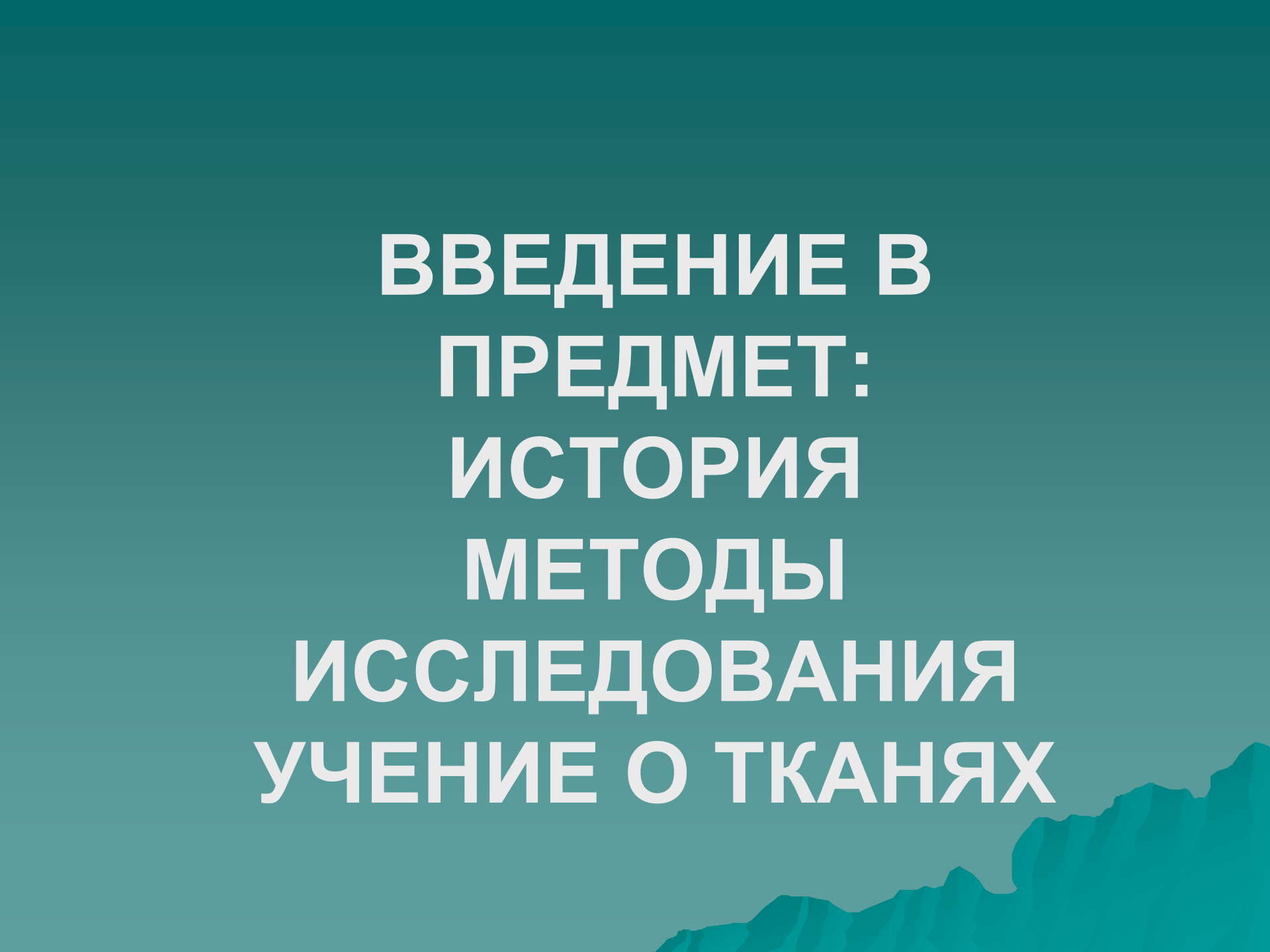


**ВВЕДЕНИЕ В
ПРЕДМЕТ:
ИСТОРИЯ
МЕТОДЫ
ИССЛЕДОВАНИЯ
УЧЕНИЕ О ТКАНЯХ**



Гистология — наука, изучающая закономерности развития, строения и жизнедеятельности тканей

Периоды развития:

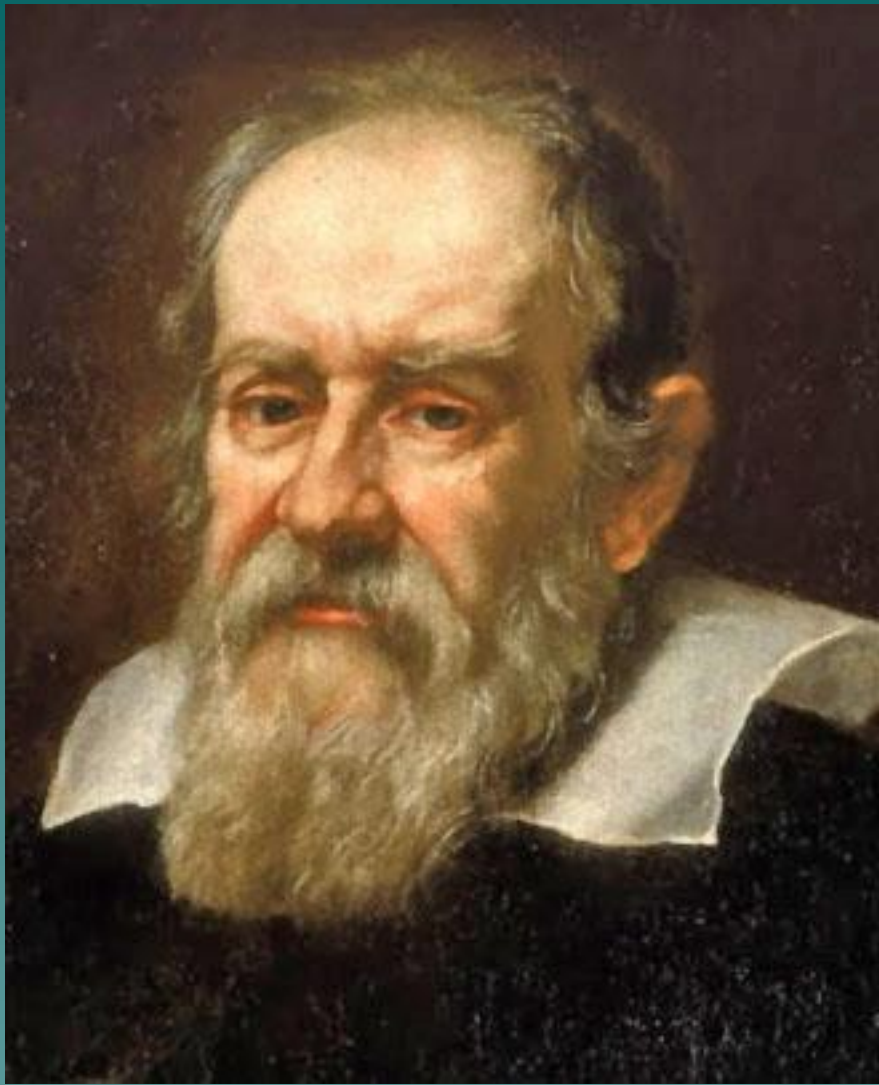
- Описательный
(домикроскопический)
- Микроскопический
- Электронномикроскопический
- Современный

ИСТОРИЯ МИКРОСКОПИИ КАК ГЛАВА В ИСТОРИИ ГИСТОЛОГИИ



ZACHARIAS IANSEN,
sive Ioannides primus Conspiciliorum inventor.

В 1590 г. изготовители очков голландцы Ганс Янсен и его сын Захарий Янсен были известны как искусные шлифовальщики стёкл. В 1608 г голландцы Иоганн Липперсгей и Яков Адриансен «очковых дел мастера» привезли в Гаагу изготовленные ими «перспективные трубы». Труба из белой жести, длиной чуть больше фута (30 см), на каждом из её концов вмонтировано по стеклу для очков. Труба создавала увеличенные изображения объектов.



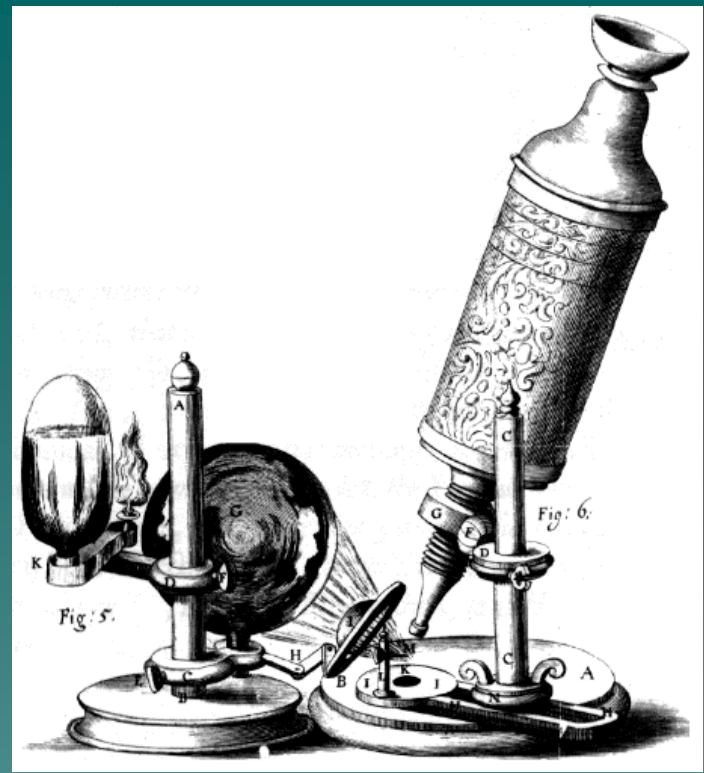
Галилео Галилей (1564 — 1642) — итальянский физик, механик, астроном, философ и математик.



В 1609 году конструирует первый телескоп и направляет его в небо.

В 1624 году Галилео Галилей изобретает составной микроскоп с выпуклой и вогнутой линзами *оккиolino* (*occhiolino* — маленький глаз).

Друг Галилея — Джованни Фабер в 1625 году дал название прибора — «микроскоп» по аналогии с телескопом.



В 1665 г. Роберт Гук публикует свой труд «Микрография», собрание биологических гравюр микромира, где вводит термин **клетка** для структур, которые он обнаружил в коре пробкового дерева.

Роберт Гук (1635 — 1703) — английский естествоиспытатель, учёный-энциклопедист.

ВЕХИ КЛЕТОЧНОЙ БИОЛОГИИ



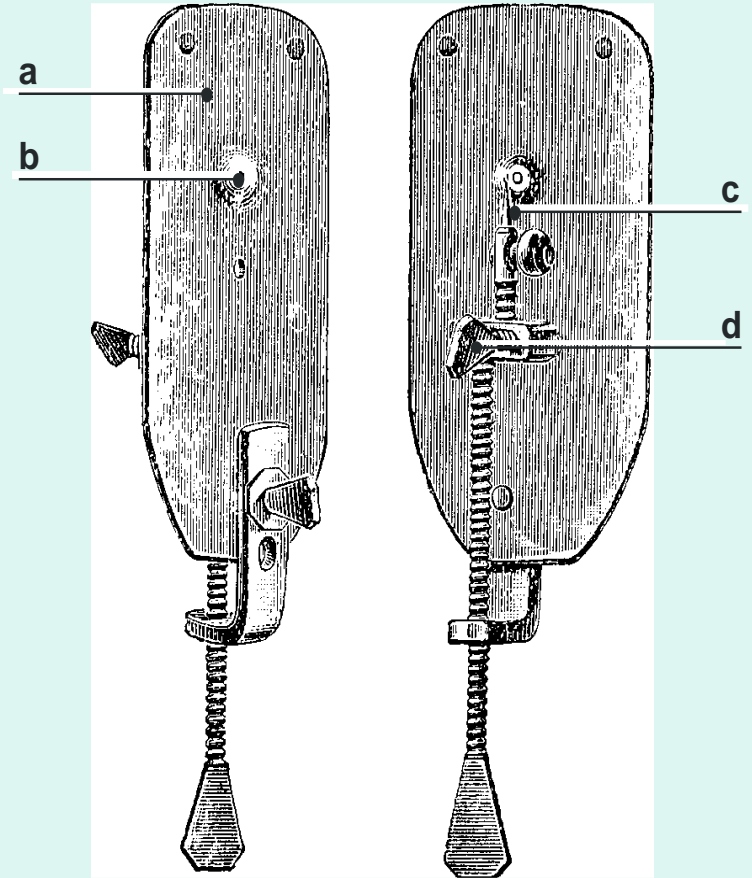
1675 Марчелло Мальпиги издает «Anatomia Plantarum», первую фундаментальную работу по морфологии, основанную на микроскопическом наблюдении.

В своих анатомических исследованиях Мальпиги одним из первых использовал микроскоп, дававший увеличение до 180 раз.

МИКРОСКОПИЧЕСКИЙ ПЕРИОД



Антон ван Левенгук (1632–1723)



1676 Антон Лёвенгук наблюдает в водной пене крошечные организмы, которые он называет анималькулями.



