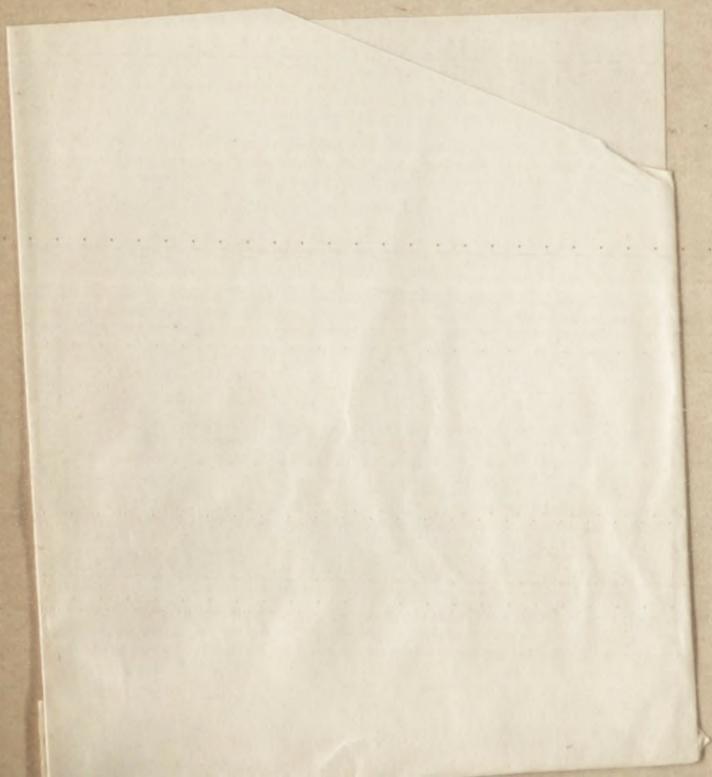


С. И. ЦИТЛЕНОК, А. А. КОЗЛОВА

**ПРАКТИКУМ
ПО ЦИТОЛОГИИ
И ГИСТОЛОГИИ**

ТОМСК — 1985



Томский ордена Октябрьской
Революции и ордена Трудового Красного
Знамени государственный университет
имени В.В.Куйбышева

С.И.Цитленок, А.А.Козлова
ПРАКТИКУМ ПО ЦИТОЛОГИИ И ГИСТОЛОГИИ
Под редакцией доктора биологических наук
Н.Н.Карташов



Издательство Томского университета
Томск-1985

УДК 567 : 691,8

Цитленок С.И., Козлова А.А. Практикум по цитологии и гистологии. -
Томск: Изд-во Том.ун-та, 1985.-79 с.-70 к. 500 экз. 2001020000.

В пособии приводится устройство микроскопа и излагаются
правила работы с ним. Рассматриваются современные данные о стро-
ении и функциях клеток и различных типах их деления, структуре
и функциях различных тканей животного организма. Каждая тема по-
собия сопровождается описанием препаратов.

Для студентов биологических специальностей.

100 экз, 5 кб

Рецензент - кандидат биологических наук Н.Н.Ильинских

II 2001020000 74-85
177 (012)-85

Бирз

I. СВЕТОВАЯ МИКРОСКОПИЯ

При изучении курса цитологии и гистологии постоянным рабочим инструментом является микроскоп. Микроскоп является оптическим прибором, дающим увеличенное изображение мелких объектов и их деталей. Наша промышленность выпускает большое количество моделей микроскопов, отличающихся друг от друга по конструкции, комплектации оптики, принадлежностям и назначению.

Познакомимся с устройством рабочего биологического микроскопа, выпускаемого в СССР в настоящее время и наиболее часто используемого для учебных целей и повседневной работы в лаборатории.

Устройство микроскопа МБР-1

Микроскоп МБР-1 (микроскоп биологический рабочий) предназначен для наблюдения прозрачных препаратов в проходящем свете в светлом поле.

В микроскопе различают оптические и механические узлы. Оптический узел составляют объективы, окуляры и осветительная система (конденсор и зеркало). Наиболее важной составной частью оптического узла микроскопа являются объективы. Они представляют собой многолинзовые системы, от качества которых в основном зависит изображение объекта.

Объективы могут иметь три типа aberrаций (недостатков): хроматическую, сферическую и кривизну поля. При хроматической aberrации возникает окрашенное изображение вследствие несовпадения

изображений, создаваемых лучами различных цветов. При сферической аберрации наблюдается нерезкое изображение. И наконец, за счет кривизны поля зрения нельзя одновременно четко видеть центр и края изображения.

В соответствии с исправляемыми аберрациями объективы подразделяются на ахроматы, апохроматы, планахроматы и планапохроматы. Ахроматы представляют наиболее простые объективы, характерные для рабочих микроскопов типа МБР-1. У них исправлена хроматическая аберрация для двух длин волн. Апохроматы являются более сложными объективами, у которых исправлены аберрации для трех длин волн и качество изображения значительно лучше. Эти объективы устанавливаются на исследовательских микроскопах типа МБИ-3, МБИ-6 и других. Планахроматы и планапохроматы — объективы, обычно используемые при микрофотосъемке, имеют плоское поле зрения за счет полной ликвидации такого недостатка, как кривизна поля зрения.

В современных микроскопах объективы сменные, что позволяет изучать клетки при разных увеличениях. Истинное увеличение объектива указано на его оправе. Объективы отечественных микроскопов подразделяются на четыре категории: 8х или 10х (слабые), 20х (средние), 40х и 60х (сильные) и 90х (очень сильные). Первые три категории объективов по особенностям конструкции и способу применения относятся к сухим. 60х и 90х являются иммерсионными (погруженными).

При сухих объективах между линзой объектива и стеклом препарата находится воздух. Поскольку стекло имеет показатель преломления ($n=1,520$), отличающийся от показателя преломления воздуха ($n=1,00$), то луч света, выходя из стекла в воздух, очень отклоняется. Вследствие этого при сильных объективах, имеющих маленькое расстояние между фронтальной линзой и объектом, большинство световых лучей не попадает в объектив и поле зрения освещается плохо. В таких случаях для более качественного освещения объекта между фронтальной линзой и стеклом препарата помещается среда, имеющая показатель преломления, близкий к стеклу. В качестве такой среды может служить кедровое масло (показатель преломления $n=1,51$), водный раствор глицерина (74% глицерина и 26% воды — $n=1,43$), вазелин ($n=1,50$), вода ($n=1,33$).

Каждый объектив имеет определенные характеристики: фокусное расстояние, разрешающую способность и увеличение. Слабые объекти-

вы имеют фокусное расстояние 50-60 мм, а объектив - 1,3 мм. Таким образом, чем больше фокусное расстояние, тем меньше увеличение объектива.

Главной характеристикой микроскопа как оптической системы является его разрешающая способность. Разрешающая способность объектива представляет наименьшее расстояние между двумя линиями, которые можно видеть в микроскоп. Эта величина (d) зависит от длины волны света (λ) и числовой апертуры объектива (A): $d = \frac{\lambda}{A}$. Чем меньше длина волны, тем меньшего размера детали мы можем рассмотреть. И чем выше числовая апертура объектива, тем выше разрешение.

Числовая или числовая апертура характеризует светоспособность объектива и определяется по формуле $A = n \sin \alpha$, где n - коэффициент преломления среды между фронтальной линзой объектива и покровным стеклом, α - половинный угол входного отверстия объектива.

Лучшие сухие объективы имеют $A = 0,94 - 0,95$. Наименьший видимый объект при таких значениях апертуры равен 0,57 мкм. Иммерсионные объективы имеют более высокую апертуру, у масляно-иммерсионных объективов $A = 1,4$. Такие объективы позволяют различать две дискретные точки, разделенные расстоянием менее 0,27 мкм.

Назначение объектива состоит в том, что он строит геометрически подобное объекту увеличенное и перевернутое изображение, а также выявляет подробности, недоступные глазу человека.

Помимо объективов в оптический узел микроскопа входят окуляры. Окуляр устроен проще объектива и часто состоит всего из двух линз. Назначение окуляра: он строит мнимое и увеличенное изображение, не выявляя подробностей строения.

Существует в основном два типа окуляров: ортоскопические и Гюйгенса, предназначенные для работы с ахроматами, планхроматами малых и средних увеличений и компенсационные, применяемые в работе с разными апохроматами, планхроматами, ахроматами больших увеличений. Окуляры имеют на оправе обозначения, указывающие их истинное увеличение. Компенсационные окуляры, кроме этого, помечены буквой "К". Чаще всего употребляются окуляры 7х (слабые), 10х (средние) и 15х (сильные).

Общее увеличение микроскопа определяют произведением увели-

чения объектива ($V_{об.}$) на увеличение окуляра ($V_{ок.}$): $V = V_{об.} \times V_{ок.}$. Следует запомнить, что только объектив увеличивает объект, а окуляр лишь растягивает изображение, даваемое объективом. Увеличение, равное $100\times A$, называется полезным увеличением. Оно не может превышать $1300-1400$ раз. Увеличения, превышающие эту величину, практически не имеют значения и называются бесполезными. Более сильное увеличение не выявляет новых деталей объекта, а освещенность его становится меньше и наблюдается дифракция света. Таким образом, увеличение $90\times 15 = 1350$ является максимально полезным увеличением для световых отечественных микроскопов.

Осветительная система микроскопа, в которую входят конденсор, ирисовая диафрагма и зеркало, расположена под столиком микроскопа (рис. 1).

К о н д е н с о р (1) является главной частью осветительного аппарата. Это плосковыпуклая линза либо система из двух или трех линз, закрепленных в особом кольце. Кольцо способно передвигаться вверх и вниз. Тип конденсора обусловлен методом наблюдения. Конденсор служит для концентрации световых лучей на объекте и поэтому имеет особое значение при работе с сильными объективами. При слабых увеличениях конденсор необходимо опускать, а при сильных максимально поднимать. Подъем и опускание конденсора осуществляется специальным винтом типа кремальеры. Его барашек располагается слева или справа под предметным столиком.

И р и с о в а я д и а ф р а г м а (2), расположенная под конденсором микроскопа, позволяет регулировать освещение объекта. Она состоит из системы кривых тонких пластинок, способных надвигаться одна на другую и расположенных в кольце, соединенном с кольцом конденсора. Сбоку кольца ирисовой диафрагмы находится рычажок для её открывания и закрывания.

Под диафрагмой имеется к о л ь ц о д л я с в е т о ф и л ь т р а (3). Обычно используют матовый бесцветный или матово-синий светофильтры.

В нижней части микроскопа располагается з е р к а л о (4), имеющее две поверхности - плоскую и вогнутую. Зеркало необходимо для направления пучка света на объект. При естественном и электрическом освещении следует пользоваться вогнутым зеркалом, при специальных осветителях - плоским.

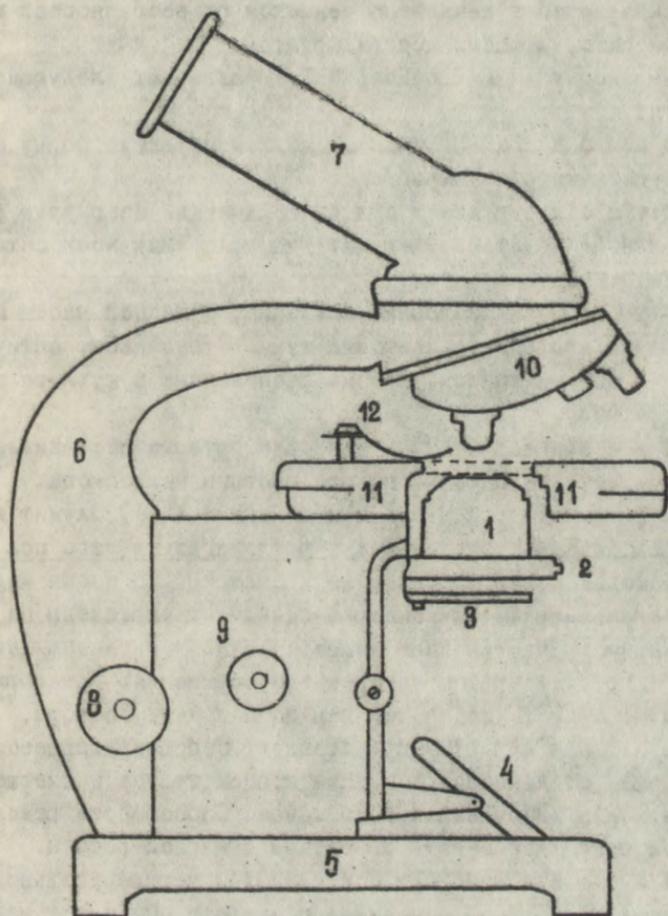


Рис. I. Схема микроскопа МБР-I (по Кацнельсону, Рихтер):

- I - конденсор; 2 - ирисовая диафрагма;
- 3 - кольцо для светофильтра; 4 - зеркало;
- 5 - подставка; 6 - тубусодержатель;
- 7 - тубус; 8 - кремальера;
- 9 - микрометрический винт; 10 - револьвер;
- 11 - предметный столик; 12 - зажимы (клеммы)

Механический узел микроскопа состоит из штатива, предметного столика и механизмов для фокусировки микроскопа. Разнообразие в устройстве микроскопов зависит в основном от особенностей штативов, форма которых часто модифицируется.

В механическом узле микроскопа МБР-I различают следующие основные части:

1. П о д с т а в к а (5), имеющая подковообразную форму, необходима для устойчивости микроскопа.

2. Т у б у с о д е р ж а т е л ь (6), имевший изогнутую форму и закрепленный на подставке, служит для крепления всех остальных частей штатива.

3. Т у б у с (7), закрепленный наклонно, в нижней части имеет призму, направляющую в него световые лучи. Тубус несет оптические линзы и крепится винтом. Призма расположена в футляре полусферической формы.

4. К р е м а л ь е р а (8) - винт для грубого передвижения тубуса. Она имеет два барашка по обе стороны микроскопа.

5. М и к р о м е т р и ч е с к и й в и н т (9) служит для тонкого передвижения тубуса и может располагаться либо под предметным столиком, либо сбоку ниже кремальеры. В новых моделях чаще всего кремальера и микрометрический винт укреплены на одной оси. Микрометрический винт является наиболее тонкой деталью микроскопа и требует крайне осторожного обращения. Категорически запрещается вращать его более чем на половину оборота.

6. Р е в о л ь в е р (10) представляет собой вращающееся приспособление, соединенное с нижним концом тубуса и имеющее четыре гнезда для ввинчивания объективов. Способность револьвера вращаться позволяет менять объективы в период работы.

7. П р е д м е т н ы й с т о л и к (11) четырехугольной или округлой формы служит для помещения препарата. Он имеет отверстие по оси тубуса и способен вращаться как вокруг оси, так и по перпендикулярным диагоналям. Диагональное движение осуществляется винтами, барашки которых находятся по бокам столика. Винты служат для центровки необходимого для исследования района препарата.

8. З а ж и м ы (к л е м ы) (12) представляют две пружинистые пластинки, необходимые для фиксации препарата на предметном столике.

Правила работы с микроскопом

1. Приступая к работе с микроскопом, необходимо проверить зеркало (нужно установить вогнутое) и замкнутость револьвера на засечку при слабом объективе.
2. Перед началом работы чистой тряпочкой следует удалить пыль с микроскопа и убедиться в чистоте окуляров и объективов (удаление грязи производят мягкой сухой тряпочкой либо смоченной в бензине или этильно-спиртовой смеси).
3. Поставить микроскоп у края стола в удобном для себя положении и установить окуляр на уровне левого глаза.
4. Настроить освещение при слабом объективе с помощью зеркала таким образом, чтобы поле зрения было освещено равномерно и ярко.
5. Положить препарат на предметный столик покровным стеклом сверху так, чтобы объект исследования находился против отверстия столика. Используя кремальеру, найти фокус слабого увеличения.
6. Рассмотрев препарат при слабом увеличении, найти на препарате хорошее место для детального изучения и поставить его в центр поля зрения микроскопа. Закрепить препарат клеммами.
7. Не меняя фокуса, повернуть револьвер и установить более сильный объектив. Необходимо вновь проверить замыкание засечки револьвера.
8. Установить фокус сильного увеличения, используя кремальеру и микрометрический винт. Фокусировку микроскопа во время работы с сильными объективами нужно производить осторожно, чтобы не раздавить препарат и не повредить линзу объектива. Следует поступать таким образом: смотря на объектив сбоку, опустить тубус на минимальное расстояние от препарата. Затем, поднимая тубус с помощью кремальеры, произвести фокусировку микрометрическим винтом при непосредственном наблюдении за объектом в окуляр.
9. Рассмотреть препарат при сильном увеличении, слегка вращая микрометрический винт в обе стороны.
10. Для перехода к наблюдению с иммерсионным объективом нанести каплю иммерсионной жидкости на препарат и линзу объектива, а затем опустить тубус до смыкания капель. Фокусировка производится с помощью микрометрического винта. После работы следует

тщательно удалить остатки иммерсионной жидкости с объектива и препарата.

11. Необходимо предохранять микроскоп от толчков, царапин и воздействия кислот, щелочей, растворителей. Не следует вынимать из тубуса окуляр, чтобы не загрязнять пыль объективы и тубус.

12. Закончив наблюдения и зарисовки препарата, необходимо поднять тубус микроскопа, перевести револьвер на слабое увеличение, освободить зажимы и снять препарат со столика микроскопа.

13. После окончания работы микроскоп необходимо протереть. Переносить микроскоп можно только двумя руками. При этом одной рукой берутся за изгиб тубусодержателя, а другой поддерживает основание штатива.

Оптические методы исследования клеток и тканей

Метод светлого поля. Одним из наиболее распространенных и доступных методов наблюдения в проходящем свете является метод светлого поля. Данный метод используется при изучении прозрачных объектов, различные участки которых неодинаково поглощают свет. Исследуемые объекты (препараты) должны быть тонки и контрастны. К таким объектам относятся срезы растительных и животных тканей, которые монтируются на предметных стеклах и накрываются покровными стеклами. Цитология и гистология широко используют метод светлого поля в проходящем свете при изучении окрашенных препаратов. Для получения изображения в светлом поле следует пользоваться обычными биологическими микроскопами различных марок.

Метод темного поля. Метод темного поля успешно применяется при изучении живых клеток, а также для получения изображения прозрачных объектов, невидимых при наблюдении в светлом поле. Суть его состоит в том, что исследуемый объект освещается косыми лучами, которые при отсутствии рассеивания (преломления) в образце не попадают в объектив микроскопа. Изображение, таким образом, создается рассеянными лучами, идущими от объекта. Поскольку основная часть световых лучей минует объектив - поле зрения темное, а на его фоне видны

интенсивно светящиеся структуры. С помощью темнопольной микроскопии можно дифференцировать живые и погибавшие клетки, увидеть мелкие органоиды. Разрешающая способность темнопольного микроскопа высокая. При использовании этого метода можно видеть частицы меньшей величины чем $0,2$ мкм. Но следует помнить, что размеры и форму частиц этим методом определить затруднительно.

Для получения изображения в темном поле можно использовать темнопольный микроскоп или обычный биологический микроскоп с темнопольным конденсором (ОИ-13), освещающим объект сбоку.

Метод темного поля имеет ряд ограничений:

- 1) возможно использование объектов лишь малой толщины и находящихся в водной среде;
- 2) предполагается использование абсолютно чистых предметных стекол толщиной $0,8-1,2$ мм, покровных - $0,17$ мм;
- 3) препарат и иммерсионная жидкость должны быть лишены пузырьков воздуха;
- 4) требуется тщательная центровка света.

Метод фазового контраста. В основе метода лежат изменения в показателях преломления световых лучей при их прохождении сквозь прозрачные объекты или при отражении от объектов непрозрачных. В участках с большим и меньшим преломлением скорость распространения света будет различной. В районах с большим преломлением световой луч запаздывает и это явление называют изменением по фазе. Таким образом, принцип метода фазового контраста состоит в выявлении сдвигов фазы световых колебаний. Поскольку фазовые изменения не улавливаются глазом, то они преобразуются в видимые (амплитудные, обусловленные изменением интенсивности света) с помощью фазово-контрастного микроскопа.

