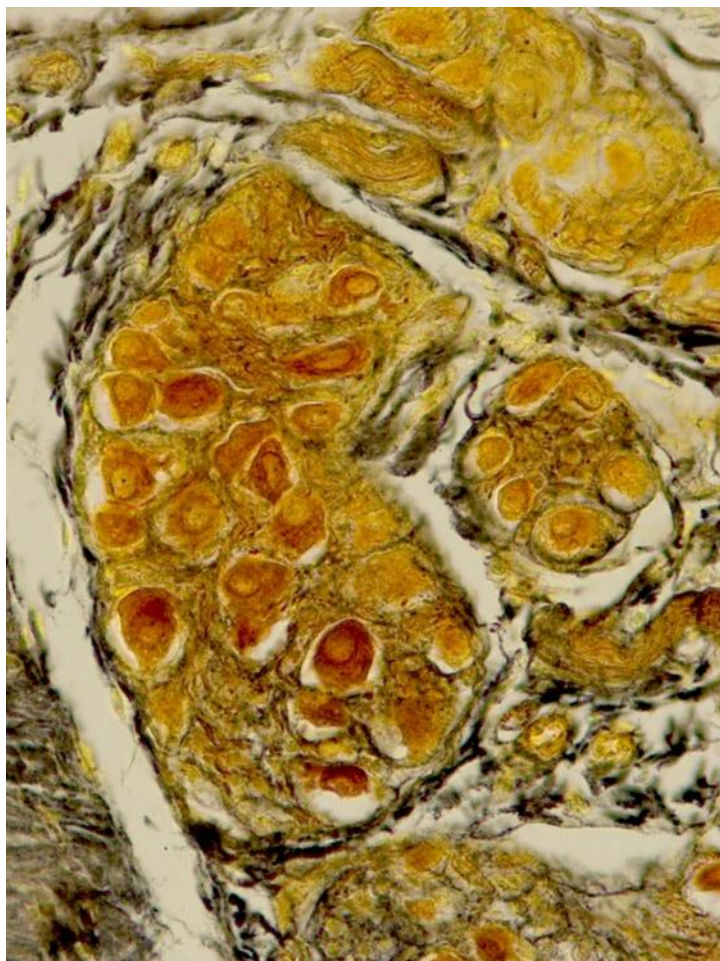
розовый
оксифильные структуры:
белки цитоплазмы клетки,
богатые белком гранулы,
коллагеновые волокна



ИМПРЕГНАЦИЯ СОЛЯМИ СЕРЕБРА –

используется для выявления **аргирофильных** структур в нервной ткани

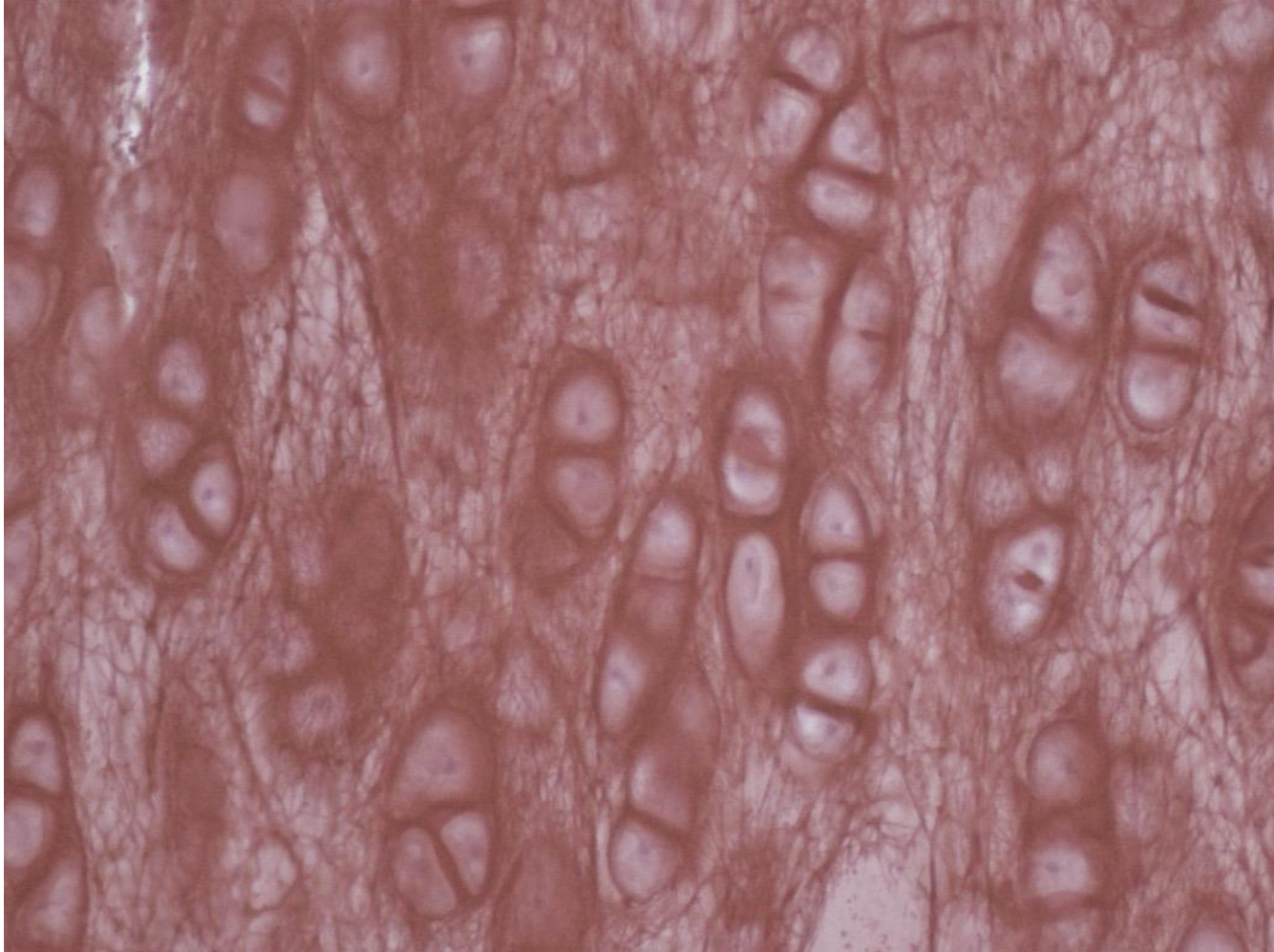
черный, коричневый
волокнистые структуры, нейрофибриллы, ретикулярные волокна



ОКРАСКА ОРСЕИНОМ

тёмно-красный, коричневый, фиолетовый

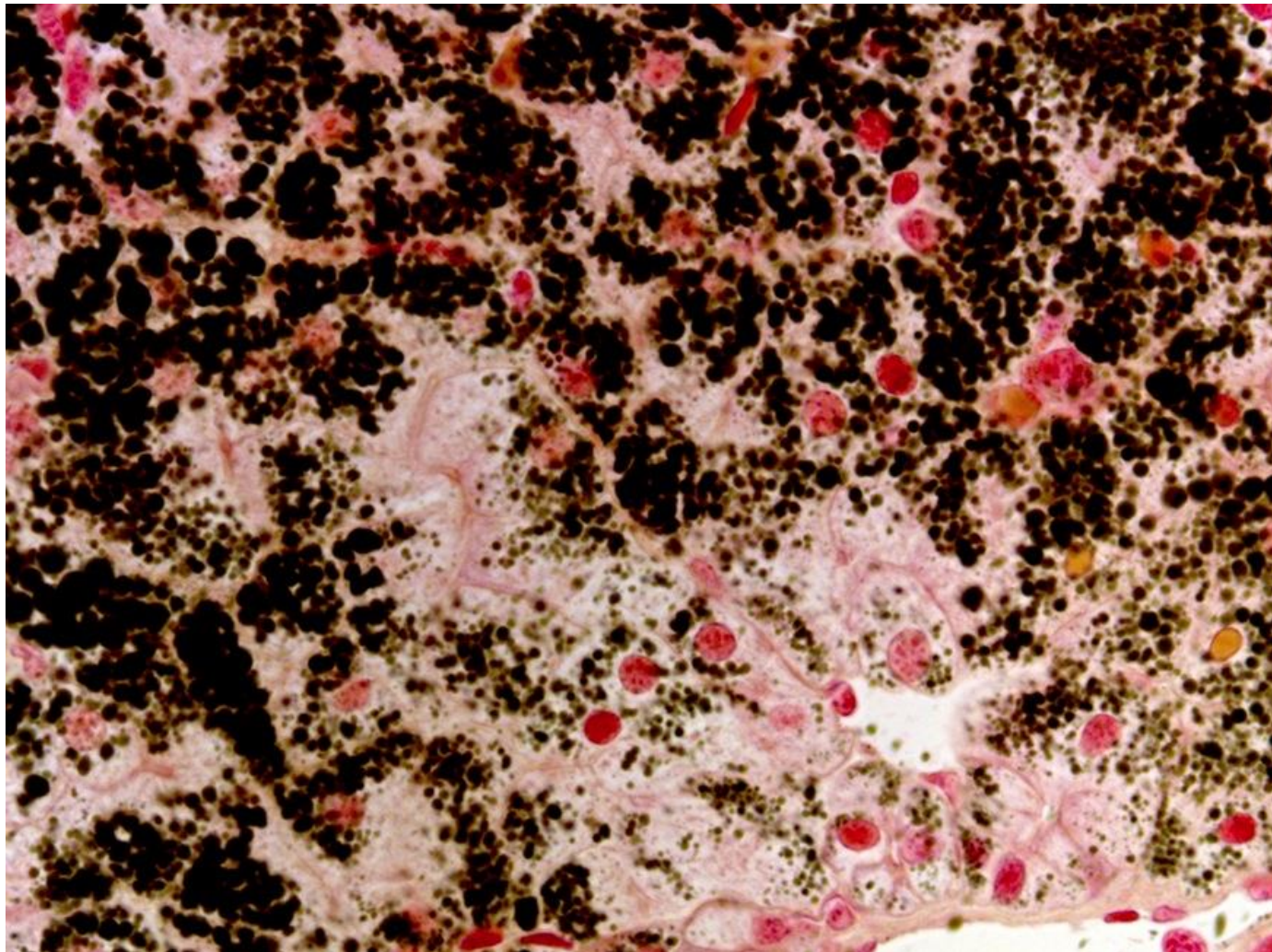
- позволяет выявлять эластические волокна



