

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие	6
Список основных сокращений и условных обозначений	9
Введение	10

Часть I. ПОДГОТОВКА МАТЕРИАЛА И МЕТОДОЛОГИЯ МИКРОСКОПИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ КЛЕТОК, ТКАНЕЙ И ОРГАНОВ

Глава 1. Получение и подготовка материала для гистологического и электронно-микроскопического исследования	17
Основные понятия и методические приемы	17
Изучение схематического рисунка, гистологического препарата и электронной микрофотографии	27
Контрольные вопросы	30
Глава 2. Устройство светового и электронного микроскопов. Правила микрофотографирования	32
Основные понятия	32
Изучение рисунков	39
Контрольные вопросы	41
Глава 3. Методологические основы изучения, идентификации и интерпретации строения клеток, тканей и органов при использовании световой и электронной микроскопии.	42
Основные понятия, рекомендации и алгоритмы.	42
Изучение схематических рисунков.	74
Контрольные вопросы	76

Часть II. ЦИТОЛОГИЯ

Глава 4. Общие принципы строения клетки. Структурно-функциональная организация цитоплазмы.	79
Основные понятия и классификации	79
Изучение микроскопических препаратов, электронных микрофотографий и схематических рисунков	90
Контрольные вопросы	117
Глава 5. Структурно-функциональная организация клеточного ядра. Деление и гибель клеток.	118
Основные понятия и классификации	118
Изучение микроскопических препаратов, электронных микрофотографий и схематических рисунков	122
Контрольные вопросы	132

Часть III. ОБЩАЯ ГИСТОЛОГИЯ

Глава 6. Основные понятия общей гистологии. Классификация тканей	135
Основные понятия и классификации	135
Контрольные вопросы	142
Глава 7. Эпителиальные ткани. Железы	143
Основные понятия и классификации	143
Изучение микроскопических препаратов, электронных микрофотографий и схематических рисунков	154
Контрольные вопросы	194
Глава 8. Общие принципы развития, строения, функции и классификация соединительных тканей.	195
Основные понятия и классификации	195
Изучение микроскопического препарата и электронной микрофотографии	197
Контрольные вопросы	198
Глава 9. Кровь и лимфа	199
Основные понятия и классификации	199
Изучение микроскопических препаратов и электронных микрофотографий	207
Контрольные вопросы	225
Глава 10. Кроветворные ткани	226
Основные понятия и классификации	226
Изучение микроскопических препаратов, электронных микрофотографий и схематических рисунков	236
Контрольные вопросы	253

Глава 11. Волокнистые соединительные ткани	254
Основные понятия и классификации	254
Изучение микроскопических препаратов, электронных микрофотографий и схематических рисунков	262
Контрольные вопросы	280
Глава 12. Соединительные ткани со специальными свойствами	281
Основные понятия и классификации	281
Изучение микроскопических препаратов и электронных микрофотографий	283
Контрольные вопросы	291
Глава 13. Скелетные соединительные ткани	292
Основные понятия и классификации	292
Изучение микроскопических препаратов и электронных микрофотографий	303
Контрольные вопросы	326
Глава 14. Мышечные ткани	327
Основные понятия и классификации	327
Изучение микроскопических препаратов, схематических рисунков и электронных микрофотографий	337
Контрольные вопросы	352
Глава 15. Нервная ткань	353
Основные понятия и классификации	353
Изучение микроскопических препаратов, электронных микрофотографий и схематических рисунков	361
Контрольные вопросы	384

Часть IV. ЧАСТНАЯ ГИСТОЛОГИЯ

Глава 16. Органы нервной системы	387
Основные понятия и классификации	387
Изучение микроскопических препаратов, схематических рисунков и электронных микрофотографий	396
Контрольные вопросы	425
Глава 17. Органы чувств	426
Основные понятия и классификации	426
Изучение микроскопических препаратов, электронных микрофотографий и схематических рисунков	434
Контрольные вопросы	462
Глава 18. Органы сердечно-сосудистой системы	463
Основные понятия и классификации	463
Изучение микроскопических препаратов, электронных микрофотографий и схематических рисунков	471
Контрольные вопросы	496
Глава 19. Органы кроветворения и иммуногенеза	497
Основные понятия и классификации	497
Изучение микроскопических препаратов, электронных микрофотографий и схематических рисунков	503
Контрольные вопросы	519
Глава 20. Органы эндокринной системы	520
Основные понятия и классификации	520
Изучение микроскопических препаратов, электронных микрофотографий и схематических рисунков	530
Контрольные вопросы	557
Глава 21. Кожа и ее производные	558
Основные понятия и классификации	558
Изучение микроскопических препаратов и электронных микрофотографий	564
Контрольные вопросы	586
Глава 22. Органы пищеварительной системы: полость рта	587
Основные понятия и классификации	587
Изучение микроскопических препаратов, электронных микрофотографий и схематических рисунков	596
Контрольные вопросы	644
Глава 23. Органы пищеварительной системы: пищеварительный канал	645
Основные понятия и классификации	645
Изучение микроскопических препаратов, электронных микрофотографий и схематических рисунков	657
Контрольные вопросы	694
Глава 24. Органы пищеварительной системы: крупные железы	695
Основные понятия и классификации	695

Изучение микроскопических препаратов, электронных микрофотографий и схематических рисунков . . .	701
Контрольные вопросы	736
Глава 25. Органы дыхательной системы	737
Основные понятия и классификации	737
Изучение микроскопических препаратов, электронных микрофотографий и схематических рисунков . . .	745
Контрольные вопросы	775
Глава 26. Органы выделительной (мочевой) системы	777
Основные понятия и классификации	777
Изучение микроскопических препаратов, электронных микрофотографий и схематических рисунков . . .	784
Контрольные вопросы	812
Глава 27. Органы мужской половой системы.	813
Основные понятия и классификации	813
Изучение микроскопических препаратов, электронных микрофотографий и схематических рисунков . . .	820
Контрольные вопросы	853
Глава 28. Органы женской половой системы.	854
Основные понятия и классификации	854
Изучение микроскопических препаратов, электронных микрофотографий и схематических рисунков . . .	864
Контрольные вопросы	916
Часть V. ОБЩАЯ ЭМБРИОЛОГИЯ И ЭМБРИОГЕНЕЗ ЧЕЛОВЕКА	
Глава 29. Общая эмбриология.	919
Основные понятия и классификации	919
Изучение микроскопических препаратов и электронных микрофотографий	935
Контрольные вопросы	954
Глава 30. Эмбриогенез человека	955
Основные понятия и классификации	956
Изучение микроскопических препаратов, электронных микрофотографий и схематических рисунков . . .	978
Контрольные вопросы	1001
Список литературы	1003
Предметный указатель	1006

Глава 1

ПОЛУЧЕНИЕ И ПОДГОТОВКА МАТЕРИАЛА ДЛЯ ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО И ЭЛЕКТРОННО- МИКРОСКОПИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Освоение материала практических занятий в курсе гистологии, цитологии и эмбриологии основано на изучении гистологических и гистохимических препаратов, а также ЭМФ. Для полноценного понимания морфологических особенностей изучаемых структур необходимо знать основные этапы подготовки биологического материала для исследования под световым и электронным микроскопом.

Цель занятия

Ознакомиться с методами получения и подготовки материала для гистологического, цитологического, гистохимического и электронно-микроскопического исследования.

Задачи занятия

1. Ознакомиться с методами получения материала для гистологического исследования.
2. Уяснить последовательность, задачи, этапы и методику подготовки материала для гистологического исследования.
3. Усвоить принципы классификации гистологических красителей и знать примеры важнейших из них.
4. Усвоить понятие о базофилии и оксифилии, базофильных и оксифильных клеточных и тканевых структурах.
5. Ознакомиться с задачами и использованием основных обзорных и специальных методов окрашивания.
6. Изучить методы взятия и подготовки материала для цитологического исследования.
7. Ознакомиться с задачами и принципами цитохимического и гистохимического исследования.
8. Уяснить методики взятия и подготовки материала для цитохимического и гистохимического исследования.
9. Усвоить задачи, принципы взятия и подготовки материала для исследования в трансмиссионном электронном микроскопе.

