

# **Histologie**

## praktické cvičení

Pondělí 8:50 – 10:30

MUDr. Ivana Baltasová (51368@mail.muni.cz)

# Program 1. praktika

- **obecné informace**

(organizace výuky)

- **histologie a embryologie**

(co je předmětem studia)

- **zpracování tkání**

(laboratorní metody)

- **demonstrace histologických preparátů**

(barvení různými metodami)

# Organizace praktik

- Začátek - přesně
- Přezouvání  
vstup do mikroskopického sálu pouze v přezůvkách nebo návlecích
- Šatna – odložit svršky a zavazadla (zajistit doklady, cennosti, mobil - ztráty a nálezy – info u dr. Daňkové)
- Mobil – vypnutý nebo v tichém režimu
- mikroskopický sál = laboratoř  
– zákaz konzumace jídla a nápojů v šatně a v sále,  
– zákaz kouření na celé LF
- BOZP
- Pracovní místo zůstává stálé během semestru! Student je osobně a hmotně odpovědný za poskytnuté pomůcky

# Zápočet

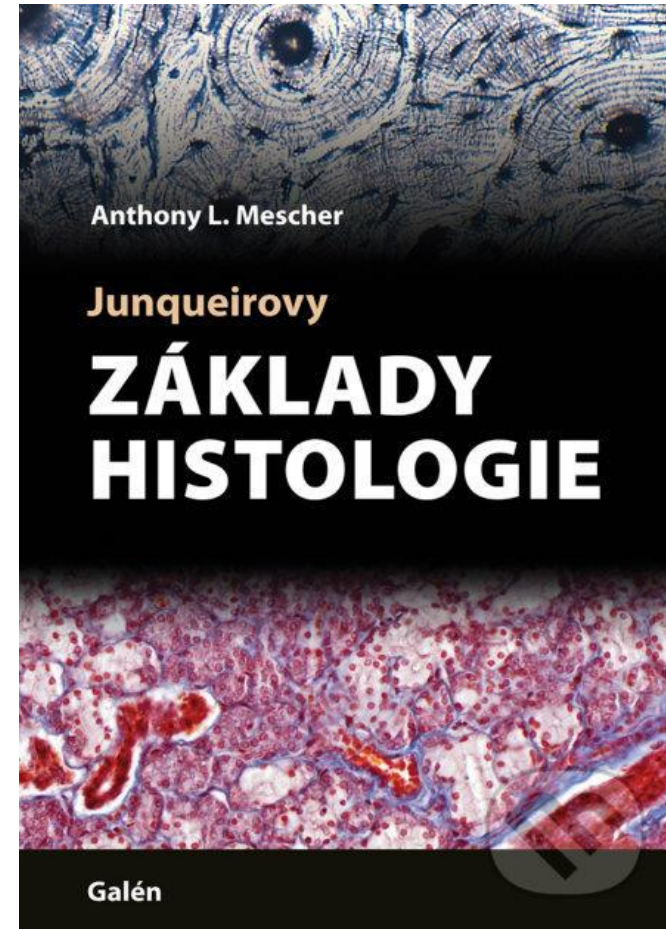
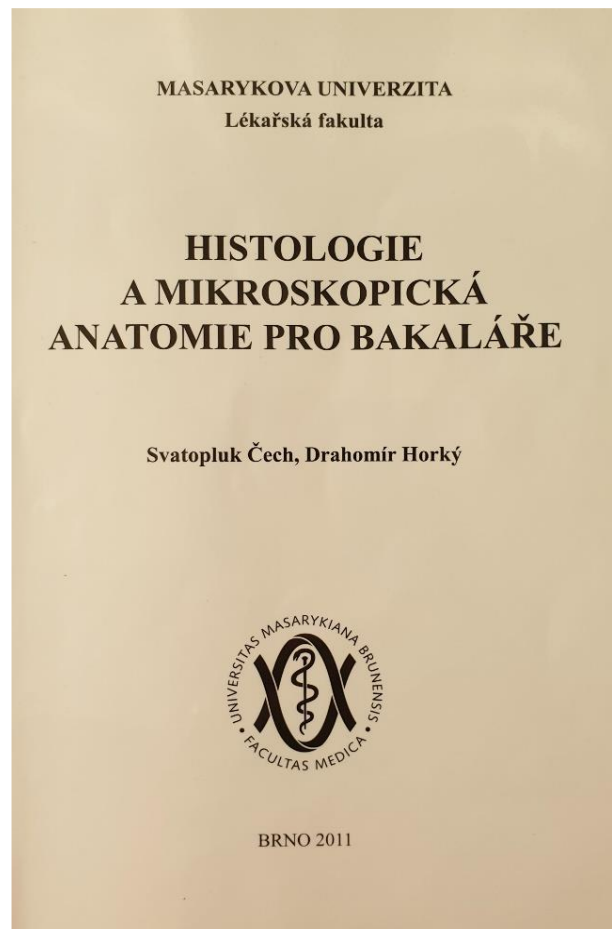
- 100% účast v praktických cvičeních
- Zápočtový test (11.týden)
- Kolokvium – 2 otázky

Doporučená literatura  
Svatopluk ČECH a Drahomír HORKÝ  
**Histologie a mikroskopická anatomie pro  
bakaláře**

+ vybrané kapitoly  
Anthony L. MESCHER  
**Junqueirovy  
Základy histologie**

nebo

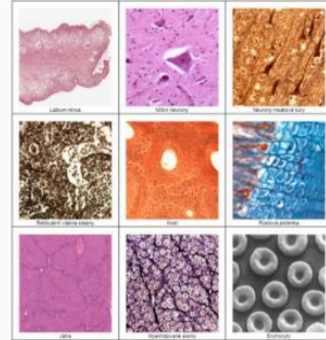
Drahomír HORKÝ a Svatopluk ČECH  
**Mikroskopická anatomie**



