

Методы исследования гистологии

Для студентов I курса вечернего отделения лечебного факультета

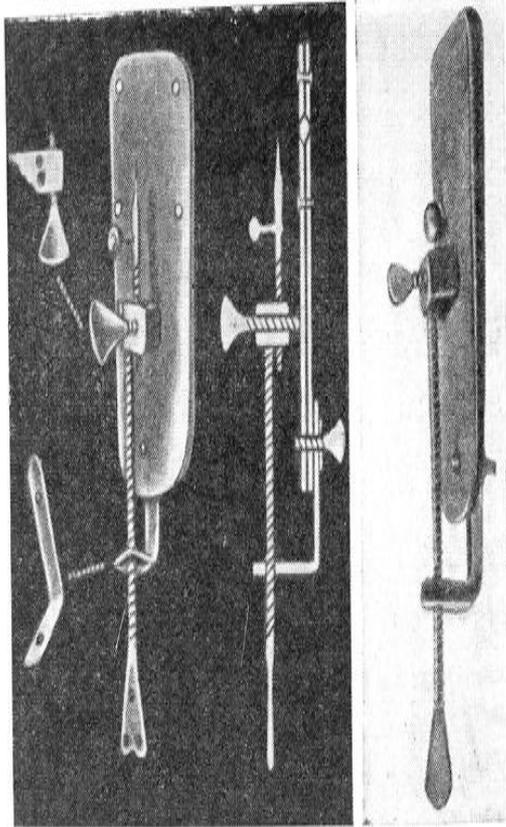


Авторы: профессор Мурзабаев Х.Х., доцент Халиков А.А.

План лекции:

- 1. Основные положения теории микроскопа**
- 2. Разновидности микроскопирования**
 - 2.1. Обычная световая микроскопия**
 - 2.2. Специальные виды световой микроскопии**
- 3. Электронная микроскопия**
- 4. Специальные немикроскопические методы**
- 5. Этапы изготовления микропрепаратов для световой и электронной микроскопии**

История микроскопа



4. «Микроскоп» А. ван Левенгука, в натуральную величину

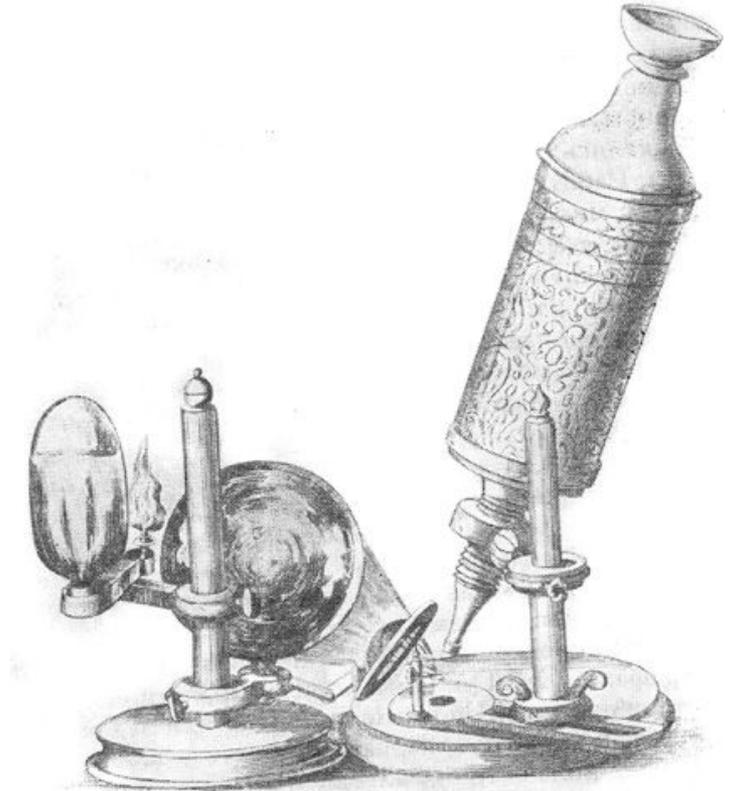
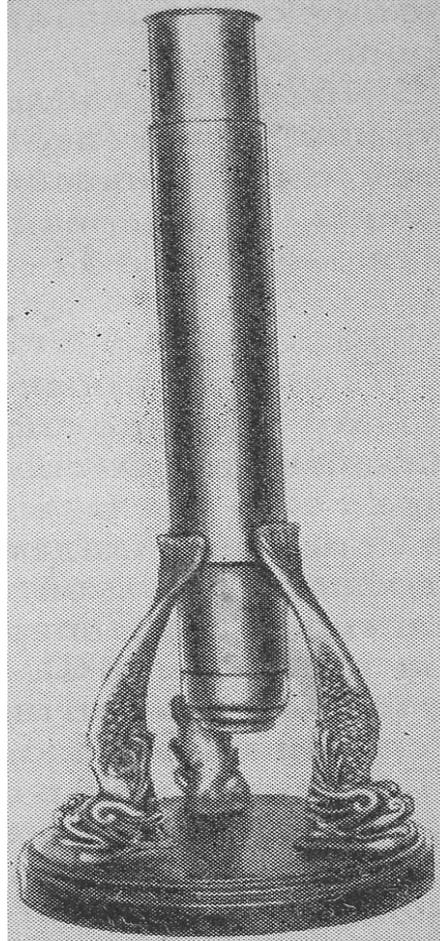