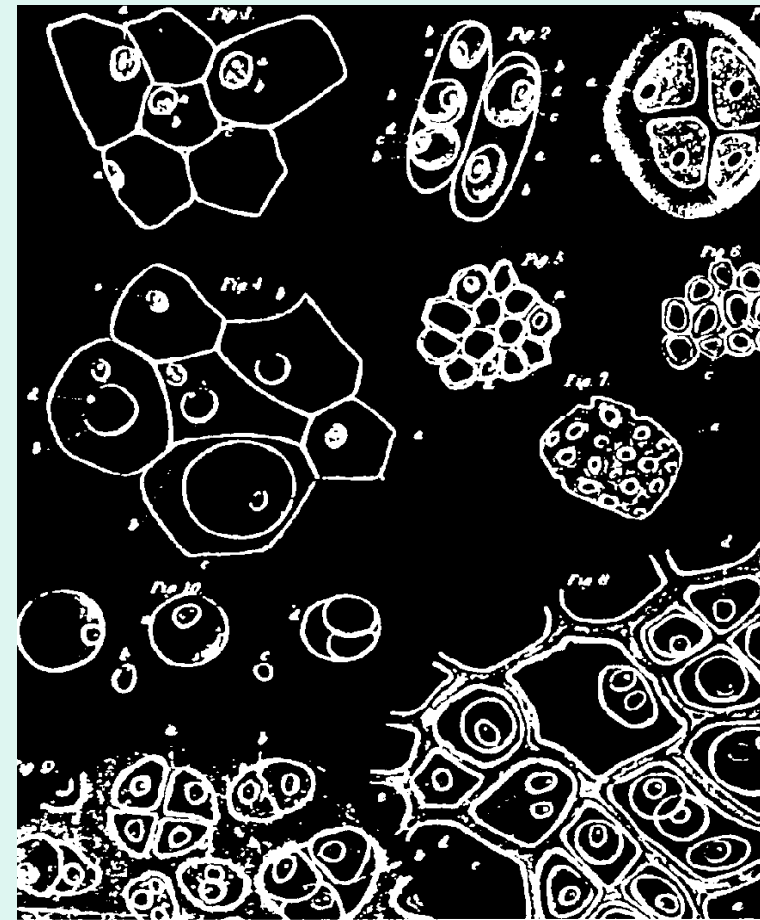
1830 Ян Пуркинье и Габриэль Валентин отмечают, что животные ткани, как и растительные, состоят из клеток.

Клеточная теория Шлейдена и Шванна (1839)



1839 Теодор Шванн и Матиас Шлейден формулируют клеточную теорию.

- все ткани состоят из клеток
- общий принцип развития клеток и тканей



Зарисовки Шванна растительных и животных клеток



1858 Рудольф Вирхов публикует «Клеточную патологию», в которой формулирует принцип «Omnis cellula e cellula», «всякая клетка от клетки», завершивший спор биологов о самозарождении организмов.

СТАНОВЛЕНИЕ ГИСТОЛОГИИ КАК НАУКИ



Французский анатом Marie Francois Bichat (1771-1802 гг.) вводит термин «ТКАНЬ» и описывает 21 тип тканей.

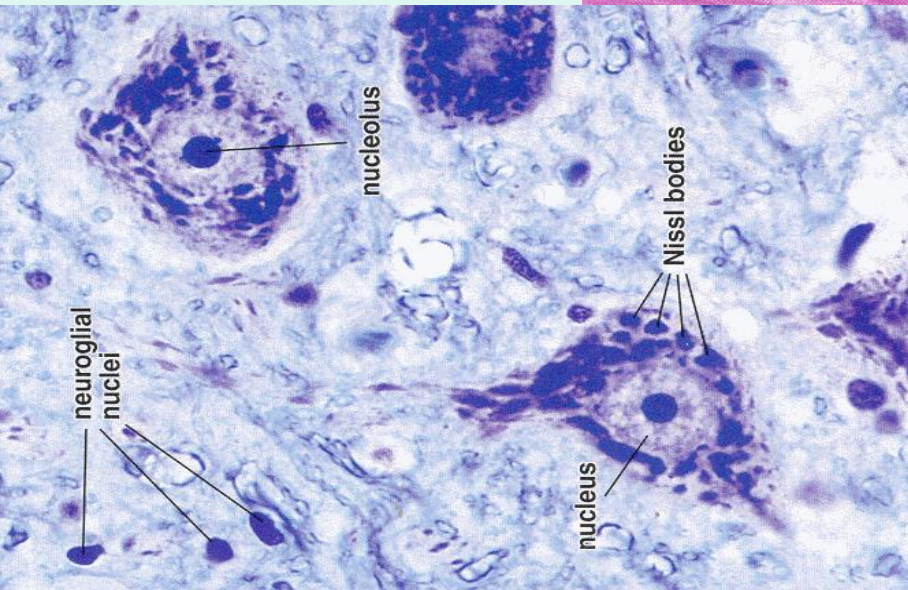
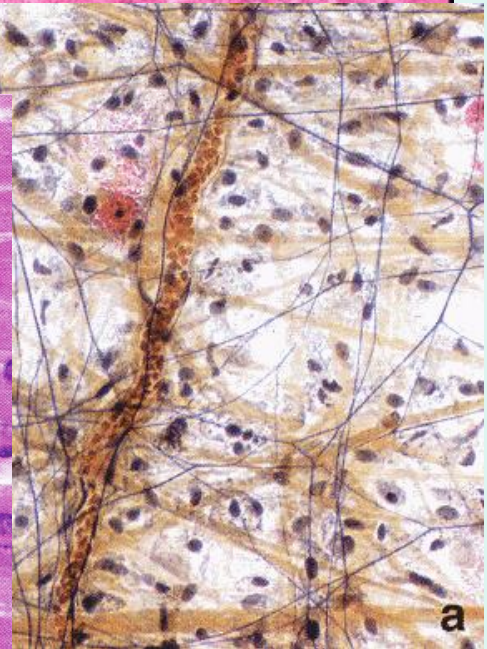
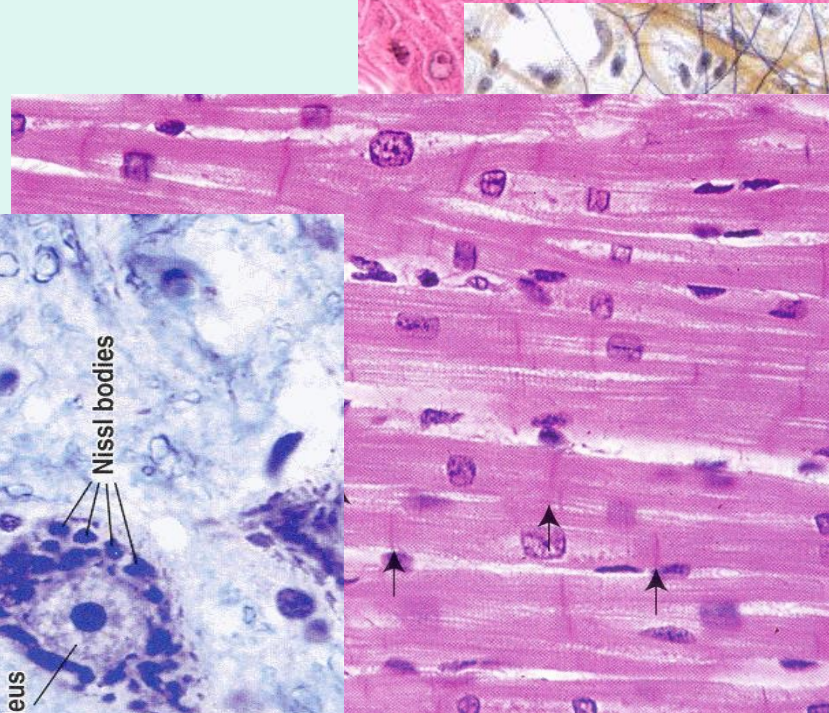
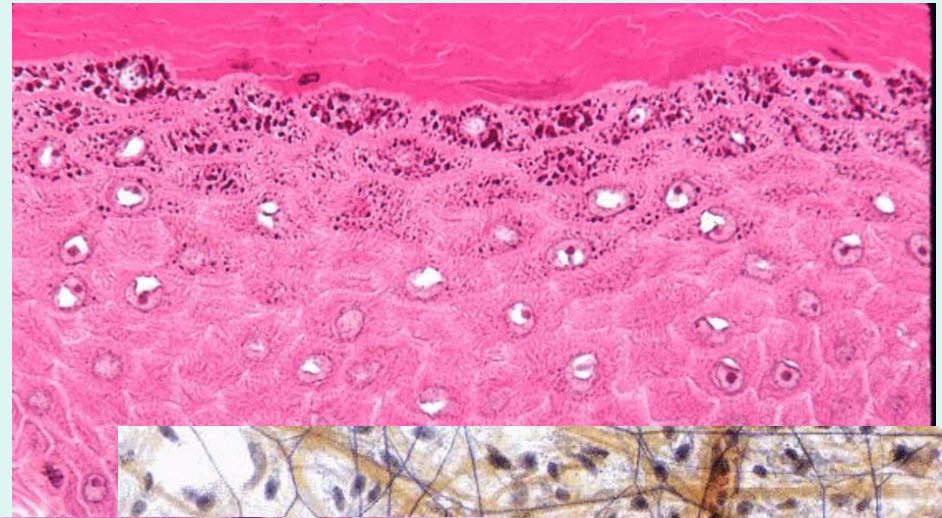
В 1819 (от греч. histos — ткань и logos — учение) немецкий исследователь Paul Mayer вводит термин «ГИСТОЛОГИЯ».

Гистология — биологическая наука, изучающая закономерности развития, строения и жизнедеятельности тканей

Биша (Bichat) (1771–1801)

Основоположник современной гистологии немецкий анатом Rudolf Kolliker в 1852 г вводит современную классификацию тканей.

- Эпителиальная
- Соединительная (ткани внутренней среды)
- Мышечная
- Нервная



ТКАНЬ В ИЕРАРХИЧЕСКОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ЖИВОЙ МАТЕРИИ

Ткань — исторически (филогенетически) сложившаяся система гистологических элементов, объединённых общностью происхождения, строения и выполняемыми функциями в организме

Структурные уровни:

- Человеческий организм
- Система органов
- Орган
- Ткань
- Морфо-функциональная единица
- Клетка
- Органелла
- Молекула
- Атом

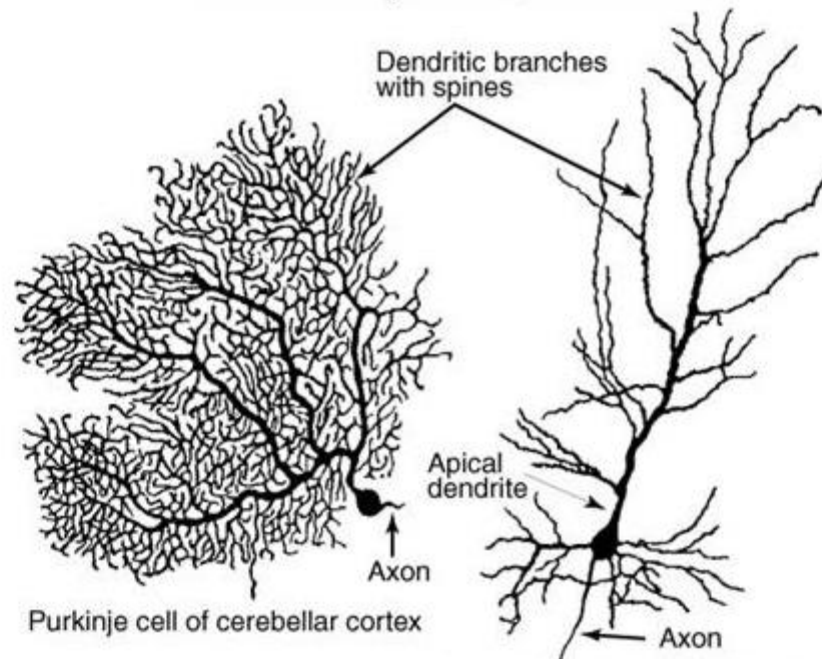
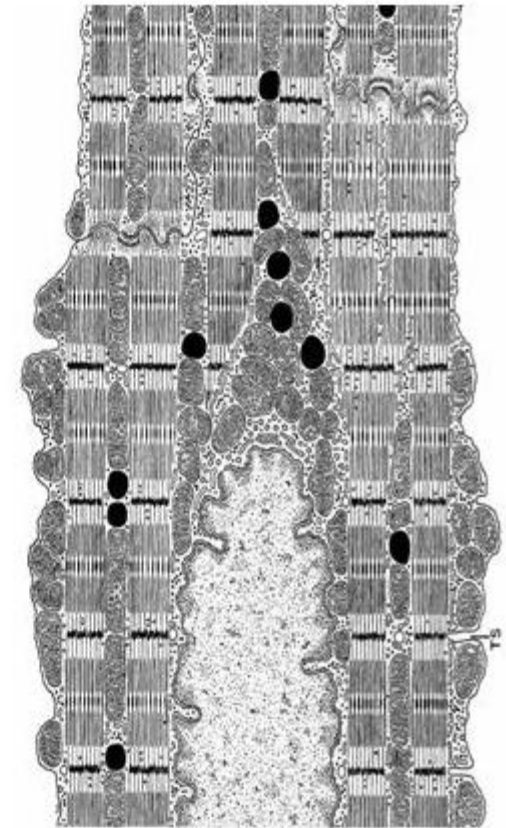
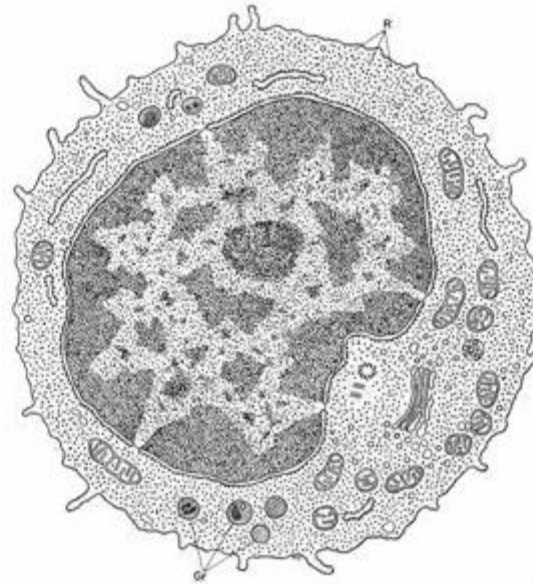
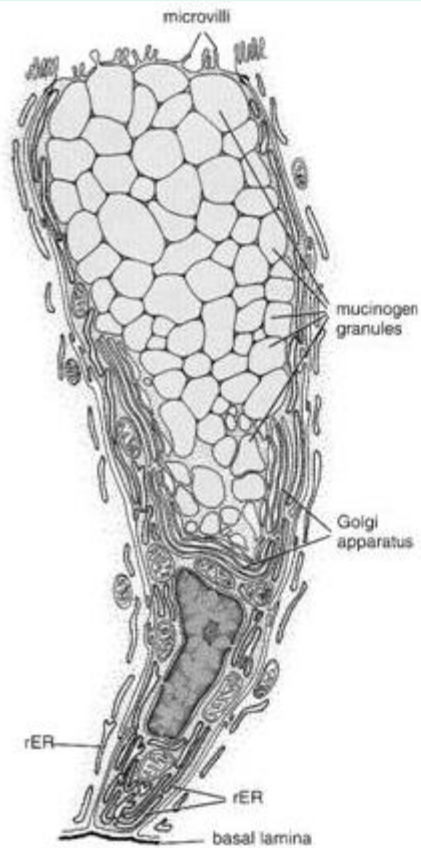
Гистологические элементы