## Histologické pexeso

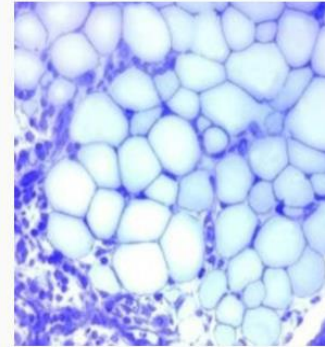
*doporučený relaxační materiál*

stačí stáhnout, vytisknout, vystřihnout a hrát



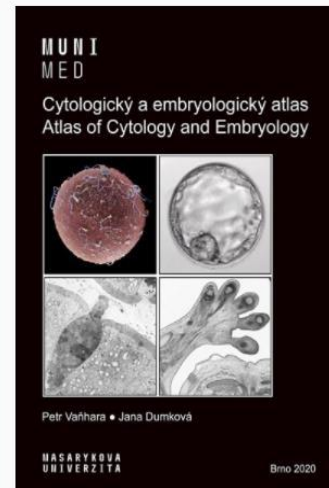
## Histologický atlas

*doporučený studijní materiál*



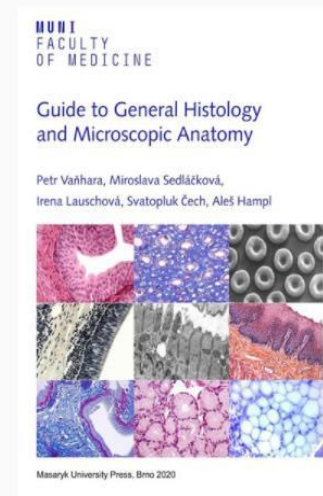
## Cytologický a embryologický atlas

*doporučený studijní materiál*



## Guide to General Histology and Microscopic Anatomy

*doporučeno pro praktika a revize před zkouškou*



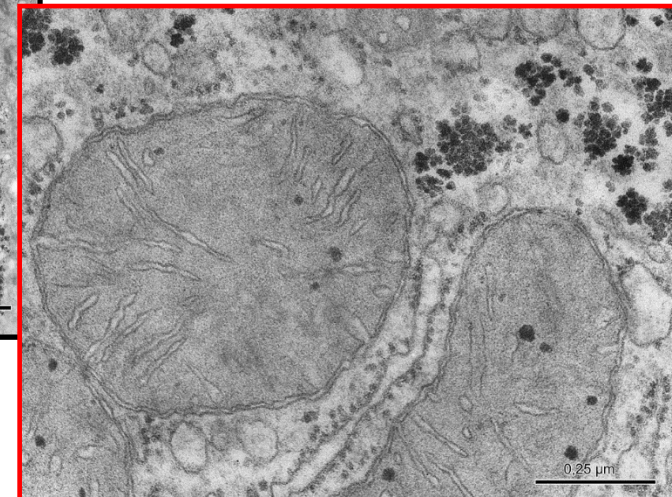
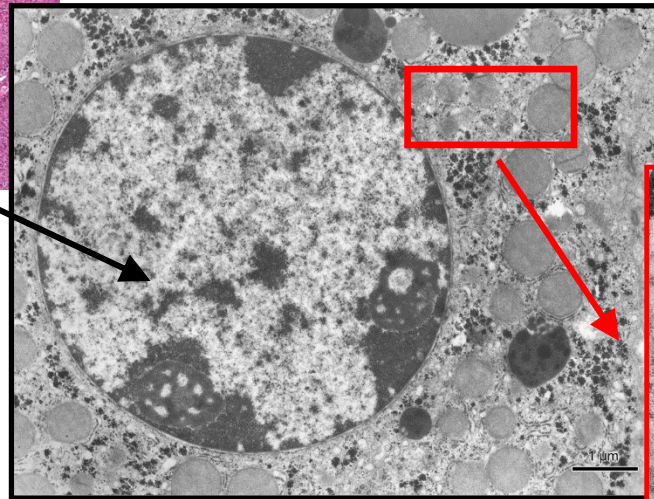
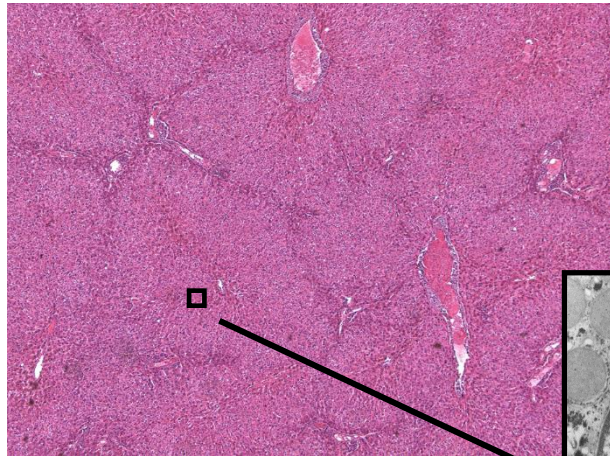
# HISTOLOGIE

- nauka o stavbě normálních, tj. zdravých buněk, tkání a orgánů na mikroskopické a submikroskopické úrovni
- **cytologie a obecná histologie**
- **speciální histologie** = mikroskopická anatomie (stavba orgánů jednotlivých systémů)
- význam histologických vyšetření v klinické praxi: onkologie a chirurgie, hematologie, patologie a soudní lékařství



# Histologie

- Rozlišovací schopnost oka –  $\sim 0,1 \text{ mm}$
- Rozlišovací schopnost SM –  $\sim 0,5 \text{ }\mu\text{m}$
- Rozlišovací schopnost EM –  $\sim 1,5 \text{ nm}$