Рис. 9. Микроскоп Роберта Гука (из С. Л. Соболя)

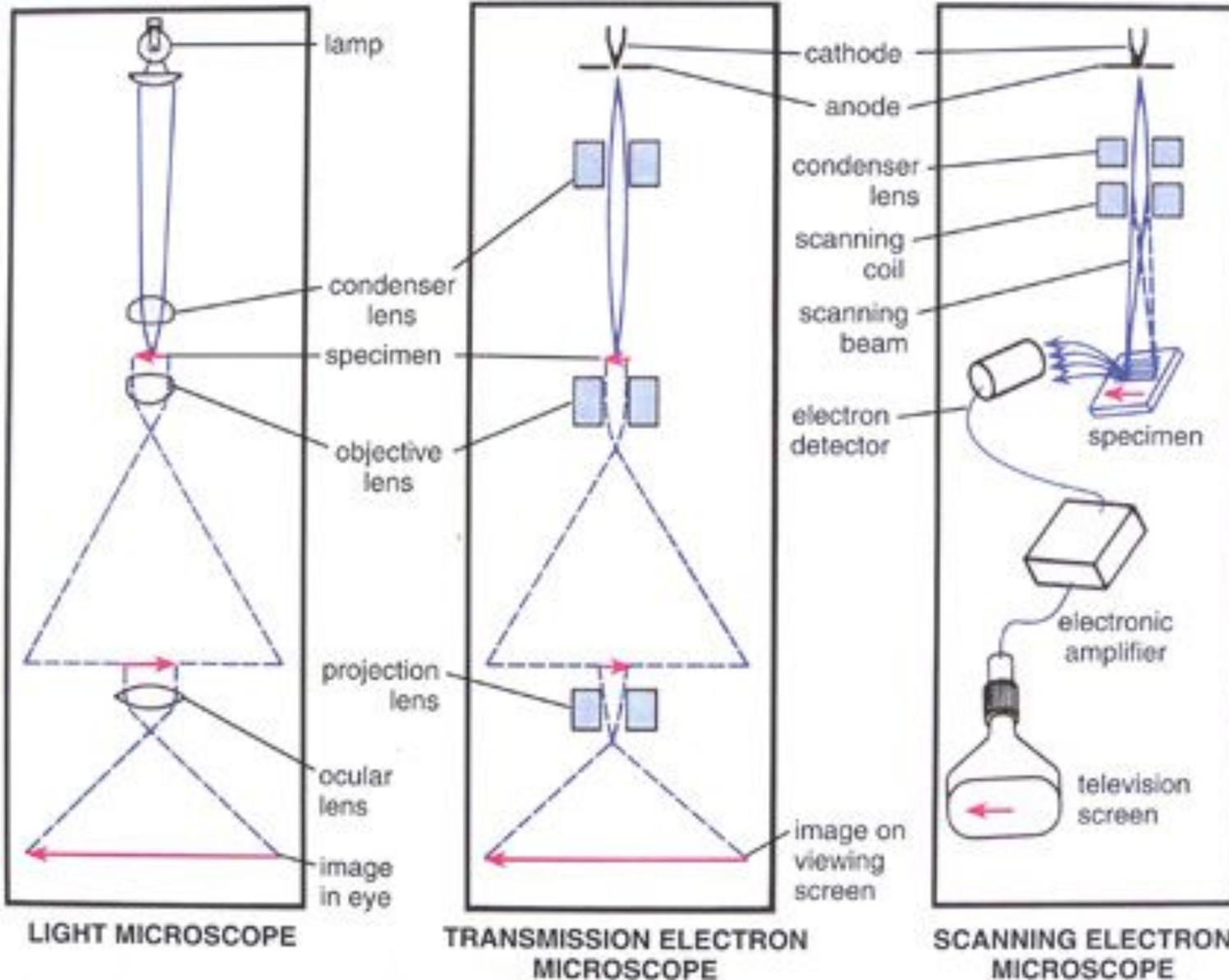
Первые примитивные микроскопы

1609 г Галилео Галилей

Основной метод - микроскопирование

Микроскопирование - это получение изображения изучаемого объекта, при помощи потока частиц (при световой микроскопии – фотоны, при электронной – быстрые электроны). При встрече с объектом часть частиц отражается, часть - поглощается, часть – отклоняются, далее частицы собираются при помощи системы управления потоком частиц (оптические линзы, электромагнитное поле) и получается увеличенное изображение объекта на сетчатке глаза исследователя или на экране.

Микроскопирование



Теория микроскопа

Разрешающая способность микроскопа – минимальное расстояние между 2-мя точками, которые воспринимаются глазом под микроскопом как 2 отдельные точки и не сливаются в одно. Чем меньше это расстояние, тем выше разрешающая способность микроскопа, тем более мелкие детали можно разглядеть под микроскопом.

