**Билет 1**

**А**

Представлены два препарата трубчато-полостных структур. В первом- эпителий многослойный плоский неороговевающий, мышечная пластинка слизистой оболочки представлена отделтными пучками гладкл-мышечных клеток, слабо развита. Во втором - эпителий многорядный мерцательный, мышечная пластинка слизистой отсутствует.

1.4. На первом препарате пищевод, на втором препарате трахея.

Эпителиальные ткани

Покрывают поверхность тела и внутренние поверхности органов. Два основных вида эпителиальных тканей: покровные и железистые.

Общие признаки для эпителиев:

1) Эпителиальные клетки объединяются и образуют пласты, лежащие на границе с внешней средой с одной стороны и соединительной тканью с другой

2) Эпителиальный пласт всегда лежит на базальной мембране, отграничивающей его от подлежащей соединительной ткани

3) Между клетками отсутствует межклеточное вещество, хорошо развиты разнообразные межклеточные контакты

4) Выражена полярная дифференцировка клеток, т.е. различия в строении их апикальной и базальной части

5) В эпителии отсутствуют кровеносные сосуды, и его питание осуществляется путем диффузии веществ из сосудов расположенных в подлежащей соединительной ткани

6) Эпителиальные ткани обладают высокой способностью к регенерации

Однослойные эпителии – все клетки своими основаниями лежат на базальной мембране, а их верхушка (апикальная часть) обращена во внешнюю среду.

1) Однослойный плоский эпителий характерен для серозных оболочек (плевра, брюшина, перикард) и называется мезотелием.

2) Однослойный кубический эпителий покрывает изнутри собирательные трубочки мозгового вещества почки, а снаружи яичник

3) Однослойный призматический эпителий характерен для желудка, матки, тонкой и толстой кишки, желчного пузыря, выводных протоков печени , поджелудочной железы.

А) Призматический каемчатый (состоит из клеток с большим количеством микроворсинок

Б) Призматический железистый (состоит из клеток вырабатывающих слизистый секрет)

4) Многорядный призматический реснитчатый эпителий ( дыхательные пути, маточные трубы)

Многослойные эпителии- на их базальной мембране лежит только один слой клеток ( базальный ), а клетки всех остальных слоев не соприкасаются с базальной мембраной и расположены на нижележащих.

1) Многослойный плоский ороговевающий –хорошо развит роговой слой, состоящий из чешуек отмирающих клеток( эпидермис кожи)

2) Неороговевающий – 3 основных слоя: базальный, шиповатый и слой плоских клеток ( слизистые оболочки пищевода,ротовой полости,влагалища, наружный слой роговицы)

3) Переходный эпителий – способен менять форму ,преходить из многослойного в двухслойный и наоборот ( мочевой пузырь, мочеточники, лоханки почки)

Железистый эпителий – состоит из железистых клеток-гландулоцитов.

2. Гистологический препарат любой формы должен отвечать следующим требованиям:

\* сохранять прижизненное состояние структур;

\* быть достаточно тонким и прозрачным для изучения его под микроскопом в проходящем свете;

\* быть контрастным, то есть изучаемые структуры должны под микроскопом четко определяться;

\* препараты для световой микроскопии должны долго сохраняться и использоваться для повторного изучения.

Выделяют следующие этапы приготовления гистологического препарата.

Взятие материала (кусочка ткани или органа) для приготовления препарата. При этом учитываются следующие моменты:

\* забор материала должен проводиться как можно раньше после смерти или забоя животного, а при возможности от живого объекта (биопсия), чтобы лучше сохранились структуры клетки, ткани или органа;

\* забор кусочков должен производиться острым инструментом, чтобы не травмировать ткани;

\* толщина кусочка не должна превышать 5 мм, чтобы фиксирующий раствор мог проникнуть в толщу кусочка;

\* обязательно производится маркировка кусочка (указывается наименование органа, номер животного или фамилия человека, дата забора и так далее).

Фиксация материала необходима для остановки обменных процессов и сохранения структур от распада. Фиксация достигается чаще всего погружением кусочка в фиксирующие жидкости, которые могут быть простыми спирты и формалин и сложными раствор Карнуа, фиксатор Цинкера и другие. Фиксатор вызывает денатурацию белка и тем самым приостанавливает обменные процессы и сохраняет структуры в их прижизненном состоянии. Фиксация может достигаться также замораживанием (охлаждением в струе СО2, жидким азотом и другие). Продолжительность фиксации подбирается опытным путем для каждой ткани или органа.

Заливка кусочков в уплотняющие среды (парафин, целлоидин, смолы) или замораживание для последующего изготовления тонких срезов.

Приготовление срезов на специальных приборах (микротоме или ультрамикротоме) с помощью специальных ножей. Срезы для световой микроскопии приклеиваются на предметные стекла, а для электронной микроскопии — монтируются на специальные сеточки.

Окраска срезов или их контрастирование (для электронной микроскопии). Перед окраской срезов удаляется уплотняющая среда (депарафинизация). Окраской достигается контрастность изучаемых структур. Красители подразделяются на основные, кислые и нейтральные. Наиболее широко используются основные

красители (обычно гематоксилин) и кислые (эозин). Нередко используют сложные красители.

Просветление срезов (в ксилоле, толуоле), заключение в смолы (бальзам, полистерол), закрытие покровным стеклом. После этих последовательно проведенных процедур препарат может изучаться под световым микроскопом.

Из тканей жидкой консистенции (кровь, костный мозг и другие) изготавливаются препараты в виде мазка на предметном стекле, которые также фиксируются, окрашиваются, а затем изучаются.

Из ломких паренхиматозных органов (печень, почка и другие) изготавливаются препараты в виде отпечатка органа: после разлома или разрыва органа, к месту разлома органа прикладывается предметное стекло, на которое приклеиваются некоторые свободные клетки. Затем препарат фиксируется, окрашивается и изучается.

Наконец, из некоторых органов (брыжейка, мягкая мозговая оболочка) или из рыхлой волокнистой соединительной ткани изготавливаются пленочные препараты путем растягивания или раздавливания между двумя стеклами, также с последующей фиксацией, окраской и заливкой в смолы.

**Часть Б**

Окраска по Паппенгейму

Красители:

1) Мая-Грювальда Мая-Грювальда 0.3% ( 300 мг порошка краски растворяют в 100 мл метилового спирта)

2) Азур 2( 1 г порошка растворяют в 1000мл кипящей воды)

3) Эозин К или Na ( Для первого берут 1 г порошка и растворяют в 1000мл кипящей воды, для второго 0.5 г порошка на тоже количество воды)

Ход окрашивания:

1) Фиксируют мазки в метаноле 3 мин

2) Окрашивают в течение 10 мин в растворе состава: 1 часть красителя Мая-Грюнвальда на 4 части дистилированной воды

3) Докрашивают

**Билет 2**

Часть А

Предложены 2 препарата без названий. На одном препарате виден многослойный плоский неороговевающий эпителий, в подслизистой основе расположеныслизисто-белковые железы. На другом –глубокие ямочки и железы в собственной пластинке слизистой оболочки.

1.3 Определите окраску данных препаратов

1.4. определите отделы пищеварительного тракта, представленные на данных препаратах. Дайте общую характеристику, топографию, строение пищеварительной системы.

2. дайте характеристику уплотнению материала:

А) Обезвоживание

Б) Заливка в плотные застывающие среды-парафин, целлоидин

Часть Б

Окраска по Алексееву

**Ответ:** *На первом препарате подчелюстная железа, на втором – желудок.*

1.4 Общая характеристика, топография, строение пищеварительной системы

Пищеварение – комплексный процесс, включающий механическую, физическую, химическую и ферментативную обработку пищи, а также обеспечение всасывания и усвоения питательных веществ

\* Стенка пищеварительной трубки состоит из 4 оболочек:

\* Слизистая (tunica mucosa)

\* Подслизистая основа ( tela submucosa)

\* Мышечная оболочка (tunica muscularis)

\* Внешняя оболочка – адвентициальная или серозная

2. После промывания кусочки подвергают дальнейшему уплотнению путем обезвоживания в спиртах увеличивающейся концентрации. Для проведения процедуры приготавливают необходимое количество бюксов или стаканчиков с притертыми крышками,(можно использовать не большие банки с завинчивающейся крышкой ) этикетируют их и заливают спиртами: 50, 60, 70, 80 и 96% (по два стаканчика), 100% (два стаканчика). Такой последовательный ряд сосудов получил название гистологической батареи. Спирты нужной крепости приготавливают заранее по специальной таблице разведения из 96 или 95 % этилового спирта ЗАЛИВКА В ПАРАФИН Этот метод широко распространен в исследовательских гистологических лабораториях благодаря относительной быстроте заливки (в течение 1—2 дней после обезвоживания), возможности приготовления серийных срезов, а также тонких срезов для цитологических исследований (толщина 2—3 мкм), удобству хранения блоков и неокрашенных срезов (практически неограниченное время). К недостаткам метода следует отнести значительное сжатие исследуемого материала (до 20%), вызываемое воздействием высокой температуры в процессе пропитывания парафином. Богатые водой, рыхлые ткани малопригодны к заливке в парафин. Известное неудобство представляет необходимость удаления парафина из срезов перед их окраской. Заливка ткани в целлоидин Целлоидин — хорошо растворяющаяся в эфире нитроклетчатка. В гистологической практике применяют 2 %, 4 % и 8 % растворы целлоидина, которые готовят из целлоидиновых пластин или отмытой от эмульсии и высушенной рентгеновской пленки. Заливка ткани в целлоидин стала в настоящее время менее популярной, чем парафиновая, и ее применяют главным образом для обработки труднорежущихся тканей и объектов больших размеров, с которых трудно получить хорошие парафиновые срезы. Целлоидиновую заливку используют также в тех случаях, когда необходимо избежать воздействия на исследуемый материал высоких температур. Кроме того, заливка материалов в целлоидин позволяет получить лучшие результаты при наличии в объектах больших полостей, лакун и слоев различной консистенции. Эфир и сухой целлоидин огнеопасны, поэтому при работе с ними необходима осторожность. Обезвоженный материал помещают в смесь 100 % спирта с эфиром (1:1) на 4—6ч, переносят в 2 % раствор целлоидина на 2—3 дня, затем в 4 % и 8 % растворы на 5—7 дней в каждый. Пропитанный кусочек заливают свежим 8 % целлоидином и уплотняют в парах хлороформа (в эксикаторе). Уплотненный таким образом материал заливают 70 % спиртом для хранения. Вырезанные блоки наклеивают густым целлоидином на деревянные колодки на 1 суток перед резкой.

Часть Б

Срочное окрашивание по Алексееву

1. фиксируют в подогретом до 35-400С растворе Мая-Грюнвальда в течение 30с

2. Ополаскивают водой

3. Окрашивают в 0,1% растворе азур-эозина (в соотношении 2:1) в
течение 2 мин.

4. Ополаскивают золой.
 5. Промокают, высушивают.

Билет 3

Часть А:

1. Было взято 2 кусочка из различных отделов желудка, приготовлены препараты. При просмотре оказалось, что это препараты дна и пилорической части желудка.

1.4. Назовите по каким особенностям строения желёз это определили, а также строение и функцию пищевода, слюнных желёз.

2. Назовите схему заливки в парафин от фиксации материала до приготовления блока.

Часть Б:

Окраска по методу Якимовой.

1.4. Особенности строения пилорической части желудка: (1) наличие глубоких желудочных ямок; (в области дна – ямки неглубокие; (2) особенности строения пилорических желез: это (а) простые трубчатые, но сильно разветвленные железы, поэтому на препарате видны как продольные, так и поперечные сечения концевых отделов; (б) они расположены значительно реже, чем фундальные железы, поэтому между концевыми отделами хорошо видна рыхлая волокнистая соединительная ткань собственной пластинки слизистой; (в) концевые отделы имеют широкий просвет; (г) секреторные концевые отделы образованыслизистыми клетками (и эндокриноцитами), характерные для фундальных желез париетальные клетки (крупные ацидофильные) и главные клетки (с базофильной цитоплазмой) отсутствуют. 3) особенности строениямышечной оболочки: она толстая (в отличие от мышечной оболочки дна) и состоит из двух слоев: циркулярного и продольного, при этом циркулярный слой очень мощный, образует пилорический сфинктер.

Строение и функции пищевода: В стенке пищевода выделяют 3 слоя, которые идут в направлении изнутри наружу следующим образом:

\* Слизистая оболочка – самый внутренний слой, легко обновляется, имеет складчатую структуру, содержит клетки, вырабатывающие слизь слабощелочного характера, и многочисленные рецепторы, несущие информацию в регуляторные центры относительно процесса акта глотания и продвижения пищи по пищеводу.

\* Подслизистый слой – он достаточно рыхлый, здесь находятся богатые артериальное, венозное, нервное и лимфатическое сплетения.

\* Мышечный слой – представлен двумя видами волокон, в верхней трети находятся поперечнополосатые мышцы, а ниже – гладкомышечные волокна, располагающиеся также в 2 слоя. Внутри почти по спирали идут циркулярные волокна, а снаружи – продольные.

\* Адвентиция – наружная оболочка пищевода, здесь проходят нервные волокна и кровеносные сосуды пищевода.

Основная функция пищевода – проведение пищи из ротовой полости в желудок. Попав в просвет пищевода, пищевой комок вызывает расширение стенок пищевода впереди себя и их смыкание сзади на протяжении 5-6 см. Сокращение же продольных мышц проталкивает пищу по направлению к желудку. При этом нижний сфинктер открывается на несколько секунд раньше, чем пищевой комок его достигнет. Такая слаженная работа происходит вследствие сложных регуляторных процессов со стороны различных отделов нервной системы и действия местных гормонов.

Различные психические факторы, включая стресс, а также заболевания органов грудной клетки и брюшной полости, могут привести к моторной дисфункции пищевода, когда возникают:

\* затруднения при проглатывании (ощущение комка в горле);

\* появление антиперистальтических волн, направленных от желудка к глотке и т. п.

С другой стороны, при раздражении слизистой оболочки могут произойти рефлекторные расстройства в работе других органов – учащение сердцебиения, частоты дыхания, повышенное слюно- или слезотечение.

Другая важная функция пищевода – предотвращение заброса содержимого желудка в дыхательные пути, глотку и ротовую полость.