Структурно-функциональные единицы, образующие ткани органы и организм в целом

Клетка
Симпласт
Синцитий

Тканевый матрикс
(основное
вещество
и содержащиеся в
нём волокна)

КЛЕТКА — ГЛАВНЫЙ ГИСТОЛОГИЧЕСКИЙ ЭЛЕМЕНТ



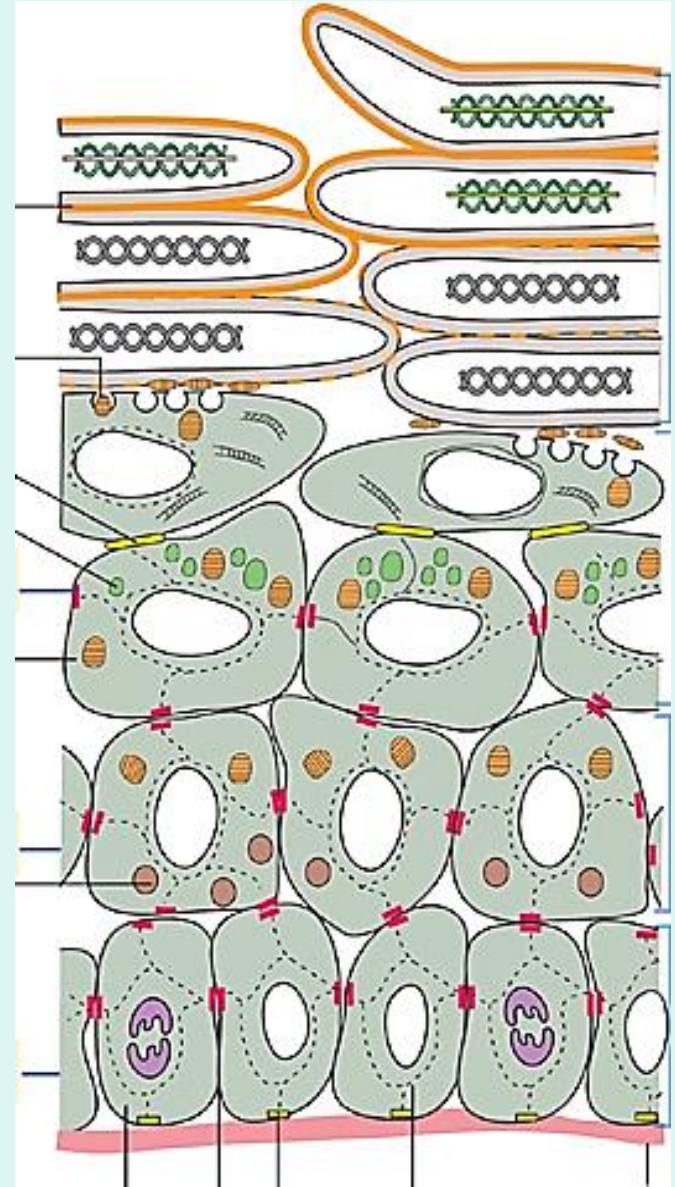
Известно более 200 клеточных типов, представленных разными фенотипами

Клеточная линия (дифферон, гистогенетический ряд) — совокупность клеточных форм, составляющих ту или иную линию дифференцировки

- стволовые клетки
- клетки-предшественницы
- зрелые клетки

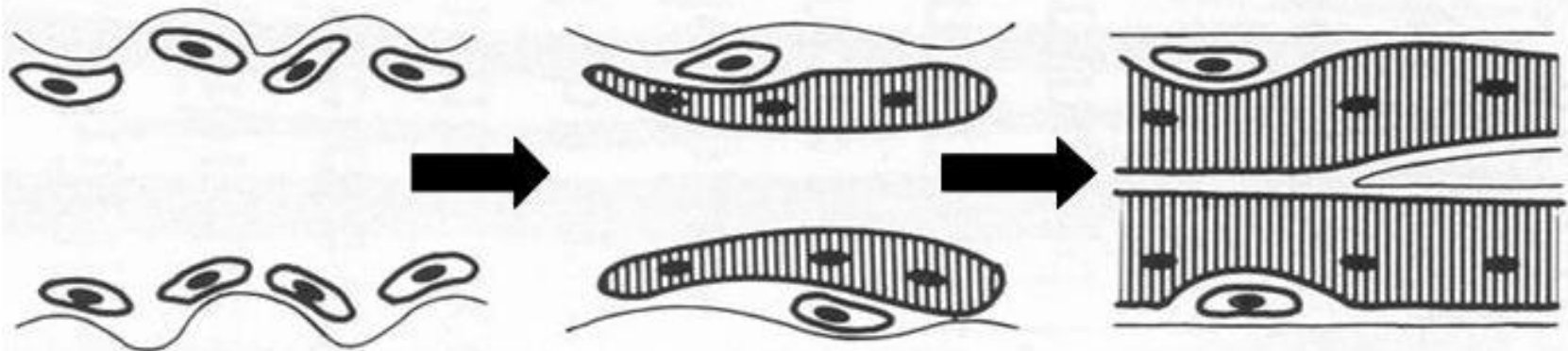
Клеточная линия в эпидермисе:

- Базальный слой
- Шиповатый слой
- Зернистый слой
- Роговой слой



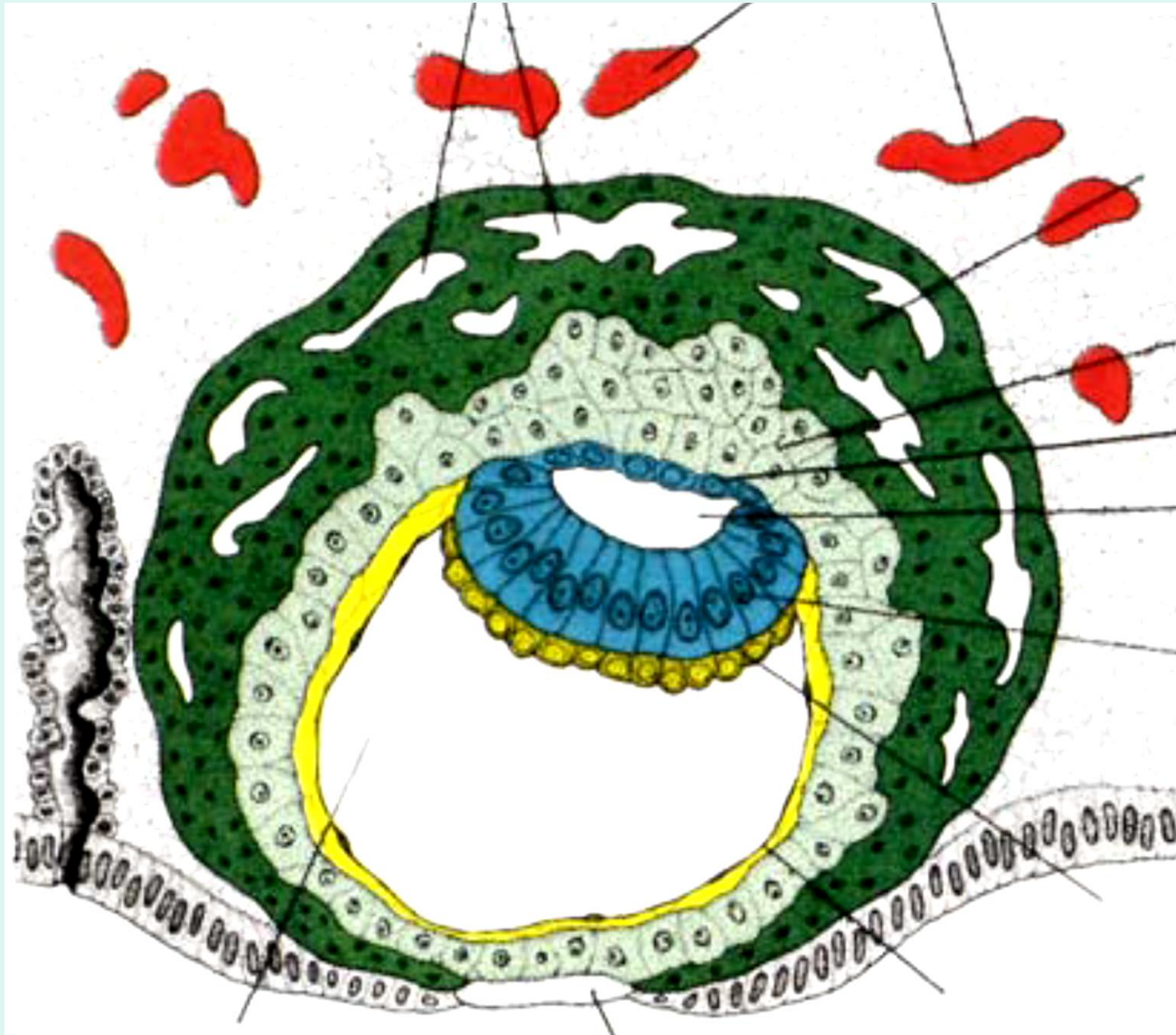
Симпласт – многоядерная структура, образуемая при слиянии многих клеток-предшественниц

Миогенез

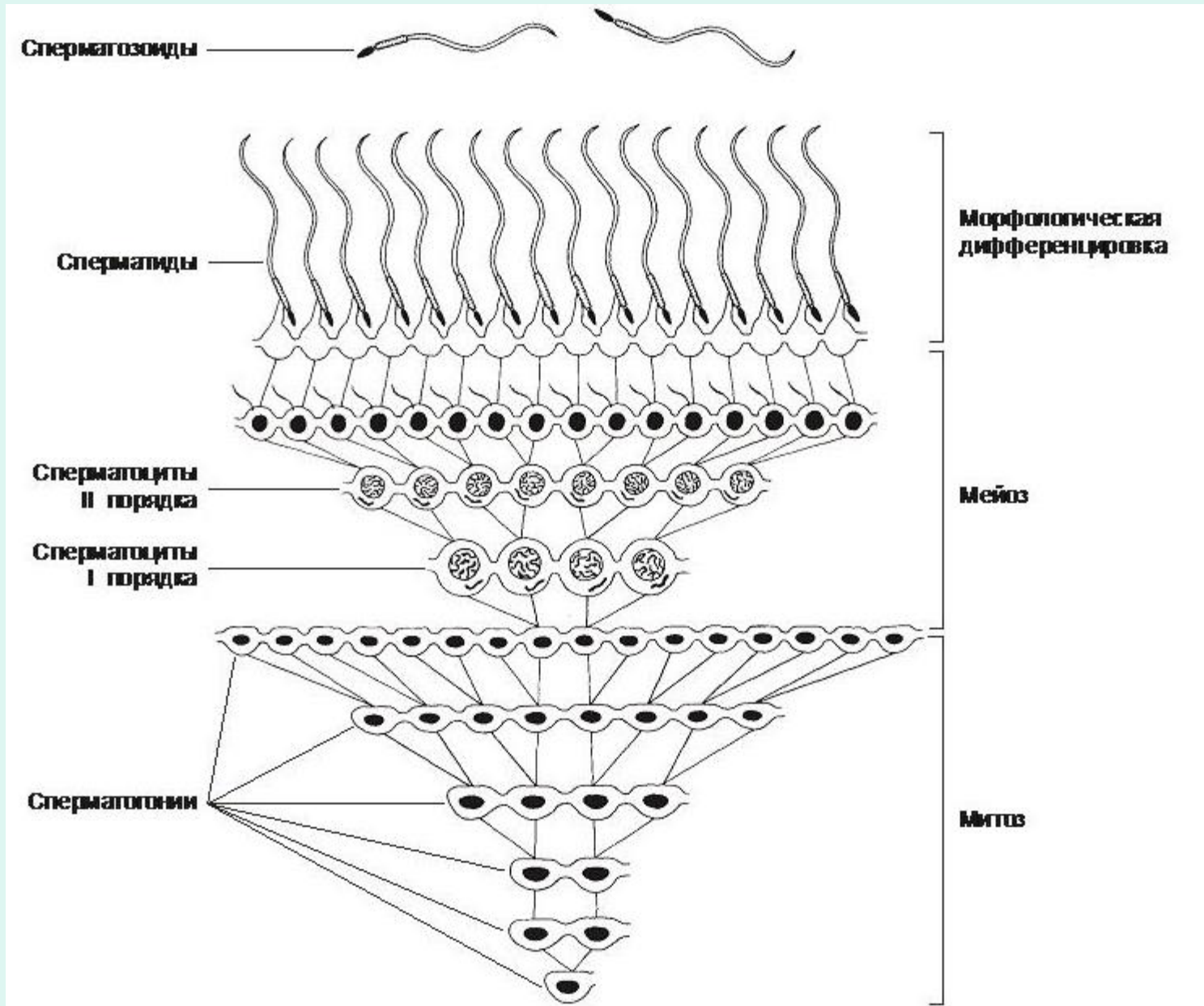


СИНЦИТИЙ:

