

Министерство образования и науки Российской Федерации

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
«Оренбургский государственный университет»

# **ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ ПО ЭМБРИОЛОГИИ И ГИСТОЛОГИИ РЫБ**

Учебно-методическое пособие

Рекомендовано Ученым советом федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Оренбургский государственный университет» в качестве учебного пособия для студентов, обучающихся по программам высшего образования по направлению подготовки 35.03.08 Водные биоресурсы и аквакультура

Оренбург  
2015

УДК 591:639.3(075.8)  
ББК 28.6я73+47.2я73  
Л 12

Рецензент – доктор биологических наук, профессор А.М. Русанов

Л 12

**Авторы: С.В. Лебедев, Е.П. Мирошникова, О.В. Кван, Е.А. Сизова.**

Лабораторный практикум по эмбриологии и гистологии рыб: учебно-методическое пособие / С.В. Лебедев, Е.П. Мирошникова, О.В. Кван, Е.А. Сизова; Оренбургский гос. ун-т. – Оренбург: ОГУ, 2015. – 181 с.

ISBN 978-5-7410-1377-9

Учебно-методическое пособие «Лабораторный практикум по эмбриологии и гистологии рыб» составлено с учетом Федерального государственного образовательного стандарта высшего образования по направлению подготовки 35.03.08 - Водные биоресурсы и аквакультура, утвержденного приказом Министерства образования и науки Российской Федерации от 28 октября 2009 г. № 487.

В пособии рассмотрена гистологическая техника приготовления препаратов (неживых) клеток и тканей органов различных видов рыб. Затронуты проблемы этики физиологического эксперимента, правила обращения с экспериментальной рыбой. Дано краткое описание основных практических заданий с изложением соответствующих теоретических сведений и необходимых пояснений по техническому оснащению эксперимента, ходу работы, ожидаемым результатам.

УДК 591:639.3(075.8)  
ББК 28.6я73+47.2я73

ISBN 978-5-7410-1377-9

©Сизова Е.А.,  
Кван О.В.,  
Мирошникова Е.П.,  
Лебедев С.В., 2015  
© ОГУ, 2015

## Содержание

|                                                                                                   |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 1 Лабораторная работа №1. Гистологическая техника                                                 | 5   |
| 1.1.1 Порядок приготовления гистологического материала                                            | 9   |
| 1.1.2 Приготовление препаратов для цито- и гистохимических исследований                           | 11  |
| 1.1.3 Приготовление препаратов (объектов) для прижизненного изучения клеток и тканей              | 14  |
| 1.1.4 Основные этапы приготовления препаратов для электронно-микроскопического исследования       | 15  |
| 2 Лабораторная работа №2. Методы микроскопирования гистологических объектов                       | 18  |
| 2.1 Правила работы с микроскопом                                                                  | 19  |
| 2.2 Техника микроскопирования гистологических препаратов                                          | 21  |
| 2.3 Специальные методы светооптической микроскопии                                                | 22  |
| 2.4 Электронная микроскопия                                                                       | 23  |
| 3 Лабораторная работа №3. Цитология. Морфология клетки, органоиды и включения. Деление клеток     | 26  |
| 3.1 Общая морфология клеток и неклеточных структур. Форма клеток. Строение и функции плазмолеммы. | 27  |
| 4 Лабораторная работа №4. Органеллы и включения цитоплазмы                                        | 35  |
| 5 Лабораторная работа №5. Эмбриология                                                             | 50  |
| 6 Лабораторная работа №6. Гонадогенез у рыб. Периоды развития рыб                                 | 63  |
| 6.1 Гаметогенез                                                                                   | 63  |
| 6.2 Эмбриональный период развития рыб (на примере осетровых)                                      | 63  |
| 6.3 Постэмбриональное развитие                                                                    | 79  |
| 6.4 Личиночный период развития осетровых рыб                                                      | 83  |
| 7 Лабораторная работа №7. Эпителиальные ткани. Железы                                             | 85  |
| 8 Лабораторная работа №8. Строение кожных покровов у рыб                                          | 100 |
| 8.1 Строение и функции кожи рыб                                                                   | 100 |
| 8.1.1 Эпидермис                                                                                   | 105 |

|                                                                                                   |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 8.1.2 Дерма                                                                                       | 107 |
| 8.1.3 Окраска тела                                                                                | 108 |
| 8.1.4 Чешуя                                                                                       | 109 |
| 8.1.5 Возраст рыб                                                                                 | 113 |
| 9 Лабораторная работа №9. Кровь и лимфа                                                           | 115 |
| 10 Лабораторная работа №10. Соединительные ткани, классификация и строение                        | 129 |
| 10.1 Соединительные ткани со специальными свойствами                                              | 134 |
| 10.2 Хрящевые и костные ткани (скелетные ткани)                                                   | 137 |
| 11 Лабораторная работа №11. Мышечные ткани                                                        | 142 |
| 12 Лабораторная работа №12. Нервная ткань                                                         | 146 |
| 13 Лабораторная работа №13. Частная гистология. Отделы центральной нервной системы. Органы чувств | 149 |
| 13.1 Головной мозг. Кора большого мозга. Мозжечок                                                 | 151 |
| 13.2 Орган зрения. Орган обоняния                                                                 | 158 |
| 14 Лабораторная работа №14. Орган слуха и равновесия. Орган вкуса                                 | 164 |
| 15 Лабораторная работа №15. Строение сердечно-сосудистой системы рыб                              | 167 |
| 16 Лабораторная работа №16. Строение лимфатической и пищеварительной системы                      | 172 |
| 16.1 Строение селезенки у рыб                                                                     | 174 |
| 16.2 строение тимуса у рыб                                                                        | 174 |
| 16.3 Строение пищеварительной системы у рыб                                                       | 175 |
| 16.4 Кишечник                                                                                     | 176 |
| 16.5 Особенности строения печени и поджелудочной железы у различных видов рыб                     | 179 |
| Список использованных источников                                                                  | 181 |



# **1 Лабораторная работа № 1. Гистологическая техника**

**Цель работы:** ознакомиться с принципами гистологических и гистохимических методов.

## **Задачи:**

1. Овладеть основными методиками приготовления фиксированных и окрашенных препаратов клеток, тканей и органов для световой микроскопии и работой на микротоме.
2. Овладеть некоторыми цито- и гистохимическими методами исследования.
3. Ознакомиться с методами прижизненного изучения клеток и тканей.

## **Задания:**

1. Изучить основные этапы приготовления гистологических срезов.
2. Ознакомиться с методиками приготовления гистологического материала для световой и электронной микроскопии.

### **1.1 Приготовление препаратов фиксированных (неживых) клеток и тканей**

Процесс приготовления гистологического среза для световой и электронной микроскопии включает следующие основные этапы (таблица 1):

- 1) взятие материала и его фиксация;
- 2) уплотнение материала;
- 3) приготовление срезов;
- 4) окрашивание или контрастирование срезов;

5) заключение срезов в канадский бальзам или другие прозрачные среды (только для световой микроскопии).

Таблица 1 – Этапы гистологической обработки

| Название этапа        | Сущность                                                     | Основные реактивы                        |
|-----------------------|--------------------------------------------------------------|------------------------------------------|
| 1 Фиксация            | Остановка жизненных процессов, предотвращение разложения     | Формалин                                 |
| 2 Проводка            | Уплотнение ткани                                             | Спирт, ксилол, парафин                   |
| 3 Изготовление срезов | Получение срезов, соответствующих по толщине размерам клетки | —                                        |
| 4 Окрашивание         | Делает ткани видимыми                                        | Ксилол, спирт, вода, гематоксилин, эозин |
| 5 Заключение          | Сохранение среза                                             | Спирт, ксилол, канадский бальзам         |

*Фиксация* — воздействие химическими или физическими агентами (формальдегид, спирт, четырехокись осмия, замораживание и др.), вызывающее процесс необратимой коагуляции белков и прекращающее процессы жизнедеятельности. Выбор способа и длительности фиксации зависит от задач исследования и особенностей объектов исследования (проницаемость тканей для различных фиксаторов неодинакова). После применения некоторых фиксаторов (формалин, сулема и др.) материал нужно промыть в воде, а затем удалить воду с помощью спиртов возрастающей крепости (от 60° до 100°).

*Уплотнение* – (затверждение) материала производят либо путем замораживания, либо путем пропитывания специальными затвердевающими средами — парафином, целлоидином (для световой микроскопии), синтетическими смолами (для электронной микроскопии). Для лучшего проникновения этих уплотняющих веществ в клетки и ткани используются растворители (ксилол, хлороформ, эфир и др.).

*Приготовление срезов* – (парафиновых и целлоидиновых) производят с помощью специальных приборов — микротомов, из заморожен-

ных кусочков — с помощью криотомов (в криостатах). Парафиновые, целлоидиновые и замороженные срезы имеют толщину 4 — 20 мкм, полутонкие — 1—2 мкм, ультратонкие — 400—800 нм. Срезы толщиной 4 —20 мкм готовят на санных или ротационных микротомов, полутонкие и ультратонкие — на ультрамикротомов с использованием стеклянных ножей. Для быстрого получения срезов (экспресс-гистологическая диагностика) используют замораживающий микротом и криостат.

*Окрашивание* – срезов позволяет выявлять разнообразные микро-структуры клеток и тканей, повышать их контрастность. Микро-структуры, отличающиеся по своим физико-химическим свойствам, по-разному воспринимают красители, среди которых различают основные, кислые и нейтральные.

Основные красители — красящие соли оснований (гематоксилин, метиловый синий, толлуидиновый синий, азуры, тионин. и т. д.), связываясь с кислотными соединениями гистологических структур, вызывают их контрастирование окрашиванием в цвета синего. Структуры, воспринимающие основные красители, называют базофильными.

Гематоксилин, обладает основными (т.е. щелочными) свойствами. Он связывается с кислыми структурами тканей. Эозин, наоборот, обладает кислыми свойствами. Он связывается с тканевыми структурами, обладающими щелочными свойствами. В результате получается двух-цветное окрашивание, при котором компоненты тканей, имеющие разную кислотность, окрашиваются в разные цвета. Основные характеристики гематоксилина и эозина представлены в таблице 2 и 3.

Существует приём, позволяющий быстрее запомнить, какие структуры клетки окрашивает основной краситель гематоксилин: основания реагируют с кислотами, кислотами являются ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота) и РНК (рибонуклеиновая кислота). ДНК содержится в ядре. Из рибосомальной РНК состоят рибосомы. Рибосомы встречаются в цитоплазме.

Таблица 2 – Основные характеристики гематоксилина

| Характеристики гематоксилина    |                        |
|---------------------------------|------------------------|
| Цвет                            | Синий, либо фиолетовый |
| Реакция красителя               | Щелочная               |
| Реакция окрашиваемых структур   | Кислая                 |
| Основные окрашиваемые структуры | Ядра и рибосомы        |

Структуры, окрашиваемые гематоксилином, называются базофильными (от греческих слов *basis* – основание и *philia* – любовь). Термины основание и щёлочь являются синонимами, т.е. базофильные структуры – это те структуры, которые «любят» щелочные красители.

Если цитоплазма клетки окрашивается базофильно, значит, в ней содержится много рибосом, на которых синтезируется белок. Так, по базофилии цитоплазмы клетки можно судить об активности синтеза белка в ней. Если основной функцией клетки является синтез белковых веществ, то по базофилии цитоплазмы можно судить о функциональной активности клетки. Знание этой особенности помогает в диагностических исследованиях.

Таблица 3 – Основные характеристики эозина

| Характеристики эозина           |                                                                                                   |
|---------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Цвет                            | Розовый                                                                                           |
| Реакция красителя               | Кислая                                                                                            |
| Реакция окрашиваемых структур   | Щелочная                                                                                          |
| Основные окрашиваемые структуры | Цитоплазма большинства клеток, митохондрии, гладкая эндоплазматическая сеть, коллагеновые волокна |

Цвет эозина легко запомнить, если знать, что *Eos* в греческой мифологии – имя богини утренней зари.

Структуры, которые окрашивает эозин, называют эозинофильными, или оксифильными, или ацидофильными (от лат. *acidum* – кислота).

Розовая окраска цитоплазмы обычно свидетельствует о слабой способности клетки синтезировать белок.

Термины «базофилия», «эозинофилия», «ацидофилия» широко используются в морфологической литературе.

Кислые красители (пикриновая кислота, эозин, эритрозин, коигорот, лихтгрюн, оранже и т. д.), связываясь с основными соединениями гистологических структур, вызывают их контрастирование окрашиванием в цвета красителя (красного, желтого, оранжевого, зеленого). Интенсивность окрашивания зависит от условий фиксации и количества прореагировавшего с красителем вещества. Структуры, воспринимающие кислые красители, называют оксифильными.

Нейтральные красители содержат как основные, так и кислые красящие компоненты. Структуры, воспринимающие нейтральные красители, называют нейтрофильными.

*Импрегнация* — метод выявления структур клеток и тканей, основанный на различной их способности удерживать или восстанавливать соли тяжелых металлов (серебро, свинец, осмий, золото).

Заклучение срезов позволяет длительное время сохранять препарат, его окраску, прозрачность и структуру. Обычно срезы заключают в канадский бальзам, предварительно производя обезвоживание в спиртах возрастающей крепости. Иногда препараты заключают в водорастворимые среды (глицерин, желатин или их смесь).

В качестве примера рассмотрим последовательность операций для получения парафиновых срезов и их окраски гематоксилин-эозином.

### 1.1.1 Порядок приготовления гистологического материала

#### Схема 1 Подготовка гистологического материала и приготовление парафиновых срезов

1. Фиксация небольших кусочков (0,5—1 см<sup>3</sup>) органов в 10 % формалине — 24 ч.

2. Промывание кусочков в воде — 24 ч.

3. Заливка в парафин: обезвоживание кусочков проводкой по спиртам возрастающей крепости — 60, 70, 96, 100° (в зависимости от характера материала от нескольких часов до 1 суток в каждом);

4. Выдерживание в смеси равных частей 100° спирта и ксилола — 1,5—3 ч;

- в первом чистом ксилоле — 1,5—3 ч;

- во втором чистом ксилоле — 1,5—3 ч;

- в насыщенном растворе парафина в ксилоле — 2 ч (в термостате при 37°);

- в первом чистом парафине — 1,5—2 ч (в термостате при 54—56°);

- во втором парафине (содержащем 2—5 % пчелиного воска) — 1—1,5 ч (в термостате 54—56°).

5. Заливка материала парафином в бумажные или металлические формочки;

6. Охлаждение в воде.

7. Наклеивание на деревянные кубики и хранение на воздухе.

8. Получение срезов:

- получение на санном микротоме срезов толщиной 4—6 мкм;

- помещение срезов на предметные стекла в каплю дистиллированной воды и расправление их при легком подогревании на

специальном столике (избыток воды убирается фильтровальной бумагой);

- помещение предметных стекол со срезами на лотки и высушивание их в термостате при 37°.

Применяют также другие методы заливки, например заливку в целлоидин.

## **Схема 2 Окрашивание парафиновых срезов гематоксилин-эозином**

Депарафинирование:

- удаление парафина из срезов в трех порциях ксилола — по 3-5 мин. в каждом срезе;

- удаление из срезов ксилола с помощью 100° спирта — 2-3 мин;

- удаление из срезов спирта путем проведения по спиртам снижающихся крепостей — 96° и 70° по 2-3 мин в каждом и затем помещения в дистиллированную воду на 1-2 мин.

Окрашивание срезов:

- помещение среза в водный раствор гематоксилина — 2-3 мин.;

- в водопроводную воду — 5-10 мин;

- в дистиллированную воду — 2-5 мин;

- в водный раствор эозина — 0,5-1 мин;

- в дистиллированную воду — 0,5-1 мин.

Обезвоживание срезов и заключение в бальзам:

- обезвоживание срезов в 70°, затем в 96° спиртах по 1— 2 мин в каждом;

- просветление срезов в ксилоле — 2 мин;

- заключение срезов в бальзам;

- помещение стекол со срезами на лотки для просушивания в термостате.

### **1.1.2 Приготовление препаратов для цито- и гистохимических исследований**

Цито- и гистохимические методы исследования позволяют выявить в микроструктурах различные вещества — белки, жиры, углеводы, ферменты, нуклеиновые кислоты (ДНК и РНК), витамины, минеральные вещества. Фиксаторы и красители выбираются в соответствии с тем, какие химические компоненты необходимо выявить.

Наиболее часто возникает необходимость выявления ДНК и РНК (методы Фельгена и Эйнарсона) гликогена — ШИК-реакция, окислительных ферментов (нитросиний тетразолий) и др. В специальных руководствах по гистохимии дается описание многочисленных цито- и гистохимических методов (Пирс, 1962 и др.). Приведем примеры различных способов выявления ДНК и РНК.

#### **Схема 3 Выявление ДНК с помощью реакции Фельгена**

1. Ополаскивание депарафинированных срезов в 1 N HCl.
2. Помещение для гидролиза в 1 N HCl на 3-8 мин (продолжительность гидролиза зависит от фиксатора) в термостате при 60°.
3. Быстрое ополаскивание в 1 N HCl и затем в дистиллированной воде.
4. Перенесение в реактив Шиффа — 0,5-1 ч.



5. Ополаскивание в трех порциях свежеприготовленного раствора бисульфита (5 мл 10 %  $K_2S_2O_5$ , 5 мл 1  $NHCl$ , воды до 100 мл).
6. Ополаскивание в воде.
7. Докрашивание 0,5 % раствором прочного зеленого — срезы выдерживают в течении 0,5-1 мин.
8. Обезвоживание в спиртах возрастающей концентрации.
9. Просветление в ксилоле.
10. Заключение в бальзам.

#### **Схема 4 Метод выявления ДНК и РНК акридиновым оранжевым**

1. Нанесение на срезы 0,1 % раствора акридинового оранжевого в дистиллированной воде— 15 мин.
2. Удаление красящего раствора фильтровальной бумагой и нанесение на срезы забуференного раствора Кребса—Рингера.
3. Исследование срезов в люминесцентном микроскопе. При этом ДНК флюоресцирует зеленым светом, а РНК — красным.

#### **Схема 5 Окрашивание срезов метиловым зеленым-пиронином**

1. Депарафинирование срезов (см. схему 2).
2. Окрашивание раствором метилового зеленого-пирогшиа — 10—30 мин.
3. Быстрое (в течение нескольких секунд) промывание в дистиллированной воде.
4. Высушивание срезов фильтровальной бумагой.
5. Быстрое обезвоживание в ацетоне.

6. Быстрое ополаскивание в смеси, состоящей из равных количеств ацетона и ксилола.
7. Просветление в двух порциях чистого ксилола.
8. Заключение в бальзам.
9. При этом ядра окрашиваются в зеленый или сине-зеленый цвет, а РНК цитоплазмы — в красный.

### **1.1.3 Приготовление препаратов (объектов) для прижизненного изучения клеток и тканей**

Объектами прижизненного изучения могут служить тонкие тканевые пленки (брыжейка, плавательная перепонка лягушки), клетки крови, клетки в культуре тканей и др. При исследовании клетки помещают на предметное стекло в каплю физиологического раствора или специальной питательной среды, накрывают покровным стеклом и изучают под микроскопом.

Прижизненные исследования требуют применения специальных методик микроскопирования без использования красителей: фазово-контрастная, поляризационная, люминесцентная, ультрафиолетовая микроскопия. Примером суправитального окрашивания может служить окрашивание бриллианткрезиловым синим ретикулоцитов крови, которое широко используется в клинике в качестве диагностического теста для оценки интенсивности кроветворения.

#### **Схема 6 Суправитальное окрашивание ретикулоцитов**

1. Поверхность тщательно вымытого предметного стекла покрывается тонким слоем красителя (1 % водного раствора бриллианткрезилового синего в 100° спирте) и высушивается на воздухе.

2. На предметное стекло со слоем красителя наносится капля крови и с помощью покровного стекла готовится мазок.

3. Мазок сразу помещается во влажную камеру (хорошо закрытую чашку Петри, обложенную влажной фильтровальной бумагой).

4. Мазок извлекается из чашки Петри и высушивается на воздухе.

5. Мазок исследуется под микроскопом и при этом обнаруживается, что эритроциты окрасились в сине-фиолетовый цвет, а в отдельных эритроцитах (ретикулоцитах) видна зернистая субстанция.

#### **1.1.4 Основные этапы приготовления препаратов для электронно-микроскопического исследования**

Взятие и фиксация кусочков тканей и органов. Кусочки размером не более 1 мм<sup>3</sup> вырезают острой бритвой и быстро помещают в специальные фиксаторы — глутаральдегид, а через 1,5 ч — в четырехокись осмия. Для создания оптимального pH при фиксации (7,3—7,4) используют буферные растворы. Лучшие результаты дает метод последовательной фиксации сначала в глутаральдегиде (стабилизирует белки), а затем в 1 % растворе четырехокиси осмия (OSO<sub>4</sub>) (стабилизирует фосфолипиды). Фиксация проводится при комнатной температуре в течение нескольких часов.

Промывание кусочков в буферном растворе с pH 7,3—7,4.

Обезвоживание в спиртах возрастающей концентрации — 50, 60, 70, 80, 90, 100°.

Заливка производится в специальные синтетические смолы (эпоксидные, эпон-(-аралдит), которые способны полимеризоваться и за-

твердевать. Кусочки помещают в капсулы, заливают жидкой эпоксидной смолой, затем помещают в термостат, где при температуре 58° происходит полимеризация (затверждение) смолы, и таким образом получают маленькие «блоки», с которых можно приготавливать срезы.

*Приготовление срезов.* Ультратонкие срезы толщиной 400—800 нм получают на ультрамикротоме. Используют стеклянные или алмазные ножи. Срезы переносят на металлические сеточки.

Иногда на ультратоме предварительно готовят полутонкие срезы толщиной 1—2 мкм, которые окрашивают, например, метиленовым синим и рассматривают с помощью светового микроскопа для ориентации в локализации интересующих структур в исследуемых тканях или органах. После определения нужного участка далее готовят именно из этой части блока ультратонкие срезы.

Окрашивание (контрастирование) срезов проводят солями тяжелых металлов— свинца, вольфрама, уранилацетата. Соли этих металлов осаждаются в структурах клеток и задерживают электроны, проходящие через объект в электронном микроскопе, что обеспечивает появление более темных участков в изображении, т. е. создание контрастности.

## **Схема 7. Приготовление биологических объектов для электронной микроскопии**

- 1 Быстрое взятие кусочков размером 0,5-1,0 мм<sup>3</sup>.
- 2 Фиксация в 3,5 % буферном растворе глутаральдегида — в течении 1 ч.
- 3 Промывание в буферных растворах (pH 7,3—7,4) — 3 раза по 5 мин.
- 4 Фиксация (постфиксация) в растворах, содержащих четырехокись осмия — 1—2 ч.
- 5 Промывание в буферных растворах — 3 раза по 5 мин.

- 6 Обезвоживание в спиртах восходящей концентрации—  
50, 60, 70, 90, 100° (по 15 мин в каждом).
- 7 Пропитывание эпоксидными смолами — 24 ч.
- 8 Заливка эпоксидными смолами (эпон, аралдит) с добавлением катализатора, ускоряющего полимеризацию смол, и помещение в термостат с температурой 58° — 2 сут.
- 9 Приготовление полутонких срезов толщиной 1—2 мкм и окраска их метиленовым синим.
- 10 Приготовление ультратонких срезов толщиной 400—800 нм, перенесение их на сеточки.
- 11 Окрашивание (контрастирование) ультратонких срезов на сеточках урапилацетатом (10 мин), а затем цитратом свинца (10 мин).

### **Контрольные вопросы:**

1. Какие виды гистологических препаратов вы знаете?
2. Каковы основные этапы приготовления гистологических срезов?
3. В чем заключается сущность фиксации тканей и органов? Какие бывают фиксаторы и каков механизм их действия?
4. Для чего используют заливку в твердые среды (парафин и др.) гистологических объектов?
5. С какой целью применяют замораживание кусочков органов?
6. С какой целью применяют окрашивание препаратов? Какие основные группы красителей используют в гистологических исследованиях? Почему структуры называют оксифильными или базофильными?

7. Для чего производят «заключение» препарата, какие среды для этого применяют?
8. Какие методы называют гистохимическими, в чем их сущность?
9. Назовите методы прижизненного исследования клеток и тканей.
10. В чем состоят особенности приготовления препаратов для электронной микроскопии?

## **2 Лабораторная работа**

### **№2. Методы микроскопирования гистологических объектов**

Основными методами исследования гистологических объектов являются световая и электронная микроскопия, которые широко используются в клинической и экспериментальной практике.

**Цель занятия** — овладение методами световой и электронной микроскопии гистологических объектов.

#### **Задачи:**

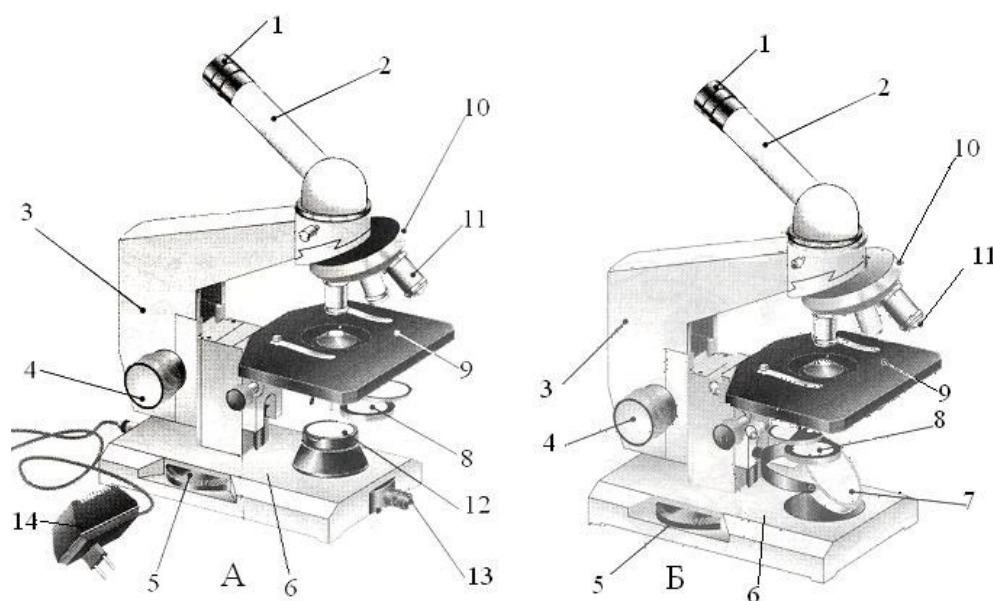
1. Ознакомиться с устройством и принципом работы различных световых микроскопов.
2. Овладеть техникой микроскопирования гистологических препаратов в световых микроскопах.

3. Ознакомиться со специальными методами исследования гистологических препаратов: сравнительная, фазово-контрастная, люминесцентная и ультрафиолетовая микроскопия.

4. Ознакомиться с принципами работы электронного микроскопа и особенностями микроскопирования в нем микрообъектов.

Микроскоп - это оптический прибор, позволяющий получить обратное изображение изучаемого объекта и рассмотреть мелкие детали его строения, размеры которых лежат за пределами разрешающей способности глаза.

В микроскопе выделяют две системы: *оптическую* и *механическую* (рисунок 1). К *оптической системе* относят объективы, окуляры и осветительное устройство (конденсор с диафрагмой и светофильтром, зеркало или электроосветитель).



1 - окуляр, 2 - тубус, 3 - тубусодержатель, 4 - винт грубой наводки, 5 - микрометрический винт, 6 - подставка, 7 - зеркало, 8 - конденсор, ирисовая диафрагма и светофильтр, 9 - предметный столик, 10 - револьверное устройство, 11 - объектив, 12 - корпус коллекторной линзы, 13 - патрон с лампой, 14 - источник электропитания.

Рисунок 1 - Устройство световых микроскопов: А - МИКМЕД-1; Б - БИО-ЛАМ.

## 2.1 Правила работы с микроскопом

При работе с микроскопом необходимо соблюдать операции в следующем порядке:

1. Работать с микроскопом следует сидя.
2. Микроскоп осмотреть, вытереть от пыли мягкой салфеткой объективы, окуляр, зеркало или электроосветитель.
3. Микроскоп установить перед собой, немного слева на 2-3 см от края стола. Во время работы его не сдвигать.
4. Открыть полностью диафрагму, поднять конденсор в крайнее верхнее положение.
5. Работу с микроскопом всегда начинать с малого увеличения.
6. Опустить объектив 8 - в рабочее положение, т.е. на расстояние 1 см от предметного стекла.
7. Установить освещение в поле зрения микроскопа, используя электроосветитель или зеркало. Глядя одним глазом в окуляр и пользуясь зеркалом с вогнутой стороной, направить свет от окна в объектив, а затем максимально и равномерно осветить поле зрения. Если микроскоп снабжен осветителем, то подсоединить микроскоп к источнику питания, включить лампу и установить необходимую яркость горения.
8. Положить микропрепарат на предметный столик так, чтобы изучаемый объект находился под объективом. Глядя сбоку, опускать объектив при помощи макровинта до тех пор, пока расстояние между нижней линзой объектива и микропрепаратом не станет 4-5 мм.
9. Смотреть одним глазом в окуляр и вращать винт грубой наводки на себя, плавно поднимая объектив до положения, при котором хорошо будет видно изображение объекта. *Нельзя смотреть в окуляр и опускать объектив.* Фронтальная линза может раздавить покровное стекло, и на ней появятся царапины.



10. Передвигая препарат рукой, найти нужное место, расположить его в центре поля зрения микроскопа.

11. Если изображение не появилось, то надо повторить все операции пунктов 6, 7, 8, 9.

12. Для изучения объекта при большом увеличении, сначала нужно поставить выбранный участок в центр поля зрения микроскопа при малом увеличении. Затем поменять объектив на 40 х, поворачивая револьвер, так чтобы он занял рабочее положение. При помощи микрометрического винта добиться хорошего изображения объекта. На коробке микрометрического механизма имеются две риски, а на микрометрическом винте - точка, которая должна все время находиться между рисками. Если она выходит за их пределы, ее необходимо вернуть в нормальное положение. При несоблюдении этого правила, микрометрический винт может перестать действовать.

13. По окончании работы с большим увеличением, установить малое увеличение, поднять объектив, снять с рабочего столика препарат, протереть чистой салфеткой все части микроскопа, накрыть его полиэтиленовым пакетом и поставить в шкаф.

## **2.2 Техника микроскопирования гистологических препаратов**

Микроскопирование гистологического препарата начинают с установки освещения. Для этого с помощью вогнутого зеркала (при естественном освещении) или плоского (при искусственном освещении) достигается равномерное освещение поля зрения. Препарат помещается на предметный столик покровным стеклом вверх. Изучение препарата начинают при малом увеличении. Расстояние между объективом и покровным стеклом препарата должно быть около 1 см. Наводка на резкость производит с помощью макровин-

та. Перемещая препарат на предметном столике, рассматривают его детали по всей площади.

К изучению препарата на большом увеличении приступают после осмотра его при малом увеличении. Установив в центр поля зрения участок препарата, который следует изучить при большом увеличении, с помощью revolverного устройства ставят более мощный объектив. Наводка на резкость производится с помощью микровинта плавным вращением его вперед или назад.

Для изучения очень мелких гистологических структур используется иммерсия, позволяющая повысить разрешающую способность микроскопа. При этом на покровное стекло препарата наносится капля иммерсионной жидкости (вода, глицерин, кедровое масло и др.) после чего с помощью макровинта объектив осторожно опускается до соприкосновения его фронтальной линзы с иммерсионной жидкостью. Плавно вращая микровинт, добиваются появления четкого изображения. По окончании работы иммерсионная жидкость удаляется с объектива и покровного стекла сухой марлей.

При работе на больших увеличениях конденсор необходимо поднять вплоть до соприкосновения с предметным стеклом. При работе на малом увеличении конденсор следует несколько опустить.

### **2.3 Специальные методы светооптической микроскопии**

*Сравнительная микроскопия* — оптическая схема микроскопа сравнения представляет собой систему из двух микроскопов с собственными осветительными устройствами. Изображения левого и правого объектов с помощью объективов и прямоугольных призм сводятся на разделительную призму в одно общее поле зрения окуляра. Поскольку

призмный блок неподвижен, то поле зрения всегда остается разделенным на две равные части и, таким образом, в поле зрения микроскопа оба исследуемых объекта всегда видны одновременно. При необходимости изображение может быть спроектировано на матовую пластинку.

*Фазово-контрастная микроскопия* — применяется для изучения малококонтрастных прозрачных препаратов, которые почти не поглощают света, т. е. не изменяют амплитуду световой волны, но изменяют фазу проходящей волны. Однако глаз не может регистрировать фазовых изменений.

Метод фазового контраста дает возможность преобразовать фазовые изменения света в амплитудные, в результате, чего появляется видимое изображение препарата, в котором распределение освещения соответствует распределению фаз. Практически метод фазового контраста реализуется введением в оптическую систему микроскопа кольцевой диафрагмы и специальной фазовой пластинки. Метод используется для изучения живых объектов или неокрашенных препаратов.

*Люминесцентная микроскопия* — предметом изучения в люминесцентной микроскопии является фотолюминесценция гистологических структур, возбуждаемая электромагнитным излучением видимой или ультрафиолетовой области спектра. Поэтому в люминесцентных микроскопах в качестве источника света используются ртутные лампы.

Различают два вида флюоресценции: собственную и наведенную. Любая клетка живого организма обладает собственной флюоресценцией, однако она обычно бывает чрезвычайно слабой. Наведенная (вторичная) флюоресценция возникает при обработке препаратов специальными красителями — флюорохромами. Их концентрация настолько мала, что они не влияют на состав и структуру препарата, а также не нарушают жизнедеятельность биологических объектов. Это дает возможность с помощью люминесцентной микроскопии проводить прижизненное микроскопическое исследование. Люминесцентный анализ — очень чув-

ствительный метод исследования, позволяющий определять химический состав отдельных элементов структуры, их химические превращения, количество тех или иных компонентов и т. д.

*Ультрафиолетовая микроскопия* — в ультрафиолетовых микроскопах используется излучение ультрафиолетовой области спектра, длина волны которого вдвое меньше длины волны видимого света. Благодаря этому разрешающая способность ультрафиолетового микроскопа в 2 раза выше, чем у обычного светового.

В основе ультрафиолетовой микроскопии лежит избирательное поглощение биологическими тканями и клетками коротковолнового излучения, вследствие чего микроскопирование ультрафиолетовых изображений позволяет увидеть их структуру. Преобразование невидимого изображения, формируемого УФ-микроскопом, в видимое осуществляется с помощью флюоресцентного экрана.

## **2.4 Электронная микроскопия**

Электронные микроскопы в настоящее время обладают самой высокой разрешающей способностью, которая обусловлена очень небольшой длиной волны электромагнитных колебаний потока электронов, используемых в приборе.

Таким образом, в электронном микроскопе теоретически возможно повышение разрешающей способности и соответственно увеличения изображения в 100 000 раз большее по сравнению со световым микроскопом.

Практически лучшие современные электронные микроскопы имеют разрешающую способность 0,1—0,3 нм, что позволяет исследовать все ультра- структуры клетки на молекулярном уровне. При этом достигается увеличение объекта до 150 000 раз. Направление движения и фокусировка потока электронов производятся с помощью электромагнит-

ных линз, которые играют роль объектива и окуляра, в результате чего достигается эффект прохождения лучей, аналогичный их прохождению в световом микроскопе.

Конечное увеличенное изображение объекта формирует проекционная линза, его невозможно увидеть глазом, так как длина волны электромагнитных колебаний лежит далеко за пределами видимой части спектра. Поэтому изображение проецируется на экран, покрытый люминофором.

Техника микроскопирования в электронном микроскопе состоит в следующем:

1. Препараты (срезы на сеточках) помещают в специальный объектодержатель в электронном микроскопе.

2. С помощью регулировочных винтов устанавливаются увеличение, фокус, максимальная освещенность объекта, что контролируется просмотром изображения на люминесцирующем экране.

3. Перемещая образец, находят интересующую исследователя ультраструктуру.

4. Объект фотографируется на микрофотопластинки (или фотопленки), помещенные в специальные кассеты (магазин).

5. Электронные микрофотографии, полученные с этих пластинок, являются объектом, по которому изучаются ультраструктуры.

### **Контрольные вопросы:**

1. В чем состоят сходство и отличия светового и электронного микроскопов, каковы их разрешающие способности и увеличения?

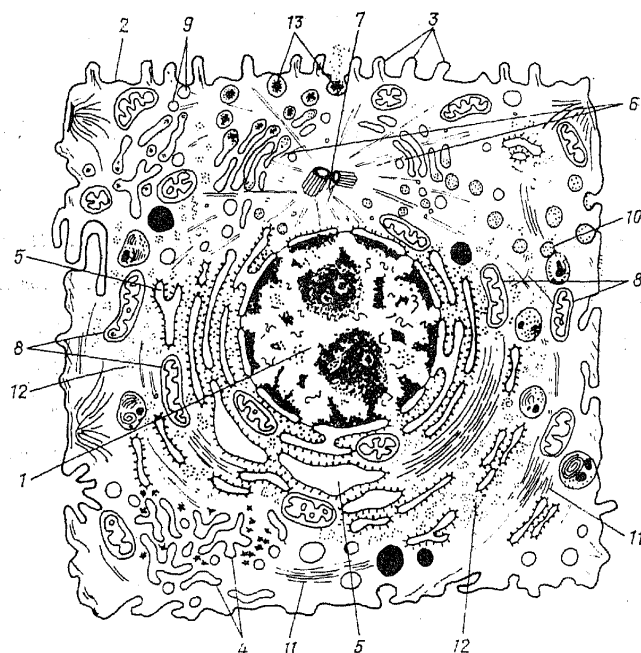
2. Каковы преимущества фазово-контрастного микроскопа?

3. С какой целью применяется микроскоп сравнения?
4. Каковы отличительные особенности ультрафиолетовой микроскопии?
5. В чем состоит достоинство люминесцентной микроскопии?

### **3 Лабораторная работа №3. Цитология. Морфология клетки, органоиды и включения. Деление клетки**

Цитология — наука о клетке, об общих закономерностях, присущих клеточному уровню организации живой материи, Клетка (*cellula*) — наименьшая структурная единица живого, она является основой развития, строения и жизнедеятельности всех животных и растительных организмов.

Несмотря на большое многообразие, все клетки имеют ряд общих структурных признаков, Клеточная теория формулирует это положение как гомологичность, т. е. принципиальное сходство строения клеток всех животных и растительных организмов. Так, для клеток характерно наличие цитоплазмы (*cytoplasma*) и ядра (*nucleus*). Цитоплазма включает в себя гиалоплазму (*hyaline* — прозрачный), или матрикс цитоплазмы; органеллы (*organellae cytoplasmicae*), представляющие собой постоянные образования, имеющие характерную структуру и специфическую функцию в клетке, и включения (*inclusiones*)—временные образования, являющиеся продуктом деятельности клетки. Цитоплазма отделена от окружающей клетку среды и от соседних клеток плазмолеммой — внешней клеточной мембраной (*plasmolemma*). Ядро имеет ядерную оболочку, хроматин, ядрышко и нуклеоплазму (рисунок 2).



1 — ядро клетки; 2 — плазмолемма; 3 — микроворсинки; 4 — агранулярная эндоплазматическая сеть; 5 — гранулярная эндоплазматическая сеть; 6 — комплекс Гольджи; 7 — центриоль и микротрубочки centrosферы; 8 — митохондрии; 9 — эндоцитозные вакуоли; 10 — лизосомы; 11 — микрофиламенты; 12 — рибосомы; 13 — выделение гранул секрета (Гистология / Под ред. В. Г. Елисеева, Ю. И. Афанасьева. Н. А. Юриной, 1983).

Рисунок 2 - Схема ультрамикроскопического строения клетки животных организмов.

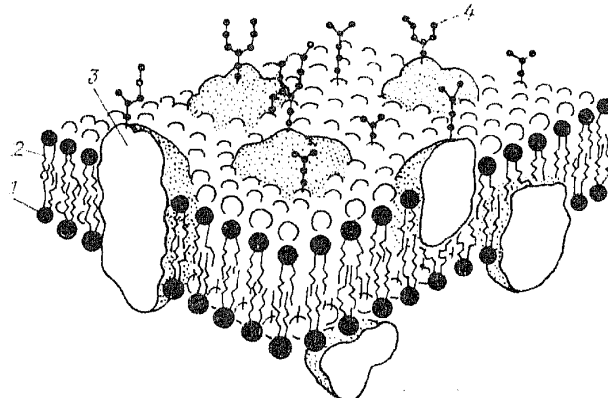
### 3.1 Общая морфология клеток и неклеточных структур.

#### Форма клеток. Строение и функции плазмолеммы

*Морфология клеток* — клетки различных органов и тканей человека и животных очень разнообразны по форме, строению, химическому составу и характеру обмена веществ. Форма клеток находится в неразрывной связи с особенностями их функции.

*Плазмолемма (plasmolemma)* — выполняет разграничительную функцию, отделяя клетку от окружающей среды, и в то же время регулирует движение ионов и макромолекул в клетку и из клетки. Она состоит из двойного слоя липидов, неполярные (не несущие зарядов) части молекулы которых обращены друг к другу, полярные (заряженные) головки — к внешней среде и цитоплазме (рисунок 3).





1 — липиды; 2 — гидрофобная зона биослоя липидов; 3 — интегральные белки мембраны; 4 — полисахариды гликокаликса (Гистология/Под ред. В. Г. Елисеева, Ю. И. Афанасьев; Н. А. Юриной, 1983)

Рисунок 3 - Схема строения клеточных мембран

Различают следующие типы межклеточных соединений: простые межклеточные соединения (в том числе зубчатые и пальцевидные), пятна сцепления, или десмосомы (*desmosoma*), плотные соединения (*zonula occludens*), пояски сцепления, или лентовидные десмосомы (*zonula adherens*) (рисунок 4).

Важную роль во взаимодействии клеток играют щелевидные соединения, или некусы (*nexus*). Щелевидное соединение представляет собой область плазмолеммы соседних клеток, специализированную для обеспечения диффузии ионов и мелких молекул от клетки к клетке через пути с низким сопротивлением. Межклеточная щель сужена в этих участках до 2 м, мембраны противоположных клеток соединены структурами, называемыми коинексонами (рисунок 4).