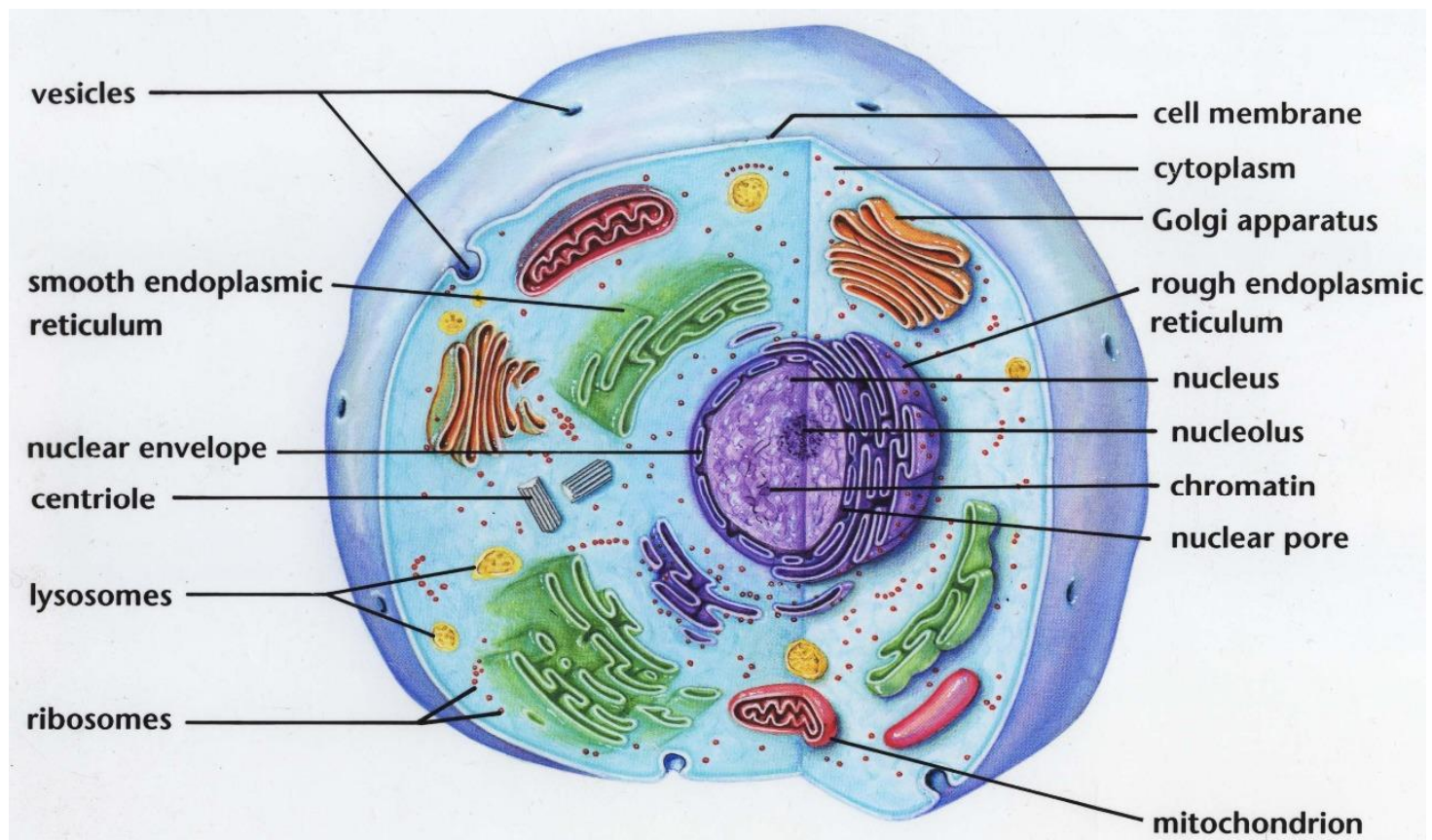




# Zpracování tkání a orgánů pro účely histologického vyšetření ve světelném mikroskopu (příprava trvalého histologického preparátu)

- **ODBĚR** vzorků
- **FIXACE** tkáňových bločků
- **PRANÍ**
- **ZALÉVÁNÍ** - (parafinové) bločky
- **KRÁJENÍ** - řezy
- **NAPÍNÁNÍ A LEPENÍ** řezů
- **BARVENÍ** řezů
- **MONTOVÁNÍ** (uzavírání)

# Buňka



# Buňka

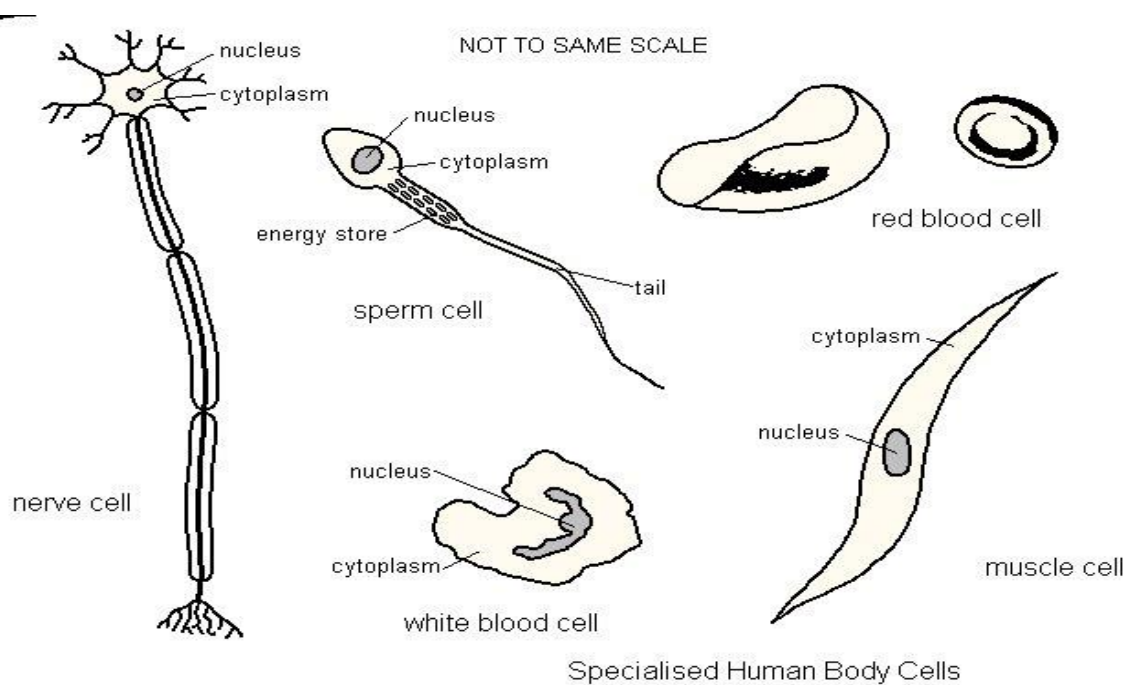
- Základní funkční a morfologická jednotka mnohobuněčného organismu, schopná samostatné existence in vitro za vhodných podmínek
- Velikost 10-30  $\mu\text{m}$ 
  - zrnkovité neurony v kůře mozečku 4-5  $\mu\text{m}$
  - erytrocyty 7,4  $\mu\text{m}$
  - Purkyňovy bb. v kůře mozečku nebo pyramidové bb. v kůře mozku 80 - 100  $\mu\text{m}$
  - oocyt 120  $\mu\text{m}$
  - megakaryocyt v kostní dřeni až 150  $\mu\text{m}$

# Buňka

- Životnost :

enterocyty cca 1-2 dny...leukocyty 5-7 dnů.....erytrocyty 120dní....

hepatocyty 1-2 roky .....neurony celý život (desítky let)