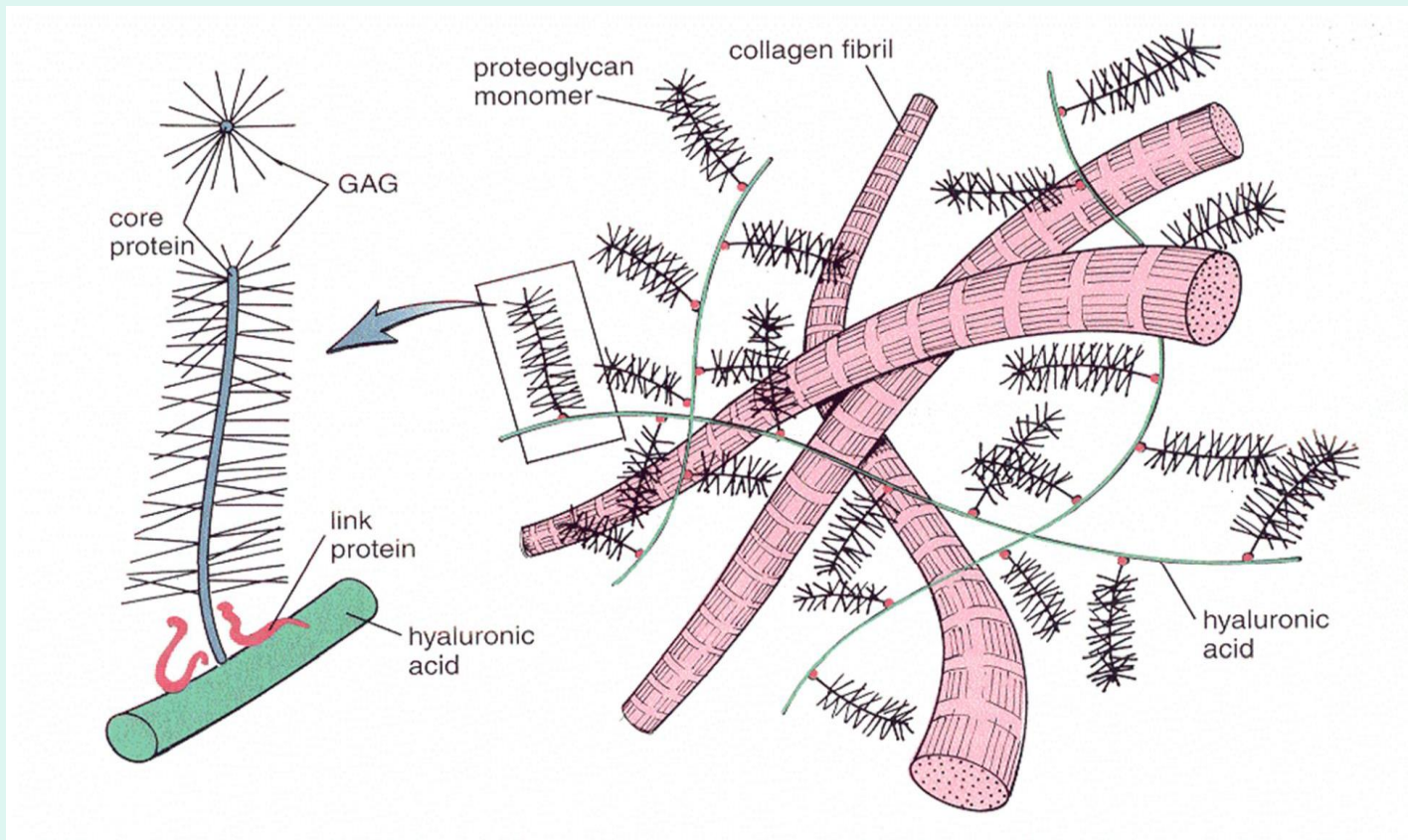
структура, образуемая при слиянии клеток, образуемых в ходе клеточных делений (например. синцитиотрофобласт)



Симпласт – структура, образуемая при необособлении клеток в ходе клеточных делений (например, ассоциаты клеток-предшественников сперматозоидов)



МЕЖКЛЕТОЧНОЕ (ВНЕКЛЕТОЧНОЕ) ВЕЩЕСТВО (ВКМ)



Тканевый матрикс (межклеточное вещество) состоит из основного вещества и содержащихся в нём волокон (коллагеновые, эластические и ретикулиновые)

Структуры тканевого матрикса построены из молекул, вырабатываемых и секретируемых клетками

В свою очередь, компоненты внеклеточного матрикса влияют на клетки (например, контролируют их пролиферацию и дифференцировку)

ЖИДКОСТИ

Внутриклеточная жидкость (55% всей воды организма)

содержит в низкой концентрации Na^+ , Cl^- , HCO_3^- , в высокой концентрации K^+ , органические фосфаты (например, АТФ) и белок. Низкая концентрация Na^+ и высокая концентрация K^+ обусловлены работой Na^+, K^+ -АТФазы, выкачивающей Na^+ из клетки в обмен на K^+ .

Внеклеточная жидкость (45% всей воды организма)

- Интерстициальная жидкость (20% всей воды организма) в межклеточном пространстве тканей.
- Плазма (7,5% всей воды организма). Химический состав сходен с интерстициальной жидкостью (преобладающий катион — Na^+ , преобладающие анионы — Cl^- , HCO_3^-), но концентрация белка в плазме выше.

Кристаллизационная вода кости и хряща (15% всей воды организма)

Трансклеточная жидкость (2,5% всей воды организма)

содержится в пищеварительном тракте, жёлчи, мочевыделительной системе, внутриглазной и цереброспинальной жидкостях, а также в жидкости серозных полостей (плевра, брюшина, перикард).

ГИСТОЛОГИЧЕСКАЯ ТЕХНИКА

Подготовка материала

- Фиксация
- Обезвоживание
- Заливка

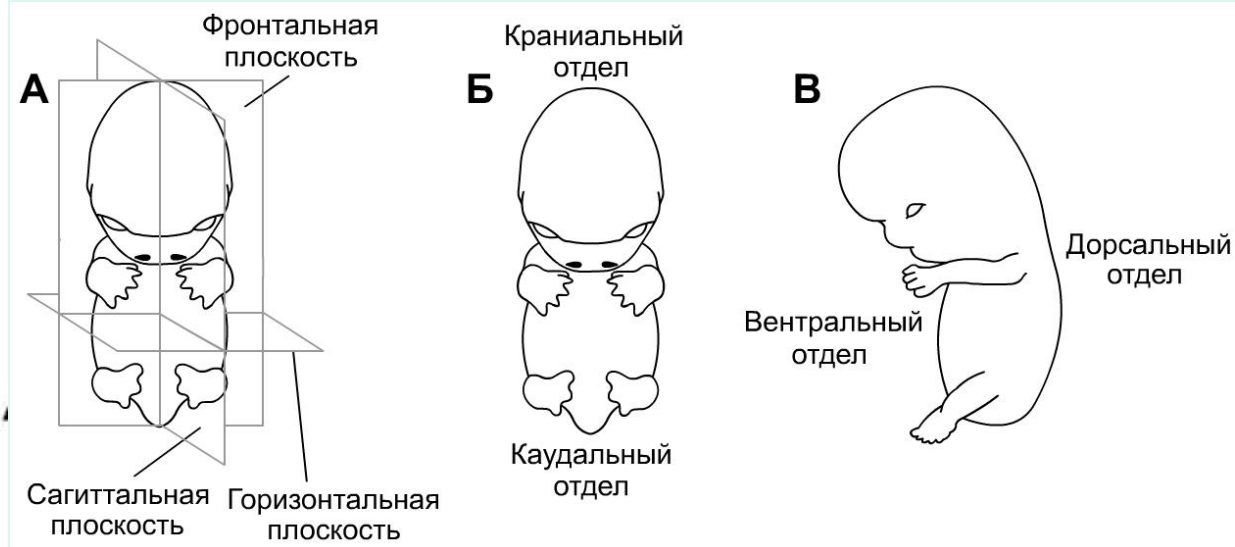
Приготовление срезов

- Микротом
 - Криостат
- (интраоперационная диагностика)

Процессирование срезов

(окрашивание гистологическими красителями, гистохимия, иммуногистохимия, гибридизация)

Микроскопия (световая, флуоресцентная, электронная, сканирующая зондовая, лазерная, рентгеновская)



ГЛАВНОЕ - СРЕЗ



Приготовление срезов

- Микротом
- Криостат (интраоперационная диагностика)



САНОЧНЫЙ МИКРОТОМ



ГЛАВНОЕ - ОКРАСКА

Процессирование срезов
(окрашивание
гистологическими
красителями, гистохимия,
иммуногистохимия,
гибридизация)



БАЗОФИЛИЯ И АЦИДОФИЛИЯ

Способность тканевых (внутриклеточных) компонентов по-разному окрашиваться зависит от кислотно-щелочных свойств молекул, входящих в их состав. В начале 19 века Ян Эвангелист Пуркинье впервые применил краситель индиго. Описал ряд гистологических структур, которые носят его имя (напр., *Пуркинье волокна*, *Пуркинье клетки*).

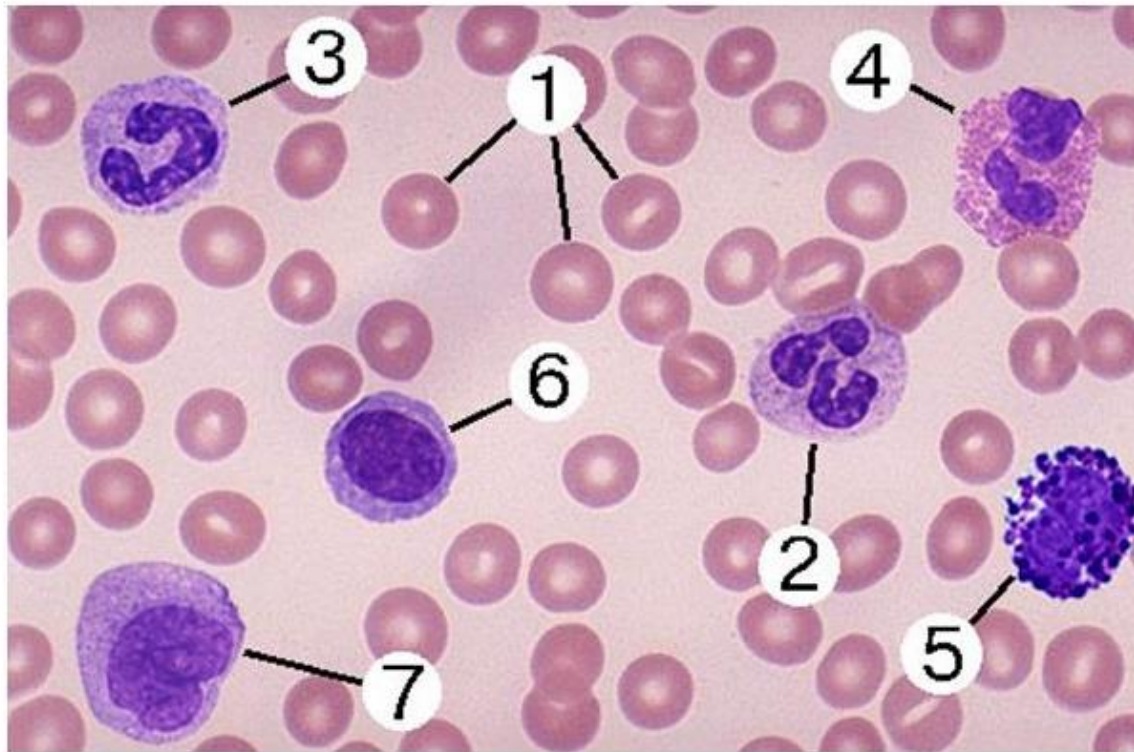
Кислые красители (эозин) связываются со структурами или веществами, имеющими щелочную реакцию. Это — ацидофильные (основные) компоненты ткани (*например*, разные цитоплазматические белки).

Щелочные красители (*например*, гематоксилин, метиленовый синий, толуидиновый синий, аzur) связываются с базофильными (кислыми) компонентами ткани (*например*, нуклеиновые кислоты ядра и рибосом).

Стандартные красители. Часто используют смеси кислых и щелочных красителей (*например*, гематоксилин + эозин).

Мазок крови

Окраска по Романовскому–Гимзе.



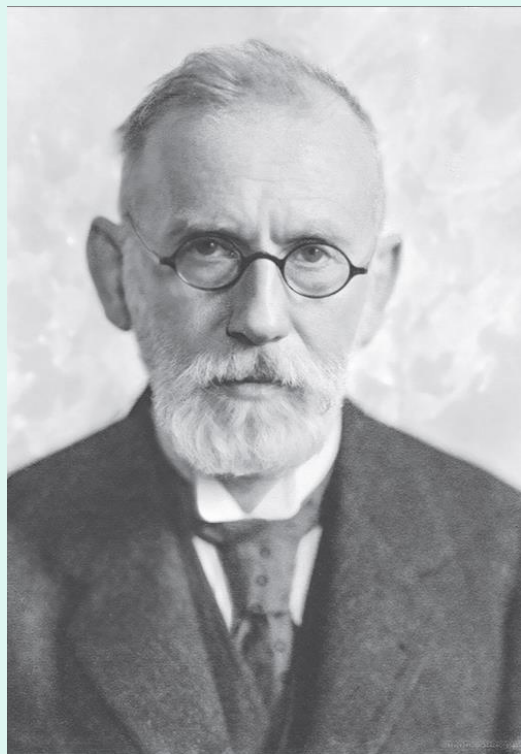
1 — эритроциты; 2 — сегментоядерный нейтрофил; 3 — палочкоядерный нейтрофил; 4 — эозинофил; 5 — базофил; 6 — лимфоцит; 7 — моноцит.