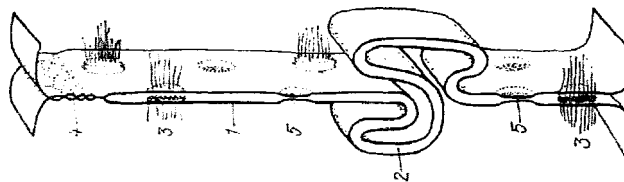


Рисунок 4 - Схема межклеточных соединений

*Неклеточные структуры* — к ним относят симпласты, синцитии, межклеточное вещество. Симпласты — многоядерные структуры, со-

стоящие из большого объема цитоплазмы с многочисленными ядрами. Они образуются в результате слияния клеток или деления ядер без разделения цитоплазмы клетки.

*Межклеточное вещество* — является производным преимущественно клеток мезенхимного происхождения: собственно соединительной ткани, хряща и кости.

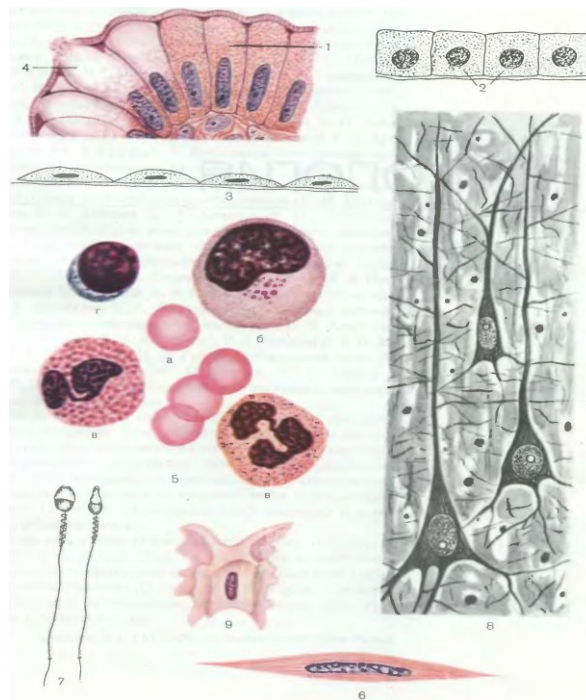
**Цель занятия** — изучение общего плана строения клеток и неклеточных структур, строение плазмолеммы.

**Задачи:**

1. Ознакомиться с общей морфологией клеток. Научиться идентифицировать в них ядро, цитоплазму и плазмолемму.
2. Познакомиться с клетками различной формы: кубической, призматической, округлой, веретеновидной, отростчатой и проанализировать связь между формой клеток и выполняемыми функциями.
3. Изучить строение плазмолеммы, ее производных (микроворсинок) и клеточных контактов, а также морфологию активного переноса веществ через плазмолемму (пиноцитоз, фагоцитоз).
4. Изучить строение неклеточных структур: симпласта, синцития, межклеточного вещества.

**Объекты изучения:** Микропрепараты для изучения и зарисовки

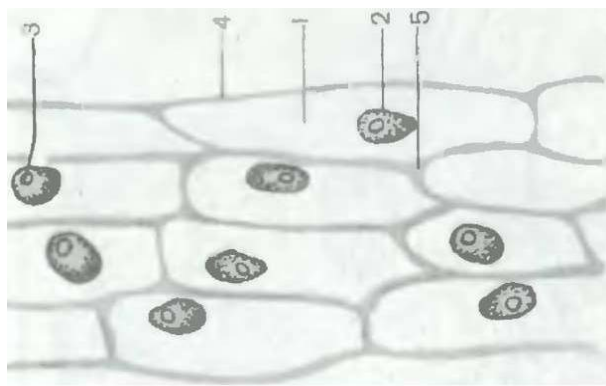
## Препарат 1 Формы фиксированных клеток



1 цилиндрические клетки эпителия кишки. 2 изопризматические (кубические) клетки канальца почки. 3 плоские клетки мезотелия. 4 бокаловидная железистая клетка. 5 округлые клетки периферической крови человека: а - безъядерные эритроциты, б - моноцит с бобовидным ядром с сегментированными ядрами, в - зернистые лейкоциты, г - лимфоцит с округлым ядром. 6 веретеновидная клетка с палочковидным ядром (гладкая мышечная клетка). 7 жгутиковые клетки (сперматозоиды). 8 отростчатые нервные клетки. 9 сухожильная крылатая клетка.

Рисунок 5 - формы фиксированных клеток

## Препарат 2. Растительная клетка

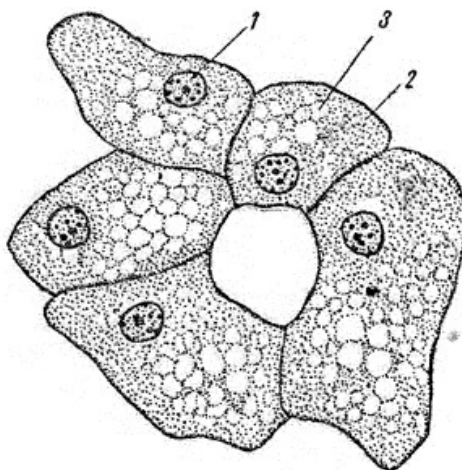


1 цитоплазма; 2 ядро; 3 — ядрышко; 4 оболочка клетки (цитолемма); 5 граница между клетками.

Рисунок 6 - Фиксации в 10 % растворе формалина Окраска железным гематоксилином x200.

### Препарат 3 Клетки печени аксолотля

Протоплазма клетки имеет зернистую или сетчатую структуру и окрашена эозином в розовый цвет, в ней видны бесцветные вакуоли, которые получаются в результате растворения фиксатором жира, находящегося в клетках печени в большом количестве. Почти в центре клетки лежит округлое ядро. Внутри ядра можно различить зерна и глыбки вещества, интенсивно окрашивающегося гематоксилином в фиолетовый цвет и называемого хроматином. Среди зерен хроматина расположены одно или, реже, два круглых ядрышка, окрашенные эозином в розовый цвет. Нередко встречаются клетки с двумя ядрами (рисунок 7).



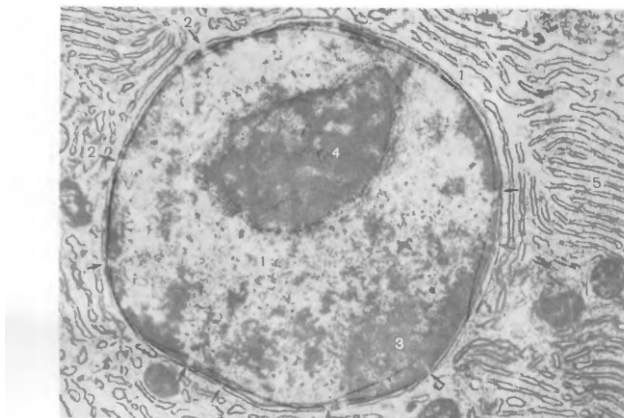
1 - ядро, 2 - цитоплазма, 3- вакуоли, оставшиеся после растворения капель жира.

Рисунок 7 - Клетки печени аксолотля (увеличение - ок. 10, об. 40).

#### Задание:

Зарисовать несколько клеток или весь каналец и обозначить: ядро, цитоплазму, плазмолемму клетки.

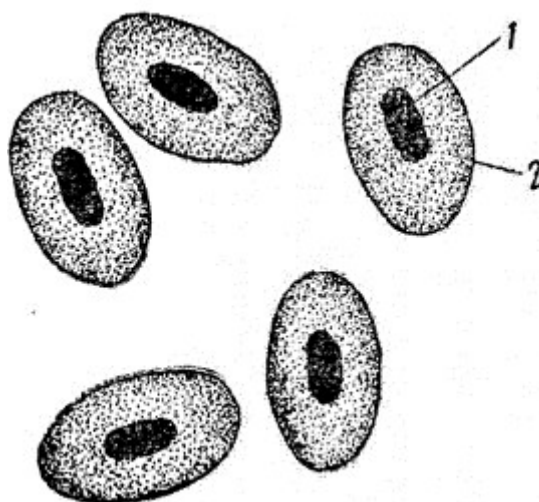
**Препарат 4 Электронная микрофотограмма клетки поджелудочной железы. x 16000.**



1 - ядро с ядерной оболочкой; 2 - поры в ядерной оболочке; 3 - глыбки хроматина; 4 ядрышко; 5 гранулярная эндоплазматическая сеть (по Фаусету).

Рисунок 8 - электронная микрофотограмма

**Препарат 5 Эритроцит лягушки**

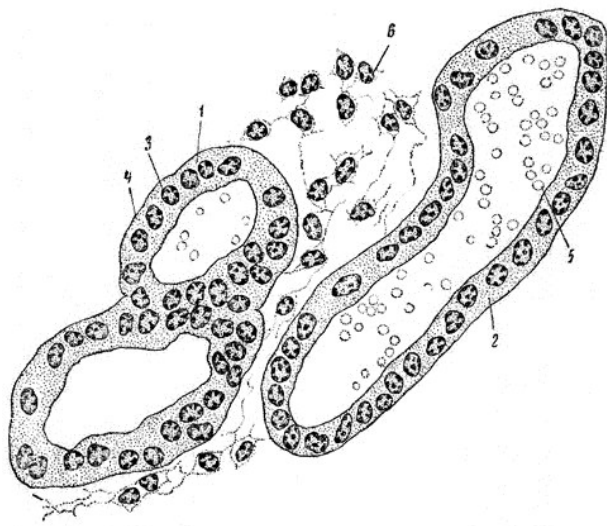


1 - ядро, 2- цитоплазма

Рисунок 9 - Эритроциты лягушки (увеличение - ок. 10, иммерсия).

**Препарат 6 Симпласт. Ворсинки хориона крысы.**

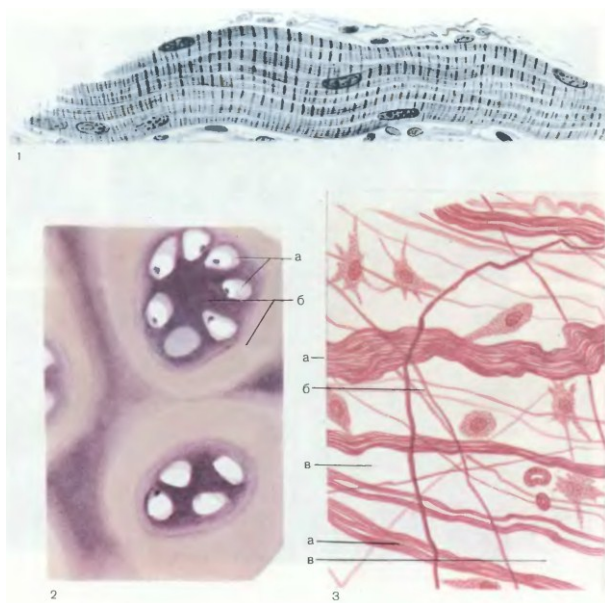
Симпластическое строение ткани можно изучить на примере симпласта ворсинок хориона крысы (рисунок 10).



1- поперечный срез ворсинки, 2- продольный срез ворсинки, 3 - ядро, 4- протоплазма, 5 - эритроциты, 6-клетки соединительной ткани.

Рисунок 10 - Хорион крысы (увеличение - ок. 10, об. 40).

## Препарат 7 Неклеточные структуры



1 - Поперечнополосатые волокна в скелетной мышце Миосимпласт. Окраска железным гематоксилином по Гейденгайну. x400. 2 - Неклеточные структуры гиалинового хряща. Окраска гематоксилин-эозином. x400: а - хрящевые клетки; б - межклеточное вещество. 3 - Неклеточные структуры в рыхлой соединительной ткани. Окраска пикрофуксином. x400: а - коллагеновые пучки; б - эластические волокна; в - межклеточное основное вещество.

Рисунок 11 - Неклеточные структуры

### **Контрольные вопросы:**

1. Расскажите историю создания и основные положения клеточной теории.
2. Дайте определение клетки.
3. Какой формы могут быть клетки и с чем это связано? Приведите примеры.
4. Каковы строение, химический состав и физико-химические свойства элементарной биологической мембраны и плазмолеммы? Какие структуры могут быть на свободной поверхности клеток?
5. Назовите типы клеточных контактов. Каково их строение и функциональное значение?
6. Какие способы транспорта вещества через плазмолемму вам известны? Что такое фагоцитоз и пиноцитоз?
7. Перечислите неклеточные структуры. Расскажите об их строении. Приведите примеры.

## 4 Органеллы и включения цитоплазмы

Включения цитоплазмы — необязательные компоненты клетки. Они возникают и исчезают в зависимости от функционального состояния клеток.

*Органеллами* — называют структуры, постоянно встречающиеся в клетках, имеющие характерное строение и выполняющие специфическую функцию. Различают органеллы мембранные и не мембранные, общего значения и специальные. Органеллы общего значения присутствуют во всех клетках, органеллы специальные встречаются в определенных тканях, например миофибриллы в мышечной ткани. К мембранным органеллам относят: эндоплазматическую сеть (*reticulum endoplasmaticum*), комплекс Гольджи (*complexus golgiensis*), митохондрии (*mitochondrion*), лизосомы (*lysosoma*), пероксисомы (*peroxysoma*). Не мембранные органеллы — это рибосомы (*ribosoma*), центриоли (*centriolum*), микротрубочки (*microtubulus*), микрофибриллы (*microfibrilla*), микрофиламенты (*microfilamentum*).

*Рибосома* — гранула рибонуклеопротеина диаметром 15—20 нм, состоящая из двух субъединиц — большой и малой. Функция рибосом — синтез белка. Обычно белок синтезируется не на одной, а одновременно на группе рибосом (полисома), связанных молекулой информационной РНК (иРНК).

*Эндоплазматическая сеть* — представляет собой систему трубочек и уплощенных цистерн. Эндоплазматическую сеть, к наружной поверхности которой прикреплены рибосомы, называют гранулярной эндоплазматической сетью (*reticulum endoplasmaticum granulosum*), а лишенную рибосом — агранулярной эндоплазматической сетью (*reticulum endoplasmaticum; nongranulosum*).



*Митохондрии* — в световом микроскопе выглядят как короткие палочки и нити. При рассмотрении в электронном микроскопе видны их внутренняя и наружная митохондриальные мембраны, между которыми находится межмембранное пространство. Площадь внутренней мембраны увеличена за счет образуемых ею крипт, которые имеют форму складок, а иногда трубочек. Пространство, ограниченное внутренней мембраной, заполнено митохондриальным матриксом. Главная функция митохондрий — обеспечение клетки энергией. Митохондрии участвуют в синтезе ряда белков. Содержат необходимые компоненты для их синтеза: митохондриальную ДНК, мелкие рибосомы, транспортную и информационную РНК и ферменты. Однако большинство ферментов митохондрий синтезируется под контролем ДНК ядра. Продолжительность существования митохондрий невелика (полупериод для сердечной мышцы — 6 дней). Убыль митохондрий пополняется за счет их деления.

*Комплекс Гольджи* — на препаратах, обработанных азотно-кислым серебром, выглядит как сеть переплетающихся темных нитей. На электронных микрофотографиях можно видеть, что комплекс Гольджи состоит из следующих компонентов:

- 1) уплощенных мешочков, или цистерн;
- 2) транспортных пузырьков, приносящих белковый секрет из эндоплазматической сети;
- 3) конденсирующих секрет вакуолей;
- 4) секреторных гранул.

Функции комплекса Гольджи: упаковка, конденсация и выведение белковых секретов, участие в синтезе углеводов и присоединении их к полипептидным цепочкам в процессе синтеза гликопротеидов, формирование лизосом.

*Лизосомы* — органеллы внутриклеточного ферментативного расщепления как экзогенных веществ (попавших в клетки в результате эндоцитоза), так и эндогенных — удаление органелл и включений в ходе

нормального обновления или в ответ на измененную функциональную активность. Различают четыре основные формы лизосом: первичные лизосомы, вторичные- лизосомы (фаголизосомы, или гетерофагосомы), аутофагосомы и остаточные тельца. Первичные лизосомы— это маленькие, округлые, окруженные мембраной тельца.

*Периксисомы* — напоминают лизосомы, но не содержат гидролитических ферментов, характерных для лизосом. В них присутствуют оксидазы аминокислот и каталаза, разрушающая перекиси. Каталаза пероксисом может играть защитную роль, разрушая перекись водорода, токсичную для клеток.

*Центриоли* — располагаются в клетке парами (диплосома). Они представляют собой цилиндрики длиной 500 нм и диаметром 150 нм, лежащие под прямым углом друг к другу. Центриоли служат центрами формирования микротрубочек веретена деления и микротрубочек аппаратов движения клетки - ресничек и жгутиков.

Микротрубочки (диаметром 25 нм) и микрофибриллы (диаметром 10 нм) связаны с поддержанием и изменением формы клетки, образуя ее цитоскелет. Микротрубочки построены из белка тубулина. Микрофиламенты имеют толщину 6 нм, состоят из сократительных белков, главным образом актина.

**Цель занятия** — изучение микроскопического и ультрамикроскопического строения и значения основных структурных компонентов, цитоплазмы: органелл и включений.

### **Задачи:**

1. Изучить различные виды включений цитоплазмы: жировые, углеводные, белковые, секреторные, пигментные.

2. Уметь различать мембранные и мембранные органеллы цитоплазмы клеток, исходя из их структурных и цитохимических особенностей.

3. Изучить микроскопическое и ультрамикроскопическое строение органелл цитоплазмы.

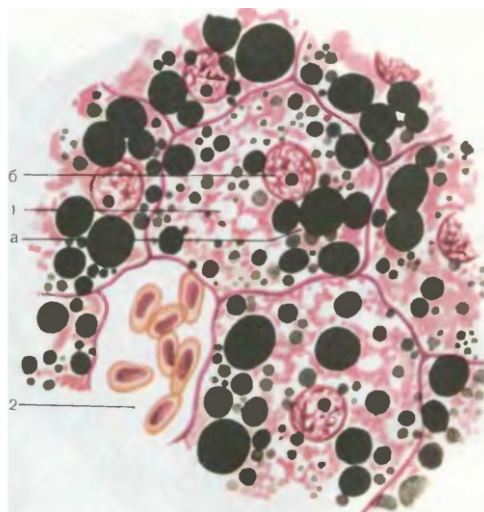
4. Научиться использовать конкретные данные о строении и химическом составе органелл и включений для характеристики обмена веществ и функционального состояния клеток.

5. Научиться по преимущественному развитию тех или иных органелл определять функцию данной клетки: фагоцитирующая или секреторная, белковые или небелковые продукты она синтезирует и секретирует и т. д.

### **Объект изучения**

#### *Микропрепараты для изучения и зарисовки*

**Препарат 1** Включения жира в клетках печени аксолотля. Окраска осмиевой кислотой с докраской ядер сафранином (рисунок 12).

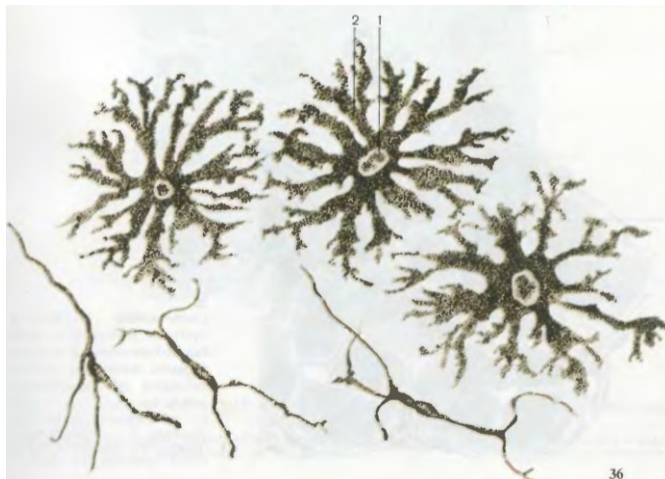


1 клетки печени: а - липоидные гранулы в цитоплазме клетки; б - ядро окрашено сафранином в розовый цвет; 2 — капилляр с эритроцитами.

Рисунок 12 - Жировые включения в клетках печени. Окраска осмиевой кислотой — сафранином, х 900.

**Зарисовать и обозначить:** ядро, каплю жира (*gutta adipis, adiposoma*) в цитоплазме, плазмолемму.

**Препарат 2** Пигментные включения (рисунок 13).



1 - ядро пигментной клетки; 2 - цитоплазма с пигментными зернами (меланин).

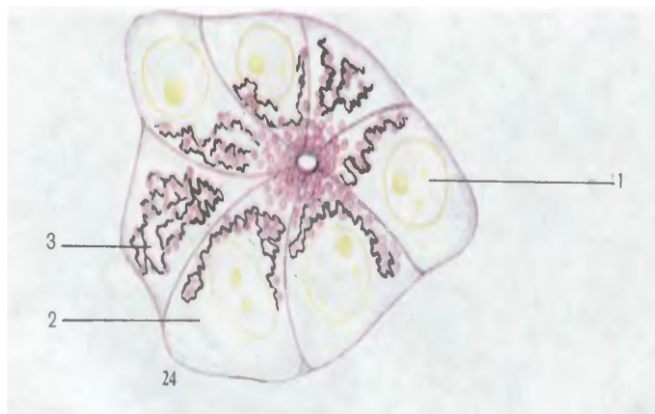
Рисунок 13 - Пигментные включения в пигментных клетках (меланоцитах). Тотальный неокрашенный препарат, х 400.

**Зарисовать и обозначить:** ядро, гранулы пигмента (*granuli pigmenti*) в цитоплазме.

**Препарат 3** Комплекс Гольджи

Комплекс Гольджи в нервных клетках спинно-мозгового узла. Окраска по методу Калачева — Насонова. При малом увеличении микроскопа на периферии среза хорошо видны извитые темные нити (в центре препарата они обычно не прокрашены). При большом увеличении можно видеть крупное бледное ядро с хорошо заметным ядрышком и темные нити комплекса Гольджи, окружающие

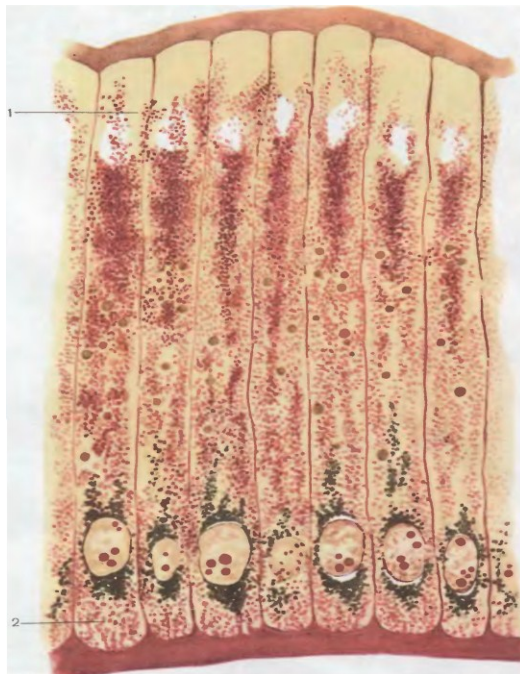
ядро в виде клубка или корзиночки, а иногда и разбросанные по всей цитоплазме, которая имеет зеленоватую окраску (рисунок 14).



1 - ядро с ядрышком экзокринной клетки, 2 - цитоплазма, 3 - внутриклеточный сетчатый аппарат.

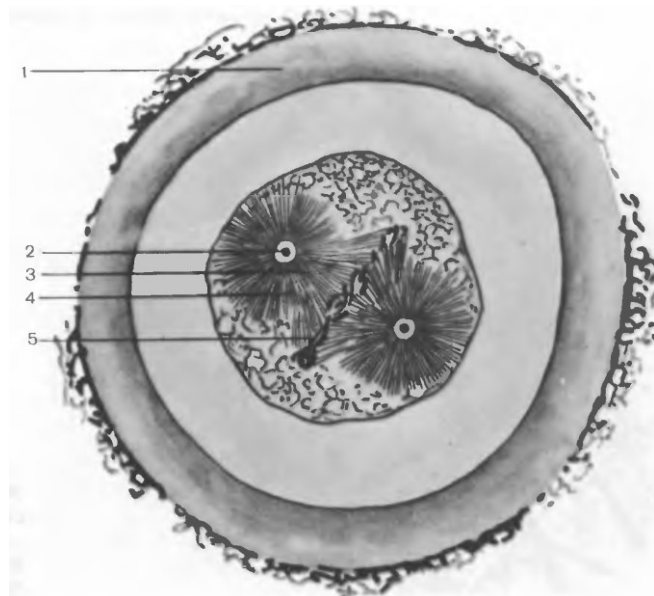
Рисунок 14 - Внутриклеточный сетчатый аппарат (комплекс Гольджи) экзокринных клетках поджелудочной железы. Импрегнация осмием по методу Калачева — Насонова. х 900.

**Препарат 4** Митохондрии в эпителии кишечника аскариды. Окраска по методу Альтмана.



Зарисовать и обозначить: ядро, ядрышко, капли жира, митохондрии (*mitochondrion*).

**Препарат 5** Клеточный центр. Центриоли в делящейся оплодотворенной яйцеклетке аскариды. Окраска железным гематоксилином (рисунок 15).



1 - оболочка яйцеклетки; 2 - центриоли; 3 - центросфера; 4 - астросфера; 5 - экваториальная пластинка из хромосом.

Рисунок 15 - Центросома (клеточный центр) в дробящейся яйцеклетке лошадиной аскариды. Окраска железным гематоксилином по Гейденгайну x 900.

При большом увеличении видны в виде темных точек разошедшиеся к полюсам клетки центриоли. Вокруг каждой центриоли видна полярная лучистость. Между центриолями располагается митотическое веретено, в центре которого на равном расстоянии от полюсов локализованы две хромосомы.

**Зарисовать и обозначить:** центриоль (*centriolum*), полярную лучистость (*radiatio polaris*), митотическое веретено (*fusus mitoticus*), хромосомы, плазмолемму.

#### **Контрольные вопросы:**

1. Дайте определение включений, расскажите об их классификации.

2. Что такое органеллы? Расскажите о классификации органелл.
3. Какие органеллы участвуют в синтезе и транспорте веществ? Их разновидности.
4. Расскажите о строении комплекса Гольджи и его функциональном значении.
5. Какие органеллы выполняют в клетке функцию ферментативного расщепления эндогенных продуктов и веществ, попавших в клетку в результате эндоцитоза? Опишите их строение.
6. Присутствием каких органелл обусловлена в большинстве случаев базофилия цитоплазмы клеток. От присутствия какого вещества в этих органеллах зависит базофилия?
7. Расскажите о пероксисомах, их строении и функции.
8. Каковы строение и функции митохондрий?
9. Расскажите об особенностях Микро- и ультраструктуры центриолей, ресничек и жгутиков.

### **Ядро. Деление клеток**

Ядро является обязательным компонентом клетки, где локализуется геном и формируются макромолекулы, контролирующие синтетические процессы в цитоплазме (информационная, транспортная и рибосомальная РНК). Ядра чаще имеют сферическую или овоидную форму, но возможны и другие формы: палочковидная, сегментированная и др. Ядро неделящейся клетки (*интерфазное ядро*) окружено ядерной оболочкой (*nucleolemma*), состоящей из наружной ядерной мембраны (*membrana nuclearis externa*), внутренней ядерной мембраны (*membrana nuclearis interna*) и расположенного между ними перинуклеарного пространства (*cisterna nucleolemmatis*). В ядерной оболочке имеются поры

(*poms nuclearis*) с поровыми комплексами (*complexus pori*), обеспечивающие прохождение макромолекул в цитоплазму.

Генетическая информация сосредоточена в ДНК ядра. Из комплекса ДНК с белком (*дезоксирибсинуклеопротеида*) построены хромосомы. Хромосомы видны во время митотического деления как резко базофильные продолговатые тельца. В интерфазном ядре на светооптическом уровне можно видеть нуклеоплазму (*nucleoplasma*) и конденсированные участки хромосом, которые обнаруживаются как базофильные глыбки гетерохроматина (*heterochromatinum*).

*Ядрышко* — часть ядра, формирующая рибосомы. В ядрышке различают нуклеонему (*nucleonema*), т. е. ядрышковую нить, и аморфную часть. Нуклеонема состоит из филаментозного компонента (*pars filamentosa*) и гранулярного компонента (*pars granulosa*), аморфная часть состоит из филаментов.

*Деление клеток.* Основной способ деления соматических клеток — *митоз*, при котором имеет место формирование видимых нитей — хромосом (*mitos* — нить). Разновидностью митоза является *мейоз* — деление созревающих половых клеток.

Клеточный цикл разделяют на интерфазу и митоз. Интерфаза складывается из периода  $G_1$  — постмитотического периода, когда происходит синтез и накопление белков клетки, периода  $S$  — синтетического периода, когда удваивается ДНК, и периода  $G_2$  (премитотического), когда синтезируются белки, необходимые для деления, в первую очередь тубулины для построения веретена деления. В период митоза генетический материал перемещается таким образом, что обеспечивается его равномерное распределение между дочерними клетками. Митоз складывается из четырех фаз: профазы, метафазы, анафазы и телофазы. В профазе происходит конденсация хромосом, в результате чего они становятся видимыми. Каждая хромосома состоит из двух тяжей — хроматид. Ядрышки уменьшаются в размере и исчезают. Центриоли расходятся и между ни-



ми начинает формироваться веретено деления. Оболочка ядра распадается.

Метафаза начинается с полного формирования веретена деления и расположения хромосом в экваториальной плоскости клетки. Веретено деления состоит из микротрубочек, центрами формирования которых являются центриоли. Часть микротрубочек идет от полюса к полюсу (от центриоли к центриоли). Другие тянутся от полюса к центромеру (перетяжка) одной из хромосом.

В анафазе происходит расщепление центромеров и расхождение хроматид при участии веретена деления к полюсам клетки.

В телофазе происходит разделение цитоплазмы, деспирализация хромосом, реконструкция оболочки ядра, появление ядрышек.

О митотическом цикле можно говорить тогда, когда клетки через определенный промежуток времени повторно входят в фазу митоза. Это может быть при быстром росте популяции клеток. Во взрослом организме наблюдается редко. Большинство клеток находится в состоянии интерфазы в течение недель или месяцев, а затем продвигается несколько циклов. Такую длительную интерфазу называют также периодом  $G_0$ .

В некоторых органах может происходить удвоение ДНК без последующего митоза или митотическое деление ядер без разделения цитоплазмы (эндомиоз). В результате эндомиоза может образоваться одно гигантское полиплоидное ядро или несколько ядер. При этом формируются полиплоидные клетки с увеличенным числом наборов хромосом. Обычно соматические клетки содержат диплоидный набор хромосом ( $2n$ ). В печени могут встречаться клетки с тетраплоидным ( $4n$ ) и октаплоидным ( $8n$ ) набором хромосом. Ядро мегакариоцита костного мозга может содержать набор хромосом  $32n$ .

**Цель занятия** — изучение структурных компонентов интерфазного и митотического деления ядер, их роли в жизнедеятельности клетки, в хранении и передаче генетической информации.

**Задачи:**

1. Изучить форму ядер клеток различных типов, микроскопическое и ультрамикроскопическое строение структур интерфазного ядра.
2. Изучить структуру клеток в различные фазы митоза: профаза, метафаза, анафаза и телофаза.
3. Изучить эндомиоз и полиплоидию, мейоз.

**Объекты изучения**

*Микропрепараты для изучения и зарисовки*

**Препарат 1** Интерфазное ядро фиксированной и окрашенной клетки (рисунок 16).

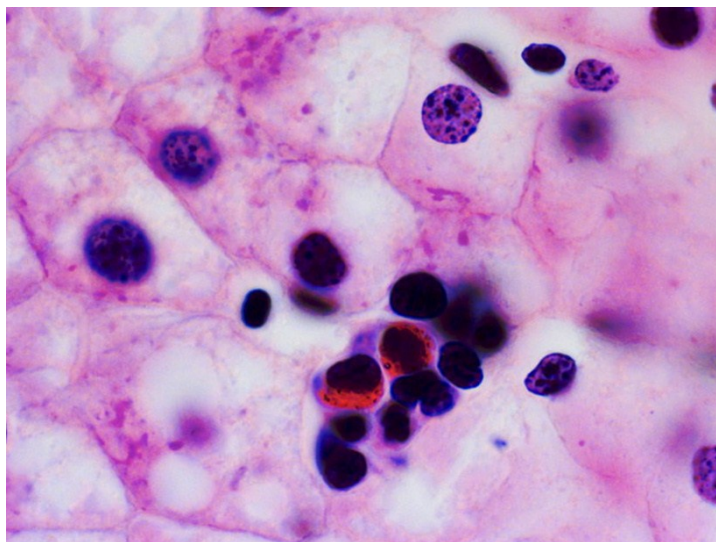


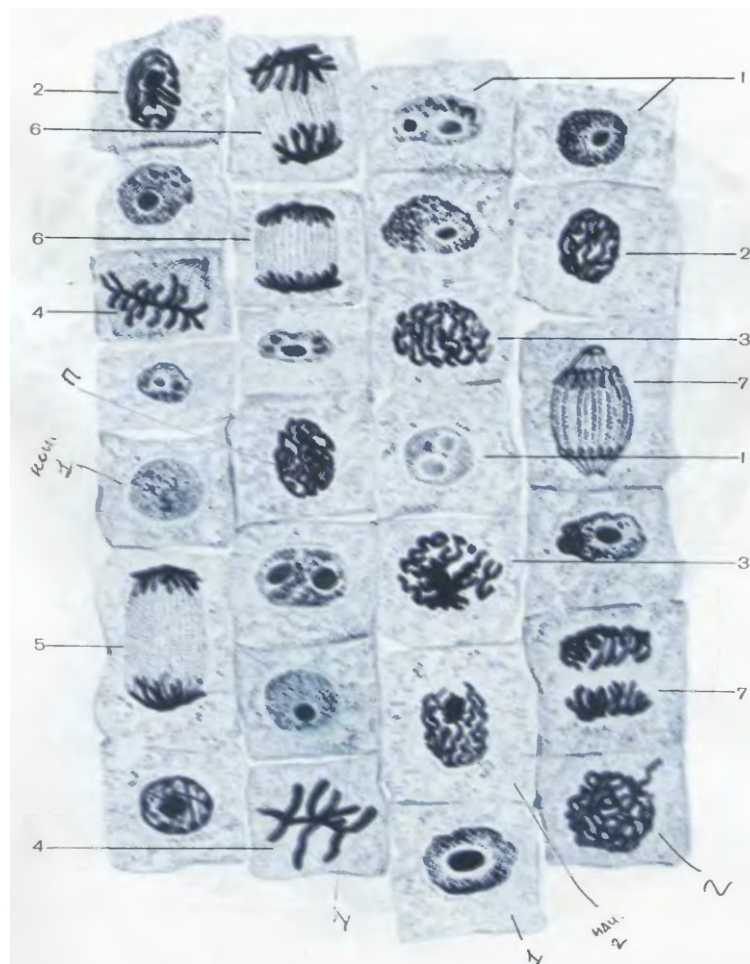
Рисунок 16 - Интерфазное ядро

Клетки печени аксолотля. Окраска гематоксилин-эозином. Необходимо детально рассмотреть структуру ядра клетки. На

большом увеличении в ядре видны фиолетовые мелкие гранулы хроматина и более крупные округлые ядрышки. В одном ядре может присутствовать несколько ядрышек. Между гранулами хроматина находится бесструктурная нуклеоплазма.

**Зарисовать и обозначить:** ядерную оболочку (*nucleolemrna*), ядрышки (*nucleoli*), гранулы хроматина (*granuli chromatini*), нуклеоплазму (*nuceloplasma*).

**Препарат 2** Митоз растительной клетки. Срез корешка лука. Окраска гематоксилин-эозином (рисунок 17).



1 - интеркинез; 2 - профаза, плотный клубок; 3 - профаза, рыхлый клубок; 4 - метафаза (монастер); 5 - ахроматиновое веретено; 6 - анафаза (диастер); 7- телофаза.

Рисунок 17 - Кариокинез (непрямое деление) или митоз (корешок лука). Окраска железным гематоксилином x 400.

**Зарисовать и обозначить:** интерфазу (*periodus intermitotica*), профазу (*prophasis*), метафазу (*metaphasis*), анафазу (*anaphasis*), телофазу (*telophasis*).

### Препарат 3 Митоз животной клетки



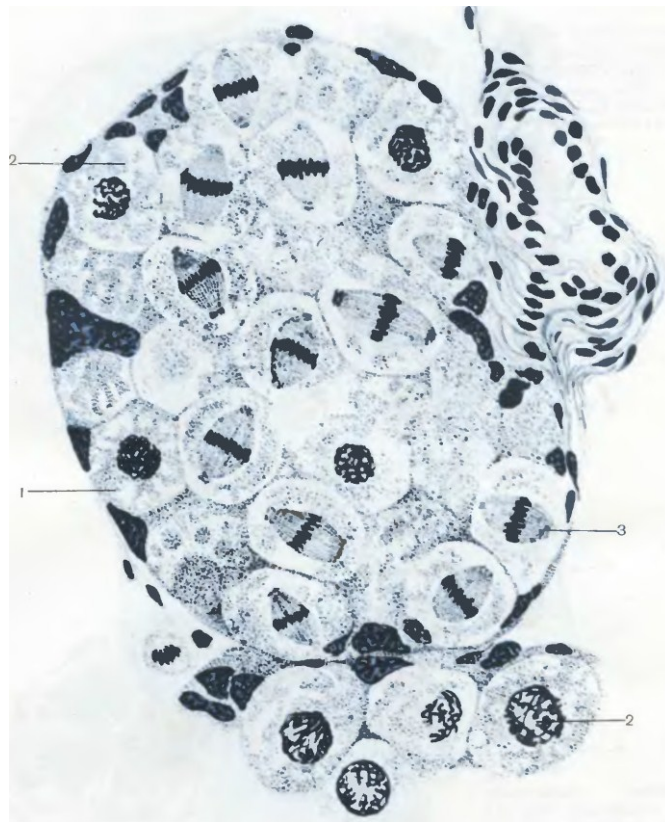
1 - неделяющиеся клетки; 2 - профаза (стадия плотного клубка); 3 - профаза (стадия рыхлого клубка); 4 - метафаза (диастер); 5 - анафаза.

Рисунок 18 - Митоз животной клетки (краевая зона печени аксолотля). Окраска железным гематоксилином x 400.

**Зарисовать и обозначить:** интерфазу (*periodus intermitotica*), профазу (*prophasis*), метафазу (*metaphasis*), анафазу (*anaphasis*), телофазу (*telophasis*).



## Препарат 4 Митоз



1 - митотическое деление сперматогонии, профаза (стадия плотного клубка);  
2 -профаза (стадия рыхлого клубка); 3 - метафаза.

Рисунок 19 - Митоз в клетках семенника. Окраска железным гематоксилином  
X 400.

**Зарисовать и обозначить:** интерфазу (*periodus intermitotica*), профазу (*prophasis*), метафазу (*metaphasis*), анафазу (*anaphasis*), телофазу (*telophasis*).

### Контрольные вопросы:

1. Назовите компоненты интерфазного ядра.
2. Что такое гетерохроматин и эухроматин?
3. Расскажите о химическом составе, строении и функции ядрышка.
4. Что представляет собой половой хроматин?

5. Назовите периоды жизненного цикла клетки. Что происходит в клетке в эти периоды?
6. Что такое эндомитоз и полиплоидия?
7. Дайте характеристику и расскажите о фазах митоза и мейоза.
8. Что происходит с органеллами при митозе?
9. Какие изменения происходят с ядрышком при митозе?

## **5 Лабораторная работа № 5. Эмбриология**

Эмбриология — наука о развитии зародыша. Эмбриональным периодом развития (эмбриогенезом) называется период от момента оплодотворения до рождения (у живородящих животных), вылупления из яйцевых оболочек (у яйцекладущих животных), окончания периода метаморфоза (у животных с личиночной стадией развития).

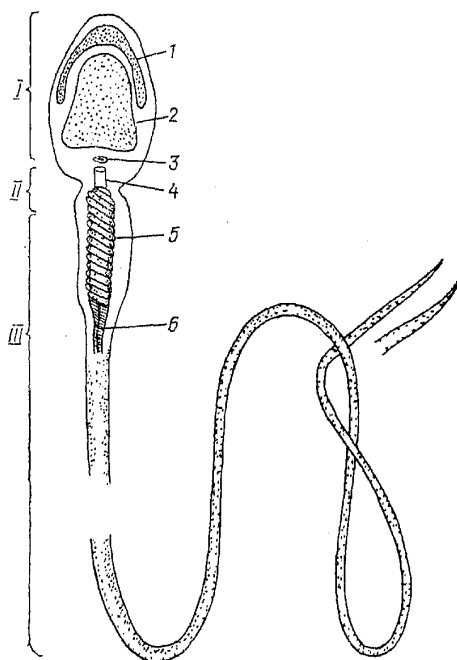
В эмбриогенезе различают следующие стадии: оплодотворение и образование зиготы, дробление с образованием бластулы, гастрюляция с образованием зародышевых листков, образование зачатков тканей (гистогенез), органов (органогенез) и внезародышевых органов.

### **Подтема 1**

Половые клетки, их развитие и строение. Оплодотворение и образование зиготы. Дробление и образование бластулы. Гастрюляция.

Половые клетки во взрослом организме развиваются в половых железах— гонадах. Сперматогенез (процесс развития мужских половых клеток) осуществляется в семенниках, а овогенез (процесс развития женских половых клеток) происходит в яичниках. При созревании мужских и женских половых клеток диплоидное число хромосом в ядре уменьшается (редуцируется) вдвое, в результате чего зрелые половые клетки получают гаплоидный набор хромосом. Процесс сперматогенеза включает четыре последовательных периода: размножение, рост, созревание и формирование. В процессе овогенеза отсутствует период формирования.

**Сперматозоид, спермий (*spermium*) состоит из головки, шейки и хвостика (рисунок 20).**



I - головка; II - шейка; III - хвостик; 1 - акросома; 2 - ядро; 3 - проксимальная центриоль; 4 - дистальная центриоль; 5 - митохондрии; 6 - осевая нить хвостика

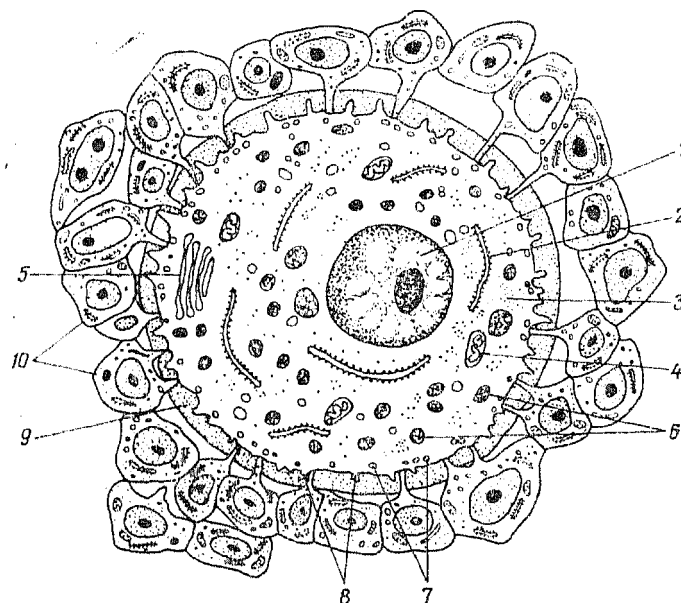
Рисунок 20 - Схема строения спермия

В головке находится ядро, содержащее конденсированный хроматин. На переднем полюсе ядра в чехлике располагается акросома. Акросома содержит набор ферментов, среди которых основными являются, протеазы и гиалуронидаза, играющие важную роль при оплодотворении яйцеклетки. В шейке сперматозоида располагаются проксимальная и дистальная центриоли. От дистальной центриоли начинается осевая нить хвостика.

Яйцеклетки, или овоциты (*ovum*), отличаются от сперматозоидов большими размерами, отсутствием центриолей. В связи с отсутствием центриолей яйцеклетки не способны к самостоятельному делению. Цитолемма яйцеклетки образует небольшие выросты — микроворсинки. В процессе развития яйцеклетки в яичнике она окружается слоем фолликулярных клеток, образующих вокруг нее лучистый венец (*corona radiata*). Фолликулярные клетки принимают участие в трофике яйцеклетки. За счет деятельности овоцита и



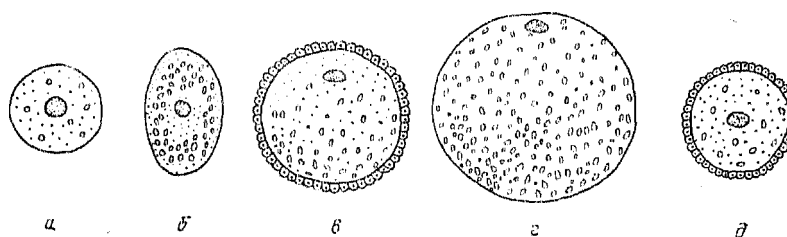
фолликулярных клеток вокруг яйцеклетки возникает богатая гликозаминогликанами оболочка — прозрачная зона (*zona pellucida*) (рисунок 21).



1 - ядро яйцеклетки; 2 - гранулярная эндоплазматическая сеть; 3 - цитоплазма яйцеклетки; 4 - митохондрия; 5 - комплекс Гольджи; 6 - желточные гранулы; 7 - кортикальные гранулы; 8 - микворсинки; 9 - прозрачная зона; 10 - фолликулярные эпителиоциты

Рисунок 21 - Яйцеклетка млекопитающего:

Следует обратить внимание на то, что основным отличительным признаком яйцеклеток различных представителей хордовых является количество желточных включений в цитоплазме (рисунок 22).



а - первично изолецитальная; б — центролецитальная; в — мезолецитальная; г - резко телолецитальная; д — вторично изолецитальная.

Рисунок 22 - Схема классификации яйцеклеток.

Процесс оплодотворения у многоклеточных организмов состоит в объединении спермия и яйцеклетки и образовании каче-

ственно новой клетки — зиготы, которая представляет собой новый организм дочернего поколения. Следующий этап — дробление зиготы. В основе этого процесса лежит митотическое деление клеток. Однако образующиеся в результате деления дочерние клетки не расходятся, а остаются тесно прилегающими друг к другу. В процессе дробления размеры клеток прогрессивно уменьшаются. Каждому животному свойствен определенный тип дробления, обусловленный количеством и характером распределения желтка в яйцеклетке. Желток тормозит дробление, поэтому часть зиготы, перегруженная желтком, дробится медленнее или не дробится вовсе.

В результате дробления образуется бластула. В центре бластулы формируется полость — бластоцель, или первичная полость тела зародыша. В зависимости от типов дробления образуются различные бластулы: целобластула (*coeloblastula*), амфибластула (*amphiblastula*), дискобластула (*discoblastula*), перибластула (*periblastula*) и бластоциста (*blastocyst*). После завершения процесса дробления и образования бластулы начинается процесс гастрюляции.

Гастрюляция — это процесс превращения бластулы в зародыш, состоящий из трех зародышевых листков — эктодермы, энтодермы, мезодермы. В основе гастрюляции лежат биохимические и морфогенетические процессы, важнейшими компонентами которых являются размножение, дифференцировка, рост, перемещение и взаимодействие клеток. Перераспределение клеточного материала при гастрюляции происходит с помощью нескольких механизмов:

- 1) впячивание (*invagination*);
- 2) обрастание (*epibolia*);
- 3) расслоение (*delaminatio*);
- 4) вселение (*immigratio*) (рисунок 23).

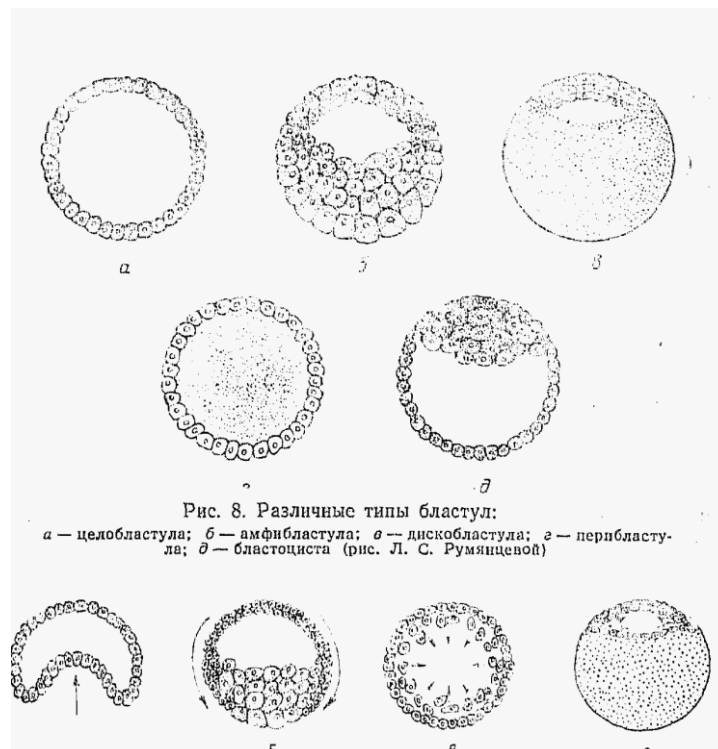


Рис. 8. Различные типы бластул:  
а — целобластула; б — амфибластула; в — дискобластула; г — перибластула; д — бластоциста (рис. Л. С. Румянцевой)

а — инвагинация; б — эпибolia; в — иммиграция; г — деляминация (Гистология/ под ред. В. Г. Елисеева, Ю. И. Афанасьева, Н. А. Юриной» 1983).

Рисунок 23 - Схема различных механизмов гаструляции

Следует иметь в виду, что еще не дифференцированный клеточный материал будущих основных зачатков зародыша можно выделить на ранних стадиях развития. Такие как бы предварительно намечающиеся участки зиготы или бластулы, служащие материалом, из которого позднее развиваются определенные зачатки органов и тканей, называются презумтивными участками, или презумтивным материалом (от лат. *presumptio* — предположение, наметка). Можно говорить, например, о презумтивной эктодерме, презумтивной энтодерме, презумтивной мезодерме в бластуле.

**Цель занятия** — изучение строения мужских и женских половых клеток, процессов оплодотворения, дробления, образования бластулы, гаструляции.

### **Задачи:**

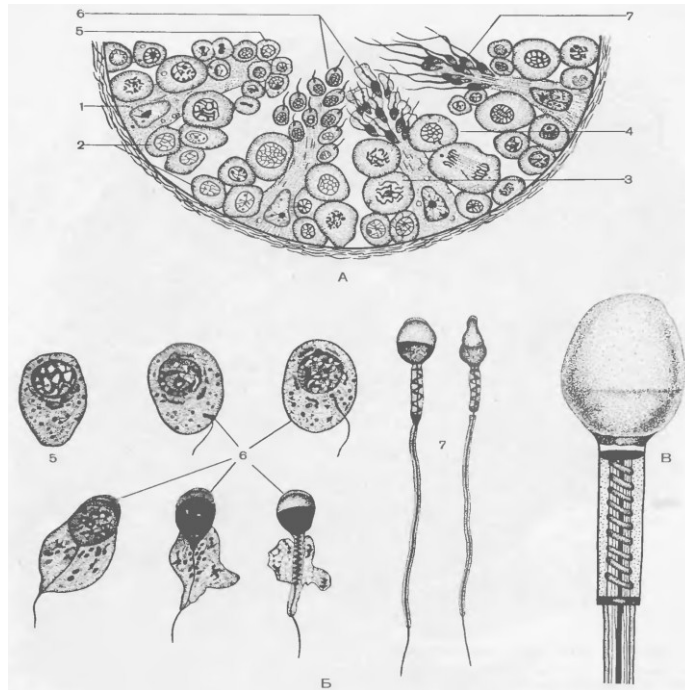
1. Изучить особенности развития мужских и женских половых клеток.
2. Изучить микро- и ультрамикроскопическое строение спермиев, классификацию, микро- и ультрамикроскопическое строение яйцеклеток.
3. Изучить стадии процесса оплодотворения и образования зиготы. Изучить различные типы дробления зиготы и различные типы бластул.
5. Изучить особенности процесса гастрюляции у зародышей хордовых (ланцетник) и низших позвоночных (амфибия) и их механизмы.

### **Контрольные вопросы:**

1. Понятие об эмбриогенезе и его связи с онтогенезом и филогенезом.
2. Знание основ цитологии. Представление о строении ядра, цитоплазмы, органеллах и включениях клетки.
3. Знание мейоза, его особенностей и основных стадий.
4. Строение сперматозоидов. Сперматогенез.
5. Строение яйцеклеток. Их классификация.
6. Механизм и биологический смысл процесса оплодотворения.
7. Типы дробления зиготы. Зависимость типа дробления от количества и распределения желтка. Зависимость характера образующейся в результате дробления бластулы от типа дробления.
8. Понятие о гастрюляции. Механизмы гастрюляции.

## Объекты изучения

### Препарат 1 Сперматогенез и сперматозоиды (рисунок 24).

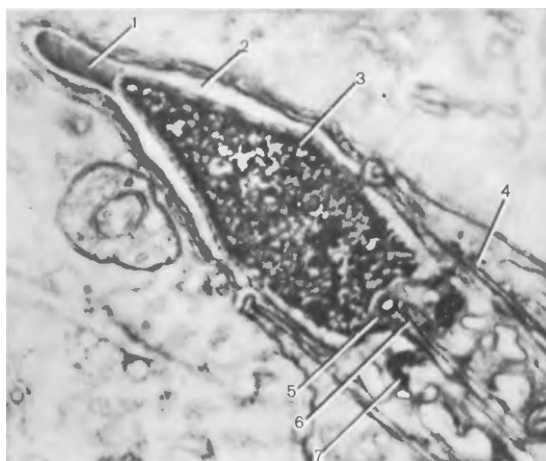


1 - фолликулярная клетка (клетка Сертоли); 2 - сперматогонии; 3 - сперматocyты I порядка; 4 - сперматocyты II порядка; 5 - сперматocyты; 6 - последовательные стадии формирования спермиев; 7 - спермии (Б. М. Пэттен и Клар).

Рисунок 24 - А - поперечный разрез семенного канальца; Б - последовательные стадии формирования сперматозоидов человека; В - схема строения сперматозоида человека.

**Зарисовать и обозначить:** головку (*caput*), ядро (*nucleus*), акросому (*acrosoma*), шейку (*cervix*), хвостик (жгутик)— *cauda (flagellum)*.

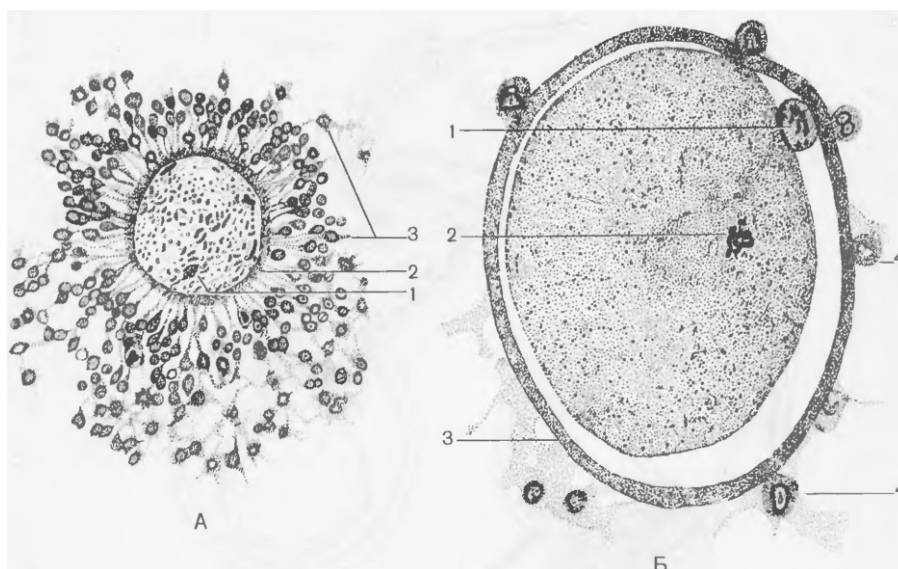
**Препарат 2** Сперматиды в периоде формирования (поздняя стадия).  
Электронная микрофотограмма. Увеличение в масштабе показано на микрофотограмме (рисунок 25).



1 - акросома; 2 - головной колпачок; 3 - ядро; 4 - цитоплазма; 5 - проксимальная центриоль; 6 - осевые нити; 7- дистальная центриоль (по Барюзу и Фаусету).

Рисунок 25 - Сперматид в период формирования

### Препарат 3 Созревание яйцеклетки (рисунок 26).



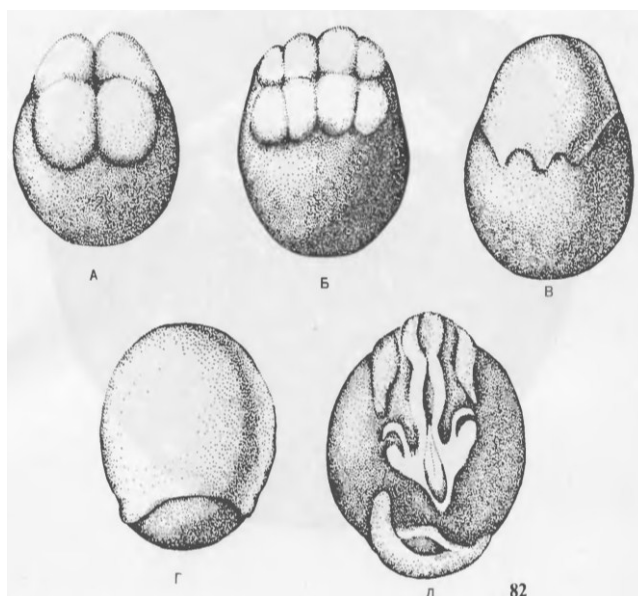
А - ооцит первого порядка из пузырьчатого фолликула яичника человека. Фигура первого деления созревания. 1 - веретено первого деления созревания, 2 - блестящая зона; 3 - лучистый венец, образованный фолликулярными клетками. Б - ооцит второго порядка вскоре после овуляции Фигура второго деления созревания. 1 - первое редукционное тельце; 2 - веретено второго деления созревания, 3 - блестящая зона; 4 - фолликулярные клетки (Гамильтон, Бойд, Моссмэ).

Рисунок 26 - Созревание яйцеклетки человека

**Зарисовать и обозначить:** яйцеклетку (*ovum*), прозрачную зону (*zona pellucida*), лучистый венец (*corona radiata*), фолликулярные эпителиоциты (*epitheliocytus follicularis*).

### Препарат 4. Полное равномерное дробление

Найти зародыш на стадии двух, четырех, восьми бластомеров (*blastomeres*). Обратить внимание на примерно равную величину бластомеров и на то, что количество их возрастает в геометрической прогрессии. Обозначить бластомеры (рисунок 27).

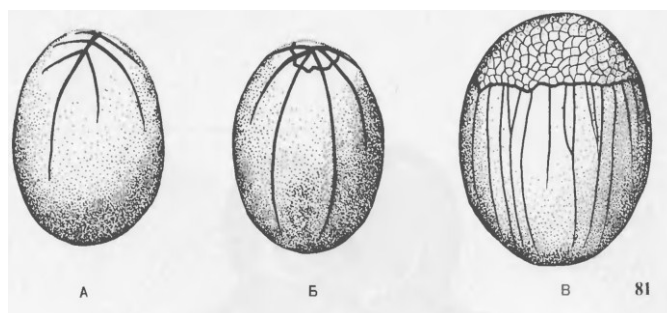


А - стадия 4 бластомеров; Б - стадия 8 бластомеров; В - бластула (бластодиск состоит из множества мелких клеток, на рисунке не заметных), Г - обрастание желтка бластодиском; Д - стадия вырастания хвостовой почки (П. П. Иванов).

Рисунок 27 - Дробление и образование бластулы у костистых рыб на примере леща.

### **Препарат 6. Полное неравномерное дробление**

Обратить внимание на различную величину бластомеров. Найти мелкие бластомеры в области анимального полюса и крупные — в области вегетативного полюса (рисунок 28).



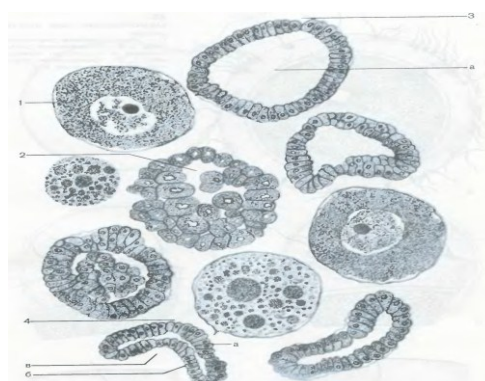
А - стадия 8 неполных бластомеров; Б - стадия 16 бластомеров (8 мелких анимальных бластомеров — полные, большая вегетативная часть яйца разделена двумя полными бороздами и двумя неполными) В - поздняя стадия дробления (две полные борозды и множество неполных) (по Уайтмену и Эйклесгеймеру. из П. П. Иванова).

Рисунок 28 - Дробление яйца костного ганоида

**Зарисовать и обозначить:** мелкие бластомеры (micromeris), крупные бластомеры (macromeris).

### Препарат 7 Бластула морского ежа.

Окраска гематоксилином. Увеличение малое. Обратить внимание на примерно равную величину клеток бластодермы (стенки бластулы) и ее однослойное строение, а также на центральное положение бластоцеля. Дно бластулы можно отличить по более высоким бластомерам. Противоположная часть бластодермы — крыша. Между крышей и дном располагается краевая зона (рисунок 29).



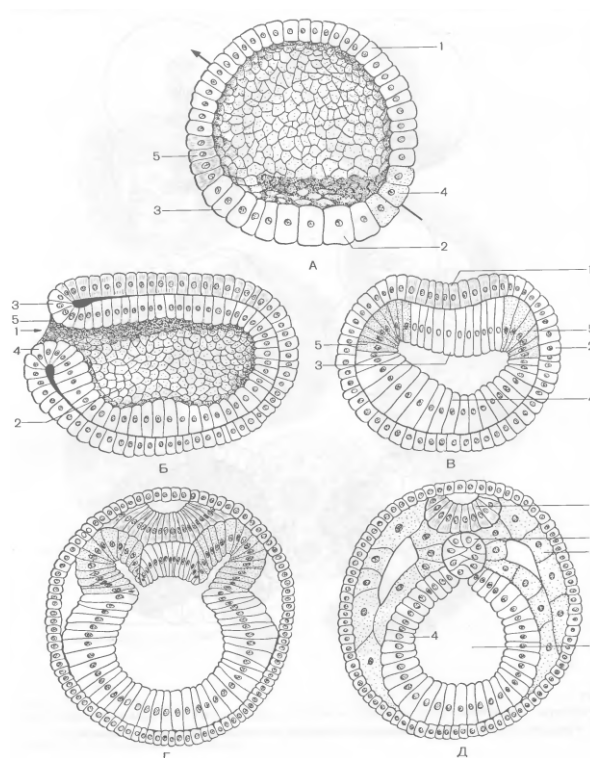
1 - яйцеклетка; 2 - стадия дробления; 3 - бластула: а - полость бластулы (бластоцель); 4 гастрюла: а- эктодерма; б -энтодерма: в - гастрюцель.

Рисунок 29 - Дробление яйца морского ежа



**Зарисовать и обозначить:** бластодерму (стенка бластулы) (*blastoderma*), бластоцель (полость бластулы) (*blastocoelia*), крышу бластулы (*tectum blastuli*), дно бластулы (*fundus blastuli*), краевую зону (*zona marginalis*).

**Препарат 8** Зародыш ланцетника на стадии бластулы, гастреры и на стадии обособления эмбриональных зачатков (рисунок 30).



А - сагиттальный разрез бластулы; предполагаемые эмбриональные зачатки. 1 - кожная эктодерма, 2 - кишечная энтодерма, 3 - хорда, 4 - мезодерма, 5 - нервная пластинка. Б - сагиттальный разрез гастреры: 1 - бластопор, 2 - гастроцель, 3 - дорсальная губа; 4 - вентральная губа, 5 - боковая губа. В —поперечный разрез гастреры: 1- зачаток нервной пластинки, 2 - зачаток эктодермы, 3 - зачаток хорды, 4 - зачаток кишечной энтодермы, 5 -зачаток мезодермы. Г - поперечный разрез зародыша в начале обособления эмбриональных зачатков. Д - поперечный разрез зародыша: 1 - нервный зачаток; 2 - хорда; 3 - мезодерма; 4 - кишечная энтодерма; 5 - вторичная кишка (А. А. Заварзин).

Рисунок 30 - Зародыш ланцетника на стадии бластулы, гастреры и на стадии обособления эмбриональных зачатков.

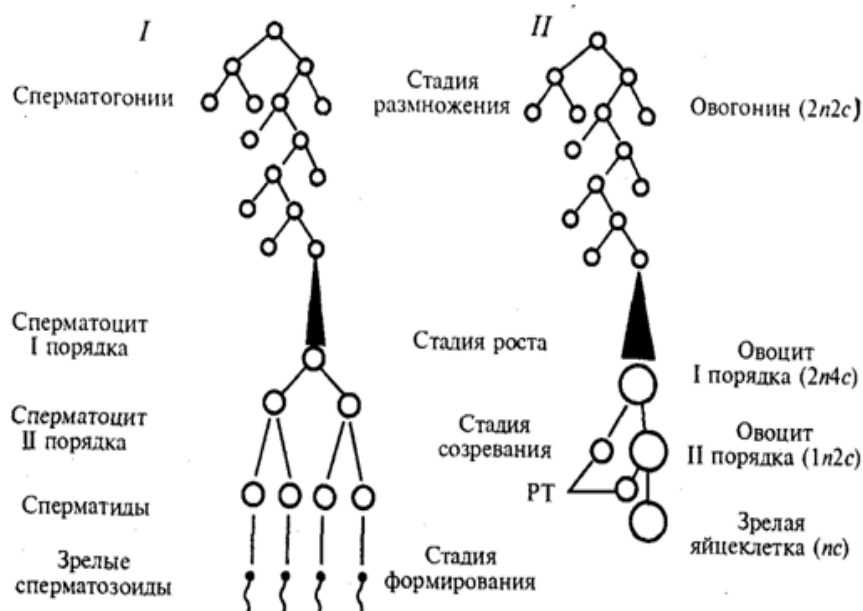
**Зарисовать и обозначить:** бластодерму, крышу бластулы, дно бластулы, бластоцель, краевую зону.

### **Контрольные вопросы:**

1. По каким признакам классифицируют яйцеклетки и какие типы яйцеклеток вам известны?
2. Что такое акросома? Из какой органеллы она развивается и какова ее роль в оплодотворении?
3. Перечислите периоды сперматогенеза.
4. Назовите особенности овогенеза по сравнению со сперматогенезом.
5. Какую часть онтогенеза называют эмбриональным периодом?
6. Назовите типы дробления зиготы, от чего зависит тип дробления зиготы?
7. Какие механизмы гастрюляции вам известны? В чем их суть? Приведите примеры.
8. Что такое презумтивные зоны?
9. По какому типу происходит гастрюляция у ланцетника и амфибии?

## 6 Лабораторная работа № 6. Гонадогенез у рыб. Периоды развития рыб

### 6.1 Гаметогенез (рисунок 31).



1 — сперматогенез, 2 — овогенез,  $n$  — количество хромосомных наборов,  $c$  — количество ДНК, РТ — редукционные тельца.

Рисунок 31 - Схема гаметогенеза.

### 6.2 Эмбриональный период развития рыб (на примере осетровых)

Эмбриональный период развития осетровых рыб состоит из 5 этапов в 36 стадий:

1 этап — обводнение икринки и появление бластодиска (1–3 стадии).

2 этап — дробление бластодиска до бластулы (4–12 стадии).

3 этап — образование зародышевых пластов — гастрюляция (13–18 стадии).

4 этап — дифференциация зародышевых пластов на зачатки основных органов (19–28 стадий).

5 этап – развитие зародышей от начала пульсации сердца до вылупления (29–36 стадии).

#### 1. Этап (1-3 ст.)

Обводнение икринки и появление бластодиска. Выметанные в воду и тут же осемененные яйца опускаются на дно, заносятся под камни и вскоре приклеиваются студенистой оболочкой к грунту. Оплодотворение вызывает кортикальную реакцию, и между цитоплазматической мембраной яйца и оболочкой возникает узкая (в несколько мкм) прослойка выделенного материала кортикальных гранул.

Яйцо внутри высвобождается от оболочек и поворачивается соответственно положению центра тяжести, вегетативным более тяжелым полюсом вниз, а анимальным вверх. В это время в щелевидное пространство под оболочкой выделяется гидрофильный коллоид из лакун на анимальном полюсе. Коллоид, привлекая воду из окружающей среды, набухает, и возникает периветеллиновое пространство. В яйце происходит перемещение пигмента. Он стягивается к центру анимального полюса и светлое пятно исчезает. Вскоре по краю анимальной области появляется светлая полоса – светлый серп.

В это время значительно возрастает прочность яйцевых оболочек. Увеличение прочности оболочек связано с условиями развития зародышей под камнями на течении, где икра подвергается ударом камешков, песка и других предметов. Как только кортикальная реакция осуществится и между поверхностью цитоплазмы и оболочками возникнет тонкая прослойка выделенного материала, яйцо освобождается внутри оболочек и начинает поворачиваться, в соответствии с положением своего центра тяжести, богатым желтком вегетативным полушарием вниз и анимальной областью, вверх.

Стадия 1 – оплодотворенного яйца в первые минуты после оплодотворения, когда оно по своему виду еще не отличается от неоплодотворенного яйца (рисунок 32).

Пигментный рисунок анимальной области не изменен, в центре ее светлое полярное пятно; оболочки плотно прилегают к яйцу и еще не начали набухать. Через несколько минут после осеменения (от 2 до 13 мин.) наружная оболочка яиц становится клейкой и прочной.

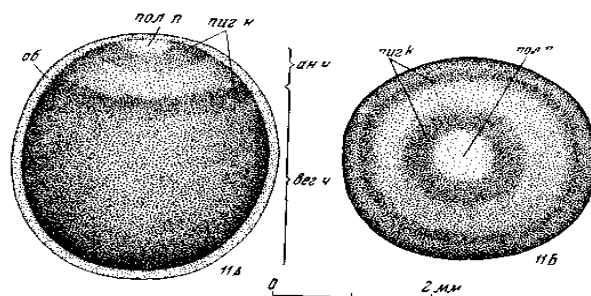


Рисунок 32 - Оплодотворенное яйцо в первые минуты

Стадия 2 – оплодотворенного яйца после поворота и образования перивителлинового пространства (рисунок 33).

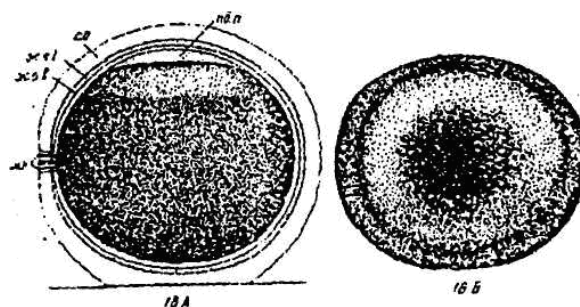


Рисунок 33 - Оплодотворенное яйцо после поворота и образования перивителлинового пространства.

Ко времени завершения поворота в верхней части икринки, между яйцом и оболочкой, становится различной (если смотреть на яйцо сбоку) узкая щель, которая затем постепенно расширяется. В это время из цитоплазмы под оболочку выделяется осмотически активный коллоид (ранее содержащийся в сети лакун анимальной области), который набухает, привлекая воду из окружающей среды; поверхность анимальной области яйца уплощается и между нею и оболочками образуется довольно значительное пространство, называемое перивителлиновым.

Своеобразный рисунок анимальной области яйца — светлое полярное пятно в центре и темные пигментные кольца вокруг него — после оплодотворения изменяется. Пигмент постепенно стягивается к центру анимальной области, образуя здесь темное скопление светлое полярное пятно, исчезает или, если оно было очень большим (что часто наблюдается у белуги), сильно уменьшается в размере.

Стадия 3 — светлого серпа (рисунок 34). У края анимальной области нередко заметна светлая, тогда совершенно белая полоса полукруглой формы (светлый серп).

Полоска эта постепенно расширяется и превращается в светлый серп. Иногда серп бывает ярким, с четкими границами, в других случаях границы его менее определенные, в некоторых партиях его совсем не удается различить.

Специально проведенные наблюдения и опыты показали, что сторона яйца со светлым серпом становится затем спинной стороной зародыша, причем воображаемая плоскость, проведенная через середину серпа и центры анимальной и вегетативной областей, соответствует будущей среднеспинной плоскости зародыша. Таким образом, зародыш приобретает двусторонне-симметричное строение в самом начале развития, еще до того как яйцо начинает дробиться.

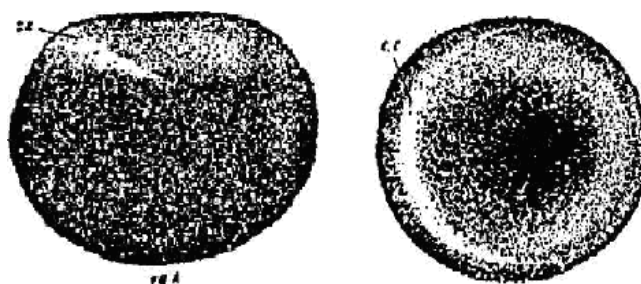


Рисунок 34 - Светлый серп.

## 2 этап (4–12 стадии)

Дробление. Оплодотворенное яйцо многократно делится и превращается в многоклеточный пузырек — бластулу. Клетки, возникающие при дроблении яйца, называются бластомерами.

Деление яйца можно видеть даже невооруженным глазом. Для этого надо смотреть на яйцо со стороны анимальной области. Удобно наблюдать дробление на приклеенной икре.

Стадия 4 – первого деления (рисунок 35). Первая борозда делит сначала анимальную область на два бластомера. Затем борозда продвигается очень медленно на вегетативную часть яйца, т. к. огромное скопление желточных зерен и жира затрудняет ее распространение.

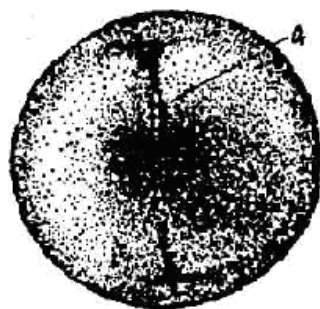


Рисунок 35 - Первое деление

Стадия 5 – второго деления (рисунок 36). Анимальная область яйца разделяется на четыре бластомера приблизительно равной величины.

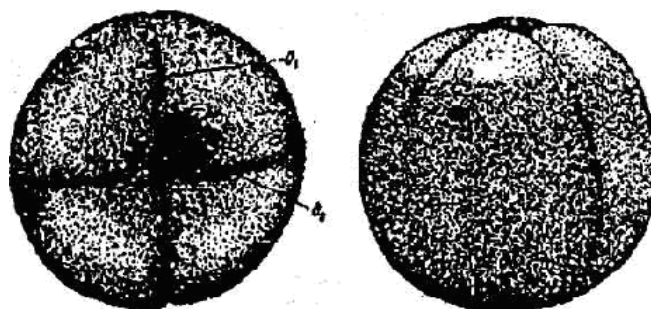


Рисунок 36 - Второе деление

Еще не успеет первая борозда достигнуть экватора, как в центре анимальной области, перпендикулярно к ней, также в виде коротких белых полосок, закладываются борозды второго деления, и постепенно

анимальная область зародыша разделяется на четыре части сходной величины. При постоянной температуре борозды второго деления появляются через промежуток времени, равный одной трети периода от осеменения до появления первой борозды.

Стадия 6 – Третьего деления (рисунок 37 - вид сверху).

При третьем делении начинается разделение яйца на 8 бластомеров. Расположение борозд при этом бывает разлит в яйцах удлиненной формы борозды закладываются параллельно первой борозде или под небольшим углом к ней, образуя характерную фигуру в виде буквы (Ж) в яйцах округлой формы они обычно располагаются по радиусам. Рисунок, образуемый бороздами дробления, как правило, не бывает геометрически правильным,

Бластомеры имеют разные форму и величину.

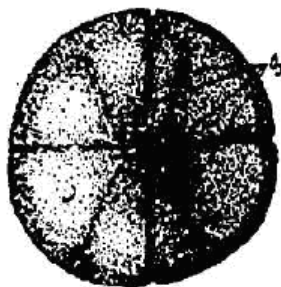


Рисунок 37 - Третье деление (вид сверху)

Стадия 7 – четвертого деления (рисунок 38). Борозды второго деления близки к смыканию; борозды третьего деления приближаются к экватору. При четвертом делении, когда в более узких бластомерах борозды располагаются горизонтально, отделяя к центру анимальной области бластомеры небольшой величины, а в более широких — косо или радиально.



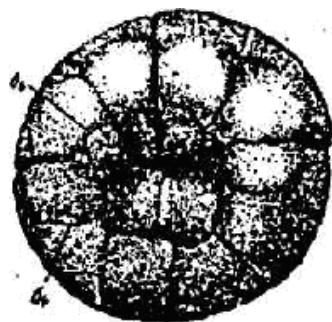


Рисунок 38 - Четвертое деление.

Стадия 8 – пятого дробления (рисунок 39 - вид сверху)

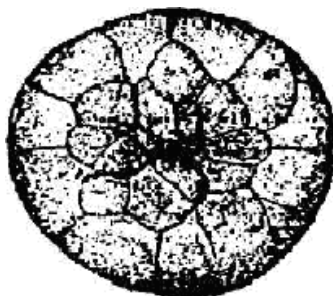


Рисунок 39 - Пятое дробление (вид сверху).

Стадия 9 – седьмого деления (рисунок 40).

Борозды полностью разделяют богатую желтком вегетативную область. При этом четко выступает неравномерность дробления, свойственная осетровым: бластомеры, обособляющиеся в верхней, анимальной части зародыша, на всех стадиях дробления имеют значительно меньшие размеры, чем вегетативные бластомеры.

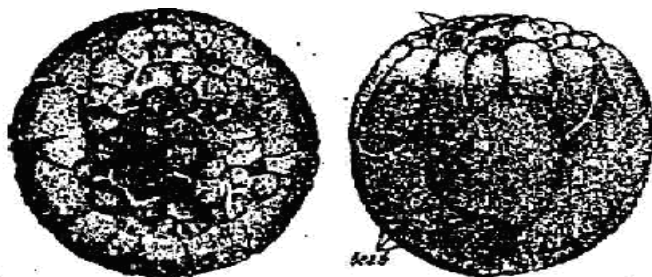


Рисунок 41 - Седьмое деление.

Стадия 10 – позднего дробления (рисунок 42) Последовательное деление привели к уменьшению размеров бластомеров.

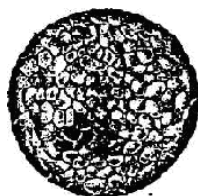


Рисунок 42 - Позднее дробление.

Стадия 11 – ранней бластулы (рисунок 43). В анимальной области отдельные бластомеры еще хорошо различимы, при небольшом увеличении. Внутри зародыша между бластомерами образовалась полость дробления бластоцель, зародыш приобретает строение полого шарика – бластулы.

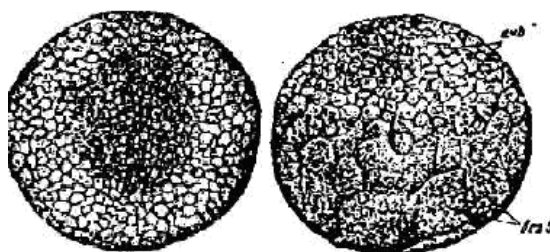


Рисунок 43 - Ранняя бластула.

Стадия 12 – поздней бластулы (рисунок 44). В анимальной области отдельные клетки при небольшом увеличении не различимы. Между мелкими анимальными и относительно крупными вегетативными бластомерами имеется зона бластомеров промежуточного размера, носящая название краевой зоны.

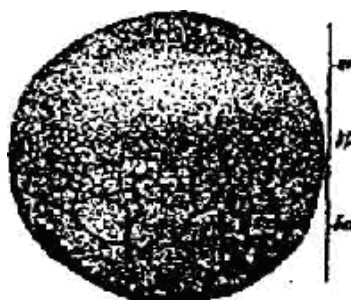


Рисунок 44 - Поздняя бластула.

3 этап (13–18 стадии).

Гаструляция. После того как оплодотворенное яйцо, благодаря непрерывному ряду делений, превратилось в многоклеточный пузырек —

бластулу, в нем начинаются сложные перемещения: материал краевой зоны вворачивается внутрь, а светлая анимальная область разрастается и покрывает снаружи темные вегетативные клетки. Эти процессы называют гастрულიей, а зародыш в описываемый период — гастролой.

К концу гастрულიи снаружи остается только светлый материал анимальной области бластулы, который теперь покрывает всего зародыша и образует наружный слой стенки гастролы, а краевая зона и богатые желтком темные клетки вегетативной области все оказываются внутри, где они образуют внутренний, слой зародыша.

Стадия 13 – начало гастрულიи (рисунок 45). Немного выше экватора на спинной стороне зародыша образовалась узкая, сильно пигментированная полоска.

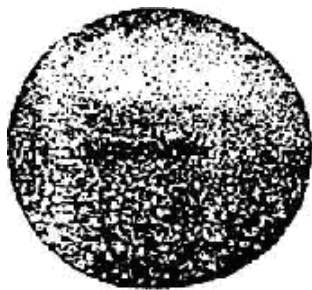


Рисунок 45 - Начало гастрულიи.

Стадия 14 – ранней гастрულიи (рисунок 46). На месте пигментной полоски образовалось углубление бластопор.

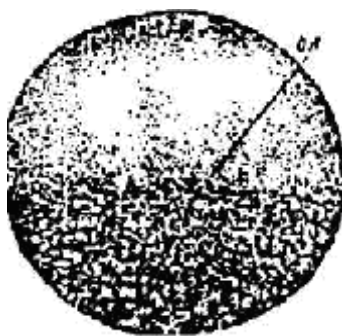


Рисунок 46 - Ранняя гастрულიя.

Стадия 15 – средней гастролы (рисунок 47). На этой стадии светлый анимальный материал покрывает  $\frac{2}{3}$  поверхности зародыша. Бластопор замыкается в кольцо.

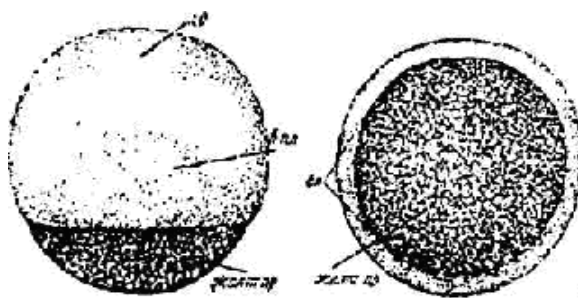


Рисунок 47 - Средняя гастрюляция.

Стадия 16 –большой желточной пробки (рисунок 48). Щель бластопора замыкается в кольцо, окружая темные клетки нижней части зародыша, эта область приобретает вид темной пробки, воткнутой в светлый круглый пузырек, от чего она и получила название желточной пробки.

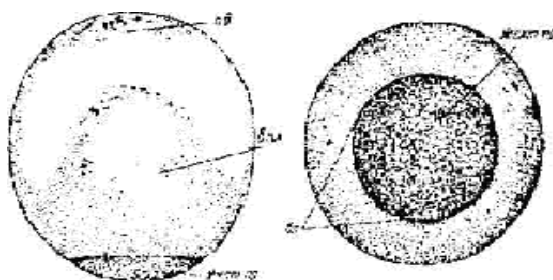


Рисунок 48 - Большая желточная пробка.

Стадия 17 – малой желточной пробки (рисунок 49). Вся поверхность зародыша, за исключением желточной пробки, небольшого размера, покрыта светлым анимальным материалом

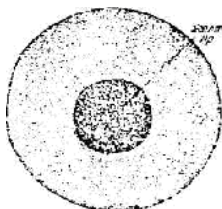


Рисунок 49 - Малая желточная пробка.

Стадия 18 – щелевидного бластопора (рисунок 50). Темный вегетативный материал полностью покрыт светлым анимальным (процесс

гастроуляции закончен). Края бластопора сомкнулись, между ними образовалась узкая щель.

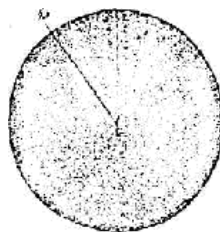


Рисунок 50 - Щелевидная бластопора.

4 этап (19–28 стадий).

Дифференциация зародышевых пластов на зачатки основных органов.

По окончании гастроуляции у зародыша постепенно формируются зачатки основных систем органов: нервной, пищеварительной, выделительной, кровеносной, а также мускулатуры и хорды. Зародыш на этом этапе развития по-прежнему неподвижен, питается за счет желтка и дышит всей поверхностью тела. Многие из тех изменений, которые происходят с зародышем, можно проследить, наблюдая за развитием при помощи простой лупы. Покровы зародыша очень тонки и полупрозрачны, поэтому внутренние органы просвечивают через них. Обладая острым зрением, можно многое увидеть, рассматривая зародыша даже простым глазом.

Стадия 19 – ранней нейрулы (рисунок 51). На спинной стороне зародыша образуется нервная пластинка. Начинают обозначаться нервные валики вокруг головного отдела нервной пластинки, они еще мало приподняты.

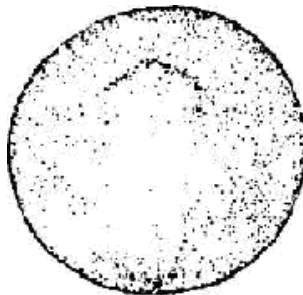


Рисунок 51 - Ранняя нейрула.

Стадия 20 – широкой нервной пластинки (рисунок 52) Нервные валики вокруг головного отдела нервной пластики четко обозначены.

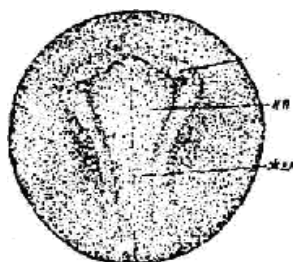


Рисунок 52 - Широкая нервная пластинка.

Стадия 21 – начало сближения нервных валиков. Впервые обозначаются зачатки выделительной системы в виде коротких светлых тяжей, просвечивающих через покровы. Они располагаются по бокам от туловищного отдела нервной пластинки.

Стадия 22 - поздней нейрулы (рисунок 53). Нервные валики в туловищном отделе сближаются. Зачатки выделительной системы удлинились и видны более четко.

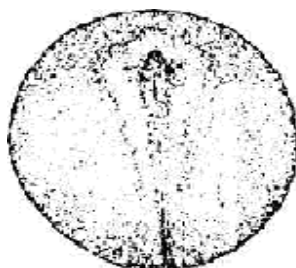


Рисунок 53 - Поздняя нейрула.

Стадия 23 - замкнувшейся нервной трубки (рисунок 54). Нервная пластинка свернулась в трубку, нервные валики сомкнулись. Шов в области их слияния имеет вид неглубокой бороздки.

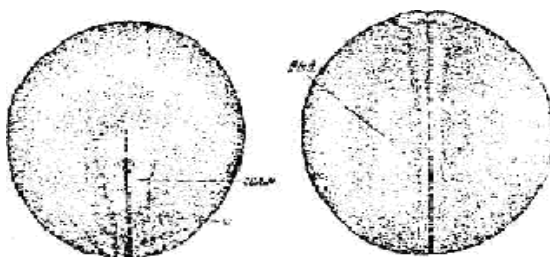


Рисунок 54 - Замкнувшаяся нервная трубка



Стадия 24 - появление глазных выростов и утолщения переднего конца зачатков выделительной системы (рисунок 55). Шов в области слияния нервных валиков менее заметен. В задней части переднего мозгового пузыря образовались глазные выросты. По бокам от заднего мозгового пузыря возникли зачатки внутреннего уха. Впереди головного мозга, примыкая к нему, обозначается светлая пластинка — зачаток железы вылупления. В передней части закладок выделительной системы образуются утолщения.

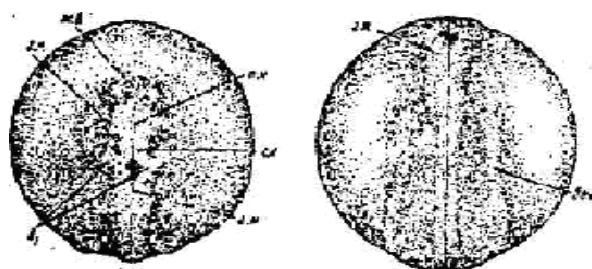


Рисунок 55 - Появление глазных выростов и утолщение переднего конца зачатков выделительной системы.

Стадия 25 - сближения боковых пластинок и образования утолщения в области зачатка хвоста (рисунок 56) По бокам от переднего конца головного мозга образовались зачатки обонятельных мешков. Впереди мозга менее виден зачаток железы вылупления. Боковые пластинки (из которых позднее образуется сердце, а также выстилка околосердечной полости и полости тела) достигли переднего конца головы; передние суженные выросты их сближаются. В зачатке почки дифференцируются почечные каналы. В заднем конке зародыша возникло возвышение - еще необособленный зачаток хвоста.

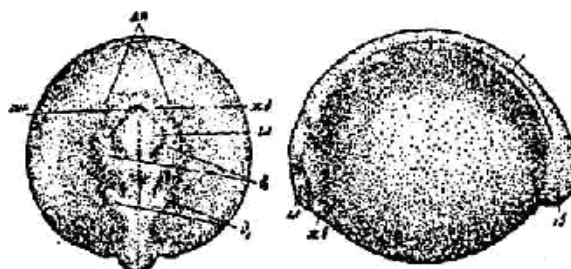


Рисунок 56 - Сближение боковых пластинок и образование утолщения в области зачатков хвоста.

Стадия 26 — слияния боковых пластинок и начала обособления хвостового отдела зародыша (рисунок 57). Сблизившиеся ранее передние выросты боковых пластинок сливаются, и в месте их соединения начинается образование зачатка сердца. Петля, образуемая выводным почечным каналом, значительно удлинилась. Начинается обособление зачатка хвоста, имеющего в это время форму короткой и широкой лопасти

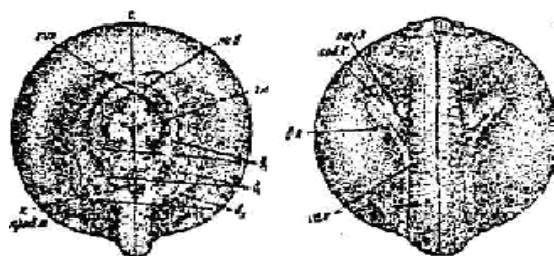


Рисунок 57 - Слияние боковых пластинок и начала обособления хвостового отдела зародыша.

Стадия 27 - короткой сердечной трубки (рисунок 58). Начинается процесс обособления головы - распластанные на брюшном отделе тела зачатки головных органов начинают стягиваться к средне - спинной линии. Образовался зачаток сердца, имеющий вид короткой трубочки. Зачаток хвоста удлинился и слился.

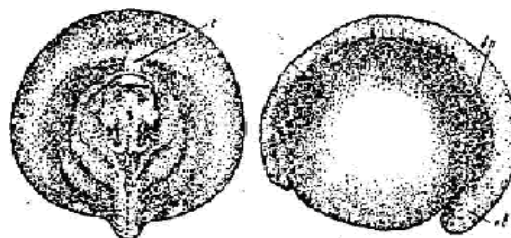


Рисунок 58 - Короткая сердечная трубка.

Стадия 28 - прямой удлиненной сердечной трубки (рисунок 59). Зародыш не подвижен, туловищные мышцы еще не реагируют на раздражение сокращением. Голова уже заметно приподнята. В связи с этим зачаток железы вылупления приобрел палочковидную форму.



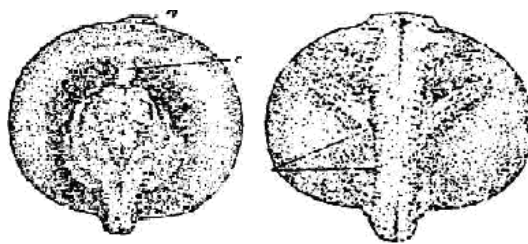


Рисунок 59 - Прямая удлиненная сердечная трубка.

5 этап (29–36 стадии).

Развитие зародышей от начала пульсации сердца до вылупления. Уловить первые сокращения сердца нелегко, так как они очень слабы и от одного сокращения до другого проходит много времени.

Но довольно скоро сокращения становятся сильнее, и сердце начинает пульсировать с определенным ритмом. Чтобы наблюдать сердцебиения, нужно положить зародыша на часовое стекло или в чашечку и в течение нескольких минут под лупой внимательно следить за сердцем.

После того как сердце начнет пульсировать, мышцы туловища тоже приобретают способность сокращаться; если зародыша уколеть в спину иглой, замечаются слабые мышечные подергивания.

В период от начала кровообращения и до вылупления значительно изменяется внешняя форма зародыша. Голова обособляется и немного увеличивается, хвост сильно вырастает в длину, распрямляется и превращается в мощный орган движения личинки. Только брюшной отдел (желточный мешок) изменяется мало; благодаря большому количеству желтка в клетках стенки кишки он сохраняет крупные размеры.

Когда голова, раньше распластанная на желточном мешке, приподнимается, зачаток железы вылупления смещается на ее нижнюю поверхность, а сердце, на более ранних стадиях расположенное впереди головы, теперь оказывается под нею.

Продолжается развитие головного мозга и органов чувств. В том месте, где глазной пузырек соприкасается с покровным эпителием, образуется зачаток хрусталика. Обонятельные ямки углубляются. Слуховые

пузырьки увеличиваются, стенка их становится тоньше; в это время они слегка просвечивают через эпителий по бокам от продолговатого мозга.

Очень заметны изменения в хвостовом отделе. Он значительно удлиняется, распрямляется и становится плоским, на спинной и брюшной сторонах его образуется широкая плавниковая оторочка. По мере удлинения хвост, будучи прижат оболочками к желточному мешку, загибается на брюшную сторону; при этом конец его постепенно достигает сердца.

Стадия 29 - образования изгиба сердечной трубки (рисунок 60). Зародыш неподвижен, из – за раздражения начинает отвечать слабыми мышечными подергиваниями. Сердечная трубка значительно удлинилась и изгибается. Сердце начинает пульсировать.

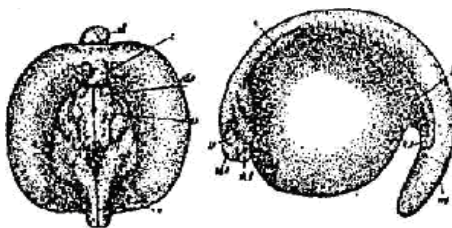


Рисунок 60 - Образование изгиба сердечной трубки.

Стадии 30 - конец хвоста приближается к сердцу (рисунок 61). Хвостовой отдел склонен набок, хвост начал распрямляться, уплетаться, вокруг него появляется узкая, еще плохо различимая плавниковая оторочка.

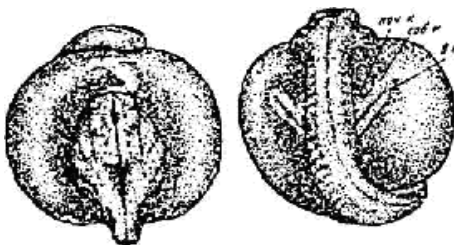


Рисунок 61 - Конец хвоста приближается к сердцу.

Стадия 31 - конец хвоста достигает сердца (рисунок 62). Хвостовой и спинной отделы наклонены набок. Если снять оболочки, зародыш делает маятникообразные плавательные движения - «плавание на месте».

Хвост значительно распрямляется. Плавниковая оторочка хорошо различима. На описываемом этапе развития определять стадию удобнее всего по положению конца хвоста; нужно только иметь в виду, что между разными видами имеются некоторые отличия (так, у стерляди хвост относительно длиннее, чем у белуги, осетра и, в особенности, севрюги); поэтому следует всегда отмечать, о каком виде идет речь.

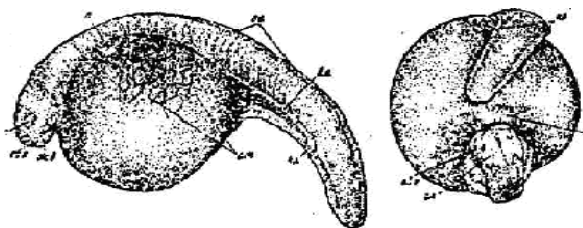


Рисунок 62 - Конец хвоста достигает сердца.

Стадия 32 - конец хвоста касается головы, плавниковая оторочка шире (рисунок 63).

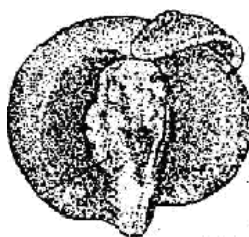


Рисунок 63 - Конце хвоста касается головы.

Стадия 33 - конец хвоста немного заходит за голову, достигая уровня глаз (рисунок 64). Голова наклонена на бок, плавниковая оторочка хвоста расширилась. Если снять оболочки хвост полностью распрямляется.

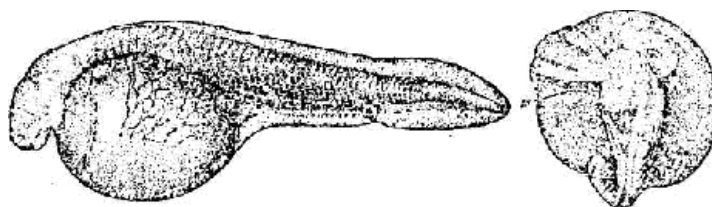


Рисунок 64 - Конец хвоста немного заходит за голову.

Стадия 34 – конец хвоста достигает начала продолговатого мозга (рисунок 65). Зародыш активно двигается в оболочках, если оболочки снять, способен к слабому поступательному движению.

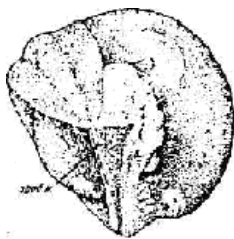


Рисунок 65 - Конец хвоста достигает начала продолговатого мозга.

Стадия 35 – начала выклева конец хвоста достигает почки (рисунок 66). Выклев у белуги начинается, когда конец хвоста достигает петли, образованной собирающим и выносящим почечными каналами. В оболочках зародыш активно двигается; если их снять, плавает.

Желточный мешок имеет яйцевидную форму. В глазу может появиться пигментное пятно. Намечается ротовое углубление. Иногда обозначаются зачатки грудных плавников. Кровь бесцветная или желтовато-розовая.

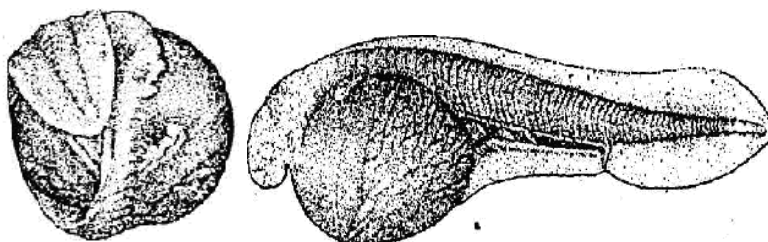


Рисунок 66 - Начало выклева.

### 6.3 Постэмбриональное развитие

Период постэмбрионального развития осетровых рыб (36 – 45 стадии).

Стадия 36 - массовое вылупление (рисунок 67). Форма желточного мешка яйцевидная. В глазу четкое пигментное пятно. В жаберной области обозначились складочки 2 первых жаберных карманов. На нижней поверхности головы заметно ротовое углубление. Жаберных щелей и ротового отверстия еще нет. Позади почек едва заметны зачатки грудных плавников. Кровь желтовато-розовая.

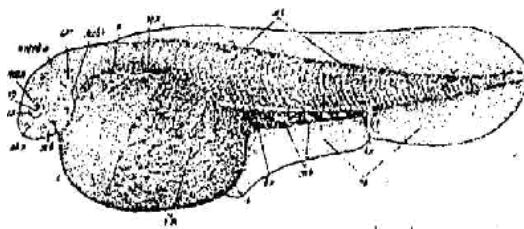


Рисунок 67 - Массовое вылупление

Стадия 37 - появляются зачатки усиков (рисунок 68), прорывается ротовое отверстие. Начинается разделение желточного мешка на желудочный и кишечный отделы. Четко выражены зачатки грудных плавников в виде небольших складочек кожи. Зачатки жаберных лепестков отсутствуют. Появляется зачаток боковой линии сейсмосенсорной системы.

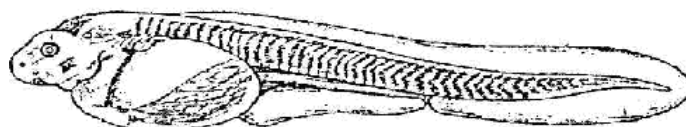


Рисунок 68 - Зачатки усиков.

Стадия 38 - различимы первые меланоциты (рисунок 69). Энтодермальная складка, отделяющая желудок от кишечника, неполная. Формируются первые мускульные почки в области спинного и анального плавников. Появляются зачатки жаберных лепестков на жаберной крышке и первой жаберной дуге. Боковая линия сейсмосенсорной системы достигает уровня кювьерова протока.

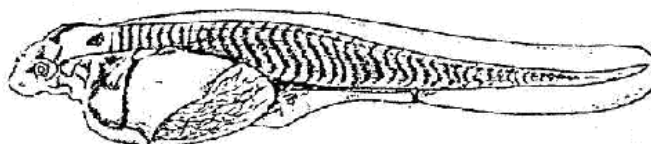


Рисунок 69 - Первые меланоциты.

Стадия 39 - желудок отделен от кишечника; обособились спинной и анальные плавники (рисунок 70). Боковая линия сейсмосенсорной системы достигает уровня заднего грудного плавника; появляется дополнительный ряд сейсмосенсорной системы.



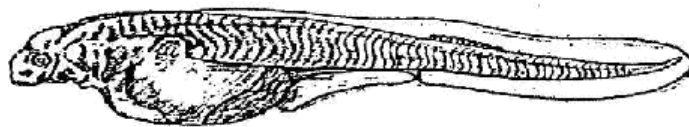


Рисунок 70 - Отделение желудка от кишечника.

Стадия 40 - различим зачаток брюшного плавника в виде узенькой складочки кожи (рисунок 71). Брюшные отростки мышечных сегментов в области грудного плавника спускаются ниже его основания. Можно наблюдать первые не регулярные движения нижней челюсти. Боковая линия сейсмодативной системы не достигает уровня конца желудка, добавочный ряд заканчивается над грудными плавниками.

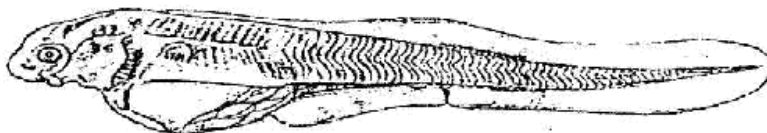


Рисунок 71 - Зачаток брюшного плавника.

Стадия 41 - края обонятельных лопастей смыкаются, но еще не сращены (рисунок 72). Боковая линия сейсмодативной системы заканчивается над спиральной кишкой, ее добавочный ряд заходит за заднюю границу грудного плавника, образуется короткий зачаток спинного ряда.

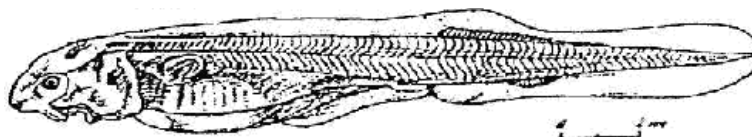


Рисунок 72 - Смыкание краев обонятельных лопатей.

Стадия 42 – появляется зачаток пилорического придатка (рисунок 73).

Лопастии обонятельного органа сращены. Боковая линия сейсмодативной системы достигает уровня переднего края брюшного плавника: спинной ряд начинает изгибаться.

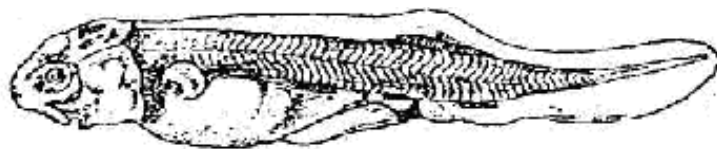


Рисунок 73 - Зачаток пилорического придатка.

Стадия 43 - рострум принимает горизонтальное положение (рисунок 74).

Брюшной плавник достигает края прианальной складки. Появляются зачатки вторичных лепестков в первой жабре. Боковая линия сейсмоденситивной системы достигает уровня заднего края брюшного плавника, добавочный ряд заканчивается над спиральной кишкой, спинной ряд изогнут, и начинает расти параллельно боковой линии.

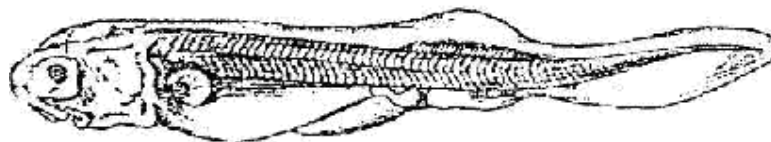


Рисунок 74 - Рострум принимает горизонтальное положение.

Стадия 44 - основания усиков выносятся вперед, и концы их не достигают передней границы рта (рисунок 75). Массовый выброс пигментных пробок. Лопasti брюшных плавников опускаются ниже края прианальной складки. В спинной плавниковой складке появляется мезенхимная полоска (общий зачаток спинных жучек). Передняя поперечная комиссура сейсмоденситивной системы переместилась дорзально и не видна с брюшной стороны; боковая линия заходит за уровень заднего края брюшного плавника, дополнительный ряд не доходит до первой границы брюшного плавника.

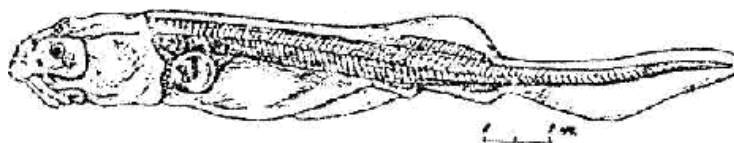


Рисунок 75 - Основания усиков выносятся вперед.

Стадия 45 — перехода на активное питание (рисунок 76). Видны разделительные зачатки жучек в спинной плавниковой складке. Боковая линия сейсмосенсорной системы заходит за уровень средней части спинного плавника, спинной ряд заходит за уровень заднего края грудного плавника.

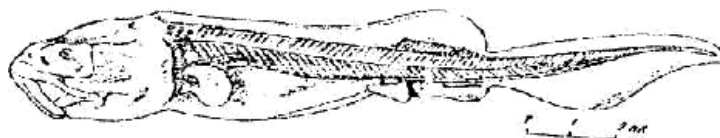


Рисунок 76 - Переход на активное питание.

#### **6.4 Личиночный период развития осетровых рыб**

В личиночном периоде обычно выделяют два этапа:

I личиночный этап - этап смешанного питания.

Дыхание становится наружно-жаберным. Появляются зачатки брюшных плавников. Рот нижний, перед ним четыре усика. Голова большая. Рыло постепенно становится заостренным. Плавниковая кайма на месте непарных плавников обособляется. Хвостовой плавник большой, гетероцеркальный. Вдоль спинного края плавниковой складки начинают появляться бугорки - зачатки жучек. Сначала они еще не выходят за пределы складки. На верхней челюсти закладываются зубы. Питание у зародышей смешанное, этап длится 3 дня, анальное отверстие замкнутое, у личинок сформированное. Меланин, имевшийся в кишечнике зародыша выделен.

II личиночный этап - экзогенного питания.

Желточный мешок полностью резорбировался, питание экзогенное. Рот личинки при открывании выдвигается, но ротовой трубки, типичной для более позднего малькового этапа еще нет.

Увеличивается число и длина жаберных лепестков. Жаберная крышка разрастается, покрывая собой наружные жаберные лепестки по-



чти до трети их длины. Образовался спиральный клапан. Длина личинок 21 мм.

Мальковый период развития осетровых рыб.

Личиночные плавниковые складки резорбируются. Вентральная поверхность туловища малька становится плоской, имеются ряды спинных, боковых и брюшных жучек. На голове развиваются покровные типы. Жучки и костные пластинки образуют на теле малька защитный и колючий панцирь. Жаберные крышки разрастаются полностью прикрывая жаберные лепестки. В отличие от личинок челюсти малька не имеют зубов. Зубы исчезают тогда, когда жаберные крышки начинают функционировать как всасывающий аппарат. При этом утрачивается необходимость удерживать добычу зубами.

## 7 Лабораторная работа № 7. Эпителиальные ткани. Железы

Эпителиальные ткани покрывают поверхность тела, выстилают слизистые и серозные оболочки внутренних органов, а также образуют большинство желез. Их разделяют на две большие группы: покровные и железистые.

Покровный эпителий (*epithelium superficiale*) занимает в организме пограничное положение, отделяя внутреннюю среду от внешней и вместе с тем участвует в обмене веществ между организмом и средой, выполняя функцию всасывания и выделения (экскреции) продуктов обмена.

Железистый эпителий (*epithelium glandulare*) осуществляет секреторную функцию, т. е. образующие его эпителиальные клетки синтезируют и выделяют вещества-секреты, участвующие в различных процессах в организме. Эпителиальные ткани развиваются из всех трех зародышевых листков: эктодермы, энтодермы и мезодермы. Эпителий кожи имеет эктодермальное происхождение, желудка и кишечника — энтодермальное. Существует группа эпителиев мезодермального происхождения, например, эпителий серозных оболочек (мезотелий), половых желез и почек.

Несмотря на разнообразие функций, для всех эпителиальных тканей характерен ряд следующих морфологических признаков:

1. Эпителиальные клетки объединяются в непрерывные пласты, лежащие на базальной мембране.
2. Между клетками практически нет межклеточного вещества, а клетки соединены друг с другом с помощью специальных контактов (десмосом, замыкательных пластинок и т. д.), а с базальной мембраной они связаны с помощью десмосом.

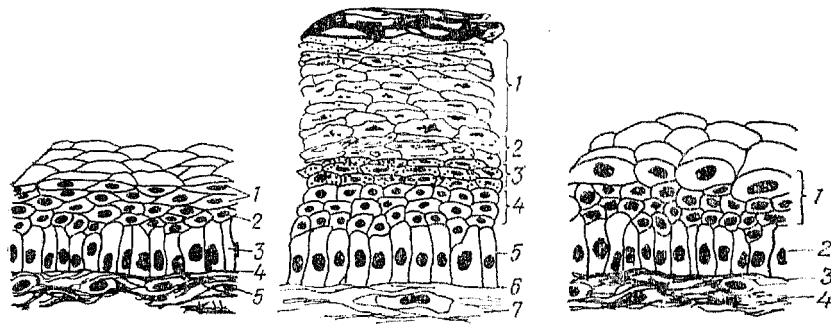
3. В связи с тем что эпителии занимают в организме пограничное положение, их клетки обладают полярностью. Это означает, что в однослойных эпителиях часть клетки, прилежащая к базальной мембране (базальная часть), отличается от апикальной (верхушечной; *apex* — верхушка), а в многослойных глубокие слои клеток отличаются от поверхностных. Полярность однослойных эпителиев может проявляться, например, в том, что на апикальной части клетки присутствуют микроворсинки, которых нет на базальной.

4. Эпителий не содержит кровеносных сосудов, а его питание осуществляется диффузно через базальную мембрану со стороны подлежащей соединительной ткани.

5. Эпителии обладают высокой регенерационной способностью.

Однослойные эпителии от многослойных тем, что все их клетки касаются базальной мембраны, в то время как в многослойном на базальной мембране лежит базальный слой, а остальные клетки наслаиваются друг на друга. Однорядный эпителий называется так потому, что все его ядра лежат, на одном уровне, образуя один ряд. В многорядном эпителии клетки имеют разную морфологию и высоту, поэтому их ядра лежат на разных уровнях, образуя несколько рядов, однако этот эпителий относится к однослойным, так как все клетки лежат на базальной мембране.

Плоским называется эпителий, в котором размер основания клеток больше, чем их высота. Основание и высота клеток кубического эпителия одинаковы. Для призматического эпителия характерно то, что высота клеток превышает их основание (рисунок 77).



а — однослойный однорядный плоский эпителий; б — однослойный однорядный кубический эпителий; в — однослойный однорядный призматический эпителий; г — однослойный многорядный призматический реснитчатый эпителий; 1 — базальная мембрана; 2 — соединительная ткань; 3 — реснитчатые клетки; 4 — бокаловидные клетки; 5 — вставочные клетки.

Рисунок 77 - Схема строения однослойных эпителиев.

### Строение различных типов покровного эпителия.

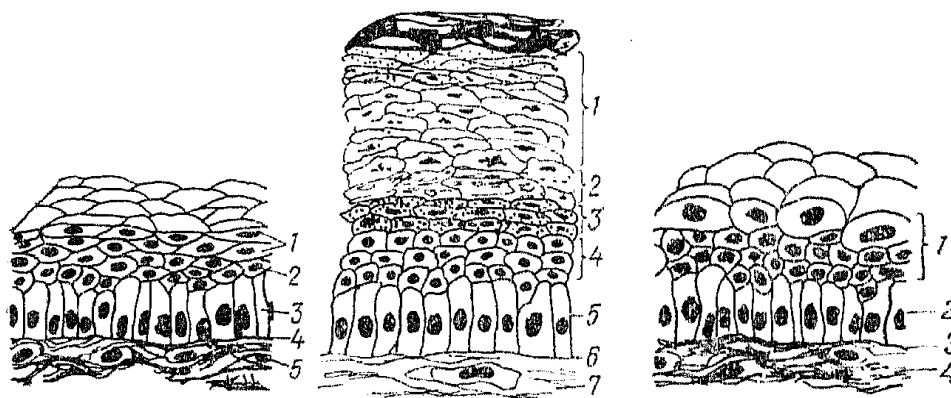
*Однослойный плоский эпителий* — мезотелий (*epithelium simplex squamosum — mesothelium*) состоит из одного ряда плоских клеток, имеющих полигональную форму и неровные края. На свободной поверхности клеток имеются единичные микроворсинки. Мезотелий покрывает листки плевры, брюшины и околосердечной сумки.

*Однослойный кубический эпителий* (*epithelium simplex cuboideum*) — на срезах, перпендикулярных поверхности эпителия, клетки его имеют действительно кубическую форму, но при виде сверху клетки имеют неправильную гексогональную форму. Однослойный кубический эпителий покрывает яичник и выстилает собирательные трубочки мозгового вещества почки.

*Однослойный призматический эпителий* (*epithelium simplex columnare*) делится на несколько типов. Однослойный призматический железистый эпителий (*epithelium simplex columnare secretorium*), клетки которого, специализирующиеся на выработке слизистого секрета, выстилают изнутри стенку желудка и канал шейки матки. Однослойный призматический каемчатый эпителий (*epithelium simplex columnare limbatum*), называется так потому, что эпителиоциты имеют хорошо выраженную

всасывающую каемку, состоящую из микроворсинок. Такой эпителий выполняет в основном функцию всасывания и характерен для тонкой и толстой кишки, а также желчного пузыря, ряда протоков печени и поджелудочной железы.

*Многорядный (псевдомногослойный) призматический реснитчатый эпителий (epithelium pseudostratificatum ciliatum)* выстилает в основном воздухоносные пути, а также маточные трубы и семявыносящие протоки. В многорядном эпителии все клетки лежат на базальной мембране, однако не все клетки достигают поверхности и это создает ложное впечатление многослой. Реснитчатые клетки имеют узкое основание и расширяются к поверхности несущей реснички. У вставочных клеток, наоборот, широкая базальная часть и узкая апикальная, не достигающая поверхности эпителия. Поэтому в реснитчатом эпителии можно выделить три ряда ядер: нижний ряд — ядра базальных эпителиоцитов, средний ряд — ядра вставочных клеток, верхний ряд — ядра реснитчатых клеток.



а — многослойный плоский неороговевающий эпителий: 1 — слой плоских клеток; шиповатый слой; 3 — базальный слой; 4 — базальная мембрана; 5 — соединительная ткань; б — многослойный плоский ороговевающий эпителий: 1 — роговой слой; 2 — блестящий слой; 3 — зернистый слой; 4 — шиповатый слой; 5 — базальный слой; 6 — базальная мембрана; 7 — соединительная ткань; в — переходный эпителий: 1 — покровные клетки; 2 — базальные клетки; 3 — базальная мембрана; 4 — соединительная ткань.

Рисунок 78 - Схема строения многослойных эпителиев

*Многослойный плоский (чешуйчатый) неороговевающий эпителий (epithelium stratificatum squamosum noncornificatum)* — наиболее харак-

терен для слизистых оболочек ротовой полости, пищевода, наружного слоя роговицы, покрывает часть надгортанника, выстилает влагалище.

Многослойный плоский неороговевающий эпителий состоит из трех слоев: базального, шиповатого и слоя плоских клеток (рисунок 78).

*Многослойный плоский (чешуйчатый) ороговевающий эпителий (epithelium stratificatum squamosum cornificatum)* — покрывает поверхность кожи, образуя ее эпидермис. Отличительной особенностью этого эпителия является наличие наружного рогового слоя, образовавшегося в процессе керанизации эпидермоцитов (отложения в цитоплазме клеток рогового вещества — кератина). Эпидермис толстой кожи состоит из 5 слоев:

- 1) базальный слой призматических эпителиоцитов, лежащих на базальной мембране;
- 2) шиповатый слой, состоящий из отростчатых (шиповатых) клеток;
- 3) зернистый слой состоит из уплощенных клеток, содержащих в цитоплазме зерна кератогиалина;
- 4) блестящий слой состоит из плоских клеток, в цитоплазме которых содержится элоидин. Постепенно клетки блестящего слоя утрачивают ядро и органеллы, в них формируются фибриллы кератина;
- 5) роговой слой образован роговыми чешуйками, заполненными пузырьками воздуха и кератиновыми фибриллами.

*Переходный эпителий (epithelium transitionale)* — характерен для мочевыводящих путей (лоханки, почки, мочеточник, мочевого пузырь), т. е. органов, подвергающихся растяжению (при наполнении) и сокращению (при опорожнении). При растяжении и сокращении органа меняется и морфология эпителиального пласта — из многослойного он переходит в двухслойный и наоборот. В эпителии различают базальные и покровные клетки. Ядра темных мелких базальных клеток образуют базальный

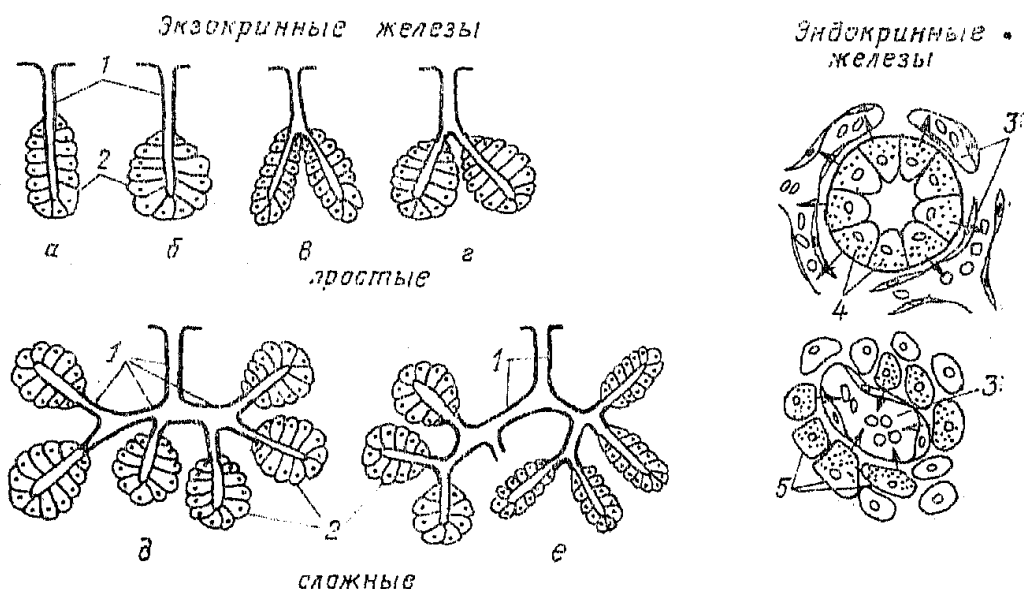
слой, а ядра более крупных светлых базальных клеток — средние ряды эпителия (промежуточный слой). Покровные клетки крупные, нередко двоядерные, образуют поверхностный слой.

Строение железистого эпителия. Железы. Железистый эпителий состоит из железистых клеток — glandulocytov (*glandulocyti*). Это высокоспециализированные клетки, приспособленные к синтезу, накоплению, хранению и выведению секрета. В их цитоплазме имеется развитый синтетический и секреторный аппарат. Для железистых клеток характерно присутствие в их цитоплазме секрета, обычно в виде секреторных гранул, но бывает и диффузное распределение секрета в цитоплазме. Различают несколько фаз секреторного процесса:

- 1) поступление в клетку исходных продуктов,
- 2) синтез секрета, оформление его в виде секреторных гранул,
- 3) выведение секрета из клетки,
- 4) восстановление клетки после секреции. Секреторные клетки могут быть одиночными — одноклеточные железы или образовывать многоклеточные железы.

Экзокринные железы отличаются друг от друга по строению, способам- секреции, составу секрета и т. д. Все эти признаки и легли в основу их классификации. По строению концевых отделов и выводных протоков различают несколько видов экзокринных желез.

Простая железа (*glandula simplex*) имеет неразветвленный выводной проток. Этим она отличается от сложной железы (*glandula composita*), выводной проток которой разветвлен. Для того чтобы различить, разветвленную и неразветвленную железы, необходимо обратить внимание на их секреторный отдел.

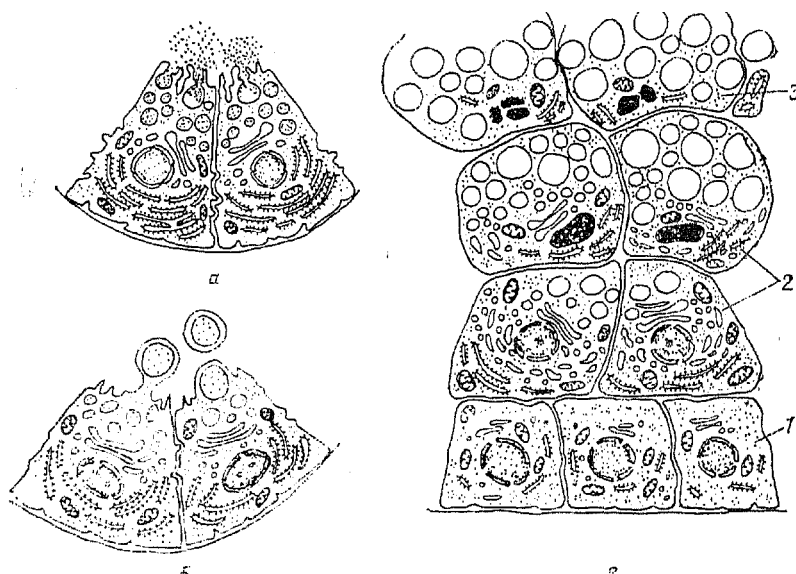


а — простая трубчатая неразветвленная железа; б — простая альвеолярная неразветвленная железа; в — простая трубчатая разветвленная железа; г — простая альвеолярная разветвленная железа; е — сложная, трубчато-альвеолярная железа; 1 — выводные протоки; 2 — концевые отделы; 3 — кровеносные капилляры; 4 — эндокринные клетки фолликула; 5 — одиночные эндокринные клетки, стрелками показан выход секрета в кровеносный капилляр (рис. Н. А. Юриной, Л. С. Румянцевой).

Рисунок 79 - Схема строения экзокринных и эндокринных желез

В разветвленной железе (*glandula xamosa*) он ветвится. Кроме того, по форме секреторных отделов различают трубчатые железы (*glandula tubulosa*), альвеолярные железы (*glandula alveolari's*), трубчато-альвеолярные железы (*glandula tubuloalveolaris*). По способу выделения секрета из клетки железы подразделяют на три типа: мерокринные, апокринные и голокринные (рисунок 80). При мерокринной секреции железистые клетки не разрушаются. К мерокринным железам (*glandulae merocrinae*) относятся: слюнные железы, поджелудочная железа, большая часть потовых желез и др.





а — мерокринная; б — апокринная; в — голокринная; 1 — базальные клетки; 2 — клетки, накапливающие жир; 3 — разрушающиеся клетки (рис. Н. А. Юриной, Л. С. Румянцевой).

Рисунок 80 - Различные типы секреции.

Апокринная секреция подразделяется на макроапокринную, когда отделяется и превращается в секрет апикальная часть железистой клетки, и микроапокринную, когда отделяются апикальные части микроворсинок. Примером апокринных желез (*glandulae apocrinae*) являются молочные и потовые железы подмышечных областей. При голокринной секреции разрушается вся клетка. В этом случае в железе постоянно присутствует слой малодифференцированных железистых клеток, которые постоянно размножаются, клетки, накапливающие секрет, и разрушающиеся клетки. Примером голокринной железы (*glandula holocrina*) служит сальная железа кожи.

По химическому составу секрета различают железы слизистые, белковые, потовые, сальные и др.

**Цель занятия** — изучение классификации, источников развития и строения различных видов эпителия и желез.

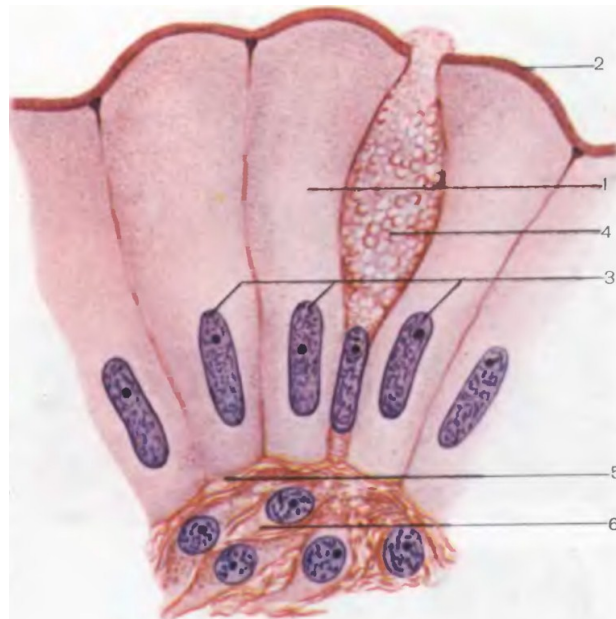
### **Задачи:**

1. Получить понятие об особенностях строения эпителиальной ткани, уметь идентифицировать однослойные и многослойные эпителии.
2. Научиться отличать многорядный эпителий от многослойных эпителиев.
3. Получить представление об органной специфичности эпителиальной ткани. Уметь связать особенности строения эпителиев с выполняемыми органом функциями.

**Объекты изучения:** Микропрепараты для изучения и зарисовки

### **Препарат 1 Однослойный призматический каемчатый эпителий**

Виден сплошной пласт микроворсинчатых эпителиоцитов призматической формы, расположенных на базальной мембране. Ядра клеток лежат в один ряд. На поверхности эпителиоцитов видна тонкая темнорозовая полоска — исчерченная каемка, образованная микроворсинками. Ее функция заключается в увеличении поверхности всасывания клетки. Среди каемчатых эпителиоцитов выделяются бокаловидные клетки (бокаловидные экзокриноциты), имеющие светлую прозрачную цитоплазму. Это одноклеточные эндоэпителиальные железы, вырабатывающие слизистый секрет (рисунок 81).



1 - эпителиальные клетки цилиндрической формы; 2 - всасывающая каемка; 3 — ядра эпителиальных клеток; 4 - бокаловидная железистая клетка; 5— базальная мембрана; 6 — соединительная ткань.

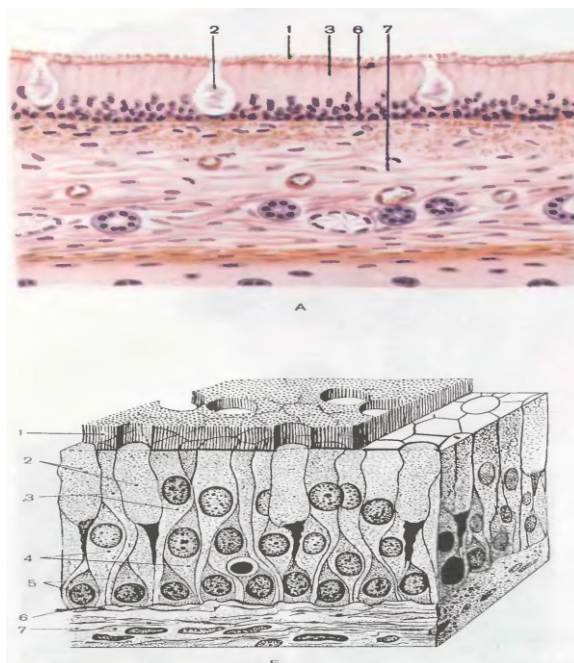
Рисунок 81 - Однослойный цилиндрический каемчатый эпителий ворсинки тонкой кишки. Окраска гематоксилин-эозином. X600.

Зарисовать и обозначить: базальную мембрану (*membrana basalis*), микроворсинчатые эпителиоциты (*epitheliocyti microvillosi*), исчерченную каемку (*limbus striatus*), бокаловидную клетку (*exocrinocytus caliciformis*).

## **Препарат 2 Однослойный многорядный реснитчатый эпителий**

Выделяется несколько рядов ядер: нижний ряд ядер, прилежащий к базальной мембране, принадлежит базальным клеткам; ядра, лежащие на более высоком уровне, — это ядра вставочных клеток; самый верхний ряд ядер принадлежит реснитчатым клеткам. На апикальной поверхности реснитчатых клеток при слегка опущенном конденсоре хорошо видны реснички. Между реснитчатыми клетками расположены бокаловидные экзокриноциты. Они отличаются более светлой цитоплазмой.

Их ядра лежат в «ножке бокала» вблизи базальной мембраны (рисунок 82).



А окраска гематоксилин-эозином. х 400; Б-схематическое изображение. 1- клеточные реснички, 2- бокаловидные железистые клетки, 3-реснитчатые (мерцательные) клетки, 4 - длинные вставочные клетки, 5 - короткие вставочные клетки, 6 - базальная мембрана, 7 соединительная ткань.

Рисунок 82 - Многорядный реснитчатый (мерцательный) эпителий.

**Зарисовать и обозначить:** базальную мембрану (*membrana basalis*), базальный эпителиоцит (*epitheliocytus basalis*), вставочный эпителиоцит (*epitheliocytus intercalatus*), реснитчатый эпителиоцит (*epitheliocytus ciliatus*), бокаловидный экзокриноцит (*exocrinocytus caliciformis*), реснички (*ciliae*).

### **Препарат 3 Многослойный плоский неороговевающий эпителий**

Ядра клеток базального слоя имеют овальную форму, с длинной осью, расположенной вертикально. За базальным слоем следует несколько слоев клеток неправильной формы, имеющих цитоплазматические выросты — слой шиповатых клеток. Ядра шиповатых клеток

округлые. Снаружи располагаются несколько слоев клеток, образующих поверхностный слой плоских клеток. Их ядра уплощены и лежат параллельно поверхности эпителия (рисунок 83).



1 - клетки поверхностного слоя, 2 — клетки среднего слоя, 3 - клетки базального слоя, 4 - базальная мембрана, 5 - собственное вещество роговицы (соединительная ткань).

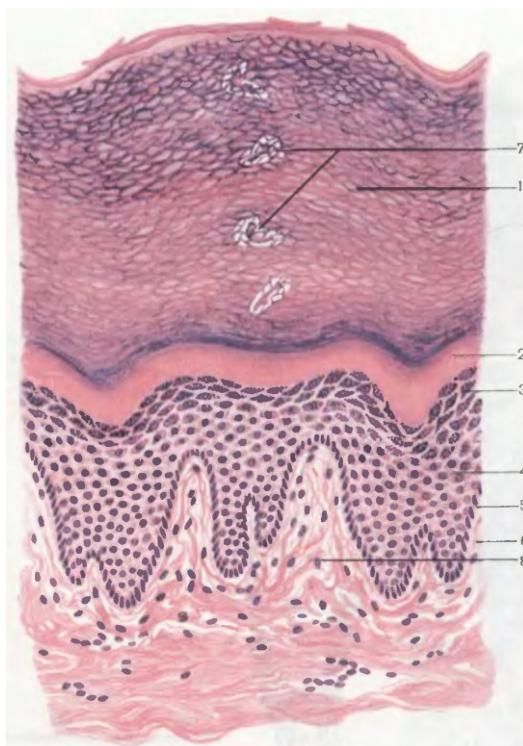
Рисунок 83 - Многослойный плоский (неороговевающий) эпителий роговицы глаза. Окраска гематоксилин- эозином. х 400.

**Зарисовать и обозначить:** базальную мембрану (*membrana basalis*), базальный слой (*stratum basale*), промежуточный шиповатый слой (*stratum intermedium spinosum*), поверхностный слой плоских клеток (*stratum superficiale*).

#### **Препарат 4 Многослойный плоский (чешуйчатый) ороговевающий эпителий**

Срез кожи пальца человека. Окраска гематоксилин- эозином. Шиповатые клетки имеют на поверхности небольшие цитоплазматические выросты и соединяются друг с другом с помощью этих выростов. Следующий слой — зернистый выделяется темной окраской. Клетки этого слоя имеют уплощенную форму и содержат в цитоплазме зерна кератогиалина, окрашивающиеся в темно-фиолетовый цвет. Наружный слой —

роговой — представлен отмирающими клетками — роговыми чешуйками (рисунок 84).



1 - роговой слой; 2 - блестящий слой; 3 — зернистый слой; 4— шиповатый слой; 5 - базальный слой; 6 - базальная мембрана; 7 — выводной проток потовой железы, 8—волокнистая соединительная ткань.

Рисунок 84 - Многослойный плоский ороговевающий эпителий кожи пальца человека. Окраска гематоксилин-эозином. х 280.

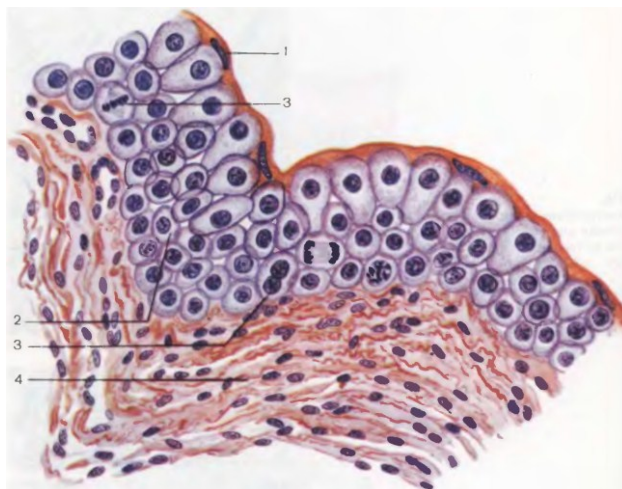
Зарисовать и обозначить: базальную мембрану, базальный слой, шиповатый слой, зернистый слой (*stratum granulosum*), блестящий слой (*stratum lucidum*), роговой слой (*stratum corneum*).

### Препарат 5 Переходный эпителий

Найти переходный эпителий. На большом увеличении видны более мелкие базальные клетки. Часть из них лежит непосредственно на базальной мембране и образует базальный слой, другие оттеснены в вышележащие ряды и образуют промежуточный слой. Поверхностный



слой состоит из крупных клеток грушевидной формы с интенсивно розовой цитоплазмой (рисунок 85).



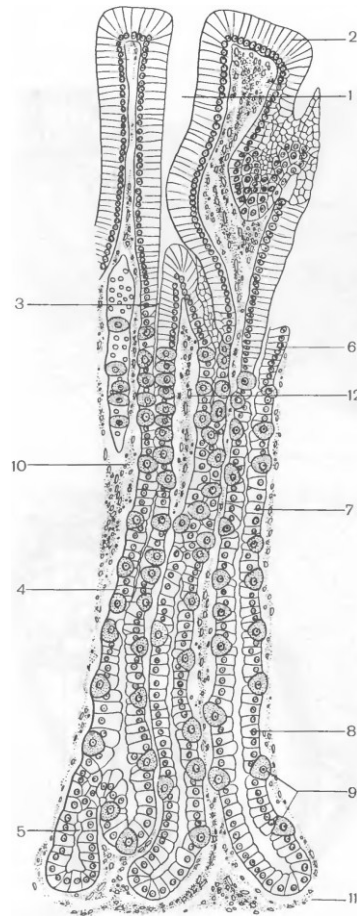
1 - клетки покрывающего слоя эпителия с кутикулой на поверхности; 2 - клетки базального и промежуточного слоев эпителия; 3 - клетки на стадии амитоза и митоза; 4 - волокнистая соединительная ткань.

Рисунок 85 - Переходный эпителий мочевого пузыря (эпителий при нерастянутой стенке органа). Окраска гематоксилин-эозином. х 600.

Зарисовать и обозначить: базальную мембрану, базальный слой, промежуточный слой (*stratum intermedium*), поверхностный слой (*stratum superficiale*).

### Препарат 6. Простая трубчатая разветвленная железа

Пилорическая железа желудка. Срез пилорической части желудка. Окраска гематоксилин-эозином. На малом увеличении под эпителием в собственной пластинке слизистой оболочки желудка видны простые трубчатые разветвленные пилорические железы. Концевые отделы желез имеют на срезе овальную или округлую форму. Клетки, образующие концевой отдел, светлые, ядра их лежат ближе к базальной мембране. Выводные протоки открываются в дно желудочных ямочек. Клетки, образующие выводные протоки, более мелкие и темнокрашенные (рисунок 86).



1 - желудочная ямка; 2 — эпителий слизистой оболочки; 3 — шейка железы; 4 — тело железы; 5 - дно железы; 6-9 - промежуточные, добавочные, главные и обкладочные клетки эпителия железы; 10-12 — соединительная ткань.

Рисунок 86 - Пилорическая железа желудка.

**Найти и обозначить:** концевой отдел (*portio terminalis*) и в нем: секреторную клетку (*exocrinocytus*), базальную мембрану (*membrana basalis*); выводной (секреторный) проток — (*ductus secretorius*).

### Контрольные вопросы:

1. Дайте общую характеристику эпителиальных тканей и расскажите об их классификации.
2. Из каких зародышевых листков образуются в эмбриогенезе различные виды эпителия?



3. С помощью каких структур эпителиоциты связаны между собой?
4. Какие типы клеток образуют многорядный эпителий?
5. Из каких слоев состоят многослойные плоские неороговевающий и ороговевающий эпителии?
6. Назовите основные фазы секреторного процесса.
7. Охарактеризуйте основные типы секреции glanduloцитов.
8. Из каких отделов состоят экзокринные и эндокринные железы?
9. Расскажите о классификации экзокринных желез. На каком принципе она основана?

## **8 Лабораторная работа № 8. Строение кожных покровов у рыб**

### **8.1 Строение и функции кожи рыб**

Кожа рыб выполняет ряд важных функций:

- 1) защита организма от воздействия внешней среды;
- 2) участие в обмене веществ (осморегуляция, кожное дыхание);
- 3) в коже располагаются различные чувствительные клетки.

Кожа рыб состоит из двух слоев:

- 1) верхнего – эпидермиса эктодермального происхождения;
- 2) нижнего – дермы (кутиса, кориума), мезодермального происхождения.

Границей между этими слоями служит базальная мембрана. Кожу подстилает подкожная соединительная ткань с жировыми клетками.

У круглоротых и рыб эпидермис состоит из нескольких рядов эпителиальных клеток, верхние слои клеток ороговевают и постоянно отторгаются. У большинства рыб эпидермис богат различными чувствительными клетками и свободными нервными окончаниями, кровеносных сосудов в нем нет. В дерме имеются и нервы, и кровеносные сосуды.

Кожа круглоротых и рыб различается по своему строению. У круглоротых кожа голая без чешуи, покрыта тонким слоем кутикулы. Эпидермис содержит большое количество слизистых клеток. Миксины (в отличие от миног) имеют многоклеточные слизистые железы, расположенные вдоль боковой линии и выделяют значительно большее количество слизи. Эпидермис подстилается дермой, состоящей из соединительной ткани, волокна которой располагаются в продольном и поперечном направлениях. У круглоротых пигментные клетки расположены на границе между дермой и подкожной соединительной тканью.

Строение кожи рыб зависит от их образа жизни. У рыб (как и у круглоротых) эпидермис включает:

- 1) нижний ростковый слой (один ряд цилиндрических клеток);
- 2) средний слой (несколько рядов клеток, форма которых изменяется от цилиндрической к уплощенной);
- 3) верхний слой (несколько рядов уплощенных клеток).

В среднем слое находятся железистые клетки, вырабатывающие слизь: бокаловидные, округлые (серозные) и колбовидные.

По глубине залегания первыми идут бокаловидные слизистые клетки, несколько глубже – округлые (серозные), а в нижней части, прилегая к базальному слою, находятся колбовидные клетки. Медленноплавающие костистые рыбы, как правило, имеют округлые и колбовидные слизистые клетки; рыбы, плавающие со средней скоростью, – обычно бокаловидные и округлые, а быстроплавающие – только округлые клетки. У медленноплавающих рыб слизистые клетки располагаются равномерно по всей поверхности тела в один ряд.

Функции слизи:

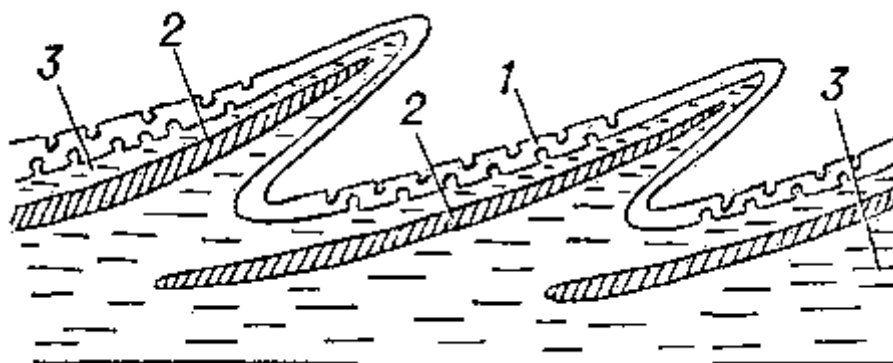
- 1) уменьшает трение рыбы о воду;
- 2) защитная (бактерицидные свойства, коагуляция взвешенных в воде частиц, предохранение жабр от засорения).

Слизь рыб различается по биохимическому составу. В слизи рыб, плавающих с высокими скоростями, белков больше, чем у медленноплавающих.

Дерма рыб состоит из соединительной ткани с большим количеством коллагеновых волокон и выполняет опорную функцию. У большинства рыб дерма включает два слоя:

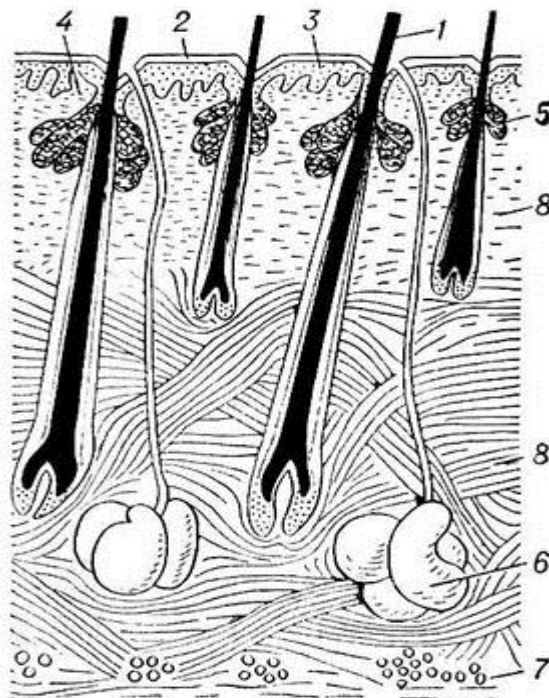
- 1) верхний (тонкая прослойка рыхлой соединительной ткани, окружающей чешую);
- 2) нижний (плотная соединительная ткань). Лопasti этого слоя входят между чешуями, образуя чешуйные карманы.

У медленноплавающих рыб дерма развита слабо, у быстроплавающих рыб толщина дермы увеличивается, особенно в хвостовом отделе. Под дермой находится подкожный слой, состоящий из рыхлой соединительной ткани с жировыми клетками. Подкожный слой хорошо развит у костистых рыб, у акул он на большей части тела отсутствует и туловищная мускулатура непосредственно соприкасается с кожей (рисунок 87, 88, 89).



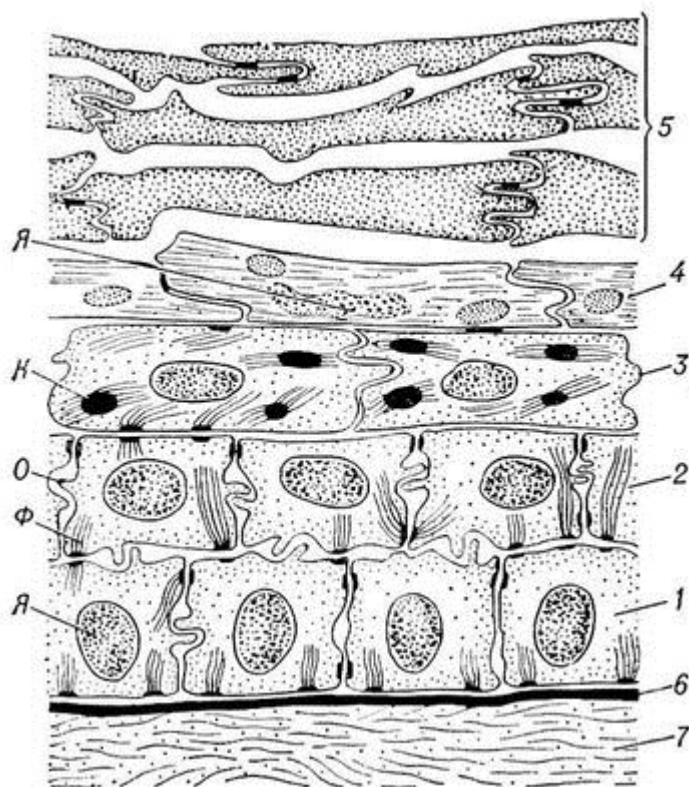
1 — богатый железистыми клетками эпидермис; 2 — костная чешуя; 3 — соединительнотканый слой.

Рисунок 87 - Строение кожи костистой рыбы (схема).



1 — волос; 2 — роговой слой эпидермиса; 3 — прочие слои эпидермиса; 4 — сосочки наружного слоя дермы, вдающиеся в эпидермис; 5 — сальные железы; 6 — потовые железы; 7 — жировая подкожная клетчатка; 8 — сетчатый слой дермы.

Рисунок 88 - Строение кожи млекопитающего (схема).



1 — базальный слой; 2 — шиповатый слой; 3 — зернистый слой; 4 — блестящий слой; 5 — роговой слой; 6 — базальная мембрана; 7 — волокна сосочкового слоя дермы; К — «зёрна» кератогиалина; Ф — фибриллы; Я — ядра клеток; О — отросток клетки шиповатого слоя.

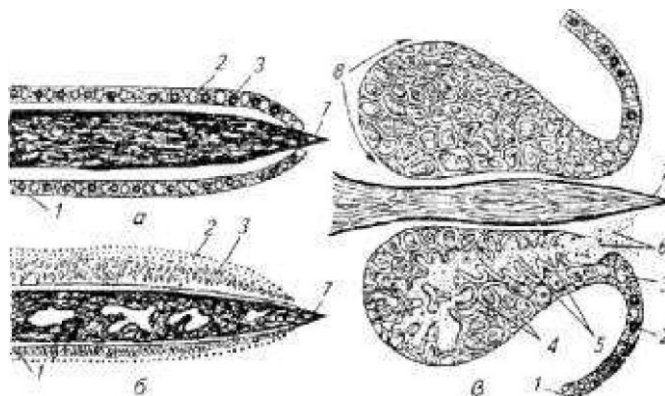
Рисунок 89 - Строение эпидермиса млекопитающего (схема).

Кожа рыб выполняет ряд важных функций. Располагаясь на границе внешней и внутренней среды организма, она выступает фактором неспецифического иммунитета, защищая рыбу от внешних воздействий. Одновременно, отделяя организм рыбы от окружающей ее жидкой среды с растворенными в ней химическими веществами, кожа рыб является эффективным гомеостатирующим механизмом.

Для многих видов рыб кожный покров - основное средство защиты от неблагоприятных факторов. Кожная слизь характеризуется высокой бактерицидной активностью. Благодаря большому содержанию тканевой тромбокиназы и кининов (фактор свертывания крови) в кожной слизи обеспечивается высокая скорость свертывания крови при травмировании рыбы.

В роли средств защиты тела рыбы от механических повреждений выступает жесткая чешуя, покрывающая кожу большинства рыб. Чешуя (плакоидная) акул, скатов, хрящевых рыб по прочности и строению напоминает кости. Поэтому некоторые исследователи называют ее кожными зубами.

Кожа многих морских рыб снабжена железами клетки, вырабатывающими яды (рисунок 90).

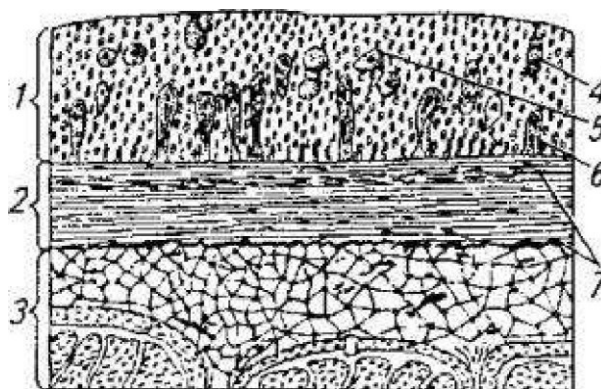


а - ядовитые железы (одноклеточные) плавниковой колючки морского ерша; б - ядовитые железы хвостового шипа ската- хвостокола; в - ядовитые железы жаберной крышки морского дракончика: 1 - эпидермис; 2 - слизистые клетки; 3 - железистые клетки; 4 - опорные клетки; 5 - проток; 6 - ядовитый секрет; 7- шип; 8 - ядовитая железа.

Рисунок 90 - Ядовитые железы рыб.

Пигментные клетки кожи придают рыбе определенную окраску, что важно для ее маскировки. Наиболее распространена серебристая окраска рыб, которую обеспечивает пигмент гуанин. Пигментные клетки с кристаллами гуанина обычны для большинства рыб. Они расположены не только в дерме кожного покрова, но и на чешуе. Поэтому чешуя и имеет серебристый цвет.

В коже рыб находится много нервных окончаний. Поэтому ее можно рассматривать как орган рецепции (механической, термической, химической, электрической) (рисунок 91).



1 - эпидермис; 2 - дерма; 3 - подкожная клетчатка; 4 - бокаловидные клетки; 5 - округлые клетки; 6 - колбовидные клетки; 7 - пигментные клетки.

Рисунок 91 - Строение кожи рыб (обобщение).

Кожа рыб состоит из двух слоев: наружного, или эпидермиса, и нижнего, или соединительнотканного, - дермы. Между ними выделяют базальную мембрану. У большинства высших рыб эпидермальный слой тонкий и мягкий. Он пронизан чувствительными нервными окончаниями, но не содержит кровеносных сосудов. В дерме просматриваются как нервные элементы, так и капиллярная сеть.

### 8.1.1 Эпидермис

Эпидермис кожи рыб представлен многослойным эпителием, состоящим из 2-15 рядов клеток. Клетки верхнего слоя имеют плоскую форму. Часть клеток верхнего ряда ороговевает и отторгается. Нижний (ростковый) слой представлен одним рядом цилиндрических клеток, которые, в свою очередь, происходят от призматических клеток базальной мембраны. Средний слой эпидермиса состоит из нескольких рядов клеток, форма которых изменяется от цилиндрической до плоской.

В эпидермисе могут быть заложены слизистые клетки трех типов. У базальной мембраны располагаются колбовидные клетки, чуть выше, в среднем слое, просматриваются округлые клетки, а у поверхности, в слое плоских клеток, находятся бокаловидные слизистые клетки. Однако

все три типа клеток одновременно присутствуют лишь у некоторых видов рыб, т. е. в виде исключения.

У быстроплавающих рыб (тунцы, мерлин) в эпидермисе представлены только округлые клетки, выделяющие серозный секрет. У пелагических рыб, плавающих со средними скоростями, помимо округлых клеток имеются бокаловидные клетки. У донных и других малоподвижных рыб можно обнаружить все три типа клеток.

Секреты слизистых клеток отличаются по своему химическому составу и имеют различное предназначение. Так, слизь кожи тунца не такая густая, как у сома, но очень богата белком. Секрет колбовидных клеток обычно не содержится в кожной слизи, так как колбовидные клетки лежат в глубине эпидермиса и не имеют протоков. Их секрет попадает на поверхность тела лишь при травмировании кожного покрова. Однако секрет колбовидных клеток обладает сильным биологическим эффектом.

Секрет бокаловидных клеток имеет густую консистенцию и содержит сравнительно большое количество мукополисахаридов, гликопротеидов и производных холестерина.

Слизь как продукт кожного эпидермиса играет важную роль в жизни рыб. Кожа активных пловцов (например, тунцов и скумбрий) вырабатывает меньше слизи, чем кожа менее подвижных рыб (сом, налим, вьюн). Количество слизи положительно коррелирует с уровнем развития кожного дыхания рыб.

Химический состав слизи у рыб разного филогенетического положения и из разных экологических ниш различается незначительно. Плотность составляет 1,01 - 1,03 г/см<sup>3</sup>, рН 5,0-5,4. Значительно большее влияние на состав слизи оказывают факторы среды. Так, в зависимости от степени возбуждения (стрессированности) рыбы ее кожная слизь содержит 0,25-3,0 г/л белка, 2-5 мг/д гемоглобина, 0,1-0,4 ммоль/л кетонов, а также углеводный комплекс сложного состава (гексозы, муко-



полисахариды, сиаловые кислоты) и нуклеиновые кислоты. При стрессах в слизи обнаруживаются эритроциты (до 500 в 1 мм<sup>3</sup>) и лейкоциты.

### 8.1.2 Дерма

Дерма (кутис) состоит из трех слоев: тонкого верхнего (соединительнотканного), толстого среднего сетчатого слоя коллагеновых и эластиновых волокон и тонкого базального из высоких призматических клеток, дающих начало двум верхним слоям. У активных пелагических рыб дерма хорошо развита. Толщина ее в участках тела, обеспечивающих интенсивное движение (например, на хвостовом стебле акулы), сильно увеличена. Средний слой дермы у активных пловцов может быть представлен несколькими рядами прочных коллагеновых волокон, которые между собой связываются еще и поперечными волокнами. У медленноплавающих литоральных и донных рыб дерма рыхлая или вообще слабо развита.

Под дермой находится рыхлый слой соединительной ткани с жировыми включениями (подкожная клетчатка). У быстроплавающих рыб на участках тела, обеспечивающих плавание (например, хвостовом стебле), подкожная клетчатка отсутствует. В этих местах к дерме прикрепляются мышечные волокна. У других рыб (чаще всего медлительных) подкожная клетчатка хорошо развита и включает много жира (например, у зубатки или нототении).

Окраска кожи рыбы формируется как результат сочетания нескольких пигментов. По поверхности тела пигментные клетки рассредоточены неравномерно. В результате на теле образуются узоры различного цвета, яркости и формы (полосы, пятна, кольца и др.).

Меланофоры содержат зерна пигмента черного цвета. Эритрофоры содержат красный пигмент, ксантофоры - желтый, лейкофоры (гуанофоры) - кристаллы гуанина.

Пигментная клетка отличается особым строением. Цитоплазма в ней неоднородна. Верхний слой (эктоплазма) неподвижен, так как пронизан особыми жесткими органеллами - радиальными фибриллами.

Внутренний слой цитоплазмы пигментной клетки (киноплазма) подвижен и содержит зерна пигмента. Киноплазма обладает способностью концентрироваться в центре клетки или растекаться по всей клетке. При этом происходит или концентрация пигмента в единую каплю (клетка светлеет), или распределение пигмента по всей площади клетки (клетка окрашивается).

### **8.1.3 Окраска тела**

Окраска рыбы может иметь различное биологическое значение. Она позволяет рыбе оставаться незамеченной при нападении на жертву (полосы у щуки или окуня скрывают рыбу в зарослях подводной растительности). В ряде случаев стратегия окрашивания прямо противоположна - яркой окраской тела рыба пытается напугать врага или пищевого (полового) конкурента. Брачные наряды имеют другую цель - привлечь внимание полового партнера.

Изменение окраски кожи происходит под влиянием нервной и гуморальной систем. Быстрое "перекрашивание" обеспечивается нервной регуляцией. Центры пигментации тела у рыб лежат спинном мозге, у разных видов в разных сегментах.

Так, пигментно-моторные волокна спинного мозга у карповых переходят в симпатическую цепочку на уровне 12-18-го позвонков, у камбалы - на уровне 5-6-го позвонков. Отсюда они распространяются в краиниальном и каудальном направлениях. У карповых перерезка симпатической цепочки у 12-го позвонка вызывает потемнение передней части тела, а перерезка за 18-м позвонком приводит к потемнению задней части тела.

Гуморальная регуляция пигментации тела обеспечивает более поздние изменения окраски. Парентеральное введение гормонов (адреналин, аденокортикотропный гормон, гистамин) приводит к изменению пигментации через несколько десятков минут. Решающее значение в запуске реакций пигментации у рыб имеет зрительная афферентация. Например, камбала принимает окраску тела в зависимости от того, на грунте какого цвета находится ее голова. При этом на теле воспроизводится не только тон, но и рисунок (полосы, пятна).

Реакция пигментации тела запускается быстро: уже через 5 мин камбала окрашивается в соответствии с тоном и рисунком грунта. Однако завершается пигментация в течение 1-5 ч. Процесс потемнения занимает меньше времени, чем процесс посветления.

Существуют и межвидовые различия в скорости пигментации и депигментации тела. Так, у трески потемнение кожи заканчивается за несколько минут, в то время как у камбалы на это уходит несколько часов. Морской петух, бойцовая рыбка и скорпена при раздражении изменяют свою окраску за несколько секунд. Это свидетельствует о том, что у разных видов рыб соотношение нервного и гуморального звеньев в регуляции пигментации тела различно. У быстро изменяющих окраску своего тела рыб активность хроматофоров в большей мере подконтрольна нервной системе. Ослепленные рыбы утрачивают способность изменять окраску. Очевидно, что брачный наряд рыб (горбуша, бычки, колюшки) возникает вследствие гормональных перестроек.

#### **8.1.4 Чешуя**

Подавляющее большинство пластинчатожаберных и костистых рыб имеют чешую. Однако ее количество на коже и размер отдельных чешуек сильно различаются у разных видов рыб. У скатов, бычков и со-

мов чешуя редуцирована. У угрей чешуя очень мелкая и практически невидима невооруженным глазом.

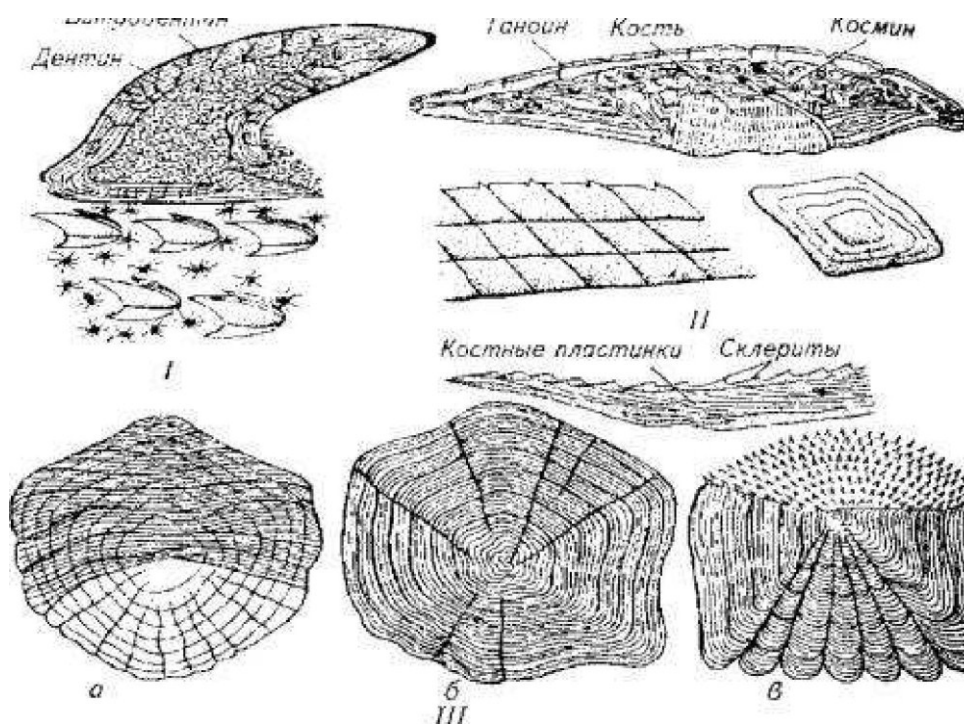
В водоемах разных широт обитают рыбы с очень крупной чешуей. Например, у старых особей зеркального карпа и индийского усача диаметр отдельных чешуек достигает нескольких сантиметров.

Характер чешуйчатого покрова рыб определяется их этолого-экологическим положением. Активные пловцы литоральной зоны любого водоема имеют хорошо развитую крупную чешую, обеспечивающую хорошую обтекаемость тела. Чешуя препятствует образованию складок кожи при движении, особым образом организует обтекающие потоки и защищает мышечные волокна, прикрепленные к дерме, а также внутренние органы от давления воды. В особых случаях чешуя защищает рыбу от зубов хищника.

Химический анализ чешуи рыб показывает, что она на 50 % состоит из органического вещества, представленного в основном соединительной тканью. Минеральную часть образует главным образом фосфат кальция (около 40 %). В меньших количествах в чешуе обнаружен карбонат кальция и натрия, а также фосфат магния. Довольно разнообразен и микроминеральный состав чешуи. Среди рыб распространена чешуя трех типов, различающихся по химическому составу и форме: плакоидная, ганоидная, костная. Плакоидная чешуя является самой древней в филогенетическом плане. Она свойственна ископаемым рыбам, а также современным акулам и скатам. Отдельные чешуйки имеют форму ромбической пластинки с шипом, который выступает из кожи наружу. Минеральная часть представлена дентином, который пропитывает соединительнотканную основу чешуи. Шип плакоидной чешуи отличается очень высокой прочностью, так как снаружи покрыт особой эмалью - витродентином. Плакоидная чешуйка имеет полость, заполненную рыхлой соединительной тканью с кровеносными сосудами и нервными окончаниями. У некоторых видов хрящевых рыб плакоидная чешуя видоизмене-

на. Например, у морской лисицы на поверхности тела имеются крупные бляшки. Колючки скатов также являются преобразованными плакоидными чешуйками.

Ганоидная чешуя появляется на более поздней стадии филогенеза рыб. Ее можно наблюдать у многоперов, осетровых (на хвосте), кистеперых рыб. Ганоидные чешуйки имеют вид ромбических толстых пластин, соединяющихся между собой посредством особых сочленений (рисунок 92). Поэтому ганоидная чешуя, как правило, формирует характерный плотный панцирь, кожные кости или щитки на коже рыб. Прочность ганоидной пластинке придает в верхней части ганоин, а в нижней - костное вещество.



I - плакоидная чешуя; II - ганоидная чешуя; III - костная чешуя; а - сельдь; б - лещ; в - окунь.

Рисунок 92 - Чешуя современных рыб.

Костная чешуя современных рыб отличается тем, что в ней присутствует лишь костное вещество. В зависимости от формы костная чешуя подразделяется на циклоидную и ктеноидную. Циклоидная чешуя

(карповые, сельдевые рыбы) имеет форму округлой и гладкой пластинки. Ктеноидная (окуневые рыбы) отличается от циклоидной чешуи наличием мелких шипиков по заднему краю.

Циклоидная и ктеноидная чешуя очень похожи не только морфологически. Они имеют идентичный химический состав. Один вид рыб может иметь оба типа чешуи. Так, у камбалы самцы имеют ктеноидную, а самки - циклоидную чешую.

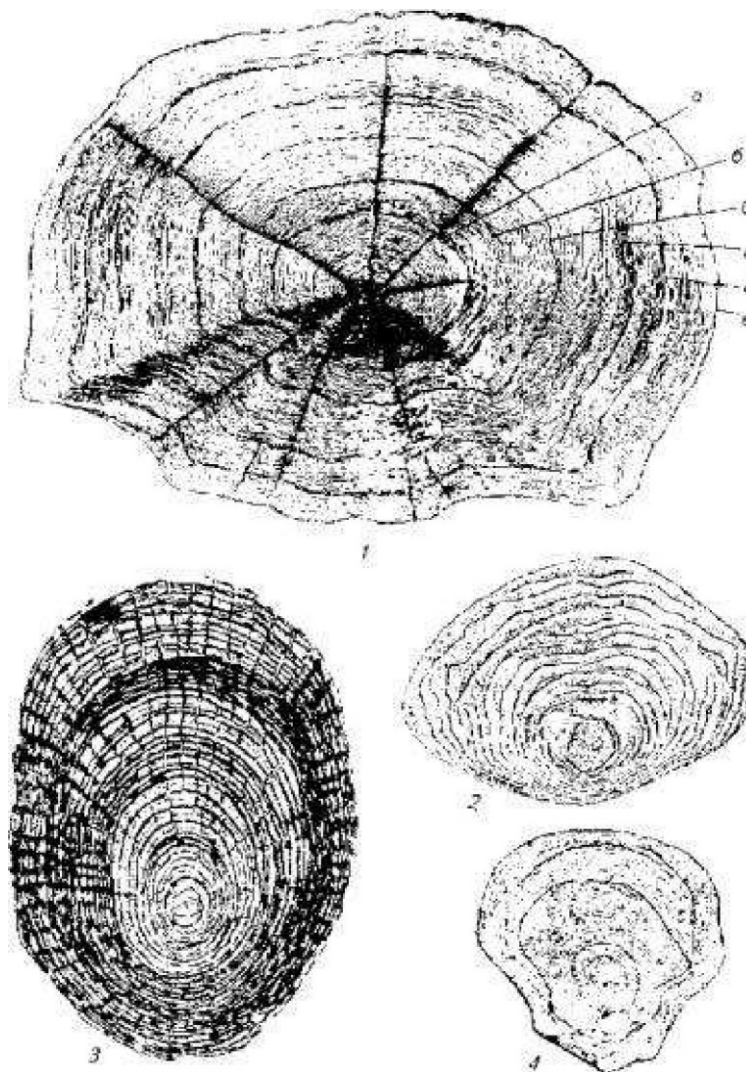
Характерной особенностью костной чешуи является наличие на ней концентрических колец.

Кольца образуются в результате неравномерного роста рыбы в целом и прироста чешуи в частности (рисунок 93).

Рыба растет всю жизнь. Однако рост ее тела и отдельных его частей идет неравномерно на протяжении как всей жизни, так и каждого года ее жизни. В летнее время рыба активно питается и потому растет быстрее. На период зимовки рост рыбы замедляется или вообще прекращается.

При активизации обменных процессов в организме рыбы происходит и ускоренный рост чешуи, что сопровождается образованием широкого темного кольца. Периоды замедленного роста отмечаются на чешуе в виде светлых полос и колец. Закладка годовых колец у разных рыб приходится на разное время года. Известно, например, что у молоди азовского судака закладка годового кольца приходится на весну, у половозрелых особей - на вторую половину лета. У молоди леща годовое кольцо закладывается весной, у рыб старших возрастов - осенью. Следовательно, закладка годового кольца определяется не только температурными колебаниями и интенсивностью питания, но и наследственными факторами. У неполовозрелых и половозрелых рыб линейный рост тела по времени не совпадает. Молодь начинает расти с весны, в то время как половозрелые рыбы первую половину вегетационного периода накапливают питательные вещества. Образование годового кольца есть резуль-

тат взаимодействия факторов внешней среды с обменными процессами организма рыбы посредством нейрогуморальных регулирующих механизмов. Это соображение подтверждает и то, что годовые кольца отмечены у рыб в тропическом поясе, где сезонные колебания температуры воды и колебания доступности пищи отсутствуют. Тем не менее многие жизненные функции тропических рыб цикличны. Для них характерны циркадные, лунные и годовые циклы.



1-вобла; 2 -пресноводная колюшка; 3-треска; 4-лосось; а, б, в - годовые; г, д - добавочные кольца; е - край чешуи.

Рисунок 93 - Годичные кольца на чешуе рыб.

### 8.1.5 Возраст рыб

Возраст рыб можно определить по количеству концентрических колец на чешуе.

А. Левенгук (1684) первым обратил внимание на соответствие числа колец на чешуе количеству прожитых рыбой лет. Методика подсчета колец довольно проста. Для определения возраста обычно используется чешуя с участка у основания первого спинного плавника.

Чешую промывают в растворе нашатыря, протирают, зажимают между двумя предметными стеклами и просматривают под лупой или при малом увеличении микроскопа (мелкую чешую перед просмотром целесообразно смазать глицерином.) Часто между годовыми кольцами просматриваются добавочные кольца, происхождение которых связывают с нерестом (лососи, сельди) или изменением интенсивности питания (карповые рыбы). Добавочные кольца выражены не по всей длине, а лишь с какой-то одной стороны чешуи. Следует признать, что не все виды рыб имеют чешую с ясно различимыми годовыми кольцами. Поэтому для уточнения результата подсчета количества годовых колец используют годовые кольца костей. Для этой цели подходят различные кости: у окуней - жаберная крышка, у осетровых - лучи грудных плавников, у судака и сома - лучи спинного или анального плавника. Возраст многих морских рыб Удобнее определять по годовым кольцам на отолитах (камбала, нототения, треска). В этих случаях производят поперечный распил костей или делают шлифы. Годовые кольца рассматривают под лупой (шлифы лучей - под микроскопом), при необходимости для большей четкости препараты смазывают глицерином или смачивают водой. Трактовка полученных результатов может быть затруднительной или неоднозначной. Поэтому для рыб обитающих в водоемах средних и высоких широт, приняты определенная терминология и специальные обозначения для характеристики возраста рыб по годовым кольцам.



## 9 Лабораторная работа № 9. Кровь и лимфа

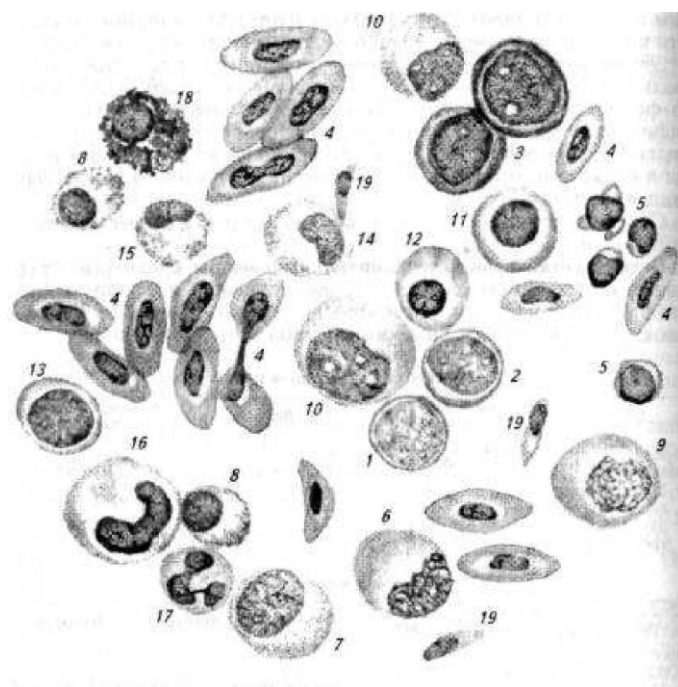
Кровь и лимфа являются особыми разновидностями тканей мезенхимального происхождения, образующими внутреннюю среду организма (вместе с рыхлой неоформленной соединительной тканью). Они имеют жидкую консистенцию и состоят из двух основных компонентов: плазмы (межклеточного вещества) и взвешенных в ней *форменных элементов*. Основными функциями крови являются:

1) транспортная — перенос кислорода от легких к тканям и углекислоты от тканей к легким (дыхательная функция), доставка питательных веществ от места их поступления к месту их усвоения (трофическая) и транспортировка гормонов и ферментов от места их выработки к местам их активного действия;

2) гомеостатическая — кровь участвует в поддержании постоянства внутренней среды организма;

3) защитная - кровь обеспечивает гуморальный и клеточный иммунитет, фагоцитоз.

Морфологическая картина крови рыб имеет яркую классовую и видовую специфичность. Зрелые эритроциты у рыб крупнее, чем у теплокровных животных, имеют овальную форму и содержат ядро (рисунок 94). Наличием ядра специалисты объясняют большую продолжительность жизни красных клеток (до года), поскольку наличие ядра предполагает повышенную способность клеточной мембраны и цитозольных структур к реставрации.



1 - гемоцитобласт; 2- миелобласт; 3 - эритробласт; 4-эритроциты; 5 - лимфоциты; 6 - моноцит; 7- нейтрофильный миелоцит; 8 - псевдоэозинофильный миелоцит; 9 - монобласт; 10 - промиелоцит; 11 - базофильный нормобласт; 12 - полихроматофильный нормобласт; 13 - лимфобласт; 14 - нейтрофильный метамиелоцит; 15 - псевдоэозинофильный метамиелоцит; 16 - палочкоядерный нейтрофил; 17 - сегментоядерный нейтрофил; 18 - псевдобазофил; 19 - тромбоцит.

Рисунок 94 - Клетки крови карася.

Вместе с тем наличие ядра ограничивает способность эритроцита связывать кислород и адсорбировать на своей поверхности различные вещества. Однако отсутствие эритроцитов в крови личинок угря, многих арктических и антарктических рыб свидетельствует о том, что функции эритроцитов у рыб дублируются другими структурами.

Гемоглобин рыб по своим физико-химическим свойствам отличается от гемоглобина других позвоночных. При кристаллизации он дает специфическую картину.

Количество эритроцитов в крови рыб в 5-10 раз меньше, чем в крови млекопитающих. У пресноводных костистых рыб их в 2 раза меньше чем, в крови морских рыб. Однако даже внутри одного вида возможны многократные изменения, которые могут быть вызваны фак-

торами внешней среды и физиологическим состоянием рыбы (таблица 4).

Таблица 4 - Характеристики красной крови сеголетков и годовиков карпа

| НЬ, % | Гематокрит, % | Количество эритроцитов, млн | НЬ в одном эритроците, пг% | Объем эритроцита, мкм <sup>3</sup> |
|-------|---------------|-----------------------------|----------------------------|------------------------------------|
| 10,8  | 35,8          | 1,24                        | 86/32                      | 292                                |
| 9 7   | 32,8          | 1,20                        | 86/32                      | 274                                |

Характеристика красной крови зависит от факторов внешней среды. Обеспеченность рыбы гемоглобином определяется температурой воды. Выращивание рыбы в условиях пониженного содержания кислорода сопровождается увеличением общего объема крови, плазмы, что повышает эффективность газообмена. Характерной особенностью рыб является полиморфизм красных - одновременное присутствие в кровяном русле эритроцитных клеток различной степени зрелости (таблица 5).

Таблица 5 - Эритроцитарный ряд форели (%)

| Длина рыбы, см | Незрелые формы эритроцитов |            |             |                    | Зрелые эритроциты |
|----------------|----------------------------|------------|-------------|--------------------|-------------------|
|                | эритробласт                | нормобласт | базофильный | полихроматофильный |                   |
| 4,2            | 1,5                        | 4,1        | 11,8        | 19,5               | 63,1              |
| 7,6            | 0                          | 4,4        | 5,7         | 15,3               | 74,6              |
| 18,2           | 0                          | 2,2        | 7,7         | 12,3               | 77,8              |

В эволюции красных клеток крови рыб выделяют три этапа, каждый из которых характеризуется образованием морфологически доволь-

но самостоятельных клеток - эритроблеста, нормобластов и собственно эритроцита.

*Эритробласт* является самой незрелой клеткой эритроидного ряда. Эритробласты рыб можно отнести к средним и крупным клеткам крови, так как их размеры составляют от 9 до 14 мкм. Ядро этих клеток имеет красно-фиолетовый цвет (в мазке). Хроматин равномерно распределяется по ядру, образуя сетчатую структуру. При большом увеличении в ядре можно обнаружить от 2 до 4 ядрышек. Цитоплазма этих клеток резко базофильна. Она образует сравнительно правильное кольцо вокруг ядра. Базофильный нормобласт образуется из эритроблеста. Эта клетка имеет более плотное ядро меньшего размера, которое занимает Центральную часть клетки. Цитоплазма характеризуется слабовыраженными базофильными свойствами.

*Полихроматофильный нормобласт* отличается еще меньшим, с резко очерченными краями ядром, которое несколько смещается от центра клетки. Другой его особенностью является то, что ядерный хроматин располагается радиально, образуя довольно правильные сектора в пределах ядра. Цитоплазма клеток в мазке имеет не базофильное, а грязно-розовое (светло-сиреневое) окрашивание.

*Оксифильный нормобласт* имеет округлую форму с центрально расположенным округлым и плотным ядром. Цитоплазма располагается широким кольцом вокруг ядра и имеет хорошо различимую розовую окраску.

*Эритроциты* рыб завершают эритроидный ряд. Они имеют овальную форму с повторяющим их форму плотным ядром красно-фиолетового цвета. Хроматин образует скопления в виде специфических глыбок. В целом зрелый эритроцит похож на оксифильный нормобласт как по характеру окраски ядра - и цитоплазмы в мазке, так и по микроструктуре протоплазмы. Его отличает лишь вытянутая форма.

Скорость оседания эритроцитов (СОЭ) у рыб в норме составляет 2-10 мм/ч.

*Белые клетки крови (лейкоциты).* Лейкоциты крови рыб представлены в большем количестве, чем таковые у млекопитающих. Для рыб характерен лимфоцитарный профиль, т. е. более 90 % белых клеток составляют лимфоциты (табл. 6,7).

Таблица 6 - Количество лейкоцитов в 1 мм<sup>3</sup>

| Вид рыб   | Количество клеток, тыс/мм <sup>2</sup> | Вид рыб     | Количество клеток, тыс/мм <sup>2</sup> |
|-----------|----------------------------------------|-------------|----------------------------------------|
| Форель    | 25                                     | Щука        | 30-110                                 |
| Карп:     |                                        | Толстолобик | 60-100                                 |
| сеголетки | 50-80                                  | Осетр       | 15-30                                  |
| годовики  | 80-160                                 |             |                                        |
| двухлетки | 30-120                                 |             |                                        |
| трехлетки | 60-90                                  |             |                                        |

Таблица 7 - Лейкоцитарная формула, %

| Вид рыб, г  | Лимфоциты | Моноциты | ПМЯ клетки | Эозинофилы | Нейтрофилы |
|-------------|-----------|----------|------------|------------|------------|
| Карп        | 96        | 4        | 0,1        | 0,1        | 0,1        |
| Форель      | 91        | 5        | 3          | 1          | 1          |
| Толстолобик | 90        | 4        | 1          | 5          | 4,5        |

Белые кровяные клетки крови состоят из нескольких форм, отличающихся по своему виду и отношению к окраске. В крови человека таких форм пять. Две из них относятся к незернистым и три — к зернистым. Незернистыми формами лейкоцитов крови человека являются лимфоциты и моноциты. Лимфоциты представляют собой маленькие клетки, протоплазма которых видна лишь в виде узкого ободка, расположенного по краю клетки; большая часть клетки заполнена массивным ядром. Протоплазма однородна и не содержит зернышек. Размеры мо-

ноцитов различны, но они значительно больше лимфоцитов, и раза в 2—3 превышают размер красного кровяного шарика. Протоплазма их занимает большую часть клетки, при окраске по Романовскому тон протоплазмы голубовато-серый. Ядро большое, круглое или слегка лапчатой формы. В протоплазме иногда имеются слабо выраженные включения.

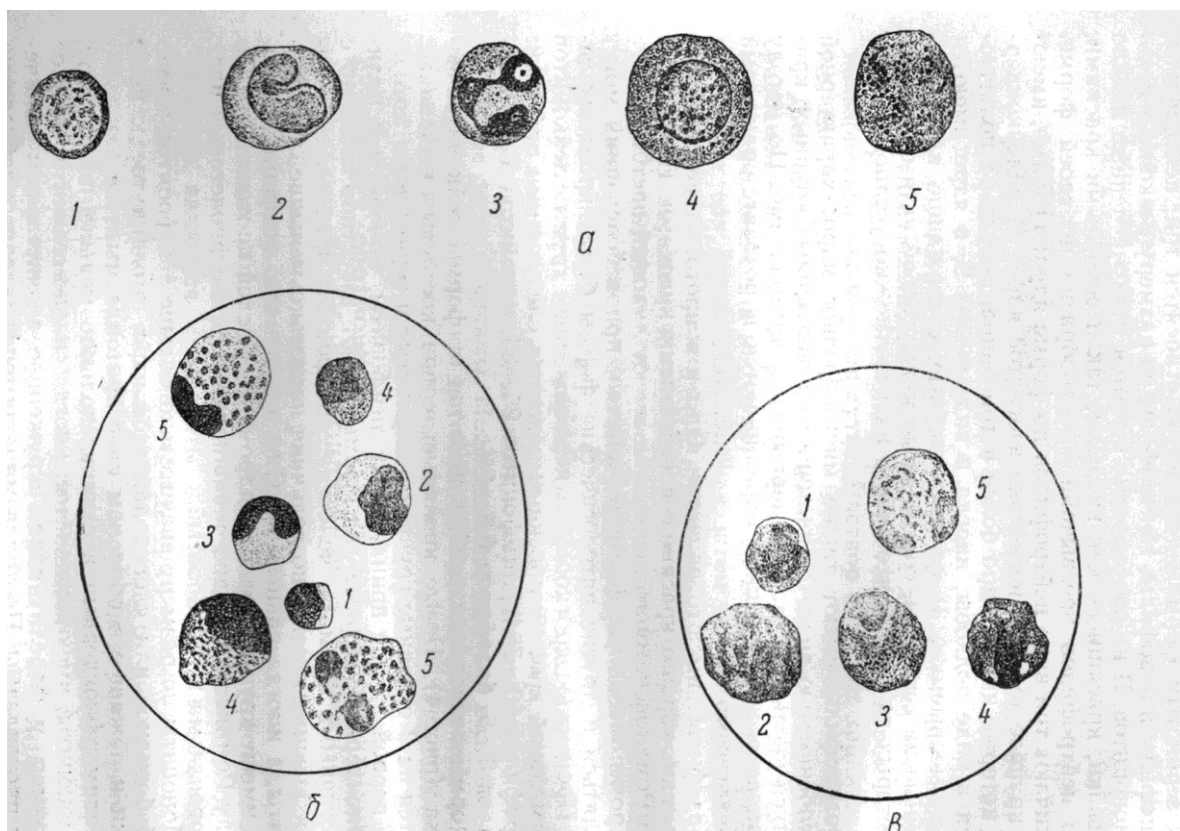
К зернистым формам лейкоцитов относятся три: нейтрофилы, эозинофилы и базофилы. Нейтрофилы по размеру несколько меньше моноцитов. В их протоплазме имеются многочисленные мелкие зернышки, красящиеся как кислыми, так и основными красками. Ядро нейтрофилов чрезвычайно многообразно по своей форме. Различают три вида нейтрофилов по форме ядра:

- 1) юные, имеющие крупное толстое, несколько изогнутое ядро;
- 2) палочкоядерные, которые имеют ядро более истонченное, иногда располагающееся в виде подковы, иногда в виде буквы S, в ядре имеются различные выемки;
- 3) сегментоядерные, содержащие ядра, разделенные на сегменты, соединенные между собой нитями, толщина которых так мала, что часто их невозможно установить глазом.

*Эозинофилы* имеют также многообразное ядро; характерной их особенностью является наличие многочисленных крупных, красящихся кислыми красками зернышек в протоплазме. По методу Романовского зернышки окрашиваются в розовато-оранжевый цвет.

*Базофилы* имеют лапчатое, ядро и в протоплазме содержат зернышки, хорошо красящиеся основными красками. При окраске по Романовскому эти зернышки имеют лиловый цвет.

Формы лейкоцитов рыб отличаются от формы лейкоцитов человека (рисунок 95). Белые кровяные тельца костистых рыб также делятся на 2 основные группы: незернистые и зернистые.



а - кровь человека: 1 - лимфоцит, 2 - моноцит, 3 - нейтрофилы, 4 - эозинофилы, 5 - базофилы; б - кровь севрюги, в - кровь карпа. 1 - лимфоциты, 2 - моноциты, 3 - полиморфоядерные, 4 - нейтрофилы, 5 - эозинофилы.

Рисунок 95 - Различные формы белых кровяных телец человека и рыб.

К первой группе принадлежат лимфоциты, моноциты и полиморфноядерные. Первые две формы имеют известное сходство с аналогичными формами человека. Лимфоциты представляют собой небольшие клетки, по величине несколько меньшие, чем эритроциты, а иногда равные им. Они, так же как лимфоциты человека, имеют круглое большое ядро и узкий слой протоплазмы. По методу Романовского ядро окрашивается в сине-фиолетовый цвет, а протоплазма в голубоватый.

Моноциты по размеру значительно больше эритроцитов и имеют бобовидное или слегка лапчатое ядро, отодвинутое к краю клетки и лежащее в обильном слое протоплазмы.

Полиморфноядерные клетки несколько меньше по размеру, чем моноциты, имеют дольчатое, иногда сильно сегментированное (напри-

мер у форели) ядро, окруженное значительным количеством протоплазмы. Протоплазма полиморфноядерных лейкоцитов рыб не зерниста.

Ко второй группе принадлежат две зернистые формы: нейтрофилы и эозинофилы. Нейтрофилы — клетки среднего размера, ядро их овальной формы, расположено у края клетки. Протоплазма содержит обильные мелкие зернышки, окрашивающиеся по Романовскому в темнофиолетовый цвет. Эозинофилы имеют такой же размер, что и нейтрофилы. Ядро их имеет бобовидную, иногда дольчатую форму. В протоплазме имеются многочисленные, иногда довольно крупные зернышки, окрашивающиеся по Романовскому в розовый цвет.

Преобладающей по количеству формой в крови рыб являются лимфоциты, вне нерестового периода у карповых они составляют (например у леща) 80—90 % всех лейкоцитов. Второй по численности формой являются моноциты (3—7 %) .далее полиморфноядерные (3—4 %), нейтрофилы (2—4 %) и эозинофилы (менее одного процента). В период нереста соотношение лейкоцитарных форм у рыб резко изменяется. Так, например, по наблюдениям Драбкиной, у леща количество лимфоцитов снижается до 24—42 % и возрастает количество моноцитов до 32—55 %, полиморфноядерных до 8—20 %.

Некоторые виды рыб (судак, ерш) имеют только незернистые формы лейкоцитов. С другой стороны осетровые имеют значительно больше эозинофилов, чем карповые.

Таким образом, лейкоцитарная формула крови является весьма чувствительным показателем физиологического состояния организма рыб.

*Тромбоциты крови рыб.* Нет более противоречивой информации о морфологии и происхождении клеток крови, чем сведения о тромбоцитах рыб. Отдельными авторами существование этих клеток вообще отрицается. Однако более убедительной выглядит точка зрения о большом морфологическом разнообразии и высокой изменчивости тромбоцитов в



организме рыб. Не последнее место в этом споре занимают особенности методических приемов при исследовании тромбоцитов.

В мазках крови, сделанных без применения антикоагулянтов, многие исследователи обнаруживают, как минимум, четыре морфологические формы тромбоцитов - шиловидную, веретенообразную, овальную и округлую.

Известна и другая крайность. Некоторые авторы 82-95 % окрашенных по Романовскому клеток причисляют к тромбоцитам. Более совершенные методы, например иммунофлюоресцентный со стабилизацией крови гепарином, позволили определить соотношение лимфоциты: тромбоциты как 1 : 3. Концентрация тромбоцитов в 1 мм<sup>3</sup> при этом составила 360 000 клеток. Остается открытым вопрос о происхождении тромбоцитов у рыб. Распространенная точка зрения о едином с лимфоцитами происхождении из мелких лимфоидных гемобластов в последнее время подвергается сомнению. Ткань, производящая тромбоциты, у рыб не описана. Однако обращает на себя внимание то, что в отпечатках от срезов селезенки практически всегда обнаруживается большое количество овальных клеток, сильно напоминающих овальные формы тромбоцитов. Следовательно, есть основания полагать, что тромбоциты рыб образуются в селезенке.

**Цель занятия** — изучение морфологии и функционального значения форменных элементов крови и лимфы.

### **Задачи:**

1. При микроскопическом анализе мазков крови, окрашенных по Романовскому—Гимза, уметь находить эритроциты, тромбоциты, нейтрофилы, базофилы, эозинофилы, лимфоциты, моноциты, кровяные пластинки.

2. Научиться считать в мазке крови рыб лейкоцитарную формулу.

3. Изучить микроскопическое и ультрамикроскопическое строение эритроцитов и кровяных пластинок.

### **Необходимый исходный уровень знаний:**

1. Знать классификацию форменных элементов крови и их морфофункциональные характеристики.

2. Иметь представление о гемограмме.

3. Иметь представление о лейкоцитарной формуле крови.

### **Порядок проведения:**

#### **1 Подсчет красных и белых кровяных телец в крови рыб**

Для подсчета количества красных и белых кровяных телец у рыб лучше всего брать кровь из хвостовой артерии (рисунок 96). Для этой цели рыбу фиксируют вверх брюшком в специальном станке, состоящем из двух параллельных пластинок, укрепленных на твердом основании, или заворачивают в полотенце.

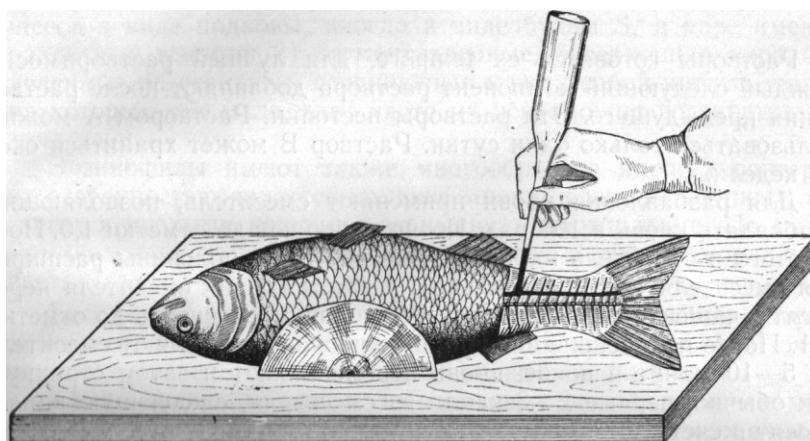


Рисунок 96 - Взятие крови у рыб.

Позади анального плавника вытирают полотенцем слизь и в этом месте делают препаровальной иглой прокол кожи, в который препаровальной иглой прокол кожи, в который вводят пастеровскую пипетку вглубь тканей, по направлению несколько вперед к голове до встречи с позвоночным столбом. Здесь проходит ствол хвостовой артерии. Легким вращением пипетки стенка сосуда прорезается и кровь начинает поступать в пипетку. Из пипетки ее переносят на часовое стекло и набирают, как обычно, в смеситель для разбавления. Раствор уксусной кислоты не применим для определения количества лейкоцитов в крови рыб, так как ядра эритроцитов не растворяются в нем и затрудняют подсчет в камере; поэтому пользуются методом витальной окраски лейкоцитов. При этом отпадает необходимость разбавления эритроцитов и лейкоцитов в различных смесителях, красные и белые кровяные тельца могут быть подсчитаны в одной камере.

Для витальной окраски форменных элементов крови рыб применяют два раствора.

#### **Р а с т в о р   А**

Нейтральрот ..... 25 мг  
Хлористый натрий ..... 0,6 г  
Дистиллированная вода ..... 100 мл

#### **Р а с т в о р   В**

Кристалл-виолет ..... 12 мг  
Лимоннокислый натрий ..... 3,8 г  
Формалин ..... 0,4 мл  
Дистиллированная вода ... .. 100 мл

Растворы готовятся *ex tempore*, для лучшей растворимости каждый следующий компонент раствора добавляют после растворения предыдущего. Эти растворы нестойки. Раствором А можно пользоваться только одни сутки. Раствор В может храниться около недели.

Для разбавления крови применяют смеситель, позволяющий разбавлять кровь в 100 раз. Кровь набирают до отметки 1,0. После этого в смеситель набирают раствор А до половины расширения смесителя (приблизительно), а затем кончик смесителя переносят в чашечку с раствором В и наполняют смеситель до отметки 101. После перемешивания крови с красками оставляют смеситель на 5—10 минут в покое, вновь перемешивают и затем стряхнув, как обычно, первые 2—3 капли из смесителя, следующую каплю вносят в счетную камеру.

В эритроцитах слабо окрашены только ядра. Ядра лейкоцитов окрашиваются в темный фиолетово-красный цвет, а протоплазма их в розоватый цвет. Благодаря этому эритроциты и лейкоциты в камере легко отличимы. Подсчитывают вначале количество эритроцитов в 80 малых квадратах, затем количество лейкоцитов в больших квадратах. Остальные расчеты производятся так же, как и при подсчете кровяных телец млекопитающих.

## **2 Приготовление мазка крови рыб**

Окраска по Романовскому — Гимза. На препарате необходимо найти и зарисовать эритроциты, окрашенные эозином в розовый цвет. Так как эритроциты имеют форму двояковогнутого диска, центральная часть их более тонкая и имеет более светлую окраску. Эритроциты — самые многочисленные клетки крови, и на мазке они составляют большинство. Среди эритроцитов видны лейкоциты (1—5 в поле зрения).

**Зарисовать и обозначить:** гемоцитобласт; миелобласт; эритробласт; эритроциты; лимфоциты; моноцит; нейтрофильный миелоцит; псевдоэозинофильный миелоцит; монобласт; промиелоцит; базофильный нормобласт; полихроматофильный нормобласт; лимфобласт; нейтрофильный метамиелоцит; псевдоэозинофильный метамиелоцит;

палочкоядерный нейтрофил; сегментоядерный нейтрофил; псевдобазофил; тромбоцит.

### **3 Подсчет лейкоцитарной формулы крови**

Мазок делают на тщательно вымытом и обезжиренном (путем погружения в смесь спирта с эфиром) предметном стекле. Чтобы сделать мазок, берут в правую руку чистое покровное стеклышко, касаются одним краем капли крови и, затем, наклонив его на  $45^\circ$ , приводят в соприкосновение с предметным стеклом. Капля крови растекается в силу капиллярности по краю покровного стекла. После этого покровное стекло ведут вдоль предметного. Необходимо, чтобы капля крови тянулась за покровным стеклом, а не находилась впереди его. Мазок не должен быть ни слишком тонок, ни слишком толст. После того как мазок подсохнет, его фиксируют, опуская на 3 минуты в метиловый спирт. Осушив мазок от метилового спирта, его окрашивают (рисунок 97).

Для окраски препаратов краску Романовского разводят дистиллированной водой из расчета 1—2 капли краски на 1 мл воды. Вода должна иметь рН 7. Для этой цели к дистиллированной воде добавляют фосфатный буфер. Краску разводят непосредственно перед окраской. Затем разведенную краску берут пипеткой и покрывают ею зафиксированный мазок. В зависимости от температуры воздуха и от качества краски мазок окрашивают от 20 до 40 мин. После этого краску сливают, мазок промывают водопроводной водой и высушивают, осторожно промокая фильтровальной бумагой.

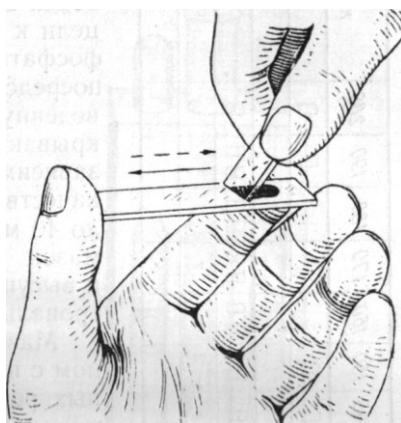


Рисунок 97 - Приготовление мазка крови.

Мазок рассматривают под микроскопом с иммерсией. Для получения правильных результатов подсчет ведут по краю мазка зигзагообразно (от края мазка вглубь на три-четыре поля зрения и обратно) .

Всего подсчитывают 200 лейкоцитов, по 50 шт. на четырех краях мазка.

Все обнаруженные формы лейкоцитов записывают в таблицу, а затем суммируют в отдельности по формам. Для удобства записи и последующего расчета встречающиеся формы лейкоцитов отмечают в специальной таблице, составленной по следующему образцу (таблица 8).

Таблица 8 - Формы лейкоцитов

| Формы лейкоцитов | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
|------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|
| Лимфоциты        |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |
| Моноциты         |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |
| Нейтрофилы       |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |
| Эозинофилы       |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |
| Базофилы         |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |

Каждый раз встречая в мазке какую-нибудь форму лейкоцита, мы отмечаем ее в соответственной строке палочкой, Записав 10 лейкоцитов в вертикальной графе, начинаем запись в следующей вертикальной графе. Верхняя цифра в вертикальной графе показывает сумму подсчитанных лейкоцитов. После того как все двадцать вертикальных граф будут

заполнены, подсчитывают количество отдельных форм лейкоцитов по горизонтальным строкам. Разделив полученное количество лейкоцитов каждой формы на два, получаем их содержание в процентах.

**Контрольные вопросы:**

1. Что такое гемограмма? Напишите гемограмму рыбы.
2. Что такое лейкоцитарная формула? Какова лейкоцитарная формула крови рыбы?
3. Дайте морфофункциональную характеристику эритроцитов и тромбоцитов.
4. Дайте морфофункциональную характеристику лейкоцитов.
5. Дайте морфофункциональную характеристику лимфоцитов.

## **10 Лабораторная работа №10. Соединительные ткани, классификация и строение**

**Цель занятия** — изучение микроскопического и ультрамикроскопического строения, гистофизиологии и взаимодействия структурных компонентов волокнистых соединительных тканей.

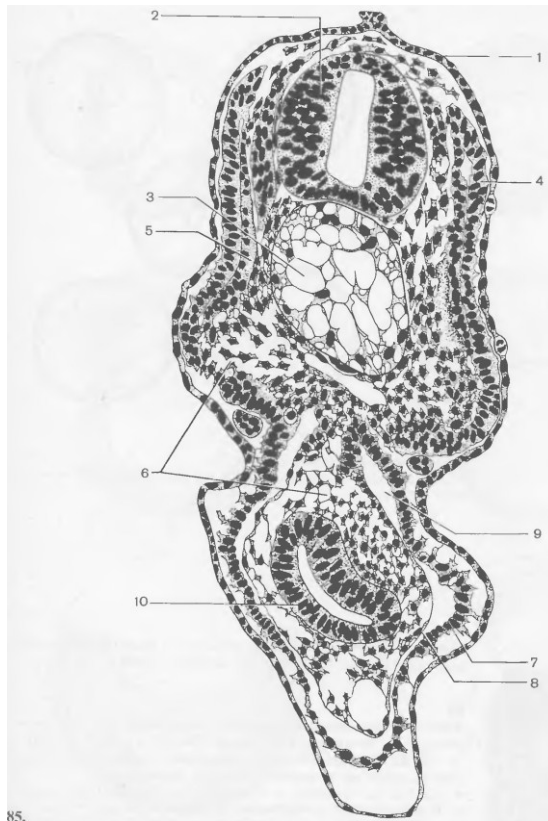
### **Задачи:**

1. Изучить основные морфологические характеристики волокнистых соединительных тканей различных видов.
2. Изучить микроскопическое и ультрамикроскопическое строение коллагеновых, эластических и ретикулярных волокон.
3. Изучить микроскопическое и ультрамикроскопическое строение фибробластов, макрофагов, тучных клеток, плазмочитов и других клеточных элементов собственно соединительной ткани. Ознакомиться с их реакцией на повреждение и внедрение инородного тела, с процессами воспаления и регенерации.

**Объекты изучения:** Микропрепараты для изучения и зарисовки

**Препарат 1** Мезенхима. Поперечный разрез зародыша акулы (рисунк 98).



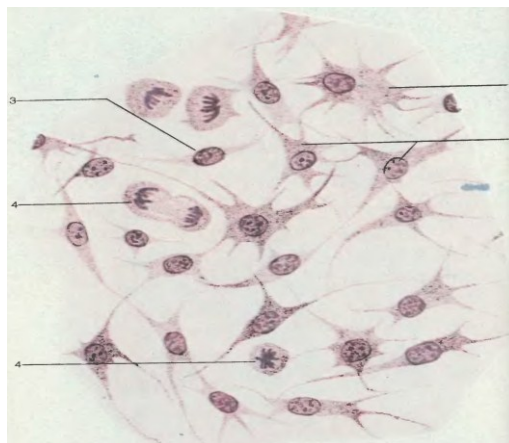


1 - эктодерма; 2 — нервная трубка; 3 — спинная струна (хорда); 4 — кожная пластинка; 5 — мышечная пластинка; 6 — мезенхима; 7, 8 — париентальный и висцеральный листки спланхнотома; 9 —целом; 10 —кишка.

Рисунок 98 - Поперечный разрез зародыша акулы.

**Обозначить:** мезенхимные клетки (*mesenchymocytus*), межклеточное вещество (*substantia intercellularis*).

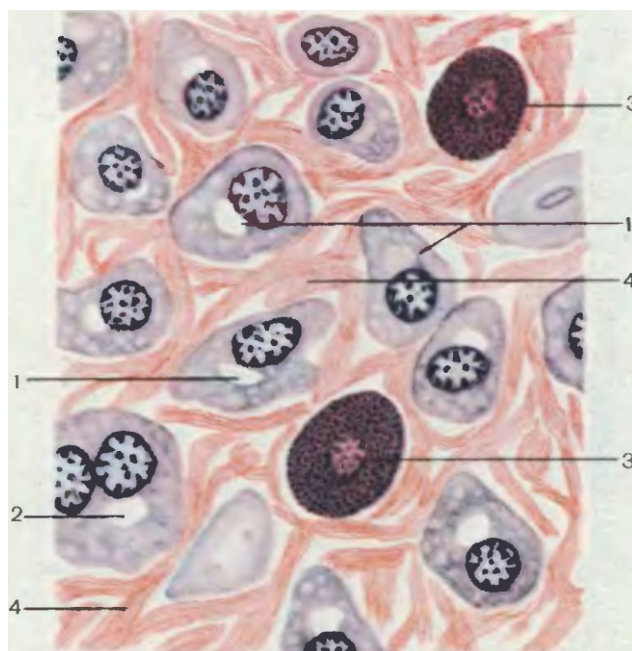
**Препарат 2** Мезенхима зародыша цыпленка. Окраска гематоксилином. x400 (рисунок 99).



1-3 - мезенхимные клетки, 4 — митотическое деление мезенхимных клеток.

Рисунок 99 - Мезенхима зародыша цыпленка.

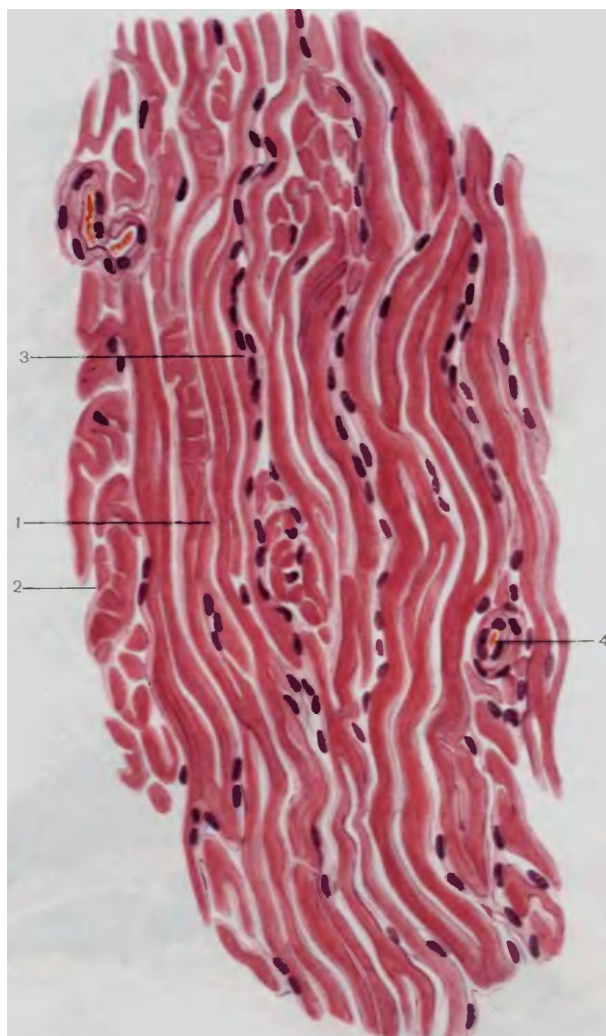
**Препарат 3** Рыхлая волокнистая соединительная ткань из миндалины крысы. Окраска гематоксилин-эозин-азуром. х 600 (рисунок 100).



1 - плазматические клетки; 2 — двухъядерная плазматическая клетка; 3 — тучные клетки (лаброциты); 4 - коллагеновые волокна.

Рисунок 100 - Рыхлая волокнистая соединительная ткань из миндалины крысы.

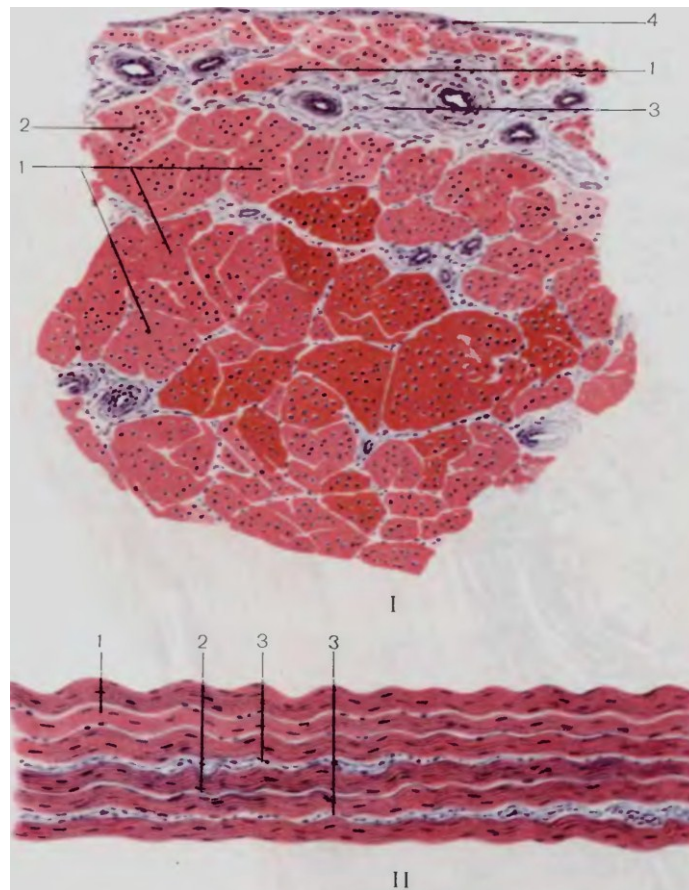
**Препарат 4** Плотная неоформленная соединительная ткань из сетчатого слоя кожи пальца человека. Окраска гематоксилин-эозином, х 280 (рисунок 101).



1 — продольный разрез пучков коллагеновых волокон; 2 — поперечный разрез пучков коллагеновых волокон; 3— ядра фиброцитов; 4 — рыхлая соединительная ткань с кровеносными сосудами.

Рисунок 101 - Плотная неоформленная соединительная ткань из сетчатого слоя кожи пальца человека.

**Препарат 5** Плотная оформленная волокнистая соединительная ткань. Гистологический препарат сухожилия. Окраска гематоксилин-эозином. х 80 (рисунок 102).



I поперечный разрез 1 - пучки коллагеновых волокон; 2 — фиброциты (сухожильные крылатые клетки между пучками первого порядка); 3 — прослойка рыхлой соединительной ткани с кровеносными сосудами (эндотеноний), отделяющие друг от друга пучки второго порядка; 4 — наружная соединительнотканная оболочка (перитеноний) с сосудами, окружающая пучки третьего порядка. II продольный разрез: 1 - пучки коллагеновых волокон.

Рисунок 102 - Гистологический препарат сухожилия.

**Обозначить:** структуры ткани.

**Контрольные вопросы:**

1. Какие признаки микроскопического строения характерны для рыхлой соединительной ткани, для плотной неоформленной и плотной оформленной соединительных тканей?

2. Каковы микроскопическое и ультрамикроскопическое строение и функции фибробласта? Какие типы фибробластов существуют?

3. Каковы особенности микро- и ультраструктуры макрофагов?  
Какие типы макрофагов встречаются в очаге воспаления?

4. Дайте морфофункциональную характеристику тучным: клеткам.  
Каков химический состав их гранул?

4. Какие клетки соединительной ткани располагаются в стенке кровеносного капилляра?

5. Каковы микроскопическое, ультрамикроскопическое строение и химический состав коллагеновых и эластических волокон?

### **10.1 Соединительные ткани со специальными свойствами**

**Цель занятия** — изучение микроскопического и ультрамикроскопического строения соединительных тканей со специальными свойствами и гистофизиологии их компонентов.

#### **Задачи:**

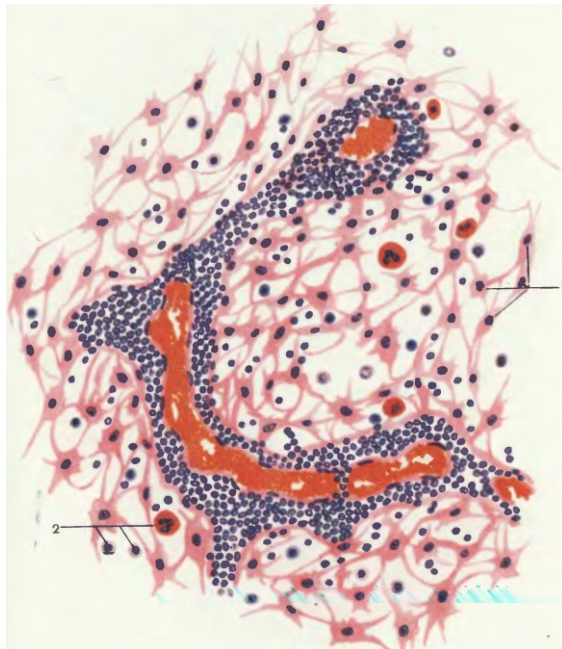
1. Изучить морфологию и функцию ретикулярной ткани.
2. Детально рассмотреть особенности микроскопического и ультрамикроскопического строения и функции жировой ткани.
3. Изучить микроскопическое строение слизистой ткани.
4. На примере радужной оболочки глаза изучить строение пигментной ткани и ультраструктуру пигментной клетки (меланоцита) этой ткани.

**Объекты изучения** : Микропрепараты для изучения и зарисовки

**Препарат 1.** Ретикулярная ткань лимфатического узла. Окраска гематоксилин-эозином. На малом увеличении микроскопа в центре препарата найти наиболее прозрачный участок. На большом увели-



чении видны клетки отростчатой формы с большим, бледно окрашивающимся ядром и розовой цитоплазмой (ретикулярные клетки) и среди них клетки с маленьким плотным ядром и узким ободком базофильной цитоплазмы (лимфоциты) (рисунок 103).



1 — клетки ретикулярной ткани; 2 — клетки крови в петлях ретикулярной ткани.

Рисунок 103 - Ретикулярная ткань (лимфатический узел). Окраска гематоксилин-эозином. x400.

**Зарисовать и обозначить:** ретикулярные клетки (ретикулоциты) (reticulocytus), лимфоциты (lymphocytic).

**Препарат 2.** Белая жировая ткань сальника. Окраска судан гематоксилином.

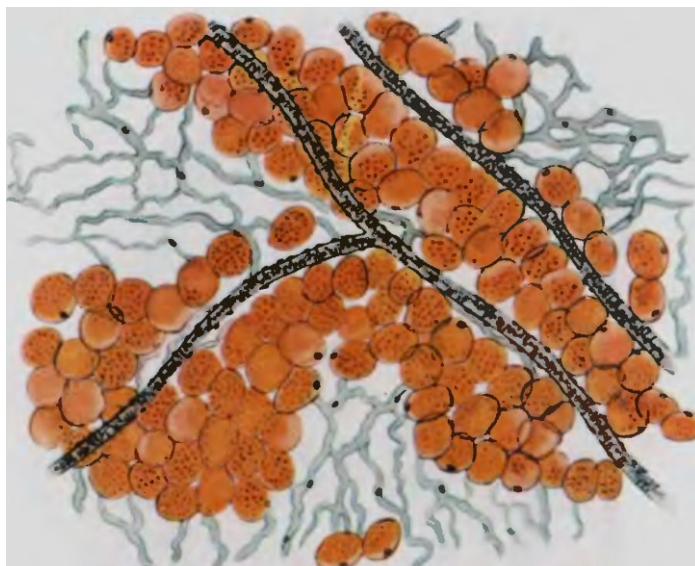


Рисунок 104 - Жировая ткань сальника (тотальный препарат), х 200. Жировые клетки, расположенные вдоль кровеносного сосуда; капли жира окрашены суданом в оранжевый цвет.

**Зарисовать и обозначить:** кровеносный сосуд (*vas sanguineus*), однокапельную жировую клетку (*adipocytus uniguttularis*) и в ней: каплю жира (*gutta adipis*), ядро (*nucleus*), в) цитоплазму (*cytoplasma*).

### Контрольные вопросы:

1. Опишите морфологию и функцию ретикулярной ткани. В каких органах она встречается?
2. Расскажите о микро- и ультраструктуре белой жировой ткани. Каковы ее функции и локализация?
3. Каковы особенности микроскопического бурой жировой ткани? Какую функцию она выполняет?
4. Каково строение слизистой ткани? Чем она отличается от волокнистой соединительной ткани взрослых?
5. Какой признак отличает пигментную ткань? Приведите примеры пигментной ткани.

## 10.2 Хрящевые и костные ткани (скелетные ткани)

**Цель занятия** — изучение классификации, развития, строения и гистофизиологии хрящевых и костных тканей.

### **Задачи:**

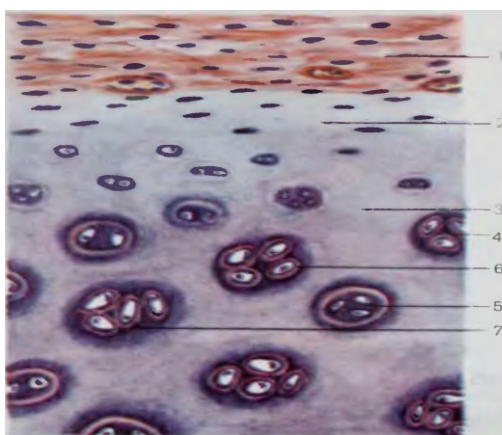
1. Научиться определять разновидности хрящевых тканей по структуре межклеточного вещества и знать их гисто-функциональные особенности.

2. Уметь отличать пластинчатую костную ткань от грубоволокнистой, знать ее морфологию и гистофункциональные особенности.

3. Изучить микроскопическое и ультрамикроскопическое строение и функцию клеток хрящевой и костной тканей.

**Объекты изучения:** Микропрепараты для изучения и зарисовки

**Препарат 1 Гиалиновый (стекловидный) хрящ.** Окраска гематоксилин-эозином. х 280 (рисунок 105).



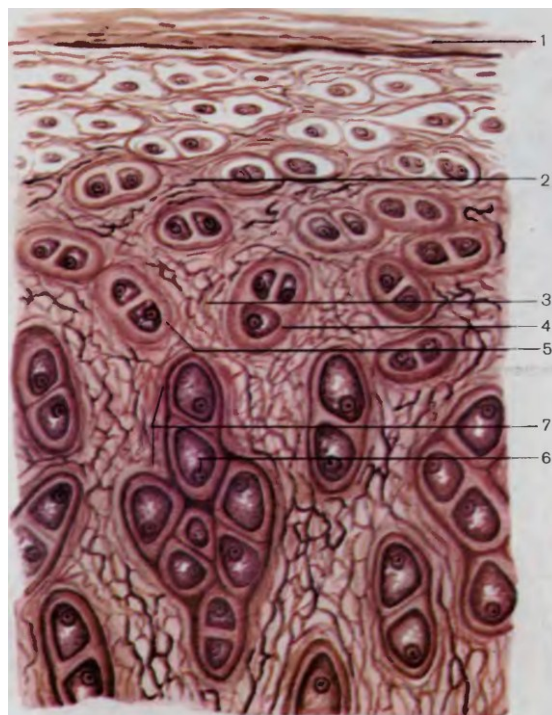
1 - надхрящница; 2 - зона хряща с молодыми хрящевыми клетками; 3 – основное вещество; 4 — высокодифференцированные хрящевые клетки; 5 – капсула хрящевых клеток; 6 – изогенные группы хрящевых клеток; 7 – базофильные слои основного вещества вокруг хрящевых клеток.

Рисунок 105 - Гиалиновый (стекловидный) хрящ.



**Зарисовать и обозначить:** надхрящница; зона хряща с молодыми хрящевыми клетками; основное вещество; высокодифференцированные хрящевые клетки; капсула хрящевых клеток; изогенные группы хрящевых клеток; базофильные слои основного вещества вокруг хрящевых клеток.

**Препарат 2 Эластический хрящ.** Окраска орсеином х 400 (рисунок 106).



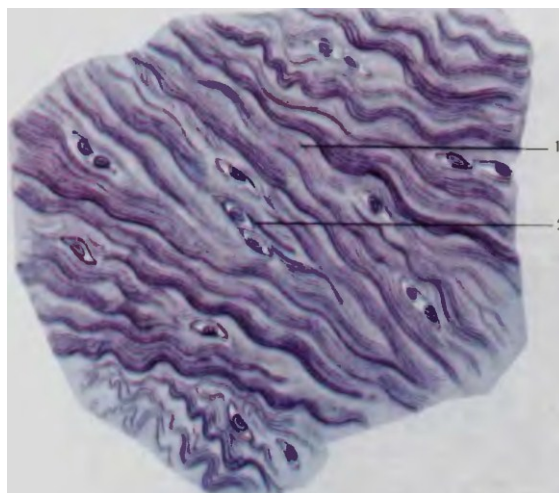
1 — надхрящница; 2 - основное вещество; 3 — сеть эластических волокон; 4 — хрящевые клетки; 5 - капсула хрящевых клеток; 6 - ядра хрящевых клеток; 7 - изогенная группа хрящевых клеток.

Рисунок 106 - Эластический хрящ.

**Зарисовать и обозначить:** надхрящница; основное вещество; сеть эластических волокон; хрящевые клетки; капсула хрящевых клеток; ядра хрящевых клеток; изогенная группа хрящевых клеток.

**Препарат 3 Волокнистый хрящ межпозвоночного диска х 280.** Окраска гематоксилин-эозином. На препарате видно, что име-

ется как участок гиалинового, так и волокнистого хряща. В гиалиновом хряще коллагеновые волокна не видны, хондроциты образуют изогенные группы, окруженные территориальным матриксом. В волокнистом хряще видны пучки коллагеновых волокон и цепочки хондроцитов между ними (рисунок 107).

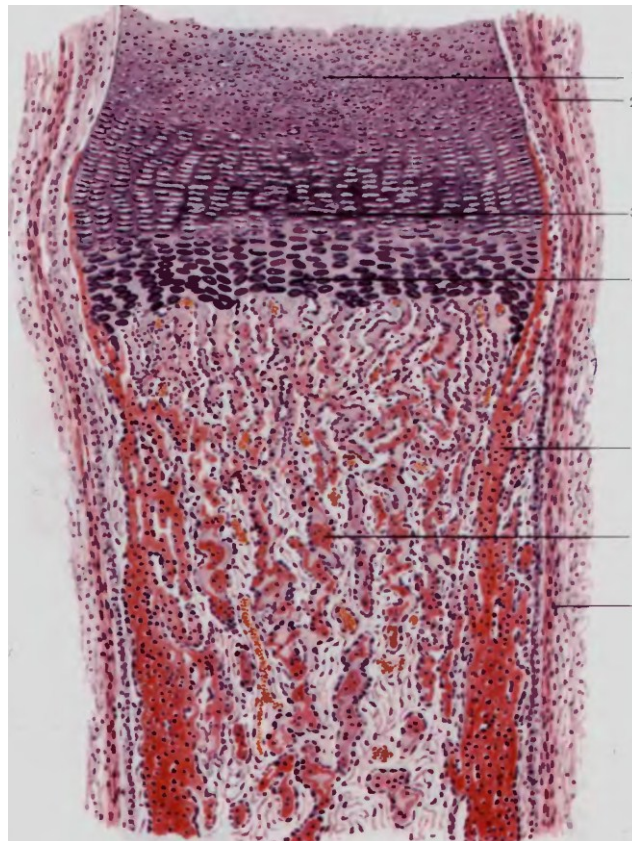


1 – пучки хондриновых (коллагеновых) волокон; 2 – хрящевые клетки между пучками хондриновых волокон.

Рисунок 107 - Волокнистый хрящ межпозвоночного диска.

**Зарисовать и обозначить:** пучки хондриновых (коллагеновых) волокон; хрящевые клетки между пучками хондриновых волокон.

**Препарат 4 Развитие кости на месте хряща — хрящевой остеогенез.** Окраска гематоксилин-эозином (рисунок 108).



1 - эпифизарный гиалиновый хрящ; 2 - надхрящница; 3 – слой столбчатого хряща; 4 – слой пузырчатого хряща; 5 – перихондральная костная манжетка (перихондральная кость); 6 – эндохондральная кость; 7 - надкостница.

Рисунок 108 - Развитие кости на месте гиалинового хряща (продольный разрез фаланги пальца). Окраска гематоксилин-эозином, х 56.

**Зарисовать и обозначить:** эпифизарный гиалиновый хрящ; надхрящница; слой столбчатого хряща; слой пузырчатого хряща; перихондральная костная манжетка (перихондральная кость); эндохондральная кость; надкостница

### **Контрольные вопросы:**

1. Из какого источника развиваются хрящевая и костная ткань?
2. Расскажите о процессах хондрогенеза и остеогенеза.
3. Каковы функции надхрящницы и надкостницы?

4.Расскажите о классификации и дайте общую характеристику костных тканей. Дайте общую характеристику хрящевой ткани. Расскажите о ее развитии, строении, функциональном значении

## **11 Лабораторная работа № 11. Мышечные ткани**

**Цель занятия** — изучение микро- и ультраструктуры и функционального значения мышечной ткани.

**Задачи:** 1. Изучить основные морфологические характеристики гладкой мышечной ткани.

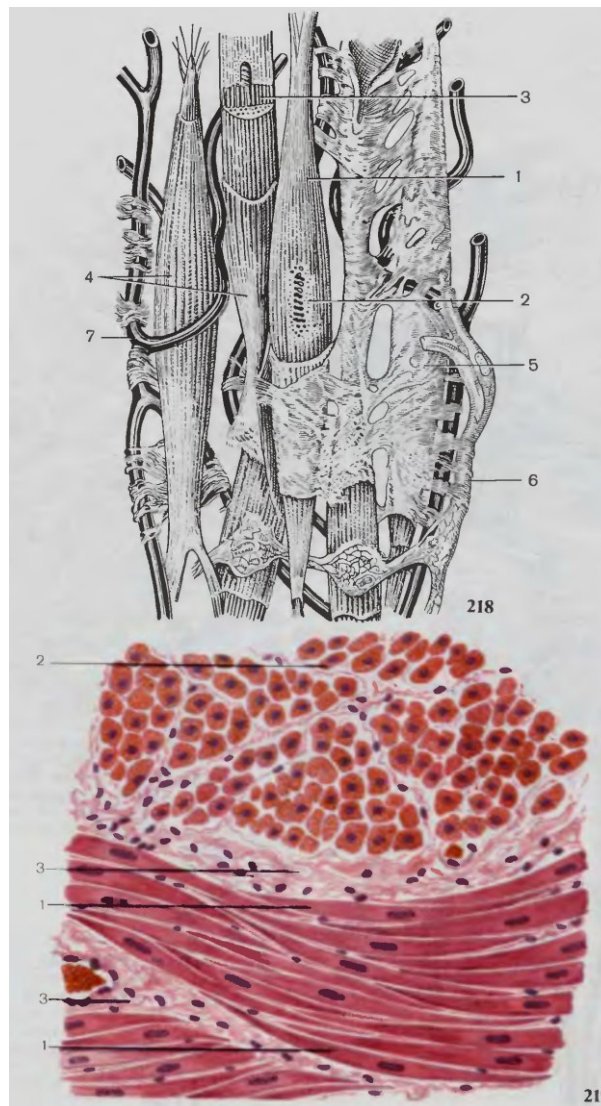
2. Изучить основные морфологические характеристики скелетной мышечной ткани. Понятие о миомере (саркомере).

3. Изучить основные морфологические характеристики сердечной мышечной ткани.

4. Изучить строение мышцы как органа.

**Объекты изучения:** Микропрепараты для изучения и зарисовки

**Препарат 1** Гладкая мышечная ткань (*textus muscularis nonstriatus*) (рисунок 109).

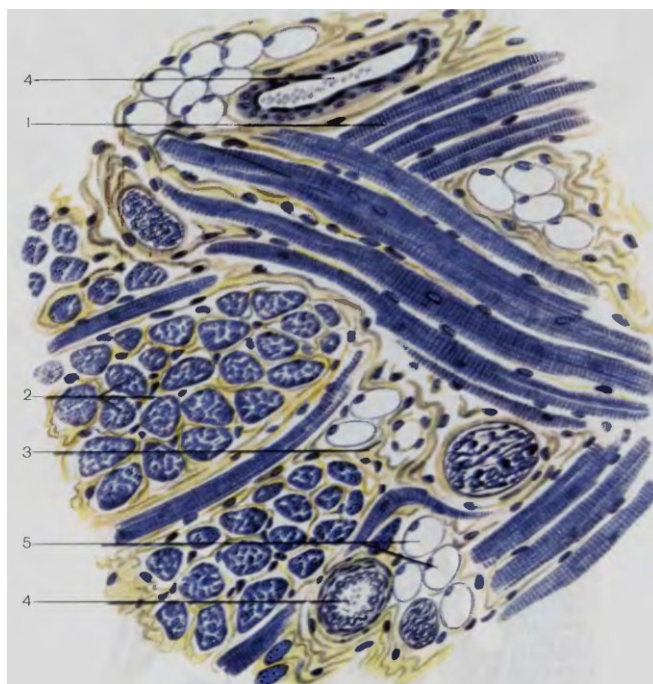


1 — клетка гладкой мышечной ткани; 2 - ядро гладкомышечной клетки; 3 — миофибриллы в саркоплазме. 4 — сарколемма; 5 - эндомизий; 6 — нерв; 7 - кровеносный капилляр (Крелиж и Грау).

Рисунок 109 - Схема строения гладкой мышечной ткани.

**Препарат 2 Поперечно-полосатая скелетная мышечная ткань языка.** Окраска железным гематоксилином x 400 (рисунок 110).





1 – мышечные волокна в продольном разрезе; 2 – мышечные волокна в поперечном разрезе; 3 – прослойки соединительной ткани (эндомизий); 4 – кровеносные сосуды; 5 - жировые клетки.

Рисунок 110 - Поперечно-полосатая скелетная мышечная ткань языка. Окраска железным гематоксилином x 400.

**Зарисовать и обозначить:** мышечные волокна в продольном разрезе; мышечные волокна в поперечном разрезе; прослойки соединительной ткани (эндомизий); кровеносные сосуды; жировые клетки.

### **Контрольные вопросы:**

1. Из каких источников развиваются мышечные ткани?
2. Какие признаки микроскопического строения характерны для неисчерченной (гладкой) мышечной ткани?
10. Какие признаки микроскопического строения характерны для исчерченной (поперечно-полосатой) мышечной ткани?
11. Чем отличаются скелетная мышечная ткань и сердечная мышечная ткань?

12. Каковы особенности ультрамикроскопического строения гладкой и исчерченной миофибрилл?
13. Что такое саркомер (миомер)?
14. Что такое Т-трубочки (трубчатые элементы)? Каковы их взаимоотношения с эндоплазматической сетью и роль в мышечном сокращении?



## 12 Лабораторная работа. № 12 Нервная ткань

**Цель занятия** – изучение микроскопического и ультрамикроскопического строения нейронов, глиальных клеток и нервных волокон.

### Задачи:

1. Изучить микроскопическое и ультрамикроскопическое строение нейронов и их функциональное значение и классификацию.
2. Изучить микроскопическое строение, функциональное значение и классификацию клеток нейроглии.
3. Изучить микроскопическое и субмикроскопическое строение нервных волокон, их функциональное значение и классификацию.

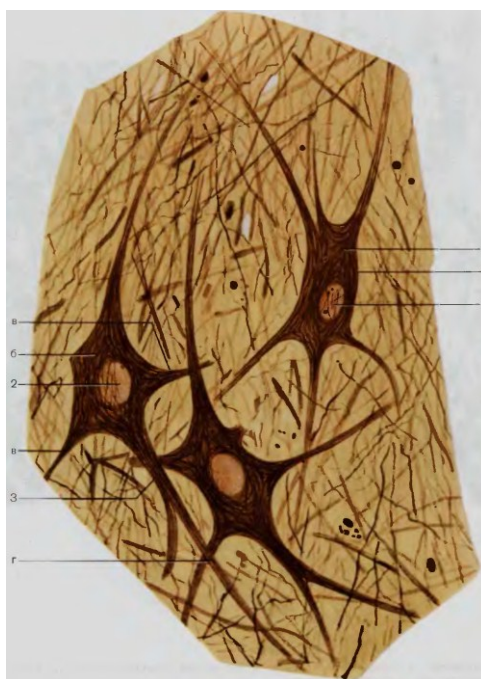
**Препарат 1 Клетки пирамидной формы (гигантские клетки коры головного мозга).** Импрегнация азотнокислым серебром, х 400 (рисунок 111).



1 — тело клетки; 2 — ядро; 3 - нейроплазма; 4 — дендриты; 5 — нейрит.  
Рисунок 111 - Клетки пирамидной формы.

**Зарисовать и обозначить:** тело клетки; ядро; нейроплазма; дендриты; нейрит.

**Препарат 2 Нейрофибриллы в нервных клетках передних рогов спинного мозга.** Импрегнация серебром по Кахалу. х900 (рисунок 112).



1 – тело клетки: а - нейроплазма; б - нейрофибриллы; 2 - ядро; 3 - отростки клетки; в - дендриты; г - нейрит.

Рисунок 112 - Нейрофибриллы в нервных клетках передних рогов спинного мозга.

**Зарисовать и обозначить:** тело клетки: нейроплазма; нейрофибриллы; ядро; отростки клетки; дендриты; нейрит

### **Контрольные вопросы:**

1. Каковы эмбриональные источники развития нейронов и нейроглиальных клеток?

2. Каковы морфофункциональные особенности нейронов и нейроглиоцитов?
3. Расскажите о классификации нейронов.
4. Дайте классификацию нейроглиоцитов.
5. Назовите морфофункциональные признаки дендритов и аксона нервной клетки.
6. Перечислите специальные органеллы нейронов и опишите их локализацию.
7. Каковы структурные компоненты нервной ткани, принимающие участие в образовании нервных волокон?
8. Какие виды нервных волокон существуют и каково их строение?
9. Расскажите о механизмах образования безмиелинового нервного волокна и миелинового нервного волокна.
10. Каковы морфологические признаки регенерации и дегенерации нервных волокон?
11. В чем сущность нейронной теории?

## **13 Лабораторная работа №13 Частная гистология.**

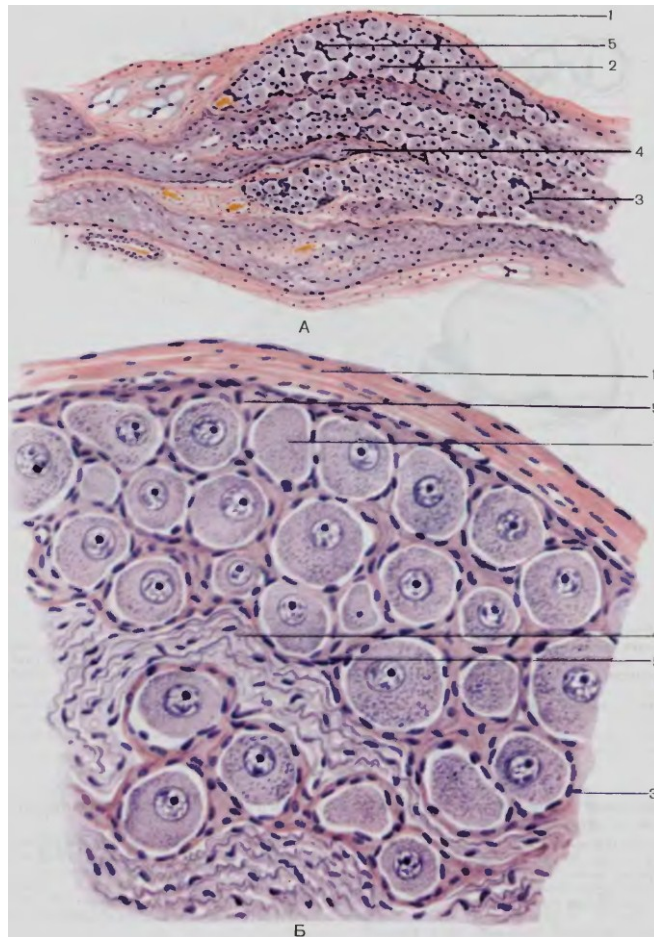
### **Отделы центральной нервной системы. Органы чувств**

**Цель занятия** — изучение морфологии и функциональных особенностей периферических нервных стволов, нервных ганглиев и спинного мозга.

#### **Объекты изучения**

*Микропрепараты для изучения и зарисовки*

1. **Спинно-мозговой (спинальный, сенсорный) узел.** Окраска гематоксилин-эозином. На периферии ганглия локализуются крупные нервные клетки со светлыми ядрами — псевдоуниполярные нейроны афферентной природы. Их аксоны образуют задний (чувствительный) корешок спинного мозга. Передний корешок образован аксонами двигательных нервных клеток спинного мозга, на некотором расстоянии от спинно-мозгового ганглия он сливается с дендритами псевдоуниполярных нейроцитов, образуя смешанный (чувствительной и двигательной природы) спинно-мозговой нерв (рисунок 113).

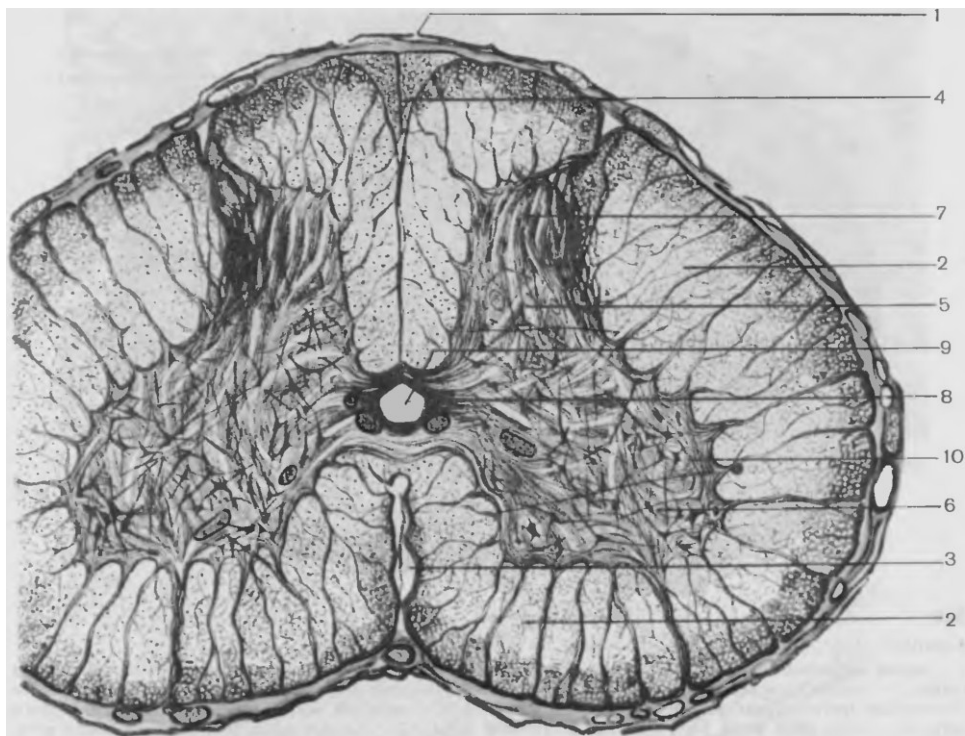


1 — капсула спинномозгового узла; 2 — псевдоуниполярные невроциты; 3 — клетки сателлиты или мантийные клетки (олигодендроглиоциты); 4 — мягкотные нервные волокна; 5 — прослойки соединительной ткани.

Рисунок 113 - Спинномозговой узел. Окраска гематоксилин-эозин. А - x200; Б - x400.

**Зарисовать и обозначить:** передний корешок спинного мозга (*radix anterior medullae spinalis*), задний корешок спинного мозга (*radix posterior medullae spinalis*), спинномозговой узел (*ganglion spinale*) и в нем: соединительнотканную капсулу (*capsula*), псевдоуниполярный нейрон (*neuronum pseudounipolare*), мантийные глиоциты (*gliocytus ganglii*), нервные волокна (*neurofibra*), прослойки рыхлой волокнистой соединительной ткани (*textus connectivus laxus*), спинно-мозговой нерв (*nervus spinalis*).

**Препарат 2 Спинной мозг** — поперечный срез грудного сегмента. Спинной мозг состоит из двух симметричных половин, ограниченных одна от другой спереди глубокой вентральной срединной щелью, а сзади — соединительно-тканной дорсальной срединной перегородкой. На периферии органа найти светлое белое вещество, а внутри — более темное серое вещество (рисунок 114).



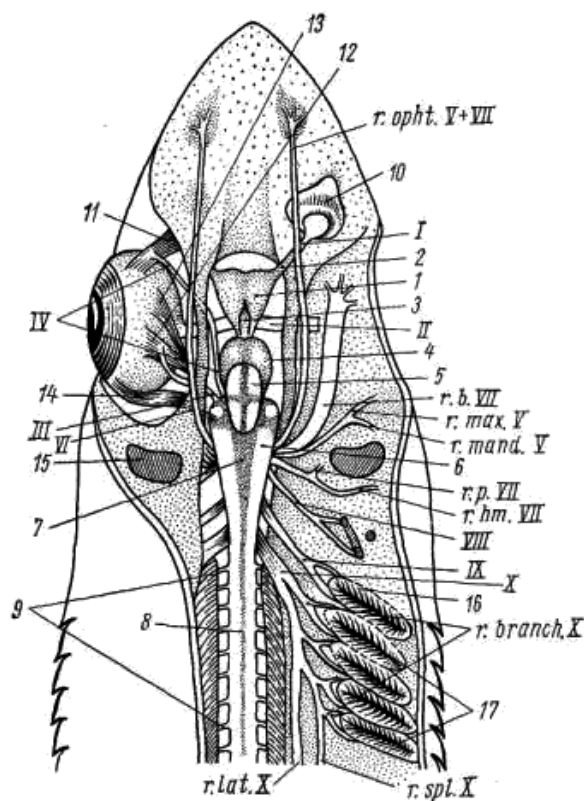
1 - мягкая оболочка мозга; 2 - белое вещество; 3 - передняя срединная вырезка; 4 - задняя срединная перегородка; 5 - серое вещество; 6 - передние рога с мультиполярными нервными клетками; 7 - задние рога; 8 - серая спайка; 9 - центральный канал; 10 — боковые рога.

Рисунок 114 - Спинной мозг.

### **13.1 Головной мозг. Кора большого мозга. Мозжечок**

Морфологической особенностью головного мозга является более сложное распределение в нем серого и белого вещества: большая часть серого вещества располагается на поверхности большого мозга и мозжечка, образуя их кору. Меньшая часть формирует многочисленные ядра ствола мозга. Мозжечок представляет собой центральный орган равновесия и координации движений. Кора больших полушарий координирует условно-рефлекторную деятельность всего организма, в ней

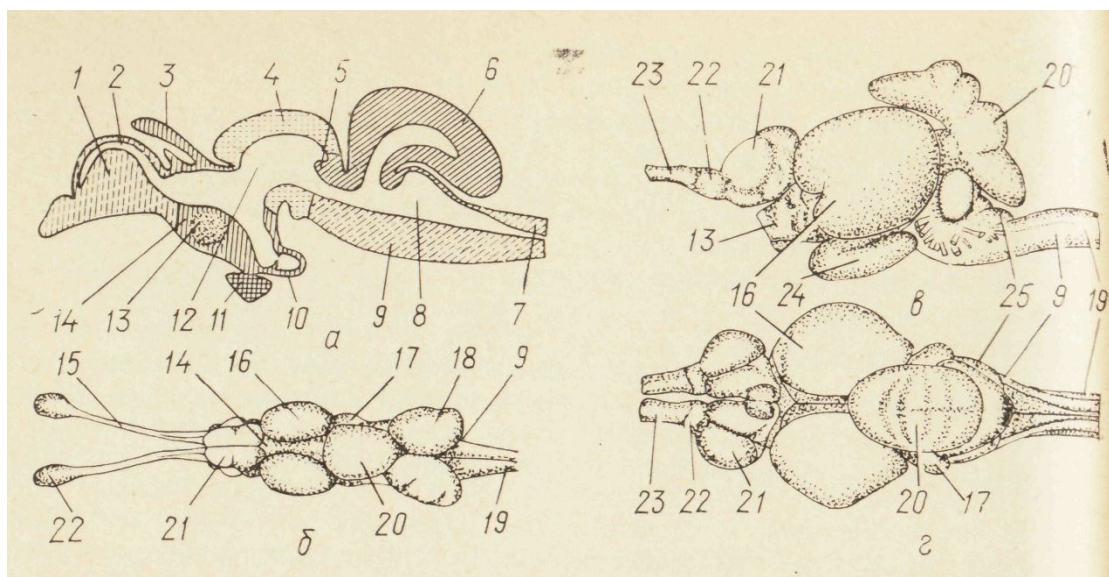
находятся центры психической и произвольной деятельности. Для коры мозжечка и большого мозга характерно послойное расположение нейронов (рисунок 115, 116).



1 — передний мозг, 2 — обонятельная доля переднего мозга, 3 — промежуточный мозг, 4 — средний мозг, 5 — мозжечок, 6 — продолговатый мозг, 7 — ромбовидная ямка, 8 — спинной мозг, 9 — спинномозговые нервы, 10 — обонятельный мешок, 11 — верхняя косая мышца глаза, 12 — верхняя прямая мышца глаза, 13 — внутренняя прямая мышца глаза, 14 — наружная прямая мышца глаза, 15 — брызгальце, 16 — первая жаберная щель, 17 — вторая — пятая жаберные щели; I — обонятельный тракт; II — зрительный нерв; III — глазодвигательный нерв; IV — блоковый нерв; VI — отводящий нерв; V — тройничный нерв: г. ophth. V — глазничная ветвь, г. max. V — верхнечелюстная ветвь, г. mand. V — нижнечелюстная ветвь; VII — лицевой нерв: г. ophth. VII — глазничная ветвь, г. b. VII — щечная ветвь, г. p. VII — нёбная ветвь, г. hm. VII — подъязычная ветвь; VIII — слуховой нерв; IX — языкоглоточный нерв; X — блуждающий нерв; г. branch. X — жаберные ветви, г. spl. X — внутренностная ветвь, г. lat. X — боковая ветвь.

Рисунок 115 - Головной мозг и головные нервы колючей акулы.





а — схематическое изображение продольного разреза мозга; б — мозг карася, вид сut спины; в — мозг желтохвоста, вид сбоку; г — мозг желтохвоста, вид со спины; передний мозг; 2 — первый мозговой желудочек; 3 — эпифиз; 4 — средний мозг; 5 — заслонка мозжечка; 6 — мозжечок; 7 — мозговой канал; 8 — четвертый мозговой желудочек; 9 — продолговатый мозг; 10 — сосудистый мешок; 11 — гипофиз; 12 — третий мозговой желудочек; 13 — ядро зрительного нерва; 14 — промежуточный мозг; 15 — обонятельный тракт; 16 — зрительные доли; 17 — миндалевидные бугры; 18 — вагусные дилатации 19 — спинной мозг; 20 — крыша мозжечка; 21 — обонятельные доли; 22 — обонятельная луковица; 23 — обонятельный тракт; 24 — гипоталамус; 25 — выступы мозжечка.

Рисунок 116 - Строение мозга костистых рыб.

**Цель занятия** — изучение особенностей строения, расположения и функции нейронов в центральной нервной системе на примере коры мозжечка и продолговатого мозга.

### Задачи:

1. Изучить строение коры мозжечка и межнейронные связи в ней.
2. Изучить строение продолговатого мозга.

### Объекты изучения

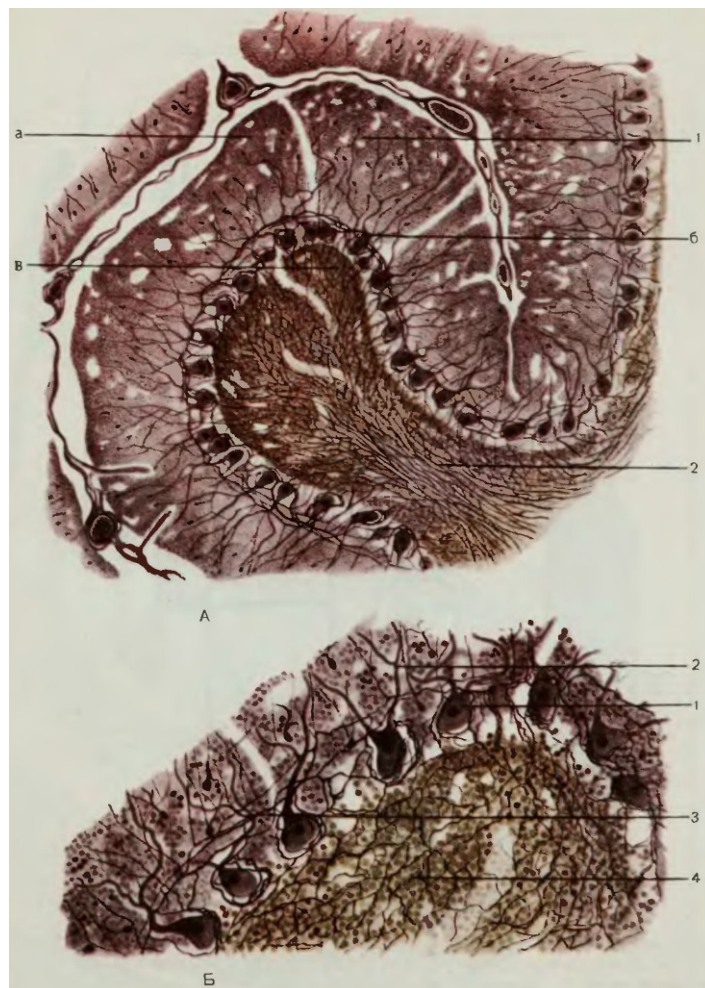
**Препарат 1 Мозжечок** — срез, перпендикулярный направлению извилин. Окраска — импрегнация серебром. Основная масса серого вещества располагается на поверхности органа, образуя



его кору. Белое вещество лежит внутри извилин. Отыскать в коре мозжечка три слоя:

- 1) наружный — молекулярный,
- 2) средний — слой грушевидных нейронов,
- 3) внутренний — зернистый.

Наиболее заметным является слой грушевидных нейронов, так как в нем содержатся очень крупные нервные клетки — грушевидные нейроны (клетки Пуркине), с отходящими от их тела в молекулярный слой несколькими древовидно разветвляющимися дендритами.



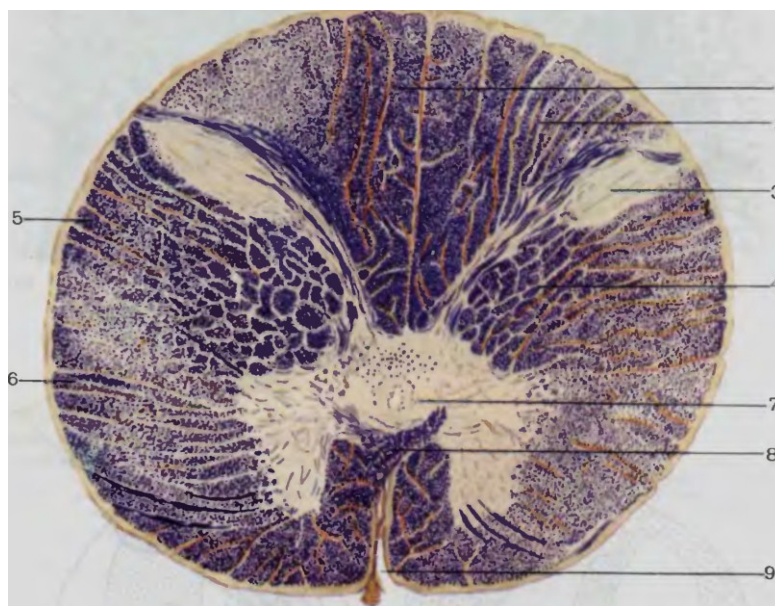
А - строение мозжечка, х 100. 1 — кора мозжечка; а - молекулярный слой; б - ганглионарный слой; в - зернистый слой; 2 - белое вещество.

Б - фрагмент предыдущего препарата. х400. 1 — ганглиозные нервные клетки; 2 - дендриты ганглиозной нервной клетки; 3 — отростки корзинчатых нервных клеток; 4 - клетки зернистого слоя.

Риснок 117 - Мозжечок.

**Зарисовать и обозначить:** молекулярный слой (*stratum moleculare*) и в нем: звездчатые нейроны (*neuronum stellatum*), корзинчатые нейроны (*neuronum corbiferum*), дендриты грушевидных нейронов, слой грушевидных нейронов (*stratum neuronorum piriformium*) и в нем: тела грушевидных нейронов (*neuronum piriformis*), «корзинку» нервных волокон на теле грушевидного нейрона (*corbis neurofibrarum*), зернистый слой (*stratum granulosum*) и в нем: клетки-зерна (*neuronum granuliforme*), белое вещество (*substantia alba*).

**Препарат 2** Поперечный срез продолговатого мозга на границе его со спинным мозгом. Импрегнация серебром, х 30 (рисунок 118).



1 —тонкий пучок (пучок Голя); 2 — клиновидный пучок (пучок Бурдаха); 3 - заднее студенистое вещество; 4 - боковой кортико-спинальный путь; 5 — задний спинномозжечковый путь, 6 - передний спинномозжечковый путь; 7 — центральный канал; 8 - перекрест пирамид; 9 - передняя срединная щель.

Рисунок 118 - Поперечный срез продолговатого мозга на границе его со спинным мозгом.

**Препарат 3 Кора головного мозга. Импрегнации серебром, х 100 (рисунок 119).**



1 - оболочка мозга; 2— серое вещество коры головного мозга; 3 — горизонтальные нейроны молекулярной пластинки; 4 — пирамидальные нейроны; 5 — гигантопирамидальные нейроны ганглиозной пластинки. 6 - многоформные нейроны; 7 -пластинка многоформных клеток.

Рисунок 119 - Кора головного мозга.

**Препарат 4 Упрощенная схема некоторых основных восходящих проводящих путей головного и спинного мозга (рисунок 120).**

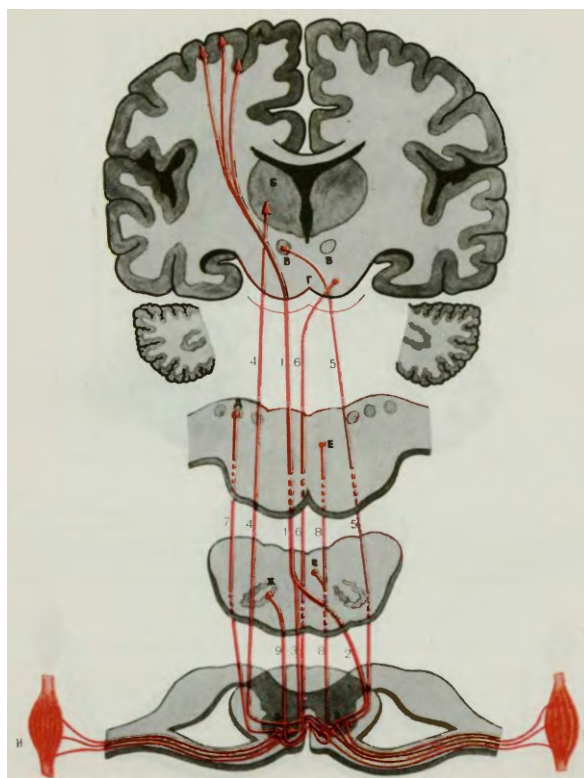


А—спинной мозг; Б - спинномозговой узел; В -заднее ядро (ядро Кларка); Г - собственное ядро заднего рога; Д — продолговатый мозг; Е — тонкое ядро; Ж - клиновидное ядро; З — ядро оливы; И — кора червя мозжечка К -зубчатое ядро; Л — кора мозжечка; М — четверохолмие; Н—красное ядро; О — зрительный бугор; П — кора больших полушарий; Р — чувствительные нервные окончания в мышце; С— чувствительные нервные окончания в коже. 1 — тонкий пучок (пучок Голля); 2 - клиновидный пучок (пучок Бурдаха); 3 — задний спинномозжечковый путь (пучок Флексига); 4 — передний спинномозжечковый путь (пучок Говерса); 5 — боковой спино-таламический путь; 6 спино-оливарный путь; 7 бульбо-таламический путь; 8 — таламо-кортикальный путь; 9 — мозжечково-красноядерный путь; 10-передний спино-таламический путь; 11 — спино-тектальный путь.

Рисунок 120 - Схема некоторых основных восходящих проводящих путей головного и спинного мозга.

**Препарат 5** Упрощенная схема некоторых основных нисходящих проводящих путей головного и спинного мозга (рисунок 121).





А - кора больших полушарий; Б - зрительный бугор; В - красное ядро; Г - четверохолмие; Д - ядро преддверия; Е — сетевидное образование (ретикулярная формация); Ж - ядро оливы; 3 — моторные ядра передних рогов; И - двигательные нервные окончания в мышце; 1 — кортико-спинальный путь; 2 - боковой кортико-спинальный путь; 3 передний кортико-спинальный путь; 4 — таламо-спинальный путь; 5 краснаядерно-спинномозговой путь (пучок Монакова); 6 - текто-спинальный путь; 7 - вестибуло-спинальный путь; 8 - ретикуло-спинальный путь; 9 - оливоспинальный путь.

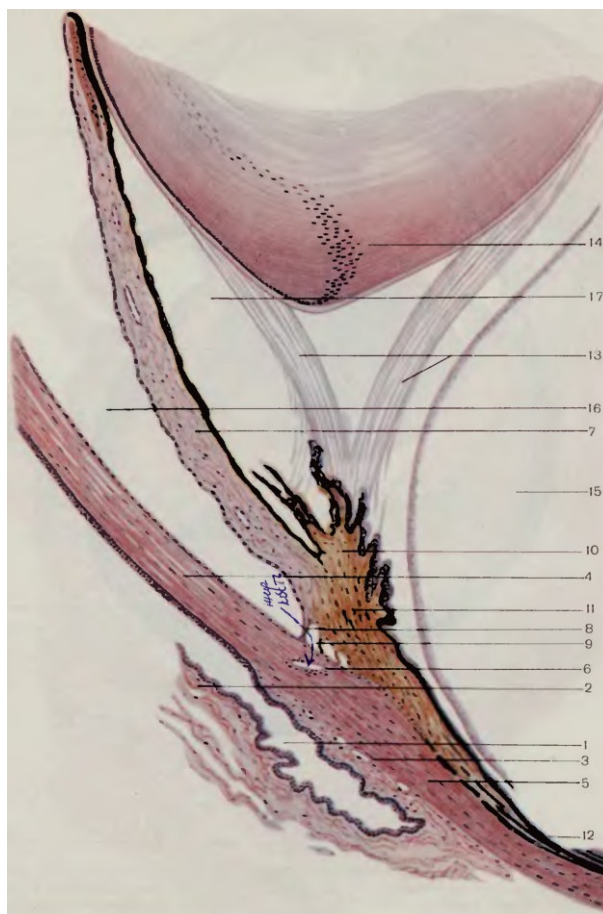
Рисунок 121 - Схема некоторых основных нисходящих проводящих путей головного и спинного мозга.

## 13.2 Орган зрения. Орган обоняния

### Объекты изучения

*Микропрепараты для изучения и зарисовки*

**Препарат 1 Угол глаза —меридианальный разрез переднего отдела глазного яблока.** Окраска гематоксилин-эозином (рисунок 122).



1 - конъюнктивальный мешок; 2 - конъюнктива глаза 3 - эписклеральные сосуды 4 — роговица 5 - белочная оболочка (склера); 6 - венозный синус склеры (шлеммов канал). 7 — радужная оболочка; 8 - гребенчатая связка; 9 - пространства роговично-радужного угла (фонтановы пространства); 10 - цилиарное или реснитчатое тело с отростками. 11 - реснитчатая мышца; 12 - зазубренный край; 13 - реснитчатый пояс (циннова связка) 14 - хрусталик; 15 - стекловидное тело; 16 - передняя камера глаза; 17 - задняя камера глаза.

Рисунок 122 - Угол глаза.

**Зарисовать и обозначить:** радужно-роговичный угол (*angulus iridocornealis*), роговицу (*cornea*), склеру (*sclera*), лимб (*limbus*), ресничное тело (*corpus ciliare*), ресничную мышцу (*musculus ciliaris*), отростки ресничного тела (*processus ciliaris*), венозный синус склеры, шлеммов канал (*sinus venosus sclerae*), радужную оболочку (*iris*), хрусталик (*lens*), переднюю камеру (*camera anterior*), заднюю камеру (*camera posterior*).

**Препарат 2. Роговица глаза.** Окраска гематоксилин-эозином (рисунок 123).

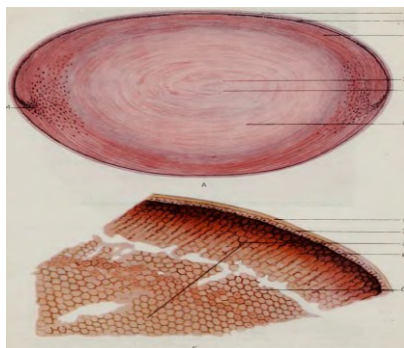


1 - передний эпителий роговицы: 2 - передняя пограничная пластинка 3 - собственное вещество роговины: 4 - задняя пограничная пластинка: 5 - «эндотелий» передней камеры.

Рисунок 123 - Роговица глаза.

**Зарисовать и обозначить:** роговицу (cornea), передний эпителий роговицы (epithelium anterius), переднюю пограничную пластинку (lamina limitans anterior), собственное вещество (substantia propria), заднюю пограничную пластинку (lamina limitans posterior), задний эпителий (epithelium posterius).

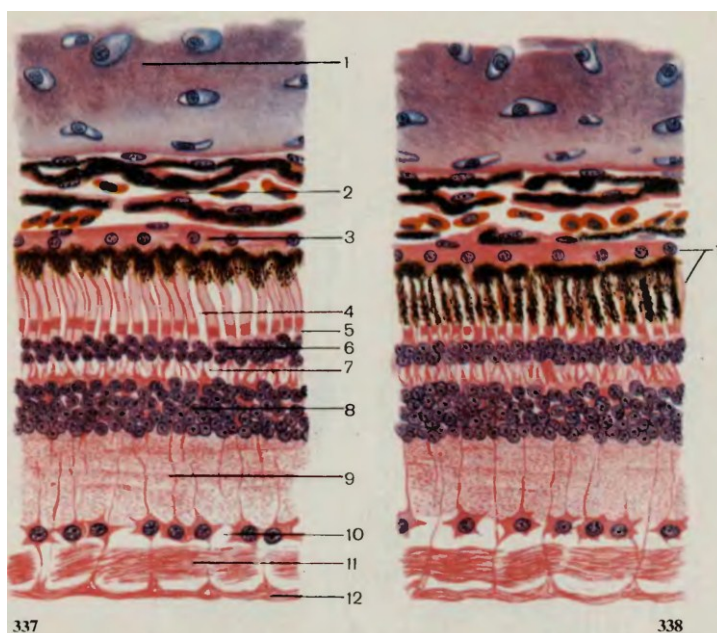
**Препарат 3 Хрусталик.** Окраска гематоксилин-эозином. А - х56; Б - х 400 (рисунок 124).



1 - капсула хрусталика; 2 — эпителий хрусталика; 3 — ядро хрусталика; 4 — ядра хрусталиковых волокон; 5 — хрусталиковые волокна: а - центральные; б - переходные; в - главные.

Рисунок 124 - Хрусталик глаза.

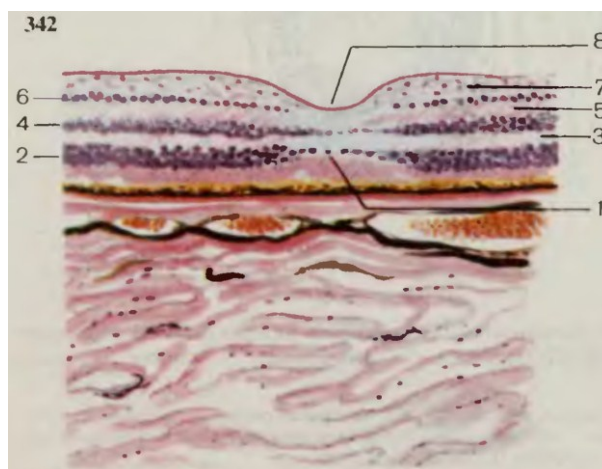
**Препарат 4 Сетчатка глаза, находившейся в темноте. Окраска гематоксилин-эозином. х 200 (рисунок 125).**



1 — гиалиновая пластинка на месте белочной оболочки; 2 сосудистая оболочка; 3 — пигментный эпителий (отростки пигментных клеток короткие); 4—слой палочек и колбочек; 5— наружная глиальная пограничная мембрана; 6 наружный зернистый слой; 7 наружный сетчатый слой; 8 - внутренний зернистый слой; 9 внутренний сетчатый слой; 10 — ганглионарный слой; 11 —слой нервных волокон; 12 — внутренняя глиальная пограничная мембрана.

Рисунок 125 - Сетчатка глаза, находившейся в темноте.

**Препарат 5 Пятно (желтое) сетчатки глаза. Окраски гематоксилин-эозином. х 80 (рисунок 126).**



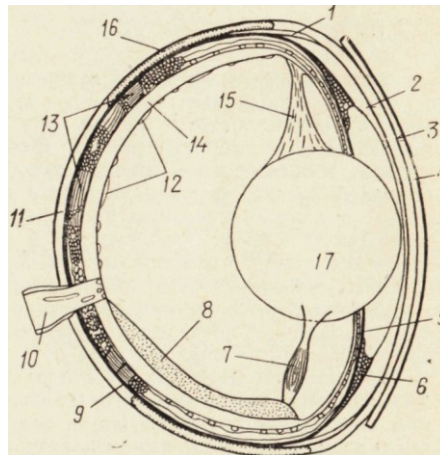
1 - слой колбочек; 2— наружный зернистый слой; 3 — наружный сетчатый слой; 4 — внутренний зернистый слой; 5 - внутренний сетчатый слой; 6 - ганглионарный слой; 7 — слой нервных волокон; 8 - центральная ямка пятна.

Рисунок 126 - Пятно (желтое) сетчатки глаза



## Строение глаза рыбы

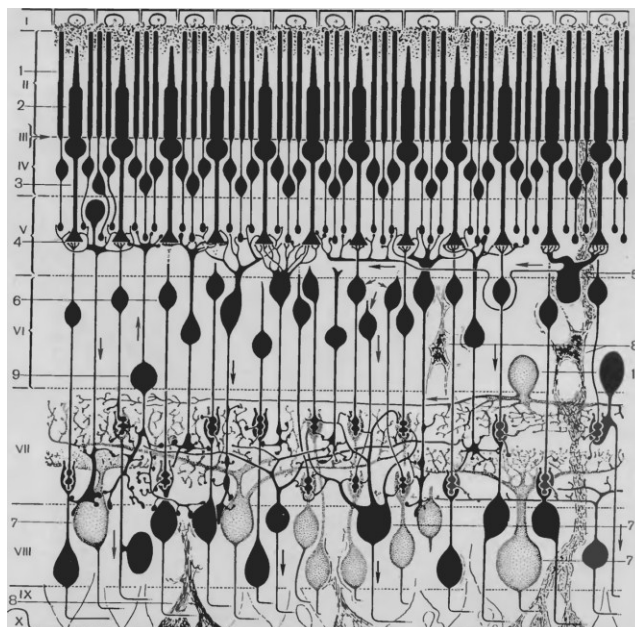
### Препарат 6 Строение глаза рыбы (рисунок 127).



1 — эпихондроида́льное ли́фматическое пространство; 2 — автохтонный слой; 3 — склероидный слой; 4 — дермальный слой (2,3 и 4 и составляют роговицу); 5 — серебристый слой радужины; 6 — кольцевая связка; 7 — мышца; 8 — серповидный отросток; 9 — серебристый слой сосудистой оболочки; 10 — зрительный нерв; 11 — белковая оболочка (склера); 12 — сосуды стекловидного тела; 13 — хлоридная (сосудистая) оболочка; 14 — сетчатка; 15 — подвеска; 16 — хрящевая склера; 17 — хрусталик.

Рисунок 127 - Строение глаза рыбы.

### Препарат 7 Строение сетчатки глаза (рисунок 128).



1 — ганглиозные клетки; 2 — наружная пограничная мембрана, 3 — колбочки; 4 — палочки; 5 — пигментный эпителий

Рисунок 128 - Строение сетчатки глаза.

## 14 Лабораторная работа № 14. Орган слуха и равновесия. Орган вкуса

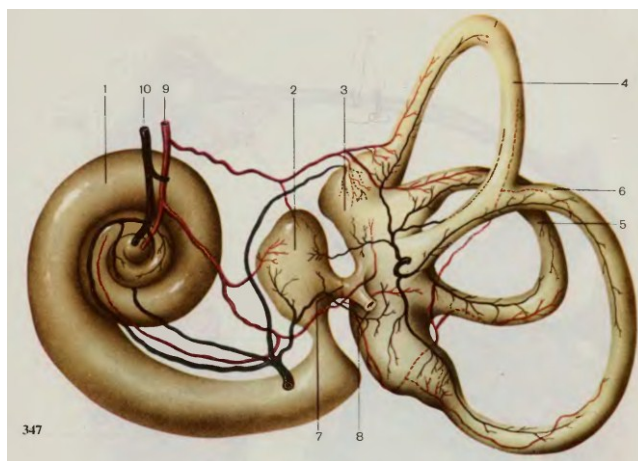
**Цель занятия** — изучение микроскопического и ультрамикроскопического строения и гистофизиологии органов механорецепции, хеморецепции и электрорецепции.

**Задачи:**

1. Изучить строение лабиринтового аппарата внутреннего уха.
2. Изучить строение веберового аппарата
3. Изучить строение обонятельного эпителия
4. Изучить строение кожных электрорецепторов у рыб.

### Препараты для изучения

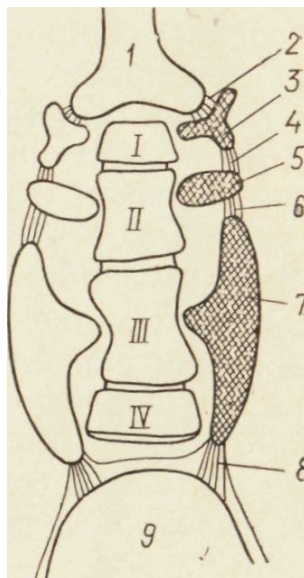
**Препарат 1** Схема правого лабиринта уха (рисунок 129).



1 - улитка; 2 - мешочек; 3 - маточка; 4— верхний полукружный канал (сагиттальный) 5 - внешний полукружный канал (горизонтальный); 6 - задний полукружный канал (фронтальный); 7 - маточкомешочковый проток; 8 - эндолимфатический проток (срезан); 9 - артерии; 10 - вены.

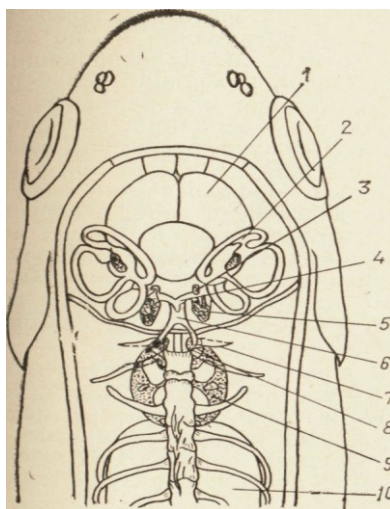
Рисунок 129 - Схема правого лабиринта уха.

**Препарат 2 Схематическое изображение веберова аппарата (рисунок 130).**



I-У — номера позвонков; 1 — перилимфатический проток; 2, 4, 6, 8 — связки и сращения; 3 — стапес; 5 — инкус; 7—малеус; 9 — плавательный пузырь.  
Рисунок 130 - Схематическое изображение веберова аппарата.

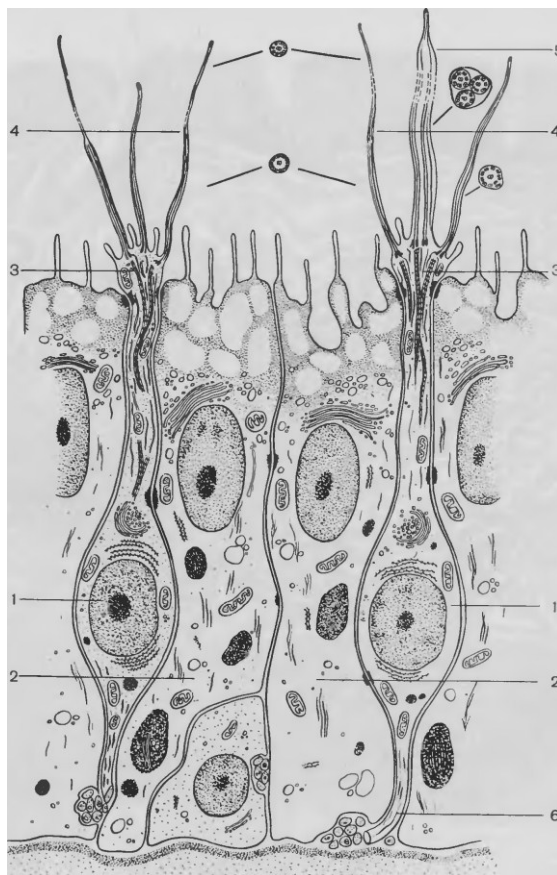
**Препарат 3 Расположение лабиринта, веберова аппарата и плавательного пузыря у карпа (рисунок 131).**



1— мозг; 2 — утрикулус; 3 — саккулус; 4 — объединительный канал; 5 — лагена; 6 — перилимфатический проток; 7 — стапес; 8 — инкус; 9 — малеус; 10 — плавательный пузырь

Рисунок 131 - Расположение лабиринта, веберова аппарата и плавательного пузыря у карпа.

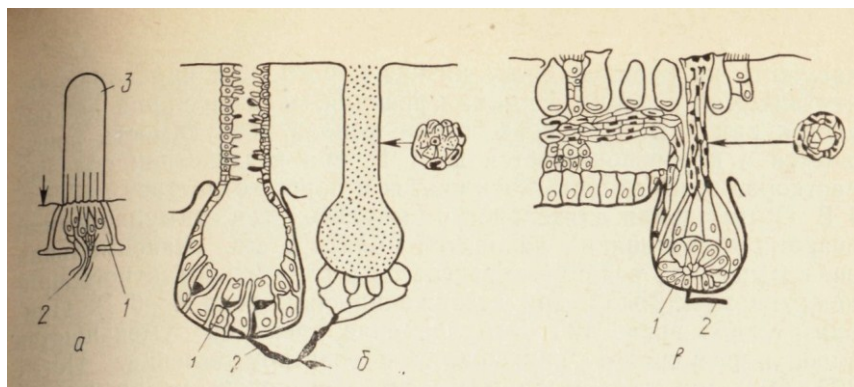
**Препарат 4 Схема строения обонятельного эпителия (рисунок 132).**



1 - обонятельная клетка; 2— опорная клетки; 3—обонятельная булава; 4 — обонятельные волоски (антенны); 5 - комплексная обонятельная антенна; 6 - центральный отросток (А. А. Бронштейн и Г. А. Пяткина).

Рисунок 132 - Схема строения обонятельного эпителия.

**Препарат 5. Кожные электрорецепторы рыб (рисунок 133).**



а - ординарные рецепторы боковой линии; б — ампулярные рецепторы; в — бугорковые органы; 1 — рецепторные клетки; 2 — нерв; 3 — купула

Рисунок 133 - Кожные электрорецепторы рыбы.

## **15 Лабораторная работа № 15. Строение сердечно-сосудистой системы рыб**

**Цель занятия** — изучение микро- и ультрамикроскопического строения кровеносных и лимфатических сосудов и сердца.

### **Задачи:**

1. Изучить общий план строения и классификацию сосудов, артерий и вен.
2. Изучить строение сердца
3. Ознакомиться с наиболее характерными отличиями строения стенки вены от артерии.
4. Рассмотреть строение лимфатических сосудов.
5. Изучить строение эндокарда. Обратить внимание на сходство строения и происхождения эндокарда со строением и происхождением сосудистой стенки.
6. Изучить строение эпикарда.

Сердце состоит из трех оболочек: эндокарда, миокарда и эпикарда.

*Эндокард* (endocardium) по строению и происхождению соответствует всей стенке сосуда. В нем различают следующие слои:

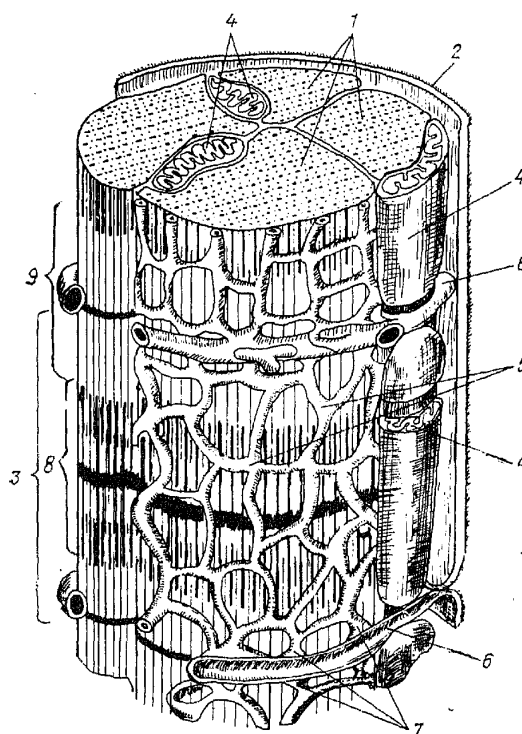
- 1) эндотелий;
- 2) субэндотелиальный слой;
- 3) мышечно-эластический слой;
- 4) субэпикардальная основа.

*Миокард* (myocardium) состоит из поперечно-полосатой сердечной мышечной ткани. Особенностью сердечной мышечной ткани является то, что сердечные мышечные волокна представляют собой не симпла-

сты, а соединенные конец в конец клетки — кардиомиоциты. Различают типичные (сократительные, рабочие) волокна миокарда состоящие из рабочих миоцитов, и проводящие волокна, состоящие из проводящих миоцитов.

*Эпикард* представляет собой серозную оболочку и состоит из мезотелия и субэпикардиальной основы.

**Препарат 1** Схема ультрамикроскопического строения миофибрилл и специализированных мембран в кардиомиоцитах (рисунок 134).



1 — миофибриллы; 2 — сарколемма; 3 — саркомер; 4 — митохондрии; 5 — эндоплазматическая сеть; 6 — Т-трубочки (специализированные мембраны Т-системы); 7 — терминальные расширения эндоплазматической сети; 8 — диск А; 9 — диск / (по Блюму и Фаусетту с изменениями).

Рисунок 134 - Схема ультрамикроскопического строения миофибрилл и специализированных мембран в кардиомиоцитах.



## Объекты изучения

### *Микропрепараты для изучения и зарисовки*

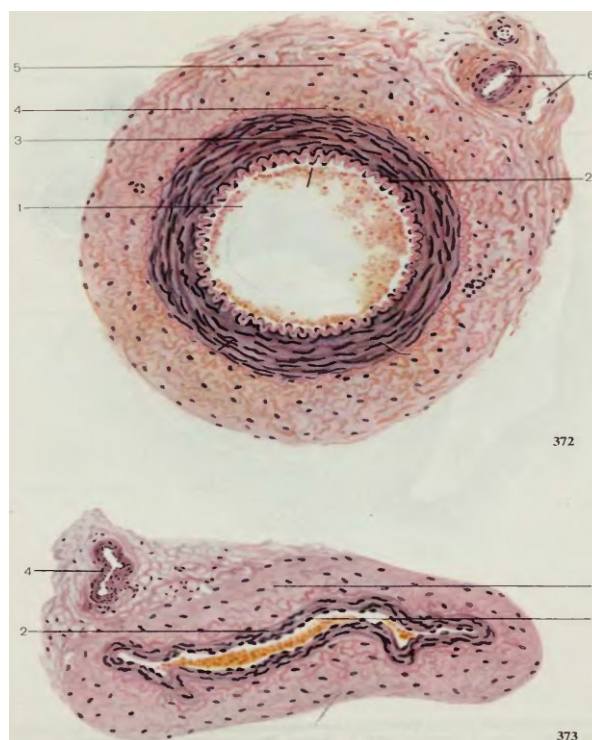
**Препарат 1 Капилляры, артериолы, венулы — сосуды мягкой мозговой оболочки.** Капилляр — это мелкий сосуд, диаметр которого лишь незначительно превышает диаметр эритроцита, поэтому эритроциты располагаются в капилляре цепочкой в один ряд. В стенке капилляра видны продольно расположенные овальные бледные ядра эндотелиоцитов и вытянутые более темные ядра перитцитов. Стенка венулы мягкой мозговой оболочки по строению не отличается от стенки капилляра. Разница заключается в ширине просвета. В венуле эритроциты помещаются в несколько рядов, придавая сосуду оранжевый цвет. Артериола отличается от капилляра и венулы наличием в ее стенке циркулярно расположенных гладких миоцитов (рисунок 135).



1 — кровеносный капилляр; 2 - артериола; 3 - венула; 4 — ядро эндотелиальной клетки; 5 - ядро адвентициальной клетки; 6 - ядро гладкой мышечной клетки; 7 - клетки рыхлой волокнистой соединительной ткани.

Рисунок 135 - Капилляры, артериолы и венулы мягкой мозговой оболочки головного мозга. Окраска гематоксилин-эозином. х 400.

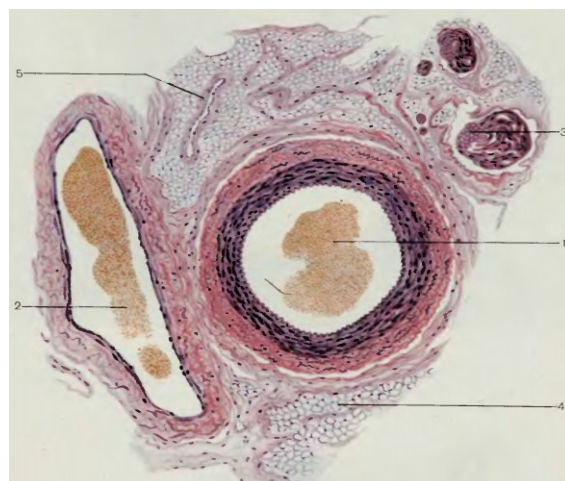
## Препарат 2 Вена (рисунок 136).



1 — внутренняя оболочка; 2 средняя мышечная оболочка; 3 - наружная оболочка; 4 —сосуды сосудов.

Рисунок 136 - Строение вены.

## Препарат 3 Сосудисто-нервный пучок предплечья (рисунок 137).



1 - артерия; 2 - вена; 3 — нервные пучки; 4 - жировая ткань; 5 - вена мелкого калибра.

Рисунок 137 - Поперечный срез артерии и вены мышечного типа.



### **Контрольные вопросы:**

1. Из каких источников развиваются кровеносные сосуды?
2. Чем определяются особенности строения сосудов из различных участков кровеносного русла?
3. Каков общий план строения стенки сосуда? Назовите основные компоненты каждой оболочки.
4. Какие типы кровеносных капилляров вы знаете? Расскажите о строении капилляров различных типов. Приведите примеры органов, в которых можно встретить капилляры каждого из типов.
5. Расскажите о классификации кровеносных сосудов. Какие типы артерий и вен вы знаете? Приведите примеры.
6. Каково строение эластических элементов в различных оболочках аорты?
7. Какие сосуды относятся к микроциркуляторному руслу?
8. Опишите строение лимфатических сосудов различных типов.
9. Из какого источника развивается и из каких компонентов состоит эндокард?

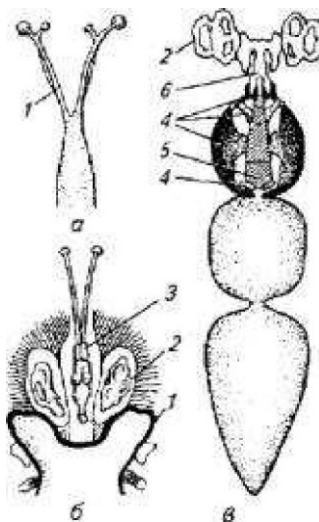
## 16 Лабораторная работа № 16. Строение лимфатической и пищеварительной системы

**Цель занятия** — изучить строение лимфатической и пищеварительной системы

### Задачи:

1. Изучить общий план строения лимфатической системы
2. Изучить строение селезенки у рыб.
3. Изучить строение пищеварительной системы.
4. Особенности строения печени и поджелудочной железы у различных видов рыб.

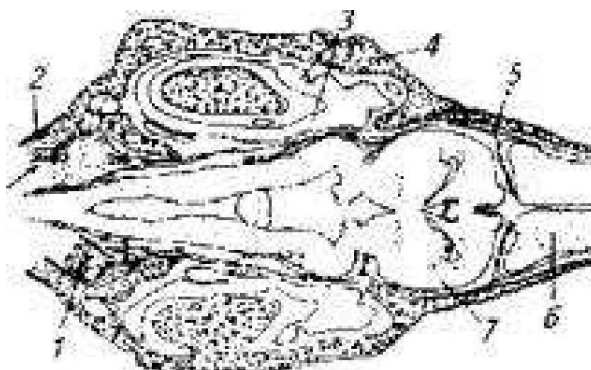
**Препарат 1** Топография лимфатического протока у рыб (рисунок 138).



а- сельдь атлантическая; б -треска; в - карп; 1 - выросты плавательного пузыря; 2- внутреннее ухо; 3 - головной мозг; 4 и 5-косточки Веберова аппарата; общий эндолимфатический проток.

Рисунок 138 - Топография лимфатического протока у рыб.

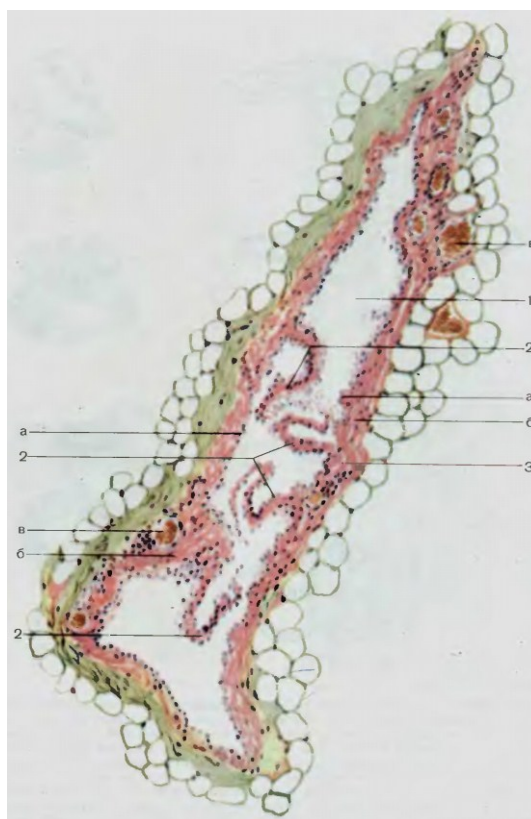
**Препарат 2** Топография лимфоидного органа у осетровых (рисунок 139).



1 - лимфоидный орган; 2- черепная коробка; 3-полукружные каналы; 4-хрящ; 5-мозговая оболочка; 6-передний мозг; 7- средний мозг.

Рисунок 139 - Топография лимфоидного органа у осетровых.

**Препарат 3** Поперечный разрез лимфатического сосуда. Окраска гематоксилин-эозином. х 200 (рисунок 140).



1 - просвет сосуда; 2 — клапаны; 3 — стенка сосуда; а - внутренняя оболочка; б - средняя оболочка; в - наружная оболочка.

Рисунок 140 - Поперечный разрез лимфатического сосуда.

## 16.1 Строение селезенки у рыб

Селезенка мало развита и большей частью даже не сконцентрирована в одно обособленное тело, часто состоит из отдельных небольших скоплений паренхимы (мезенхимы) в мезентерии, есть места образования лейкоцитов и в то же время уничтожения старых отживших красных кровяных телец.

Селезенка состоит из сеткообразных волокон соединительной ткани, в петлях которой заключена рыхлая пульпа красного и белого цвета. Красная пульпа содержит главным образом красные кровяные тельца вместе с лейкоцитами и пигментом. Здесь происходит, невидимому, уничтожение отживших красных кровяных телец путем поедания их лейкоцитами (фагоцитоза). Белая пульпа образуется скоплениями лейкоцитов в красной пульпе. Таким образом, селезенка есть место образования лейкоцитов и в то же время уничтожения отживших красных кровяных телец.

## 16.2 Строение тимуса у рыб

Хрящевые рыбы в целом как класс характеризуются наличием тимуса, расположенным в головной части вблизи глазных впадин. Показательно, что у таких примитивных хрящевых рыб, как цельноголовые (*Holocephali*), тимус уже дифференцирован на корковую и медуллярную зоны.

У представителей другого подкласса - пластинчатожаберных (*Elasmobranchii*; акулы, скаты) - также имеется тимус, причем он, как и у более высокоорганизованных позвоночных животных, подвержен возрастной инволюции.

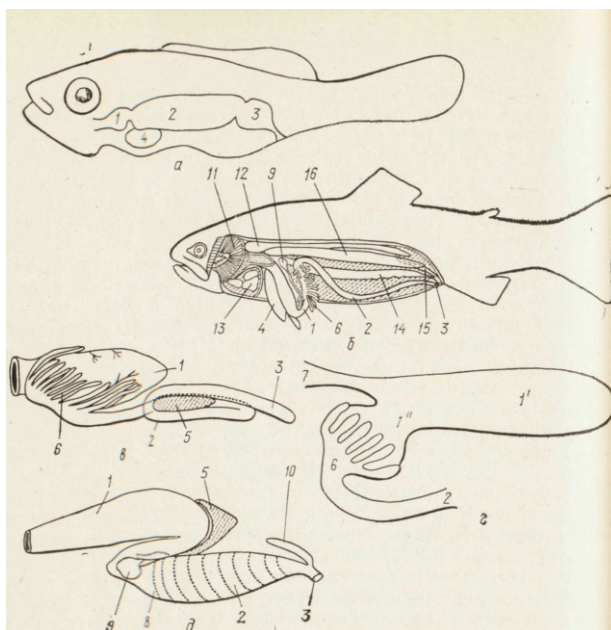
В онтогенезе рыб тимус развивается из эпителия одного или нескольких глоточных карманов. У взрослых рыб он расположен под жабрами в области крепления верхнего конца жаберной дуги. Как и у мле-

копитающих, тимус рыб является поставщиком зрелых клеток для периферических лимфомиелоидных органов и тканей: селезенки, почки, лимфоидной ткани печени. Выселяющиеся из тимуса клетки создают потенциал долгоживущих Т-лимфоцитов периферии, продолжительность жизни которых более 5 месяцев.

В ранние сроки развития иммунного ответа лимфоциты медуллярной зоны тимуса мигрируют на периферию, чтобы принять участие в реакции на антиген. По мере затухания иммунного ответа количество клеток в медуллярной зоне восстанавливается.

### 16.3 Строение пищеварительной системы у рыб

**Препарат 4.** Пищеварительная система рыб, имеющих желудок (рисунок 141).



*а* — личинки морского карася; *б*-радужная форель; *в* — морской судак; *г* — кефаль; *д* — акула; 1— желудк; 1' — растяжимая часть желудка; 1" — мускулистый желудок; 2 —кишечник; 3 — прямая кишка; 4 — печень; 5 — селезенка; 6 — пилорические придатки; 7 - пищевод; 8 - спиральная складка; 9-желчный пузырь; 10 - ректальная (соленая) железа; 11 - чабры; 12 - ночки; 13 — сердце; 14 - гонады; 15 - мочевого пузырь; 16 — плавательный пузырь.

Рисунок 141 - Пищеварительная система рыб, имеющих желудок.

## 16.4 Кишечник

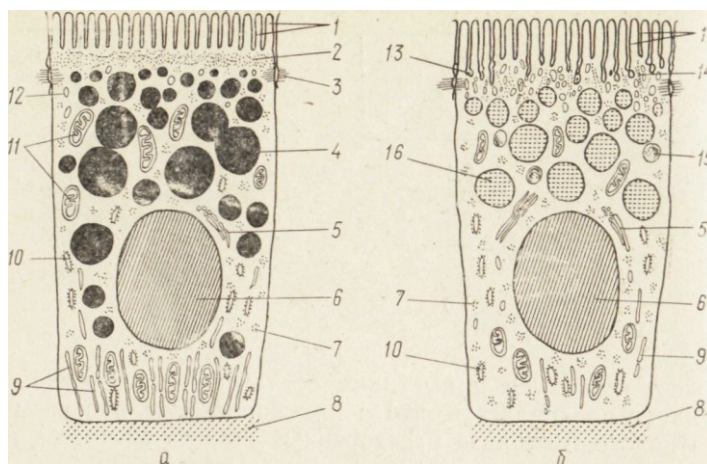
В кишечной стенке можно различить три слоя: слизистую оболочку, мышечный слой и серозную оболочку.

Подслизистая у рыб, в частности у карповых и лососевых, нередко отсутствует.

Слизистая выстилка кишечника представлена специализированными эпителиальными клетками — энтероцитами и слизистыми бокаловидными клетками. Одноклеточные слизевые железы кишечника продуцируют слизь, состоящую из муцина, и, возможно, некоторое количество пищеварительных ферментов.

Одной из функций эпителиальных клеток кишечника, называемых также эпителиоцитами, энтероцитами и каемчатыми клетками, является выработка кишечных ферментов. Строение энтероцитов характерно для клеток, совмещающих секреторные и сорбционные функции.

**Препарат 5** Строение энтероцитов карася (рисунок 142).



а - из средней части кишечника; б - из задней части кишечника; 1 — микроворсинки щеточной каймы; 2 — поверхностная ретикулярная (сетчатая) субстанция; 3 — десмосомы; 4 — капли усвоенного жира; 5 — гладкий ретикулум; 6 — ядро; 7 — рибосомы; 8 — базальная мембрана; 9 — базальный пластинчатый аппарат; 10 — шероховатый ретикулум; 11 — митохондрии; 12 — гладкий ретикулум; 13 — инвагинация мембраны и захвата питательных веществ; 14 — микросомы; 15 — лизосомы; 16 — пиноцитические пузырьки, с усвоенными пищевыми веществами.

Рисунок 142 - Строение энтероцитов карася.

## 16.5 Особенности строения печени и поджелудочной железы у различных видов рыб

**Пищеварительные железы.** Главным поставщиком кишечных ферментов является поджелудочная железа, или панкреас. Среди рыбообразных наблюдается значительное разнообразие ее строения.

У примитивных круглоротых экзокринные (пищеварительные) клетки панкреаса расположены прямо в кишечном эпителии, у некоторых миксин имеется также экзокринная панкреатическая ткань в печени, а также между печенью и кишечником. У пластинчатожаберных панкреас представляет собой отдельный компактный орган, его экзокринная железистая ткань имеет отдельный проток в кишечник. Так же устроена экзокринная панкреатическая ткань у некоторых костистых рыб, например угря. У большинства костистых рыб экзокринная ткань панкреаса имеет тенденцию к децентрализации. Часть ее находится в печени, а часть — между печенью и кишечником, в петлях кишечника. Каждая долька панкреаса имеет собственные выводные пути.

Большую роль в пищеварении играют печень и ее секрет — желчь. Желчь вырабатывается клетками печени и по дренажной системе желчных протоков поступает в желчный пузырь. В пузыре желчь сгущается до содержания сухого вещества приблизительно 13 %, более половины которого составляют желчные кислоты. Зеленоватый или коричневатый цвет желчи обусловлен присутствием желчных пигментов, представляющих собой продукты деградации гематина. Желчь содержит значительное количество минеральных катионов и анионов — кальция, магния, сульфата, карбоната. В ней содержатся слизистые мукоиды и полярные липоиды, играющие роль смазки для пищевых частиц. В желчи обнаруживается амилазная, липазная и протеазная активность.

Среди веществ желчи основную роль играют поверхностно-активные вещества — желчные кислоты. Они же обуславливают хорошо

всем известную горечь желчи. Понижать поверхностное натяжение на границе водной среды и жировых капель способны также желчные пигменты. Поверхностно-активные вещества способствуют распаду жировых капель и стабилизации жировой эмульсии, что увеличивает поверхность пищевого жира, доступную липолитическим ферментам. Кроме того, сверхтонкая эмульсия жира может усваиваться без окончательного гидролиза. Желчные кислоты могут соединяться с высшими жирными кислотами, делая их растворимыми в воде, что улучшает их усвоение. Желчные кислоты, всосавшиеся вместе с жиром, снова попадают в печень и используются повторно.

Желчный пузырь представляет собой как бы боковой карман главного желчного протока. Когда желчный проток перекрыт путем сужения просвета ниже желчного пузыря, желчь накапливается в пузыре, гладкая мускулатура которого в это время расслаблена и сам он растянут. Такое состояние пузыря наблюдается в отсутствие пищеварения. У зимующей молоди карпа желчный пузырь раздут и достигает размеров ягоды смородины. Специфические гормональные воздействия, связанные с питанием и пищеварением, заставляют расслабляться сфинктер желчного протока и напрягаться стенки пузыря. В результате этого желчь попадает в просвет кишечника. Устье желчного протока в кишечнике рыбы определяется по желто-коричневому пятну на отмытой слизистой.



## **Список использованных источников**

Гистология / под ред. Ю. И. Афанасьева, Н. А. Юриной М.: Медицина, 1989, 543с.

Елисеев, В. Г. Атлас микроскопического и ультрамикроскопического строения клеток, тканей и органов / В.Г. Елисеев, Ю.И. Афанасьев, Е.Ф. Котовский — М.; Медицина, 1970, 234с.

Заарзин, А. А. Основы сравнительной гистологии / А.А. Заарзин — Л.: Изд-во ЛГУ, 1985. С. 229—246.

Кассирский, И. А. Клиническая гематология / И.А. Кассирский, Г.А. Алексеев — М.: Медицина, 1970.

Хэм, А. Гистология: в 2-х т. / А. Хэм, Д. Кормак — М.: Мир, 1983, 563с.

Шубникова, Е.А. Функциональная морфология тканей / Е.А. Шубникова — М.: Изд-во, МГУ, 1981, 342с.

Bloom, W., Textbook of histology /W. Bloom, D.W. Fawcett // Philadelphia, London, Toronto, Saunders company, 1975, 456p.

Cline, M. J. The white cell / M.J. Cline — Cambridge, Massachusetts, 1975.

**Учебно-методическое пособие**

**Святослав Валерьевич Лебедев  
Елена Петровна Мирошникова,  
Ольга Вилориевна Кван  
Елена Анатольевна Сизова**

**ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ  
ПО ЭМБРИОЛОГИИ  
И ГИСТОЛОГИИ РЫБ**

ISBN 978-5-7410-1377-9



9 785741 013779