ОСНОВНЫЕ ПОНЯТИЯ И МЕТОДИЧЕСКИЕ ПРИЕМЫ

Взятие и подготовка материала для гистологического исследования

Задачей гистологического исследования является изучение микроскопического строения орга-

нов и образующих их тканей и клеток с использованием тонких срезов. Информативность такого исследования в значительной мере зависит от качества гистологических препаратов, которое определяется выбором методов получения и подготовки биологического материала. Ниже приведено краткое описание стандартных методов изготовления таких препаратов.

Взятие материала для гистологического исследования из тела человека производят путем *биопсии* — извлечения кусочка изучаемого органа (*биоптата*) из живого организма или при патологоанатомическом вскрытии трупа — *аутопсии*. В целях предотвращения избыточного травмирования живых тканей и кровотечения обычно получают биоптаты мелких размеров. Объем кусочков, взятых при аутопсии, зависит только от возможности их последующей качественной обработки. В экспериментальных исследованиях, а также в учебных целях с соблюдением принятых международных этических правил получают ткани и органы лабораторных животных (целиком или в виде фрагментов).

Изготовление гистологического препарата. После взятия материала его подвергают специальной обработке для подготовки к последующему микроскопическому исследованию, которая включает ряд последовательных этапов (*схема 1.1*).

1. Фиксация гистологического материала предотвращает разрушение извлеченных из организма тканей под действием собственных литических ферментов (процесс *аутолиза*), а также ферментов микроорганизмов и способствует сохранению целостности клеточных и тканевых структур. По этой причине кусочек должен подвергаться фиксации немедленно после извлечения из живого организма или в максимально короткие сроки после смерти.

Быстро проникая в ткани и воздействуя на них, *фиксатор* (например, формалин, спирт, пикриновая кислота, ацетон или различные сложные смеси веществ) вызывает необратимую коагуляцию белков, стабилизацию молекул нуклеиновых кислот и муцинов и быструю гибель клеток, которые при этом сохраняют морфологические особенности, свойственные живым объектам. В результате фиксации происходит образование нерастворимых соединений, что препятствует последующему



Схема 1.1. Последовательность основных этапов подготовки материала к гистологическому исследованию

- ✓ Изучить схему подготовки материала к гистологическому исследованию. Уяснить последовательность и задачу основных этапов приготовления препаратов. Подробные пояснения см. ниже в тексте.

смещению структур клетки, а ее компоненты приобретают способность связывать гистологические красители. Выбор оптимального фиксатора зависит от типа изучаемой ткани, а также от тех структур или веществ, которые требуется максимально сохранить для изучения.

Наиболее часто используют *иммерсионную фиксацию* — погружение кусочка органа в раствор фиксатора. Характерным недостатком этого метода являются различия в степени фиксации отдельных участков кусочка в связи с неодновременным проникновением в них фиксатора (например, в глубине кусочка и на его поверхности). Указанного недостатка лишена *перфузионная фиксация* — введение фиксатора через сосудистую систему, однако вследствие трудоемкости ее обычно производят лишь в экспериментальных условиях. После фиксации кусочек часто подвергают промывке для удаления избытка фиксатора и его осадков.

2. Проводка материала осуществляется путем последовательного помещения кусочка в спирты возрастающих концентраций для удаления из него воды (*обезвоживания*). Ее завершают *просветлением* — замещением спирта веществом, которое смешивается как со спиртом, так и с парафином (например, хлороформом или ксилолом). Проводка необходима для выполнения следующего этапа обработки материала — его заливки.

3. Заливка (уплотнение) материала достигается путем пропитывания обезвоженного кусочка затвердевающими средами: расплавленным парафи-

ном, целлоидином или специальной пластической массой (например, парапластом). В результате заливки после охлаждения парафина или полимеризации пластмассы кусочек ткани (*блок*) становится достаточно плотным для получения тонких срезов при резке. Его наклеивают на деревянный кубик и подвергают резке (рис. 1.1).

4. Приготовление гистологических срезов (резку) выполняют на специальном приборе — *микротоме* (санном или ротационном) с помощью особых стальных ножей — бритв. При этом обычно получают срезы залитого в парафин или другую среду материала толщиной 5–7 мкм (в оптимальном варианте — серийные, то есть следующие один за другим в виде непрерывной ленты). Срезы указанной толщины после удаления заливочной среды прозрачны для проходящего света.

Для ускоренного получения срезов материала (например, в целях его экспресс-исследования во время хирургической операции) этапы фиксации и заливки исключают и производят его *быстрое замораживание*, например, с помощью углекислоты или в изопентане, охлажденном жидким азотом (–196 °С). Последующую резку проводят на *замораживающем микротоме* (с замораживающим столиком и охлаждаемым ножом) или *криостате* (микрохолодильной камере с микротомом) при температуре от –10 до –30 °С. Поскольку при замораживании в тканях сохраняются многие вещества, удаляемые в ходе стандартной гистологической проводки материала, этот метод часто

применяют в гистохимических исследованиях (см. ниже). Главным недостатком метода является не всегда достаточно высокое качество препаратов: тканевые и клеточные структуры на полученных срезах замороженного материала сохраняются хуже, чем при стандартной заливке, нередко повреждаются, а некоторые детали становятся трудно различимыми.

5. Окрашивание срезов обычно производят после их расправления и *монтирования* (*приклеивания*) на предметное стекло (как правило, с помощью яичного белка с глицерином или современных адгезивов) и удаления из них парафина (*депарафинирования*, чаще всего путем растворения ксилолом). После этого срезы доводят до воды, поскольку большая часть гистологических красителей водорастворимые. Окрашивание позволяет выявить важнейшие структурные компоненты тканей и клеток благодаря их неодинаковому родству к гистологическим красителям (различным *тинкториальным свойствам*). Таким путем достигается их цветовое выделение и усиливается их контрастность. Гистологические красители представляют собой окрашенные органические соединения, способные избирательно связываться с определенными структурными компонентами. Они разделяются на две главные группы — основные и кислые (табл. 1.1).

Таблица 1.1. Наиболее распространенные основные и кислые красители

Тип и название красителя	Цвет красителя
Основные красители	
Гематоксилин	Сине-фиолетовый
Толуидиновый синий	Синий*
Метиленовый синий	Синий*
Азур	Синий*
Пирионин	Красный
Метилзеленый (метилгрюн)	Зеленый
Кармин	Пурпурно-красный
Тионин	Сине-фиолетовый*
Основной фуксин	Темно-красный
Кислые красители	
Эозин	Розовый, красный, оранжевый**
Эритрозин	Красный
Пикриновая кислота	Желтый
Оранжевый G	Оранжевый
Светлый зеленый (лихтгрюн)	Зеленый, зеленовато-желтый
Кислый фуксин	Темно-красный

* При использовании этих красителей цвет некоторых биологических структур может отличаться от цвета самого красителя и других структур (явление метакромазии).

** Оттенок зависит от марки эозина и способа фиксации материала.

Основные красители (например, гематоксилин, толуидиновый и метиленовый синий, азур II, тионин и др.) активно связываются со структурами, содержащими кислоты (например, ДНК и РНК) и несущими отрицательный заряд. Способность окрашиваться основными красителями называется *базофилией*, а структуры, связывающие эти красители, — *базофильными*. Базофилией в клетке обладает ядро (вследствие высокого содержания ДНК и РНК), а иногда также и цитоплазма — при высоком содержании в ней рибосом или гранулярной (шероховатой) эндоплазматической сети (грЭПС). Базофильно может окрашиваться межклеточное вещество некоторых тканей (например, хрящевой). Гематоксилин окрашивает ядра в сине-фиолетовый цвет, толуидиновый и метиленовый синий — в синий, а кармин — в ярко-красный.