Спинной мозг

Импрегнация азотнокислым серебром. Камило Гольджи в 1906 г. получил нобелевскую премию за открытие метода импрегнации нервной ткани азотнокислым серебром



Метиленовый синий синтезирован в 1876 году Генрихом Каро, работавшим на BASF. В это время в Германии развилась громадная синтетическая красочная промышленность, которая давала в руки ученых кислые, нейтральные и основные краски с различными радикалами (сера, железо и т.д.). Пауль Эрлих первым применил метиленовый синий для исследования циркуляции лекарственных веществ по кровеносному руслу. Эрлих впрыскивает лягушке под кожу метиленовую синьку и находит в языке синего цвета нервы и мельчайшие нервные окончания.

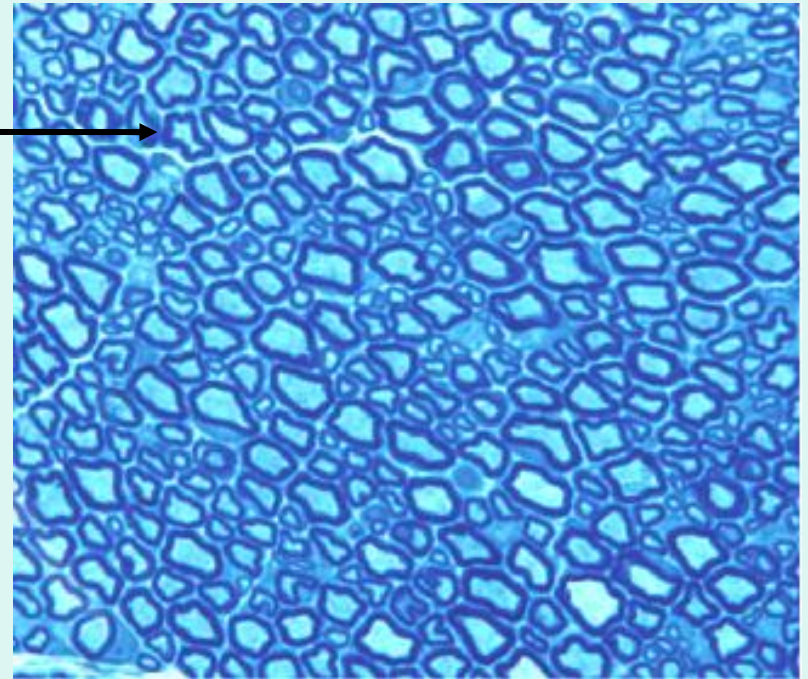
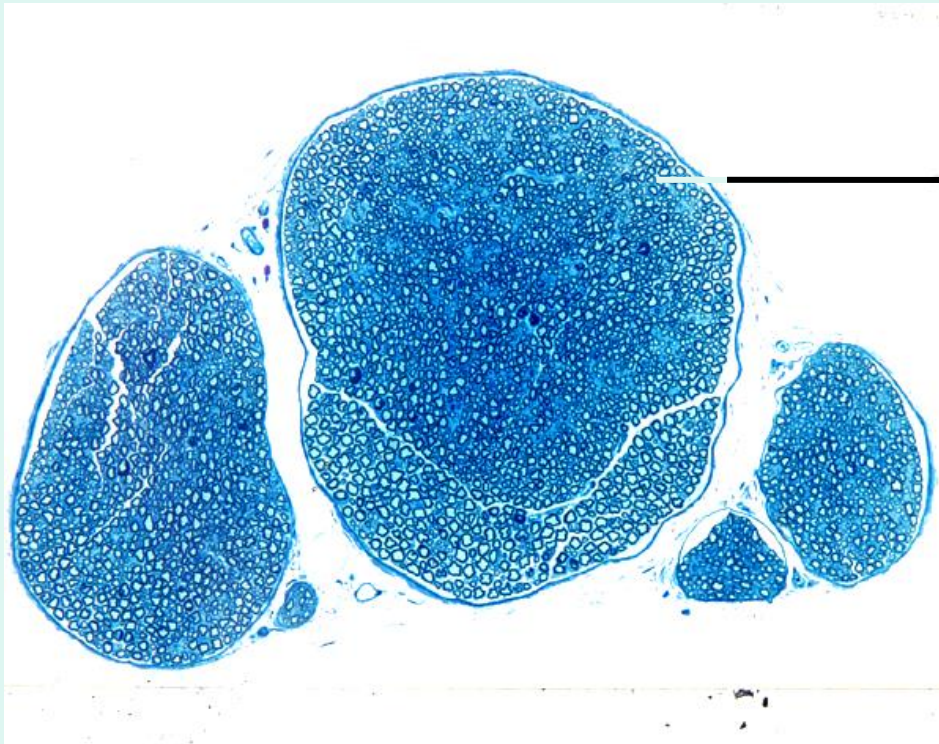


Эрлих Пауль (1854–1915)

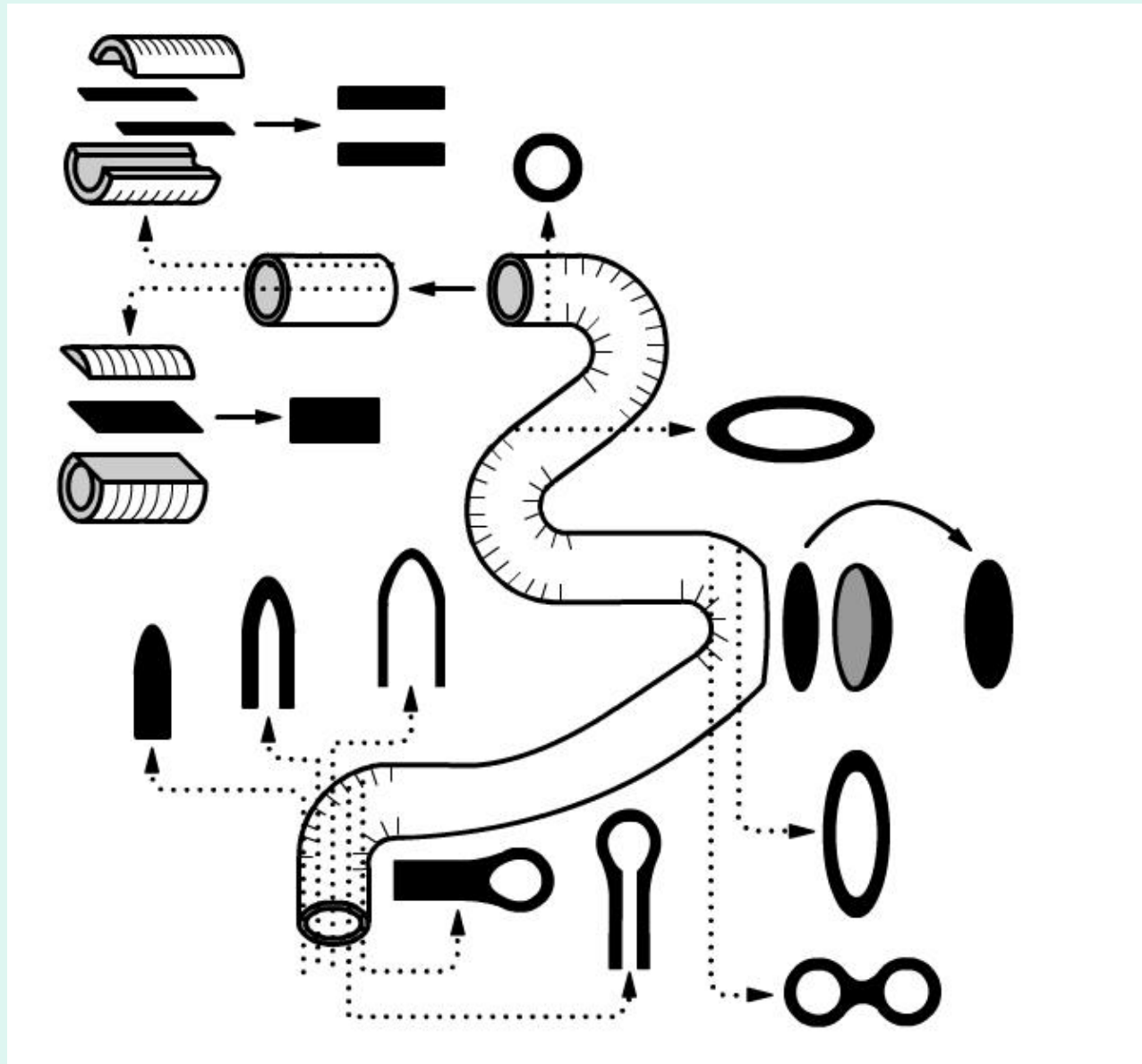
Германский иммунолог, бактериолог, химиотерапевт Пауль Эрлих является наиболее значимой фигурой в медицине на рубеже XIX–XX вв. после ухода из жизни Пастера. Адепт гуморальной теории иммунитета, автор многочисленных методов (окрашивание метиленовым синим, окрашивание по Эрлиху–Бионди, реактив Эрлиха для определения индола и др.), основоположник таргетной химиотерапии «волшебной пули», учёный, разработавший эффективный препарат от сифилиса (сальварсан, 1907 г). Наконец, лауреат Нобелевской премии по физиологии или медицине 1908 г. (разделил её вместе с И.И. Мечниковым).

Поперечный срез седалищного нерва

Полутонкий срез (0,5 мкм), окраска метиленовым синим



Визуализация и анализ изображения на гистологическом препарате



Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии Казанского государственного медицинского университета



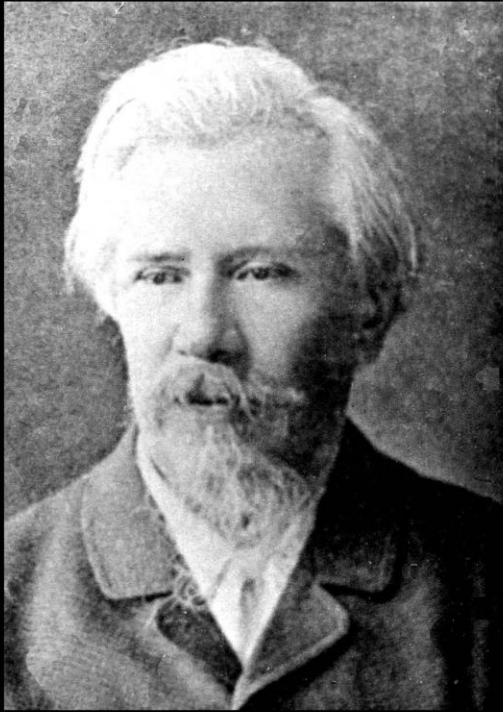
Преподавание гистологии началось в 1864 году

Кафедра гистологии основана в 1869 г при медицинском факультете Казанского императорского университета.

В 1890 г открылся гистологический кабинет в отдельном лабораторном корпусе.

ПЕРИОДЫ РАЗВИТИЯ КАФЕДРЫ ГИСТОЛОГИИ

- 1 – организация кафедры (1864-1871). Кучин – первый лектор и доцент гистологии. Голубев – первый заведующий кафедры
- 2 – закладка базиса Казанской нейрогистологической школы, изучение нервной ткани метиленовым синим (модификация метода Эрлиха) (1871-1917). Арнштейн, Смирнов, Догель, Тимофеев
- 3 – внедрение экспериментального подхода и окраски нервной ткани азотнокислым серебром (1921 - 1958). Миславский, Лаврентьев, Колосов. Забусов
- 4 – современный период - изучение регенерации в нервной системе. Электронная микроскопия, гистохимия, иммуногистохимия, культура клеток, генная инженерия.



**Константин Захарович
Кучин
(1834–1895)**

Константин Захарович подготовил под руководством Овсянникова и в 1863 году защитил диссертацию с чисто гистологическим названием «О строении спинного мозга речной миноги» 9 марта 1864 г. утверждён приват-доцентом физиологической гистологии по кафедре анатомии. Читал два года курс гистологии, позднее выехал в немецкие университеты для «приготовления к профессорскому званию», почему и не мог принять участия в конкурсах по кафедре гистологии. Впоследствии экстраординарный профессор кафедры гистологии и эмбриологии Харьковского Университета.