В фазово-контрастном микроскопе в объектив вмонтирована специальная фазовая пластинка в виде кольца, которая получается напылением слоя толщиной в несколько микрон. Апертурная ирисовая диафрагма замещена на кольцевую. Её изображение, преобразуемое через конденсор и объектив, полностью совмещается с фазовым кольцом объектива. Фазовое кольцо не оказывает влияния на рассеянные лучи от частиц объектива, но удлиняет или укорачивает путь невозмущенных лучей, изменяя фазу равномерно-

го фона. Поэтому частицы с показателем преломления, большим показателя преломления среды, дают темные изображения на светлом фоне, а с показателем, меньшим показателя среды, — изображения более светлые, чем фон.

Метод фазового контраста применим для выявления деталей объектов или обнаружения и исследования самих объектов, линейные размеры которых сравнимы с длиной волны света, используемого для их отображения. Применяя этот метод, можно увидеть в живых клетках митоз, хромосомы, различные органоиды, изучить действие физических, химических факторов и фиксаторов. Важную роль играет метод фазового контраста при наблюдении за клетками и тканями *in vitro*.

Для проведения исследований необходимо иметь к биологическому микроскопу специальное фазово-контрастное устройство КФ-4, состоящее из фазового конденсора, специальных объективов, маркированных буквой Ф, и вспомогательного микроскопа.

2. ЦИТОЛОГИЯ

Ц и т о л о г и я — наука о строении, функциях, обмене веществ, взаимоотношениях со средой, развитии и происхождении клетки.

Ядро

Ядро — обязательный компонент всех эукариотических клеток, являющийся носителем генетического материала. Генетическая роль ядра определяется наличием ДНК, на матрицах которой осуществляется синтез РНК и находится код для синтеза белка. Ядро оказывает влияние на все процессы, протекающие в клетке, — рост, движение, размножение, дифференциацию и т.д. Большинство типов клеток имеет одно ядро, в некоторых типах клеток наблюдается два — три ядра (клетки печени), известны и многоядерные клетки. Форма ядер часто соответствует форме клеток. По форме ядра бывают округлые, овальные, вытянутые. Иногда в клетках правильной геометрической формы можно наблюдать неправильные по форме ядра (лопастные и сегментированные).

Основными компонентами ядра являются: ядерная оболочка, хроматин, ядрышки и ядерный сок.

Ядерная оболочка отделяет ядро от цитоплазмы и осуществляет обмен веществ между ними. Она состоит из двух мембран, отделенных друг от друга перинуклеарным пространством, заполненным жидкостью с низкой электронной плотностью. Наружная и внутренняя мембраны контактируют между собой в области пор, пронизывающих оболочку. Пory (диаметр их 800–900 Å) не являются сквозными, а имеют диафрагму белковой природы. По краям поры как со стороны ядра, так и со стороны цитоплазмы имеется восемь гранул. Гранулы — это ферментные комплексы, принимавшие участие в переносе веществ. Число пор зависит от метаболической активности ядра. Обычно на их долю приходится около 15% всей поверхности ядра.

В интерфазном ядре хромосомы не выделяются, они деконденсированы (деспирализованы) и находятся в рабочем состоянии, присутствуя в виде хроматина. Под хроматином понимается комплекс ДНК с белком. Хроматин участвует в регуляции активности генов за счет конденсации и деконденсации. В зависимости от степени конденсации различают диффузный и конденсированный хроматин. Конденсированный хроматин (гетерохроматин) выявляется при ок-

разивании основными красителями. В растительных клетках конденсированный хроматин часто упакован в виде хромонем (толстые хроматиновые нити диаметром до 2-3 тыс. Å). Он не контактирует с ядерной оболочкой по всей её внутренней поверхности в отличие от животных клеток, где конденсированный хроматин выстилает всю ядерную оболочку, прерываясь лишь в области пор. На препаратах выявляются глыбки хроматина разного диаметра, особенно крупные глыбки носят название хромоцентров. Значительная часть их локализована вокруг ядрышка.

Гетерохроматин генетически менее активен, чем диффузный хроматин и потеря его участков не является летальной для клетки.

Диффузный хроматин (эухроматин) не окрашивается красителями, поэтому не выявляется при обычных методах микроскопирования, является генетически активным, в нем локализованы все главные гены организма. Утеря или изменение малейшей частицы диффузного хроматина приводит к жизненно важным последствиям для клетки. Различия между диффузным и конденсированным хроматином объясняются функциональным состоянием (активным или неактивным) заключенных в них генов.

В ядре встречается одно или несколько ядрышек. Ядрышки не ограничены мембраной, имеют округлую форму. Они сильно преломляют свет и являются наиболее плотной структурой клетки. По периферии и внутри ядрышка обнаруживаются глыбки конденсированного хроматина. В состав ядрышка входят фибриллярный и гранулярный компоненты. Фибриллярный компонент состоит из тонких фибрилл толщиной около 50 Å, которые упакованы в пучки диаметром 1000-1500 Å, пронизывающие ядрышко в различных направлениях. Фибриллярный компонент содержит ядрышковую ДНК и вновь синтезированную РНК. Часто фибриллярный компонент сосредоточен в центральной части ядрышка в виде плотной зоны. Гранулярный компонент представлен гранулами диаметром 150-200 Å, располагающимися на периферии ядрышка. Между гранулами наблюдаются фибриллы толщиной 40-80 Å. Гранулы и рыхло расположенные фибриллы могут обособляться в виде нитчатых структур толщиной 1500-2000 Å (нуклеолонемы). Гранулы имеют рибонуклеопротеидную природу и связаны в своем происхождении с фибриллами. Высокая концентрация РНК является характерным химическим свойством ядрышка.

Ядерный сок заполняет все промежутки между структурами ядра.

В его состав входят различные белки, которые при фиксации осаждаются и могут быть окрашены кислыми красителями.

Препарат №1. Клетки крови лягушки (окраска гематоксилин-эозином).

Большинство клеток крови в мазке представлено эритроцитами. Эритроциты имеют овальную форму, цитоплазма их окрашена в оранжево-красный цвет. Ядро эритроцитов имеет овальную форму и окрашено в сине-фиолетовый цвет. Помимо эритроцитов на препарате можно обнаружить и другие форменные элементы крови. Из лейкоцитов чаще встречаются нейтрофилы и лимфоциты. Нейтрофилы - округлые клетки с 3-4-сегментным ядром, расположены экцентрично. Лимфоциты - более мелкие, чем эритроциты и нейтрофилы, округлые клетки, имеющие интенсивно окрашивающееся округлое ядро, окруженное узким слоем цитоплазмы.

Задание. Зарисовать эритроцит, нейтрофил и лимфоцит. Отметить ядро и цитоплазму [Алмазов И. В., Сутулов Л. С., 1978, с. 128, рис. 151; Елисеев В. Г. и др., 1970, с. 5, рис. 75].

Препарат №2. Точка роста стебля (окраска железным гематоксилином).

Ядро располагается в центре меристематической клетки. Ядро крупное, по форме округлое или слегка вытянутое. В ядре обнаруживается одно или два больших сферических ядрышка. Часто в ядрах растительных клеток выявляется хроматиновая сеть, которая представляет собой скопление плотных интенсивно красящихся нитей, а также глыбки хроматина различного размера.

Задание. Зарисовать 1-2 клетки. Отметить ядро, ядрышко, хромоцентры, цитоплазму.

Препарат №3. Клетки костного мозга мыши (окраска гематоксилин-эозином).

При малом увеличении микроскопа на препарате видны многочисленные клетки костного мозга. Среди них нужно найти мегакариоциты или гигантские клетки костного мозга. Мегакариоциты являются высокополиплоидными клетками. Они немногочисленны, крупнее остальных клеток в 4-5 раз, имеют круглую форму. Цитоплазма в мегакариоцитах окрашена в розовый цвет. Ядра клеток очень крупные. В настоящее время доказано, что в мегакариоците не несколько прилегающих друг к другу ядер, а одно ядро, состоящее из сег-

ментов, образующих кольцо. Во всех сегментах ядра видно множество ядрышек и крупных глыбок хроматина. Ядрышки окрашены в фиолетовый цвет, глыбки хроматина – в более темный фиолетовый цвет.

Задание. Зарисовать мегакариоцит. Отметить ядро и цитоплазму [Алмазов И. В., Сутулов Л. С., 1978, с. 139, рис. 167; Елисеев В. Г. и др., 1970, с. 68, рис. 92; с. 69, рис. 93].

Хромосомы

Хромосомы могут находиться в двух структурно-функциональных состояниях: рабочем (в виде хроматина) и неактивном (в виде конденсированных хромосом). В интерфазе хромосомы деконденсированы и находятся в рабочем состоянии, участвуя в транскрипции и репликации. Во время митоза хромосомы выполняют функцию распределения и переноса генетического материала в дочерние клетки.

Хромосомы лучше всего изучать в метафазе митоза, когда они максимально спирализованы.

В стадии метафазы хромосома представлена двумя морфологически идентичными нитями – хроматидами и имеет палочковидную форму. В определении формы хромосомы большое значение имеет положение первичной (центрической) перетяжки, в которой обе хроматиды тесно соединены. В области первичной перетяжки расположена центромера (кинетохор), которая управляет передвижением хромосом в митозе. Центромера делит тело хромосомы на два плеча. Расположение этого района строго постоянно для каждой хромосомы и определяет три основных типа хромосом:

- I) метацентрические (равноплечие),
- II) субметацентрические (слабо неравноплечие),
- III) акроцентрические (резко неравноплечие).

У некоторых хромосом имеются вторичные перетяжки, которые не обладают кинетическими функциями. Чаще всего вторичная перетяжка расположена вблизи дистального конца хромосомы и отделяет спутник (маленький участок тела хромосомы). Вторичные перетяжки являются зонами образования ядрышка и называются ядрышковыми организаторами. Локализация и длина первичной и вторичной перетяжек в хромосомах строго постоянны.

Районы центромеры и вторичной перетяжки постоянно деспирализованы и активны. Эти участки хромосом плохо окрашиваются,

тогда как гетерохроматиновые районы (около центромер и вторичных перетяжек) находятся в спирализованном состоянии в течение всего клеточного цикла и хорошо видны в интерфазе в виде хромосомных центров.

Концевые участки хромосом называются теломерами.

длина хромосом колеблется от 0,2 до 50 мкм, а диаметр — от 0,2 до 3 мкм.

Различают гаплоидный (одиночный, гаметический) и диплоидный (двойной, зиготический) наборы хромосом. Гаплоидный набор обозначают как "n" (свойствен половым клеткам), диплоидный набор обозначают 2n (свойствен соматическим клеткам). Хромосомы в диплоидном наборе представлены парами соответствующих друг другу гомологичных хромосом.

У полиплоидных организмов выделяют основное число (x) как исходный набор хромосом, который лег в основу при возникновении полиплоидных клеток. Например, у пшеницы имеется вид с диплоидным числом хромосом 14, 28, 42, гаплоидное число соответственно равно 7, 14, 21. Основным числом для этого ряда пшениц является 7. Для определения пloidности общее число хромосом делится на основное число.

Каждому виду организмов свойствен свой кариотип. Кариотип определяется совокупностью признаков, по которым можно идентифицировать хромосомный набор. Число, размер и морфология хромосом являются основными характеристиками кариотипа.

Удобным объектом для изучения функциональной морфологии хромосом служат политенные хромосомы, встречающиеся у ряда растений и беспозвоночных. Формирование этих хромосом связано с функциональной нагрузкой ядер. Хорошо выделяются политенные хромосомы из слюнных желез и других тканей личинок двукрылых (дрозофилы, комара, хирономуса).

Политения обусловлена эндомитотическими редупликациями, а у двукрылых и соматической конъюгацией (гомологичные хромосомы объединяются попарно, поэтому в клетках с политенными хромосомами число хромосом равно гаплоидному). Так, в результате многократной эндоредупликации количество хромосом у хирономуса может быть от 4000 до 32000.

Политенные хромосомы отличаются значительной длиной по сравнению с метафазными хромосомами, поскольку нити ДНК у них нахо-



дятся в сильно деспирализованном состоянии и имеют определенный рисунок, обусловленный расположением темных дисков и светлых междисков. Междиски состоят из более деспирализованных хромомер, чем диски. Диски образованы хромомерами гомологичных участков хромомер, в которых нити ДНК значительно спирализованы. Чаще в отдельном диске локализован отдельный ген, иногда диск связан с несколькими генами. Диски неактивны в отношении синтеза РНК.

Активизация диска сопровождается комплексом структурных и биохимических изменений – деспирализацией хромомер, приводящей к образованию пуфа. Пуф – это вздутие, образуемое отдельным деконденсированным диском и 1–2 междисками и обусловленное активацией синтеза РНК. Они являются временными образованиями на хромосомах. Порядок образования того или иного пуфа строго запрограммирован в самом генотипе. Появление пуфов можно индуцировать различными химическими и температурными воздействиями.

Препарат №1. Набор хромосом вороньего глаза (*Paris quadrifolia* L., сек. *Liliaceae*), окраска ацетогематоксилином по Смирнову.

Картиотип вороньего глаза изучается на давленных постоянных препаратах. В центральной части препарата видны клетки, лежащие монослоем. На периферии препарата оболочки клеток разрушены и отчетливо прослеживаются хромосомы, свободно лежащие в виде метафазных пластинок. Веретено деления отсутствует вследствие обработки материала колхицином. Все хромосомы набора, несмотря на ряд наложений, видны отчетливо.

Вороний глаз имеет наиболее крупные по размеру хромосомы среди растений умеренной климатической зоны. Длина их варьирует от 10 до 30 мкм (рис. 2, 3).

P. quadrifolia представлен в природных популяциях в виде трех хромосомных полиплоидных рас /триплоидной – $3x=15$, тетраплоидной – $4x=20$, гексаплоидной – $6x=30$ /. Картиотипы всех рас легко идентифицируются при визуальном сравнении. Можно выделить пять групп гомологов в пределах каждой полиплоидной расы:

1. Самые крупные в наборе метацентрические хромосомы.
2. Значительно меньшие по длине хромосомы субметацентрического типа.

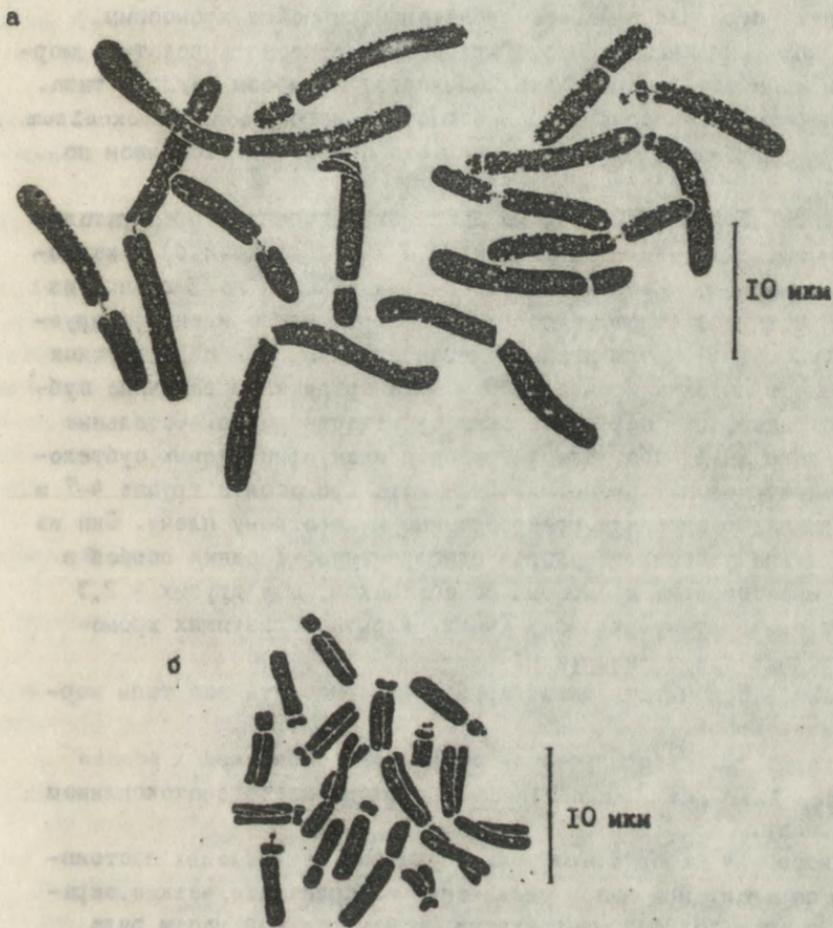


Рис. 2 Метафазные пластинки растений:

а - *Paris quadrifolia* L. ($3x=15$);

б - *Aconitum excelsum* Reichb. ($2n=16$).

Увел. 15 x 90

3. Субтелоцентрические хромосомы, не отличающиеся по длине от предыдущего типа.

4. Акроцентрические хромосомы, на коротком плече которых виден маленький спутник.

5. Самые короткие в наборе субметацентрические хромосомы.

Задание. Подсчитать число хромосом. Зарисовать все типы морфологии хромосом и определить количество хромосом каждого типа.

Препарат №2. Набор хромосом борца высокого (*Aconitum excelsum* Reichb., сем. *Ranunculaceae*), окраска ацетогематоксилином по Смирнову.

Кариотип борца изучается на давленных постоянных препаратах.

A. excelsum является диплоидом с $2n=16$ (рис. 2, б). В кариотипе *A. excelsum* все хромосомы подразделяются на 5 групп, из которых четыре соответствуют четырем парам четко идентифицируемых хромосом: 1 - пара крупных метацентриков, 2 - пара крупных субметацентрических хромосом, 3 - пара средних по величине субметацентриков, 4 - пара маленьких субметацентриков. Остальные четыре пары (4-7) составляют группу неидентифицируемых субтело-субметацентрических хромосом. Одна пара хромосом в группе 4-7 и 8-я пара имеют спутники, прикрепленные к короткому плечу. Они не всегда видны у своих гомологов одновременно. У одних особей в наборе имеется одна хромосома со спутником, а у других - 2, 3 или 4, т.е. по этому признаку (числу ядрышкообразующих хромосом) наблюдается полиморфизм.

Задание. Подсчитать число хромосом, зарисовать все типы морфологии хромосом.

Препарат №3. Набор хромосом стародубки сибирской (*Adonis sibiricus* Patr., сем. *Ranunculaceae*), окраска ацетогематоксилином по Смирнову.

Хромосомный набор стародубки изучается на давленных постоянных препаратах. При малом увеличении на препарате четкие, окрашенные в серо-голубой цвет, клетки. В центральной части ряда клеток выявляются темно-синие палочковидные структуры, представляющие хромосомы.

A. sibiricus имеет крупные, удобные для изучения хромосомы (рис. 3, а). Основной набор включает 16 хромосом, которые подразделяются на две группы: 8 метацентрических и 8 субметацентрических. Две пары субметацентрических хромосом являются спут-

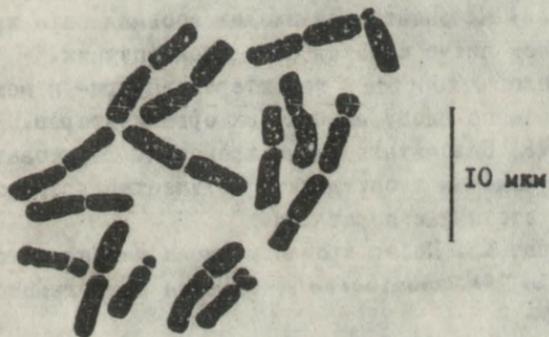


Рис. 3. Метафазные пластинки растений:
а - *Adonis sibiricus* Patr. ($2n=16$);
б - *Cimicifuga foetida* L. ($2n=16$).

Увел. 15 x 90

ничными. Количество спутников варьирует от 0 до 4, преимущественно отмечается 3-4 достаточно крупных спутника. В естественных популяциях вида выявлены структурные перестройки.

Задание. Подсчитать число хромосом; зарисовать все типы морфологии хромосом и определить количество хромосом каждого вида. Особое внимание уделить морфологии спутничных хромосом, определить количество спутников.