Метакромазия — изменение цвета отдельных основных красителей (например, толуидинового или метиленового синего, крезилового фиолетового, азура II или тионина) при их связывании с некоторыми структурами, обладающими специфическими химическими свойствами (обычно высокой концентрацией сульфатированных гликозаминогликанов). Способностью окрашиваться метакроматически обладают гранулы базофильных лейкоцитов и тучных клеток, а также основное вещество хряща и слизи. Указанные красители окрашивают другие базофильные структуры в тех же тканях в обычный свойственный им цвет (ортохроматически). Так, толуидиновый синий окрашивает большинство клеточных структур ортохроматически в синий цвет, а гранулы тучных клеток — метакроматически в красно-фиолетовый.

Кислые красители (например, эозин, эритрозин, пикриновая кислота, оранжевый G, лихтгрюн) связываются с различными структурами, несущими положительный заряд. Способность окрашиваться кислыми красителями называется *оксифилией*, или *ацидофилией*, а структуры, связывающие эти красители, — *оксифильными*, или *ацидофильными*. Оксифилия свойственна цитоплазме клеток (в особенности при значительном содержании в ней митохондрий и некоторых белковых секреторных гранул), эритроцитам (благодаря высокой концентрации в них гемоглобина). Оксифильно окрашивается цитоплазма мышечных клеток сердца (кардиомиоцитов), гладких миоцитов, мышечных волокон скелетной мускулатуры, некоторые компоненты межклеточного вещества (например, коллагеновые волокна), коллоид щитовидной железы.

Комбинированное окрашивание препаратов основано на сочетании основных и кислых красителей, обладающих контрастирующими цветами. Единого универсального метода окрашивания препаратов, который выявлял бы на них все клеточные

и тканевые структуры, не существует, поэтому в каждом случае выбор метода определяется задачами исследования.

Общеобзорные методы окрашивания гистологических препаратов предназначены для выявления важнейших структурных компонентов клеток, тканей и органов. Обычно комбинируют основные и кислые красители, которые в сочетании дают контрастирующие цвета ядер и цитоплазмы клеток и хорошо выявляют их мелкие детали. Наиболее часто последовательно используют гематоксилин (основный краситель, получаемый из кампешевого дерева) и эозин (кислый синтетический краситель). При этом базофильные структуры окрашиваются в синевато-фиолетовые тона, а оксифильные — в розово-красные. Между тем на препарате, хорошо окрашенном гематоксилином—эозином, достигается более детальная цветовая дифференцировка отдельных структур, приобретающих различные оттенки (табл. 1.2).

Таблица 1.2. Цветовая дифференцировка отдельных структур при оптимальной окраске гематоксилином—эозином

Структуры	Цвет при окрашивании*
Ядра	Фиолетово-синий
Цитоплазма клеток	Розово-красный
Волокна соединительной ткани (коллагеновые)	Розово-красный
Мышечные клетки и волокна	Розово-красный
Межклеточное вещество костной ткани	Розово-красный
Межклеточное вещество хрящевой ткани	Фиолетово-синий и розовый
Эритроциты	Оранжевый
Слизь	Слабо-синеватый

* Интенсивность окраски различных структур варьирует в широких пределах.

К часто используемым общеобзорным методам принадлежит окраска железным гематоксилином—пикрофуксином по Ван-Гизону, которая (в отличие от окраски гематоксилином—эозином) позволяет дифференцировать по цвету коллагеновые и мышечные волокна. Коллагеновые волокна окрашиваются в ярко-красный цвет, мышечные волокна, цитоплазма различных клеток и эритроциты — в желтый, ядра клеток — в коричнево-черный. Широкое распространение получило окрашивание железным гематоксилином по Гейденгайну. Срезы окрашивают водным раствором гематоксилина после протравливания железными квасцами. Окраска не обладает спецификой в отношении конкретных структур, однако хорошо выявляет ядра, плазмолемму, замыкательные пластинки эпителиоцитов, секреторные гранулы, митохондрии, поперечную исчерченность мышечных волокон и клеток. Все

эти структуры окрашиваются в серо-черный цвет (иногда с синеватым или коричневатым оттенком).

Для окрашивания форменных элементов крови и костного мозга часто используют метиленовый синий или его производное — азуран II в сочетании с эозином в различных модификациях (по Романовскому—Гимзе, Лейшману, Паппенгейму, Май-Грюнвальду—Гимзе, Райту и др.). Результаты окрашивания (с небольшими модификациями в зависимости от использованного метода) представлены в табл. 1.3.

Таблица 1.3. Тинкториальные свойства клеточных структур при окрашивании азураном II—эозином

Структуры	Цвет при окрашивании
Ядра	Сине-фиолетовый
Цитоплазма лимфоцитов и моноцитов	Сине-голубой
Эритроциты	Розовый или красный
Гранулы нейтрофильные	Светло-фиолетовый
Гранулы эозинофильные	Красный
Гранулы базофильные	Темно-фиолетовый

Избирательное (элективное, специальное) окрашивание препаратов, в отличие от общеобзорных методов, позволяет выявить не общую морфологическую картину, а конкретные структуры, обладающие высоким сродством к определенным красителям (табл. 1.4).

Таблица 1.4. Примеры использования избирательных (элективных) методов окрашивания препаратов

Структуры	Краситель	Цвет при окрашивании
Эластические элементы (волокна, мембраны)	Орсеин	Темно-красно-коричневый
	Резорцин—фуксин	Черно-фиолетовый
	Альдегид—фуксин	Темно-фиолетовый
Жировые клетки и липидные включения	Судан III* Судан черный* Четырехокись осмия*	Оранжевый Черный Черный
Ретикулярные и нервные волокна, нервные и некоторые эндокринные клетки, базальная мембрана, комплекс Гольджи	Импregnация (пропитывание) солями серебра	Коричнево-черный
Слизь	Муцикармин	Красный

* Отмеченные красители согласно некоторым классификациям относят к гистохимическим (см. ниже).

6. Заключение (монтирование) окрашенных срезов в прозрачную застывающую консервирующую среду — смолу хвойных деревьев (бальзам) или синтетические среды (например, пермаунт) —

осуществляют после их обезвоживания в спиртах и просветления ксилолом. На постоянном гистологическом препарате срез ткани располагается на *предметном стекле*, сверху закрыт *покровным стеклом* и окружен заливочной средой, обладающей коэффициентом преломления световых лучей, близким к таковому у стекла.

Все этапы изготовления гистологического препарата в той или иной степени отражаются на его качестве: нередко под влиянием описанных выше процедур частично или полностью изменяются и даже утрачиваются некоторые компоненты клеток и тканей, в то же время могут появляться искусственно возникшие признаки, несвойственные живым клеткам и тканям, — *артефакты* (подробнее см. главу 3). В результате указанных явлений структура клеток и тканей на препарате приобретает отличия от имеющейся при жизни, поэтому к качеству гистологических препаратов, изучаемых в ходе освоения учебного курса, предъявляются строгие требования.

Только высокое качество гистологического препарата обеспечивает возможность получения достоверной информации о строении всех входящих в его состав структур и лежит в основе успешного

освоения учебного курса гистологии (изучения известных препаратов и идентификации неизвестных), а в дальнейшем — эффективной клинической патогистологической диагностики различных заболеваний. Критерии высокого качества гистологического препарата представлены в *табл. 1.5*.