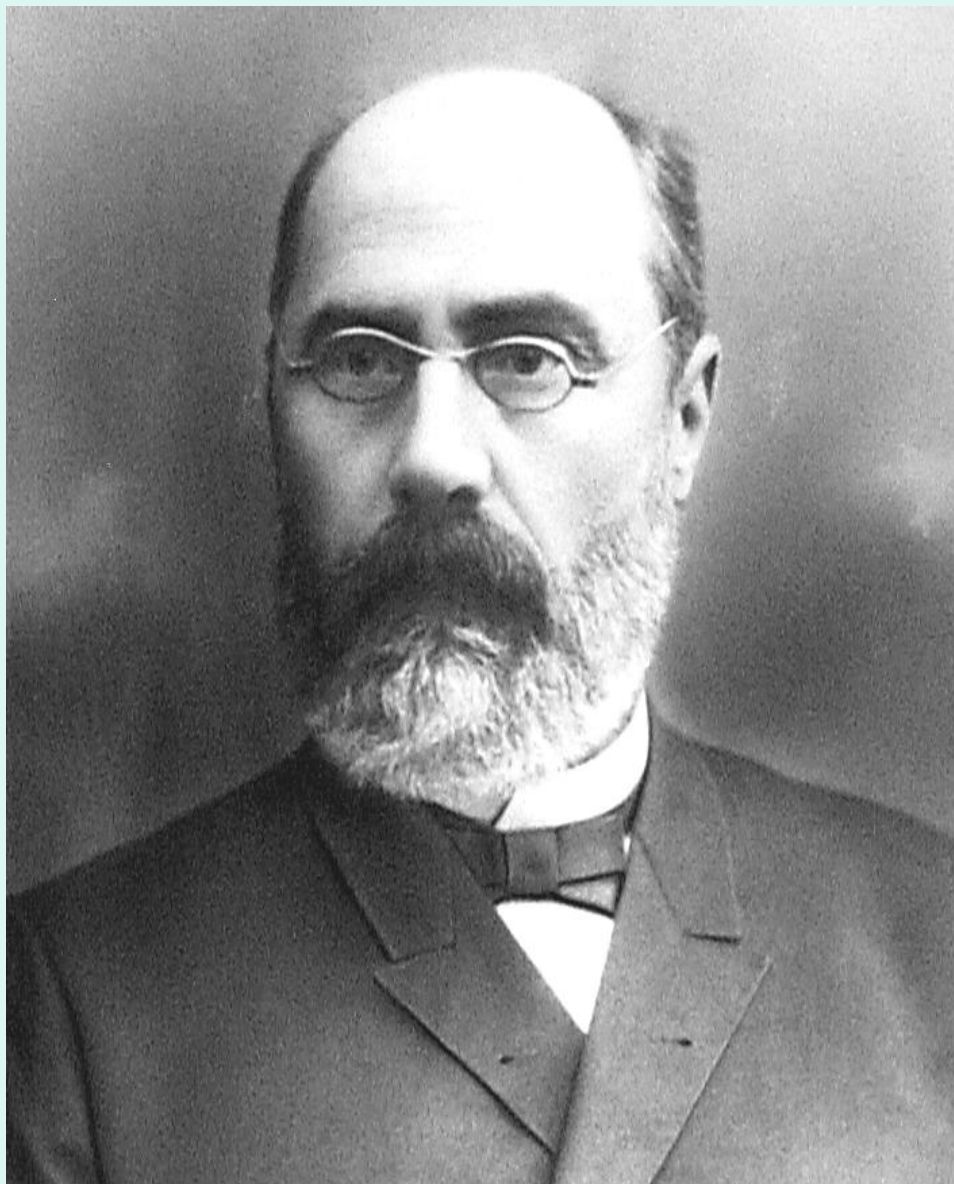
Александр Ефимович Голубев (1837–1926)

Заведовал кафедрой гистологии с 1869 по 1871 год.
Покинул Казанский университет осенью 1871 года в связи
со скандальным «делом Лесгафта».

Поразительна дальнейшая судьба Александра Ефимовича, в Спб читал на Женских курсах, затем в Медико-Хирургической Академии, в 1872 году он и Спб-профессор геологии Головкинский и его компаньон, золотопромышленник Таюрский приобрели на южном берегу Крыма имение «Кастель-Приморское» (эту часть так и называют «профессорский уголок»),

где компаньоны, и в первую очередь Александр Ефимович занялись виноделием. Сегодня в коллекции вин «Массандра» находятся 19 бутылок «Муската белого Голубева» и 35 бутылок «Муската розового Голубева»





Один из основоположников
отечественной гистологии

Основатель Казанской
нейрогистологической школы

Заслуженный ординарный
профессор

Почетный член Казанского
университета

Декан медицинского факультета
Казанского университета (1883-
1886, 1890-1892)

Заведовал кафедрой гистологии
на медицинском факультете
Казанского университета с 1871
по 1903 гг.

Карл Августович Арнштейн

(17.03.1840, Москва — 10.06.1919, Казань)



Александр Станиславович Догель
(27.01.1852, Поневеж, Ковенская
губерния — 1922, Петроград)

закончил Казанскую первую гимназию
1879 г. — выпускник с золотой медалью
медицинского ф-та Казанского
университета

1880–1883 гг. — стипендиат для
приготовления к профессорскому
званию

1883 г. — защита докторской
диссертации

1885 г. — прозектор кафедры гистологии

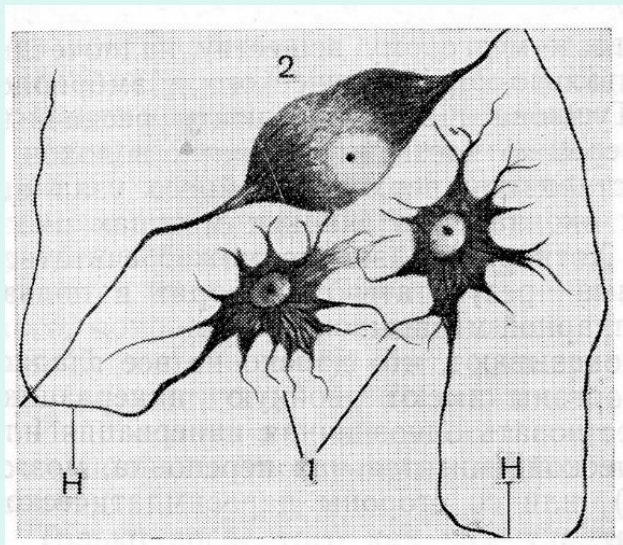
1886 г. — приват-доцент эмбриологии

1888 г. — назначен экстраординарным
профессором кафедры гистологии
Томского университета

1895 г. — переведен в Санкт-
Петербургский университет;

1897 г. — состоял также профессором
гистологии и эмбриологии в Женском
медицинском институте.

Дальше внимание Догеля привлекла вегетативная нервная система, где ему было суждено сделать базовые открытия клеточных типов, получивших его имя (клетки I и II типа Догеля) и утвердившихся в научной терминологии на века. Догель предположил, что нейроны типа I — двигательные, а нейроны типа II — чувствительные.



**Нервный узел ауэрбахова
сплетения тощей кишки собаки**

В апреле 1917 года В.И. Ленин вернулся из эмиграции и у него состоялась встреча в Женском медицинском институте на нынешней улице Льва Толстого (бывшая Архиерейская) со студенткой-революционеркой. В то время шло занятие гистологией, и преподаватель – это был Догель (он работал там в 1904–1922 г.) – широким характерным жестом с фразой «Прошу Вас» пригласил Ильича посмотреть в микроскоп и ознакомиться с изображением.



**Дмитрий Александрович
Тимофеев (1859–1921);**
заведующий кафедрой
гистологии (1903–1921)

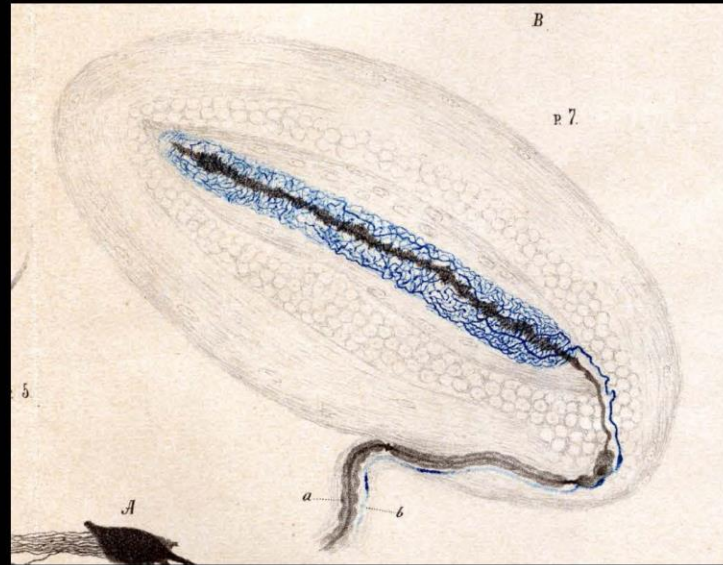


Рисунок из диссертации Д.А. Тимофеева (1893).
Тельце Пачини с дополнительным волокном



Александр Николаевич Миславский
(1880–1958), заведующий кафедрой
гистологии (1921–1958).
Проректор Казанского университета, декан
медицинского факультета.



Борис Иннокентьевич Лаврентьев
(1892–1944), член-корр. АН СССР,
лауреат Государственной премии.
1926: защита докторской диссертации;
1927: переезд в Москву

Научное наследие Б.И. Лаврентьева

1. Общие вопросы теории строения вегетативной нервной системы:

- нейроны и аксоны вегетативных ганглиев и сплетений
- межнейронные синапсы
- эффекторная (антагонистическая) иннервация рабочих органов

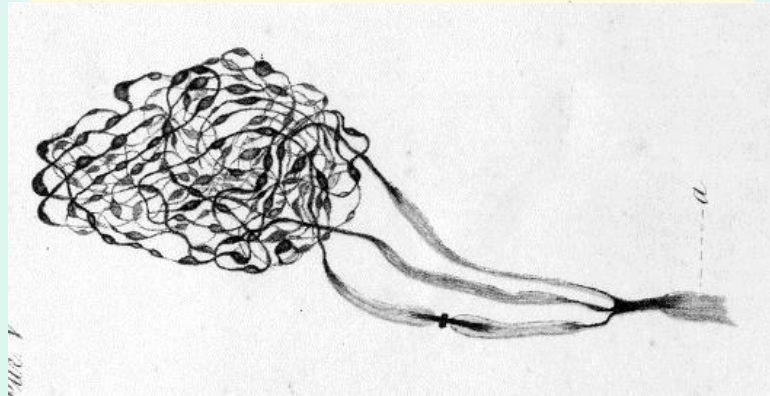
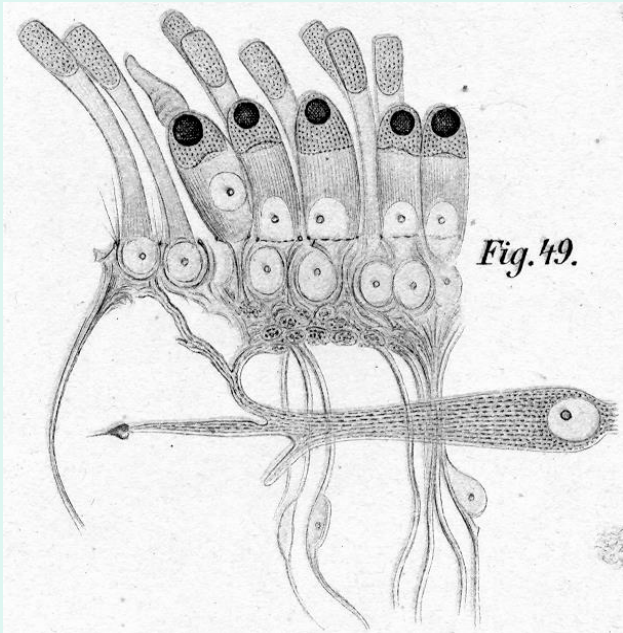
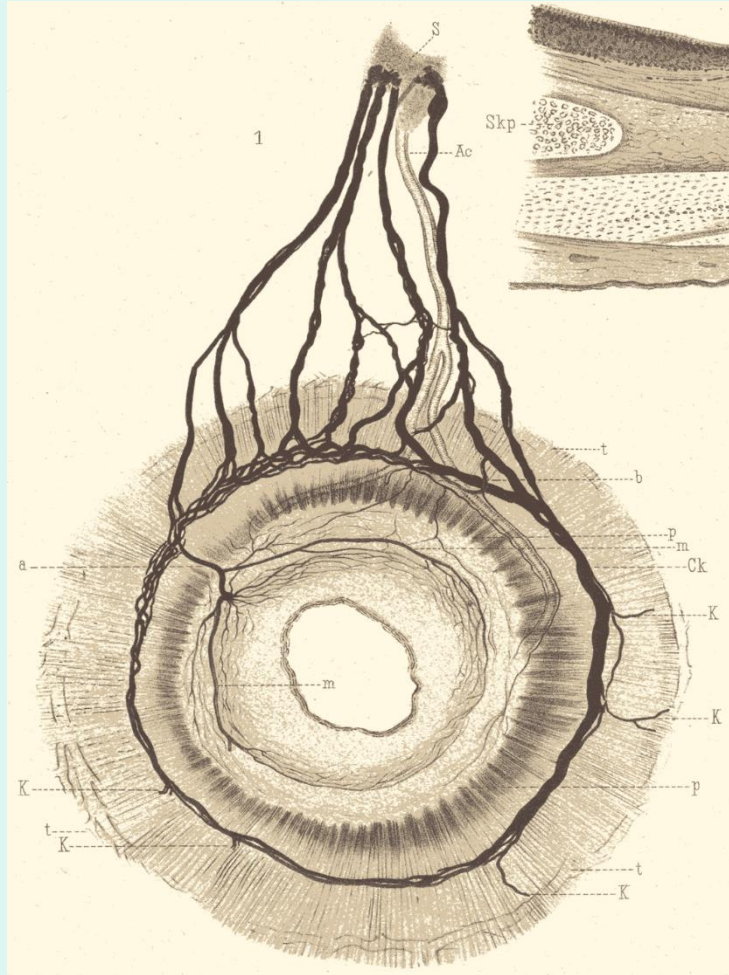
2. Учение о нервной трофике