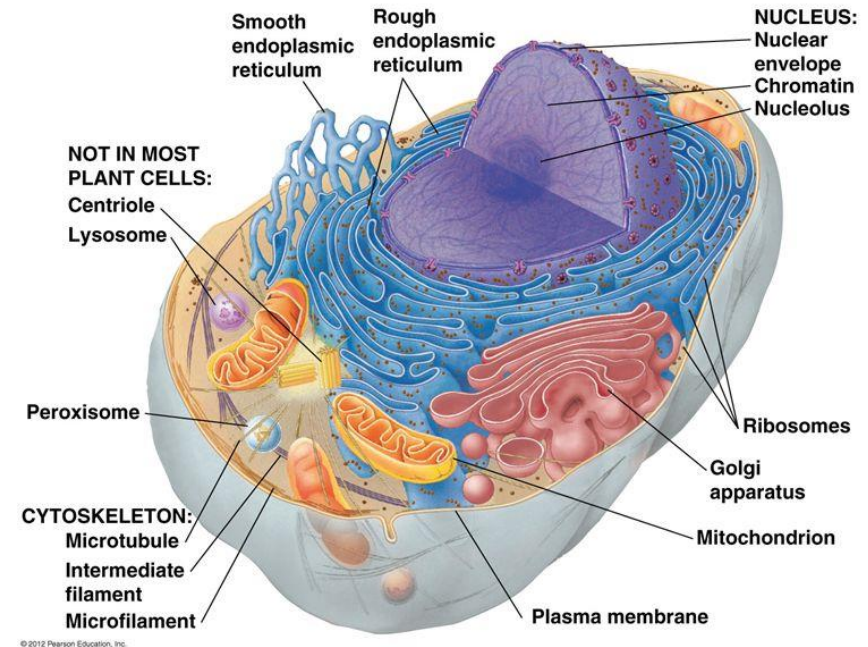


# Buňka

- Buněčná membrána
- Cytoplazma – cytosol
  - organely
  - cytoskelet

## Jádro

### A Eukaryotic Animal Cell



# Buňka

## Životní projevy :

- **pohyb** (intracelulární, ameboidní, bičíky a řasinky)
- **výměna látek** (příjem, metabolismus, výdej)
- **dráždivost**
- **růst**
- **rozmnožování – mitóza, meióza**
- **smrt – apoptóza, nekróza**

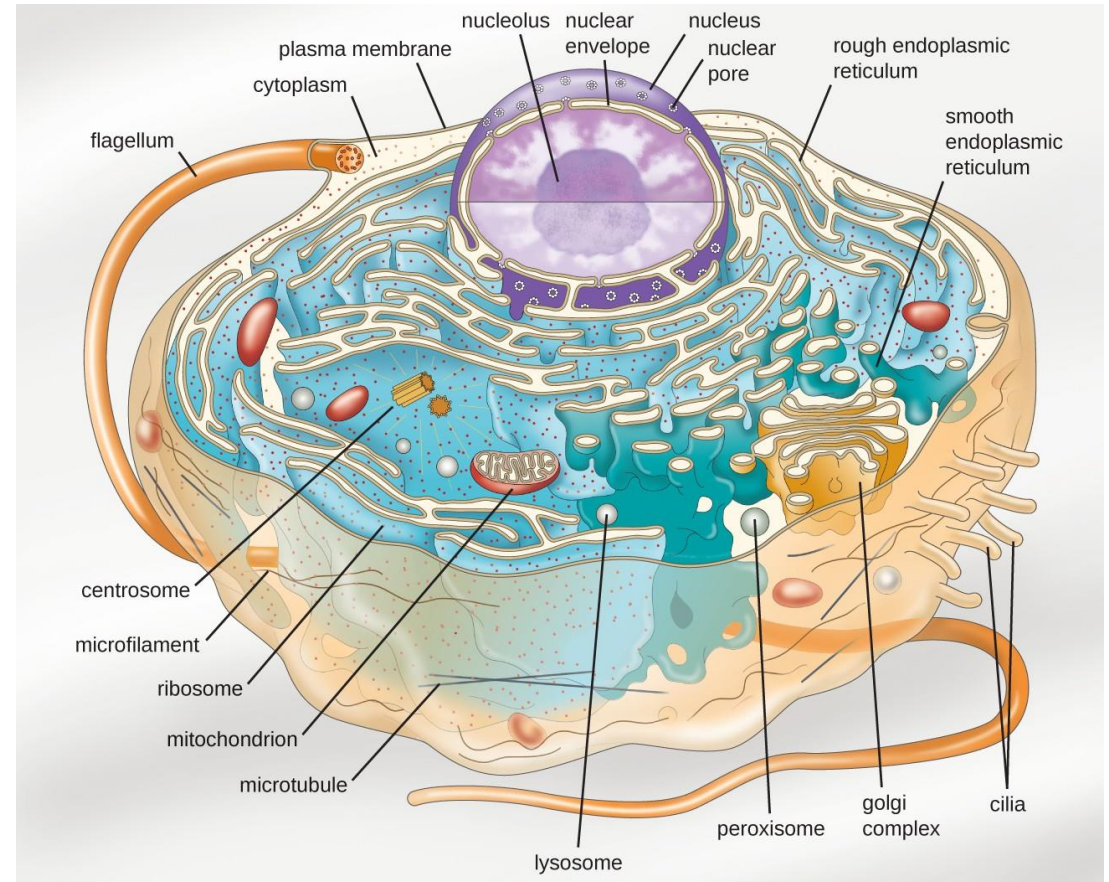


# Cytosol

koloidní systém o dvojm skupenství  
koloidů: gel a sol (mění se s hustotou  
sítí vláken a tělísek)

složení:

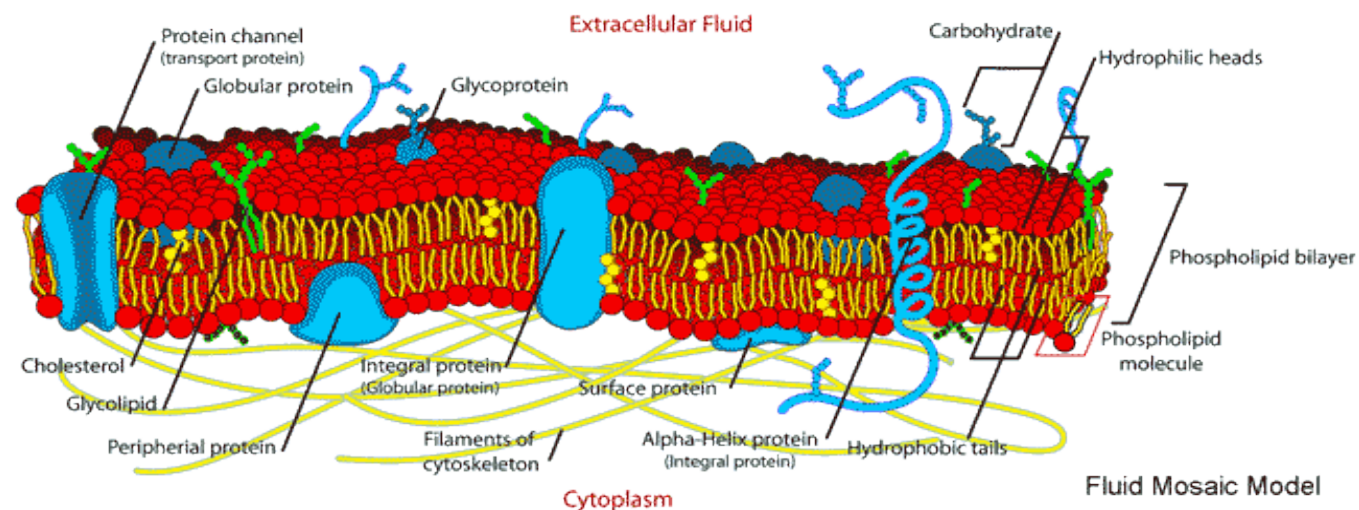
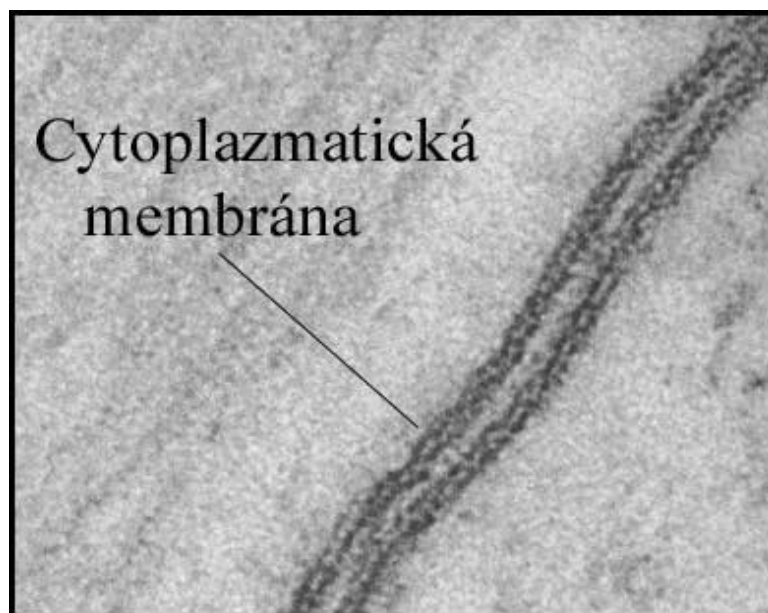
60% vody, 4,3% minerálních  
látek, 35,7% organických látek  
(sacharidy, lipidy, proteiny –  
albuminy, globuliny, AMK,  
fosfolipoproteiny).





# Buněčná membrána (plazmalema)

- biomembrána – **membránová jednotka**: fosfolipidy, proteiny, cholesterol
- glykokalyx
- tloušťka 7,5 – 10 nm

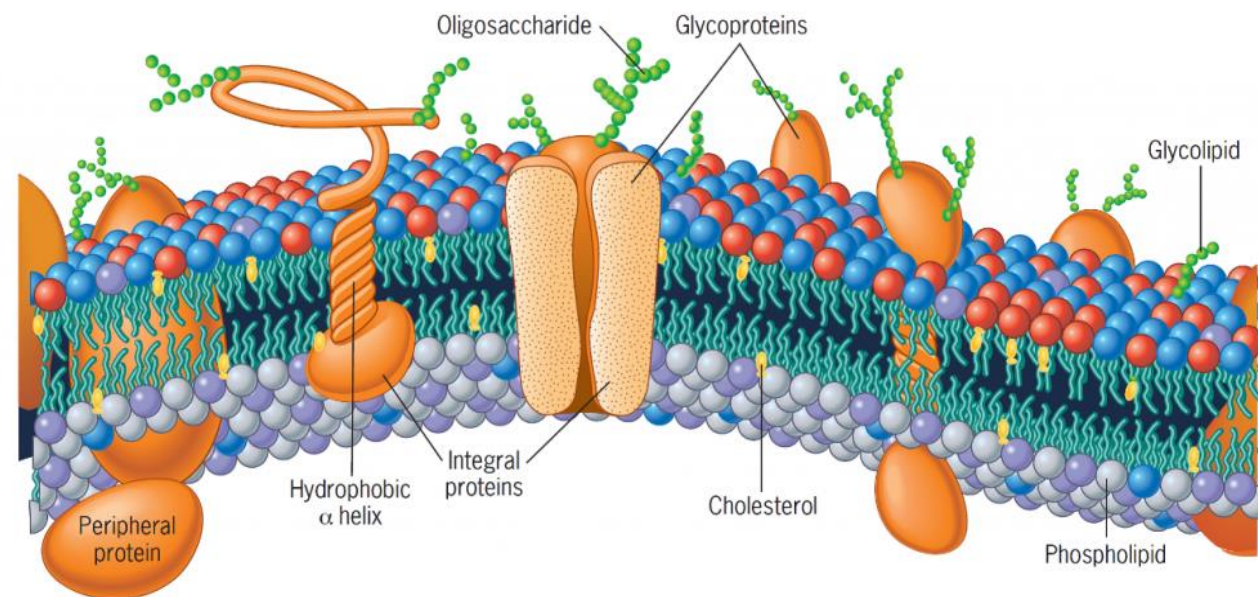


# Buněčná membrána

Funkce integrálních proteinů:

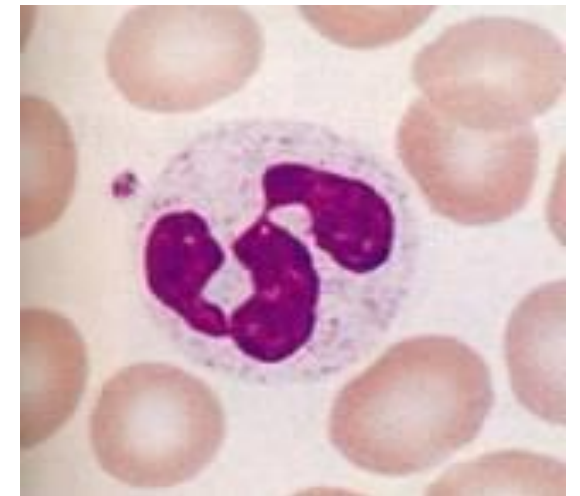
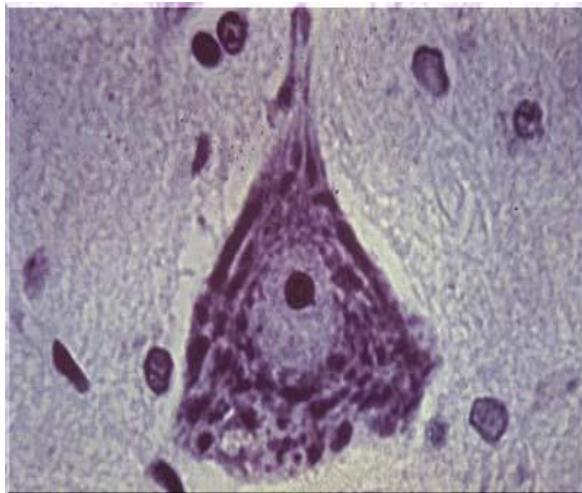
Pumpy (*aktivní transport, vyžaduje energii*)

- Kanály (*selektivní regulace toku látek*)
- Receptory (*specifická vazba molekul*)
- Transducery (*přenos informací do buňky*)
- Enzymy (*na membráně mitochondrií*)
- Strukturní proteiny

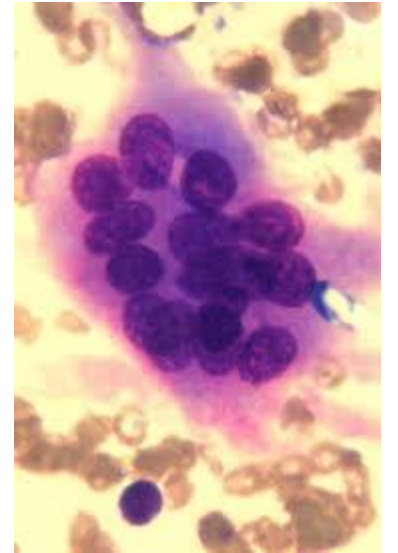
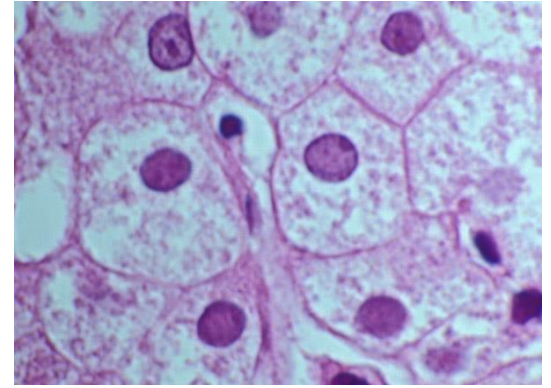
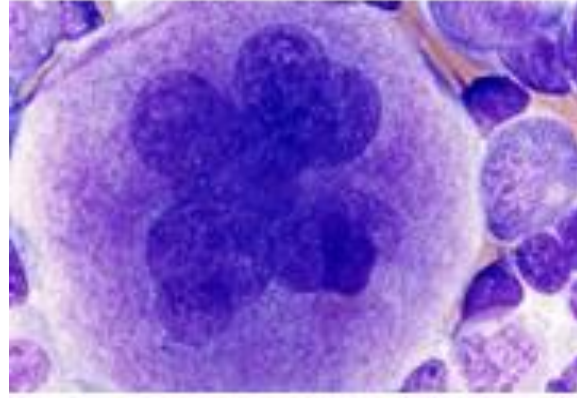
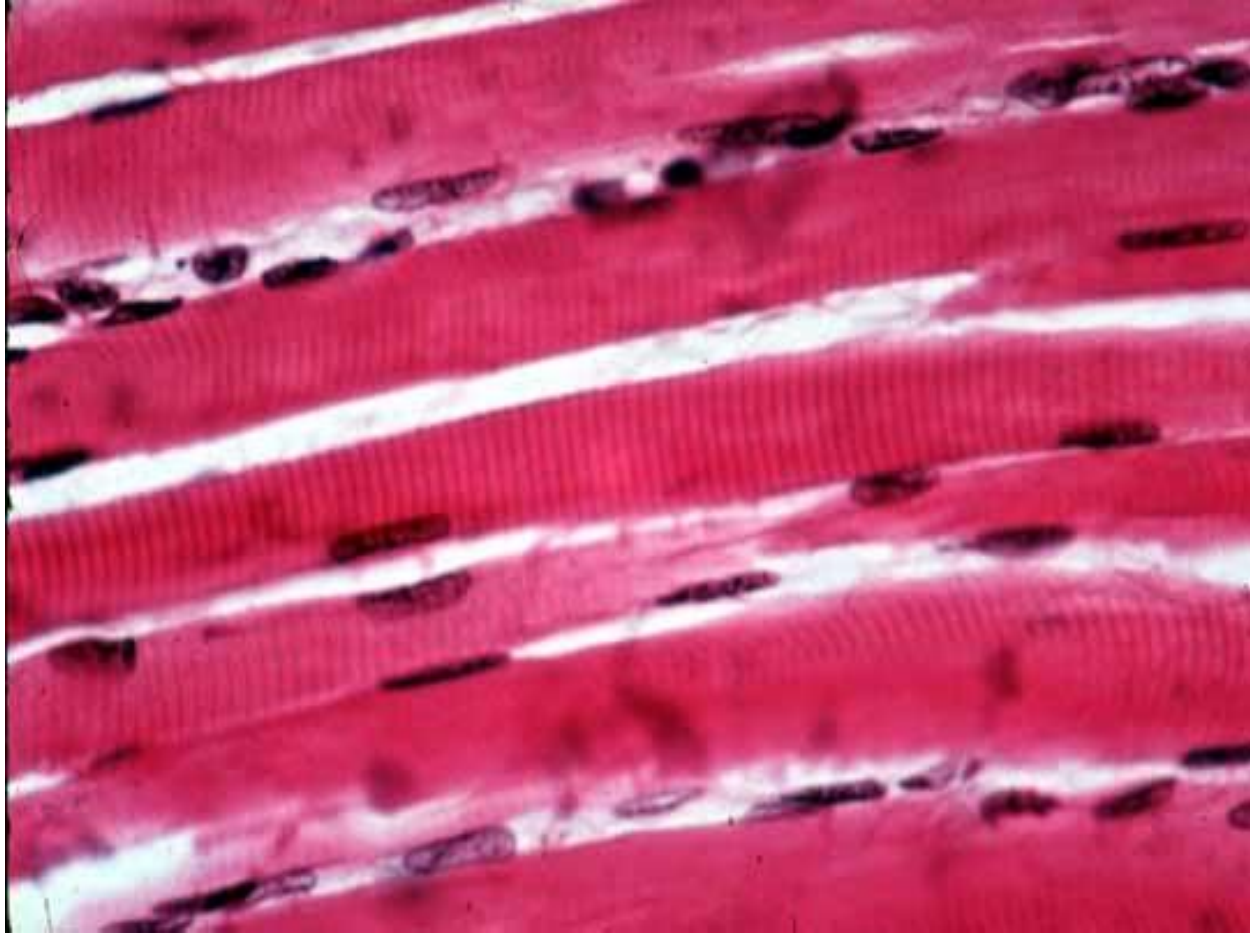


# Jádro

- řídí a kontroluje činnost buňky, která je zakódována v chromosomech
- Počet jader v buňce (obvykle: 1, hepatocyty: 2, osteoklasty: 50, svalové vlákno kosterní: 20 - 40/1 mm délky, lidské erytro-cyty jsou bezjaderné)
- Velikost jádra (ve většině bb. 5 – 15  $\mu\text{m}$  )
- Tvar jádra (odpovídá zhruba tvaru buňky; jádro může být laločnaté, segmentované,..)
- Vzhled jádra

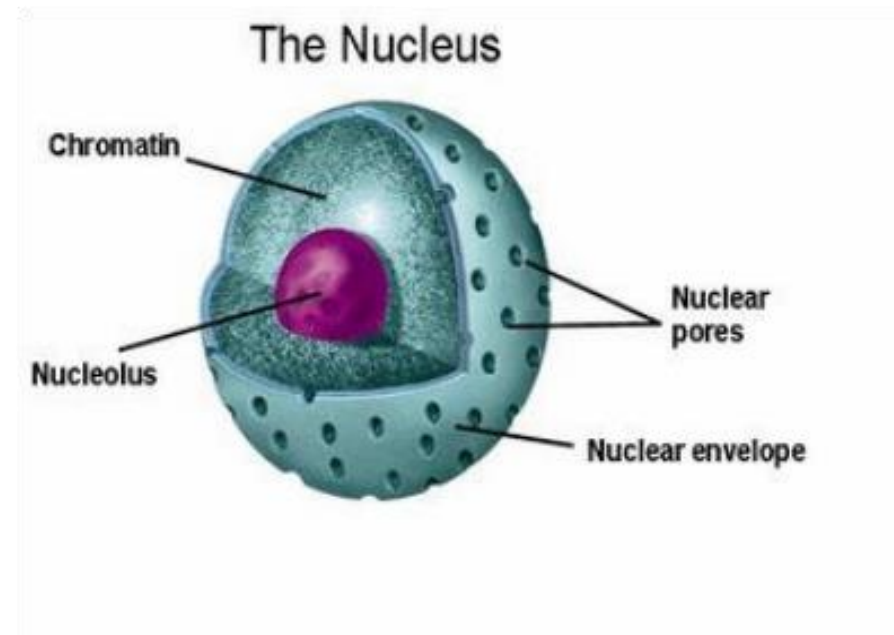






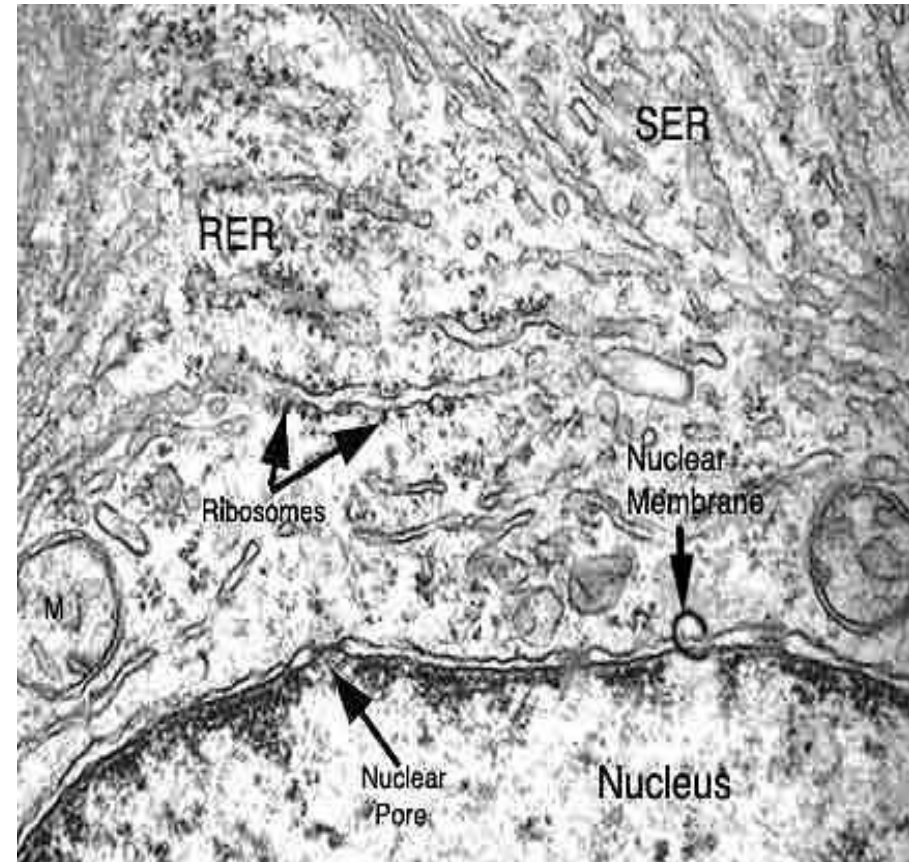
# Stavba jádro

- Jaderný obal – karyolema
- Jaderná matrix – karyoplazma (nukleoplazma)
- Chromatin (v interfázi) / chromosomy (při dělení)
- Jaderný skelet
- Jadérko(a)