В современных гистологических лабораториях, обеспечивающих значительный объем изготавливаемых препаратов для диагностических и исследовательских целей, в последние десятилетия широкое распространение получили автоматические программируемые аппараты, выполняющие гистологическую проводку биологического материала (в некоторых конструкциях с одновременным окрашиванием препаратов), — *гистопроцессоры* и *гистоконвейеры*. Используют также автоматы для отдельных этапов изготовления препаратов — *станции для заливки в парафин, автоматы для окрашивания гистологических препаратов*. Такие устройства способствуют ускорению изготовления, стандартизации и повышению качества препаратов. Они также препятствуют испарению в воздух лаборатории применяемых токсических реагентов. Очень быстрая обработка материала достигается использованием в этих аппаратах микроволновых и вакуумных устройств.

Таблица 1.5. Критерии высокого качества гистологического препарата

Характеристики гистологического препарата	Критерии высокого качества
Размеры среза	<i>Достаточные</i> : срез содержит все характерные структурные компоненты тканей и органов в объеме, необходимом для их надежного выявления (постановки диагноза)
Ориентация плоскости среза	<i>Оптимальная</i> : позволяет обнаружить и правильно идентифицировать все компоненты изучаемых структур и оценить их взаимоотношения
Прозрачность и толщина среза	<i>Достаточная прозрачность</i> обеспечивает возможность изучения препарата в проходящем свете. <i>Малая толщина</i> среза позволяет избежать наложения изображений структур. Толщина должна быть равномерной по всему срезу
Сохранность структурных компонентов органов и тканей	<i>Полная</i> : позволяет идентифицировать все компоненты органов и тканей, структура и расположение которых максимально соответствуют прижизненному состоянию
Окраска препарата: ▶ равномерность ▶ адекватность ▶ контрастность, чувствительность и избирательность	<i>Равномерное</i> окрашивание различных участков препарата, отсутствие недостаточно и избыточно окрашенных участков <i>адекватное</i> окрашивание и правильное распределение базофильных и ацидофильных структур <i>достаточно высокие</i> : обеспечивают дифференциальное окрашивание различных структур ядра и цитоплазмы клеток различных типов, а также межклеточного вещества, выявление которых имеет диагностическую ценность: глыбок хроматина, ядрышка, цитоплазматических вакуолей, гранул, диплазматической дифференцировки, исчерченности (базальной, поперечной и продольной), специализированных структур поверхности клетки (щеточной каемки, ресничек, стереоцилий), волокон соединительной ткани разных типов и др.
Артефакты	<i>Минимальное количество и слабая выраженность</i> : отсутствие сморщенных, деформированных и разрушенных структур, царапин и складок, осадков красителя, пузырьков воздуха или воды и др.
Сохранность препарата	<i>Высокая</i> : способность долго сохраняться в неизменном состоянии для возможности многократного изучения

Специальные методы гистологической обработки материала используются для получения срезов твердых тканей (костной, дентина, цемента и незрелой эмали) и тотальных препаратов.

Приготовление срезов обызвествленных тканей в нативном состоянии невозможно вследствие их твердости, обусловленной высоким содержанием минеральных веществ (в первую очередь кристаллов гидроксиапатита) в их матриксе. По этой причине такие ткани можно изучать на тонких *шлифах*, которые дают ценную информацию об общем плане их строения, однако вследствие разрушения органических компонентов не позволяют проследить детали клеточной структуры. Клетки и межклеточное вещество можно исследовать на срезах фиксированных и предварительно декальцинированных твердых тканей, которые после удаления минеральных веществ обрабатывают по стандартной гистологической методике. Исключение составляет зрелая эмаль зуба, которая ввиду очень низкого содержания органических компонентов практически полностью разрушается в процессе декальцинации. Для окрашивания срезов декальцинированной костной ткани часто используют метод с тионином—пикриновой кислотой (по Шморлю), при котором межклеточное вещество приобретает насыщенный зеленый цвет, а коллагеновые волокна, тела и отростки остеоцитов — коричневым.

Таблица 1.6. Критерии высокого качества цитологического препарата (мазка)

Характеристики цитологического препарата	Критерии высокого качества
Объем клеточного материала в мазке	<i>Достаточный</i> для выполнения диагностического исследования: мазок содержит все характерные типы клеток и другие компоненты тканей и органов в объеме, необходимом для их надежной идентификации
Распределение клеток в мазке	<i>Оптимальное</i> : равномерное, тонким слоем или в виде монослоя, поодиночке или мелкими группами
Крупные комплексы недиссоциированных клеток	<i>Отсутствуют</i> : непрозрачные «толстые участки», непригодные для анализа, единичны
Сохранность компонентов органов и тканей	<i>Полная</i> : позволяет идентифицировать все компоненты органов и тканей, их структура и расположение максимально соответствуют прижизненному состоянию
Окраска мазка: ▶ равномерность ▶ адекватность ▶ контрастность, чувствительность и избирательность	<i>Равномерное</i> окрашивание различных участков мазка, отсутствие недостаточно и избыточно окрашенных участков <i>адекватное</i> окрашивание и правильное распределение базофильных и ацидофильных структур в клетках и неклеточных структурах <i>достаточно высокие</i> : обеспечивают дифференциальное окрашивание различных структур ядра и цитоплазмы клеток различных типов, а также компонентов межклеточного вещества, выявление которых имеет диагностическую ценность: хромосом, глыбок хроматина, ядрышка, цитоплазматических включений, гранул, диплазматической дифференцировки, специализированных структур поверхности клетки (щеточной каемки, ресничек, стереоцилий), волокон соединительной ткани разных типов и др.
Артефакты	<i>Минимальное количество и слабая выраженность</i> : отсутствие сморщенных, деформированных и разрушенных клеток, осадков красителя и др.
Сохранность мазка	<i>Высокая</i> : способность долго сохраняться в неизменном состоянии для возможности многократного изучения

Приготовление тотальных (плоскостных, или пленочных) препаратов производят в тех случаях, когда исследуемые морфологические объекты имеют строение тонкой прозрачной пленки и могут быть изучены в проходящем свете. Пленки эпителиев (мезотелия, эндотелия) получают путем их отделения от подлежащей соединительной ткани; пленки сальника, содержащие сосуды микроциркуляторного русла, или рыхлой волокнистой соединительной ткани после извлечения аккуратно растягивают. Далее полученные пленки тщательно расправляют и фиксируют на ровной поверхности, переносят на стекло, где обрабатывают, окрашивают, просветляют и заключают. На плоскостных препаратах, в отличие от стандартных гистологических срезов, ткани видны с поверхности, что существенно дополняет представления об их структурной организации.

Взятие и подготовка материала для цитологического исследования

Материалом для цитологического исследования обычно служит мазок, соскоб, отпечаток или смыв с поверхности слизистых оболочек и кожи, его получают также путем тонкоигольной аспирационной биопсии определенного органа или его участка (например, щитовидной железы или

Таблица 1.7. Сравнительная характеристика некоторых способов подготовки препаратов для морфологического исследования

Характеристики	Стандартная гистологическая методика	Замороженные или криостатные срезы	Цитологические препараты (мазки)
Сохранность структуры тканей	Высокая	Сравнительно высокая	Отсутствует
Выявляемость морфологических деталей	Высокая	Умеренная	Имеется частично, некоторые структуры утрачиваются
Скорость получения препарата	Малая	Высокая	Высокая
Трудоемкость методики	Умеренная	Значительная	Низкая
Сохранность антигенов	Низкая/умеренная	Высокая	Вариабельная
Сохранность липидов	Низкая/отсутствует	Высокая	Вариабельная
Возможность длительного сохранения препаратов	Имеется	Обычно резко ограничена и не предусмотрена	Обычно ограничена, но возможно длительное сохранение

лимфатического узла). В некоторых случаях пользуются толстой иглой (например, для получения костного мозга). Подготовка материала к цитологическому исследованию включает: его нанесение тонким слоем на предметное стекло, фиксацию, окрашивание и заключение (при необходимости приготовления постоянного препарата). Указанные этапы аналогичны таковым при приготовлении гистологического препарата.