ОКРАСКА ОСМИЕВОЙ КИСЛОТОЙ

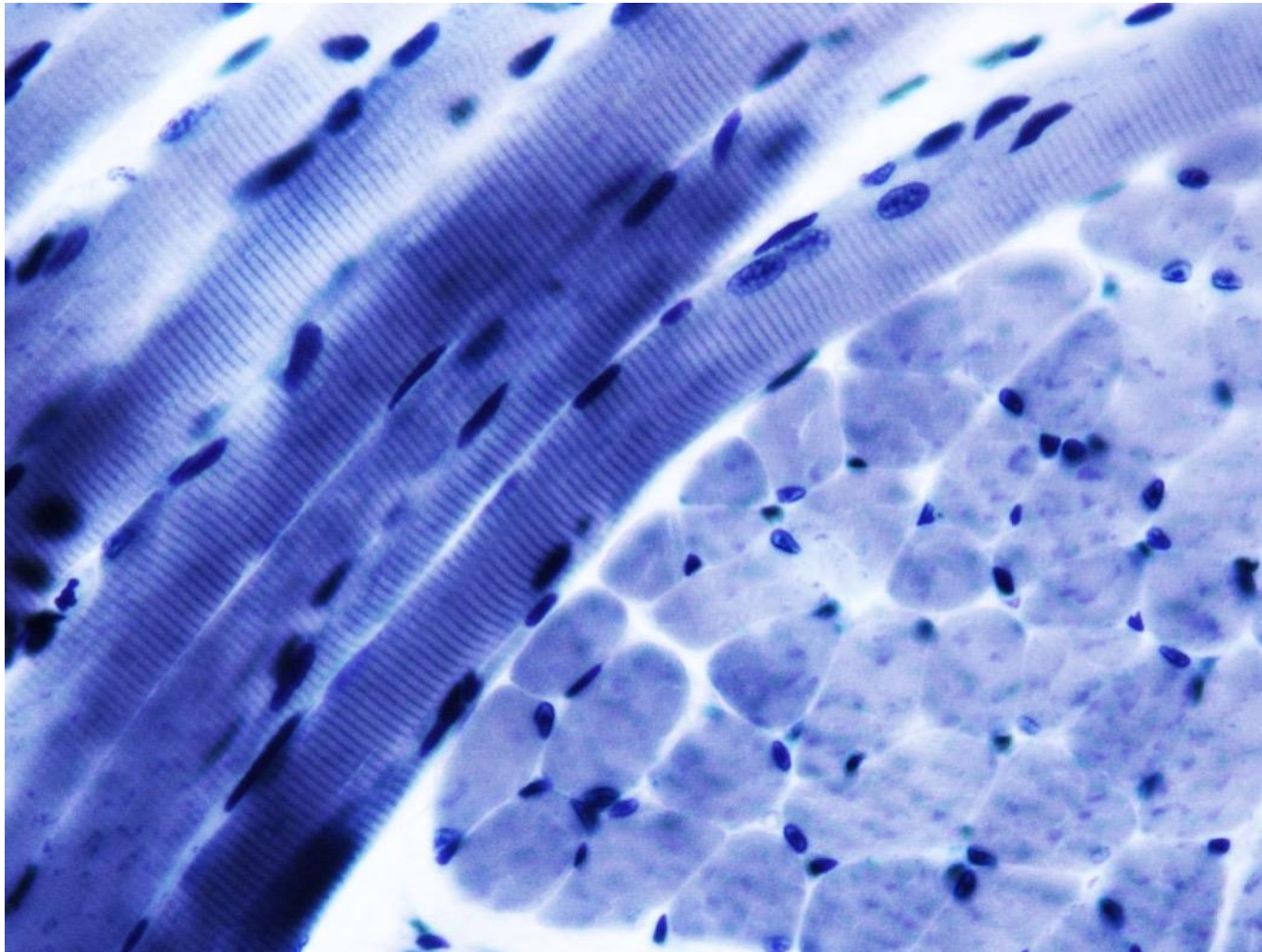
(с докраской кармином) –

черный - позволяет выявлять липидные включения



ЖЕЛЕЗНЫЙ ГЕМАТОКСИЛИН –

черный, темно-синий
ядро, ядрышко, мышечные волокна, границы клеток



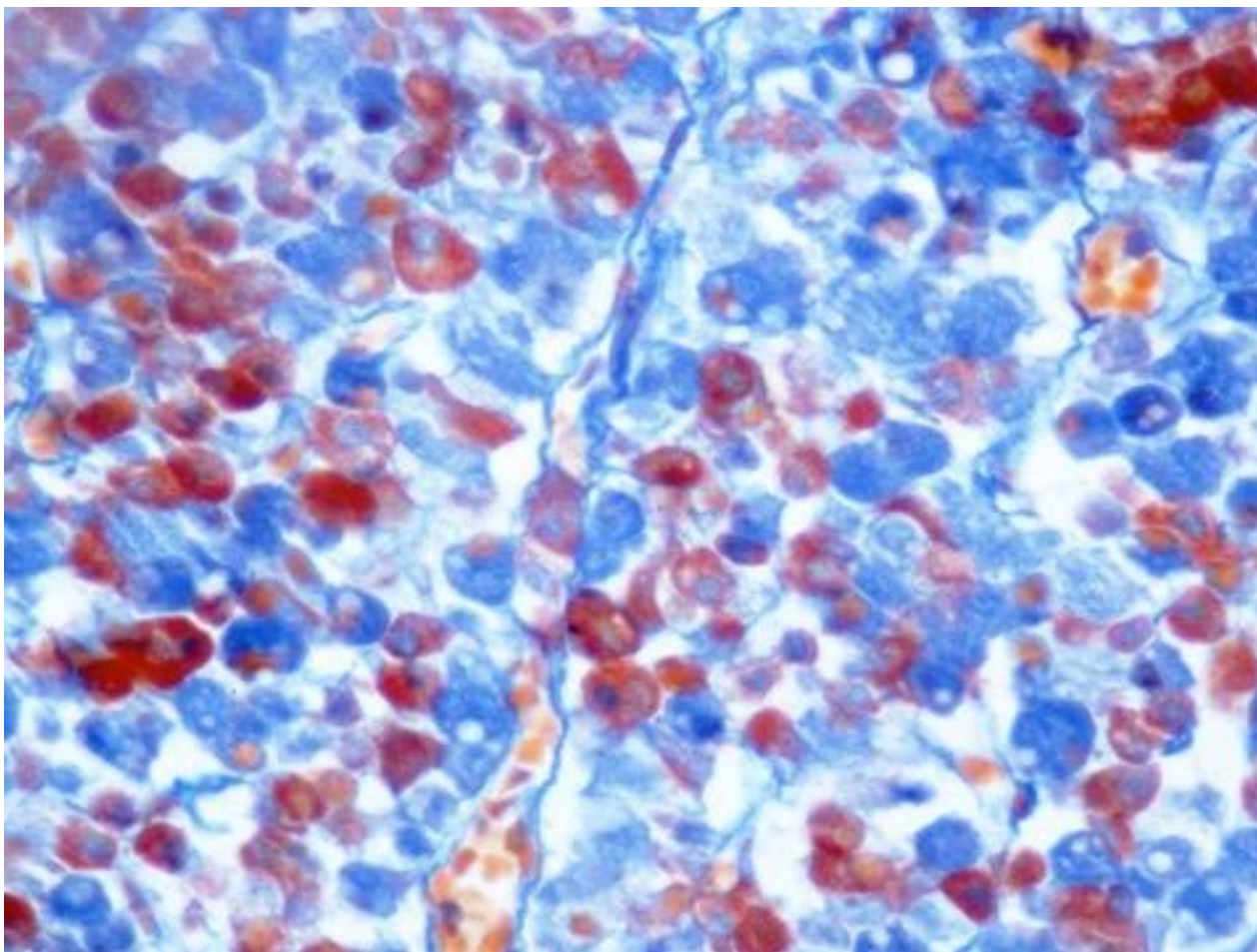
ОКРАСКА по МАЛЛОРИ – краситель – трехцветный
смесь кислого фуксина, анилинового синего, оранжевого G

тёмно-синий

коллагеновые волокна

оранжевый или **красный**

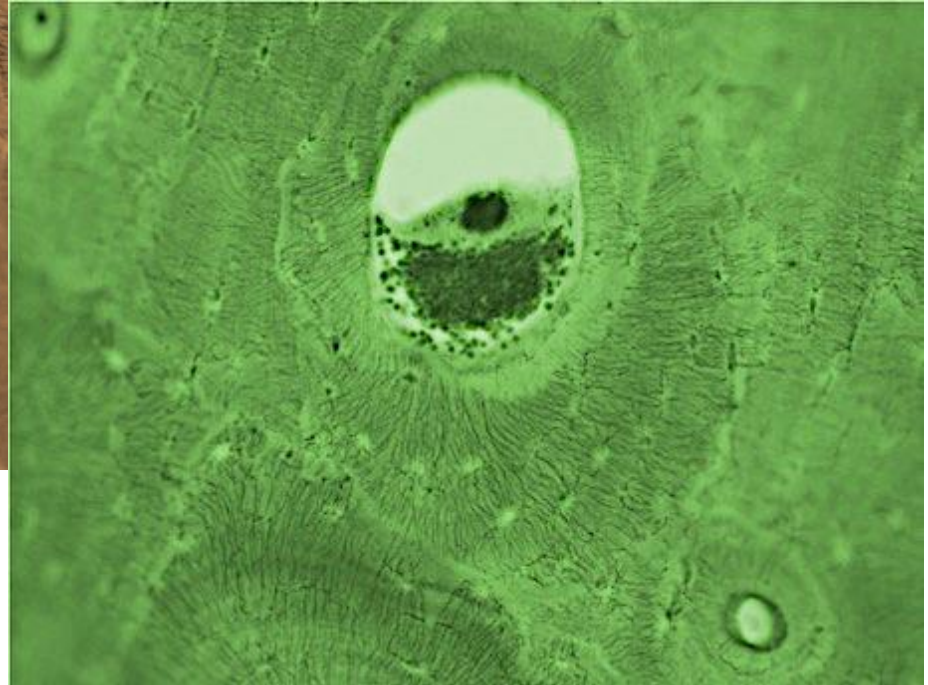
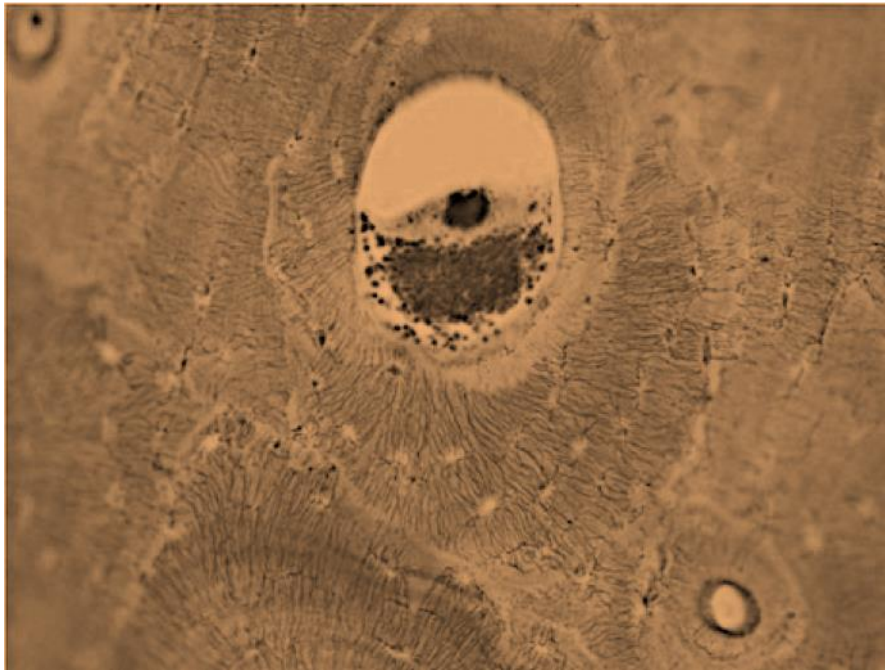
ядра, мышечные волокна, эритроциты