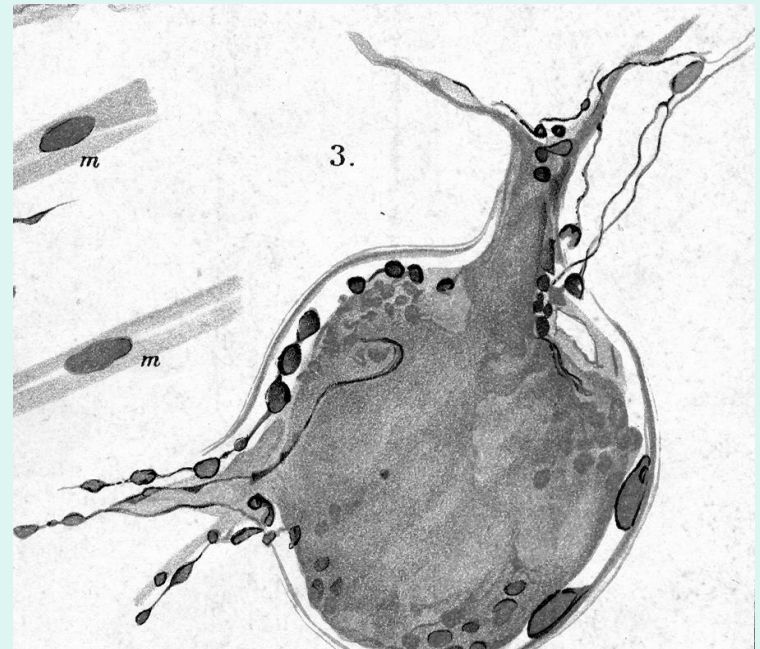
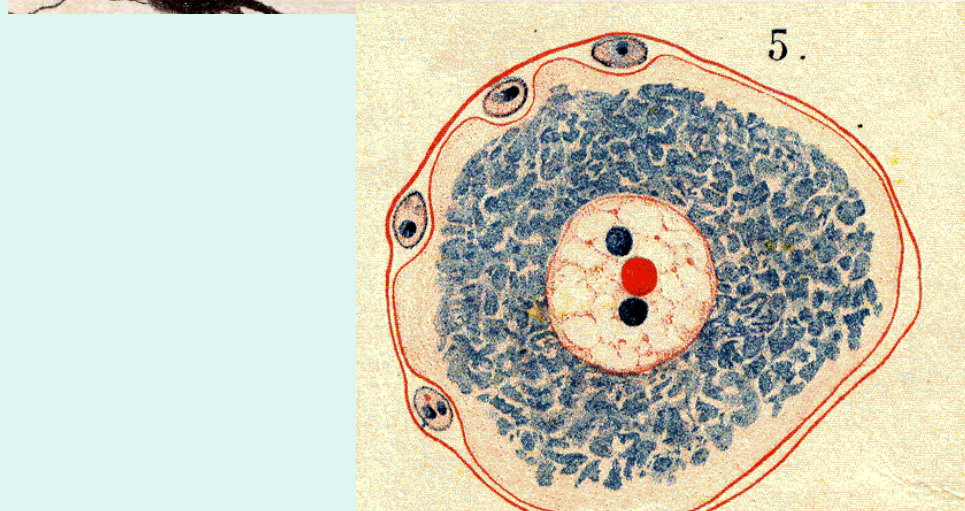
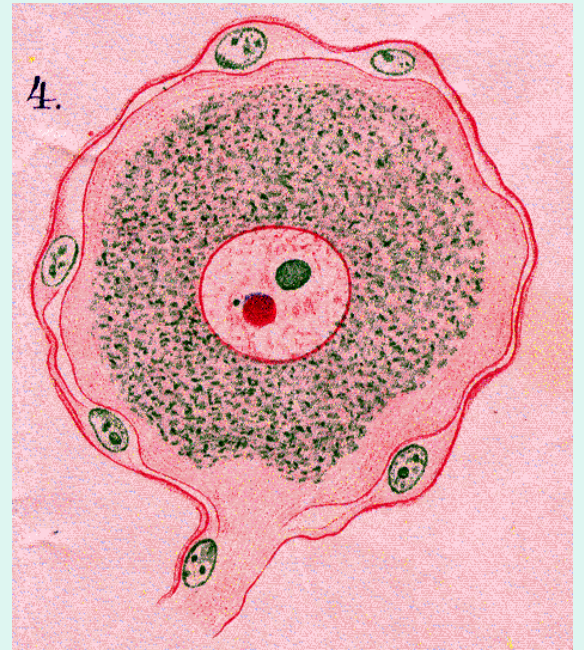
3. Основы interoцепции

4. Гистопатология

5. Методы исследования нервной ткани









Профессор
Эрнст Галимович
Улумбеков
(1936–2016)

*«От любого человека можно
ожидать (даже требовать)
всего пару достоинств:
быть приличным,
быть профессионалом»*

(из 5 правил Э.Г. Улумбекова)



Э.Г. Улумбеков



Ю.А.
Челышев



Н.П.
Резвяков



В.В.
Валиуллин



Р.Р.
Исламов

Современный период –

- изучение нейротрофического контроля и молекулярных взаимодействий в системе «нейрон-мышца»
- исследование молекулярных и клеточных механизмов нейрорегенерации, разработка технологий ее стимуляции при травматическом и ишемическом повреждении ЦНС
- разработка генно-инженерных конструкций для стимуляции регенерации в ЦНС



КЛЕТОЧНЫЕ МАРКЁРЫ

Ферментные

- кислая фосфатаза — лизосомы,
- щелочная фосфатаза — эндотелий кровеносных капилляров,
- сукцинатдегидрогеназа (СДГ) и цитохромоксидаза — митохондрии,
- глюкозо-6-фосфатаза — эндоплазматическая сеть.

Дифференцировочные антигены

CD-маркёры — cluster of differentiation. Фенотипирование стволовых клеток, мониторинг клеточной дифференцировки
Т-лимфоциты $CD4^+$, $CD8^+$

Маркёры клеточного типа и его фенотипов

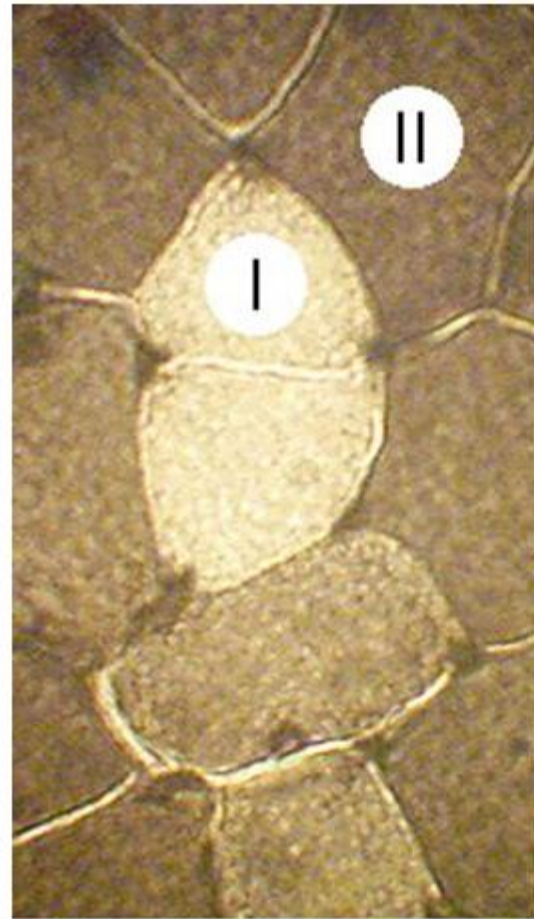
- Кератин
- Десмин
- Виментин
- Белки нейрофиламентов

Иммунные. HLA — human leukocyte associated antigen

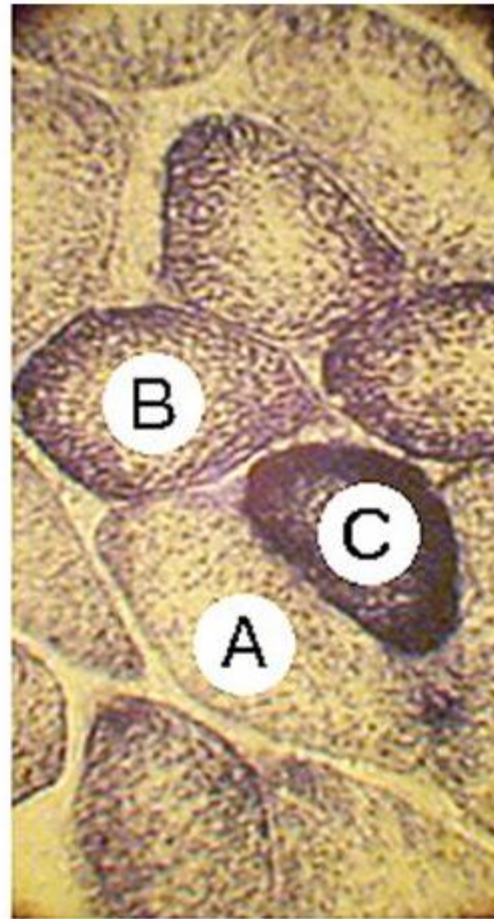
Опухолевые маркёры. CEA — carcino-embryonic antigen (рак желудка)

Гистохимическая реакция

Поперечный срез скелетной мышцы



АТФаза миозина



Сукцинатдегидрогеназа

Принцип метода

- Реакция включает несколько стадий:
1. Реакция расщепления субстрата
 2. Реакция осаждения продукта ферментативной реакции с помощью ионов кальция, свинца, меди или бария
 3. Реакция превращения. Получение окрашенного продукта реакции видимого в световой микроскоп.

Микроскопия

Светлооптическая микроскопия для исследования окрашенных срезов и мазков. В начале 19 века Ян Эвангелист Пуркинье впервые применил краситель индиго

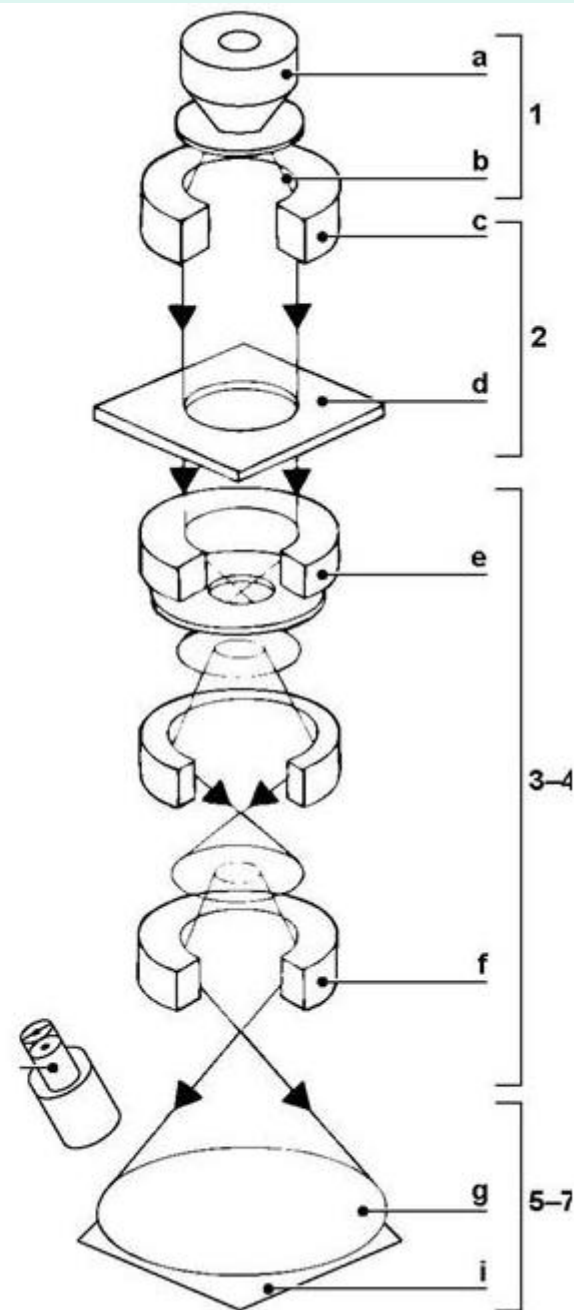
Темнопольная, фазово-контрастная, интерференционная, поляризационная микроскопия служит для получения контрастного изображения неокрашенных живых клеток и тканей (оптика Номарского).

Люминесцентная микроскопия применяется для наблюдения флюоресцирующих объектов. Фильтр перед образцом пропускает свет длины волны, возбуждающей флюоресценцию вещества. Другой фильтр пропускает свет длины волны, излучаемой объектом

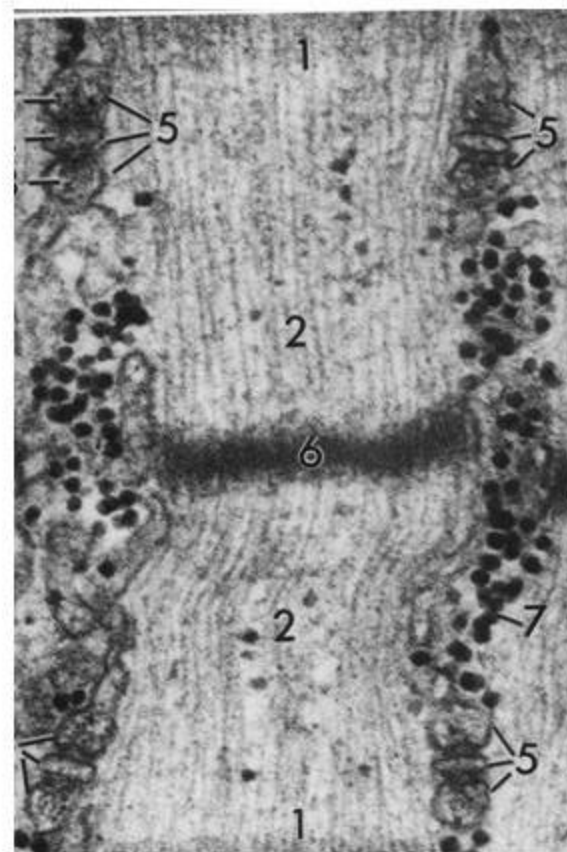
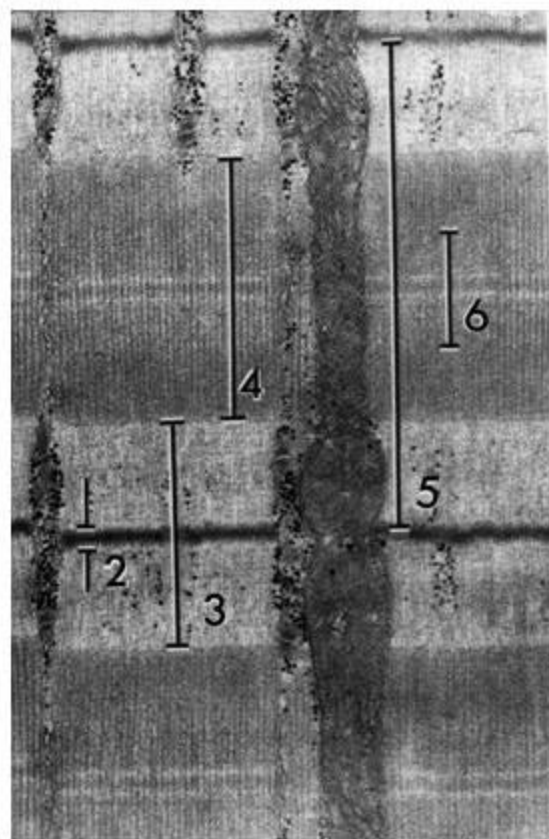
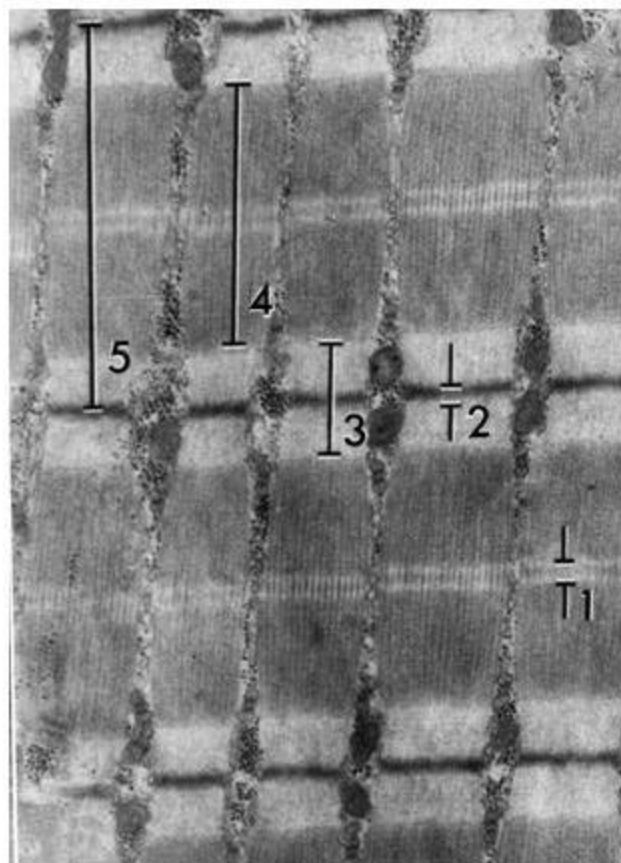
Электронная микроскопия (просвечивающая, сканирующая). Материал контрастируют солями тяжёлых металлов цитратом свинца и уранилацетатом