Для окрашивания цитологических мазков рекомендуют использовать методы с азуром—эозином или метиленом—эозином (по Романовскому, Лейшману, Май-Грюнвальду, Паппенгейму, Райту и др.), гематоксилином—эозином, полихромный метод Папаниколау и др.

Критерии высокого качества цитологического препарата, обеспечивающего возможность проведения высокоинформативного диагностического исследования, указаны в табл. 1.6.

Представленные выше сведения дают возможность сопоставления некоторых показателей, характеризующих различные методы приготовления препаратов, в связи с получаемыми результатами и задачами исследования (табл. 1.7).

Взятие и подготовка материала для цитохимического и гистохимического исследования

Цито- и гистохимические методы исследования направлены на выявление в клетках и тканях конкретных химических веществ (например, железа, кальция, белков, липидов, нуклеиновых кислот, гликогена, ферментов) или химических групп (например, альдегидных, сульфгидрильных, аминогрупп). При этом можно оценить как пространственное распределение (локализацию) этих веществ в определенных структурах, так и их относительное содержание. Цито- и гистохимические методы основаны на специфическом связывании красителей с определенными химическими соединениями (например, РНК и ДНК) или образо-

вании окрашенных продуктов из неокрашенных (хромогенов) в участке расположения искомого вещества (например, фермента) в результате гистохимической реакции.

Материал, предназначенный для изучения цито- и гистохимическими методами, фиксируют способом, максимально сохраняющим выявляемое вещество; предпочтительно в этих целях использовать замороженный нефиксированный материал. Методами цито- и гистохимии изучают распределение и оценивают содержание в клетках и неклеточных компонентах тканей веществ, относящихся к различным группам, — ДНК и РНК, белков, аминокислот, липидов, углеводов, минеральных веществ, оценивают активность ферментов.

ШИК-реакция (PAS-реакция) — пример одного из наиболее широко используемых гистохимических методов. Метод применяют для выявления соединений, богатых углеводными группами, — гликогена, гликопротеинов, мукопротеинов, протеогликанов и др. Он основан на окислении йодной кислотой гидроксильных групп сахаров до альдегидных, с которыми связывается бесцветный реактив Шиффа (содержащий фуксин), превращаясь в стабильное соединение вишнево-красного (пурпурного) цвета. ШИК-реакцию дают базальные мембраны, ретикулярные волокна, коллоид щитовидной железы, слизь, основное вещество соединительных тканей. Цветную реакцию с реактивом Шиффа используют также для гистохимического выявления ДНК по методу Фельгена, при которой реактив связывается с альдегидными группами, освобождающимися в молекулах ДНК после предварительного кислотного гидролиза. Распространенной гистохимической реакцией считается метод выявления РНК *метиловым зеленым—пиронином по Браше*. При проведении этой реакции ДНК в ядре окрашивается метиловым зеленым в зеленый или сине-зеленый цвет, а РНК в ядрышках и цитоплазме — пиронином в красный. Фон препарата варьирует от бледно-розового до бесцветного. Слизь, эпителий, хрящевой матрикс окрашиваются в цвета от розового до красного.

Таблица 1.8. Критерии высокого качества цито- и гистохимического препарата

Характеристики гистохимического препарата	Критерии высокого качества
Размеры среза	<i>Достаточные</i> : срез содержит все характерные структурные компоненты тканей и органов в объеме, необходимом для их надежного выявления (постановки диагноза)
Ориентация плоскости среза	<i>Оптимальная</i> : позволяет обнаружить и правильно идентифицировать все компоненты изучаемых структур и оценить их взаимоотношения
Прозрачность и толщина среза	<i>Достаточная прозрачность</i> обеспечивает возможность изучения препарата в проходящем свете. <i>Малая толщина среза</i> позволяет избежать наложения изображений структур. Толщина должна быть равномерной по всему срезу
Сохранность структурных компонентов органов и тканей	<i>Полная</i> : позволяет идентифицировать все структурные компоненты органов и тканей, строение и расположение которых максимально приближены к прижизненному состоянию
Сохранность выявляемого вещества	<i>Полная</i> : выявляемое вещество полностью сохраняется и не меняет свою локализацию в изучаемых клеточных, тканевых и органных структурах
Окраска препарата в результате проведения гистохимической реакции: ▶ избирательность и контрастность ▶ пропорциональность содержанию вещества ▶ точная идентификация структур, содержащих выявляемое вещество	<i>Высокоизбирательное контрастное окрашивание</i> участков локализации выявляемого вещества; отсутствует окрашивание структур, не содержащих выявляемое вещество (<i>ложноположительная реакция</i>), отсутствуют также структуры, содержащие искомое вещество, но не окрашенные (<i>ложноотрицательная реакция</i>) <i>имеется</i> : интенсивность окрашивания соразмерна содержанию вещества (в случае фермента — его активности) в изучаемых структурах <i>полностью возможна</i> (при необходимости осуществляется докрасивание препарата гистологическими красителями)
Артефакты	<i>Минимальное количество и слабая выраженность</i> : отсутствие сморщенных, деформированных и разрушенных клеток, осадков красителя и др. Отсутствие диффузии выявляемого вещества в соседние структуры, прижизненно его не содержащие (до проведения гистохимической реакции), а также диффузии красителя в соседние структуры (после проведения гистохимической реакции)
Сохранность препарата	<i>Высокая</i> : способность долго сохраняться в неизменном состоянии для возможности многократного изучения

При гистохимическом выявлении активности ферментов (*гистоэнзимологическом исследовании*) в результате реакции образуется окрашенный продукт, который обычно имеет вид мелкозернистого преципитата. Расположение продукта реакции в клетке указывает на локализацию фермента, а его количество (интенсивность реакции) отражает активность фермента. Критерии высокого качества цито- и гистохимического препарата представлены в табл. 1.8.

Иммуноцитохимические и иммуногистохимические методы в последние годы получили очень широкое распространение в исследовательской работе и клинической диагностике. Они основаны на использовании маркированных антител, которые по принципу антиген–антитело специфически связываются с выявляемым веществом (антигеном). Детали и варианты этих методов в настоящем издании не рассматриваются, поскольку они пока еще не получили достаточного распространения в учебном курсе, хотя отдельные примеры приведены в тексте руководства.

Тинкториальные свойства различных структурных компонентов тканей при использовании наиболее распространенных общегистологических (общее обзорных), специальных и гистохимических методов окраски представлены в табл. 1.9.

Взятие и подготовка материала для исследования в трансмиссионном электронном микроскопе

Задача использования трансмиссионного (просвечивающего) электронного микроскопа (ТЭМ) для изучения клеток и тканей, образующих различные органы, заключается в анализе их строения с выявлением мельчайших компонентов, размеры которых лежат за пределами разрешения светового микроскопа. С этой целью применяют пучок электронов, проходящий через сверхтонкие (ультратонкие) срезы. Микроскопическая структура ткани, клетки, выявляемая с помощью электронного микроскопа, называется *ультраструктурой*. Изображение объекта, возникающее

Таблица 1.9. Тинкториальные свойства различных структурных компонентов тканей при использовании наиболее распространенных методов окраски