ОКРАСКА по ШМОРЛЮ – краситель - тионин

Используется для окраски костей и дентина.
Предварительно осуществляют **декальцинацию**

тёмно-коричневый цвет
стенки костных полостей и канальцев
(выстланные сетью коллагеновых волокон),
светло-коричневый
остальной фон



ОКРАСКА ПИКРОФУКСИНОМ-ЖЕЛЕЗНЫМ ГЕМАТОКСИЛИНОМ

черный или буро-черный

ядра клеток

ярко-красный

коллагеновые волокна

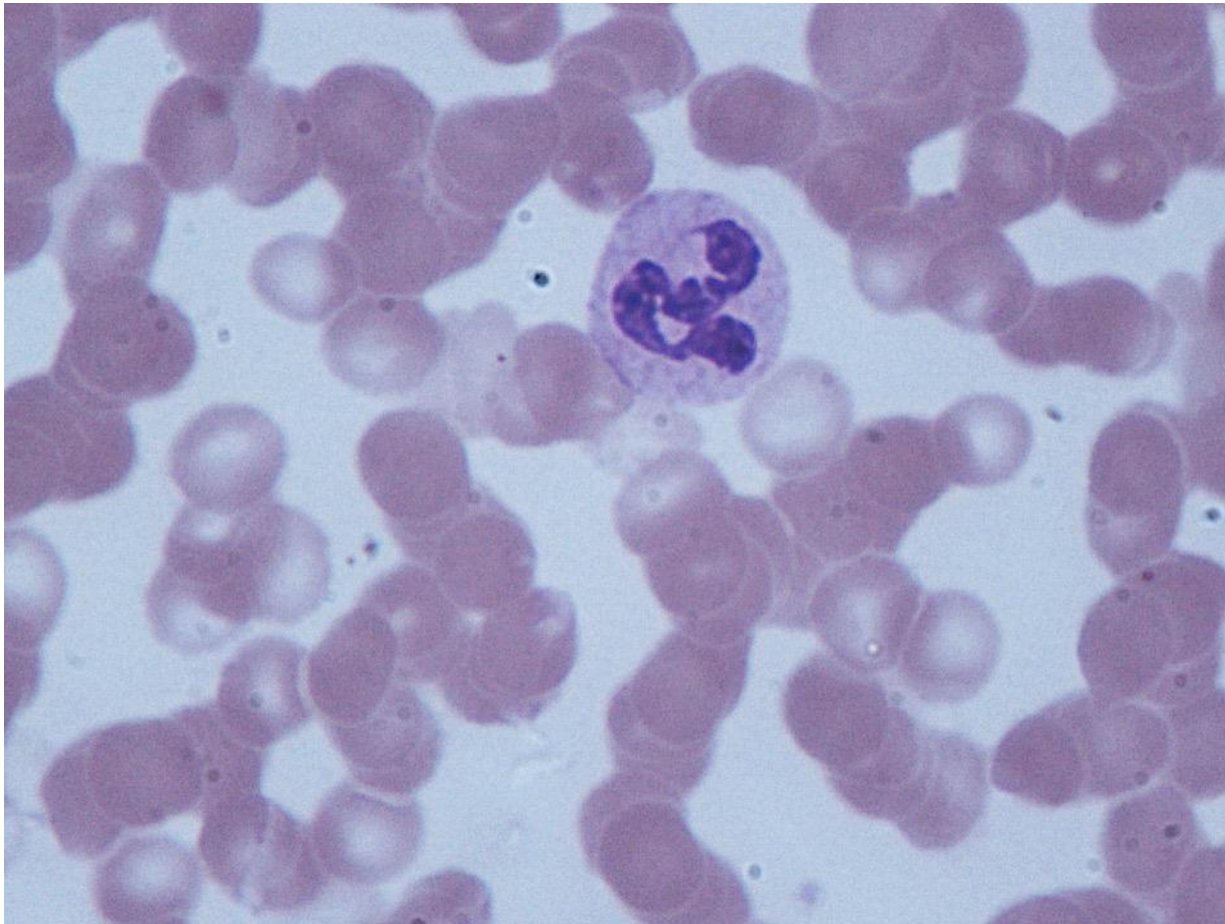
буровато-желтый или **желто-зеленый**

мышечные и эластические волокна



**ОКРАСКА по методу
РОМАНОВСКОГО
азур 2 - эозин**

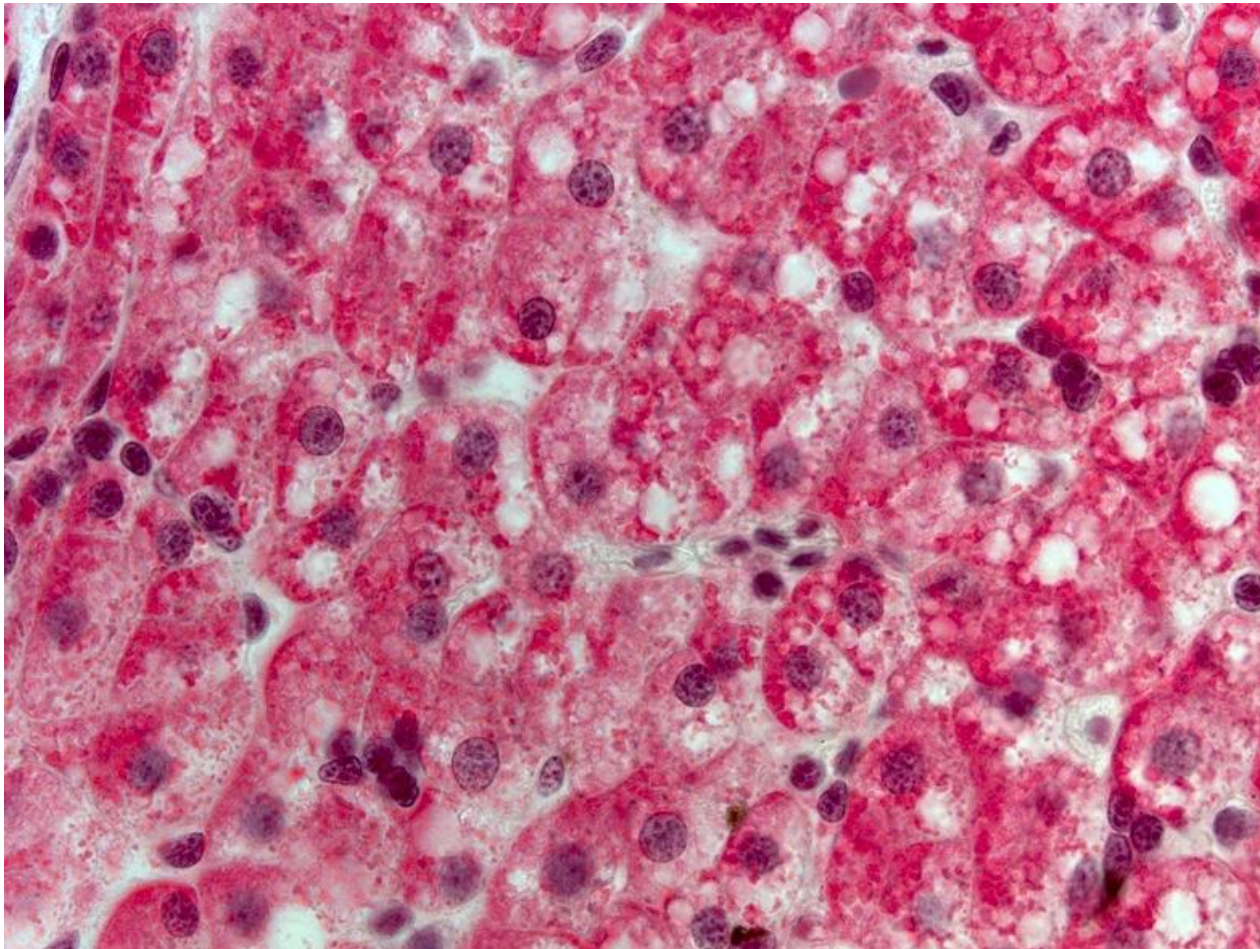
базофильные элементы: **тёмно-синий**
ядра клеток
светло синий
цитоплазма лейкоцитов
оксифильные элементы: **светло-красный**
-эритроциты