Строение и функции слюнных желёз: У человека имеются три пары больших слюнных желез: околоушные, подчелюстные и подъязычные. Первые расположены в районе жевательных мышц. В их толще проходят лицевой нерв, сонная артерия и вены. В подъязычной области открываются протоки подчелюстных желез. Они снабжаются ветвями лицевой артерии. Подъязычные являются самыми маленькими по размеру среди перечисленных. Они находятся в районе одноименной складки. К малым слюнным железам относятся небные, язычные, губные, молярные и щечные. Местом их локализации является слизистая оболочка ротовой полости. Функции слюнных желез в пищеварении определяются прежде всего строением ткани, которой они образован, а именно - железистым эпителием. Эта ткань состоит из мелких, плотно прилегающих клеток. Благодаря такому строению создается естественный барьер между организмом и окружающей средой. K ocнoвными функциям cлюнныx жeлeз oтнocятcя: эндoкpиннaя- пpoизвoдит гopмoнaльныe вeщecтвa; экзoкpиннaя- peгулиpуeт cocтaв cлюны;

экcкpeтopнaя- нeйтpaлизуeт и вывoдит пoбoчныe вeщecтвa; фильтpaциoннaя-взaимoдeйcтвуeт c плaзмoй кpoви.

2. Фиксация.

Взятый для гистологического исследования материал сразу же должен подвергаться фиксации. Фиксация – метод обработки ткани с целью закрепления ее прижизненной структуры. Это достигается путем воздействия на ткань специальных растворов (фиксаторов). Наиболее существенным изменением, происходящим в тканях под воздействием фиксатора является процесс свертывания (коагуляции) белков. Количество фиксатора следует брать в 20-100 раз больше объема кусочка фиксируемого материала.

Существуют фиксаторы простые и сложные. К простым относятся 10-20% раствор формалина, 96 º спирт, 100 (абсолютный) спирт, 1-2% раствор осмиевой кислоты и др. Сложные фиксаторы: спирт – формол (спирт 70º — 100 мл. и формалин 2-5 мл.) жидкость Ценкера (сулема – 5 г, сернокислый натрий — 1 г., двухромовокиолый калий – 2,5 г, дистиллированная вода – 100 мл., ледяная уксусная кислота 5 мл.) и др. Продолжительность фиксации – от нескольких часов до 1 суток и более в зависимости от свойств фиксатора и характера исследуемого материала.

Помывка в воде.

После фиксации материал промывают (чаще всего в течение нескольких часов в проточной воде) с тем, чтобы избавить его от избытка фиксатора и различных осадков фиксирующих жидкостей.

Изучить с помощью микроскопа такие фиксированные кусочки органов невозможно, т.к. они не прозрачны. Чтобы кусочек органа можно было микроскопировать, его надо разрезать на очень тонкие пластинки – срезы, толщина которых измеряется в микрометрах. Такие срезы получают с помощью специальных приборов – микротомов. Но для того, чтобы резать на микротоме кусочек ткани, ее надо предварительно уплотнить. Это достигается путем пропитывания застывающими жидкостями – расплавленным парафином. Парафин в воде не растворяется, и поэтому промытый после фиксации кусочек ткани необходимо предварительно обезводить, и только затем пропитывать.

Обезвоживание.

Обезвоживание ткани производятся постепенно (чтобы не произошло сморщивания) путем проведения ее через спирты возрастающей крепости:

50º, 60º, 70º, 80º, 90º, 96º, 100º. В каждом спирте кусочки находятся от нескольких часов до 1 суток в зависимости от величины кусочка.

Уплотнение (заливка).

При заливке кусочки предварительно пропитываются теми жидкостями, которые служат растворителями для парафина (ксилол или толуол). Заливка в парафин. При заливке в парафин кусочки из абсолютного спирта

переносятся в смесь абсолютного спирта с хлороформом или ксилолом, взятых поровну, затем чистый ксилол и, наконец, в расплавленный насыщенный раствор парафина в хлороформе, где они находятся в термостате при температуре 37º до 1 суток и более. Дальнейшая заливка проводится в термостате при температуре 54º -56º в трех порциях парафина.

Окончательная заливка проводится в парафин с добавлением воска, который наливают в специальные бумажные коробочки или стеклянные чашки, а затем эти коробочки или чашки после появления на поверхности парафина пленки, погружают в воду.

Происходит полное затвердение парафина. Кусочки с окружающим их парафином извлекают из коробочек и с помощью расплавленного парафина, наклеивают на деревянные кубики, получаются парафиновые блоки.

Уплотнения также можно добиться замораживанием кусочка органа (срочная биопсия).Пропитанные парафином кусочки ткани выкладывают в специальные формочки и заливают расплавленным в термостате или на водяной бане при 60 °С парафином, в который добавлено 1 — 3 % воска.

Окраска по методу Якимовой:

Свежеприготовленные мазки слегка подсушенные на воздухе погружают в 96% спирт и сразу же вынимают без экспозиций. Мазки, покачивая несколько раз промывают в крупном сосуде с достаточным количеством водопроводной воды и наливают на предметное стекло краску гематоксилин (по Эрлиху) на 1-2-3 минуты. После краску сливают, мазок промывают проточной водой, промокают фильтровальной бумагой и изучают под микроскопом. Время окраски 1-2-3 минуты, зависит от необходимости времени изучения нативного препарата.

**Билет 4**

**А**

Скелетная мышечная ткань-упругая, эластическая ткань, способная сокращаться под влиянием нервных импульсов. Имеет неклеточное строение. Структурная единица-мышечное волокно, представляет собой клеточную структуру-симепласт .

Многочисленные ядра располагаются по периферии волокна.

Сократительный аппарат представлен поперечно-полосатыми миофибриллами, обуславливающими продольную и поперечную исчерченность волокна, локализованы миофибриллы в центре волокна.

Мышечные волокна расположены упорядоченно параллельно друг другу.

Б) Гладкая мышечная ткань

Клеточное строение, структурная единица – гладкий миоцит

Ядра располагаются в центре клетки. Сократительный аппарат представлен гладкими миофибриллами, расположенными га периферии клетки.

Клетки расположены в шахматном порядке.

2)Биопсия – иссечение тканей из живого организма с целью морфологического исследования для определения характера паталогического процесса.

Для срочных биопсий не позднее 20-25 минут после получения материала.

**Часть Б**

Метод срочной окраски по Т.П. Якимовой.

Свежеприготовленные мазки ,слегка подсушивают на воздухе, погружают в 96% спирт и сразу же вынимают. Мазки, покачивая несколько раз промывают в хрупком сосуде с достаточным кол-вом водопроводной воды и наливают на предметное стекло краску гематоксилина (по Эрлиху) н 1-2-3 мин. Через 1-2-3 мин: краску сливают, мазок промывают проточной водой, промокают фильтрованной бумагой и изучают под микроскопом, время окраски 1-2-3 мин, зависит от необходимости времени изучения нативного препарата.

Билет 5

 А

1.4) средняя часть мозгового вещества долек тимуса(вилочковая железа). окраска гематоксилин-эозин. Капсульная оболочка железы формирует внутри нее перегородки, которые отделяют доли одну от другой. Тимус, или вилочковая железа, разделена на две части. Они бывают:
сращенными;
плотно прилегающими. Доли имеют расширение книзу и узкую верхнюю часть. Допускается асимметричное строение. Каждая долевая часть состоит из веществ:
мозгового — после уплощения, ороговения эпителий преобразуется в железистые тельца;
коркового — формируется сетью, состоящей из гематопоэтических, эпителиальных клеток, в петлях находятся тимоциты (дифференцированные лимфоциты). ЛОКАЛИЗАЦИЯ: Она находится в верхнем средостении грудной клетки, ниже ключичного соединения. СТРОЕНИЕ: У человека тимус состоит из двух долей, которые могут быть сращены или же просто плотно прилегать друг к другу. Нижняя часть каждой доли широкая, а верхняя узкая; таким образом, верхний полюс может напоминать двузубую вилочку (отсюда и название).
Орган покрыт капсулой из плотной соединительной ткани, от которой в глубину отходят перемычки, делящие его на дольки. ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ЗНАЧЕНИЕ КРАСТНОГО КОСТНОГО МОЗГА: у эмбриона заполняет большинство костей, в том числе трубчатые. У взрослого он находится в полостях плоских костей, позвонков и эпифизах трубчатых костей , составляет 4-5% от общей массы тела (около 2,5-4 кг). Также он является основным источником стволовых клеток крови, большинство которых локализуется около эндоста.

2. Биопси́я — метод исследования, при котором проводится прижизненный забор клеток или тканей (биоптата) из организма с диагностической или исследовательской целью. Патогистологические исследования проводятся с целью подтверждения, опровержения или уточнения клинического диагноза, установления диагноза в клинически неясных случаях, для определения начальных стадий заболевания, распознавания разных по форме и происхождению воспалительных, гиперпластических и опухолевых процессов. Исследование биопсийного и операционного материалов позволяет судить о виде и динамике патологического процесса, радикальность операции, об изменениях, возникших в тканях или новообразованиях под влиянием лечения и др.

Б

ОКРАШИВАНИЕ ПО Алексееву

Срочное окрашивание по Н.Г. Алексееву:

1) Фиксируют мазки в прогретом до 35-40 градусов растворе Мая-Грюнвальда в течение 30 сек.

2) Ополаскивают водой;

 3)Окрашивают в 0,1% раст-ре азур-эозина (в соотношение 2:1) в течение 2 м.; 4)Ополаскивают водой; 5) Промокают, высушивают

**Билет 6**

**А**

1.На препарате представлена стенка мелкого кровеносного сосуда, образованного тремя видами клеток.

1.1Проведите дезинфекцию и настройку микроскопа.

1.2проведите исследование готового препарата.

1.3Определите, окраску данного препарата.

1.4Назовите сосуд и клетки, образующие его стенку, а также классификацию, строение и функции артерий.

2Назовите сроки хранения и маркировку гистологических препаратов.

**Б**

1.Подготовте рабочее место для проведения окраски цитологического мазка метиленовым синим.

2. Проведите окрашивание мазка данным методом.

3.Оцените качество окраски.

4. Уберите рабочее место.

**Ответ**

**А**

1.4 Артериолы – мелкие артерии – регулируют кровоснабжение органов. На гистопрепарате стенка артериолы образована 3-мя видами клеток: 1. Эндотелий; 2. Гладкомышечные клетки, единичные, циркулярно расположенные; 3. Адвентициальные клетки. В основе классификации артерий лежат особенности строения средней оболочки, а именно количественные соотношения в ней мышечных и эластических элементов. По составу средней оболочки различают: 1. Артерии эластического типа: в средней оболочке очень сильно развиты эластические элементы в виде эластических мембран( крупные артерии – аорта; легочная артерия); 2. Артерии мышечного типа: в средней оболочке преобладают мышечные элементы – гладкие мышечные клетки ( средние и мелкие артерии тела; конечностей и большинства внутренних органов); 3. Артерии смешанного (мышечно – эластического типа): в средней оболочке хорошо развиты и мышечные и эластические элементы ( подключичная артерия) Различают 3 оболочки: 1. Внутренняя оболочка: А) эндотелий – один слой плоских эпителиальных клеток; Б) подэндотелиальный слой – из рыхлой соединительной ткани, хорошо развит; В) густая сеть эластических волокон ( сплетение эластических волокон) на границе со средней оболочкой; внутренняя эластическая мембрана отсутствует. 2. Средняя оболочка: широкая ; толстая. А) окончатые эластические мембраны ( 40 -50), связаны между собой эластическими волокнами; составляют основу средней оболочки; Б) гладкие миоциты, располагаются циркулярно между эластическими мембранами. 3. Наружная оболочка: рыхлая соединительная ткань с большим количеством эластических волокон и питающих сосудов. Функции кровеносных сосудов: 1.транспортировка крови к органам ( крупные сосуды); 2. регуляция притока крови к органу ( средние и мелкие сосуды); 3. обмен веществ между кровью и тканями ( капилляры).

2.Микроскоп.препар окрашен. Необходимо предохранять от света,запыления.Для хранения существ спец шкафы с выдвижными полками,папки,коробки.удобно хранить в деревянных или картонных коробках,в которых вставленны зучатые рейки.помещают их в вертекальном положении,очень компактно.Препарат должен быть снабжен этикеткой,которую наклеивают на край предмет стекла.Надпись тушью.

**Б**

Реактив: метиленовый синий. На высушенный препарат наносят 1-2 капли метилен синего, покрывают покровным стеклом. Красят 1-2 минуты.

**Билет 7**

**Часть А:**

1.У экспериментального животного разрушены псевдоуниполярные нейроны спинномозговых узлов.

1.4. Определите какое звено рефлекторной дуги включается, а также строение и функции спинномозговых узлов.

2. Назовите способы приготовления красящих растворов эозина гематоксилина Эрлиха.

Часть Б:

Окраска фуксином.

1.4.Чувствительное (афферентное) звено. Спинномозговые узлы (спинальные ганглии) - закладываются в эмбриональном периоде из ганглиозной пластинки (нейроциты и глиальные элементы) и мезенхимы (микроглиоциты, капсула и сдт прослойки).

Спинномозговые узлы (СМУ) расположены по ходу задних корешков спинного мозга. Снаружи покрыты соединительнотканной капсулой капсулой, от капсулы внутрь отходят прослойки-перегородки из рыхлой соединительной ткани с кровеносными сосудами. Под капсулой группами располагаются тела нейроцитов. Нейроциты СМУ крупные, диаметр тел до 120 мкм. Ядра нейроцитов крупные, с четкими ядрышками, располагаются в центре клетки; в ядрах преобладает эухроматин. Тела нейроцитов окружены клетками сателлитами или мантийными клетками - разновидность олигодендроглиоцитов. Нейроциты СМУ по строению псевдоуниполярные - аксон и дендрит отходят от тела клетки вместе как один отросток, далее Т-образно расходятся. Дендрит идет на периферию и образует в коже, в толще сухожилий и мышц, во внутренних органах чувствительные рецепторные окончания, воспринимающие болевые, температурные, тактильные раздражители, т.е. нейроциты СМУ по функции чувствительные. Аксоны по заднему корешку поступают в спинной мозг и передают импульсы на ассоциативные нейроциты спинного мозга. В центральной части СМУ располагаются параллельно друг другу нервные волокна, покрытые лимфоцитами.

2. Эрлиха. 2г гематоксилина растворить в 100 мл 96% спирта,+ 100 мл дистилир.воды,+100 мл. чистого глицерина,+ 3 г калийных квасцов,+ 10 мл ледяной уксус кислоты.Раствор должен созреть не менее 15 дней в светлом месте,банка должна быть закрыта бумажным колпачком тлт сложенной в 2-3

раза марлей.переодически раствор нужно взбалтывать. Раствор эозин. 1% 0,1 г краски эозина растворяют в 100 мл дистиллированной воды.

Часть Б:

Реактив 3гр. Кислого фуксина растворяют в 100 мл 96% спирта. К 12 мл этого раствора прибавляют 100 мл дист.воды. На высушенный препарат наливают фуксин на 1 минуту, затем смывают дист.водой, высушивают. Таким же способом можно красить маз

**Билет 8**

**Часть А**

На двух микрофотографиях представлена кора головного мозга, но не указано каких отделов – мозжечка или больших полушарий.