Метод окраски	Структурные компоненты	Цвет
Гематоксилин–эозин	Ядра клеток Цитоплазма клеток, эритроциты, коллагеновые волокна, костный матрикс	Фиолетово-синий Розово-красный
Азур II–эозин и метиленовый синий в различных модификациях (по Романовскому–Гимзе, Лейшману, Паппенгейму Май–Грюнвальду–Гимзе, Райту и др.)	Ядра клеток Цитоплазма лимфоцитов и моноцитов Нейтрофильные гранулы Эозинофильные гранулы и эритроциты Базофильные гранулы	Сине-фиолетово-красноватый Сине-голубой Сиренево-фиолетовый Розовый или красный Темно-фиолетово-красноватый
Железный гематоксилин по Гейденгайну	Ядра клеток, плазмолемма, замыкательные пластинки эпителиоцитов, секреторные гранулы, митохондрии, поперечная исчерченность мышечных волокон и кардиомиоцитов, вставочные диски, реснички, центриоли, тонофибриллы Коллагеновые и эластические волокна	Серо-черный (иногда с синеватым или коричневатым оттенком) Серый
Железный гематоксилин–пикрофуксин по Ван-Гизону	Цитоплазма клеток, мышечных волокон, эритроциты Ядра клеток Коллагеновые волокна Эластические волокна	Желтый Коричнево-черный Ярко-красный Желтый
Муцикармин	Слизь	Красный
Судан III	Липидные включения, липиды миелиновых оболочек	Желто-оранжевый
Судан IV	Липидные включения, липиды миелиновых оболочек	Красный
Судан черный	Липидные включения, липиды миелиновых оболочек	Черный
Четырехокись осмия	Липиды, миелиновые оболочки	Черный
Импregnация солями серебра (серебрение)	Ретикулярные и нервные волокна, нейроны и некоторые эндокринные клетки, базальная мембрана, комплекс Гольджи	Коричнево-черный
Орсеин	Эластические элементы (волокна, мембраны)	Темно-красно-коричневый
Метод Вергофа	Ядра клеток Эластические элементы (волокна, мембраны)	Серый Черный
Метод Вейгерта (резорцин–фуксин)	Эластические элементы (волокна, мембраны)	Сине-черный
Азан по Маллори	Ядра клеток Цитоплазма эпителиоцитов Эритроциты Коллагеновые волокна Мышечная ткань Коллоид щитовидной железы: ▶ при гиперфункции ▶ гипofункции	Красный Розово-красный Красно-оранжевый Интенсивно-синий Красно-оранжевый Синий Красный
Азан по Гейденгайну	Ядра клеток Цитоплазма эпителиоцитов Эритроциты Мышечная ткань Коллагеновые волокна	Красный Розовый Красный Красно-оранжевый Синий
Трихромная (трехцветная) по Массону	Ядра клеток Цитоплазма клеток Мышечные волокна Эритроциты Коллагеновые волокна Слизь	Черный Красный Красный, красно-оранжевый Красный Синий Голубой
ШИК-реакция	Гликоген, базальные мембраны, коллоид щитовидной железы, слизь, щеточная каемка	Вишнево-красный (пурпурный)
Метиловый зеленый–пиронин по Браше	ДНК-содержащие структуры (ядра) РНК-содержащие структуры (ядрышки, цитоплазма) Слизь, эпителий, хрящевой матрикс	Зеленый Красный От розового до красного

в результате его взаимодействия с пропускаемыми через него электронами, увеличивается, передается на люминесцентный экран и регистрируется с помощью фотопленки (пластинки) или цифровой камеры.

Взятие материала для электронно-микроскопического исследования проводится так же, как и для описанного выше гистологического. Однако кусочки ткани здесь имеют очень мелкие размеры (обычно 1–2 мм); после извлечения их следует немедленно поместить в фиксатор во избежание аутолитических изменений и высыхания.

Фиксация материала производится чаще всего глутаральдегидом; предпочтительно использование перфузионного метода. Для дополнительной фиксации (постфиксации) используют четырехокись осмия (OsO_4), которая улучшает качество фиксации, сохраняет внутриклеточные липиды и одновременно окрашивает клеточные структуры.

Заливка материала следует за его дегидратацией и осуществляется в полимеризующиеся синтетические эпоксидные смолы (например, эпон, аралдит).

Резку залитого материала производят на специальном приборе — *ультратоме* с помощью стеклянных или алмазных ножей. Толщина получаемых *ультратонких срезов* составляет 20–100 нм (необходимость получения очень тонких срезов обусловлена низкой проникающей способностью электронов).

Окрашивание (контрастирование) срезов выполняют с помощью солей тяжелых металлов (свинца, осмия, урана, вольфрама и др.), которые избирательно соединяются с отдельными структурными компонентами, обуславливая различия их электронной плотности. Широкое распространение получил метод двойного контрастирования по Рейнольдсу с использованием уранилацетата и цитрата свинца. Окрашенные ультратонкие срезы, помещенные на металлическую (обычно медную) сеточку, изучают в ТЭМ (см. главу 2). Преимуществами метода являются возможность изучения разнообразного биологического материала, отсутствие необходимости в сложном лабораторном оборудовании для проведения химической фиксации, возможность длительного хранения блоков, содержащих материал, а также проведения корреляционного светооптического и электронно-микроскопического исследования. Однако в целом подготовка материала для его изучения в ТЭМ требует очень высокой квалификации персонала, характеризуется трудоемкостью и длительностью, применением высокотоксичных и летучих реагентов. Возможности изучения материала ограничены малым числом методов окраски (контрастиро-

вания), которые дают только монохроматическое (черно-белое) окрашивание, а также разрушением препаратов под действием пучка электронов.

В связи с последним недостатком окрашенные ультратонкие срезы обычно не подвергают длительному воздействию электронного пучка и получают ЭМФ, на которых проводят основной объем работы по изучению ультраструктуры клеток и тканей различных органов.

При контрастировании отдельные ультраструктурные компоненты в разной степени связывают соли тяжелых металлов и поэтому неодинаково проницаемы для пучка электронов. На люминесцентном экране ТЭМ изображение изучаемого объекта обычно имеет зеленоватый цвет, однако на ЭМФ оно фиксируется как черно-белое. Вследствие этого на ЭМФ различают структуры, имеющие высокую, низкую и среднюю электронную плотность. Первые, именуемые *электронно-плотными*, на ЭМФ окрашены в темно-серый или черный цвет, вторые (*электронно-прозрачные*) — в светло-серый или белый, третьи (*умеренной электронной плотности*) — в серый цвет.

В пределах одной клетки и окружающего ее межклеточного вещества могут встречаться ультраструктурные компоненты, обладающие широким спектром электронной плотности (табл. 1.10).

Критерии высокого качества электронно-микроскопических препаратов и полученных с них ЭМФ представлены в табл. 1.11.

Таблица 1.10. Различия электронной плотности ультраструктурных компонентов при стандартной трансмиссионной электронной микроскопии

Электронная плотность	Основные ультраструктурные компоненты
Низкая	Гиалоплазма, кариоплазма (нуклеоплазма), содержимое некоторых пузырьков
Средняя (умеренная)	Матрикс митохондрий, пероксисом, содержимое некоторых гранул, липидных капель (при фиксации глутаральдегидом)
Высокая	Глыбки гетерохроматина в ядре, содержимое некоторых цитоплазматических секреторных гранул, липидных капель (при фиксации четырехокисью осмия), рибосомы, гранулы гликогена, митохондриальные гранулы, матрикс лизосом, меланосом, липофусциновых гранул. Обызвестленный матрикс костной ткани, эмали, дентина и цемента