ШИК-реакция

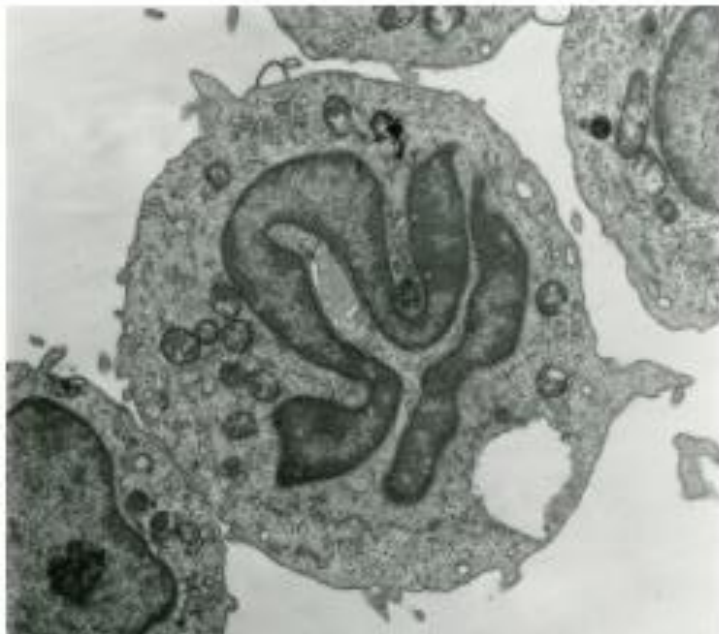
реактив - Шифф-периодная кислота

тёмно-красный
гранулы гликогена

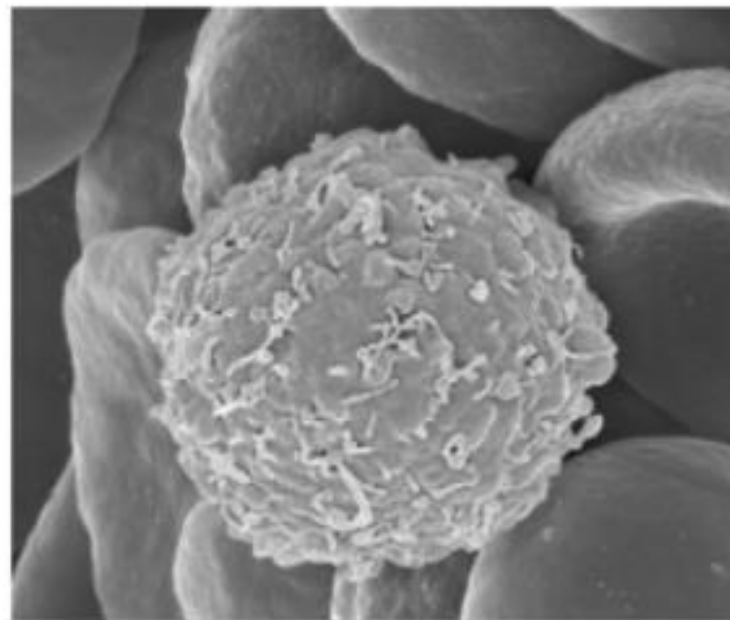


ЭЛЕКТРОННАЯ МИКРОСКОПИЯ

Трансмиссионная

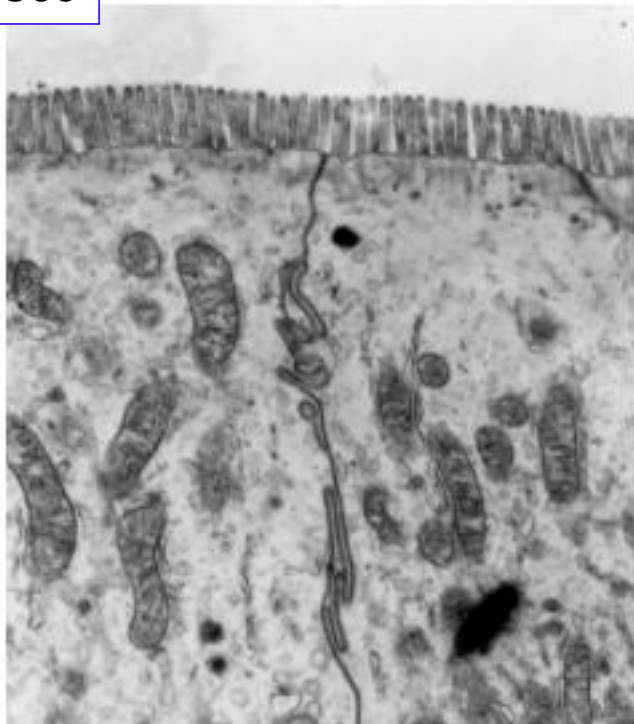


Сканирующая

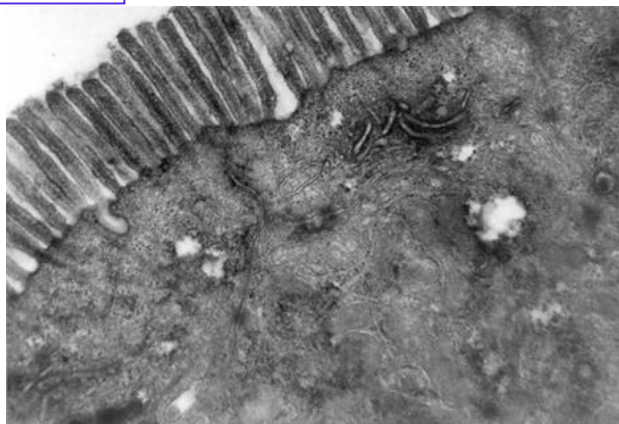


УВЕЛИЧЕНИЕ (электронная микроскопия)

х 2 500

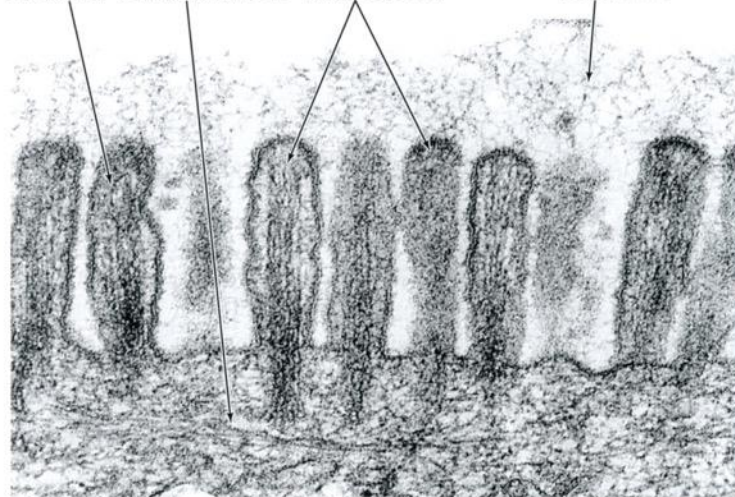


х 5 000

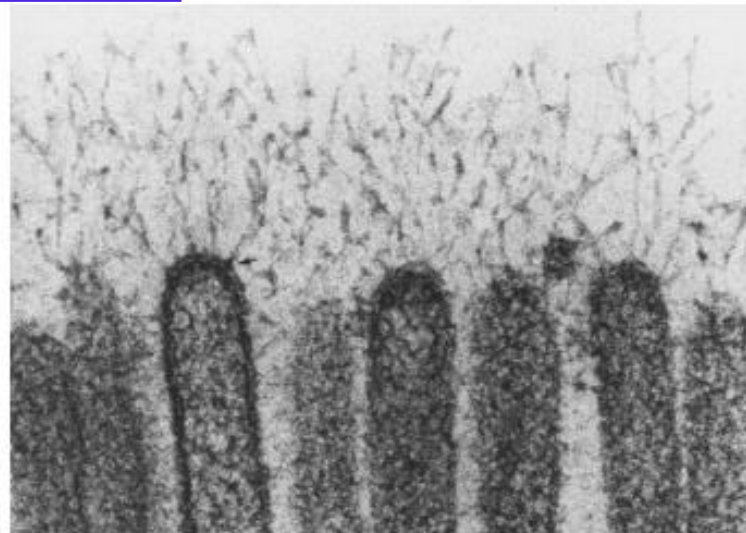


х 45 000

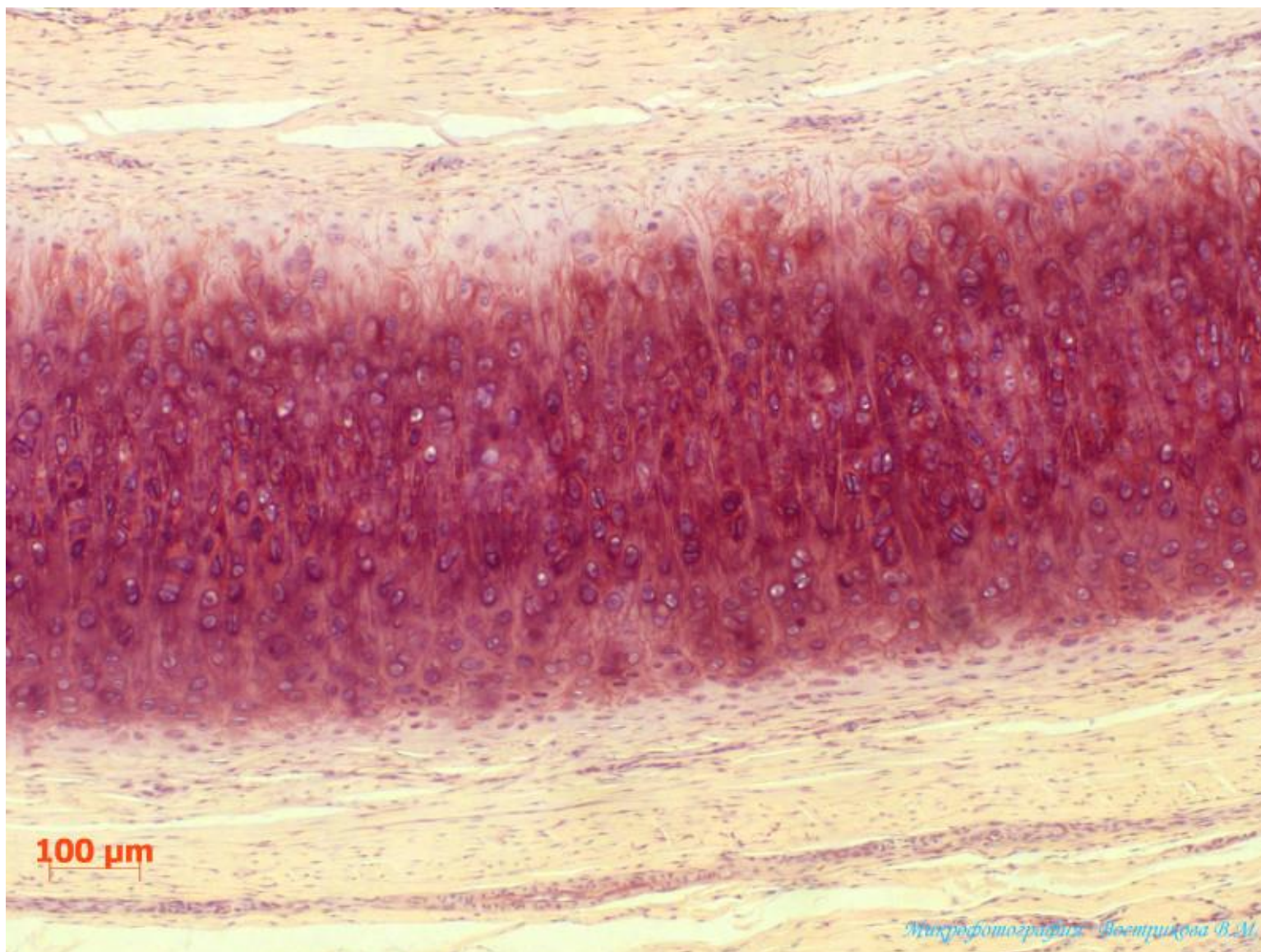
Филаменты Терминальная сеть Микроворсинки Гликокаликс