1.1 Дезинфекция и настройка микроскопа.

1.2 Исследование готовых препаратов.

1.3 Окраска гематоксилин- эозин

1.4 Ответ: Головной мозг состоит из серого и белого вещества.

Большая часть серого вещества расположена на переферии большого мозга и мозжечка, образуя их кору.

Мозжечок- центральный орган равновесия и координации движений. На поверхности мозжечка много извилин и бороздок,в центре каждой извилины имеется прослойка белого вещества, покрытого с поверхности корой. Кора мозжечка содержит 3 слоя: молекулярный, ганглионарный (средний) и зернистый ( внутренний).

В молекулярном слое да типа нейронов:

1) Корзинчатые распологаются в нижней трети молекулярного слоя. Их нейриты идут над телами грушевидных клеток поперек извилины и отдают веточки, формирующие на телах грушевидных нейронов сплетения-корзинки нервных волокон.

2) Звездчатые нейроны лежат выше корзинчатых и бывают 2 типов: Мелкие ( имеют тонкие дендриты и слаборазветвленные нейриты,образующие синапсы на дендритах грушевидных нейронов) и крупные( могут достигать тел грушевидных клеток)

Ганглионарный слой состоит из грушевидных нейронов, располагающихся в один ряд .Дендриты грушевидных нейронов направляются к поверхности в молекулярный слой.

Зернистый слой составляют клетки-зерна. Это мелкие нейроны , дендриты которых своими концевыми ветвлениями вступают в контакт с афферентными волокнами. Они

передают импульс дендритам большого числа грушевидных клеток а также звездчатым и корзинчатым.

Второй тип нейронов зернистого слоя –большие звездчатые нейроны( клетки Гольджи)Они образую тормозные синапсы на концевых ветвлениях дендритов клеток-зерен и могут блокировать импульсы.

Кора большого мозга Координирует все условные рефлексы и обеспечивает психическую и произвольную деятельность.

Мультиполярные нейроны коры разнообразны по форме: пирамидные, звездчатые, ветереновидные и др Наиболее характерны для коры большого мозга пирамидные( вытянутое треугольное тело, вершина которого обращена к поверхности коры) . Нейриты мелких нейронов ветвятся в пределах коры, крупных выходят в белое вещество, гигантских пирамид( клеток Беца) образуют пирамидные пути спинного мозга.

Нейроны воспринимают раздражение , приходят в состояние возбуждения, вырабатывают и передают нервный импульс. В нейроне различают тело, отростки( нейрит и дендриты) и нервные окончания. По нейриту(аксону) импульс идет от тела нервной клетки, а дендрит воспринимает импульс и проводит его к телу нейрона. По числу отростков различают: униполярные нейроны- с одним отростком, биполярные -2 отростка и мультиполярные- с 3 и более. По функциональному значению делятся на: рецепторные- чувствительные , эффекторные( передают импулься на сократительные и секреторные элементы) и ассоциативные ( связь между нейронами)

Безмиелиновые нервные волокна состоят из осевых цилиндров, погруженных в тяж расположенных друг за другом неуролеммоцитов .

Миелиновые нервные волокна состоят из осевого цилиндра, миелинового слоя и нейролеммы.

2. Приготовление гистологических срезов

Для получения тонких срезов используют микротомы. Ждя резания парафиновых и целлоидиновых блоков применяют санные микротомы.

Блок фиксируют в объектодержателе так чтобы длинная ось блока располагалась вдоль длинной оси микротома. Когда нож установлен,к нему осторожно подводят блокодержатель с блоком и одновременно придвигают нож к блоку. Когда блок и нож сближены , проверяют горизонтальность верхней поверхности блока ( не должна доходить до лезвия ножа на 0.5- 1мм). Затем устанавливают микрометрическую шкалудля получения срезов нужной толщины и движением салазок ножа начинают делать срезы.

Приготовление парафиновых блоков:

1) Режут прямым ножом, нож устанавливают перпендикулярно оси микротома или слегка под углом

2) Срезы делают толщиной 7-1- мкм

3) Режут сухим ножом

4) Полученые срезы осторожно снимают влажной кисточкой или препаровальной иглой и помещают в чашку с теплой водой или сразу наклеивают на предметное стекло.

5) Срезы всегда слегка сморщены и имеют складки. Их необходимо расправить , либо поместив срезы на поверхность с теплой водой , либо в процессе наклеивания на предметное стекло.

Приготовление целлоидиновых блоков:

1) Режут плосковогнутым ножом

2) Толщина обычно 12-15мкм

3) При резке поверхность ножа и блока постонно смачивают 70% спиртом

4) Срезы переносят с ножа в низкий бюкс с 70% спиртом и в дальнещем окрашивают без наклеивания на предметное стекло, помещая срезы с помощью препаровальной иглы с загнутым концом в соответствующие реактивы

**Часть Б**

Окраска по Паппенгейму

Красители:

1) Мая-Грювальда Мая-Грювальда 0.3% ( 300 мг порошка краски растворяют в 100 мл метилового спирта)

2) Азур 2( 1 г порошка растворяют в 1000мл кипящей воды)

3) Эозин К или Na ( Для первого берут 1 г порошка и растворяют в 1000мл кипящей воды, для второго 0.5 г порошка на тоже количество воды)

Ход окрашивания:

1) Фиксируют мазки в метаноле 3 мин

2) Окрашивают в течение 10 мин в растворе состава: 1 часть красителя Мая-Грюнвальда на 4 части дистилированной воды

3) Докрашивают

**Билет 10**

**А**

В стационар поступил пациент с острым гнойным фурункулом в области лица

1.3. определите окраску готового препарата

1.4. назовите изменения, ожидающиеся в гомограмме данного больного, а также строение, функциональное значение тимуса и его роль в иммунной системе

2. назовите основной принцип окраски клеточных структур кислыми и основными красителями

**Б**

Окраска по Романовскому-Гимзе

**Ответ**

**А**

 1.4 повышены лейкоциты и соэ.

Тимус-орган лимфопоэза человека, в котором происходит созревание дифференцировка Т-клеток иммунной системы.

Строение тимуса. Снаружи вилочковая железа покрыта соединительнотканной капсулой. Отходящие от нее перегородки — септы — подразделяют тимус на дольки. Основу дольки составляют отростчатые эпителиальные клетки — эпителиоретикулоциты, в сетевидном остове которых находятся тимические лимфоциты (тимоциты). Источником развития Т-лимфоцитов являются костномозговые стволовые кроветворные клетки. Далее предшественники Т-лимфоцитов (претимоциты) поступают с кровью в тимус и превращаются здесь в лимфобласты.

 2. Основные, или ядерные, красители — это основания или их соли, которые окрашивают структуры кислой природы (хроматин ядер, ядрышко и др.) и называются базофильными. К ним относятся гематоксилин, тионин, кармин, метиловый зеленый.

Кислотные красители — это кислоты или их соли, с помощью которых выявляют вещества и структуры основной природы (цитоплазматические структуры клеток, эритроциты и т.д.). Таковыми являются эозин, кислый фуксин, Конго красный (конгорот), эритрозин.

 **Б**

Сухие мазки фиксируют в метиленовом спирте или смеси Никифорова 5 и 15 мин соответственно. Затем погружают в рабочий раствор(в разведении 1:4) готовят краски Романовского-Гимзе на 5-7 минут. Затем промывают дистиллированной водой и высушивают.

**Билет 11**

**Часть А.**

В предложенном препарате железа имеется слой секреторных клеток, имеющих ядро и органеллы, в цитоплазме гранулы секрета. Признаком отделения апикальной части цитоплазмы не обнаружено.

 1.Назвать тип секреции данной железы, а также строение гистофизиологию коркового и мозгового вещ-ва надпочечников.

 2.Перечислить достоинства и недостатки целлоидиновой заливки.

Часть Б.

Окраска по Алексееву

**Ответ**

**Б**

**1**.Корковое вещество разделяется на три зоны: клубочковую, расположенную снаружи, пучковую, находящуюся в середине, и сетчатую, лежащую глубже. В клетках этих зон содержится много липидов.

Мозговое вещество надпочечника представлено хромаффинными клетками, между которыми имеются широкие кровеносные капилляры, нервные ганглиозные клетки и нервные окончания.

Клетки коркового вещества клубочковой зоны синтезируют кортикостерон и дезоксикортикостерон, участвующие в регуляции водно-солевого обмена. В пучковой зоне образуются гликокортикоиды, регулирующие проницаемость сосудов и процессы коллагенообразования, в сетчатой зоне — половые гормоны: андрогены (у мужчин), эстрогены и прогестерон (у женщин).

В мозговом веществе синтезируются адреналин и норадреналин, стимулирующие функцию симпатической нервной системы.

**2**. Заливка ткани в целлоидин стала в настоящее время менее популярной, чем парафиновая, и ее применяют главным обра­зом для обработки труднорежущихся тканей и объектов боль­ших размеров, с которых трудно получить хорошие парафино­вые срезы. Целлоидиновую заливку используют также в тех случаях, когда необходимо избежать воздействия на исследуе­мый материал высоких температур.

Эфир и сухой целлоидин огнеопасны, поэтому при работе с ними необходима осторожность.

**Б**

**Метиленовым синим**

Реактив: метиленовый синий. На высушенный препарат наносят 1-2 капли метилен синего, покрывают покровным стеклом. Красят 1-2 минуты.

**Билет 12**

1.На препарате мазка крови видны 2 клетки :

1Круглая крупная клетка. цитоплазма окрашена слабо базофильно серо-голубого цветане содержит специфической зернистости ядро светло фиолетовое бобовидной формы

2.округлая клетка с базофильной зернистостью в цитоплазме сквозь которую просматриваеться слабо сегментированное ядро.

1.4назовите и другие клетки а также строение и функции лимфоузлов.

2 Перечислите способы окрашивания (Простое непрямое , простое сложное прогрессивный и регресивный метод).

Часть Б

Окраска метиленовым синим.

1.4 1) Лимфоциты 2) нейтрофилы

Строение лим.узлов:

Лимфоузлы являются паренхиматозными зональными органами. В них можно выделить следующие структурно-функциональные компоненты: капсула, содержащая рыхлую волокнистую неоформленную соединительную ткань с большим количеством коллагеновых волокон. В капсуле встречаются гладкие миоциты, способствующие активному продвижению лимфы; трабекулы, отходящие от капсулы, анастомозируя друг с другом, они образуют каркас лимфоузла; ретикулярная ткань, заполняющая все пространство между капсулой и трабекулами; в лимфоузле различают две зоны: периферическую корковое вещество, и центральную - мозговое вещество; между корковым и мозговым веществом - паракортикальная зона или глубокая кора; синусы - совокупность лимфососудов, по которым движется лимфа.

ФУНКЦИЯ: Лимфаический узел- периферический орган лимфатической системы, выполняющий функцию биологического фильтра, через который протекает лимфа поступающая от органов и частей тела.

2. При прогрессивном типе окрашивания процесс идет до тех пор, пока не достигается интенсивное проникновение красителя в ткань. Регрессивный тип основан на первоначальном перекрашивании структур с последующей дифференцировкой до нужного уровня. Если раствор красителя непосредственно действует на ткань, то говорят о прямом окрашивании. Окрашивание после предварительной подготовки ткани (протравливания) называется непрямым. Окрашивание одним красителем - простое, а при использовании нескольких красителей — сложное

**Б**

**Метиленовым синим**

Реактив: метиленовый синий. На высушенный препарат наносят 1-2 капли метилен синего, покрывают покровным стеклом. Красят 1-2 минуты.

**Билет 13**

**А**

1. Предложен препарат эпителия, в котором все клетки касаются базальной мембраны, а ядра расположены в несколько рядов

1.4. назовите тип к которму относится данный эпителий. Дайте общую характеристику и топографию эпителиальных тканейя

2. Назовите фиксаторы простые и сложные и их применение(промывка материала)

**Б**

Окраска по Паппенгейму

**Ответ**

**А**

Характеристика:

1. Клетки располагаются в виде пласта.

2. Лежат на базальной мембране.

3. Клетки однотипные.

4. Клетки связаны между собой между собой и с базальной мембраной плотно.

5. Клетки полярные.

6. Нет межклеточного вещества.

7. Нет кровеносных сосудов.

8. Питание диффузное через базальную мембрану.

9. Высокая способность к регенерации.

*Эпителиальные (пограничные) ткани* - выстилают поверхность тела, слизистые оболочки всех внутренних органов и полостей организма, серозные оболочки, а также формируют железы внешней и внутренней секреции. Эпителий, выстилающий слизистую оболочку, располагается на базальной мембране, а внутренней поверхностью непосредственно обращен к внешней среде. Его питание совершается путём диффузии веществ и кислорода из кровеносных сосудов через базальную мембрану.

2. Простые: 1***Альдегиды***

Можно хранить месяцами, надо всего лишь контролировать рН.

**Формалин.** Основным, широко применяемым фиксатором служит формалин, представляющий собой 40% раствор формальдегида. *Формальдегид*– это газ, растворимый в воде до концентрации40% по массе, каким он и поступает в продажу под названием «*Формалин*». В гистологической практике используют 10% раствор формалина, что соответствует 4% формальдегиду.

***4% ф-д по Гайеру***

·  2гр параформальдегида + 50мл 0,1М фосфатного буфера(рН 7,4-7,6)=нагревают до 70с до просветления раствора, помешивают, охлаждают и фильтруют. Его рН 7,3-7,5.

***40% ф-д по Глауерт***

·  готовят 40% параформальдегид(40гр порошка формальдегида + 100мл дистиллированной воды при нагревании до 65С, перемешивая.

+ несколько капель 40%гидроксида натрия до просветления раствора.

***2.Тетраоксид осмия.***

Приводит не коагулируются, а желатинизируются, ткани не сморщиваются. Одновременно является контрастирующим веществом в электронной микроскопии. Дорогой реагент, поступает в продажу в ампулах по 0,5 – 2 гр. Разбивают в бумаге и помещают в

 воду больше 24ч для 1-4 % раствора. Хранят в темноте при комнатной температуре месяцами. Для первичной фиксации липидов используют 1% раствор на 0,1М фосфатном буфере. Для 1 фиксации

·  2% ТО в ДВ                            5мл

·  натрия хлорид                        850мг

·  0,2М фосфатный буфер          5мл

Для вторичной используют сахарозу вместо натрия.

***Раствор Флеминга***

·  2% ТО на дв                                           2мл

·  1% раствор хромовой кислоты на дв  7,5мл

·  ледяная уксусная кислота                                  0,5мл      (смешивать перед использованием)

***3.Хромовая кислота.***

Для стабилизации липидов, для фиксации гликогена и нуклеиновых кислот.