Таблица 1.11. Критерии высокого качества электронно-микроскопических препаратов

Характеристики электронно-микроскопического препарата	Критерии высокого качества
Размеры среза	<i>Достаточные:</i> срез содержит все характерные ультраструктурные компоненты тканей и органов в объеме, необходимом для их надежного выявления (постановки диагноза)
Ориентация плоскости ультратонкого среза	<i>Оптимальная:</i> позволяет обнаружить и правильно идентифицировать все изучаемые ультраструктурные компоненты и оценить их взаимоотношения
Толщина ультратонкого среза	Равномерная
Сохранность ультраструктурных компонентов клеток и тканей:	<i>Полная:</i> позволяет идентифицировать все компоненты клеток и тканей, ультраструктура и расположение которых максимально соответствуют прижизненному состоянию:
▶ клеточного матрикса (гиалоплазмы)	выявление в виде мелкозернистого вещества низкой или умеренной электронной плотности
▶ мембран	выявление их слоистой структуры; отсутствие разрывов
Контрастирование среза:	Оптимальное (частично обусловлено проведенной химической фиксацией):
▶ равномерность	<i>равномерное контрастирование</i> различных участков среза, отсутствие недостаточно и избыточно окрашенных участков
▶ адекватность	<i>адекватное дифференциальное контрастирование</i> , обуславливающее присутствие на срезе ультраструктурных компонентов со всем спектром электронной плотности — высокой, умеренной и низкой
Артефакты	<i>Минимальное количество и слабая выраженность:</i> отсутствие сморщенных, набухших, деформированных и разрушенных ультраструктурных компонентов, окрашенного фона, царапин, складок, трещин и разрывов среза, осадков и др.
Сохранность электронно-микроскопического препарата	<i>Высокая:</i> способность долго сохраняться в неизменном состоянии для возможности многократного изучения

ИЗУЧЕНИЕ СХМАТИЧЕСКОГО РИСУНКА, ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА И ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОФОТОГРАФИИ

✓ Изучить этапы приготовления постоянного гистологического препарата, следующие за получением материала, его фиксацией, обезвоживанием и заливкой в затвердевающую среду. Уяснить последовательность этапов и значение каждого из них.

Фиксированный и залитый в парафин, целлоидин или пластмассу кусочек ткани — блок (1) — подвергают *резке* (А) с помощью стальной *бритвы* (2) на специальном приборе — микротоме. Для получения *среза* (3) по оси *X* в различных конструкциях микротомов перемещается либо бритва, либо блок, тогда как второй элемент остается неподвижным. Толщина среза определяется величиной шага взаимного смещения блока и бритвы по оси *Y*. Срезы в виде *серии* (4) далее монтируют на *предметное стекло* (5), подвергают депарафинированию (или удалению пластмассы) и *окрашивают* (Б). Далее срезы обезвоживают, просветляют, *заклачивают* (В) в прозрачную *консервирующую среду* (6) — бальзам или синтетическую смолу — и закрывают сверху *покрывным стеклом* (7). В результате получают *постоянный гистологический препарат* (Г).

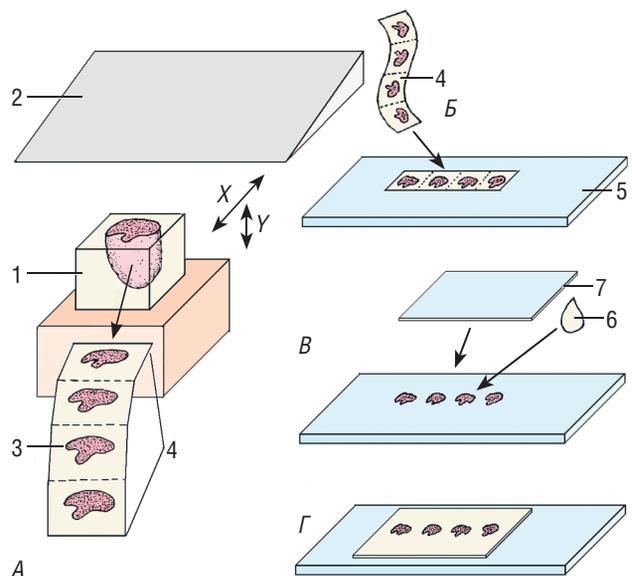


Рис. 1.1. Приготовление постоянного гистологического препарата из кусочка ткани, залитого в затвердевающую среду

А — резка тканевого блока; Б — окрашивание срезов; В — заклеивание срезов; Г — получение постоянного гистологического препарата. 1 — блок; 2 — микротомная бритва; 3 — срез; 4 — серия срезов; 5 — предметное стекло; 6 — консервирующая среда; 7 — покрывное стекло

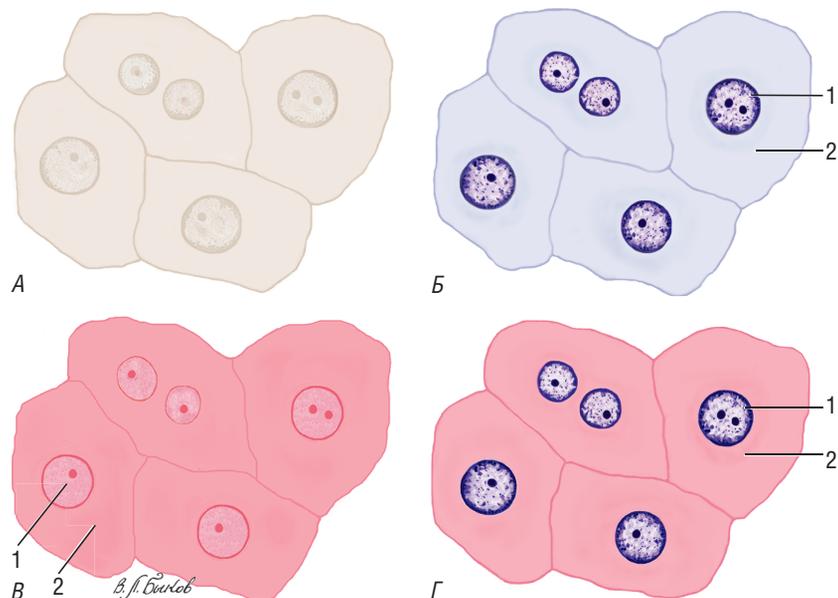


Рис. 1.2. Клетки на гистологических срезах, окрашенных различными способами

A — неокрашенный срез; *Б* — срез, окрашенный гематоксилином; *В* — срез, окрашенный эозином; *Г* — срез, окрашенный гематоксилином–эозином. 1 — ядро; 2 — цитоплазма

✓ Цель изучения данного гистологического препарата — проиллюстрировать понятия о базофильных и оксифильных структурах клетки, а также запомнить вид клеток, окрашенных наиболее распространенным обзорным методом — гематоксилином–эозином. На препарате находятся четыре среза ткани, из которых один (*A*) не окрашен, а три другие (*Б–Г*) окрашены различными способами. Приступая к изучению препарата, целесообразно рассмотреть его на свет **невооруженным глазом**, что позволяет идентифицировать срезы, окрашенные разными способами. Срез, окрашенный гематоксилином, имеет светло-синий цвет, эозином — розовый, гематоксилином–эозином — фиолетовый (он — самый яркий из всех), неокрашенный срез — еле заметен: он прозрачный, чуть желтоватый. **При малом увеличении** необходимо последовательно рассмотреть все срезы, сопоставить особенности их окрашивания и оценить способность тех или иных компонентов клетки связываться с основным или кислым красителем, то есть их базофилию и оксифилию. Научиться находить и изучать срезы, окрашенные гематоксилином, эозином, гематоксилином–эозином, а также неокрашенный срез. **При большом увеличении** с каждого среза зарисовать группу клеток и обозначить их основные клеточные компоненты — ядро и цитоплазму.