х 56 000

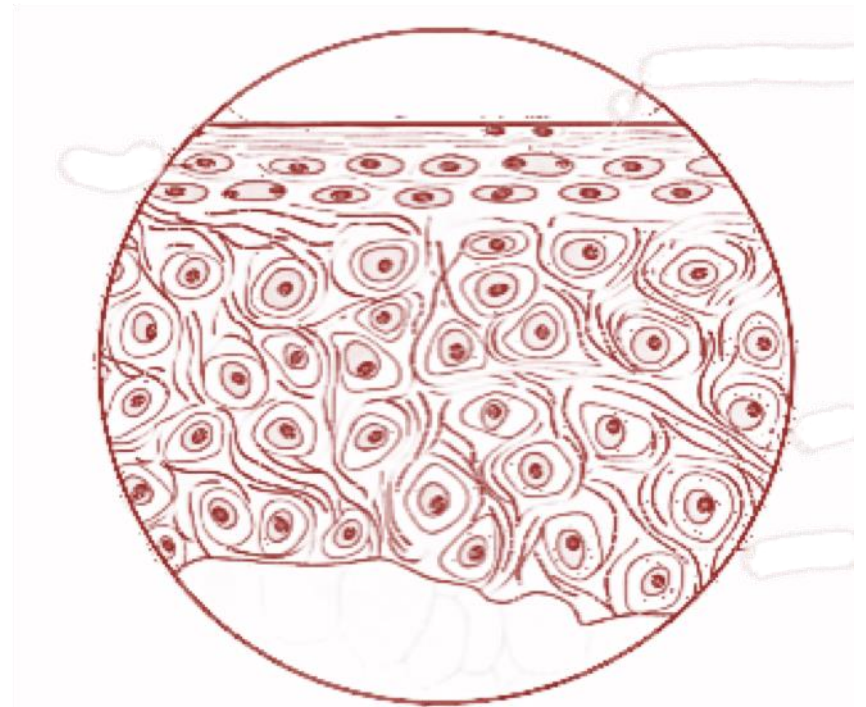


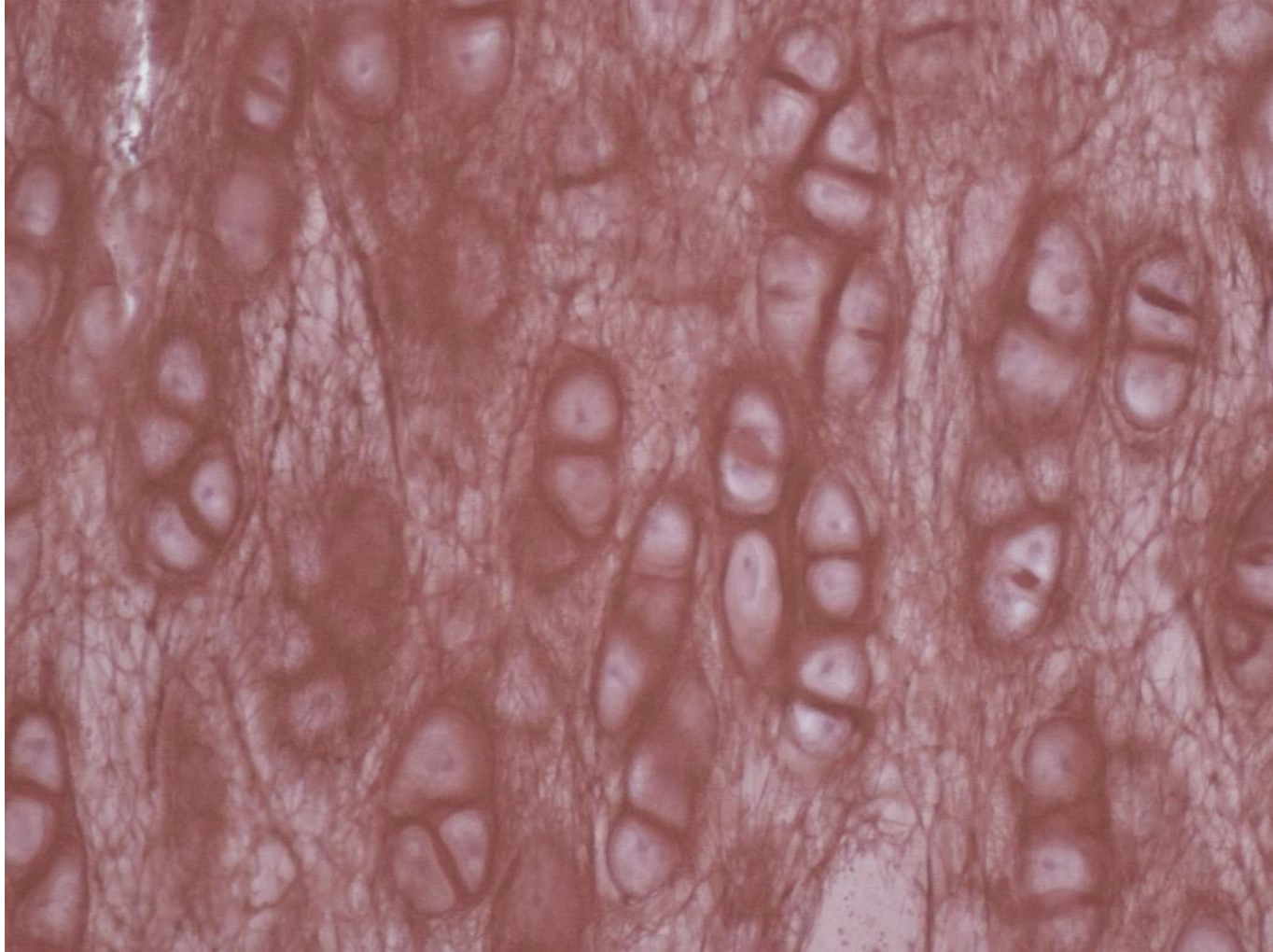
Препарат №3 «Эластическая хрящевая ткань. Срез ушной раковины»
Окраска орсеином



ЗНАЧЕНИЕ РИСУНКА В ГИСТОЛОГИИ:

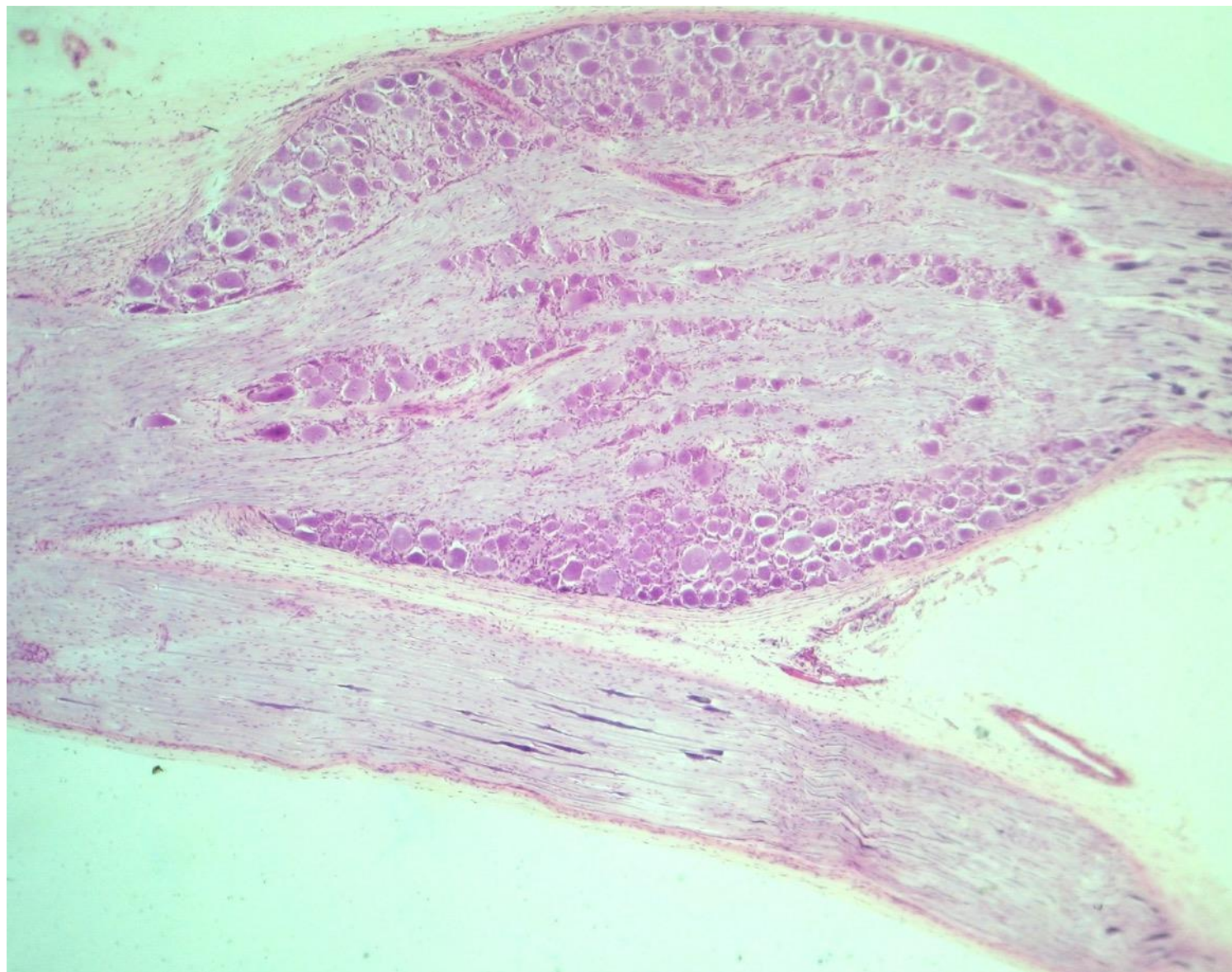
- ✓ суммация нескольких полей зрения
- ✓ обобщенное представление о структуре:
 - частота встречаемости той или другой структуры
 - форма, размеры структур и их соотношение
 - расположение структур
 - окраска структур



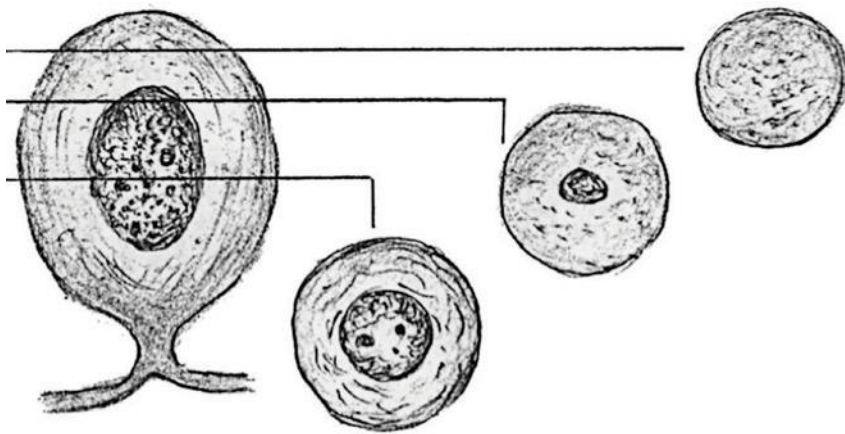
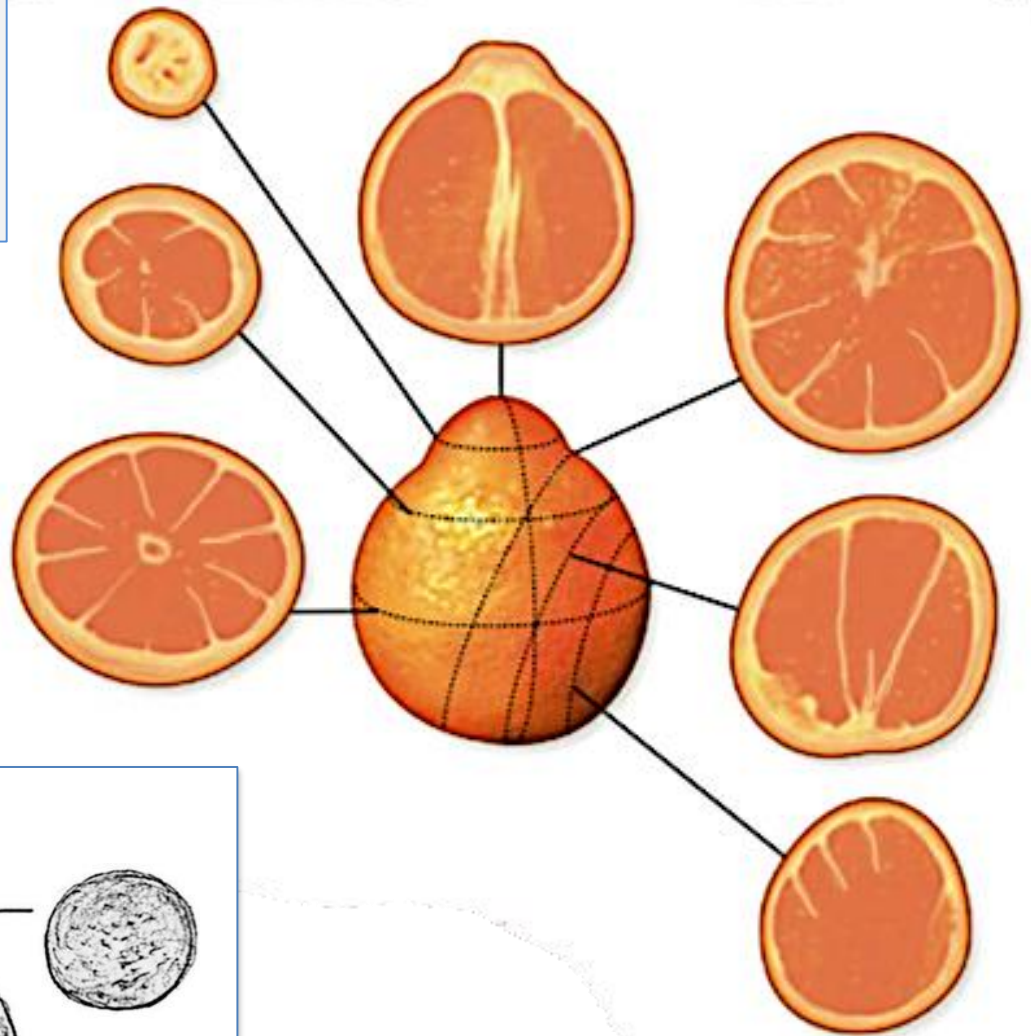