Лазерная конфокальная микроскопия позволяет создать пространственную реконструкцию флюоресцирующих объектов

1. Электронная пушка (a) излучает пучок электронов (b). Длина волны электронного пучка изменяется в зависимости от заданного увеличения.
2. Электромагнитный конденсор (c) концентрирует электронный пучок на объекте (d).
3. Часть электронов поглощается или рассеивается плотными участками объекта. В результате электронный пучок «отбрасывает тень» объекта.
4. Одна или несколько электромагнитных линз (e) увеличивают разрешение изображения объекта.
5. Проекционная линза (f) фокусирует изображение на флуоресцентный экран (g).
6. Электроны бомбардируют флуоресцентный экран, отображая тень объекта. Если электроны прошли сквозь объект на экране появится светлое пятно, в месте где электроны поглощены или рассеяны поле останется тёмным.
7. Изображение можно рассматривать через оптический окуляр и регистрировать на фотоплёнку (i).

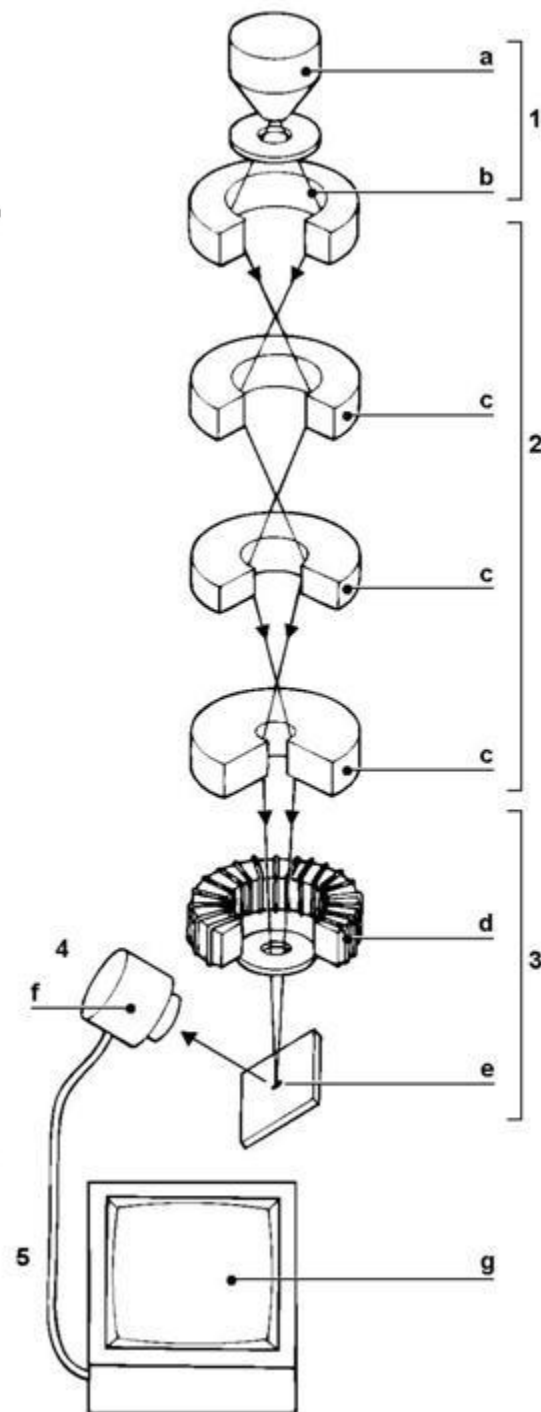


Поперечно-полосатая исчерченность мышечного волокна

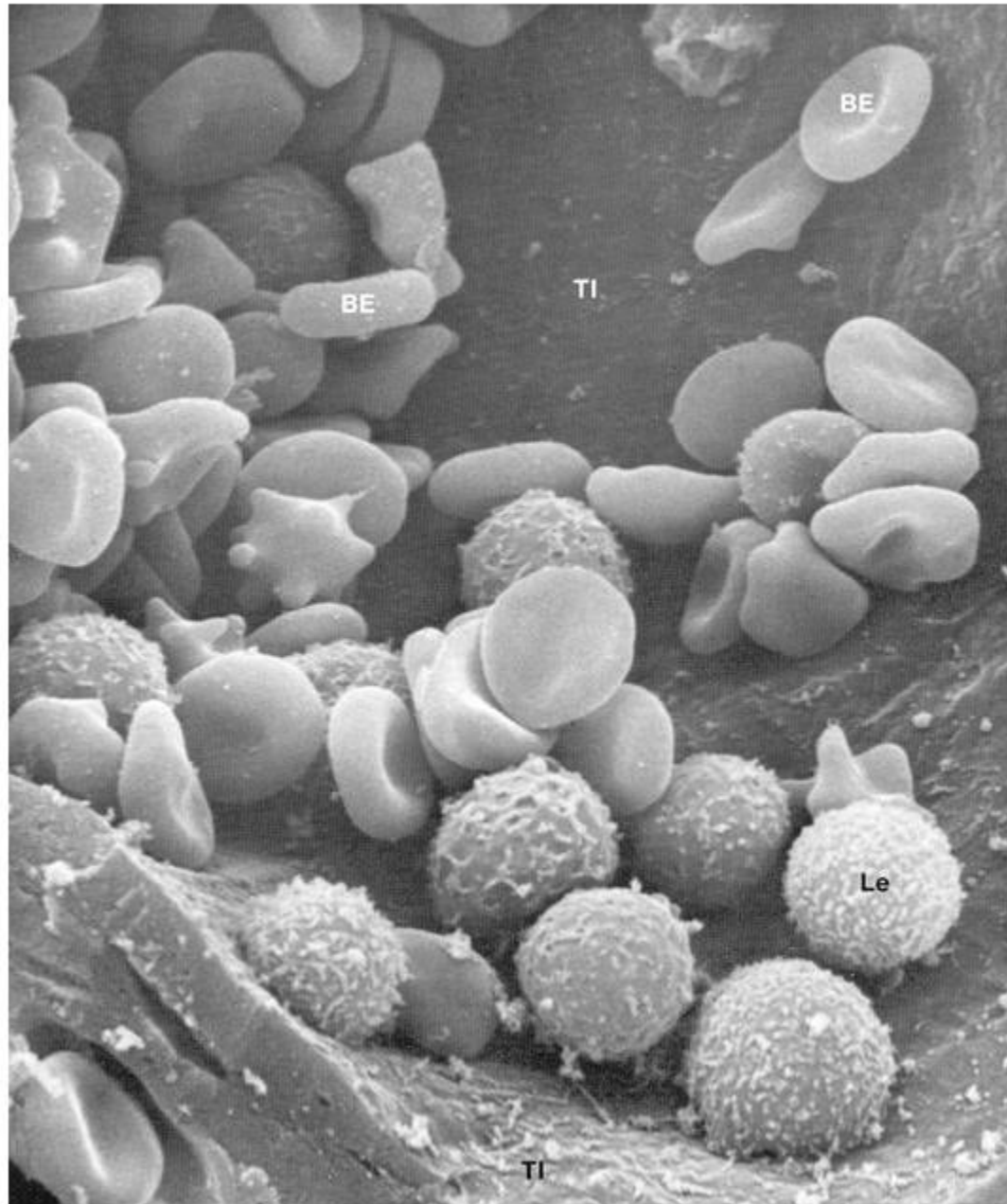


В 1938 году физик Манфред фон Ардене (1907-1997) на принципе просвечивающего электронного микроскопа изобрёл сканирующий микроскоп, позволяющий получать трёхмерное изображение объекта.

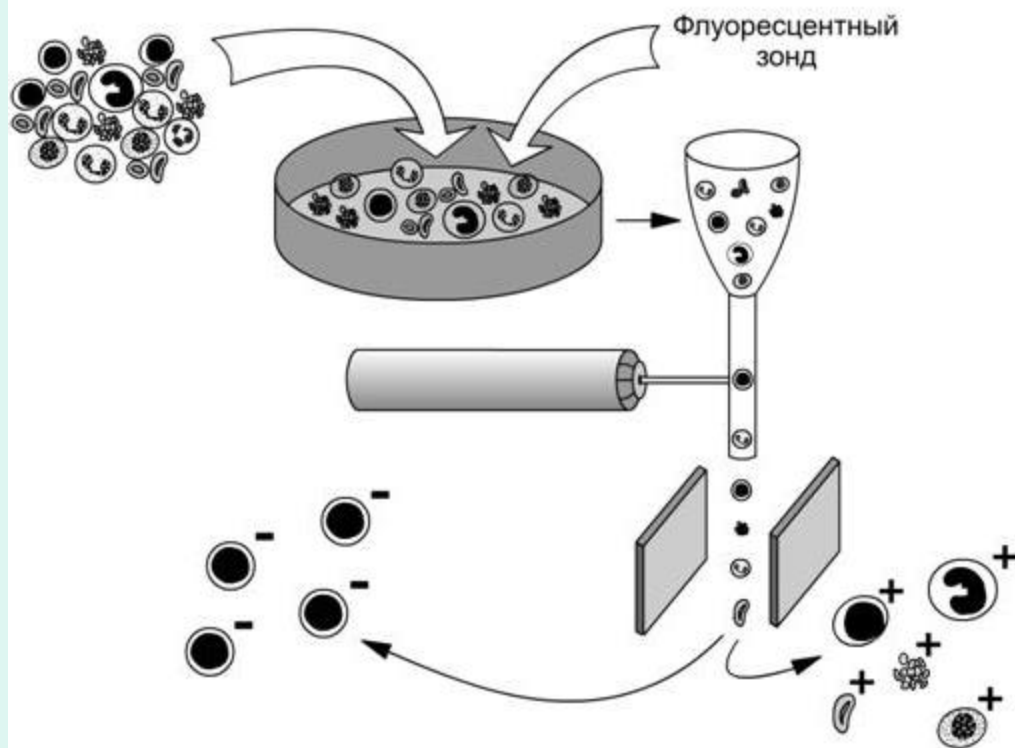
1. Электронная пушка (a) излучает пучок электронов (b). Длина волны электронного пучка изменяется в зависимости от заданного увеличения.
2. Электромагнитные линзы (c) образуют тонкий электронный луч.
3. Электромагнитная катушка (d) перемещает луч по поверхности объекта (e) (сканирование из серий прямых линий).
4. Отражённые от поверхности объекта электроны притягиваются положительно заряженным электродом (коллектором) (f). Изменения в коллекторе регулируют интенсивность второго электронного пучка в стандартной катодной лучевой (телевизионной трубке) (g).
5. Второй электронный пучок переводит изображение на флуоресцентный экран телевизионной трубки синхронно с электронным пучком, сканирующим поверхность объекта.



Форменные элементы крови



Сортировка клеток методом проточной цитометрии



В культуральной среде специфические АТ, конъюгированные с флуоресцентным зондом, связываются с Аг на поверхности клеток, например, с CD34+ на мембране стволовой кроветворной клетки. Под давлением клетки проходят по капилляру, где меченые CD34+ клетки под действием лучей лазера получают отрицательный электрический заряд. В электрическом поле происходит разделение клеток, несущих положительный или отрицательный заряд.

При получении из крови стволовых кроветворных клеток для последующей трансплантации их количество составляет по разным оценкам от 0,01% до 1% лейкоцитов. Для решения сложной задачи выделения этих клеток используют высокоэффективную сортировку на основе мультипараметрического иммунофенотипирования, т.е. осуществляют отбор клеток не по одному, а по нескольким признакам одновременно.