На **неокрашенном срезе** (*A*) клетки обнаруживаются с трудом и имеют вид бледных неконтрастных теней; для их более четкого выявления целесообразно опустить конденсор. Детали строения клеток не определяются. При оптимальном освещении можно примерно проследить границы их цитоплазмы, контур округлого ядра, наличие в нем зернистого материала и расположенной вблизи центра ядра крупной плотной гранулы — ядрышка. На **срезе, окрашенном гематоксилином** (*Б*), видно, что этот основной краситель активно связывается с **ядром клетки** (1), придавая ему интенсивный сине-фиолетовый цвет, благодаря чему отчетливо выявляются его границы, размеры, форма, положение

в клетке. Ядро имеет вид крупной круглой или овальной базофильной структуры, расположенной в центре клетки. В некоторых клетках могут встречаться два более мелких ядра, лежащие рядом. Благодаря тому, что окрашивание ядра гематоксилином неравномерно, в нем обнаруживаются структурные компоненты: гранулы более темного цвета, сосредоточенные преимущественно на его периферии, — хроматин, и 1–2 крупных интенсивно окрашенных ядрышка. **Цитоплазма** (2) воспринимает гематоксин очень слабо или не окрашивается им вообще. На **срезе, окрашенном эозином** (*В*), этот краситель слабо связывается с **ядром** (1), но интенсивно окрашивает **цитоплазму** (2) в розовый цвет (оксифильно). На **срезе, окрашенном гематоксилином–эозином** (*Г*), благодаря комбинированному методу окраски отчетливо выявляется как базофильно окрашенное **ядро** (1), так и оксифильно окрашенная **цитоплазма** (2) клетки.

* Гематоксин, извлекаемый из кампешового дерева (сине-го сандала), сам по себе не обладает красящими свойствами. Он приобретает их после окисления — естественного или искусственного (химического), превращаясь в пигмент гематеин. По этой причине гематоксин для окрашивания гистологических срезов изготавливают путем добавления различных солей и других реактивов, причем обычно раствор приобретает красящую силу не сразу, а после периода «созревания». Используют несколько вариантов гематоксилина, названных именами авторов, предложивших различные способы его приготовления (гематоксин Карацци, Майера, Эрлиха, Гарриса, Делафилда и др.). В настоящем руководстве конкретный тип гематоксилина в обозначениях не упоминается, за исключением тех случаев, когда он обладает особыми цветовыми свойствами (например, железный гематоксин Вейгерта или Гейденгайна).

Общеобзорные методы окрашивания представлены в настоящем издании преимущественно *гематоксилин-эозином*. Помимо последнего имеются примеры использования *железного гематоксилина* (см. рис. 5.8, 7.8, 11.1, 14.3, 14.8, 16.13, 16.14, 18.2, 18.3, 18.14), *железного гематоксилина-пикрофуксина по Ван-Гизону* (см. рис. 7.13, 14.6), *азура II-эозина* (см. рис. 5.1, 5.3, 5.4, 9.1, 9.10, 9.13, 9.16, 10.1–10.5, 10.10–10.12, 10.14, 19.1, 25.20), *азана по методу Гейденгайна* (см. рис. 20.2, 20.7, 20.8), *азана по методу Маллори* (см. рис. 24.11), *полихромной окраски по Папаниколау* (см. рис. 22.10, 26.20, 28.29).

Избирательное (элективное, специальное) окрашивание препаратов показано на рисунках в различных главах, посвященных общей и частной гистологии. Представлены препараты, окрашенные *орсеином* (см. рис. 13.2, 18.5, 18.7), *альдегид-фуксином* (см. рис. 11.13), *суданом III* (см. рис. 4.19), *суданом черным* (см. рис. 4.18, 7.30), *четыреокисью осмия* (см. рис. 15.11, 16.2, 16.3, 28.33), *тионином* (см. рис. 15.3, 16.31), *тионином-пикриновой кислотой* (см. рис. 13.3, 13.14), *паральдегид-фуксином* (см. рис. 20.2, 20.7, 20.8), *муцикармином* (см. рис. 7.8, 7.14), *толуидиновым синим* (см. рис. 11.6), с использованием *импрегнации солями серебра* (см. рис. 4.8, 7.5, 12.5, 15.4, 15.5, 15.15–15.18, 15.21, 15.22, 16.6, 16.15–16.17, 16.23, 16.24, 16.26, 16.27, 16.29, 19.9, 20.18, 24.25), *суправитального метода с бриллиантовым крезильовым синим* (см. рис. 9.2).

Цито- и гистохимические методы представлены на примерах использования ШИК-(PAS)-реакции (см. рис. 4.16, 20.15, 23.5, 23.6, 23.8, 26.3–26.5, 28.19–28.22, 28.28), *галлоцианина-хромовых квасцов по Эйнарсону* (см. рис. 10.8, 11.8), *метилового зеленого-пиронина по Браше* (см. рис. 5.5), гистоэнзимологических методов исследования — выявления ферментов *сукцинатдегидрогеназы* (см. рис. 14.7), *АТФазы* (см. рис. 21.7, 22.4, 24.17), *щелочной фосфатазы* (см. рис. 26.9).

Иммуноцитохимические и иммуногистохимические методы в пределах стандартного учебного лабораторного курса гистологии, цитологии и эмбриологии представлены единичными примерами (см. рис. 24.8).

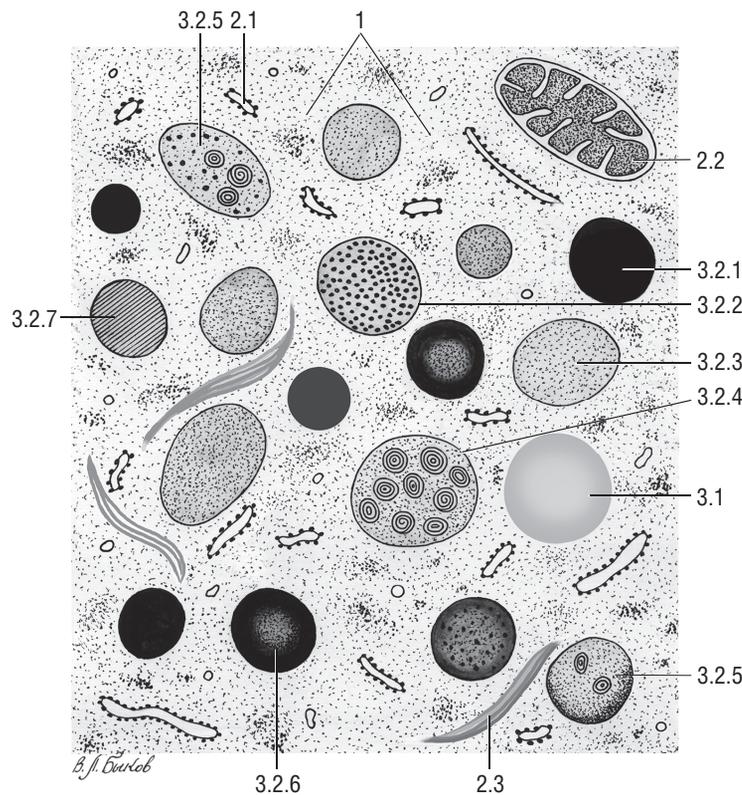


Рис. 1.3. Ультраструктурные компоненты клетки. Участок цитоплазмы тучной клетки человека¹

Рисунок с ЭМФ. 1 — гиалоплазма; 2 — органеллы: 2.1 — цистерны гРЭПС, 2.2 — митохондрия, 2.3 — элементы цитоскелета; 3 — включения: 3.1 — липидная капля, 3.2 — секреторные гранулы: 3.2.1 — гранула с гомогенным электронно-плотным содержимым, 3.2.2 — гранула с крупнозернистым плотным содержимым, погруженным в гомогенное вещество низкой плотности, 3.2.3 — гранула с мелкозернистым гомогенным содержимым низкой плотности, 3.2.4 — гранула с матриксом умеренной плотности, в который погружены более плотные структуры в форме «пергаментных свитков», 3.2.5 — гранула смешанного строения, 3.2.6 — гранулы с содержимым различной электронной плотности, 3.2.7 — гранулы с кристаллоидной структурой матрикса

¹ Все сокращения, используемые в подрисуночных подписях здесь и далее, смотрите в списке сокращений на с. 9.