Препарат №4. Набор хромосом цимицифуги обыкновенной (*Cimicifuga foetida* L., сем. Ranunculaceae), окраска ацетогематоксилином по Смирнову.

Кариотип цимицифуги изучается на давленных постоянных препаратах. Данный вид - диплоид, с $2n=16$ (рис. 36). Все хромосомы цимицифуги подразделяются по центромерному индексу на три группы: метацентрики, субметацентрики и акроцентрики. Метацентрические хромосомы образуют группу неидентифицируемых хромосом, состоящую из пяти пар. Это наиболее крупные хромосомы набора. На одной из хромосом этой группы имеется вторичная перетяжка на дистальном конце плеча. В группу субметацентриков входят две пары хромосом, которые различаются по длине. На дистальном конце длинного плеча хромосом седьмой пары имеется вторичная перетяжка.

В группу акроцентриков входит восьмая пара хромосом, у которых на коротком плече имеется небольшой спутник.

Для вида *C. foetida* характерен внутри- и межпопуляционный полиморфизм по числу ядрышковых организаторов.

Задание. Подсчитать число хромосом. Зарисовать все типы морфологии хромосом и определить количество хромосом каждого типа. Отметить вторичные перетяжки.

Препарат №5. Набор хромосом пиона уклоняющегося (*Paeonia anomala* L., сем. Paeoniaceae), окраска ацетогематоксилином по Смирнову.

P. anomala - диплоид, имеющий 10 достаточно крупных (8-12 мкм длиной) хромосом (рис. 4а). Основной набор вида включает пять пар четко идентифицируемых хромосом. Две пары хромосом являются крупными метацентриками, две другие - субметацентрики, несколько меньшие по длине. Пятая пара представлена субтелоцентрическими хромосомами, на коротких плечах которых располагаются крупные спутники. У субметацентриков на коротких плечах также выявляются спутники, но небольшого размера.

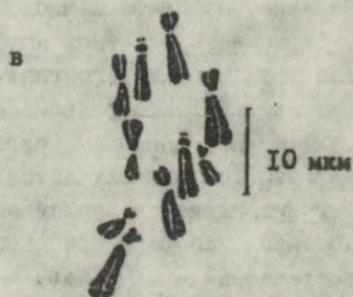
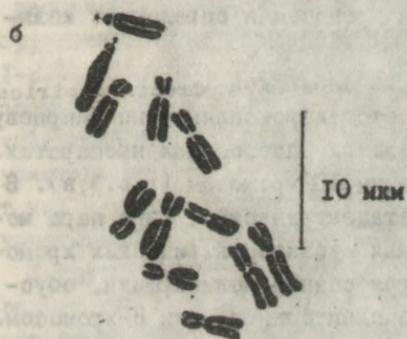
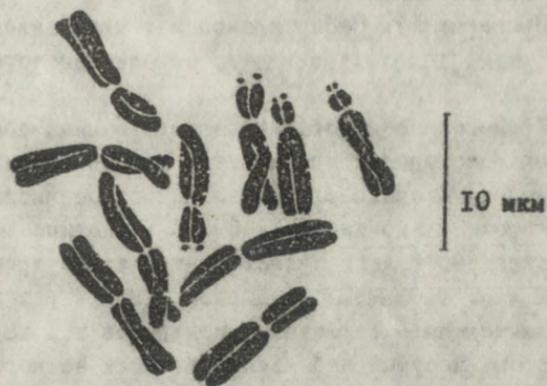


Рис. 4 Метафазные пластинки растений:

а - *Paeonia anomala* L. ($2n=10$);

б - *Plantago media* L. ($2n=12$);

в - *Crepis sibirica* L. ($2n=10$).

Увел. 15 x 90

Задание. Подсчитать число хромосом. Зарисовать все типы морфологии хромосом и определить количество хромосом каждого типа. Отметить спутники.

Препарат №6. Набор хромосом у трех видов подорожника (*Plantago* L., сем. *Plantaginaceae*), окраска ацетогематоксилином по Смирнову.

Хромосомные наборы видов подорожника обычно изучаются на давленных постоянных препаратах. Хромосомы видов рода *Plantago* не крупные, в среднем 2-6 мкм. Основное число хромосом для видов этого рода равно шести ($x=6$). В кариотипе *P. major* ($2n=12$) представлены только субметацентрические хромосомы, длиной не более 2 мкм. *P. media* - диплоид ($2n=12$), в кариотипе которого выявляются пять пар субметацентриков и I пара акроцентрических хромосом, несущих небольшие спутники на коротком плече (рис. 4, б). Хромосомный набор *P. lanceolata* ($2n=12$) состоит из четырех пар метацентрических хромосом, одной пары субтелоцентрических хромосом и одной пары акроцентрических хромосом со спутниками. Наиболее крупные в хромосомном наборе - метацентрические хромосомы, а самые мелкие - акроцентрические хромосомы.

Задание. Подсчитать число хромосом у одного из описанных видов. Зарисовать все типы морфологии хромосом и определить количество хромосом каждого типа.

Препарат №7. Набор хромосом скерды сибирской (*Crepis sibirica* L., сем. *Asteraceae*), окраска ацетогематоксилином по Смирнову.

Кариоти: скерды изучается на давленных постоянных препаратах. Данный вид является диплоидом, имеющим 10 хромосом (рис. 4, в). В хромосомном наборе - три пары субметацентрических, одна пара метацентрических и одна пара спутничных субacroцентрических хромосом. Для данного вида характерен хромосомный полиморфизм, обусловленный наличием анеуплоидии и дополнительных, или В-хромосом. Анеуплоидия может быть вызвана любой из десяти хромосом основного набора. Особенностью В-хромосом является то, что они присутствуют не у всех растений вида. Частота встречаемости растений с В-хромосомами в популяциях колеблется от 4,8 до 30%. Число В-хромосом у растений в пределах 1-4, причем в одной метафазной пластинке могут быть В-хромосомы разных типов (метацентрические, субметацентрические и телоцентрические).

Задание. Подсчитать число хромосом. Зарисовать их морфологии,

выделяя дополнительные хромосомы, определить количество хромосом каждого типа.

Препарат №8. Набор хромосом человека (окраска азур-эозином или ацетоорсеином).

Картиотип человека легко изучать в клетках культуры лейкоцитов. В поле зрения микроскопа видны изолированные ядра клеток, разрушенных в результате гипотонической обработки материала. Отчетливо прослеживаются скопления хромосом — метафазные пластинки, не ограниченные оболочкой клетки. дочерние хромосомы соединены в области центромеры и имеют форму буквы X. Диплоидное число хромосом в клетках человека равно 46 (рис. 5). 22 пары являются аутосомами, а одна оставшаяся — половыми хромосомами. У женщины половые хромосомы представлены двумя крупными субметацентрическими хромосомами (XX). У мужчин половые хромосомы непарные, гетероморфные и объединяют субметацентрическую X и акроцентрическую Y хромосомы.

Картиотип человека представлен хромосомами трех типов, различающихся по размерам. Обычно при идентификации хромосомы набора располагают в порядке уменьшения их длины. Все пары аутосом, выстроенные в таком порядке, нумеруют арабскими цифрами от I до 22 и распределяют на 7 групп, различающихся между собой длиной и морфологическими особенностями (I-3, 4-5, 6-12, 13-15, 16-18, 19-20, 21-22). Группа I-3 включает самые крупные метацентрические хромосомы, а 19-20 — мелкие метацентрики. Группа 4-5 — длинные субметацентрические хромосомы. Группа 6-12 объединяет семь пар субметацентрических аутосом среднего размера и не отличающуюся от них X-хромосому. В группу 16-18 включены три пары маленьких субметацентриков.

В группу 13-15 входят три пары акроцентрических хромосом средних размеров, а 21-22 — самых мелких акроцентриков. Y-хромосома выделяется как самостоятельная. Перечисленные выше пять пар акроцентрических аутосом имеют спутники.

Для удобства идентификации пар хромосом следует точно зарисовать с помощью рисовального аппарата картиотип, затем вырезать хромосомы и, подбирая одинаковые пары, наклеить их на плотной бумаге.

Задание. Подсчитать число хромосом. Осуществить идентификацию всех хромосом, используя рекомендации, указанные выше.

Препарат №9. Набор хромосом обыкновенной бурузубки (Sorex



Рис. 5. Нормальный хромосомный набор мужчины (46,XY); раскладка хромосом

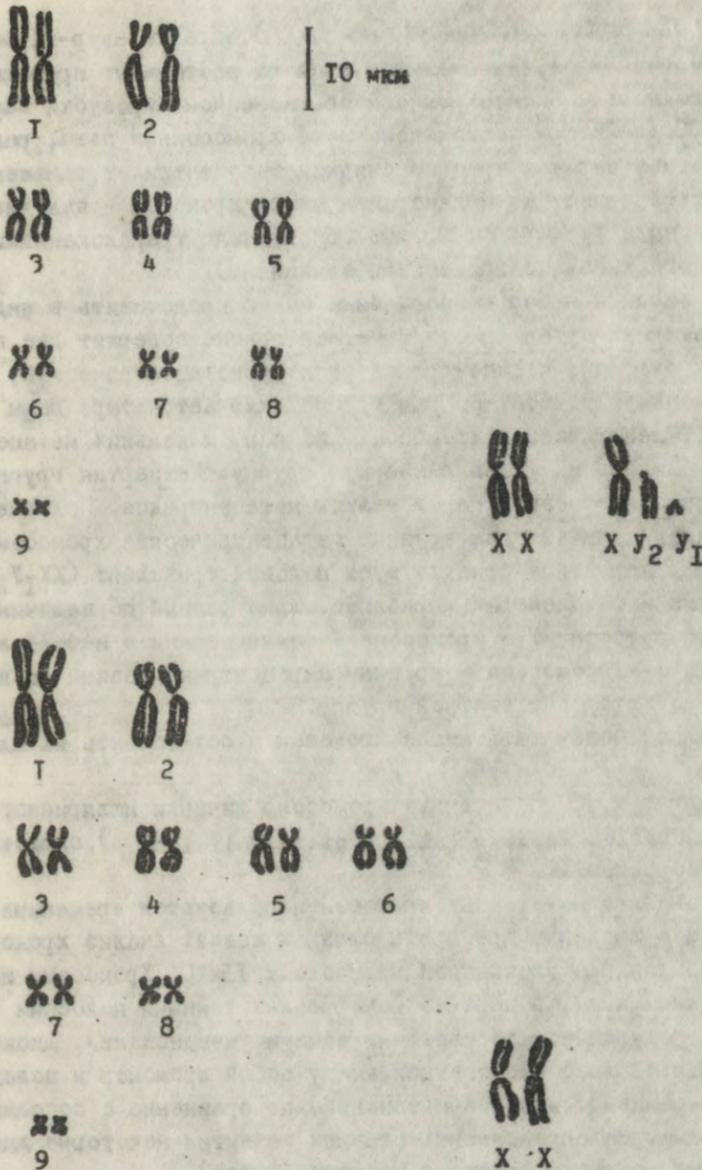


Рис.6. Размерные группы хромосомного набора
обыкновенной бурсозубки (*Sorex araneus* L.)

aganeus L., *Scoricidae*, *Insectivora*), окраска азур-II-эозином.

Кариотип бурозубки анализируется на постоянных препаратах костного мозга. Число хромосом обыкновенной бурозубки варьирует от 20 до 26 при постоянном числе хромосомных плеч, равном 40. Чем сильнее выражен процесс слияния телоцентриков, тем меньше количество хромосом. Полиморфизм числа хромосом - явление типичное для вида *S. aganeus*, что обусловлено транслокациями Робертсоновского типа (центрическими слияниями).

Хромосомный набор данного вида можно представить в виде четырех размерных групп (рис.6). Первая группа содержит две пары крупных аутосом: метацентрическую и субметацентрическую, по размерам меньшую первой. Вторая группа включает четыре пары мета- и субметацентрических хромосом. Две пары маленьких метацентриков объединены в третью размерную группу. Четвертая группа представлена единственной парой мелких метацентриков. Половые хромосомы самки включают две крупные метацентрические хромосомы (XX). У самца в кариотипе присутствует половой тривалент (XU_1U_2). X - хромосома - метацентрик, приблизительно равный по величине второй паре аутосом; U_1 - хромосома - самый мелкий в наборе акроцентрик; U_2 - хромосома - крупный акроцентрик, равный по величине хромосомам второй размерной группы.

Задание. Подсчитать число хромосом и осуществить их идентификацию.

Препарат № 10. Политенные хромосомы личинки малярийного комара (*Anopheles messeae* Fall., *Diptera*, *Culicidae*), окраска лакто-ацетоорзеином.

Для анализа политенных хромосом используются временные или постоянные давленные препараты слюнных желез. Анализ хромосом производится при увеличении микроскопа 15x40. Хромосомы имеют вид длинных лент, поперечно исчерченных темными полосами (дисками), чередующимися со светлыми зонами (междисками). Диски состоят из продольно соединенных между собой хромомер и вследствие этого окрашиваются более интенсивно по сравнению с соседними междисками. На определенных стадиях развития некоторые диски имеют вид рыхлых и набухших вздутий (пуфов).

В клетках слюнных желез комара выделяются 3 политенные хромосомы, в которых гомологи находятся в спаренном состоянии (рис.7). Две хромосомы - II и III - имеют по два плеча (правые II и

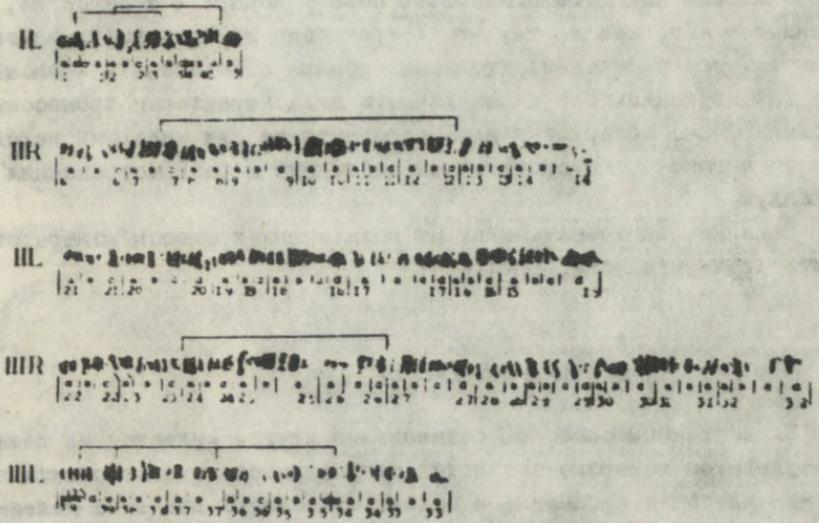


Рис.7. Карта хромосом *Apopheles messeae*

и IIIA, и левые III и IIIA), а у одной, представляющей собой X-хромосому, присутствует лишь одно плечо II. У мужского пола, в отличие от женского, II в два раза тоньше. Такая ситуация обусловлена как гетерогамностью пола у комара (у самок XX, у самцов - XY), так и тем, что Y-хромосома на препаратах не выявляется. Все политенные хромосомы комара объединены в хромоцентре.

Для изученных популяций данного вида характерен хромосомный полиморфизм: обнаружено пять парацентрических инверсий, находящихся в гомо- и гетерозиготном состоянии и распространенных по ареалу.

Задание. Зарисовать одну из политенных хромосом комара, отметить диски, междиски, пучки.

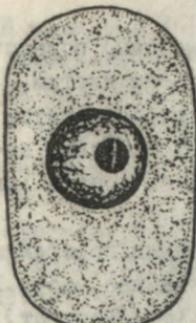
Деление клетки

Единственным способом размножения клеток является их деление, результатом которого создается непрерывность существования поколений клеток и организма в целом. Существуют два типа деления - прямое (амитоз) и непрямое (митоз).

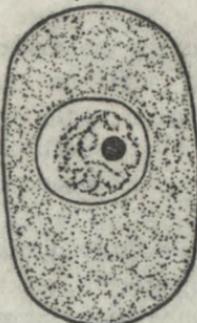
Митоз является наиболее распространенным способом деления эукариотических клеток. Биологический смысл митоза состоит в равномерном распределении генетического материала между дочерними клетками. Митотическое деление состоит из четырех стадий: профазы, метафазы, анафазы и телофазы (рис. 8).

На стадии профазы происходит реорганизация ядра и формирование митотического аппарата. В этот период спирализуются и укорачиваются хромосомы, что позволяет видеть их в световой микроскоп. У животных и низших растений в процессе деления принимает участие клеточный центр: центриоли в профазе реплицируются и расходятся к противоположным полюсам. Формируется веретено деления. Ядрышки уменьшаются в размерах и исчезают. В поздней профазе ядерная оболочка разрушена.

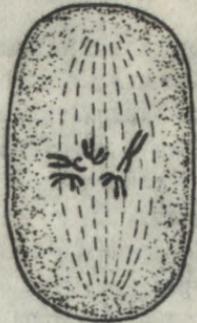
На стадии метафазы происходит перемещение хромосом на экватор клетки. К кинетохорам хромосом прикрепляются нити веретена. В хромосомах начинают разъединяться хроматиды, которые остаются связанными только в области центромера. На этой стадии хромосомы достигают максимальной конденсации.



интерфаза



профаза



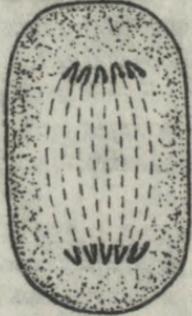
ранняя
метафаза



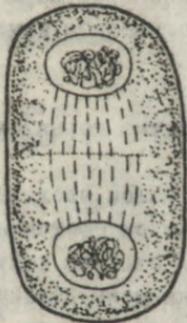
метафаза



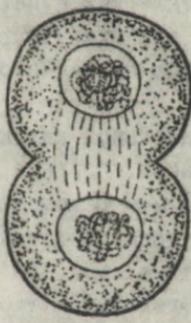
анафаза



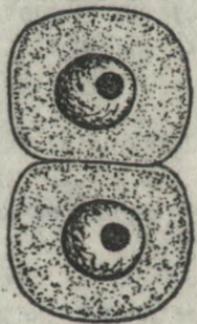
телофаза



цитокinesis
растительной
клетки



цитокinesis
животной
клетки



дочерние
клетки

Рис. 8. Схема митоза

На стадии анафазы хроматиды (сестринские хромосомы) полностью разъединяются и расходятся к противоположным полюсам клетки.

На стадии телофазы хромосомы деспирализируются, формируются ядрышки и восстанавливается ядерная оболочка. Митотический аппарат разрушается и происходит процесс деления тела клетки (цитокinesis).

Цитокinesis у животных происходит путем образования перетяжки, которая, углубляясь к центру клетки, делит клетку на две части. У растений в центре клетки образуется перегородка (фрагмопласт), которая растет к периферии клетки и делит её.

Одним из вариантов митоза является эндомитоз. При эндомитозе сохраняется репродукция ДНК, но выпадают некоторые стадии митоза. В результате происходит увеличение числа хромосом при сохранившейся ядерной оболочке и отсутствии цитокinesis. Эндомитоз способствует появлению полиплоидных клеток, либо репродукции неразъединившихся хромосом, что приводит к образованию полиплоидных хромосом.

Амитоз - это деление клетки без формирования митотического аппарата хромосом. Образующиеся в результате амитоза дочерние клетки могут быть неравной величины и содержат различное количество генетического материала. Амитоз характерен для некоторых типов клеток (например, у животных выявляется в клетках мочевого пузыря, у растений - в клетках нуцеллуса, эндосперма, паренхимы клубней и т.д.) или же происходит при патологическом изменении клеток, обычно делящихся путем митоза.

Препарат №1. Митоз растительной клетки (меристема корня) окраска железным гематоксилином.

Препарат сначала необходимо рассмотреть при малом увеличении микроскопа. Самый кончик корня представлен чехликом, состоящим из отмирающих сдвигающихся клеток, за чехликом следует конус нарастания корня или зона деления клеток. Клетки зоны деления имеют прямоугольную форму. Затем следует зона роста (растяжения), состоящая из дифференцированных вытянутых по форме клеток. Митоз изучают в клетках зоны деления, где имеется много делящихся клеток.