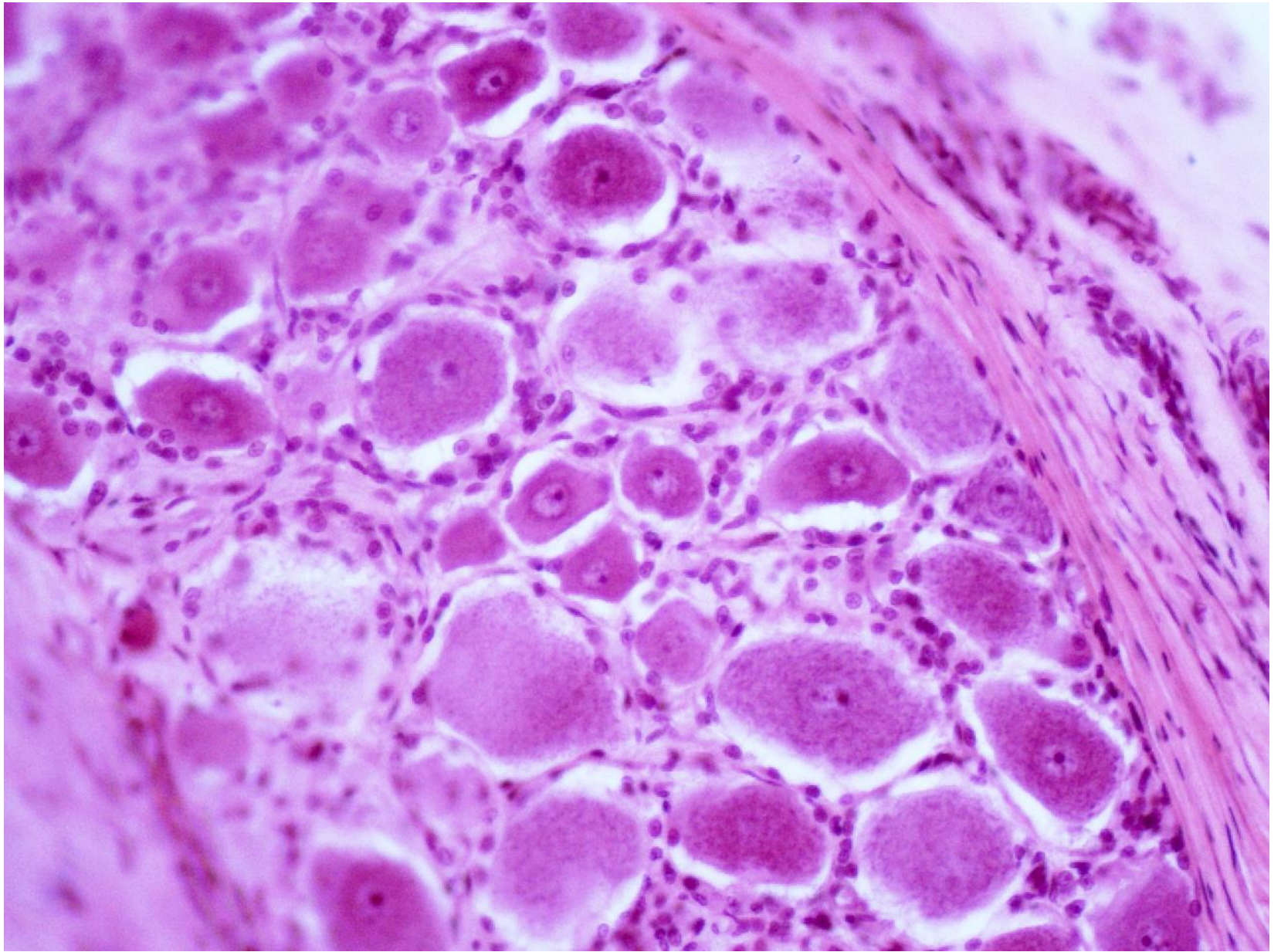
Препарат №1 «Нервные клетки и клетки глии спинномозгового чувствительного узла»