***Фиксатор Элфтмана (бихроматсулема)***

·  Сулема                     5 гр.

·  Бихромат калия       2,5 гр.

·  ДВ                             100мл

Продолжительность фиксации 3 дня.

***4.Этиловый спирт (80 %, 90 %, 96 % и 100 %).***

 Его применяют для осаждения белков, в качестве фиксатора для выявления гликогена, железа, амилоида, но он растворяет липиды. Механизм действия основан на осаждении белков, при этом происходит обезвоживание объектов, что значительно ускоряет проводку. Продолжительность фиксации от 2ч до 1 суток. Увеличение длительности фиксации, особенно в 100 % спирте1, нежелательно, так как материал значительно уплотняется и происходит его пересушивание. Оптимальная температура для фиксации материала в спирте +4 °С, но ее можно проводить и при комнатной температуре. Если после спиртовой фиксации предстоит резать ткань на замораживающем микротоме или криостате, то кусочки промывают в течение 1 —2 ч до их полного погружения на дно банки, при этом происходит насыщение ткани водой.

***5.*Ацетон** (его действие подобно действию спирта). Ацетон используют для увеличения скорости фиксации. Применяют 100% ацетон, для получения которого в коммерческий ацетон засыпают прокаленный сульфат меди (медный купорос) или силикагель. В ацетоне фиксируют кусочки толщиной 3—4 мм в течение 2 ч при 20° С или 30 мин— 1 ч в термостате при 60 °С в плотно закрытой посуде. Ацетон значительно уплотняет ткань и при увеличении продолжительности фиксации возможно сморщивание объектов. Чаще ацетон применяют для обработки материала срочных биопсий при его заливке в парафин.

***6.Кислоты.***

Азотная, пикриновая, уксусная, трихлоруксусная. Быстро проникают, препятствуют сморщиванию,

 ослабляют состояние гидратации. Входят в состав декальцинирующих смесей.

***Фиксатор Жандра для гликогена***

4.  Пикриновая кислота, насыщенная в 96% спирте             85 частей

5.  Раствор формальдегида 40%                                               10 частей

6.  Ледяная уксусная кислота                                                     5 частей

***Жидкость Буэна***

 классический фиксатор для экспериментальных исследований.

·  Насыщенный раствор пикриновой кислоты    75 мл

·  Нейтральный 40 % формалин                            25 мл

·  Ледяная уксусная кислота                                     5 мл

Продолжительность фиксации 1—24 ч при 20 °С. Насыщенный раствор пикриновой кислоты готовят заранее из расчета 3 г кристаллической пикриновой кислоты на 1 л горячей дистиллированной воды. После фиксации кусочки отмывают от избытка пикриновой кислоты в 70 % спирте, затем заливают в парафин.

***Жидкость Карнуа***

универсальный фиксатор для большинства гистологических и гистохимических исследований (кроме выявления липидов). Наилучший для кожи, для предупреждения пересушивания в качестве промежуточной среды используют хлороформ.

·  Спирт 100 % или 96 %        60 мл

·  Хлороформ                            30 мл

·  Ледяная уксусная кислота   10 мл

Продолжительность фиксации 2—4 ч при 4 ° С или 1—2 при 20 °С. Затем материал помещают в 100 % спирт. Если материал не сразу подлежит проводке, то его можно перенести 96 % спирт и держать в нем до 3 суток.

            Сюда также входят фиксирующие смеси по Боуену, Жандру, Карнуа, Лилли, Ценкеру, Бродскому, прочее.

**Сложные:** Составными частями сложных фиксаторов являются простые. Существует множество вариантов фиксирующих смесей. Ниже приведены наиболее распространенные.

**Спирт-формол по Шаферу.**

·  10 % нейтральный формалин, который готовят из 1 части нейтрального 40 % формалина и

·  2—3 частей 96 % спирта.

Продолжительность фиксации 24-48 ч. Дальнейшая промывка в воде не требуется, и материал сразу же помещают в 96 % спирт.

**Кальций-формол по Бейкеру** (Проверено) используют для фиксации липидов.

·  10 мл 40% формалина + 90 мл дистиллированной воды.

·  1 г хлорида кальция.

Растворы   смешивают.

Продолжительность фиксации 24—48 ч при 20°С.

Для гистохимических исследований с успехом применяют **фиксатор Бейкера**, приготовленный из параформальдегида.

·   К 50 г параформальдегида и 500 мл дистиллированной воды добавляют с одновременным встряхиванием несколько капель 1 н. гидроксида натрия до исчезновения осадка.

·  10 г хлорида кальция + 500 мл дистиллированной воды.

Растворы  А и Б смешивают, добавляют 0,5 г активированного угля. Перед использованием фильтруют.

Продолжительность фиксации 24—48 ч при 20**°С.**

Используется **также фиксатор Карнуа**, в состав которого входят

·  75 мл 100 % спирта

·  25 мл ледяной уксусной кислоты

Условия фиксации те же. В случае отсутствия этилового спирта вместо жидкости Карнуа можно использовать смесь следующего состава:

·  Изопропиловый спирт 60мл

·  Пропионовая кислота 30м

·  Ацетон              10мл

·  Диоксан             10мл

Продолжительность фиксации 12-24 ч при 20 °С; для промывки и обезвоживания применяют изопропиловый спирт.

 **Жидкость Ценкера —** сулемовая смесь.

·  Бихромат калия   2,5г

·  Сульфат натрия   1 г

·  Дистиллированная вод100мл(это-жидкость Мюллера).

·  Сулема            5г

·  Ледяная уксусная кислота 5мл

Ледяную уксусную кислоту можно заменить нейтральным 10 % формалином (фиксатор Максимова, ценкер-формол). Продолжительность фиксации 1—24 ч при 20°С. После фиксации материал в течение 12—24 ч отмывают в проточной воде и помещают в йодированный 70% спирт для удаления остатков сулемы. При добавлении 10 мл 2 % раствора тетраоксида осмия хорошо фиксируются и окрашиваются липиды.

В последнее время для гистологических исследований часто применяют глутаровый альдегид, параформальдегид, фиксаторы Ито, Замбони и др., особенно в тех случаях, когда материал предназначается одновременно для нескольких видов исследования (иммуноморфологического, электронно-микроскопического), а его количество ограничено,  например, при пункционных биопсиях.

**Б**

Окраска по Паппенгейму

Красители:

1) Мая-Грювальда Мая-Грювальда 0.3% ( 300 мг порошка краски растворяют в 100 мл метилового спирта)

2) Азур 2( 1 г порошка растворяют в 1000мл кипящей воды)

3) Эозин К или Na ( Для первого берут 1 г порошка и растворяют в 1000мл кипящей воды, для второго 0.5 г порошка на тоже количество воды)

Ход окрашивания:

1) Фиксируют мазки в метаноле 3 мин

2) Окрашивают в течение 10 мин в растворе состава: 1 часть красителя Мая-Грюнвальда на 4 части дистилированной воды

3) Докрашивают

**Билет 14.**

**Часть А.**

В предложенном препарате железа имеется слой секреторных клеток, имеющих ядро и органеллы, в цитоплазме гранулы секрета. Признаком отделения апикальной части цитоплазмы не обнаружено.

 1.Назвать тип секреции данной железы, а также строение гистофизиологию коркового и мозгового вещ-ва надпочечников.

 2.Перечислить достоинства и недостатки целлоидиновой заливки.

Часть Б.

Окраска по Алексееву

**Ответ**

**Б**

**1**.Корковое вещество разделяется на три зоны: клубочковую, расположенную снаружи, пучковую, находящуюся в середине, и сетчатую, лежащую глубже. В клетках этих зон содержится много липидов.

Мозговое вещество надпочечника представлено хромаффинными клетками, между которыми имеются широкие кровеносные капилляры, нервные ганглиозные клетки и нервные окончания.

Клетки коркового вещества клубочковой зоны синтезируют кортикостерон и дезоксикортикостерон, участвующие в регуляции водно-солевого обмена. В пучковой зоне образуются гликокортикоиды, регулирующие проницаемость сосудов и процессы коллагенообразования, в сетчатой зоне — половые гормоны: андрогены (у мужчин), эстрогены и прогестерон (у женщин).

В мозговом веществе синтезируются адреналин и норадреналин, стимулирующие функцию симпатической нервной системы.

**2**. Заливка ткани в целлоидин стала в настоящее время менее популярной, чем парафиновая, и ее применяют главным обра­зом для обработки труднорежущихся тканей и объектов боль­ших размеров, с которых трудно получить хорошие парафино­вые срезы. Целлоидиновую заливку используют также в тех случаях, когда необходимо избежать воздействия на исследуе­мый материал высоких температур.

Эфир и сухой целлоидин огнеопасны, поэтому при работе с ними необходима осторожность.

**Б**

**Срочная окраска по Н.Г. Алексееву.**

* Фиксация в подогретом до 35-40° р-ре Май-Грюнвальда 30 сек.
* Ополоскивают водой
* Окрашивают в 0.1% р-ре азур эозина в соотношении 2:1 2 мин.
* Ополаскивают водой
* Промокая,высушивают.

**Билет 15**

**А**

I. Предложены два препарата хрящевой ткани - один окрашен гематоксилин - эозином, другой - орсеином.

')

1. Проведите дезинфекцию и настройку микроскопа.
2. Проведите исследование готовых препаратов.
3. Определите, окраску данных препаратов.
4. Назовите волокна и разновидности хрящевой ткани, выявляющиеся при этих способах окрашивания, а также строение, рост эластического и гиалинового хрящей.

2. Назовите способы приготовления красящих растворов эозина и гематоксилина Эрлиха.

Часть Б

1. Подготовьте рабочее место для проведения окраски цитологического мазка по методу Якимовой.
2. Проведите окрашивание мазка данным методом

3. Оцените качество окраски.

4. Уберите рабочее место

**Ответ**

**А**

1.4Специальные соед.ткани: ретикулярная,жировая,слизистая и пигментная. Ретикулярная –разновидность соед.ткани, которая образует основу костного мозга, селезенки, лимфатических узлов, входит в состав стенок кишечника, дыхательных путей, а также печени и почек. состоит из ретикулярных клеток звездчатой формы, контактирующих друг с другом своими отростками и формирующих сложную сеть основного вещества, и различно ориентированных ретикулиновых волокон. Ретикулярные клетки способны превращаться в различные форменные элементы крови — клетки эритроидного, лимфоидного ряда и т. д. Помимо участия в гемопоэзе, ретикулярные клетки продуцируют ретикулиновые волокна, а также выполняют трофическую и защитную функции. Жировая ткань — разновидность соед. ткани. Состоит из крупных клеток, каждая из которых содержит каплю жира. Протоплазма и ядро клеток жир. ткани оттеснены жировым веществом к периферии. Из клеток группируются жировые дольки и более крупные скопления жировой ткани.Жир. ткань располагается в сальнике, брыжейке, забрюшинном пространстве, желтом костном мозге. Под кожей жировая ткань образует подкожную жировую клетчатку. Жировая ткань предохраняет органы от механических воздействий и холода, служит резервом питательных веществ, принимает участие в водном, витаминном и углеводном обмене.

 2.Эрлиха. 2г гематоксилина растворить в 100 мл 96% спирта,+ 100 мл дистилир.воды,+100 мл. чистого глицерина,+ 3 г калийных квасцов,+ 10 мл ледяной уксус кислоты.Раствор должен созреть не менее 15 дней в светлом месте,банка должна быть закрыта бумажным колпачком тлт сложенной в 2-3 раза марлей.переодически раствор нужно взбалтывать. Расвор эозин. 1% 0,1 г краски эозина растворяют в 100 мл дистилир воды

**Б**

МЕТОД СРОЧНОЙ ОКРАСКИ ПО Т. П. ЯКИМОВОЙ
Свежеприготовленные мазки, слегка подсушенные на воздухе, погружают в 96%-ный спирт и сразу же вынимают, без экспозиции. Мазки, по-
качивая, несколько раз промывают в крупном сосуде с достаточным количеством водопроводной воды и наливают на предметное стекло краску гематоксилин (по Эрлиху) на 1 - 2 - 3 минуты. Через 1-2-3 минуты краску сливают, мазок промывают проточной водой, промокают фильтровальной бумагой и изучают под микроскопом. Время окраски 1-2-3 минуты, зависит от необходимости времени изучения нативного препарата.

**Билет 16**

**А**

1 .В результате травмы наступило повреждение скелетной мышцы.

1.1 .Проведите дезинфекцию и настройку микроскопа.

1.2.Проведитс исследование готового препарата.

1.3.0пределите, окраску данного препарата.

1.4.Назовите клеточные элементы, обеспечивающие восстановление дефекта, а также общую характеристику, топографию, строение, регенерацию гладкой

мышечной ткани.

1. Назовите схему заливки материала в целлоидин от фиксации до приготовления блока.

Часть Б

1. Подготовьте рабочее место для проведения окраски цитологического мазка метиленовым синим.
2. Проведите окрашивание мазка данным методом
3. Оцените качество окраски.
4. Уберите рабочее место.

**Ответ**

**А**

Физиологическая регенерация проявляется в форме гипертрофии мышечных волокон, что выражается в увеличении их толщины и даже длины, увеличении числа органелл, главным образом миофибрилл, а также нарастании числа ядер, что в конечном счете проявляется увеличением функциональной способности мышечного волокна. увеличение числа ядер в мышечных волокнах в условиях гипертрофии достигается за счет деления клеток миосателлитов и последующего вхождения в миосимпласт дочерних клеток.Увеличение числа миофибрилл осуществляется посредством синтеза актиновых и миозиновых белков свободными рибосомами и последующей сборки этих белков в актиновые и миозиновые миофиламенты параллельно с соответствующими филаментами саркомеров. В результате этого вначале происходит утолщение миофибрилл, а затем их расщепление и образование дочерних миофибрилл. Кроме того, возможно образование новых актиновых и миозиновых миофиламентов не параллельно, а встык предшествующим миофибриллам, чем достигается их удлинение. Репаративная регенерация развивается после повреждения мышечных волокон.при значительных повреждениях на протяжении мышечного волокна миосателлиты в области повреждения и в прилежащих участках растормаживаются, усиленно пролиферируют, а затем мигрируют в область дефекта мышечного волокна, где выстраиваются в цепочки, формируя миотрубку. Последующая дифференцировка миотрубки приводит к восполнению дефекта и восстановлению целостности мышечного волокна. Регенерация гладкой мышечной ткани. Гладкие миоциты характеризуются внутриклеточной регенерацией. При повышении функциональной нагрузки происходит гипертрофия миоцитов и в некоторых органах гиперплазия (клеточная регенерация).