На большом увеличении следует детально рассмотреть интерфазные и делящиеся клетки.

В интерфазе ядра имеют округлую или овальную форму, в них хорошо заметно одно или два крупных круглых ядрышка. Хромосомы в это время сильно деспирализованы и не выявляются при помощи окраски.

В профазе ядро увеличивается в размерах, в нем выявляются хромосомы в виде тонких нитей. Хромосомы усложненно спирализуются и уже в конце профазы выглядят как короткие толстые нити. В конце профазы ядерная оболочка и ядрышко исчезают.

В метафазе хромосомы достигают максимальной спирализации и перемещаются на экватор клетки, располагаясь в одной плоскости. В клетке уже образовалось митотическое (ахроматиновое) веретено, состоящее из опорных и тянущих нитей. Опорные нити тянутся от одного полюса к другому, а тянущие нити связывают центромеры хромосом с полюсами. На препаратах, окрашенных гематоксилином, нити митотического веретена не всегда видны, так как гематоксин является ядерным красителем. Митотический аппарат у растений формируется без участия клеточного центра. Каждая хромосома состоит из двух хроматид, соединенных в области центромеры. Хромосомы располагаются перпендикулярно нитям митотического веретена и на равном расстоянии от полюсов.

Анафаза начинается с деления центромер. После разделения центромеры каждая хроматида приобретает функции самостоятельной хромосомы. Сестринские хромосомы расходятся к разным полюсам. В анафазе происходит точное распределение генетического материала и на каждом полюсе число хромосом равно числу хромосом исходной клетки до деления.

В телофазе хромосомы начинают деспирализоваться, при этом контуры их теряют четкую очерченность. Разрушается митотическое веретено, восстанавливается ядерная оболочка и появляются ядрышки. Уже в поздней анафазе начинает образовываться клеточная стенка, которая растет от центра клетки к периферии и делит её на две дочерние клетки.

Задание. Зарисовать клетки в интерфазе, профазе, метафазе, анафазе, телофазе. Отметить на соответствующих рисунках ядро, ядрышко, хромосомы, митотическое веретено [Алмазов И. В., Сутулов Л. С., 1978, с. 33, рис. 39].

Препарат №2. Центросомы и ахроматиновое веретено митоза (яйцеклетки лошадиной аскариды), окраска железным гематоксилином.

На препарате при малом увеличении видно большое число яйцекле-

ток, находящихся на разных стадиях развития. Яйцеклетки окружены толстой гомогенной оболочкой с более темно окрашенным наружным контуром. Оболочка отделяется от дробящейся яйцеклетки светлой полосой.

В цитоплазме неделящейся яйцеклетки видно округлое ядро с ядрышком. Около ядра расположен клеточный центр, состоящий из центриолей, от которых отходят лучи в виде темных нитей (центросферы). Отдельные лучи иногда не выявляются, в этом случае центросфера выглядит как более темное пятно вокруг центриолей.

В профазе митоза становятся видными хромосомы ($2n=2$ или $2n=4$, в зависимости от вида) в виде длинных изогнутых палочек, ядрышко растворяется. Центриоли начинают расходиться и лежат на некотором расстоянии друг от друга, между ними протягивается нить ахроматинового веретена. В поздней профазе ядерная оболочка уже разрушена, центриоли располагаются почти у полюсов клетки, формируя веретено деления.

В метафазе хорошо выделяется митотический аппарат, который окрашивается более интенсивно, чем цитоплазма. Митотический аппарат состоит из нитей, идущих от полюса к полюсу и образующих ахроматиновое веретено, и из коротких тонких нитей, отходящих от центриолей к периферии и образующих лучистое сияние вокруг центриолей. Часть нитей митотического веретена прикрепляется к центромерам (кинетохорам), которые лежат в одной плоскости. Остальные нити веретена идут через всю клетку от полюса к полюсу. Если посмотреть на метафазную клетку со стороны полюса, то видно, что хромосомы располагаются по экватору веретена определенным образом — концы их направлены к периферии клетки, а центромеры к центру. Такое расположение хромосом носит название "материнской звезды" и характерно для клеток животных. Каждая хромосома состоит из двух хроматид (сестринских хромосом), соединенных в области центромеры.

В анафазе сестринские хромосомы расходятся к противоположным полюсам клетки, причем хромосомы сначала поворачиваются концами к экватору веретена, а затем движутся к полюсам. Яйцеклетка, слегка вытянута в направлении полюсов. В конце анафазы появляется перетяжка в цитоплазме, которая постепенно углубляется и делит клетку в телофазе на две части.

В телофазе происходит деспирализация хромосом, образуется ядер-

ная оболочка и формируется ядрышко. В поздней телофазе перетяжка настолько глубокая, что образуются две дочерние клетки. В этой стадии происходит разрушение митотического аппарата.

Задание. Зарисовать яйцеклетку на стадии метафазы. Отметить оболочку яйцеклетки, хромосомы, центриоли, центросферу, ахроматиновое веретено [Алмазов И. В., Сутулов Л. С., 1978, с. 27, рис. 28; Елисеев В. Г. и др., 1970, с. 19-20, рис. 20-22].

Препарат №3. Митоз животной клетки (краевая зона печени аксолотля), окраска железным гематоксилином.

Задание. Зарисовать клетки в интерфазе, профазе, метафазе, анафазе, телофазе. Отметить на соответствующих рисунках ядро и хромосомы [Алмазов И. В., Сутулов Л. С., 1978, с. 35, рис. 41].

Препарат №4. Амитоз (эпителий мочевого пузыря мыши), окраска железным гематоксилином.

Среди эпителиальных клеток наблюдается большое количество делящихся. В самом начале деления ядро удлиняется и начинает перешнуровываться. Встречаются как одноядерные клетки, так и с двумя ядрами, которые или близко расположены друг другу, или уже отошли на некоторое расстояние. Когда ядра отделены друг от друга, появляется перетяжка, которая делит клетку на две части.

Задание. Зарисовать клетку с перешнуровавшимися ядрами и клетку с двумя ядрами [Алмазов И. В., Сутулов Л. С., 1978, с. 44, рис. 54; Елисеев В. Г. и др., 1970, с. 37, рис. 45].

Мейоз

Развитие всех организмов, размножающихся половым путем, начинается со слияния мужской и женской половых клеток. Перед образованием половых клеток (гамет) происходит мейоз, в результате которого число хромосом в половых клетках становится гаплоидным - уменьшается вдвое ($1n$). Зигота, образующаяся при оплодотворении, содержит диплоидный набор хромосом ($2n$).

Мейоз состоит из двух делений. Первое деление - редукционное (гетеротипное), второе - эквационное (гомеотипное). Оба эти деления имеют одинаковые фазы: профазу, метафазу, анафазу и телофазу. В ходе I деления происходит редукция числа хромосом, II деление почти не отличается от митоза, но имеет некоторые особенности.

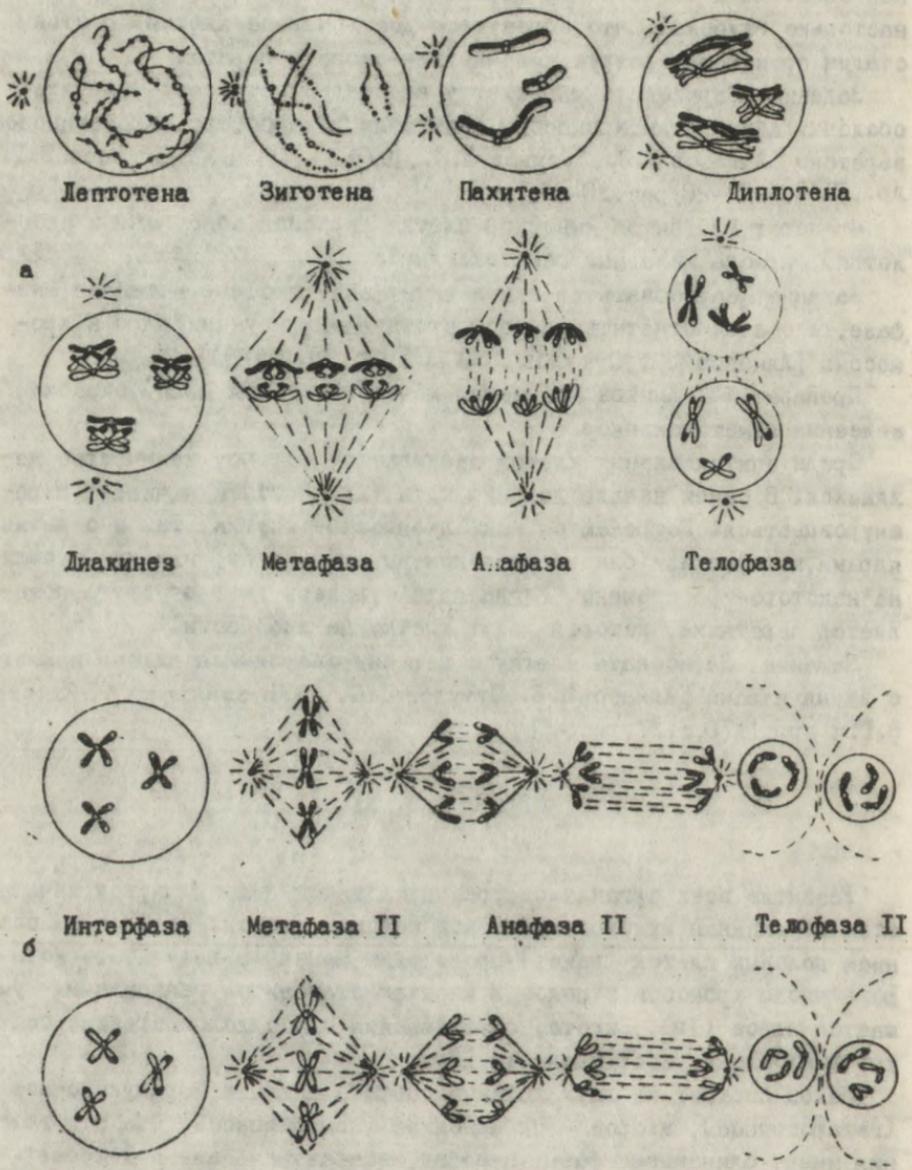


Рис.9. Схема мейоза (по Харндену):
а - первое деление; б - второе деление

В профазе I выделяют несколько стадий: пролептотену, лептотену, зиготену, пахитену, диплотену, диакинез (рис. 9а).

В пролептотене в бесцветном ядре выделяется крупное ядрышко, около которого в виде сгустков располагаются хромосомы. Хромосомы в этой стадии очень тонкие, их различают с большим трудом.

В лептотене хорошо видны тонкие длинные хромосомы, для которых характерно большое количество утолщений — хромомеров. Число хромосомных нитей равно диплоидному ($2n$). Хромосомы приобретают определенную ориентировку — теломерные концы связаны с ядерной оболочкой и направлены в сторону центриоли, а прицентромерные области — внутрь ядра. Такое поляризованное расположение хромосомных нитей у животных носит название букета. Для растений характерен синезис, то есть объединение хромосом в клубок.

В зиготене гомологичные хромосомы устанавливаются друг против друга, осуществляется конъюгация (синапсис) хромосом. Конъюгация происходит не сразу между целыми хромосомами, а последовательно между отдельными, строго гомологичными участками, прежде всего это центромерные и теломерные районы. В результате конъюгации образуются пары хромосом или биваленты. Каждая хромосома в биваленте состоит из двух хроматид.

Конъюгация гомологичных хромосом обеспечивается синаптонемальным комплексом, который создает условия для кроссинговера и редукции числа хромосом. При нарушении синаптонемального комплекса конъюгация не происходит, что приводит к нарушениям в мейозе.

В пахитене заканчивается конъюгация хромосом. Отмечается сильное укорачивание хромосом в бивалентах в результате усиления спирализации. В эту стадию происходит кроссинговер (перекрест). Цитологически перекрест хроматид обнаруживается по наличию хиазм (точек перекреста). Хиазмы в биваленте может быть одна или несколько. В районах хиазмы возникают разрывы в двух хроматидах, принадлежащих разным гомологичным хромосомам. После разрыва происходит взаимный обмен идентичными участками по длине гомологичных хромосом. Генетическим следствием кроссинговера является рекомбинация сцепленных генов.

В диплотене происходит отталкивание гомологов друг от друга, которое начинается в центре центромеры (синаптонемальный комплекс в этом районе хромосомы разрушается). В бивалентах хорошо заметны хиазмы, которые располагаются близко к теломерным концам гомо-

логов. На этой стадии хромосомы приобретают вид "ламповых щеток". Хромосомы типа "ламповых щеток" активно синтезируют РНК, используемую в синтезе белка, который необходим для данных стадий развития зародыша.

В диакинезе биваленты значительно укорачиваются и утолщаются. При этом продолжается процесс терминализации, т.е. перемещения хиазм от центромеры к концам хромосом. Биваленты располагаются около периферии ядра. Начинают исчезать ядерная оболочка и ядрышко.

В метафазе I образуется веретено деления. Биваленты выстраиваются на экваторе таким образом, что центромеры гомологичных хромосом обращены к противоположным полюсам.

В анафазе I хиазмы исчезают и каждый бивалент распадается на две хромосомы, которые расходятся к полюсам. Центромеры не делятся, поэтому каждая хромосома состоит из двух сестринских хроматид. Генный состав хромосом существенно отличается от исходного, благодаря процессу кроссинговера.

В телофазе I хромосомы располагаются на полюсах, формируется ядерная оболочка. Хромосомы не деспирализуются, поэтому типичное интерфазное ядро не образуется. Происходит образование клеточной перегородки между двумя дочерними клетками, которые содержат в два раза меньше хромосом, чем исходная клетка.

Наступает короткая интерфаза, в которой не происходит синтеза ДНК, и клетки вступают во второе деление (рис. 9, б).

Профаза II может быть очень короткой. В метафазе II хромосомы, состоящие из парных сестринских хроматид, связанных в центромерных участках, выстраиваются в экваториальной плоскости веретена. Центромеры делятся, и в анафазе II к полюсам расходятся хроматиды. На каждом полюсе клетки оказывается гаплоидное число хромосом. В телофазе II формируются ядра, ядрышки, происходит цитокинез. В результате двух делений мейоза из одной клетки с диплоидным набором хромосом образуются четыре клетки с гаплоидным набором.

Препар. г. Мейоз у растений (на примере пыльников кукурузы, вороньего глаза, гороха и других), окраска ацетоорсеином, ацетокармином или железным гематооксилином.

На ранних стадиях развития меристематические клетки, образу-

щие пыльник, не отличаются друг от друга по внешнему виду. Затем образуются крупные клетки—первичные клетки археспория, которые делятся и дают начало париетальным и вторичным клеткам археспория (материнским клеткам пыльцы). Париетальные клетки и клетки эпидермиса образуют стенки пыльника. К эпидермису примыкает фиброзный слой (эндотелий), в котором образуются разнообразные утолщения, способствующие раскрытию гнезд пыльника, когда созревает пыльца. Археспорий окружен клетками выстилающего слоя или тапетума. Тапетум представлен вытянутыми клетками с густым содержимым, в которых наблюдается несколько ядер.

Материнские клетки пыльцы (МКП) на ранних стадиях развития плотно примыкают друг к другу, по форме они часто многоугольные. С увеличением размеров клеток, ядер и ядрышек МКП обособляются друг от друга, становятся округлыми и свободно располагаются в полости пыльника. Для МКП характерны диплоидные ядра с большими ядрышками. В одном и том же пыльнике мейоз протекает либо синхронно, и тогда все МКП находятся в одной фазе деления, либо асинхронно, и тогда в одном и том же пыльнике наблюдаются разные фазы деления. Асинхронность протекания мейоза в пыльнике особенно хорошо выражена у растений, имеющих соцветия.

В результате мейоза, происходящего в МКП, образуется тетрада микроспор, содержащая гаплоидное число хромосом. Тетрады микроспор у однодольных растений расположены в одной плоскости (изобилатеральный тип расположения тетрад). У двудольных растений клетки тетрад расположены в разных плоскостях (тетраэдрический тип расположения тетрад). После разрушения оболочки тетрады вокруг каждой микроспоры дифференцируется собственная оболочка и микроспора превращается в одноядерное пыльцевое зерно, которое увеличивается в размерах и делится митозом. Образуется двухклеточное пыльцевое зерно, содержащее вегетативную и генеративную клетки. Вегетативная клетка крупная, по форме соответствует форме пылинки, ядро в ней округлое или овальное, бедное хроматином, слабо красящееся, с 1-2 ядрышками. Генеративная клетка имеет небольшие размеры, линзообразную форму. Ядро генеративной клетки небольшое по размерам, богатое хроматином, хорошо окрашивающееся, с небольшим ядрышком. Генеративная клетка делится митозом, в результате которого образуются два спермия (мужские гаметы). У большинства растений деление генеративной клетки происходит лишь при прорастании пыльцево-

го зерна.

Задание. Зарисовать строение пыльника, все стадии профазы I, метафазу I и II, анафазу I и II, телофазу I и II, тетраду микроспор, одноядерное пыльцевое зерно, двухклеточное и трехклеточное пыльцевые зерна.

Хлоропласты, митохондрии и аппарат Гольджи

П л а с т и д ы встречаются у высших растений, низших водорослей и у некоторых одноклеточных организмов. Пластиды характеризуются наличием пигментов, обуславливающих их окраску, а также способностью синтезировать и накапливать запасные вещества. Наиболее распространены из пластид хлоропласты, участвующие в процессе фотосинтеза.

Форма, размеры и число хлоропластов варьируют в клетках разных видов растений. Обычно они имеют эллипсоидную форму. Хлоропласты ограничены двумя мембранами (наружной и внутренней). Строма (матрикс) хлоропластов бесцветна, в ней содержатся нуклеиновые кислоты (ДНК и РНК), рибосомы, зерна первичного (ассимиляционного) крахмала и осмиофильные глобулы. В строму погружены тилакоиды; представляющие собой выпячивания внутренней мембраны. Тилакоиды могут свободно располагаться в строме (тилакоиды стромы) или группироваться в граны (тилакоиды гран). Количество тилакоидов в гране может быть более 50, среднее количество гран в хлоропласте варьирует в пределах от 40 до 60.

В процессе фотосинтеза различают две фазы: световую и темновую. В световую фазу происходит поглощение энергии солнечного света хлорофиллами и превращение её в химическую энергию. Эта фаза протекает в тилакоидах, где локализируются светочувствительные пигменты, ферменты переноса электронов и сопряженного с ним фотофосфорилирования. Фаза завершается синтезом АТФ и восстановлением кофермента НАДФ·Н (фотофосфорилированием). Темновая фаза протекает в строме. В результате синтезируются органические вещества (происходит восстановление CO_2 и соединение его с водородом, приводящее к образованию углеводов). Процесс протекает благодаря наличию АТФ и НАДФ·Н, синтезированных в предыдущей фазе. Синтезируемая глюкоза поступает в цитоплазму

или сохраняется в строле в виде полимера (крахмала).

Митохондрии — обязательные органосиды эукариотической клетки. Прежде чаще пользовались термином „хондриосомы“, теперь широкое распространение получил термин митохондрии. Они имеют особое значение в жизни клетки, т.к. участвуют в выработке АТФ—макроэргического соединения, необходимого для осуществления процессов жизнедеятельности клетки. Форма, размеры, число и локализация митохондрий варьируют в клетках разного типа и зависят от их функционального состояния. Увеличение функциональной нагрузки на клетку приводит к увеличению числа митохондрий и их размеров. Чаще всего митохондрии имеют вид гранул или нитей и локализуются в тех участках клетки, где протекают активные процессы, нуждающиеся в энергии.

Митохондрии имеют сложную структуру: две мембраны (наружную и внутреннюю), межмембранное пространство и матрикс. Внутренняя мембрана образует складки, которые называются кристами. Кристы не образуют изолированные отсеки в матриксе, поскольку они не соприкасаются с противоположной стороной внутренней мембраны. Поверхность внутренней мембраны покрыта грибовидными тельцами (АТФ-сомами), прикрепленными с помощью ножки к мембране митохондрий. Грибовидные тельца в большом количестве содержат фермент АТФ-азу, участвующую в сопряжении окисления и фосфорилирования. Матрикс чаще всего выглядит гомогенным. В нем обнаружены ДНК, РНК, рибосомы, аминокислоты, ферменты (особенно ферменты окисления жирных кислот и цикла трикарбоновых кислот). Число, размеры, форма крист и структура матрикса зависят от функционального состояния клетки и от внешних воздействий на неё.

Митохондрии и пластиды имеют много общего в строении и функционировании. Это биохимические машины, осуществляющие преобразование энергии — у митохондрий за счет окислительного фосфорилирования, у хлоропластов — фотофосфорилирования. Основные различия между процессами окислительного фосфорилирования и фотофосфорилирования заключаются в следующем: окислительное фосфорилирование не зависит от наличия солнечного света, процесс этот идет непрерывно, в нем используется кислород и освобождается двуокись углерода. Для осуществления фотофосфорилирования необходима энергия солнечного света, поэтому он протекает периодически. В процессе его используются вода и двуокись углерода, и

выделяется кислород, освобождающийся за счет гидролиза воды. При фотофосфорилировании образуется значительно меньше АТФ, чем при окислительном фосфорилировании. Синтезированная АТФ и восстановленный кофермент НАД·Ф используется для осуществления темновой стадии фотосинтеза, результатом которой является синтез углеводов.

А п п а р а т Г о л ь д ж и (комплекс Гольджи) обнаружен во всех типах эукариотических клеток и представлен мембранными структурами. Часто его называют сетчатым аппаратом, поскольку во многих клетках он имеет вид сети. Вторая наиболее распространенная форма аппарата Гольджи – в виде системы уплощенных мешочков (цистерн) и скоплений мелких пузырьков по их периферии. Число цистерн обычно колеблется от 5 до 7, иногда достигая 20.

Аппарат Гольджи принимает активное участие в образовании секретов – в нем происходит созревание секреторных продуктов, вырабатываемых в других органоидах клетки, участвует в формировании лизосом и является мембранным депо клетки. В зависимости от функциональной активности, а также стадии клеточной секреции аппарат Гольджи может менять свою форму.

Препарат №1. Хлоропласты (в клетках аспедистры).

С нижней стороны листа аспедистры сделать срез лезвием безопасной бритвы. Срез поместить на предметное стекло в каплю 5%-ного раствора сахарозы эпидермисом вниз и накрыть покровным стеклом. Хлоропласты имеют округлую или овальную форму, при иммерсионном увеличении можно рассмотреть в пластидах многочисленные мелкие граны, которые видны в виде темных округлых зернышек.

Задание. Зарисовать клетку с хлоропластами. Обратит внимание на расположение пластид, отметить количество хлоропластов, их форму, размеры, окраску, наличие гран.

Препарат №2. Митохондрии (клетки печени), окраска по Альтману.

Клетки печени имеют пяти-шестиугольную форму. Между рядами печеночных клеток встречаются широкие кровеносные капилляры с тонкими стенками, выстланные веретеновидными клетками. Цитоплазма и крупное ядро (либо два) в печеночной клетке окрашены в бледно-желтый цвет. Митохондрии в виде розовых гранул располагаются в цитоплазме на некотором расстоянии от ядра и от клеточной оболочки. Иногда встречаются митохондрии в виде палочек,

а также цепочки из нескольких гранул. Обычно митохондрии в клетках печени располагаются в тех участках цитоплазмы, где идет активный синтез белка.

Задание. Зарисовать клетку печени, отметить цитоплазму, ядро, ядрышко, митохондрии [Алмазов И.В., Сутулов Л.С., 1978, с. 20, рис. 17].

Препарат №3. Митохондрии (клетки кишечного эпителия), окраска по Альтману.

Клетки всасывающего эпителия имеют призматическую форму. На апикальном конце эпителиальных клеток отчетливо выявляется окрашенная в красный цвет щеточная каёмка, состоящая из микроворсинок - выростов плазматической мембраны. Ядро сдвинуто к базальному концу клетки и имеет округлую форму. В апикальной (надъядерной) части клетки видны многочисленные гранулярные митохондрии, окрашенные в розово-красный цвет, которые хорошо выделяются на желтоватом фоне цитоплазмы. В базальной части клетки (под ядром) митохондрий меньше, чем в апикальной части и они часто скапливаются в виде цепочек.

Задание. Зарисовать клетку кишечного эпителия и отметить цитоплазму, ядро, ядрышко, митохондрии, щеточную каёмку [Алмазов И.В., Сутулов Л.С., 1978, с. 19, рис. 16].

Препарат №4. Митохондрии (клетки канальцев почки), окраска по Альтману.

При малом увеличении на срезе видны многочисленные канальцы. Для изучения необходимо выбрать каналец, разрезанный поперек, с хорошо выраженными клеточными границами.

При большом увеличении видно, что эпителиальные клетки канальцев почки бывают различной высоты - наряду с канальцами, выстланными кубическим эпителием; встречаются канальцы, образованные призматическим эпителием. Между канальцами располагается соединительная ткань с кровеносными капиллярами. В клетках эпителия различают апикальную часть (обращенную в сторону канальца) и базальную часть (обращенную к соединительной ткани). Ядра в клетках эпителия почки округлые и располагаются посередине клетки. Палочковидные митохондрии окрашены в красный цвет, располагаются в базальной части клетки и часто ориентированы параллельно друг другу.

Задание. Зарисовать общий вид почечного канальца и отдельную клетку, в которой отметить цитоплазму, ядро, ядрышко, митохондрии [Алмазов И.В., Сутулов Л.С., 1978, с. 20, рис. 18].

Препарат №5. Аппарат Гольджи (нервные клетки спинального ганглия котенка), импрегнация осмиевой кислотой.

Спинальные ганглии (спинно-мозговые узлы) расположены по ходу задних корешков спинного мозга. В спинальных ганглиях группами в периферических отделах узла располагаются нервные клетки (нейроны). Это крупные округлые клетки со светлой цитоплазмой, с ядром, окрашенным в желтый цвет, и маленьким ядрышком серо-желтого цвета. Отростки клеток при данном способе обработки не видны, поэтому клетки спинальных узлов выглядят круглыми. Между клетками располагаются нервные волокна и прослойки соединительной ткани. Нервные клетки окружены чехлом из мелких клеточесателлитов или мантийных клеток (олигодендроглиоцитов). Между мантией и нервной клеткой может быть щель. Это артефакт, образующийся при сжатии нервной клетки под влиянием фиксатора.

Иммерсионное увеличение позволяет рассмотреть на фоне светлой цитоплазмы аппарат Гольджи, который представлен глыбками и изогнутыми палочками, окрашенными в черный цвет.

Задание. Зарисовать общий вид нервной клетки, отметить цитоплазму, ядро, ядрышко, аппарат Гольджи [Алиазов И. В., Сутулов Л. С., 1978, с. 25, рис. 25; Елисеев В. Г. и др., 1970, с. 16, рис. 16; с. 17, рис. 18].

3. ГИСТОЛОГИЯ

Гистология — наука о строении, функциях и развитии тканей многоклеточных животных. Ткань, по А.А.Заварзину, это филогенетически обусловленные комплексы клеток и межклеточного вещества, которые сходны по структуре, функции и происхождению из определенных зародышевых листков.

По общепринятой морфофункциональной классификации выделено четыре типа тканей: эпителиальная ткань, ткани внутренней среды, мышечная и нервная ткани.

3.1. Эпителиальная ткань

Эпителиальная, или пограничная, ткань ограничивает организм от внешней и внутренней среды. В состав эпителиальной ткани входит разнородная по происхождению и функциям группа тканей. В этой ткани преобладают клетки, в то время как межклеточного вещества очень мало. Клетки располагаются в виде непрерывного пласта и функционируют как единый пласт. Для клеток характерна полярность, обусловленная их местоположением и проявляющаяся в структуре и функции. Клетки эпителиальной ткани располагаются на базальной мембране, которая отделяет эпителию от соединительной ткани и представляет собой слой межклеточного вещества, вырабатываемого клетками этих обеих тканей. Кровеносные сосуды в эпителии отсутствуют.

данная ткань выполняет пограничную, защитную, всасывающую, секреторную и другие функции.

Эпителиальная ткань хорошо регенерирует, ей свойствен клеточный тип регенерации.

Существует три типа классификации эпителиальных тканей:

I. Онто-филогенетическая. Основывается на происхождении эпителиев из определенных зародышевых листков и закладок, а также из особенностей роста в культуре ткани. Согласно данной классификации выделяют следующие типы эпителиев:

1. Эпидермальный. Образуется из эктодермы.
2. Энтеродермальный. Образуется из энтодермы.

3. Цело-нефродермальный. Образуется из мезодермы.
4. Эпендимо-глиальный. Образуется из зачатка нервной трубки.
5. Эндотелий. Образуется из мезенхимы.

II. Функциональная. По данной классификации выделены следующие типы эпителиев:

1. Покровный (кожный).
2. Всасывающий (кишечный).
3. Мерцательный (реснитчатый).
4. Целомический (мезотелий).
5. Эпителий желез.

III. Морфологическая. По данной классификации выделены следующие типы эпителиев:

1. По форме клеток: плоский, кубический, цилиндрический (высокий призматический).
2. По числу слоев: однослойный, многослойный.

Однослойный эпителий

Препарат №1. Мезотелий (сальник кролика), импрегнация азотно-кислым серебром.

Сальник представляет собой пленку, основу которой составляет соединительная ткань. Поверхность сальника покрыта мезотелием. При малом увеличении на препаратах хорошо видны клеточные границы мезотелия в виде тонких линий черного или бурого цвета.

При иммерсионном увеличении просматриваются границы мезотелиальных клеток (мезотелиоцитов) в виде темных извилистых линий. Иногда выявляются и границы мезотелиоцитов, выстилающих сальник с противоположной стороны. Ядро в мезотелиальных клетках круглое или овальное, иногда в клетке имеется несколько ядер.

Задание. Зарисовать клетки мезотелия. Отметить границы клеток, цитоплазму, ядра [Алмазов И.В., Сутулов Л.С., 1978, с. 109, рис. 128; Елисеев В.Г. и др., 1970, с. 40, рис. 50].

Препарат №2. Однослойный эпителий почки (почка кролика), окраска гемалоксалин-эозином.

При малом увеличении видно большое количество перерезанных выходящих протоков (почечных канальцев) с просветом разной величины. При большом увеличении выявляется, что стенки почечных

канальцев с большим диаметром образованы призматическими (цилиндрическими) клетками (клетки имеют высоту в 2-3 раза больше ширины). В канальцах меньшего диаметра стенки образованы кубическим эпителием (клетки имеют приблизительно одинаковую высоту и ширину). Между канальцами располагается соединительная ткань с кровеносными капиллярами.

Клетки эпителия имеют четкие границы в виде тонких линий. В эпителиальных клетках различают апикальную сторону (обращена в просвет канальца) и базальную (обращена к соединительной ткани). Ядра данных клеток округлые, в кубическом эпителии они располагаются по середине клетки, в призматическом - в базальной части клетки. Базальная мембрана отделяет эпителий от соединительной ткани. Между апикальными концами клеток видны замыкающие пластинки, имеющие на разрезе вид темных клинышков между слоями клеток. Замыкающие пластинки представляют собой плотный замыкающий контакт.

Задание. Зарисовать каналец, отметить базальную и апикальную части клетки, ядра, базальную мембрану соединительной ткани. [Алмазов И.В., Сутулов Л.С., 1978, с. III, рис. I30-I31; Елисеев В.Г. и др., 1970, с. 41, рис. 52].

Препарат №3. Многорядный мерцательный эпителий (кишечник беззубки), окраска гематоксилин-эозином.

Эпителиальные клетки располагаются на базальной мембране в один ряд, но имеют разную высоту. Расположение ядер в несколько рядов, обусловленное различной высотой клеток, определяет название данного вида эпителия.

Часть клеток эпителия имеют высокоцилиндрическую форму и называются мерцательными. Они достигают свободной поверхности и несут на апикальном конце мерцательные реснички. Ядра этих клеток обычно располагаются в середине клетки и имеют овальную форму. Каждая ресничка укрепляется в цитоплазме с помощью базальных зерен, совокупность базальных зерен при изучении препарата при большом увеличении выглядит в виде полоски.

В состав однослойного многорядного эпителия входят кроме высокопризматических клеток вставочные клетки. Вставочные клетки не достигают свободной поверхности и имеют разную высоту; округлые ядра их локализованы ближе к базальной пластинке. Поскольку ядра располагаются на разном уровне, создается впечатление многорядности.

Между эпителиальными клетками видны бокаловидные железистые клетки. Ядра этих клеток треугольные по форме, хорошо окрашиваются и находятся в основании клетки. Над ядром концентрируется секрет.

Задание. Зарисовать эпителий с участком прилегающей соединительной ткани. Отметить мерцательные клетки, их ядра, реснички, базальные зерна, вставочные и бокаловидные клетки, соединительную ткань, базальную мембрану [Алмазов И.В., Сутулов Л.С., 1978, с. II4, рис. I35; Елисеев В.Г. и др., 1970, с. 43, рис. 5].

Многослойный эпителий

Препарат №1. Многослойный плоский неороговевающий эпителий (роговица коровы), окраска гематоксилин-эозином.

Препарат следует ориентировать под микроскопом так, чтобы в поле зрения эпителий был сверху, а соединительная ткань внизу. Изучение многослойных эпителиев рекомендуется начинать с глубоких слоев в соответствии с процессом трансформации клеток эпителия.

Многослойный эпителий состоит из большого количества клеток. На базальной мембране располагается слой базальных клеток. Клетки базального слоя призматические по форме, овальные ядра в них располагаются в средней части либо ближе к апикальному концу клетки. Затем следует несколько слоев шиповатых клеток, которые вдаются своими отростками между апикальными концами нижележащих клеток. Ядра в этих клетках округлые по форме. Самые поверхностные 1-2 слоя клеток плоские по форме. Ядра в них уплощенные, темноокрашенные. Роговой слой в данном типе эпителия отсутствует. Многослойный неороговевающий эпителий роговицы является малодифференцированным эпителием.

Задание. При большом увеличении рассмотреть и зарисовать многослойный плоский неороговевающий эпителий. Отметить соединительную ткань, базальную мембрану, клетки базального слоя, слой шиповатых и плоских клеток [Алмазов И.В., Сутулов Л.С., 1978, с. II8; рис. I4I; Елисеев В.Г. и др., 1970, с. 45, рис. 60].

Препарат №2. Многослойный плоский ороговевающий эпителий (кожа пальца), окраска гематоксилин-эозином.

Многослойный плоский ороговевающий эпителий на примере кожи состоит из большого количества (до 100) слоев клеток. При малом увеличении микроскопа видна неровная граница между эпителием и соединительной тканью. На базальной мембране расположен базальный слой, состоящий из 1 ряда живых клеток цилиндрической формы. Над базальным слоем клеток лежат несколько (4-8) рядов шиповатых клеток, имеющих неправильные очертания. Базальный и шиповатый слои объединяются в ростковый слой. Над ростковым слоем располагается интенсивно окрашенный зернистый слой, состоящий из 3-4 слоев клеток. Клетки имеют уплощенную форму и получили свое название из-за наличия в них крупных интенсивно окрашивающихся гематоксилином кератогиалиновых зерен. Над зернистым слоем находится тонкий, кажущийся гомогенным, блестящий слой, который состоит из 1-2 рядов сильно уплощенных клеток. Границы между клетками блестящего слоя выявляются с большим трудом. В блестящем слое кератогиалиновые зерна сливаются между собой. Поверхностный слой - роговой, состоит из большого числа плоских клеток. Клетки рогового слоя мертвые и вся цитоплазма в них превратилась в роговое вещество. Клетки рогового слоя постоянно слущиваются и заменяются клетками из росткового слоя.

Задание. При большом увеличении рассмотреть и зарисовать многослойный плоский ороговевающий эпителий. Отметить соединительную ткань, базальный, шиповатый, зернистый, блестящий и роговой слои клеток [Алмазов И.В., Сутулов Л.С., 1978, с. 119, рис. 142; Елисеев В.Г. и др., 1970, с. 46, рис. 61].

Эпителий желез

Основной функционирующей тканью желез является эпителиальная. Железы бывают одноклеточные и многоклеточные.

Одноклеточные железы различаются по форме (бокаловидные, колбовидные, червеобразные, неправильные), расположению (в толще эпителиального пласта - эндоэпителиальные, а за его пределами - экзоэпителиальные), по направлению выделения секрета (железы внутренней секреции - эндокринные - выделяют секрет в кровь или межклеточную среду, и железы внешней секреции - экзокринные - выделяют секрет на свободную поверхность эпителия), а также по

типу выделения секрета (мерокриновые и голокриновые).

Многоклеточные железы состоят из секреторных (ацинарных) отделов и выводных протоков. Секреторные отделы по форме бывают трубчатые, альвеолярные, трубчато-альвеолярные, по степени ветвления - неразветвленные и разветвленные. По степени ветвления выводных протоков железы бывают простые (неразветвленный проток) и сложные (разветвленный проток). Многоклеточные железы бывают экзокринные и эндокринные, экзокринные и эндокринные. Тип выделения секрета - голокриновый, апокриновый, мерокриновый.

Препарат №1. Простые альвеолярные железы (сальные железы кожи), окраска гематоксилин-эозином.

При малом увеличении в соединительной ткани видны разрезы корней волос и сальных желез. Протоки сальных желез открываются в волосяной мешочек. Концевой отдел железы является разветвленным.

При большом увеличении рассмотреть камбиальные клетки, лежащие на базальной мембране, и крупные, центрально расположенные клетки. Последние клетки округлой формы, ядра в них овальные, с хорошо заметными зернами хроматина и ядрышком. В клетках, лежащих ближе к протоку, ядра пикнотические, образование секреторного продукта в них сопровождается перерождением цитоплазмы, в результате которого вся клетка превращается в секрет (голокриновый тип секреции).

Задание. Зарисовать сальную железу кожи, отметить выводной проток и разветвленный секреторный отдел железы, базальные и центральные железистые клетки, разрушающиеся клетки, эпидермис, соединительную ткань, корень волоса [Алмазов И.В., Сутулов Л.С., 1978, с. 125, рис. 149; Елисеев В.Г. и др., 1970, с. 51, рис. 69].

Препарат №2. Простые трубчатые железы (желудочные железы), окраска гематоксилин-эозином.

При малом увеличении следует выбрать участок среза, где имеется вертикальный разрез слизистой оболочки желудка. На поверхности слизистой оболочки видны устья желудочных ямок, переходящих в шейки желез. Ямки выстланы однослойным призматическим эпителием. Эпителий слизистой оболочки желудка характеризуется ослизнением верхушек клеток. Под эпителием находится собственный слой слизистой оболочки, состоящей из рыхлой соединительной ткани. Вся толщина собственного слоя занимает желудочные железы, которые пред-

ставлены простыми или слабоветвящимися трубчатыми железами. Шейка (проток) железы образована добавочными клетками. В теле железы просвет узкий и имеет вид тонкого канала, выстланного главными glandулоцитами, располагающимися сплошным слоем. Между главными glandулоцитами распределяются париетальные glandулоциты (боковые или обкладочные клетки). Париетальные клетки крупнее главных клеток и отличаются оксифилией. Дно желудка представлено главными клетками. Между железистыми трубками заметны тонкие прослойки соединительной ткани. Париетальные клетки выделяют секрет по апокриновому типу, а главные клетки — по мерокриновому типу.

Задание. Зарисовать фундальные железы желудка, отметить желудочные ямки, эпителий олигистой оболочки, шейку, тело и дно железы, добавочные, главные и париетальные клетки, соединительную ткань [Алмазов И.В., Сутулов Л.С., 1978, с. 122, рис. 146; Елисеев В.Г. и др., 1970, с. 50, рис. 67].

Препарат №3. Сложная альвеолярная железа (молочная железа коровы), окраска гематоксилин-эозином.

При малом увеличении видно, что железа разделена на дольки междольковой соединительной тканью. Дольки представлены большим количеством альвеол (секреторных, концевых отделов), выстланных однослойным эпителием. Апокриновая секреция обуславливает различное состояние эпителиальных клеток молочной железы: клетки в зависимости от стадии секреции кубические или плоские по форме. На наружной стороне клеток, обращенной в просвет железы, выявляются выросты, которые заполняются секретом и в дальнейшем отрываются от клетки. В результате секреции высота клеток уменьшается.

Задание. Зарисовать клетки на различных стадиях секреторного цикла. Отметить форму клеток, количество ядер и ядрышек [Алмазов И.В., Сутулов Л.С., 1978, с. 124, рис. 148; Елисеев В.Г. и др., 1970, с. 394, 395, рис. 539, 540].

3.2. Ткани внутренней среды

К тканям внутренней среды относятся ткани, имеющие общее происхождение (из мезенхимы) и выполняющие опорно-трофическую

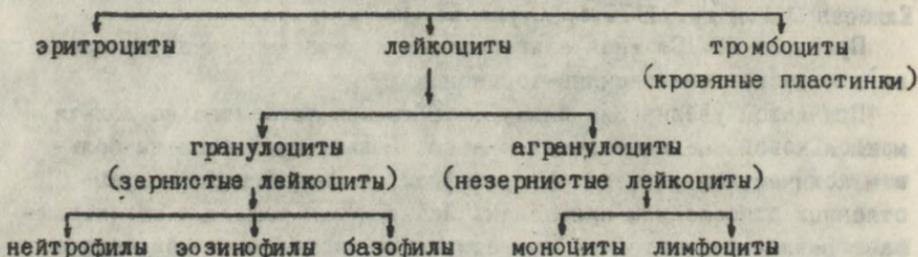
функции. Эти два признака (происхождение и функция) объединяют в одну ткань кровь, лимфу, рыхлую и плотную соединительные ткани, костную и хрящевую ткани.

Характерными признаками всех разновидностей тканей внутренней среды являются: сильное развитие межклеточного (промежуточного) вещества, аполярность клеток, высокая способность к пролиферации и обновлению за счет стволовых клеток.

Кровь

Кровь состоит из форменных элементов и плазмы (межклеточного вещества). Плазма имеет сложный химический состав; она жидкая, прозрачная, бледно-желтого цвета. Красный цвет крови обусловлен гемоглобином эритроцитов.

Форменные элементы крови



Функции крови: дыхательная (переносит кислород и выносит углекислый газ), трофическая (переносит питательные вещества), регуляторная (регулирует водно-солевой обмен и кислотно-щелочное равновесие в организме), экскреторная (выведение продуктов распада), защитная (благодаря способности лейкоцитов к фагоцитозу, а также наличию в крови антител и антитоксинов).

Жизненный цикл клеток крови непродолжителен (эритроциты живут до 4 месяцев, лейкоциты до 5 суток, тромбоциты до 4 суток), ежедневно часть клеток крови погибает и замещается новыми. Кроветворение (гемопоз) происходит в течение всей жизни взрослого организма.

Клетки крови во взрослом организме образуются путем дифференцировки кроветворной стволовой клетки, которая представляет собой малодифференцированный плюрипотентный предшественник всех типов

клеток крови. Кроветворные стволовые клетки в наибольшем количестве находятся в красном костном мозге, в селезенке и периферической крови. Данные клетки возникают в эмбриональном состоянии и сохраняются в течение всей жизни организма. В красном костном мозге разных органов (эпифизов трубчатых костей, костей грудины и черепа) образуются эритроциты, гранулоциты, из агранулоцитов – моноциты и частично лимфоциты, тромбоциты. Лимфоциты образуются, главным образом, в селезенке и лимфатических узлах.

Препарат №1. Мезенхима (эмбриональная ткань зародыша цыпленка), окраска гематоксилин-эозином.

Клетки мезенхимы располагаются между закладками органов (нервная трубка, хорда, брюшная аорта и т.д.). Мезенхима состоит из мелких малодифференцированных клеток. Благодаря наличию отростков клетки имеют звездчатую форму. Ядра в клетках круглые или овальные, цитоплазма располагается в виде узкого ободка вокруг ядер. Отростки клеток анастомозируют, поэтому мезенхиму часто при изучении в световой микроскоп принимают за синцитий.

Задание. Зарисовать форму клеток, отметить ядро и отростки клеток, межклеточное вещество [Алмазов И.В., Сутулов Л.С., 1978, с. 80, рис. 94, с. 136, рис. 164, с. 150, рис. 181; Елисеев В.Г. и др., 1970, с. 67, рис. 90].

Препарат №2. Кровь (мазок крови человека), окраска гематоксилин-эозином.

Эритроциты (красные кровяные клетки) – наиболее часто встречающийся форменный элемент крови. Эритроциты человека и других млекопитающих имеют вид двояковогнутых линз, на мазках они обычно распластываются своей широкой поверхностью, поэтому выглядят округлыми. Эритроциты – безъядерные клетки, на препарате окрашены в розовый цвет с более светлой центральной частью, по размерам более мелкие, чем лейкоциты.

Лейкоциты (белые кровяные клетки) представлены двумя типами: зернистыми (гранулоциты) и незернистыми (агранулоциты). К незернистым лейкоцитам относятся лимфоциты и моноциты. Клетки их не отличаются зернистостью цитоплазмы и имеют несегментированные ядра.

Лимфоциты – округлые клетки с круглым, сильно окрашивающимся ядром, которое занимает почти весь объем клетки. В зависимости от величины лимфоциты подразделяются на малые, средние и

большие. Цитоплазма в малых лимфоцитах располагается в виде узкого ободка вокруг ядра, у двух других типов лимфоцитов на долю цитоплазмы приходится больший объем клетки.

Моноциты - крупные круглые клетки с бобовидным по форме ядром. Ядро и цитоплазма окрашены более слабо, чем у лимфоцитов.

К зернистым лейкоцитам относятся нейтрофилы, эозинофилы и базофилы. Ядра этих клеток сегментированы, а в цитоплазме выявляется специфическая зернистость.

Нейтрофилы - округлые клетки с мелкозернистой цитоплазмой, зерна которой окрашены в красноватый цвет. Ядра нейтрофилов - фиолетового цвета и состоят из сегментов, соединенных тонкими перемычками.

Эозинофилы - округлые клетки с ядром, состоящим часто из двух сегментов. Зерна в цитоплазме окрашены в розовый или красный цвет.

Базофилы - встречаются на препарате очень редко, поскольку у человека они составляют до 0,5% от общего числа лейкоцитов. Зерна в цитоплазме окрашены в темно-фиолетовый цвет. Ядра иногда имеют сферическую форму, но контуры ядра часто не выявляются четко.

К форменным элементам крови кроме эритроцитов и лейкоцитов относятся тромбоциты (кровяные пластинки). Это безъядерные структуры, которые у человека имеют форму неправильных пластинок. По размерам они мельче, чем эритроциты. Центральная часть тромбоцитов окрашивается основными красителями, а периферическая часто плохо воспринимает красители и выглядит в виде светлого ободка.

Задание. Зарисовать клетки крови, соблюдая соотношения их величины, обозначить ядро и цитоплазму [Алмазов И.В., Сутулов В.Г., 1978, с. 128, рис. 152; Елисеев В.Г. и др., 1970, с. 56, рис. 76, с. 62, рис. 83, 84]

Рыхлая соединительная ткань

Содержит большое количество беспорядочно расположенных в промежуточном (межклеточном или аморфном) веществе коллагеновых и эластических волокон. Основную массу клеток составляет фибробласты и гистиоциты. Фибробласты продуцируют коллагеновые и эластические волокна и межклеточное вещество, а гистиоциты от-

личаются фагоцитарной активностью и участвуют в образовании межклеточного вещества. В определенных участках организма локализируются плазматические, тучные, жировые и пигментные клетки. Рыхлая соединительная ткань широко представлена в организме - формирует подкожную клетчатку, строю паренхиматозных органов, межмышечные фасциальные прослойки, сопровождает кровеносные сосуды.

Препарат №1. Рыхлая соединительная ткань (подкожная клетчатка крысы), окраска железным гематоксилином.

При малом увеличении видно, что основу рыхлой соединительной ткани составляют волокна, расположенные без определенного порядка в светлом аморфном веществе. При большом увеличении можно найти фибробласты (крупные вытянутой формы клетки с плохо заметными границами и крупным, овальным ядром) и гистиоциты (мельче фибробластов, овальной формы, цитоплазма окрашивается сильнее, чем у фибробластов, ядро темнее, компактнее). Коллагеновые волокна имеют разную толщину и представлены извитыми пучками фибрилл. Эластические волокна окрашиваются более интенсивно, они более тонкие, чем коллагеновые.

Задание. Зарисовать рыхлую соединительную ткань, отметить фибробласт, гистиоцит, коллагеновые и эластические волокна, аморфное вещество [Алмазов И.В., Сутулов Л.С., 1978, с.154, рис.186; Елисеев В.Г. и др., 1970, с.78, рис.102].

Препарат №2. Накопление краски в гистиоцитах (подкожная клетчатка крысы), окраска трипановым синим и красным фуксином.

Крысам вводили под кожу раствор трипанового синего, затем после забоя животных были приготовлены гистологические препараты кожи, дополнительно окрашенные красным фуксином. На препаратах показана способность гистиоцитов к фагоцитозу - в цитоплазме отчетливо видны синие глыбки краски. Ядра гистиоцитов окрашены в розовый цвет. Фибробласты не отличаются способностью к фагоцитозу, поэтому в них нет синих глыбок и они окрашены в розовый цвет.

Задание. Зарисовать гистиоциты и фибробласты. Отметить накопление красителя в гистиоцитах [Алмазов И.В., Сутулов Л.С., 1978, с.155, 156, рис.187, 188, 189; Елисеев В.Г. и др., 1970, с.78, рис.103].

Препарат №3. Жировая ткань (сальник кошки), окраска Суданом III. Жировые дольки, состоящие из жировых клеток, располагаются

вдоль кровеносных сосудов в виде грозди винограда. Жировые клетки округлые по форме. Краситель поглощается нейтральным жиром, содержащимся в клетках жировой ткани, придавая им оранжевый цвет. В большинстве клеток содержится одна огромная капля жира, которая почти полностью заполняет цитоплазму и оттесняет ядро к периферии клетки.

Задание. Зарисовать жировые клетки [Алмазов И.В., Сутулов Л.С., 1978, с. 166, 167, рис. 197, 198, 199; Елисеев В.Г. и др., 1970, с. 90, рис. 121].

Препарат №4. Пигментные клетки (кожа головастика), препарат не окрашен.

Клетки имеют неправильную форму с большим числом отростков. В цитоплазме содержится большое количество коричневых зернышек пигмента меланина. Ядра на неокрашенном препарате не видны.

Задание. Зарисовать клетку, отметить зерна пигмента [Алмазов И.В., Сутулов Л.С., 1978, с. 166, рис. 196; Елисеев В.Г. и др., 1970, с. 93, рис. 125].

Плотная соединительная ткань

Для плотной соединительной ткани характерно сильное развитие волокнистых структур, что связано с выполнением ей механической функции. Межклеточного вещества в данном типе тканей мало. Клетки представлены в основном фибробластами и фиброцитами.

Плотная соединительная ткань подразделяется на два типа: неоформленная и оформленная. Для неоформленной плотной соединительной ткани свойственно неупорядоченное расположение большого количества коллагеновых и эластических волокон. В оформленной плотной соединительной ткани волокна закономерно ориентированы относительно друг друга.

Неоформленная плотная соединительная ткань образует сетчатый слой кожи, соединительную ткань оболочек, покрывающих суставы, и некоторые внутренние органы. Оформленная плотная соединительная ткань представлена в сухожилиях, связках, фасциях, апоневрозах и собственном слое роговицы.

Препарат №1. Сухожилие в продольном разрезе (сухожилие теленка), окраска гематоксилин-эозином.

При малом увеличении видны параллельно расположенные коллаген-

новые волокна, разделенные сухожильными клетками (фиброцитами) на пучки первого порядка. Группы пучков первого порядка образуют пучки второго порядка, которые покрыты соединительно-тканной оболочкой (эндотенонием), снабженной кровеносными сосудами и нервными окончаниями.

Задание. При большом увеличении рассмотреть и зарисовать пучок второго порядка, отметить пучки первого порядка, фиброциты, эндотеноний [Алмазов И.В., Сутулов Л.С., 1978, с.169, рис.201; Елисеев В.Г. и др., 1970, с.94, рис.127].

Препарат №2. Сухожилие в поперечном разрезе (сухожилие телянка), окраска гематоксилин-эозином.

При малом увеличении видны пучки первого порядка, между которыми находятся ядра фибробластов. Пучки второго порядка разделяются прослойками соединительной ткани (эндотенонием). Всё сухожилие в целом покрыто более мощной соединительно-тканной оболочкой (перитенонием), содержащим кровеносные сосуды и нервы.

Задание. При большом увеличении рассмотреть и зарисовать сухожилие в поперечном разрезе и обозначить пучки первого, второго и третьего порядков, фиброциты, эндотеноний и перитеноний [Алмазов И.В., Сутулов Л.С., 1973, с.169, рис.201; Елисеев В.Г. и др., 1970, с.94, рис.128].

Препарат №3. Эластическая связка в продольном разрезе (вишняя связка), окраска гематоксилин-пикрофуксином.

Вишняя связка является классическим примером эластических связок. Основным компонентом связок являются эластические волокна, ориентированные параллельно. Волокна не имеют структуры, гомогенны. Каждое эластическое волокно в связке окружено прослойкой из коллагеновых волокон, окрашенных в красный цвет, и фиброцитов. Форму фиброцитов разобрать трудно, поскольку преимущественно видны удлинённые ядра фиброцитов, окрашенные в синий цвет. В связке встречаются и более мощные прослойки рыхлой соединительной ткани, сопровождающие кровеносные сосуды. Разделение на пучки 2-го и 3-го порядков в эластической связке отсутствует.

Задание. Зарисовать эластическую связку, отметить эластические волокна, прослойки соединительной ткани, коллагеновые волокна, фиброциты [Алмазов И.В., Сутулов Л.С., 1978, с.170, рис.202; Елисеев В.Г. и др., 1970, с.95, рис.129, 130].

Хрящевая ткань

Хрящевая ткань относится к скелетным тканям, основная функция её - механическая. Клетки хрящевой ткани (хондроциты) заключены в довольно плотное межклеточное (промежуточное, основное или аморфное) вещество. Из-за высокой плотности межклеточного вещества в него не проникают кровеносные сосуды и нервы. Питание хряща осуществляется диффузно через надхрящницу (перихондр), покрывающую хрящ с поверхности. Благодаря способности клеток надхрящницы к митотическому делению, осуществляется рост и регенерация его при повреждениях. В зависимости от количества коллагеновых и эластических волокон, а также от состава межклеточного вещества хрящевая ткань подразделяется на три типа: гиалиновый (стекловидный), эластический (сетчатый) и волокнистый (соединительно-тканый) хрящ.

Препарат №1. Гиалиновый хрящ (ребро кролика), окраска гематоксилин-эозином.

Гиалиновый хрящ в эмбриональный период развития образует большую часть скелета. У взрослых организмов хрящ сохраняется в суставах, ventральных частях ребер, в носовых проходах.

При малом увеличении рассмотреть строение хряща, найти надхрящницу, поверхностную и глубокую зоны хряща. Обратить внимание на изменение формы, положения и количества клеток в разных зонах хряща.

При большом увеличении рассмотреть надхрящницу и хрящ. Надхрящница - плотная неоформленная соединительная ткань, окрашенная в розовый цвет. Основу её составляют коллагеновые волокна, большинство которых располагается параллельно поверхности хряща. Между волокнами лежат ядра клеток надхрящницы, которая постепенно переходит в поверхностные слои хряща. В поверхностных слоях малодифференцированные клетки хряща (хондробласты) располагаются поодиночке и имеют уплощенную форму. В глубине хряща (в зрелом хряще) клетки (хондроциты) обычно образуют комплексы, которые называются "изогенными группами". Число хондроцитов в изогенной группе чаще всего равно 2-5, все клетки в ней имеют единое происхождение, так как образуются при делении одной клетки.

Межклеточное вещество хряща в разных участках отличается

разной степени базофилии. Межклеточное вещество, ограничивающее полость клетки в виде узкого ободка, оксифильно и называется капсулой. Вокруг изогенных групп межклеточное вещество окрашивается в темно-фиолетовый цвет (базофильная зона). Изогенные группы и базофильные зоны составляют клеточную территорию. Между клеточными территориями располагается интертерриториальное межклеточное вещество с меньшей степенью базофилии.

Задание. Зарисовать гиалиновый хрящ. Отметить надхрящницу, зону молодого хряща, изогенные группы зрелого хряща, клеточные территории, хрящевые клетки (хондробласты, хондроциты), интертерриториальное межклеточное вещество. [Алмазов И. В., Сутулов Л. С., 1978, с. 171, рис. 204; Елисеев В. Г. и др., 1970, с. 96, рис. 131].

Препарат №2. Эластический хрящ (ушная раковина свиньи), окраска орсеином.

Эластический хрящ встречается в надгортаннике, ушной раковине, носу. Эластический хрящ имеет большое сходство с гиалиновым хрящом. Основным отличием является наличие в межклеточном веществе большого количества эластических волокон. Волокна в поверхностных слоях хряща тоньше, чем в глубоких слоях. Они образуют густую сеть, которая пронизывает межклеточное вещество в различных направлениях. Изогенные группы содержат 2-3 овальных хондроцита. Базофильных зон вокруг изогенных групп нет.

Задание. Зарисовать эластический хрящ. Отметить надхрящницу, хондробласты, хондроциты, эластические волокна, межклеточное вещество [Алмазов И. В., Сутулов Л. С., 1978, с. 173, рис. 206; Елисеев В. Г. и др., с. 98, рис. 135].

Препарат №3. Волокнистый хрящ (межпозвоночный диск телянка), окраска гематооксилин-эозином.

Волокнистый хрящ встречается в межпозвоночных дисках и местах перехода связок в хрящ и представляет собой переход от коллагеновой соединительной ткани к гиалиновому хрящу.

При малом увеличении найти волокнистый хрящ и рассмотреть его при большом увеличении. В межклеточном веществе поверхностного слоя хряща видны толстые пучки коллагеновых волокон (окрашены в розовый цвет). Между пучками волокон расположены рядами овальные хондроциты. Хрящ по строению напоминает оформленную коллагеновую ткань.

В глубоких слоях хряща строение ткани становится более похо-

жим на гиалиновый хрящ - отмечается меньшее число пучков коллагеновых волокон, встречаются изогенные группы из 2-4 клеток, появляются типичные клеточные территории.

Задание. Зарисовать участок хряща, отметить пучки коллагеновых волокон, межклеточное вещество, хрящевые клетки [Алмазов И.В., Сутулов Л.С., 1978, с.174, рис. 207; Елисеев В.Г. и др., 1970, с.99, рис. 136, 137].

Костная ткань

Костная ткань выполняет механическую функцию (образует скелет, определяет форму тела и обеспечивает двигательные функции организма), играет большую роль в осуществлении минерального обмена.

Костная ткань состоит из клеток и межклеточного вещества, причем клеток в ней меньше, чем межклеточного вещества. Основные свойства костей - прочность и упругость - связаны с содержанием в них коллагена и минеральных солей (на долю последних приходится до 70% сухого веса межклеточного вещества). Снаружи кость покрыта надкостницей, играющей большую роль в нормальном функционировании костей. С помощью надкостницы осуществляются процессы образования костного вещества во время роста кости и регенерации. Во время эмбриогенеза развитие костей происходит двумя путями: из мезенхимы и на месте хряща. В отличие от хряща костная ткань снабжается кровеносными сосудами.

По структуре межклеточного вещества костную ткань делят на грубоволокнистую и пластинчатую. В грубоволокнистой кости коллагеновые (оссеиновые) волокна располагаются беспорядочно. У низших животных (рыбы, амфибии) грубоволокнистая кость существует в течение всей жизни, у высших животных - только в эмбриональный период.

В пластинчатой кости коллагеновые волокна располагаются упорядоченно, образуя костные пластинки. Между костными пластинками располагаются костные клетки (остеоциты).

Пластинчатая кость представлена двумя типами:

1) Губчатая кость находится в эпифизах трубчатых костей. В данной кости между группами костных пластинок образуются перекладины, которые ориентированы в разных направлениях. Промежутки между перекладинами заполнены красным костным мозгом.

2) Компактная кость представлена в диафизах трубчатых костей. Костные пластинки в ней располагаются вокруг кровеносных сосудов параллельно длинной оси кости. Вокруг одного кровеносного сосуда может быть до 15 цилиндров из костных пластинок. Комплекс пластинок, окружающих один кровеносный сосуд, называется остеоном или гаверсовой системой. Между остеоном располагаются вставочные пластинки, представляющие собой разрушенные гаверсовы системы. Кость окружена наружными и внутренними обшивками (генеральными) костными пластинками. Наружные генеральные пластинки покрыты надкостницей (периостом), внутренние - эндостом. Надкостница и эндост представляют собой плотную неоформленную соединительно-тканную оболочку. Надкостница имеет огромное значение для нормального функционирования кости, являясь камбиальным резервом и защитным образованием. Из надкостницы в костно-мозговую полость вырастают фолькмановские каналы, по которым идут сосуды из надкостницы или эндоста. Также же каналы связывают анастомозами каналы остеонов.

В костной ткани представлены клетки трех типов: остеобласты, остециты и остеокласты.

Остеобласты - клетки, чаще всего имеющие цилиндрическую форму, участвуют в построении костной ткани. Располагаясь вокруг костных перекладок, образуют межклеточное вещество, в которое сами постепенно замуровываются и превращаются в остециты.

Остециты - дифференцированные костные клетки, имеют звездчатую форму, располагаются в полостях костного вещества, а отростки клеток - в костных канальцах, по которым проникают питательные вещества.

Остеокласты - крупные многоядерные клетки, играющие активную роль в процессе разрушения межклеточного вещества.

Препарат №1. Костные клетки (жаберная крышка селедки), неокрашенный препарат.

На препарате при большом увеличении видны костные полости и пластинки. Внутри полостей видны сохшиеся остатки клеточного содержимого. Костные полости имеют веретенообразную или звездчатую форму. От них отходят тонкие костные канальцы, в которых располагались отростки клеток. Межклеточное вещество выглядит бесцветной однородной массой.

Препарат №2. Плотная пластинчатая кость в поперечном разрезе

(берцовая кость человека), окраска тионин-пикриновой кислотой.

Снаружи кость покрыта надкостницей и наружными генеральными пластинками. С внутренней стороны кость покрыта эндостом и внутренними генеральными пластинками. В костной ткани видны многочисленные поперечные разрезы остеонов, между которыми располагаются вставочные пластинки. Остеоны имеют разный диаметр и неодинаковые контуры. В центре остеона находится канал, в котором часто видны остатки проходящего в нем сосуда. При большом увеличении отчетливо просматриваются располагающиеся вокруг канала концентрическими кругами светлые и темные костные пластинки. Окраска их зависит от различного направления оссеиновых волокон. Костные пластинки вырабатываются остеоцитами, которые располагаются по ходу пластинок. Остеоциты с отходящими от них отростками имеют вид красно-фиолетовых жучков. Кроме каналов остеонов на препарате имеются разрезы фолькмановских каналов, вокруг которых не формируется системы пластинок.

Задание. Зарисовать участок костной ткани. Отметить надкостницу, наружные генеральные пластинки, остеоны, вставочные пластинки, канал остеона, остеоциты, фолькмановские каналы, эндост, внутренние генеральные пластинки [Алмазов И.В., Сутулов Л.С., 1978, с. 179, 180, рис. 213, 214; Елисеев В.Г. и др., 1970, с. 100, рис. 139, 138, с. 101, рис. 140].

Препарат №3. Плотная пластинчатая кость в продольном разрезе (берцовая кость человека), окраска тионин-пикриновой кислотой.

На продольном срезе виден ход остеонов вдоль кости, но системы костных пластинок почти не выявляются. Хорошо видны фолькмановские каналы, связывающие остеоны.

Задание. Зарисовать кость, отмечая каналы остеонов и фолькмановские каналы [Алмазов И.В., Сутулов Л.С., 1978, с. 180, рис. 214; Елисеев В.Г. и др., 1970, с. 141, рис. 140].

Препарат №4. Развитие кости из соединительной ткани (нижняя челюсть зародыша свиньи), окраска гематоксилин-эозином.

Из эмбриональной соединительной ткани образуются кости черепа. При малом увеличении найти перекладины (трабекулы) грубоволокнистой костной ткани (окрашены в красный цвет), между которыми находятся клетки мезенхимы (эмбриональной соединительной ткани) и кровеносные сосуды.

При большом увеличении изучить строение развивающейся кости.

Задание. Рассмотреть остециты (вмурованные в костные трабе-

кули) и остеокласты (многоядерные крупные клетки на поверхности костных трабекул). Зарисовать участок развивающейся кости, отметить мезенхиму, остеобласты, остециты, остеокласты [Алмазов И. В., Сутулов Л. С., 1978, с. 144, рис. 208; Елисеев В. Г. и др., 1970, с. 103, рис. 142, 143].

Препарат №5. Развитие кости на месте хряща (трубчатая кость зародыша свиньи), окраска гематоксилин-эозином.

При развитии костей на месте хряща образуются кости конечностей, позвоночник, основание черепа и т. д.

При малом увеличении микроскопа рассмотреть "хрящевую болванку" (модель будущей кости). Эпифизы состоят из гиалинового хряща, окрашенного в фиолетовый цвет. В области диафиза начинается деструкция хряща, его обызвествление. Развивающаяся кость окрашена в красный цвет.

При большом увеличении рассмотреть диафиз и эпифизы. Надхрящница в области диафиза преобразуется в надкостницу, при этом малодифференцированные клетки надхрящницы превращаются в остеобласты, вырабатывающие межклеточное вещество. В результате вокруг диафиза образуется перихондральная (периостальная) костная манжетка, которая состоит из перекладин, окрашенных в красный цвет (не содержат хрящевых остатков). Снаружи перихондральная манжетка покрыта надкостницей. Перихондральная костная ткань покрывает диафиз и доходит до уровня столбиков хрящевых клеток, нарушая диафизное питание хряща. Между перекладинами костной манжетки внутрь диафиза вырастает остеогенная ткань (эмбриональная соединительная ткань с кровеносными сосудами), клетки которой преобразуются в хондрокласты и остеобласты. Хондрокласты разрушают межклеточное вещество хряща. Это разрушение идет от диафиза к эпифизам. В диафизах хрящевая ткань разрушается не полностью - остаются отдельные обызвествленные перекладины с неровными краями (хрящевые балки). На хрящевые балки садятся остеобласты, которые откладывают межклеточное вещество. Часть остеобластов превращается в остециты. Так образуется эндохондральная кость. Перекладины эндохондральной кости, представленные базофильным обызвествленным хрящом, окрашены в фиолетовый цвет; образующаяся эндохондральная кость является оксифильной и окрашена в красный цвет. Эндохондральная костная ткань преобразуется в губчатую, а в дальнейшем - в пластинчатую кость.

Границей между костью диафиза и хрящом эпифизов является линия окостенения, представляющая собой зону обызвествленного хряща (зону разрушения). Зона обызвествленного хряща в эпифизе граничит с зоной набухших (пузырчатых) клеток. Затем располагается зона хрящевых колонок, в которой хондроциты лежат продольными рядами (колонками или столбиками). Крайняя часть эпифиза представлена зоной неизмененного хряща, имеющего типичное для гиалинового хряща строение. Поверхность эпифиза покрыта надхрящницей.

Задание. При малом увеличении зарисовать "хрящевую болванку". При ольшом увеличении рассмотреть и зарисовать строение различных участков развивающейся кости. Отметить надхрящницу, гиалиновый хрящ, клеточные колонки, пузырьчатые клетки, линию окостенения, надкостницу, перихондральную кость, эндохондральную кость, остатки хряща, остеобласты, остециты, остеогенную ткань [Алмазов И.В., Сутулов Л.С., 1978, с. 175, рис. 209; Елисеев В.Г. и др., 1970, с. 106, рис. 146, 147].

3.3. Мышечная ткань

Мышечная ткань относится к высокоспециализированным тканям. Она осуществляет все двигательные процессы в организме. Существует несколько классификаций мышечной ткани – по строению, положению в организме, по функциям, по происхождению, но наиболее часто употребляется морфофункциональная классификация, согласно которой мышечная ткань подразделяется на гладкую и поперечно-полосатую. В пределах поперечно-полосатой выделяют скелетную и сердечную мышечные ткани.

Гладкая мышечная ткань образует мускулатуру внутренних органов. Структурной единицей гладкомышечной ткани является клетка-миоцит. Эта клетка имеет веретеновидную форму, в центре её расположено удлинненное ядро, миофибриллы отсутствуют. Оболочка клетки носит название миолеммы. Миолемма покрыта базальной мембраной, к наружной поверхности которой прикрепляются коллагеновые и аргирофильные волокна. Чаще клетки гладкой мышечной ткани функционируют не как отдельные изолированные единицы, а как системы таких клеток. Гладкой мышечной ткани свойственна физиологическая и репаративная регенерация. Регенерация происходит в основном за счет деления клеток.

Поперечно-полосатая скелетная (соматическая) мышечная ткань образует скелетные мышцы. Структурной единицей ее является поперечно-полосатое волокно (симпластическое многоядерное образование). Волокна цилиндрической формы длиной от нескольких сотен микрон до десяти-двенадцати сантиметров. Плазматическая мембрана мышечного волокна называется сарколеммой. Сарколемма окружена базальной мембраной, к которой прикреплены коллагеновые и агрегирофильные волокна соединительной ткани. Прослойка соединительной ткани, покрывающая каждое мышечное волокно, называется эндомизием. Пучки мышечных волокон сопровождаются соединительно-тканной прослойкой, называемой перимизием. Скелетная мышца окружается фасцией или эпимизием.

Многочисленные ядра в мышечном волокне располагаются под сарколеммой. Цитоплазма мышечного волокна носит название "саркоплазма" и выявляется лучше всего вокруг ядер.

Для волокон характерна продольная и поперечная исчерченность. Продольная исчерченность обусловлена миофибриллами. Поперечная исчерченность миофибрилл зависит от чередования анизотропных (А) и изотропных (И) дисков. Анизотропные и изотропные диски представлены протофибриллами. В анизотропном диске протофибриллы толстые (содержат сократительный белок миозин), а в изотропном — тонкие (содержат сократительный белок актин). В центре изотропного диска находится полоска Z (телофрагма), являющаяся опорной структурой. В мышце, которая находится в расслабленном состоянии, в средней части анизотропного диска образуется светлая полоска H, в центре которой расположена полоска M (мезофрагма) (рис. 1С). В процессе сокращения мышцы происходит взаимное скольжение тонких и толстых нитей, в результате чего происходит вытягивание изотропного диска в анизотропный.

Поперечно-полосатой мускулатуре свойственна физиологическая и репаративная регенерация, при этом образуется большое число недифференцированных клеток — миобластов, дифференцировка которых приводит к образованию мышечного волокна.

Поперечно-полосатая сердечно-мышечная ткань образует миокард. В миокарде различают рабочую и проводящую мускулатуру.

Основная часть миокарда состоит из рабочей мускулатуры, структурной единицей которой является клетка — сердечный миоцит. Эти клетки имеют вытянутую форму и располагаются цепочками. Ядра

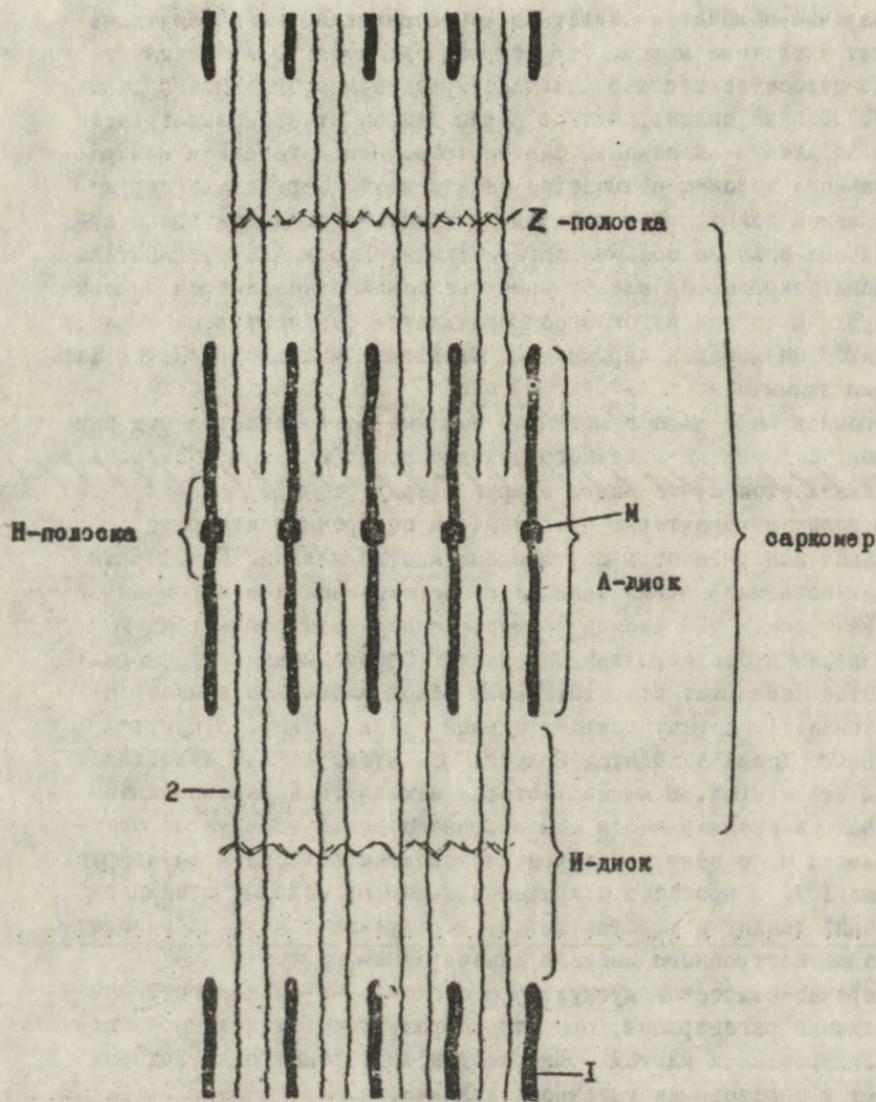


Рис. 1С. Схема расположения протофибрилл в поперечно-полосатой миофибрилле :
I - миозиновые протофибриллы ;
2 - актиновые протофибриллы

овальные, вокруг них заметна саркоплазма. По периферии клеток располагаются миофибриллы. Поперечная исчерченность миофибрилл обусловлена, как и в поперечно-полосатой мышечной ткани, чередованием анизотропных и изотропных дисков. Характерной особенностью клеток сердечной мускулатуры являются вставочные полоски (пластинки), которые являются специализированными частями плазмалеммы. Вставочные полоски обеспечивают прочную связь между клетками и функциональное единство миофибрилл соседних клеток, поскольку миофибриллы прикрепляются к плазмалемме в зоне вставочных пластинок. Кроме плазмалеммы, клетки сердечной мускулатуры покрыты базальной мембраной. Ряды клеток миокарда разделяются соединительно-тканными прослойками.

Проводящая система сердца обеспечивает автоматизм работы сердечной мышцы и согласованность в сокращениях предсердий и желудочков. Состоит из синусного узла, атрио-вентрикулярного узла, пучков Гисса и волокон Пуркинье. Мышечная ткань проводящей системы является атипичной мускулатурой, поскольку отличается слабой сократимостью. В клетках проводящей системы мало митохондрий, но много гликогена, т.е. преобладает анаэробный гликолиз. Миофибрилл мало и они располагаются не параллельно друг другу. Клетки богато иннервированы, что позволяет передавать импульсы с предсердия на желудочки. Строение мышечной ткани в разных участках этой системы различно. Так, клетки атрио-вентрикулярного узла характеризуются небольшим диаметром и большим количеством ядер. Волокна Пуркинье отличаются большим диаметром (в 2-3 раза больше диаметра клеток рабочей мускулатуры), парным расположением ядер, обилием саркоплазмы и слабым развитием миофибрилл. Специфическими признаками характеризуются и другие участки проводящей системы сердца. При повреждении сердечной мышцы замещение дефекта осуществляется соединительной тканью, а компенсация функции — за счет внутриклеточной регенерации.

Препарат №1. Гладкая мышечная ткань в поперечном и продольном разрезе, окраска гематоксилин-эозином.

На продольном разрезе миоциты имеют веретеновидную форму, располагаются пучками, которые окружены эндомизием — прослойкой соединительной ткани с разветвлением сосудов и нервов.

На поперечном разрезе мышечные пучки представлены округлыми

или угловатыми полями, расчлененными на отдельные дольки с разным диаметром (перерезанные мышечные клетки). На продольном разрезе ядра имеют удлиненную форму, а на поперечном — округлую.

Задание. Зарисовать пучки миоцитов в продольном и поперечном разрезе. Отметить мышечные клетки, фибробласты и коллагеновые волокна соединительной ткани [Алмазов И. В., Сутулов Л. С., 1978, с. 185, рис. 218, 219; Елисеев В. Г. и др., 1970, с. 108, рис. 143, с. 109, рис. 150, 151].

Препарат №2. Поперечно-полосатая мышечная ткань (язык кролика), окраска железным гематоксилином.

При малом увеличении рассмотреть поперечные и продольные разрезы мышечных волокон. При большом увеличении на продольном разрезе поперечно-полосатые мышечные волокна имеют цилиндрическую форму. Под сарколеммой располагаются многочисленные овальные ядра. Рассмотреть продольную и поперечную исчерченность волокна.

На поперечном разрезе мышечные волокна имеют округлую или угловатую форму, по периферии которых расположены круглые мышечные ядра. Более отчетливо на поперечном разрезе видны в виде точек, которые распределяются в волокне равномерно, или группы миофибрилл разделяются прослойками саркоплазмы, образуя миофибриллярные поля (поля Конгейма). На поперечном разрезе четко выявляются эндомизий и перимизий.

Задание. Зарисовать продольный и поперечный разрезы волокна, отметить мышечные волокна, сарколемму, ядра мышечных волокон, миофибриллы, диски А и И, миофибриллярные поля, эндомизий и перимизий [Алмазов И. В., Сутулов Л. С., 1978, с. 186, рис. 221, с. 187, рис. 222, с. 188, рис. 223; Елисеев В. Г. и др., 1970, с. 110-117, рис. 152-162].

Препарат №3. Миокард (сердце лошади), окраска железным гематоксилином.

При большом увеличении рассмотреть строение сердечной мышечной ткани на продольном и поперечном разрезе.

Сердечные миоциты вытянуты по форме, на продольном разрезе образуют анастомозы. Ядра овальной формы располагаются в центре клеток, вокруг них заметна саркоплазма. Продольная и поперечная исчерченность клеток обусловлена, как и в поперечно-полосатой мышечной ткани, миофибриллами. Между клетками выявляются поперечные или косо ориентированные перегородки, представляющие собой

вставочные полоски. Клетки миокарда разделяются соединительно-тканными прослойками, которые при фиксации часто сморщиваются и на их месте на препарате образуются щели. В соединительно-тканых прослойках и в толще миокарда встречаются разрезы мелких сосудов.

На поперечном разрезе ячеек проявляются ядра, имеющие круглую форму, и участки саркоплазмы вокруг ядер. Миофибриллы на поперечном разрезе выглядят в виде точек.

Задание. Зарисовать клетки сердечной мышцы, отметить ядра, миофибриллы, вставочную пластинку, прослойки соединительной ткани [Алмазов И.В., Сутулов Л.С., 1978, с. 197, рис. 231; Елисеев В.Г. и др., 1970, с. 120, рис. 167].

Препарат №4. Волокна Пуркинье (сердце быка), окраска гематоксилин-эозином.

Внутреннюю поверхность сердца образует эндокард, имеющий на препарате вид узкого слоя. Между эндокардом и миокардом располагаются волокна Пуркинье, относящиеся к атипичной мускулатуре. Эти крупные клетки неправильной формы отличаются от клеток эндокарда более светлой окраской. Для волокон Пуркинье характерны крупные ядра и большое количество саркоплазмы, в которой располагаются пучки перекрещивающихся миофибрилл. Между волокнами Пуркинье находятся прослойки соединительной ткани.

Задание. Зарисовать клетки атипичной мускулатуры, отметить ядра, миофибриллы [Алмазов И.В., Сутулов Л.С., 1978, с. 325, рис. 385; Елисеев В.Г. и др., 1970, с. 217, рис. 301, с. 218, рис. 302].

3.4 Нервная ткань

Нервная ткань относится к высокоспециализированным тканям. Клетки нервной ткани представлены двумя типами: нейронами (нейроцитами) и клетками нейроглии (глиоцитами). Функция нейронов — генерация и распространение нервных импульсов. Нейроглия является вспомогательной структурой, которая выполняет разграничительную, защитную и трофическую роль и способствует нормальному функционированию нейрона.

Нейроны состоят из тела (ядерная часть, сома или перикарион) и отростков (аксон и дендриты). Дендритов может быть несколько в клетке, аксон у позвоночных всегда один. В зависимости от чис-

ла отростков нейроны бывает униполярные (с одним отростком), биполярные (с двумя отростками) и мультиполярные (с несколькими отростками). Тело нейрона крупное, в нем содержится округлое ядро, бедное хроматином, с одним-двумя ядрышками. В цитоплазме (нейроплазме) нейрона много митохондрий, рибосом, лизосом, хорошо развит аппарат Гольджи. Кроме органоидов, обычно встречаемых в клетках, в нейроплазме имеются органоиды, типичные только для нервных клеток, например тигроид (тигроидное вещество или тельца Ниссля) и нейрофибриллы.

Тигроид представляет комплекс глыбчатых или зернистых структур в нервной клетке, которые заполняют тело нейрона и заходят в дендриты. В аксоне тельца Ниссля отсутствуют. В настоящее время показано, что тигроид - это скопление цистерн гранулярной эндоплазматической сети.

Нейрофибриллы представляют собой нитчатые структуры тела и отростков нейрона. Электронно-микроскопические исследования показали, что нейрофибрилл в нейронах нет, а есть более тонкие нейропротофибриллы. При импрегнации азотно-кислым серебром металлическое серебро осаждается на нейропротофибриллах, что создает видимость толстых нейрофибрилл.

Нейроны являются секреторными клетками, вырабатывающими различные медиаторы, необходимые для осуществления синапса.

Дендриты и аксоны отличаются функциональными и структурными особенностями. Так, в конце разветвлений дендритов генерируется нервный импульс, который по отростку переносится в тело нейрона (центроостремительные отростки). По аксону импульс распространяется на периферию от тела нейрона (центробежные отростки). Дендриты ветвятся и отличаются неравной толщиной на всем протяжении. Они имеют многочисленные шипики, на которых образуются синапсы. Аксон не ветвится и не имеет шипиков, а выходит из конического расширения нейрона, которое носит название "аксонный холмик".

Отростки нейронов, покрытые глияльными клетками, являются нервными волокнами. Нервные волокна бывает двух типов - миелиновые и безмиелиновые (безмиелиновые). Сам отросток нервной клетки в нервном волокне называется осевым цилиндром. Глияльные клетки представлены лемиоцитами (шванновскими клетками).

Безмиелиновое нервное волокно состоит из 3-5 (до 12) осевых

цилиндров, которые окружены цепочкой из шванновских клеток. При этом цитоплазма и плазматическая мембрана шванновской клетки окружают осевой цилиндр и соединяются над ним. В месте соединения образуется двойная плазматическая мембрана — мезаксон. Количество мезаксонов в безмякотном нервном волокне зависит от числа осевых цилиндров.

Мякотное нервное волокно состоит из одного осевого цилиндра, погруженного в цепочку из шванновских клеток. Мякотная или миелиновая оболочка образована многочисленными концентрическими слоями мембран мезаксона шванновских клеток. Снаружи мезаксона располагается цитоплазма и ядро шванновской клетки (рис. II). В состав мембран входит липид миелин, чем и обусловлено название "миелиновая оболочка". На протяжении волокна встречаются участки, представленные осевыми цилиндрами, не прикрытыми миелиновой оболочкой (перехваты Ранвье). Перехваты Ранвье — это места контакта соседних глиальных клеток. Участок между двумя узлами Ранвье называется междуузлем.

Вдоль мякотного волокна отмечаются косые насечки миелина (насечки неврилеммы или насечки Шмидта-Лантермана), которые выглядят как светлые конические расширения мякотной оболочки волокна. С помощью электронного микроскопа показано, что в области насечек происходит смещение слоев мембран миелинового волокна в каком-либо направлении. В результате смещения увеличивается пространство между слоями мембран, что и обуславливает выявление светлой зоны и область насечки выглядит светлой, слабо окрашивающейся.

Шванновские клетки окружаются базальной мембраной, а затем соединительно-тканной прослойкой — эндоневрием.

Нервные отростки оканчиваются на нейронах или клетках, не принадлежащих к нервной системе (рецепторы или эффекторы). Контакт между двумя нейронами или нейроном и рецептором или эффектором называется синапсом.

Синапс состоит из концевой аксона, который содержит синаптические пузырьки (наполненные химическими медиаторами), пресинаптической мембраны (аксолема отростка, приносящего импульс), синаптической щели и постсинаптической мембраны (плазмалема воспринимающего нейрона или рецептора). Возбуждения в синапсах, где имеется щель, передаются с помощью определенного вещества-медиатора. Этот вид синапсов называется "химическим" или "открытым".

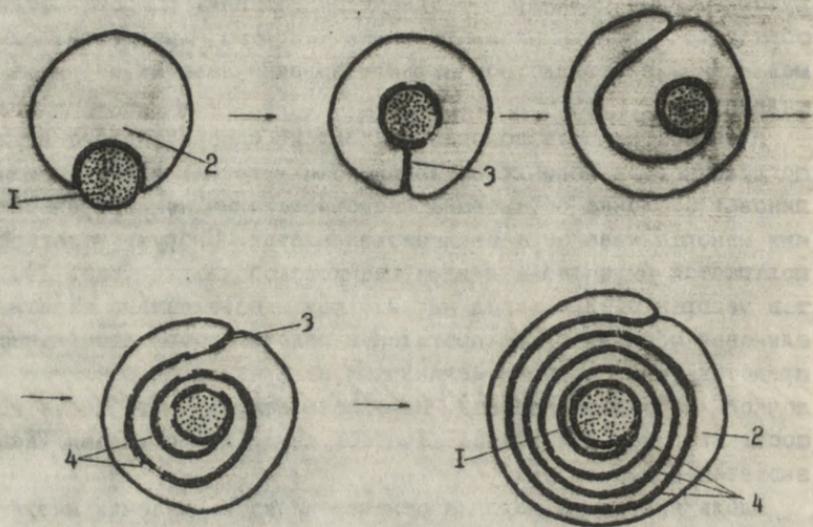


Рис. II Схема образования миелинового (миелинового)
нервного волокна (поперечный разрез):

1-аксон; 2-цитоплазма шванновской клетки;

3-мезаксон; 4-слои миелина

(по Geren)

Существуют и "электрические", или "закрытые", синапсы. В электрическом синапсе мембраны аксона и тела нейрона соприкасаются и передача импульса осуществляется не химическим, а электрическим путем. Данный вид синапса встречается редко.

Различают два типа глиальных клеток - макроглию (эпендимная, астроцитная, мультипотенциальная глия, олигодендроглия) и микроглию.

Астроцитная глия представлена в головном и спинном мозге.

Клетки имеют звездчатую форму и снабжены многочисленными отростками. Имеется два вида астроцитов - плазматические (плазматические) и волокнистые (фибриллярные). Плазматические астроциты встречаются в сером веществе мозга. Они представлены крупными по размерам клетками, для которых характерны короткие и толстые отростки, часто имеющие концевые расширения, они оканчиваются преимущественно на кровеносных сосудах. Волокнистые астроциты встречаются в белом веществе мозга. Отростков у этого типа астроцитов меньше, чем у плазматических, но они длиннее, тоньше и содержат многочисленные фибриллы. Плазматические и волокнистые астроциты заполняют все пространство между нейронами (в этом заключается их опорная функция) и образуют пограничные мембраны между мозгом и мягкой мозговой оболочкой, кровеносными капиллярами и полостями мозга (разграничительная функция). Изолирующая функция астроцитов заключается в том, что они окружают и изолируют тела нейронов, дендриты и нервные окончания.

Эпендимная глия выстилает желудочки мозга, а также центральный канал головного и спинного мозга. Эпендимоциты представлены кубическими по форме клетками, покрытыми ресничками. Мерцание ресничек обуславливает ток cerebrospinalной жидкости. Преобладающее большинство эпендимоцитов имеют разветвленные отростки, которые проходят через всю толщу мозга и соединяются своими утолщенными окончаниями друг с другом, отделяя нервную трубку от окружающих тканей.

Олигодендроглия встречается в белом и сером веществе мозга. В белом веществе мозга олигодендроциты (олигодендроглиоциты) часто располагаются рядами между нервными волокнами, в сером веществе они прилегают к телам нейронов. К олигодендроглии относятся глиоциты - сателлиты, выявляющиеся на поверхности нейронов и лейкоцитов (шванновские клетки), образующие оболочки мякотных и безмякотных нервных волокон. Олигодендроциты мельче, чем

астроциты и от них отходит небольшое число тонких отростков. Благодаря способности к активному синтезу белка и других веществ, часть олигодендроцитов, прилегающих к нейронам, участвует в их питании.

Мультипотенциальная глия описана сравнительно недавно, в 1968 году Зоном, строение и функции её изучены пока недостаточно. Мультипотенциальная глия отличается высокими потенциальными к размножению и дифференцировке. Клетки её в определенных условиях могут превращаться в астроциты, олигодендроциты и макрофаги (в данном случае в них образуется большое количество лизосом). Клетки мультипотенциальной глии характеризуются мелкими размерами и наличием отростков, которые имеют утолщения.

Микроглия представляет собой защитную систему нервной ткани (благодаря способности к фагоцитозу). Клетки микроглии рассеяны по нервной ткани, они вытянутые по форме, имеют большое число тонких отростков, способны к передвижению, причем при движении форма клеток может изменяться.

Препарат №1. Нервные клетки (межпозвоночный ганглий), окраска метиленовым синим.

При малом увеличении найти крупные, округлой формы нейроны (нервные клетки), располагавшиеся группами между нервными волокнами и прослойками соединительной ткани.

Нейроны окружены клетками сателлитами (мантийными клетками). Сателлиты представлены олигодендроглиоцитами. Между сателлитами соседних нейронов располагаются клетки соединительной ткани. На препарате не выявляются контуры клеток сателлитов и соединительной ткани, но хорошо видны их ядра — округлые у сателлитов и удлиненные у соединительной ткани. Между сателлитами и телом нейрона часто имеется щель, образующаяся при сжатии нервной клетки при фиксации.

При большом увеличении рассмотреть нейрон. Цитоплазма нейронов слегка зерниста, ядра более светлые, чем цитоплазма, округлые по форме. В ядре хорошо заметно круглое ядрышко и глыбки хроматина.

Задание. Зарисовать участок ганглия, отметить нейроны, цитоплазму, ядро, ядрышко, хроматин, ядра сателлитов и клеток соединительной ткани [Алмазов И.В., Сутулов И.С., 1978, с. 210, рис. 246, с. 242, рис. 287; Елисеев В.Г. и др., 1970, с. 153, рис. 213, 214].

Препарат №2. Тигроид (нервные клетки спинного мозга), окраска толуидиновым синим.

При малом увеличении рассмотреть нейроны в передних рогах спинного мозга (на фоне слабо окрашенного среза нейроны хорошо выделяются голубой окраской).

При большом увеличении рассмотреть нейроны. Тело клетки имеет угловатую форму. Ядро в клетке округлое, слабо окрашенное, в нем хорошо выявляется окрашенное в синий цвет ядрышко. Тигроид (тельца Ниссля) в виде окрашенных в синий цвет глыбок располагается в цитоплазме, заходит в дендриты, но отсутствует в аксоне. Благодаря тигроиду клетка имеет пятнистый вид.

Задание. Зарисовать нейрон, отметить ядро, ядрышко, глыбки тигроида, дендриты, аксон [Алмазов И.В., Сутулов Л.С., 1978, с. 209, рис. 224; Елисеев В.Г. и др., 1970, с. 123, рис. 171].

Препарат №3. Нейрофибриллы в нервных клетках (спинной мозг собаки), импрегнация серебром по Кахалю.

При малом увеличении в сером веществе мозга (расположенном в глубине мозга и напоминающем по форме бабочку) рассмотреть нейроны. Нейроны окрашены в буровато-коричневый цвет и имеют угловатую форму. На препарате хорошо выявляются отростки нейронов. При большом увеличении рассмотреть в нейронах крупное светлое ядро, а в цитоплазме – многочисленные нейрофибриллы, образующие густую сеть. В отростках нейрофибриллы располагаются вдоль их тела.

Задание: Зарисовать нейрон, отметить тело клетки, ядро, ядрышко, отростки, нейрофибриллы [Алмазов И.В., Сутулов Л.С., 1978, с. 207, рис. 241; Елисеев В.Г. и др., 1970, с. 123, рис. 170].

Препарат №4. Безмякотные нервные волокна (селезеночный нерв быка), окраска гематоксилин – возином.

При большом увеличении рассмотреть в безмякотных нервных волокнах невролемму и осевой цилиндр (аксон). Контуры шванновских клеток, окружающих осевой цилиндр, не видны, но хорошо выявляются их ядра, окрашенные в фиолетовый цвет, которые создают видимость ядер нервных волокон.

Задание. Зарисовать группу безмякотных нервных волокон, отметить безмякотное нервное волокно, ядра шванновских клеток [Алмазов И.В., Сутулов Л.С., 1978, с. 226, рис. 267; Елисеев В.Г. и др., 1970, с. 140, рис. 196].

Препарат №5. Мякотные нервные волокна (седалищный нерв лягушки), обработка осмиевой кислотой.

При малом увеличении выбрать отдельно лежащие нервные волокна. При большом увеличении рассмотреть строение мякотного (миелинового) нервного волокна. В центре волокна располагается светлый по окраске осевой цилиндр (аксон), окруженный черной миелиновой оболочкой (осьмий окрашивает лишь мякотные оболочки). В миелиновой оболочке рассмотреть перехваты Ранвье (место контакта двух соседних шванновских клеток), в которых осевой цилиндр не покрыт оболочкой. Насечки Шмидта-Лантермана выглядят в виде светлых надрезов, образовавшихся в результате смещения слоев миелина в мякотной оболочке.

Задание. Зарисовать мякотное нервное волокно, отметить осевой цилиндр, мякотную оболочку, перехват Ранвье, насечки Шмидта-Лантермана [Алмазов И.В., Сутулов Л.С., 1978, с. 227, рис. 268, с. 229, рис. 271, 272; Елисеев В.Г. и др., 1970, с. 135, рис. 189, с. 136-139, рис. 190-195].

Препарат Жб. Мякотные нервные волокна в поперечном разрезе (седалищный нерв лягушки), обработка осмиевой кислотой.

На препарате окрашенными являются лишь мякотные оболочки нервных волокон. Осевые цилиндры остаются неокрашенными. Между нервными волокнами проходит слой соединительной ткани - эндоневрий. Пучки волокон окружены более мощным слоем соединительной ткани - периневрием.

Задание. Зарисовать участок поперечного разреза мякотного нервного волокна, отметить мякотные нервные волокна в поперечном разрезе, эндоневрий, периневрий [Алмазов И.В., Сутулов Л.С., 1978, рис. 169, 270; Елисеев В.Г. и др., 1970, с. 135, рис. 189].

Литература

- Алмазов И.В., Сутулов Л.С. Атлас по гистологии и эмбриологии. -М.: Медицина, 1978. -544 с.
- Гистология / Под ред. В.Г.Елисеева и др. 3-е изд. -М.: Медицина, 1983. -592 с.
- Елисеев В.Г., Афанасьев Ю.А., Котовский Е.Ф. Атлас микроскопического и ультрамикроскопического строения клеток, тканей и органов. 2-е изд. -М.: Медицина, 1970. -400 с.
- Заварзин А.А. Основы частной цитологии и сравнительной гистологии многоклеточных животных. -Л.: Наука, 1976. -411 с.
- Заварзин А.А., Харазова А.Д. Основы общей цитологии: Учеб. пособие. -Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1982. -240 с.
- Кацнельсон З.С., Рихтер И.Д. Практикум по цитологии, гистологии и эмбриологии. 3-е изд., перераб. и доп. -Л.: Колос, 1979. -312 с.
- Кухтина Ж.М. Руководство к практическим занятиям по цитологии. -М.: Просвещение, 1977. -III с.
- Малый практикум по цитологии / Под ред. Ю.С.Ченцова. -М.: Изд-во Мос. ун-та, 1977. -288 с.
- Ролан Ж.-К., Сёлоши А., Сёлоши Д. Атлас по биологии клетки. -М.: Мир, 1978. -118 с.
- Паушева З.П. Основы работы с биологическим микроскопом при использовании различных методов наблюдения. -М.: Изд-во Мос. с/х академии, 1969. -52 с.
- Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. 2-е изд., перераб. и доп. -М.: Колос, 1974. -289 с.
- Робертис Е. де, Новинский В., Саев Ф. Биология клетки. -М.: Мир, 1973. -487 с.
- Хэм А., Курмак Д. Гистология. -М.: Мир, 1982, т. I -272 с., т. 2 -254 с., т. 3 -293 с.
- Ченцов Ю.С. Общая цитология. Учебник. 2-е изд. -М.: Изд-во Мос. ун-та, 1984. -352 с.
- Шубникова Е.А. Лекции по гистологии. -М.: Изд-во Мос. ун-та, 1974. -272 с.

Оглавление

1. Световая микроскопия	3
Устройство микроскопа МБР -I	3
Правила работы с микроскопом	9
Оптические методы исследования клеток и тканей	10
2. Цитология	13
Ядро	13
Хромосомы	16
Деление клетки	30
Митоз	35
Хлоропласты, митохондрии и аппарат Гольджи	40
3. Гистология	45
3.1. Эпителиальная ткань	45
Однослойный эпителий	46
Многослойный эпителий	48
Эпителий желез	49
3.2. Ткани внутренней среды	51
Кровь	52
Рыхлая соединительная ткань	54
Плотная соединительная ткань	56
Хрящевая ткань	58
Костная ткань	60
3.3. Мышечная ткань	64
3.4. Нервная ткань	69
Литература	77

Светлана Игоревна Цитленок
Алла Анатольевна Козлова

ПРАКТИКУМ ПО ЦИТОЛОГИИ И ГИСТОЛОГИИ
ИБ 1509

Редактор Л.И. Двканова

Формат 60x84 I/I6	Подписано в печать 21.05.85.	КЗ 02099
Печать офсетная	Бумага типографская № 3	
Тираж 500 экз.	Печ.л. 5,0 Усл.печ.л. 4,65.Уч.-изд.л. 4, I	
	Заказ 519	Цена 70 к.

Издательство ТГУ, 634029, Томск, ул.Никитина, 4 .
Ротапринт ТГУ, 634029, Томск, ул.Никитина, 4 .

1-59874
Digital Library (repository)
of Tomsk State University
<http://vital.lib.tsu.ru>

70 к.

Томский госуниверситет 1878



Научная библиотека 01013558



ИЗДАТЕЛЬСТВО
ТОМСКОГО
УНИВЕРСИТЕТА