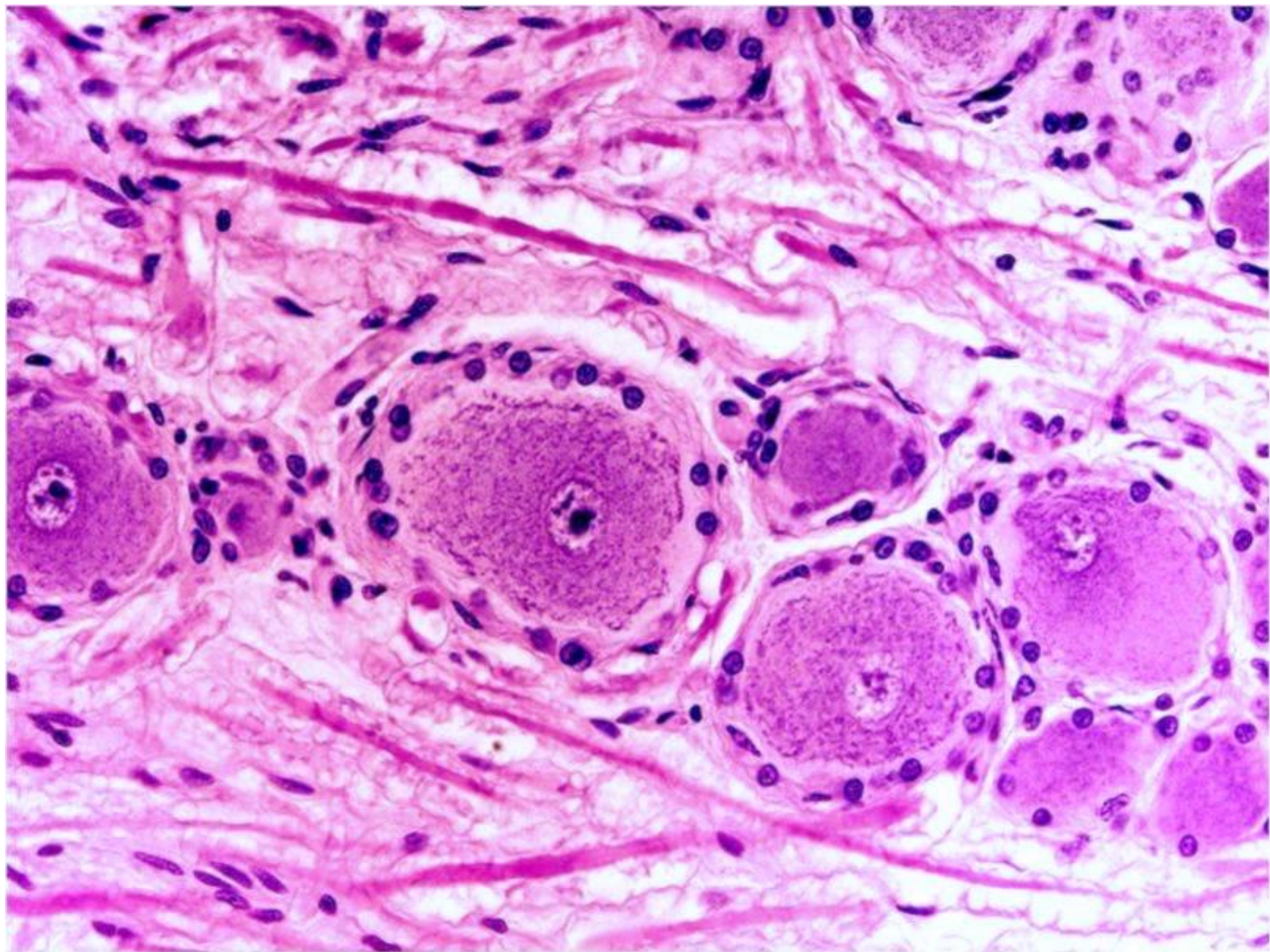
Окраска гематоксилин-эозин

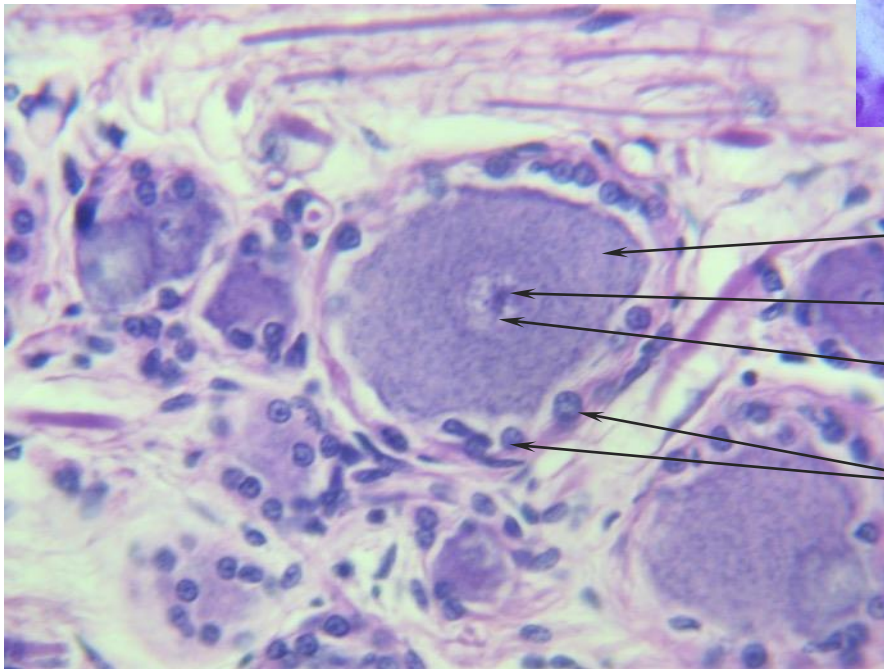
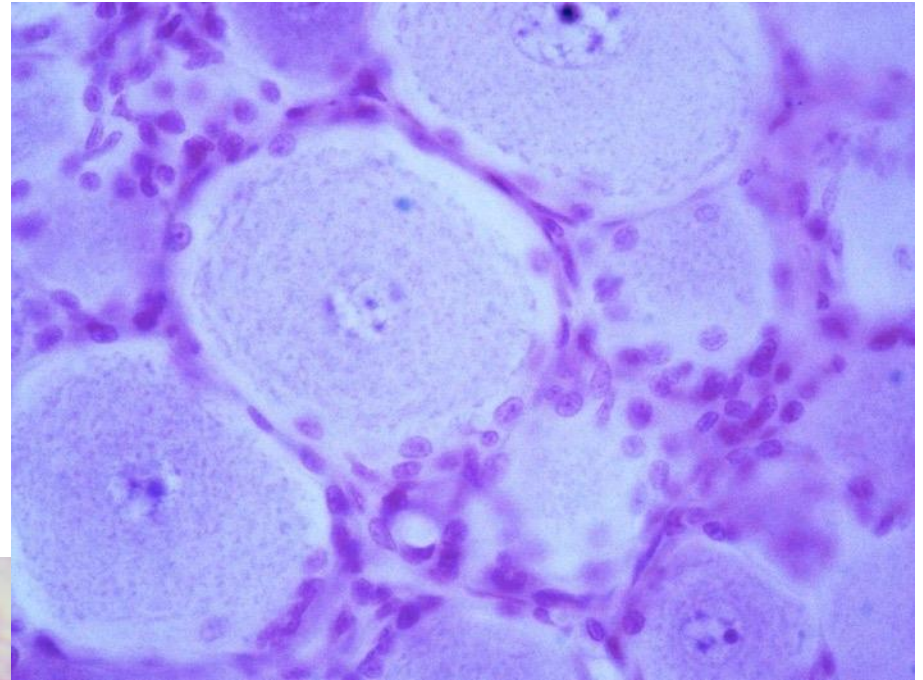