Виды микроскопов

I. Световой

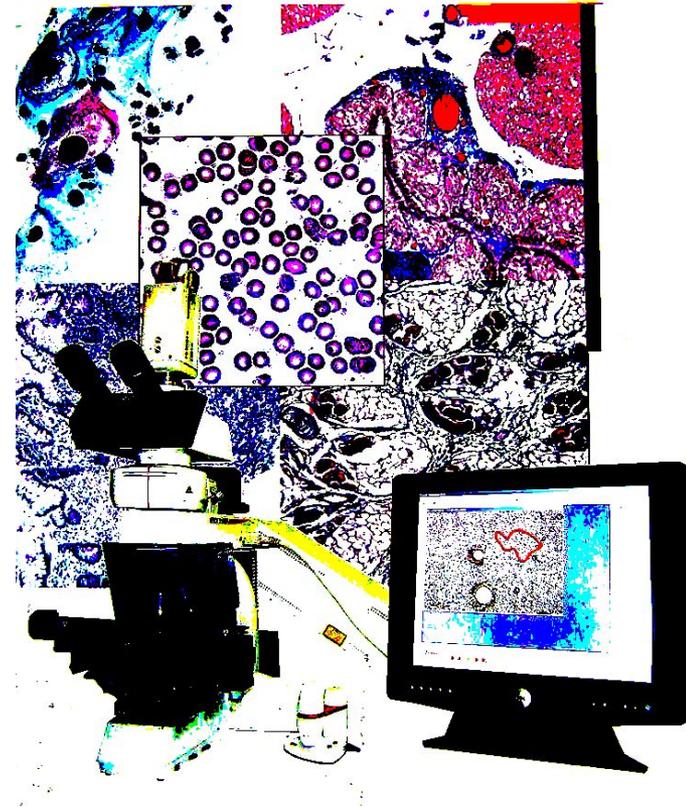
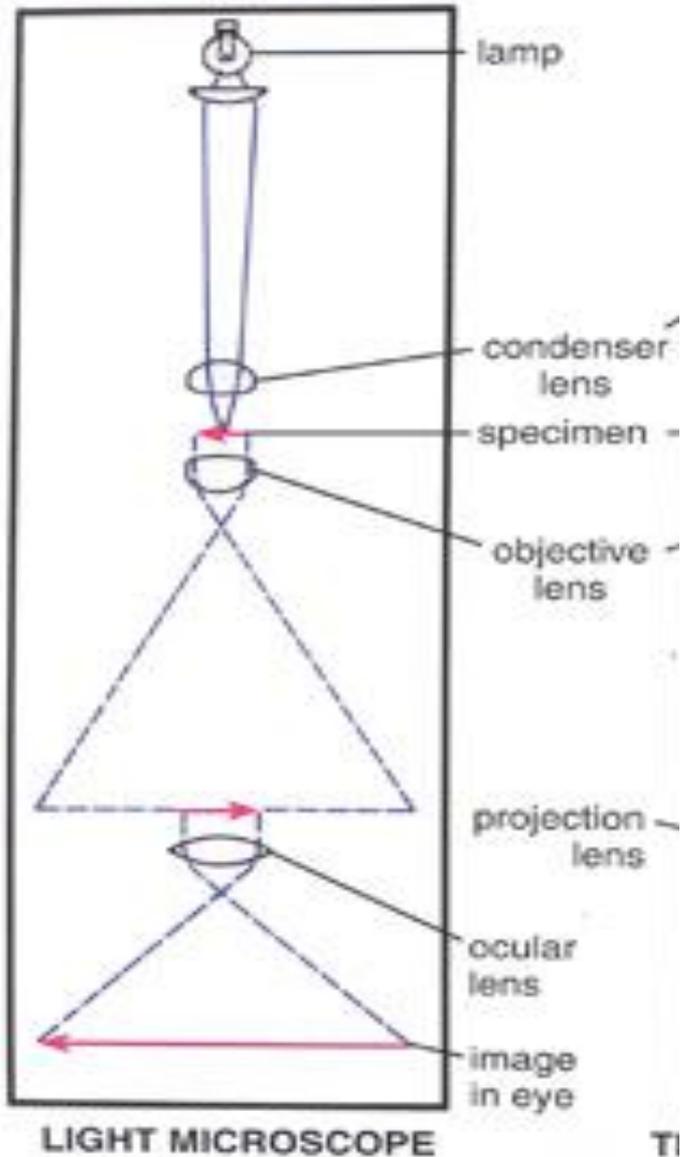
- 1.1. Обычный световой микроскоп
- 1.2. Специальные световые микроскопы
 - 1.2.1. Фазовоконтрастный микроскоп
 - 1.2.2. Темнопольный микроскоп
 - 1.2.3. Люминесцентный микроскоп
 - 1.2.4. Ультрафиолетовый микроскоп
 - 1.2.5. Интерференционный микроскоп
 - 1.2.6. Поляризационный микроскоп

II. Электронный

- 2.1. Трансмиционный электронный микроскоп
- 2.2. Сканирующий (растровый) электронный микроскоп

III. Ультрасовременные микроскопы

Обычный световой микроскоп



Объект микроскопируется в потоке обычного дневного света

Фазовоконтрастный микроскоп

Используется для изучения **живых неокрашенных** объектов, позволяет преобразовать не воспринимаемые глазом разность в фазовых сдвигах пучка света при прохождении через различные структуры объекта в разность изменения амплитуды колебания, т.е. в разность силы света, поэтому одни объекты воспринимаются как более светлые, а другие как более темные и создается картинка.

Темнопольный микроскоп

Используется для изучения **живых неокрашенных** объектов - на объект падают только боковые лучи от осветителя, центральные лучи задерживаются светонепроницаемой пластинкой конденсора, поэтому в линзы объектива поступают только отклоненные при прохождении через объект лучи. В результате на темном фоне поля зрения появляется светящийся рисунок объекта.

Люминесцентный микроскоп

Используется для изучения **живых неокрашенных флюоресцирующих объектов**. Объект обрабатывают слабым раствором флюорохрома, при освещении объекта УФ-лучами структуры клетки связавшие флюорохром поглощают УФ-лучи и переходят в состояние возбуждения и испускают лучи видимые глазом.