2. **Фиксация.**

Взятый для гистологического исследования материал сразу же должен подвергаться фиксации. Фиксация – метод обработки ткани с целью закрепления ее прижизненной структуры. Это достигается путем воздействия на ткань специальных растворов (фиксаторов). Наиболее существенным изменением, происходящим в тканях под воздействием фиксатора является процесс свертывания (коагуляции) белков. Количество фиксатора следует брать в 20-100 раз больше объема кусочка фиксируемого материала.

Существуют фиксаторы простые и сложные. К простым относятся 10-20% раствор формалина, 96 º спирт, 100 (абсолютный) спирт, 1-2% раствор осмиевой кислоты и др. Сложные фиксаторы: спирт – формол (спирт 70º — 100 мл. и формалин 2-5 мл.) жидкость Ценкера (сулема – 5 г, сернокислый натрий — 1 г., двухромовокиолый калий – 2,5 г, дистиллированная вода – 100 мл., ледяная уксусная кислота 5 мл.) и др. Продолжительность фиксации – от нескольких часов до 1 суток и более в зависимости от свойств фиксатора и характера исследуемого материала.

**Помывка в воде.**

После фиксации материал промывают (чаще всего в течение нескольких часов в проточной воде) с тем, чтобы избавить его от избытка фиксатора и различных осадков фиксирующих жидкостей.

Изучить с помощью микроскопа такие фиксированные кусочки органов невозможно, т.к. они не прозрачны. Чтобы кусочек органа можно было микроскопировать, его надо разрезать на очень тонкие пластинки – срезы, толщина которых измеряется в микрометрах. Такие срезы получают с помощью специальных приборов – микротомов. Но для того, чтобы резать на микротоме кусочек ткани, ее надо предварительно уплотнить. Это достигается путем пропитывания застывающими жидкостями – расплавленным парафином. Парафин в воде не растворяется, и поэтому промытый после фиксации кусочек ткани необходимо предварительно обезводить, и только затем пропитывать.

**Обезвоживание.**

Обезвоживание ткани производятся постепенно (чтобы не произошло сморщивания) путем проведения ее через спирты возрастающей крепости: 50º, 60º, 70º, 80º, 90º, 96º, 100º. В каждом спирте кусочки находятся от нескольких часов до 1 суток в зависимости от величины кусочка.

Обезвоженный материал помещают в смесь 100 % спирта с эфиром (1:1) на 4—6ч, переносят в 2 % раствор целлоидина на 2—3 дня, затем в 4 % и 8 % растворы на 5—7 дней в каждый. Пропитанный кусочек заливают свежим 8 % целлоидином и уп­лотняют в парах хлороформа (в эксикаторе). Уплотненный таким образом материал заливают 70 % спиртом для хранения. Вырезанные блоки наклеивают густым целлоидином на дере­вянные колодки на 1 суток перед резкой.

**Б**

Реактив: метиленовый синий. На высушенный препарат наносят 1-2 капли метилен синего, покрывают покровным стеклом. Красят 1-2 минуты.

**Билет 17**

**А**

**1.4.**определите разновидность хрящевой ткани данном препарате, а также общую характеристику, классифик., строение хрящевой ткани

2. перечислите гистологические красители

**Б**

Окраска по Паппенгейму

1.4Хрящевая ткань — разновидность соединительной ткани, состоящая из хрящевых клеток (хондроцитов) и большого количества плотного межклеточного вещества. Выполняет функцию опоры. Гиалиновый хрящ, Эластический, Волокнистый.Гиалиновый имеет голубова­тый цвет. В его основном веществе располагаются тонкие коллагеновые волокна. Хрящевые клетки имеют разнообразные форму и строение в зависимости от степени дифференцировки и места расположения их в хряще. Хондроциты образуют изо- генные группы. Из гиалинового хряща построены суставные, реберные хрящи и большинство хрящей гортани.Хондробласты-учавств.в наруж.росте хряща и его регенерации..Эластический хрящ (сетчатый, упругий) отличается от гиалинового наличием в основном веществе ветвящихся сетей эластических волокон. В межклеточном веществе кроме коллагеновых волокон имеется большое количество беспорядочно расположенных эластических волокон, что придает эластичность хрящу;меньше содержание липидов, хондроэтинсульфатов и гликогена;содержит много воды; Из него построены хрящ ушной раковины, надгортанника, врисберговы и санториновы хрящи гортани. 2. Основные методы забора биоптата:Эксцизионный метод — хирургический забор всего злокачественного новообразования или пораженного органа.Инцизионный метод — изъятие части раковой опухоли.Пункционный метод — полой хирургической иглой прокалывается очаг ракового роста и таким образом изымается жидкий биологический материал.Аспирационный метод — выделение биоптата происходит с применением вакуум- технологии.Прицельный метод — способ забора небольшой части патологической ткани специальными биопсийными щипцами

2

Основные красители ( гематоксилин, кармин)  а) Красящиеся структуры -  базофильные (сродство к основным красителям).

б) Это структуры, богатые нуклеиновыми или иными кислотами - ядра,рибосомы,аморфный компонент межклеточного вещества.
 Кислые (эозин, кислый фуксин) а) Окрашиваемые структуры называются оксифильными(имеющими сродство к кислым красителям).

б) Это белковые компоненты цитоплазмы и неклеточные структуры (коллагеновые волокна).
 Нейтральные (азур 2,эозин) а) Структуры, воспринимающие кислые красители, окрасятся эозином;пример - специфические гранулы в эозинофильных лейкоцитах.

б) Ядра всех клеток окрашиваются азуром 2.
 Специальные ( Судан 3, 4) Суданом окрашиваются жировые капли (в которых он растворяется).

**Б**

Окраска по Паппенгейму

Красители:

1) Мая-Грювальда Мая-Грювальда 0.3% ( 300 мг порошка краски растворяют в 100 мл метилового спирта)

2) Азур 2( 1 г порошка растворяют в 1000мл кипящей воды)

3) Эозин К или Na ( Для первого берут 1 г порошка и растворяют в 1000мл кипящей воды, для второго 0.5 г порошка на тоже количество воды)

Ход окрашивания:

1) Фиксируют мазки в метаноле 3 мин

2) Окрашивают в течение 10 мин в растворе состава: 1 часть красителя Мая-Грюнвальда на 4 части Ттиллированной воды

3) Докрашивают

**Билет 18**

**А**

Препараты кроветворных органов

1.4. назовите кроветворные органы, представленные на данных препаратах…

2.назовите методику заключения срезов в канадский бальзам

**Б**

Окраска по Алексееву

**Ответ**

**А**

1.4. ПЕРВЫЙ ПРЕПАРАТ-селезенка, ВТОРОЙ-тимус. Капилляры –это обменные микрососуды, обеспечивают: обмен веществ между кровью и тканями. Наилучшие условия для обменных процессов обеспечивают: тонкие стенки; огромная площадь соприкосновения с тканями; медленный кровоток -0,5 мм/сек; низкое кровяное давление 20- 30 мм. Т. Ст. Стенка гемокапилляра состоит из 3-х слоев: 1. Эндотелиальные клетки; 2. Базальный слой. В этом слое различают базальную мембрану(неклеточный компонент) и клетки отросчатой формы – перициты, расположенные в расщеплениях базальной мембраны; 3. Наружный слой – адвентициальные (соединительнотканные ) клетки. Различают 3 основных типа капилляров:  Соматический тип капилляров – непрерывный эндотелий без фенестров и пор; непрерывная базальная мембрана. Соматические капилляры локализуются в мышцах, сердце, коже, коре головного мозга.  Висцеральный ( фенестровый) тип капилляров – фенестрированный эндотелий с локальными истончениями в цитоплазме ( фенестрами – окнами) и непрерывная сплошная базальная мембрана. Локализуются в кишечнике, почках , эндокринных железах.  Синусоидный тип капилляров – прерывный эндотелий ( между эндотелиоцитами имеются щели, поры); базальная мембрана прерывистая или вообще отсутствует ; ширина просвета капилляров максимальная 20 -30 мкм ( в красном костном мозге, селезенке, печени). Капилляры 2-го и 3-го типа характеризуются высокой проницаемостью стенки

2. . На срез наносят каплю канадского бальзама и накрывают его покровным стеклом,так чтобы не было пузырьков.Для ускорения затвердения бальзама препарат просушивают в термостате при темп 30-35 в горизонтальном положении

**Б**

* **Срочная окраска по Н.Г. Алексееву.**
* Фиксация в подогретом до 35-40° р-ре Май-Грюнвальда 30 сек.
* Ополаскивают водой
* Окрашивают в 0.1% р-ре азур эозина в соотношении 2:1 2 мин.
* Ополаскивают водой
* Промокая, высушивают

**Билет 19**

**А**

Предложено 2 препарата эпителия. На одном препарате все клетки касаются базальной мембраны, на другом на базальной мембране лежит базальный слой, а остальные слои расположены друг на друге.

1.4. назовите тип к которому относятся данные эпителии, строение однослойных эпителиев (мезотелий, эпителий почечных канальцев , многорядный мерцательный эпителий трахеи)

2.дайте характеристику заливки в парафин , перечислите достоинства и недостатки, приготовление и наливание парафиновых блоков.

**Б**

Окраска по Якимовой

**Ответ**

**А**

1.4 Строение однослойных эпителиев (мезотелий, эпителий почечных канальцев, многорядный мерцательный эпителий трахеи)

Однослойный эпителий: Могут быть однорядными и многорядными. У однорядного все клетки имеют одинаковую форму-плоскую, кубическую, призматическую их ядра лежат на одном уровне, в оном ряду. У многорядного однослойного эпителия различают окрашенного гематоксилин-эозином, призматические клетки, последнии, в свою очередь, делаются по принципу отношения ядра к базальной мембране на высокие вставочные и низкие вставочные клетки.

Многорядный мерцательный эпителий трахей: базальная мембрана, соединительная ткань, бокаловидная клетка, низкие вставочные клетки, высокие вставочные клетки, реснитчатые клетки, реснички.

Мезотелий: ядро, цитоплазма, межклеточные инвагинаты.

Эпителий почечных канальцев

2. Дайте характеристику заливки в парафин, достоинства и недостатки парафиновой заливки, приготовление и наклеивание парафиновых блоков.

К достоинствам Быстрая заливка, возможности приготовления серийных срезов, а также тонких срезов, удобству хранения блоков и неокрашенных срезов.

К недостаткам следует отнести значительное сжатие исследуемого материала (20%) вызываемое воздействием высокой температуры в процессе проникновения парафином.

Приготовление: пропитанные парафином кусочки ткани выкладывают в специальные формочки и заливают расплавленным в термостате или на водяной бане при 60С парафином, в который 1-3% воска.

Наклеивание происходит парафином на водяной бане и теплым пинцетом, на блоке делаются подушечки, чуть застывают, пинцетом берется кусочек погружается не на долго в парафин и затем ложиться на подушечку и заливается полностью парафином.

Заливка препарат должен быть полностью обезвожен, не должен содержать спирта.

**Б**

МЕТОД СРОЧНОЙ ОКРАСКИ ПО Т. П. ЯКИМОВОЙ
Свежеприготовленные мазки, слегка подсушенные на воздухе, погружают в 96%-ный спирт и сразу же вынимают, без экспозиции. Мазки, по-
качивая, несколько раз промывают в крупном сосуде с достаточным количеством водопроводной воды и наливают на предметное стекло краску гематоксилин (по Эрлиху) на 1 - 2 - 3 минуты. Через 1-2-3 минуты краску сливают, мазок промывают проточной водой, промокают фильтровальной бумагой и изучают под микроскопом. Время окраски 1-2-3 минуты, зависит от необходимости времени изучения нативного препарата.

**Билет 20**

**Часть А**

В представленном препарате нейронов, окрашенных метиленовым синим, виден отросток клетки, содержащий глыбки темно – синего цвета

1.4. Назовите глыбки и отростки нейрона, а также строение миеленовых волокон и безмиеленовых нервных волокон

2. перечислите основные конструктивные части санного микротома(микротомные ножи)

**Часть Б**

Окраска по Паппенгейму.

**Ответ**

**А**

1.4 В теле нейрона выявляется развитый синтетический аппарат, гранулярная ЭПС нейрона окрашивается базофильно и известна под названием «тигроид». Тигроид проникает в начальные отделы дендритов, но располагается на заметном расстоянии от начала аксона, что служит гистологическим признаком аксона. Безмиелиновые волокна -Дендриты — как правило, короткие и сильно разветвлённые отростки нейрона, служащие главным местом образования влияющих на нейрон возбуждающих и тормозных синапсов (разные нейроны имеют различное соотношение длины аксона и дендритов), и которые передают возбуждение к телу нейрона. Нейрон может иметь несколько дендритов. Миелиновые волокна - Аксон — обычно длинный отросток нейрона, приспособленный для проведения возбуждения и информации от тела нейрона или от нейрона к исполнительному органу. В различных отделах нервной системы оболочки нервных волокон значительно отличаются друг от друга по своему строению, поэтому в соответствии с особенностями их строения все нервные волокна делятся на две основные группы - миелиновые (мякотные волокна) и безмиелиновые (безмякотные) или, вернее, бедные миелином (тонкомиелинизированные волокна).Те и другие состоят из отростка нервной клетки, который лежит в центре волокна и поэтому называется осевым цилиндром, и оболочки, образованной клетками олигодендроглии, которые иногда называются нейролеммоцитами (шванновские клетки). В центральной и периферической нервной системе преобладают мякотные волокна, в вегетативной нервной системе – безмякотные.

**2.Санные микротомы** используют для получения срезов тканей, предварительно заключенных в парафин или целлоидин. Основные части санного микротома: станина, механизм микроподачи, механизм подъема, объектные салазки с зажимом для ткани, суппорт с ножедержателем.

Для получения гистологических срезов применяют специальные **микротомные ножи**, различающиеся по форме, длине и углу сечения лезвия. По форме они представляют собой сложный стальной клин, у которого режущий край имеет дополнительную клиновидную заточку. Длина ножа может составлять от 8 до 50 см.

По конфигурации лезвия различают **три группы микротомных ножей:** **А, В и С**. У микротомных ножей, относящихся к **группе А**, одна поверхность ровная, а другая вогнутая (их называют **плоско-вогнутыми** с большой кривизной вогнутой поверхности). Эти ножи чаще всего изготовлены из мягкой или относительно мягкой стали и предназначены для резки объектов, залитых в целлоидин.

Ножи, относящиеся к **группе В**, называются **плоско-вогнутыми**, но **кривизна вогнутой поверхности у них значительно меньше**, чем у ножей группы А. Они изготовлены из более твердой стали, используют их для приготовления целлоидиновых и целлоидин-парафиновых срезов.

У ножей, относящихся к **группе С**, **обе поверхности клинка плоские**. Их изготавливают из твердой стали и применяют для резки объектов, залитых в парафин, а также для получения срезов на замораживающем микротоме.

Кроме того, для приготовления парафиновых и полутонких срезов на микротомах и ультратомах используют металлические магнитные лезвия и стеклянные ножи. **Металлическое магнитное лезвие (одноразовый нож)**позволяет получить срезы с 50-60 парафиновых блоков, затем лезвие меняют.

**Б**

Окраска по Паппенгейму

Красители:

1) Мая-Грювальда Мая-Грювальда 0.3% ( 300 мг порошка краски растворяют в 100 мл метилового спирта)

2) Азур 2( 1 г порошка растворяют в 1000мл кипящей воды)

3) Эозин К или Na ( Для первого берут 1 г порошка и растворяют в 1000мл кипящей воды, для второго 0.5 г порошка на тоже количество воды)

Ход окрашивания:

1) Фиксируют мазки в метаноле 3 мин

2) Окрашивают в течение 10 мин в растворе состава: 1 часть красителя Мая-Грюнвальда на 4 части дистилированной воды

3) Докрашивают

**Билет 21**

**А**

На одном из препаратов представлено нервное окончание, образованное ветвлениями осевого цилиндра и глиальными клетками, сопровождающимися разветвлениями. На другом препарате нервое окончание образовано только ветвлениями осевого цилиндра.

1.4. назовите морфологические типы к которым относится 1 и 2 окончание, строение и функции спинного мозга

2. назовите технику приготовления гистологических срезов(парафиновых и целлоидиновых)

**Ответ**

**А**

1.4. первый препарат-аксон,т.к. глиальные клетки образуют миелиновую облочку,Второй препарат – дендрит,т.к. нет глиальных клеток и миелиновой оболочки. Спинной мозг:Длина спинного мозга у взрослого колеблется от 40 до 45 см, ширина — от 1,0 до 1,5 см, а масса равна в среднем 35 г. Различают 4 поверхности спинного мозга:  несколько уплощённую переднюю  немного выпуклую заднюю  две почти округлые боковые, переходящие в переднюю и заднюю. Спинной мозг не на всём протяжении имеет одинаковый диаметр. Его толщина несколько увеличивается снизу вверх. Форма поперечных срезов спинного мозга на разных уровнях различна: в верхней части срез имеет форму овала, в средней части округлый, а в нижней приближается к квадратной. На передней поверхности спинного мозга, по всей его длине, залегает передняя срединная щель, в которую впячивается складка мягкой мозговой оболочки — промежуточная шейная перегородка. Эта щель менее глубокая у верхнего и нижнего концов спинного мозга и наиболее выражена в средних его отделах . На задней поверхности мозга имеется очень узкая задняя срединная борозда, в которую проникает пластинка глиозной ткани — задняя срединная перегородка. Щель и борозда делят спинной мозг на две половины — правую и левую. Обе половины соединены узким мостиком мозговой ткани, в середине которой располагается центральный канал спинного мозга. На боковой поверхности каждой половины спинного мозга находятся две неглубокие борозды. Переднелатеральная борозда, расположенная кнаружи от передней срединной щели, более отдалённая от неё в верхней и средней частях спинного мозга, чем в нижней его части. Заднелатеральная борозда, лежит кнаружи от задней срединной борозды. Обе борозды идут по всей длине спинного мозга. В шейном и отчасти в верхнем грудном отделах, между задней срединной и заднелатеральной бороздами, проходит нерезко выраженная задняя промежуточная борозда . Характерной особенностью спинного мозга является его сегментарность и правильная периодичность выхода спинномозговых нервов. Спинной мозг делят на 5 частей: шейную, грудную, поясничную, крестцовую и копчиковую части. При этом отнесение сегмента спинного мозга к той или иной части зависит не от реального его расположения, а от того в каком отделе выходящие из него нервы покидают позвоночный канал. Он обеспечивает связи головного мозга с периферией и осуществляет сегментарную рефлекторную деятельность.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ СРЕЗОВ ИЗ ПАРАФИНОВЫХ БЛОКОВ

 Производят моделирование блока: срезают скальпелем избыточный парафин, оставляя вокруг залитого объекта слой не более 2—З мм, и придают блоку прямоугольную форму. Блок прочно закрепляют в зажиме микротома. Затем, установив необходимый угол резания и правильный угол наклона ножа, его прочно закрепляют винтовыми зажимами и располагают над блоком. После этого, регулируя винтами, механизм подачи, блок устанавливают таким образом, чтобы верхняя его плоскость находилась в горизонтальном положении и не доходила до лезвия ножа на 0,5—1 мм. Когда предварительная подгонка блока к ножу закончена, устанавливают микрометрическую шкалу на получение толстых (25—30 мкм) срезов и движением ножевых салазок начинают подавать блок вверх до получения с него первых полных срезов После этого устанавливают микрометрическую шкалу на нужную толщину среза и приступают к окончательной резке материала. Следует помнить, что перемещение ножевых салазок вдоль рельсового пути нужно производить плавно и без излишних усилий. Нельзя надавливать на рукоятку сверху, так как это приводит к вытеснению слоя масла, находящегося между скользящими поверхностями, и опусканию ножа, вследствие чего срезы получаются неравномерными. движение микротомным ножом в момент прохождения над блоком надо производить быстро.

Блок фиксируют в объектодержателе так, чтобы длинная ось блока располагалась вдоль длинной оси микротома, а поверхность блока горизонтальной. Очень важна правильная установка ножа. Оптимальным углом наклона ножа считается такой, когда плоскость фасетки совпадает с плоскостью среза. На практике угол наклона ножа обычно несколько больше оптимального. Если угол наклона ножа слишком велик, материал будет крошиться, если слишком мал, нож будет 1-2 раза проскальзывать над блоком, а потом срезать толстый срез.
Парафиновые блоки режут прямым ножом, целлоидиновые – плосковогнутым. При резке парафиновых блоков нож устанавливают перпендикулярно оси микротома или слегка под углом. И последнем случае нельзя получить серийных срезов, но зато очень плотные и трудно режущиеся объекты режутся легче. При резке целлоидиновых срезов нож устанавливают под углом.
Когда нож установлен, к нему осторожно подводят блокодержатель с блоком и одновременно придвигают нож к блоку. Подачу объектодержателя осуществляют с помощью кремальеры, расположенной в основании объектодержателя, либо рукой, толкая санки объектодержателя вдоль наклонных рельсов. Когда блок и нож сближены, проверяют горизонтальность верхней поверхности блока, которая не должна доходить до лезвия ножа на 0,5-1 мм. После этого устанавливают микрометрическую шкалу на получение толстых срезов (30 мкм) и движением салазок ножа начинают подавать блок вверх до тех пор, пока не начинают получаться первые полные срезы, затем микрометрическую шкалу следует установить на необходимую толщину срезов. Парафиновые срезы диаметром 7-10 мкм.
При очень хорошо залитом материале и хорошо наточенном ноже можно получить срезы толщиной 3-5 мкм. Толщина целлоидиновых срезов обычно составляет 12-15 мкм.
Парафиновые срезы режут сухим ножом. При резке целлоидиновых срезов поверхность ножа и поверхность блока постоянно смачивают 70% спиртом. Полученные парафиновые срезы осторожно, не прикасаясь к режущему краю ножа, снимают влажной кисточкой или препаровальной иглой и помещают в чашку с теплой водой или сразу наклеивают на предметное стекло . Если блоки небольшие и прямоугольные, при поперечном положении ножа при резке срезов получают ленточки (серии). Отдельные срезы не снимают с ножа. Края их прикреплены друг к другу, и они располагаются полоской друг за другом. Эту полоску снимают целиком для дальнейшей обработки. Парафиновые срезы всегда слегка сморщены и имеют складки. Эти морщинки и складки необходимо расправить, либо поместив срезы на поверхность теплой (не горячей, чтобы не расплавился парафин!) дистиллированной воды, либо в процессе наклеивания на предметное стекло.
 **Б**

* **Срочная окраска по Н.Г. Алексееву.**
* Фиксация в подогретом до 35-40° р-ре Май-Грюнвальда 30 сек.
* Ополаскивают водой
* Окрашивают в 0.1% р-ре азур эозина в соотношении 2:1 2 мин.
* Ополаскивают водой
* Промокая, высушивают

**Билет 22**

**А**

На препарате представлена стенка мелкого кровеносного сосуда,образованного тремя видами клеток.

1.4. назовите клетки, образующие стенку этого сосуда , классификацию, строение и функции артерий

2. назовите цель и правила фиксации(промывка материала)

**Б**

Окраска по Романовского-Гимзе

**Ответ**

**А**

1.4 Артериолы – мелкие артерии – регулируют кровоснабжение органов. На гистопрепарате стенка артериолы образована 3-мя видами клеток: 1. Эндотелий; 2. Гладкомышечные клетки, единичные, циркулярно расположенные; 3. Адвентициальные клетки. В основе классификации артерий лежат особенности строения средней оболочки, а именно количественные соотношения в ней мышечных и эластических элементов. По составу средней оболочки различают: 1. Артерии эластического типа: в средней оболочке очень сильно развиты эластические элементы в виде эластических мембран( крупные артерии – аорта; легочная артерия); 2. Артерии мышечного типа: в средней оболочке преобладают мышечные элементы – гладкие мышечные клетки ( средние и мелкие артерии тела; конечностей и большинства внутренних органов); 3. Артерии смешанного (мышечно – эластического типа): в средней оболочке хорошо развиты и мышечные и эластические элементы ( подключичная артерия) Различают 3 оболочки: 1. Внутренняя оболочка: А) эндотелий – один слой плоских эпителиальных клеток; Б) подэндотелиальный слой – из рыхлой соединительной ткани, хорошо развит; В) густая сеть эластических волокон ( сплетение эластических волокон) на границе со средней оболочкой; внутренняя эластическая мембрана отсутствует. 2. Средняя оболочка: широкая ; толстая. А) окончатые эластические мембраны ( 40 -50), связаны между собой эластическими волокнами; составляют основу средней оболочки; Б) гладкие миоциты, располагаются циркулярно между эластическими мембранами. 3. Наружная оболочка: рыхлая соединительная ткань с большим количеством эластических волокон и питающих сосудов. Функции кровеносных сосудов: 1.транспортировка крови к органам ( крупные сосуды); 2. регуляция притока крови к органу ( средние и мелкие сосуды); 3. обмен веществ между кровью и тканями ( капилляры).

2. Задачи и правила фиксации Цель фиксации - убить клетку, прекратить происходящие в ней процессы (прежде всего ферментативные) и, по возможности, сохранить ее прижизненное строение. Существует ряд общих правил фиксации: 1) объем фиксирующей жидкости должен не менее чем в 20 раз превышать объем фиксируемого кусочка ткани; 2) фиксатор должен иметь доступ к фиксируемому материалу со всех сторон, по этому на дно сосуда кладут вату или кусочек фильтровальной бумаги или подвешивают кусочек на нитке; 3) продолжительность фиксации зависит от свойств фиксатора, прежде всего от скорости проникновения фиксатора в ткань; 4) различные фиксаторы сохраняют различные структурные и химические компоненты клетки. Большинство фиксаторов оказывает уплотняющее действие на обрабатываемый материал. Размер исследуемых кусочков должен быть таким, чтобы произошло полное его пропитывание в оптимальные для данного фиксатора сроки. В среднем для большинства фиксаторов берут кусочки толщиной 5-10 мм. Различают фиксирующие средства (простые фиксаторы)и фиксирующие смеси (сложные фиксаторы)

**Б**

Сухие мазки фиксируют в метиленовом спирте или смеси Никифорова 5 и 15 мин соответственно. Затем погружают в рабочий раствор(в разведении 1:4) готовят краски Романовского-Гимзе на 5-7 минут. Затем промывают дистиллированной водой и высушивают.

**Билет 23**

На препарате семенника представлены множественные срезы извитого семенного канальца. Между канальцами располагается рыхлая соеденительная ткань, в которой видны крупные скопления клеток многоугольной формы,богатых липидными включениями и окруженных гемокапиллярами.

1.4 На препарате представлены клетки Лейдига( интерстициальные клетки) . Эти клетки вырабатывают гормон тестостерон, поступающий в гемокапилляры. Выработка тестостерона регулируется лютеинизирующим гормоном гипофиза. Тестостерон вместе фолликулостимулирующим гормоном гипофиза оказывает влияние на сперматогенез.

Яичники- выполняют репродуктивную функцию и эндокринную.

Поверхности яичник покрыт серозной оболочкой, паренхима органа состоит из коркового вещества и мозгового вещества.

Корковое вещество В нем расположены структуры где происходит образование яйцеклеток( овогенез), гибель яйцеклеток при атрезии фолликулов и выработка гормонов.

Овогенез совершается в фолликулах. Стадии развития фолликулов:

1) Примордиальные фолликулы многочисленные, окружены одним слоем плоских фолликулярных клеток, в центре его лежит овоцит, находящийся в диплотене профазы мейоза.

2) В первичных фолликулах у овоцита формируется прозрачая оболочка, его размер увеличивается , образуется несколько слоев фолликулярных клеток

3) В растущих фолликулах увеличивается количество слоев фолликулярных клеток, секретирующих жидкость, которая начинает заполнять полость фолликула и оттеснять овоцит к одному из полюсов фолликула( вторичный фолликул)

4) Формируруется наружная соеденительнотканная оболочка фолликула- тека, где располагаются интерстициальные клетки( гландулоциты) , продуцирующие гормон.

5) Зрелый пузырчатый фолликул( третичный) значительно увеличивается в объеме за счет скопления жидкости и выпячивает поверхность яичника.

В зоне фолликула расположен яйценосный бугорок, где находится овоцит 2 порядка в окружении фолликулярных клеток. Во время овуляции фолликул разрывается, овоцит выбрасывается в брюшную полость и поступает в маточную трубу.

Мозговое вещество построено из соединительной ткани, в которой расположены сосуды и нервы, а также эпителиальные тяжи.

2. Приготовление гистологических срезов

Для получения тонких срезов используют микротомы. Для резания парафиновых и целлоидиновых блоков применяют санные микротомы.

Блок фиксируют в объектодержателе так чтобы длинная ось блока располагалась вдоль длинной оси микротома. Когда нож установлен,к нему осторожно подводят блокодержатель с блоком и одновременно придвигают нож к блоку. Когда блок и нож сближены , проверяют горизонтальность верхней поверхности блока ( не должна доходить до лезвия ножа на 0.5- 1мм). Затем устанавливают микрометрическую шкалу для получения срезов нужной толщины и движением салазок ножа начинают делать срезы.

Приготовление парафиновых блоков:

1) Режут прямым ножом, нож устанавливают перпендикулярно оси микротома или слегка под углом

2) Срезы делают толщиной 7-1- мкм

3) Режут сухим ножом

4) Полученые срезы осторожно снимают влажной кисточкой или препаровальной иглой и помещают в чашку с теплой водой или сразу наклеивают на предметное стекло.

5) Срезы всегда слегка сморщены и имеют складки. Их необходимо расправить , либо поместив срезы на поверхность с теплой водой , либо в процессе наклеивания на предметное стекло.

6) Наклеивают срезы на чистые обезжиренные стекла, смазынные белком с глицерином. Затем расправленный срез при помощи кисточки вылавливают из воды и переносят на стекло

Приготовление целлоидиновых блоков:

1) Режут плосковогнутым ножом

2) Толщина обычно 12-15мкм

3) При резке поверхность ножа и блока постонно смачивают 70% спиртом

4) Срезы переносят с ножа в низкий бюкс с 70% спиртом и в дальнещем окрашивают без наклеивания на предметное стекло, помещая срезы с помощью препаровальной иглы с загнутым концом в соответствующие реактивы

**Б**

**Метиленовым синим**

Реактив: метиленовый синий. На высушенный препарат наносят 1-2 капли метилен синего, покрывают покровным стеклом. Красят 1-2 минуты.

**Билет 24**

**А**

Даны 2 препарата артерий, окрашенных орсеином. В одном из них хорошо видны внутренняя и наружная эластическая мембрана, а также эластические волокна в средней оболочке, в другом в средней оболочке большое количество толстых эластических мембран, а также иэластические волокна во всех 3 оболочках.

1.4. назовите сосуды, принадлежащие к этому типу артерий, а также строение, классификацию,функциональную характеристику сосудов микроциркулярного русла.

2. дайте характеристику уплотнению материала: а) обезвоживние, б) заливка в плотные застывающие среды

**Б**

Окраска по Паппенгейму

**Ответ**

**А**

1.4. артерии мышечного типа (первый препарат) : все периферические артерии( средние и мелкие артерии тела; конечностей и большинства внутренних органов) Артерии эластического типа-аорта, легочный ствол Мелкие кровеносные сосуды – сосуды микроциркуляции или микроциркуляторное русло –эта система кровеносных сосудов небольшого диаметра ( до 100 мкм.) А) Гемокапилляры –наиболее многочисленные и самые тонкие сосуды. Диаметр их просвета сильно варьирует 4,7 – 7 мкм. ( в мышечной ткани и нервах); 7 -12 мкм ( в коже и слизистых оболочках); 20-30 мкм( в кроветворных органах , печени). Такие крупные капилляры называются синусоидными. Капилляры –это обменные микрососуды, обеспечивают: обмен веществ между кровью и тканями. Наилучшие условия для обменных процессов обеспечивают: тонкие стенки; огромная площадь соприкосновения с тканями; медленный кровоток -0,5 мм/сек; низкое кровяное давление 20- 30 мм. рт. ст. Стенка гемокапилляра состоит из 3-х слоев: 1. Эндотелиальные клетки; 2. Базальный слой. В этом слое различают базальную мембрану(неклеточный компонент) и клетки отросчатой формы – перициты, расположенные в расщеплениях базальной мембраны; 3. Наружный слой – адвентициальные (соединительнотканные ) клетки. Различают 3 основных типа капилляров: 1. Соматический тип капилляров – непрерывный эндотелий без фенестров и пор; непрерывная базальная мембрана. Соматические капилляры локализуются в мышцах, сердце, коже, коре головного мозга. 2. Висцеральный ( фенестровый) тип капилляров – фенестрированный эндотелий с локальными истончениями в цитоплазме ( фенестрами – окнами) и непрерывная сплошная базальная мембрана. Локализуются в кишечнике, почках , эндокринных железах. 3. Синусоидный тип капилляров – прерывный эндотелий ( между эндотелиоцитами имеются щели, поры); базальная мембрана прерывистая или вообще отсутствует ; ширина просвета капилляров максимальная 20 -30 мкм ( в красном костном мозге, селезенке, печени). Капилляры 2-го и 3-го типа характеризуются высокой проницаемостью стенки. Б) Венулы – мелкие вены, участвуют в обменных процессах; стенка имеет такое же строение как стенка капилляра. На гистологических препаратах стенка капилляра и венулы образована 2-мя видами клеток: 1. Эндотелиальные клетки; 2. Адвентициальные клетки. Отличаются эти сосуды своим диаметром : в капиллярах эритроциты лежат в 1-2 ряда; в венулах – во много рядов; просвечивающая кровь придает венулам оранжевый цвет. В) Артериолы – мелкие артерии – регулируют кровоснабжение органов. На гистопрепарате стенка артериолы образована 3-мя видами клеток: 1. Эндотелий; 2. Гладкомышечные клетки, единичные, циркулярно расположенные; 3. Адвентициальные клетки. Для стенки артериолы характерна поперечная исчерченость, которая обусловлена ядрами циркулярно расположенных гладкомышечных клеток, лежащих поодиночке, наподобие обручей, в то время, как ядра эндотелиоцитов расположены вдоль стенки сосуда или параллельно его просвету. Дифференцировать артериолы и венулы в препаратах достаточно просто: артериолы имеют характерную поперечную исчерченость; в венулах четко различим просвет сосудов заполненный29 дога эритроцитами; описанная исчерченость отсутствует; ядра эндотелиоцитов имеют более округлую форму, нежели в артериолах. Гемокапилляры – тонкостенные микрососуды с узким просветом (эритроциты – какправило в 1 ряд, либо в два). Сосуды относятся к оболочечно – слоистым органам: 1. Имеют полость; 2. Стенка содержит оболочки, в составе которых имеется строго определенное расположение тканей.

2. После промывания кусочки подвергают дальнейшему уплотнению путем обезвоживания в спиртах увеличивающейся концентрации. Для проведения процедуры приготавливают необходимое количество бюксов или стаканчиков с притертыми крышками,(можно использовать не большие банки с завинчивающейся крышкой ) этикетируют их и заливают спиртами: 50, 60, 70, 80 и 96% (по два стаканчика), 100% (два стаканчика). Такой последовательный ряд сосудов получил название гистологической батареи. Спирты нужной крепости приготавливают заранее по специальной таблице разведения из 96 или 95 % этилового спирта ЗАЛИВКА В ПАРАФИН Этот метод широко распространен в исследовательских гистологических лабораториях благодаря относительной быстроте заливки (в течение 1—2 дней после обезвоживания), возможности приготовления серийных срезов, а также тонких срезов для цитологических исследований (толщина 2—3 мкм), удобству хранения блоков и неокрашенных срезов (практически неограниченное время). К недостаткам метода следует отнести значительное сжатие исследуемого материала (до 20%), вызываемое воздействием высокой температуры в процессе пропитывания парафином. Богатые водой, рыхлые ткани малопригодны к заливке в парафин. Известное неудобство представляет необходимость удаления парафина из срезов перед их окраской. Заливка ткани в целлоидин Целлоидин — хорошо растворяющаяся в эфире нитроклетчатка. В гистологической практике применяют 2 %, 4 % и 8 % растворы целлоидина, которые готовят из целлоидиновых пластин или отмытой от эмульсии и высушенной рентгеновской пленки. Заливка ткани в целлоидин стала в настоящее время менее популярной, чем парафиновая, и ее применяют главным образом для обработки труднорежущихся тканей и объектов больших размеров, с которых трудно получить хорошие парафиновые срезы. Целлоидиновую заливку используют также в тех случаях, когда необходимо избежать воздействия на исследуемый материал высоких температур. Кроме того, заливка материалов в целлоидин позволяет получить лучшие результаты при наличии в объектах больших полостей, лакун и слоев различной консистенции. Эфир и сухой целлоидин огнеопасны, поэтому при работе с ними необходима осторожность. Обезвоженный материал помещают в смесь 100 % спирта с эфиром (1:1) на 4—6ч, переносят в 2 % раствор целлоидина на 2—3 дня, затем в 4 % и 8 % растворы на 5—7 дней в каждый. Пропитанный кусочек заливают свежим 8 % целлоидином и уплотняют в парах хлороформа (в эксикаторе). Уплотненный таким образом материал заливают 70 % спиртом для хранения. Вырезанные блоки наклеивают густым целлоидином на деревянные колодки на 1 суток перед резкой.

**Б**

Окраска по Паппенгейму

Красители:

1) Мая-Грювальда Мая-Грювальда 0.3% ( 300 мг порошка краски растворяют в 100 мл метилового спирта)

2) Азур 2( 1 г порошка растворяют в 1000мл кипящей воды)

3) Эозин К или Na ( Для первого берут 1 г порошка и растворяют в 1000мл кипящей воды, для второго 0.5 г порошка на тоже количество воды)

Ход окрашивания:

1) Фиксируют мазки в метаноле 3 мин

2) Окрашивают в течение 10 мин в растворе состава: 1 часть красителя Мая-Грюнвальда на 4 части Ттиллированной воды

3) Докрашивают

**билет 25**.

 1.4) Повреждены аксоны двигательных нейронов передних рогов и центральных нейронов симпатической нервной системы. Спинномозговые узлы (СМУ) расположены по ходу задних корешков спинного мозга. Снаружи покрыты соединительнотканной капсулой, от капсулы внутрь отходят прослойки-перегородки из рыхлой соединительной тканью с кровеносными сосудами. Под капсулой группами располагаются тела нейроцитов. Нейроциты СМУ крупные, диаметр тел до 120 мкм. Ядра нейроцитов крупные, с четкими ядрышками, располагаются в центре клетки; в ядрах преобладает эухроматин. Тела нейроцитов окружены клетками сателлитами или мантийными клетками - разновидность олигодендроглиоцитов. Нейроциты СМУ по строению псевдоуниполярные - аксон и дендрит отходят от тела клетки вместе как один отросток, далее Т-образно расходятся. Дендрит идет на периферию и образует в коже, в толще сухожилий и мышц, во внутренних органах чувствительные рецепторные окончания, воспринимающие болевые, температурные, тактильные раздражители, т.е. нейроциты СМУ по функции чувствительные. Аксоны по заднему корешку поступают в спинной мозг и передают импульсы на ассоциативные нейроциты спинного мозга. В центральной части СМУ располагаются параллельно друг другу нервные волокна, покрытые леммоцитами.

2.

**Б**

Срочное окрашивание по Н.Г. Алексееву: Тонкие мазки окрашивают по методике Алексеева 1) Фиксируют мазки в прогретом до 35-40 градусов растворе Мая-Грюнвальда в течение 30 сек. 2) Ополаскивают водой; 3)Окрашивают в 0,1% раст-ре азур-эозина (в соотношение 2:1) в течение 2 м.; 4)Ополаскивают водой; 5) Промокают, высушивают

 **Билет 26.**

 **Часть А.**

Предложены два препарата волокнистой соединительной ткани, окрашенные гематоксилин-эозином. В том и другом препарате выявляется выраженная оксифилия межклеточного вещества. Однако, в первом препарате видно, что коллагеновые волокна располагаются параллельно друг другу, а во втором в разных направлениях без определенной ориентации.

1.4. Назовите ткани, представленные в двух препаратах, а также местоположении, строение, функцию плотной волокнистой соединительной ткани.

2.перечислите способы окрашивания срезов: прямое,непрямое,простое, сложное, регрессивный и прогрессивный метод

**Б**

окраска фуксином

**Ответ**

**А**

Плотная волокнистая неоформленная соединительная ткань. Локализуется в сетчатом слое дермы, надкостнице, надхрящнице; входит в состав сосочкового слоя дермы, наружной оболочки аорты

Клетки. Клеток значительно меньше, чем в рыхлой соединительной ткани; имеются, в основном, фибробласты и фиброциты, встречаются тучные клетки, макрофаги. Межклеточное вещество состоит из коллагеновых и эластических беспорядочно расположенных волокон, а также аморфного компонента.неоформленная, которая представлена сетчатыми слоями дермы. Состоит из многочисленных волокон, плотно расположенных по отношению друг к другу. В эту же категорию входят и незначительное количество расположенных между ними клеток.оформленная, образующая связки, сухожилия, капсулы, мышечные структуры, фасции. Это один из важнейших строительных материалов в человеческом организме, состоящий из клеток- фиброцитов. Например, ткани, из которых состоят сухожилия.

2. При прогрессивном типе окрашивания процесс идет до тех пор, пока не достигается интенсивное проникновение красителя в ткань. Регрессивный тип основан на
первоначальном перекрашивании структур с последующей дифференцировкой до нужного уровня. Если раствор красителя непосредственно действует на ткань, то говорят о прямом окрашивании. Окрашивание после предварительной подготовки ткани (протравливания) называется непрямым. Окрашивание одним красителем - простое, а при использовании нескольких красителей — сложное

**Б**

Реактив: 3 г кислого фуксина растворяют в 100мл 96% спирта. К 12 мл этого раствора прибавляют 100мл дистиллированной воды

На высушенный препарат поливают фуксин на 1 мин,затем смывают водой, высушивают. **Таким же способом можно красить мазки метиленовым синим**

**Билет 27.**

**Часть А.**

Предложены 2 препарата мышечной ткани, окрашенные гематоксилин-эозином.В одном видны мышечные волокна, содержащие много ядер, расположенные на периферии; в другом клетки веретеновидной формы с находящимся в центре удлиненным палочковидным ядром.

1.4. Назовите ткань, представленную на данном препарате, а так же общую характеристику, классификацию мышечных клеток.

2. Перечислите способы окрашивания срезов: прямое, непрямое, простое, сложное, прогрессивный и регрессивный метод.

**Часть Б**. Окраска по методу Алексеева.

**Ответ**

**А**

Состоит из вытянутых клеток, которые принимают раздражение от нервной системы и отвечают на него сокращением. Основные морфологические признаки элементов мышечной ткани: удлиненная форма, наличие продольно расположенных миофибрилл и миофиламентов (специальные органеллы, обеспечивающие сократимость, расположение митохондрий рядом с сократительными элементами, наличие включений гликогена, липидов и миоглобина).
Гладкая мышечная ткань - ее структурный элемент - веретенообразная клетка. Входит в состав стенок внутренних органов, кровеносных сосудов, кожи.
Поперечнополосатая мышечная ткань - Она построена из мышечных волокон (длиной до 12 см). Формирует скелетные мышцы и входит в состав некоторых внутренних органов (язык, глотка, пищевод, гортань).

Особый вид поперечнополосатой мышечной ткани представляет мышечная ткань сердца: ее волокна имеют большое количество «анастомозов» и огромное количество митохондрий.

2. При прогрессивном типе окрашивания процесс идет до тех пор, пока не достигается интенсивное проникновение красителя в ткань. Регрессивный тип основан на первоначальном перекрашивании структур с последующей дифференцировкой до нужного уровня. Если раствор красителя непосредственно действует на ткань, то говорят о прямом окрашивании. Окрашивание после предварительной подготовки ткани (протравливания) называется непрямым. Окрашивание одним красителем - простое, а при использовании нескольких красителей — сложное

**Б**

**Срочная окраска по Н.Г. Алексееву.**

* Фиксация в подогретом до 35-40° р-ре Май-Грюнвальда 30 сек.
* Ополоскивают водой
* Окрашивают в 0.1% р-ре азур эозина в соотношении 2:1 2 мин.
* Ополаскивают водой
* Промокая,высушивают.

**Билет 28**

**А**

В предложенном препарате, в клетка хорошо развита гранулярная ЭПС, комплекс Гольджи.

1.4. назовите функции постоянных органелл:морфологические компоненты цитоплазмы, их классификация и значение.

2.назоите основной принцип окраски клеточных структур кислыми и основными красителям. Базофильные и оксифильные структуры клеток и тканей.

**Б**

Окраска по Паппенгейму

**Ответ**

**А**

**1.4 назовите функции постоянных органелл; морфологические компоненты цитоплазмы, их классификация и значение.**

Цитоплазма- взаимодействие между ядром и органоидами. Транспорт веществ

Ядро- Регулирует все процессы биосинтеза, такие как обмена веществ и энергии, осуществляет передачу наследственной информации. В ядрышках синтезируются РНК и белки, из которых образуются в последствие рибосомы.

Клеточная мембрана- Защитная, обеспечивает форму клеток и клеточную связь, пропускает внутрь клетки необходимые вещества и выводит продукты обмена. Осуществляет процессы фагоцитоза и пиноцитоза.

ЭПС- Осуществляет синтез белков и некоторых других органических веществ, а также является главной транспортной системой клетки.

Рибосомы-синтез белка

Лизосомы-пищеварение в клетке

Митохондрии- Синтезирует молекулы АТФ. Обеспечивает клетку энергией.

Пластиды- Лейкопласты — накапливают крахмал. Хлоропласты — участие в процессе фотосинтеза.

Хромопласты — Накапливание каратиноидов.

Клеточный центр- Участвует в формировании цитоскелета. Участие в процессе деления клетки.

Органоиды движения (реснички, жгутики)-движение

Аппарат Гольджи- Накапливает вещества, которые синтезируются собственно клеткой. Использование этих веществ или вывод во внешнюю среду.

Цитоплазма- это внутреннее содержимое клетки. В нее погружены все органеллы клетки, ядро и разнообразные продукты жизнедеятельности. Цитоплазма связывает все части клетки между собой, в ней протекают многочисленные реакции обмена веществ. Цитоплазма отделяется от окружающей среды и делится на отсеки мембранами, то есть клеткам присуще мембранное строение. Жидкая часть цитоплазмы без органоидов называется гиалоплазмой. Гиалоплазма, или цитозоль, матрикс (основное вещество) цитоплазмы представляющий собой коллоидный раствор — своеобразную взвесь достаточно крупных частиц, например, белков, окруженных диполями молекул воды. Осаждения этой взвеси не происходит вследствие того, что частицы имеют одинаковый заряд и отталкиваются друг от друга. Цитоплазма может находиться в двух состояниях — золя и геля. Золь — это полужидкое, киселеобразное состояние цитоплазмы, при котором процессы жизнедеятельности протекают наиболее интенсивно, а гель — более плотное, студнеобразное состояние, затрудняющее протекание химических реакций и транспорт веществ.

2.

 Основные красители ( гематоксилин, кармин)  а) Красящиеся структуры -  базофильные (сродство к основным красителям).

б) Это структуры, богатые нуклеиновыми или иными кислотами - ядра,рибосомы,аморфный компонент межклеточного вещества.
 Кислые (эозин, кислый фуксин) а) Окрашиваемые структуры называются оксифильными(имеющими сродство к кислым красителям).

б) Это белковые компоненты цитоплазмы и неклеточные структуры (коллагеновые волокна).
 Нейтральные (азур 2,эозин) а) Структуры, воспринимающие кислые красители, окрасятся эозином;пример - специфические гранулы в эозинофильных лейкоцитах.

б) Ядра всех клеток окрашиваются азуром 2.
 Специальные ( Судан 3, 4) Суданом окрашиваются жировые капли (в которых он растворяется).

. Основные, или ядерные, красители — это основания или их соли, которые окрашивают структуры кислой природы (хроматин ядер, ядрышко и др.) и называются базофильными. К ним относятся гематоксилин, тионин, кармин, метиловый зеленый.

Кислотные красители — это кислоты или их соли, с помощью которых выявляют вещества и структуры основной природы (цитоплазматические структуры клеток, эритроциты и т.д.). Таковыми являются эозин, кислый фуксин, Конго красный (конгорот), эритрозин.

**2.**

**Окраска гематоксилин -эозином**

1.а) Самый распространённый метод окраски.

б) Сочетает основной и кислый красители.

в) Поэтому позволяет выявить почти все клетки и многие неклеточные структуры.

2. Ядра приобретают **сине-фиолетовый** цвет, цитоплазма -**желтовато-розовый**цвет.

3. Замечание: используемый гематоксилин готовится по методу Эрлиха: окисляется до гематеина калийными квасцами.

**2. Окраска железным гематоксилином (по методу Генденгайна)**

1. Препарат предварительно обрабатывают (протравляют) железноаммиачными квасцами, а потом обрабатывают гематоксилином.

2. Структуры приобретают **коричневато-серый** цвет.

3. Хорошо выявляются

структуры ядра, границы клеток,мышечные волокна.

**Б**

Окраска по Паппенгейму

Красители:

1) Мая-Грювальда Мая-Грювальда 0.3% ( 300 мг порошка краски растворяют в 100 мл метилового спирта)

2) Азур 2( 1 г порошка растворяют в 1000мл кипящей воды)

3) Эозин К или Na ( Для первого берут 1 г порошка и растворяют в 1000мл кипящей воды, для второго 0.5 г порошка на тоже количество воды)

Ход окрашивания:

1) Фиксируют мазки в метаноле 3 мин

2) Окрашивают в течение 10 мин в растворе состава: 1 часть красителя Мая-Грюнвальда на 4 части Ттиллированной воды

3) Докрашивают

**Билет 29**

**Часть А** на двух микрофотографиях представлена кора головного мозга, но не указано каких отделов – мозжечка или больших полушарий.

1.1 Дезинфекция и настройка микроскопа.

1.2 Исследование готовых препаратов.

1.3 Окраска гематоксилин- эозин

1.4 Ответ: Головной мозг состоит из серого и белого вещества.

Большая часть серого вещества расположена на переферии большого мозга и мозжечка, образуя их кору.

Мозжечок- центральный орган равновесия и координации движений. На поверхности мозжечка много извилин и бороздок,в центре каждой извилины имеется прослойка белого вещества, покрытого с поверхности корой. Кора мозжечка содержит 3 слоя: молекулярный, ганглионарный (средний) и зернистый ( внутренний).

В молекулярном слое да типа нейронов:

1) Корзинчатые распологаются в нижней трети молекулярного слоя. Их нейриты идут над телами грушевидных клеток поперек извилины и отдают веточки, формирующие на телах грушевидных нейронов сплетения-корзинки нервных волокон.

2) Звездчатые нейроны лежат выше корзинчатых и бывают 2 типов: Мелкие ( имеют тонкие дендриты и слаборазветвленные нейриты,образующие синапсы на дендритах грушевидных нейронов) и крупные( могут достигать тел грушевидных клеток)

Ганглионарный слой состоит из грушевидных нейронов, располагающихся в один ряд .Дендриты грушевидных нейронов направляются к поверхности в молекулярный слой.

Зернистый слой составляют клетки-зерна. Это мелкие нейроны , дендриты которых своими концевыми ветвлениями вступают в контакт с афферентными волокнами. Они

передают импульс дендритам большого числа грушевидных клеток а также звездчатым и корзинчатым.

Второй тип нейронов зернистого слоя –большие звездчатые нейроны( клетки Гольджи)Они образую тормозные синапсы на концевых ветвлениях дендритов клеток-зерен и могут блокировать импульсы.

Кора большого мозга Координирует все условные рефлексы и обеспечивает психическую и произвольную деятельность.

Мультиполярные нейроны коры разнообразны по форме: пирамидные, звездчатые, ветереновидные и др Наиболее характерны для коры большого мозга пирамидные( вытянутое треугольное тело, вершина которого обращена к поверхности коры) . Нейриты мелких нейронов ветвятся в пределах коры, крупных выходят в белое вещество, гигантских пирамид( клеток Беца) образуют пирамидные пути спинного мозга.

Нейроны воспринимают раздражение , приходят в состояние возбуждения, вырабатывают и передают нервный импульс. В нейроне различают тело, отростки( нейрит и дендриты) и нервные окончания. По нейриту(аксону) импульс идет от тела нервной клетки, а дендрит воспринимает импульс и проводит его к телу нейрона. По числу отростков различают: униполярные нейроны- с одним отростком, биполярные -2 отростка и мультиполярные- с 3 и более. По функциональному значению делятся на: рецепторные- чувствительные , эффекторные( передают импулься на сократительные и секреторные элементы) и ассоциативные ( связь между нейронами)

Нейроглия Выполняет в нервной ткани опорную, разграничительную, трофическую , секреторную и защитную функции. Различают макроглию( глиоциты) и микроглию.

К макроглии относят эпендимоциты, выстилающие полости в головном и спинном мозге, астроциты , выполняющие опорную и разграничительную функции и олигодендроциты – они локализуются в ЦНС , где они образуют оболочки нейронов и их отростки.

Клетки микроглии выполняют защитную функцию( фагоцитоз)

2 Заливка ткани в целлоидин

В гистологической практике применяют 2 %, 4 % и 8 % растворы целлоидина, которые готовят из целлоидиновых пластин или отмытой от эмульсии и высушенной рентгеновской пленки.

Для приготовления 500 мл 2 % раствора целлоидина 10г сухого целлоидина заливают 250 мл 100 % спирта и оставляют на 1сут, затем добавляют 250 мл безводного эфира, который растворяет набухший в спирте целлоидин. Для приготовления 4 % и 8 % растворов количество целлоидина увеличивают соответственно в 2 и 4 раза. Растворы хранят в плотно закрытой посуде.

Заливка ткани в целлоидин стала в настоящее время менее популярной, чем парафиновая, и ее применяют главным образом:

1. для обработки труднорежущихся тканей и объектов больших размеров, с которых трудно получить хорошие парафиновые срезы,

2. когда необходимо избежать воздействия на исследуемый материал высоких температур,

3. заливка материалов в целлоидин позволяет получить лучшие результаты при наличии в объектах больших полостей, лакун и слоев различной консистенции.

Эфир и сухой целлоидин огнеопасны, поэтому при работе с ними необходима осторожность.

Обезвоженный материал помещают в смесь 100 % спирта с эфиром (1:1) на 4-6 ч, переносят в 2 % раствор целлоидина на 2-3 дня, затем в 4 % и 8 % растворы на 5-7 дней в каждый. Пропитанный кусочек заливают свежим 8 % целлоидином и уплотняют в парах хлороформа (в эксикаторе). Уплотненный таким образом материал заливают 70 % спиртом для хранения. Вырезанные блоки наклеивают густым целлоидином на деревянные колодки на 1сут перед резкой.

Часть Б

МЕТОД СРОЧНОЙ ОКРАСКИ ПО Т. П. ЯКИМОВОЙ

Свежеприготовленные мазки, слегка подсушенные на воздухе, погружают в 96%-ный спирт и сразу же вынимают, без экспозиции. Мазки, покачивая, несколько раз промывают в крупном сосуде с достаточным количеством водопроводной воды и наливают на предметное стекло краску гематоксилин (по Эрлиху) на 1 - 2 - 3 минуты. Через 1-2-3 минуты краску сливают, мазок промывают проточной водой, промокают фильтровальной бумагой и изучают под микроскопом. Время окраски 1-2-3 минуты, зависит от необходимости времени изучения нативного преп

**Билет 30**

**А**

Представлен препарат крови .

1.4. назовите те и другие клетки, а также строение, функциональное значение красного костного мозга

2. назовите технику снятия срезов с микротомного ножа, наклейку срезов на предметные стекла, их распределение и маркировку стекол.

**Б**

Окраска метиленовым синим

**Ответ**

**А**

1.4 Осифильно окраш-ся гранулярные ( базофилы, эозинофилы,нейтрофилы).

Базофильно окрашиваются-агранулоциты (лимфоциты, моноциты).
Строение кр.костного мозга:В состав красного костного мозга входят строма кроветворные тяжи и синусоидные капилляры. Строма представляет собой трехмерную сеть из ретикулярных клеток и тончайшую сеточку из ретикулярных волокон, в петлях которой находятся кроветворные клетки и макрофаги. Строма костного мозга содержит коллаген I и III типов, фибронектин, ламинин и протеогликаны. Снаружи синусоидные капилляры поддерживаются несплошным слоем ретикулярных клеток и рыхлой сетью ретикулярных волокон.
ФУНКЦИЯ кр.костного мозга: Главной функцией красного костного мозга является образование клеток крови, разрушение изношенных красных кровяных клеток и накопление (в макрофагах) железа, образовавшегося при распаде гемоглобина.

2.Парафиновые срезы осторожно не прикасаясь к режущиму краю ножа, снимают влажной кисточкой или препаровальной иглой и помещают в чашку с теплой водой или сразу наклеивают на предметное стекло . Парафиновые срезы всегда сморщены и имеют складки( их необходимо расправить, либо поместив срезы на поверхность теплой воды, либо в процессе наклеивания на стекло.

Наклеивают на чистые обезжиренные стекла смазанные белком с глицерином. Затем расправленный срез при помощи кисточки переносят на стекло.

Целлоидиновые срезы переносят с ножа в низкий бюкс с 70% спиртом и в дальнейшем окрашивают без наклеивания на предметное стекло,помещая срезы с помощью препаравальной игла с загнутым концом или стеклянным крючком в соответсвующие реактивы.

Маркировка стекол

При наклеивании срезов на блок один конец стекла оставляют свободным.Надпись на стекло можно наносить с помощью алмазного отметчика,но чаще это делается тушью. Так как тушь размазывается или стирается, следует ее наносить на смазанный беком и высушенный конец стекла.

 **Б**

Реактив: метиленовый синий. На высушенный препарат наносят 1-2 капли метилен синего, покрывают покровным стеклом. Красят 1-2 минуты.