*Вид структуры (клетки) на
препарате в зависимости
от уровня прохождения
среза*





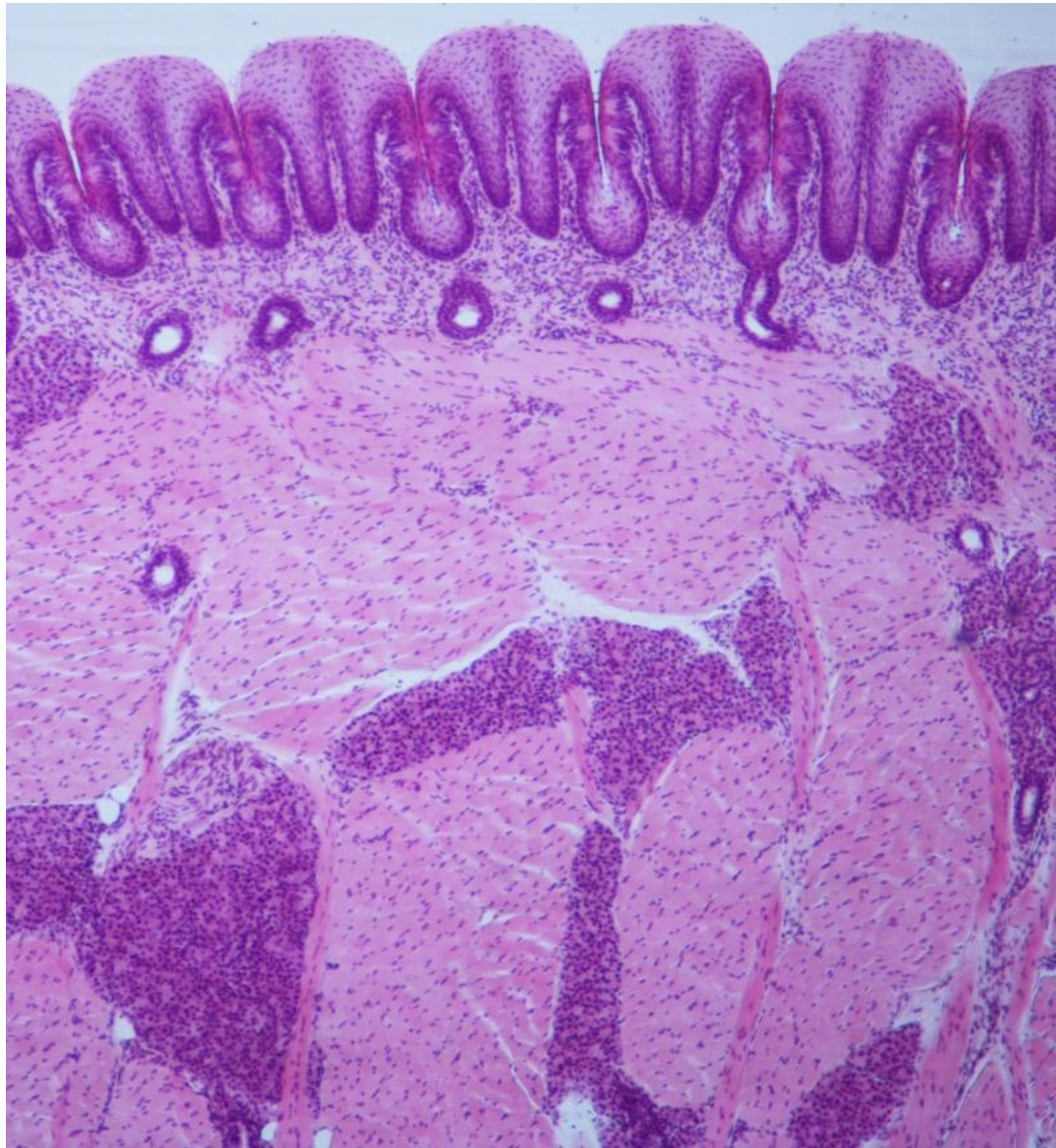


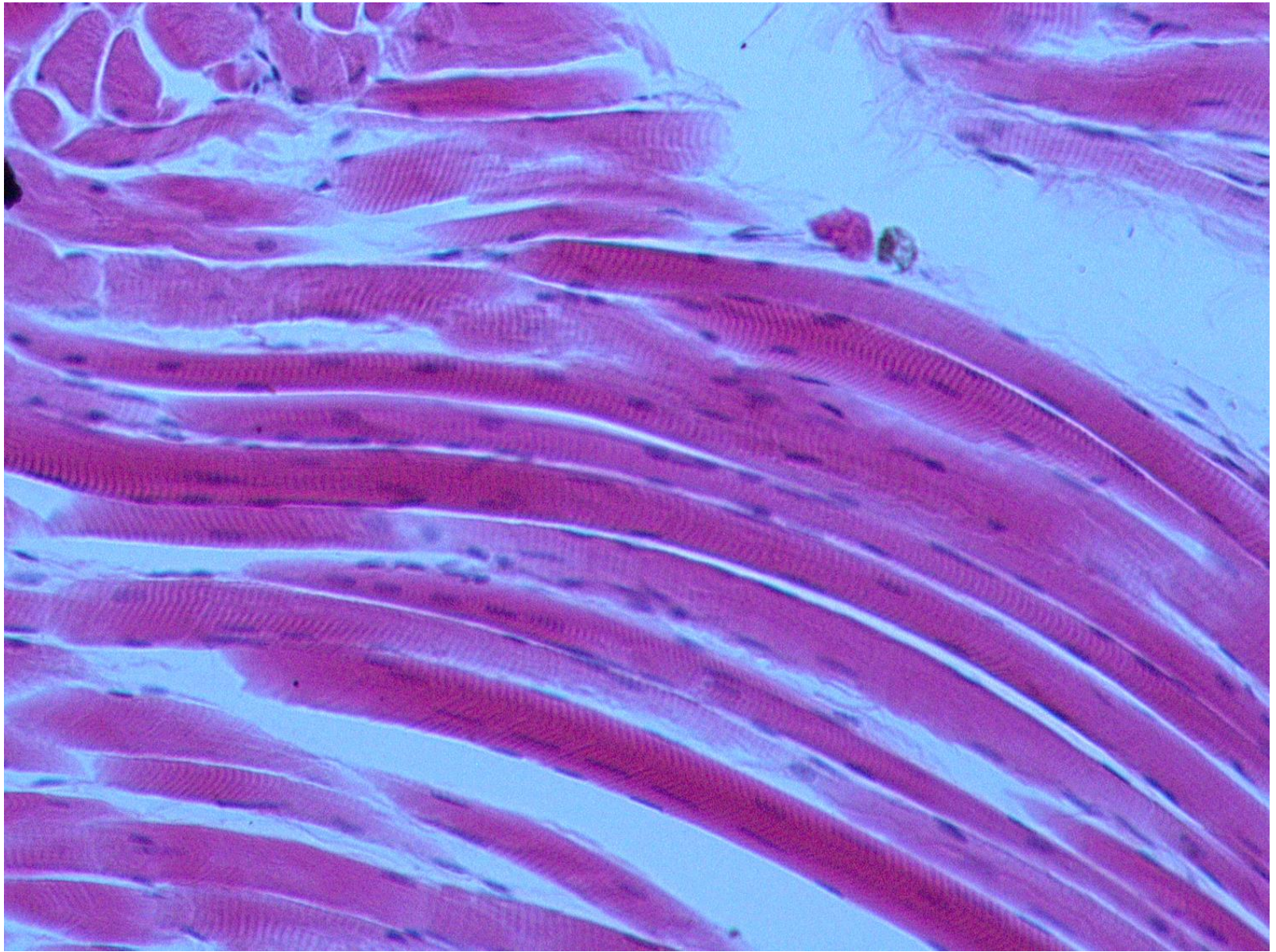


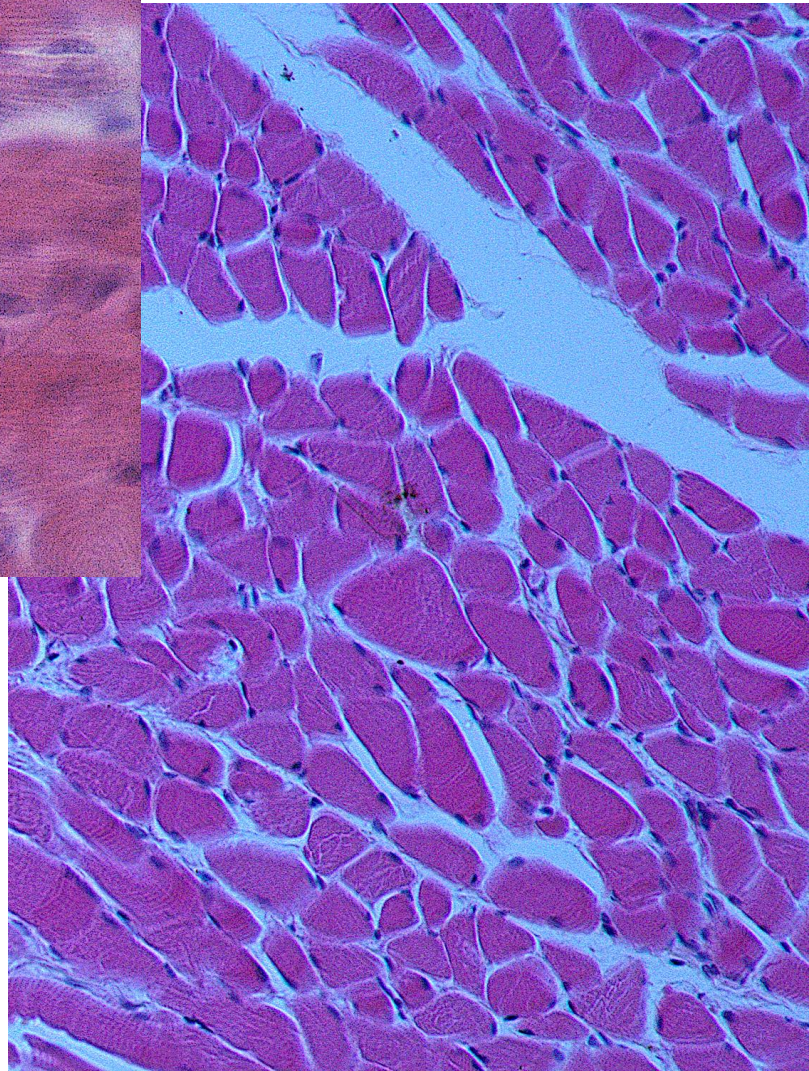
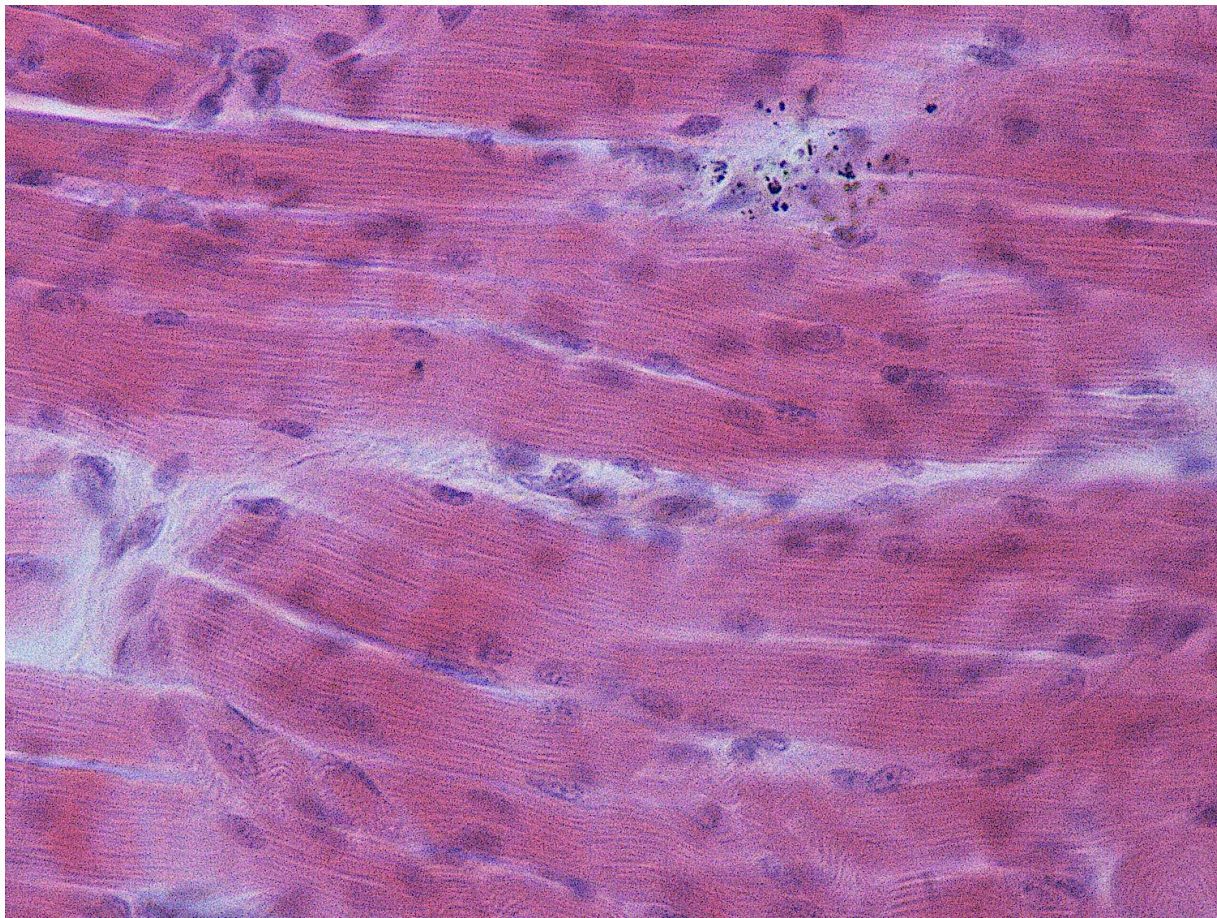
Цитоплазма
Ядрышко
Ядро
Ядра глиальных клеток

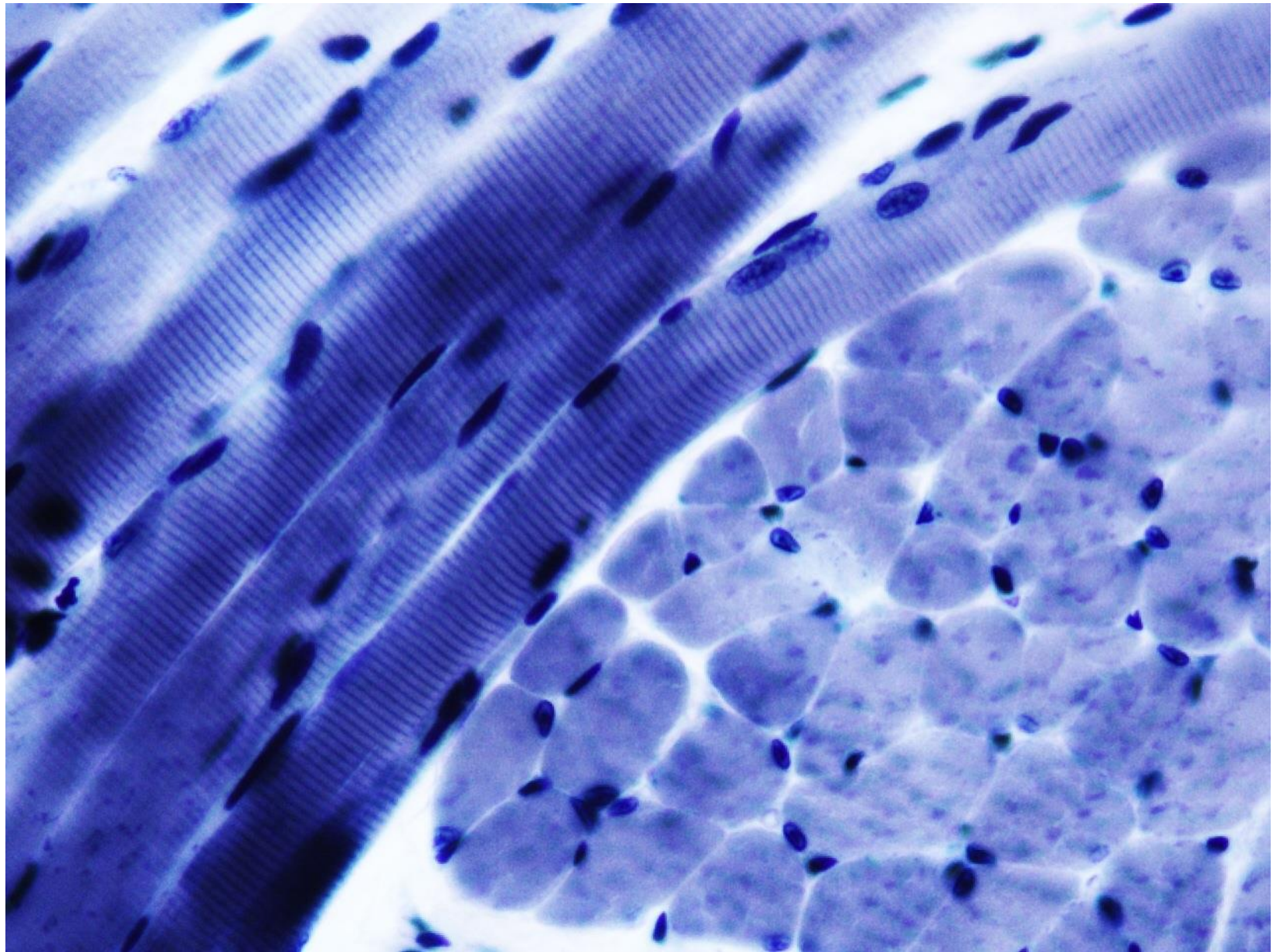
Нейрон

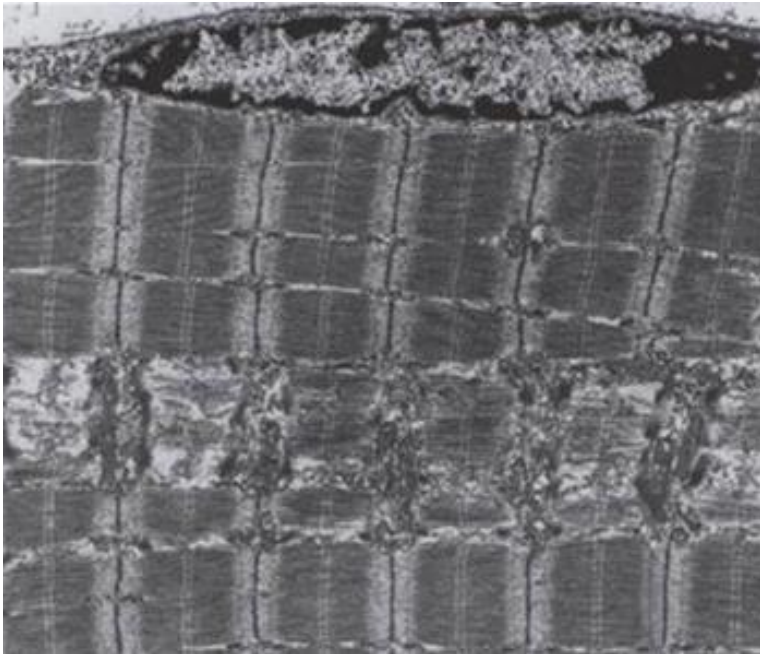
Препарат №2 «Симпласт – поперечно-полосатое мышечное волокно. Срез скелетной мышцы»
Окраска гематоксилин-эозин











x 6 000



x 25 000

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ