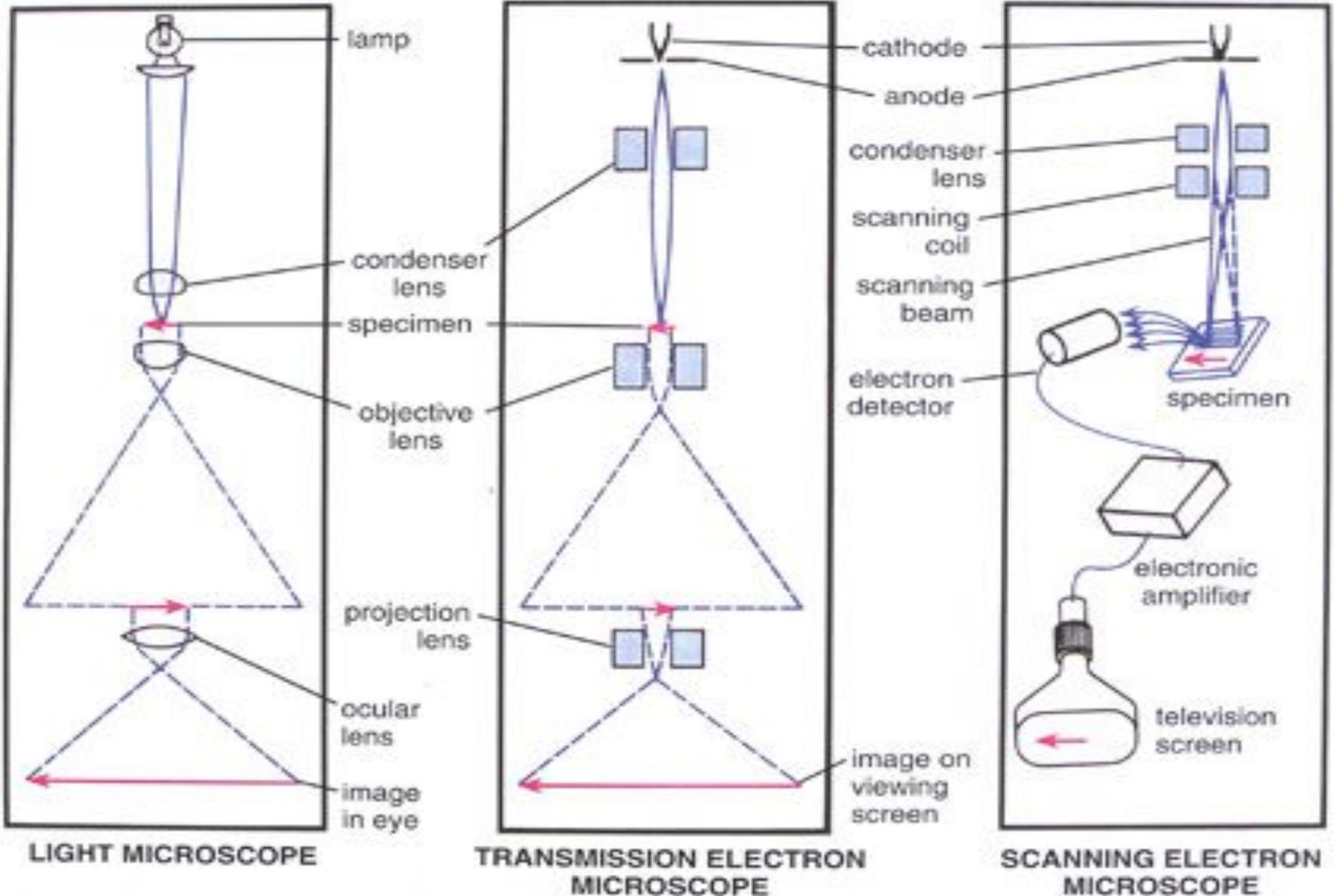
Ультрафиолетовый микроскоп

Имеет в **2 раза** большую разрешающую способность по сравнению с обычным световым микроскопом, так как объект освещается УФ-лучами, длина волны которых в 2 раза меньше, чем у обычного видимого света. Позволяет увидеть более мелкие детали.

Поляризационный микроскоп

Используется для исследования объектов с упорядоченным расположением молекул и поэтому обладающих свойством анизотропии, т.е. свойством двойного лучепреломления - скелетная мускулатура, коллагеновые волокна и т.д.), при этом объект освещается поляризованным светом

Электронный микроскоп



Электронный микроскоп

Обладает самой **высокой разрешающей способностью** (теоретически **в 100000 раз выше**, чем в световом микроскопе), увеличивает объект до **150000 раз**. В электронном микроскопе объект **освещается** не потоком света, а потоком **быстрых электронов**, потоком электронов управляет магнитное поле от электромагнитных катушек. Электронные микроскопы бывают 2 типов:

- **трансмисионная** (изучение объектов на просвет)
- **сканирующий** (изучение поверхности объектов).

Суперсовременные микроскопы

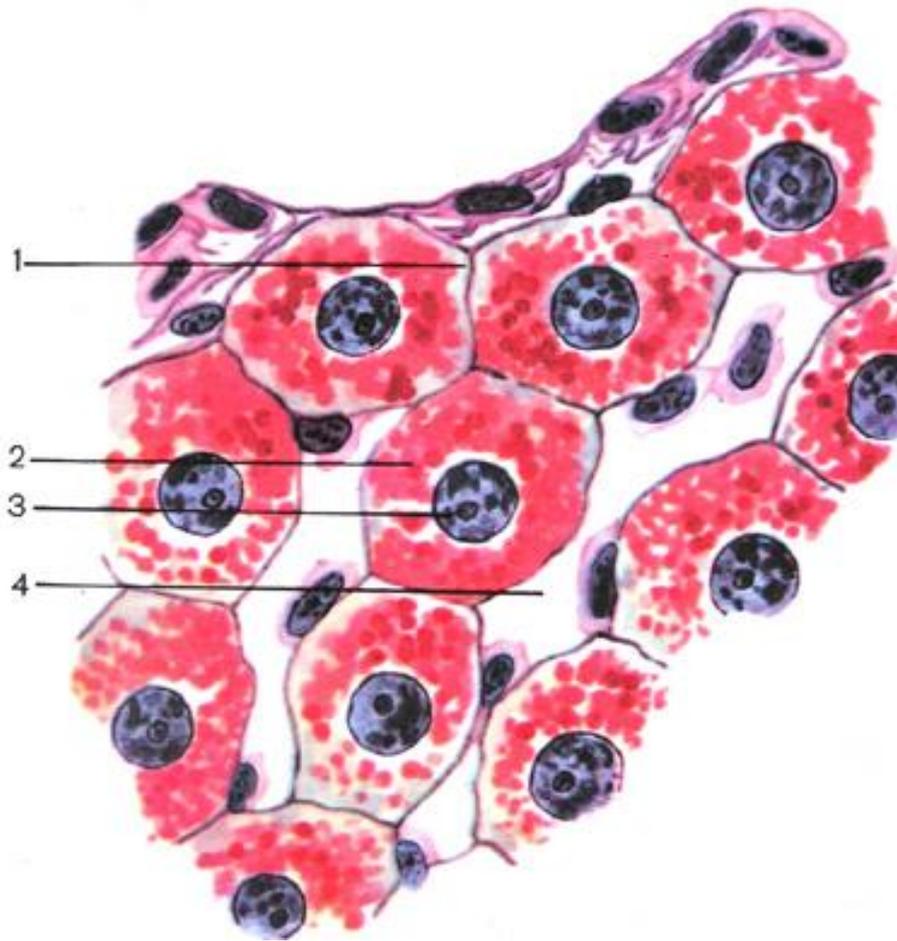
1. **Компьютерная интерференционная микроскопия** – позволяет получить высококонтрастное изображение при наблюдении субклеточных структур.
2. **ЯМР-интроскопия.**
3. **Позитронная эмиссионная томография.**
4. **Рентгеновская микроскопия.**

Цито- и гистохимический метод

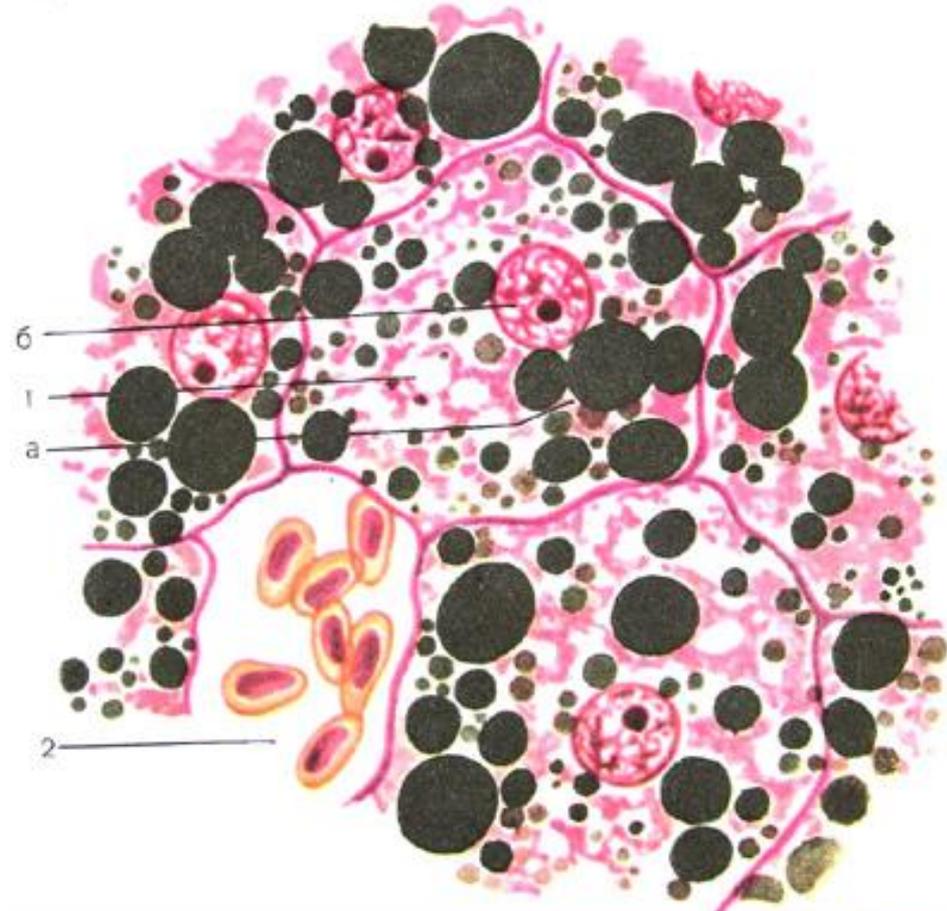
Суть заключается использовании строгоспецифических химических реакций в клетках и тканях с цветным конечным продуктом для выявления наличия различных веществ (белков, ферментов, жиров, углеводов и т.д.)



Цито- и гистохимический метод



Гликоген

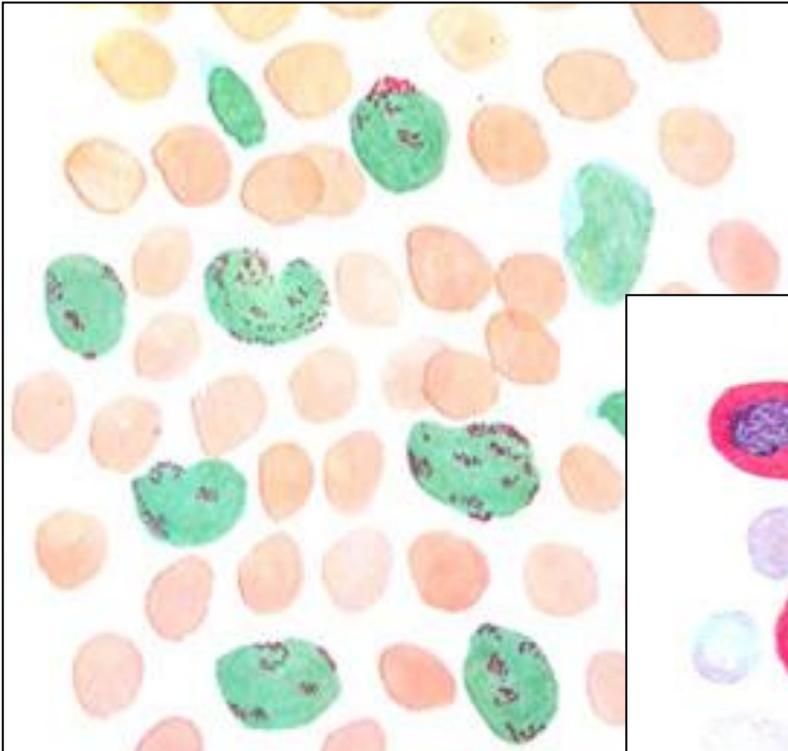


Жир

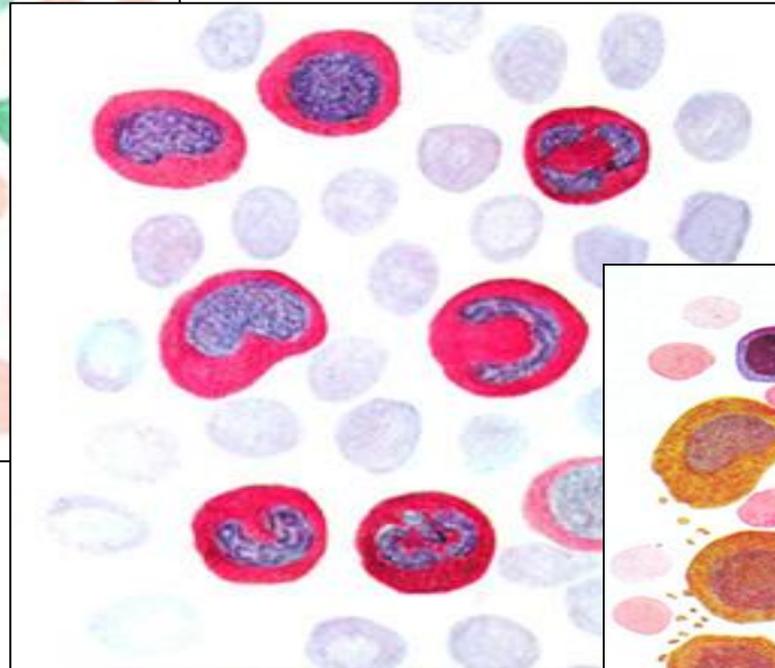
в гепатоцитах

Цито- и гистохимический метод

Цитохимическая реакция в лейкоцитах



Кислая фосфатаза



Гликоген



Миелопероксидаза

Цитофотометрия

Применяется для оценки результатов цито- и гистохимических реакций и дает возможность определить количество выявленных цитогистохимическим методом веществ в клетках тканей (белки, ферменты и т.д.).

Авторадиография

Вводят в организм вещества, содержащие **радиоактивные изотопы** химических элементов (H, C, I и.т.д). Эти вещества включаются в обменные процессы в клетках. **Локализацию**, дальнейшие **перемещения** этих веществ в органах **определяют** на гистопрепаратах по излучению, которое улавливается **фотоэмульсией**, нанесенной на препарат, и **проявленной** после экспозиции в темноте обычными фотографическими способами

Рентгеноструктурный анализ

Позволяет по спектру поглощения рентгеновских лучей определить количество химических элементов в клетках, изучить молекулярную структуру биологических микробиологических объектов.

Этапы изготовления гистологических микропрепаратов для световой микроскопии

- 1. Взятие материала.**
- 2. Фиксация**
- 3. Промывка**
- 4. Обезвоживание**
- 5. Уплотнение**
- 6. Изготовление срезов**
- 7. Окрашивание срезов.**
- 8. Обезвоживание окрашенных срезов**
- 9. Просветление срезов**
- 10. Заключение микропрепарата в защитную среду**

Этапы изготовления ультрамикрорефератов для электронной микроскопии

- 1. Взятие материала**
- 2. Предфиксация**
- 3. Промывка**
- 4. Дополнительная фиксация**
- 5. Промывка.**
- 6. Обезвоживание**
- 7. Пропитывание**
- 8. Заливка кусочков в эпоксид или аралдит и полимеризация**
- 9. Изготовление срезов**
- 10. Контрастирование**
- 11. Заключение микропрепарата на несущую металлическую сетку.**

A scenic view of a forested valley with rolling hills and a river in the distance. The foreground shows a rocky outcrop on the left side. The text is overlaid in the center of the image.

КОНЕЦ ЛЕКЦИИ
БЛАГОДАРИМ ЗА ВНИМАНИЕ !