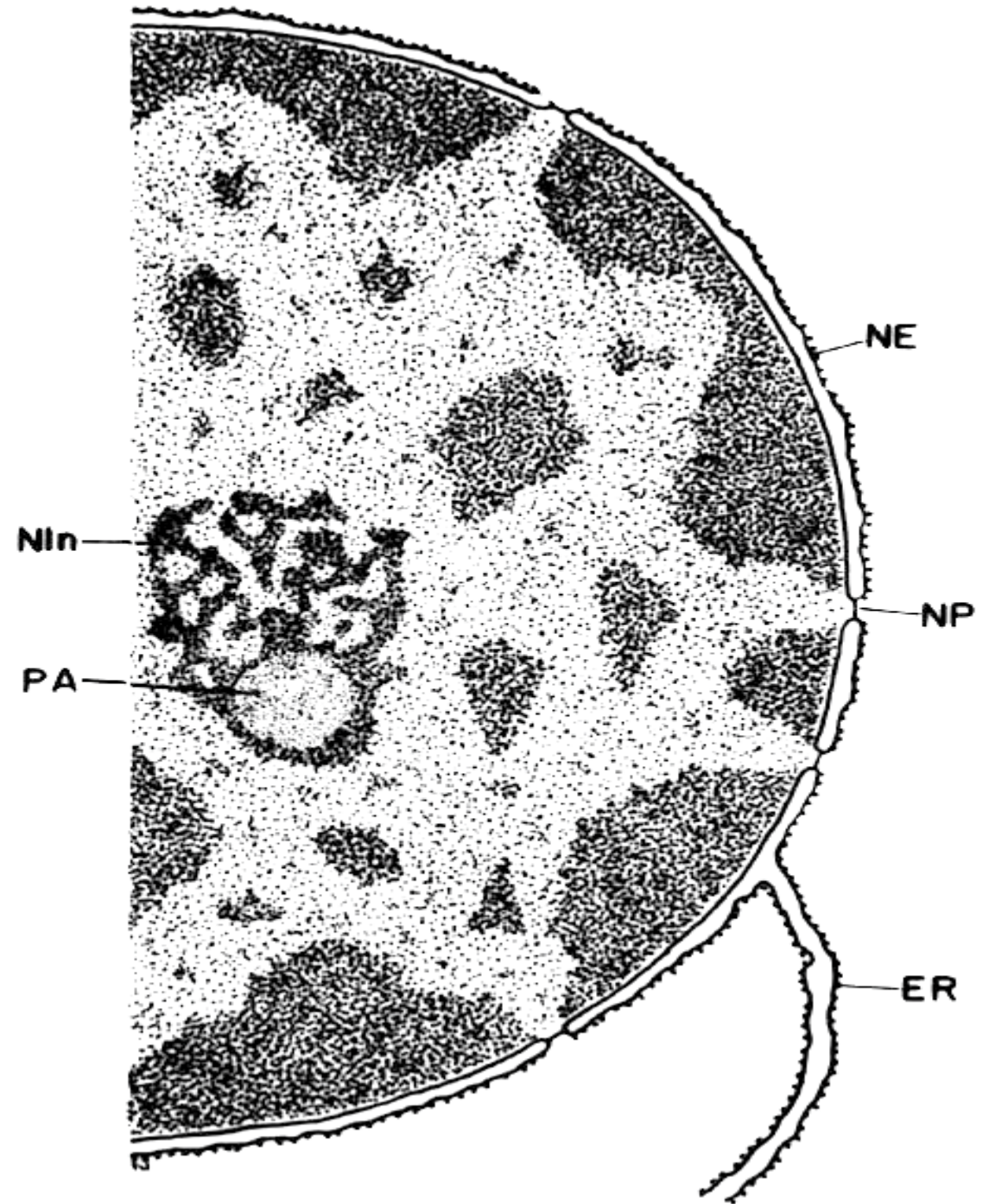


# Jaderný obal

- vnější jaderná membrána (+ ribosomy)
- perinukleární prostor (40 – 70 nm šířka)
- vnitřní jaderná membrána (+ jaderná lamina)
- jaderné póry (60 – 70 nm  $\varnothing$ , s diafragmou a centrálním granulem)



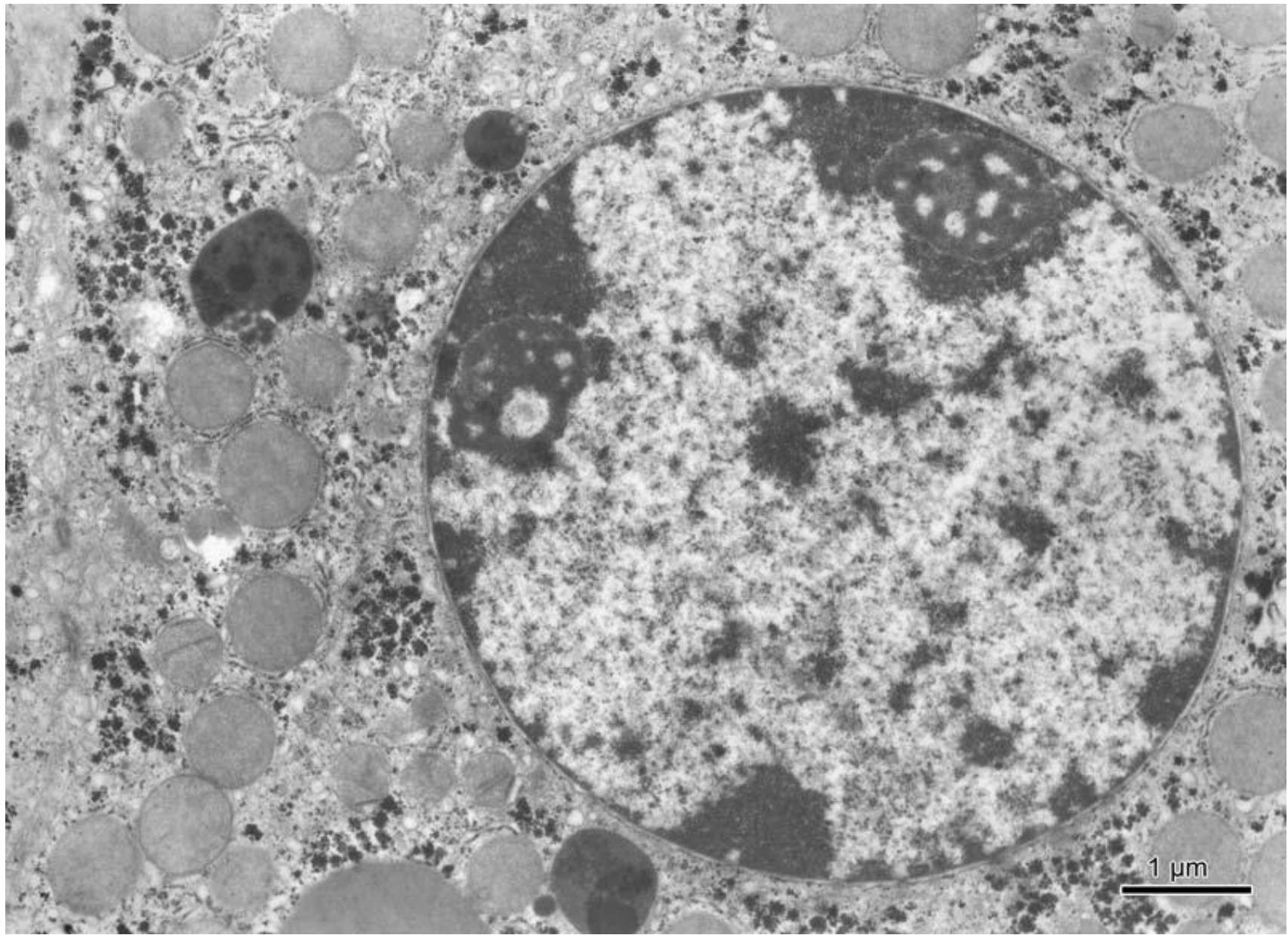






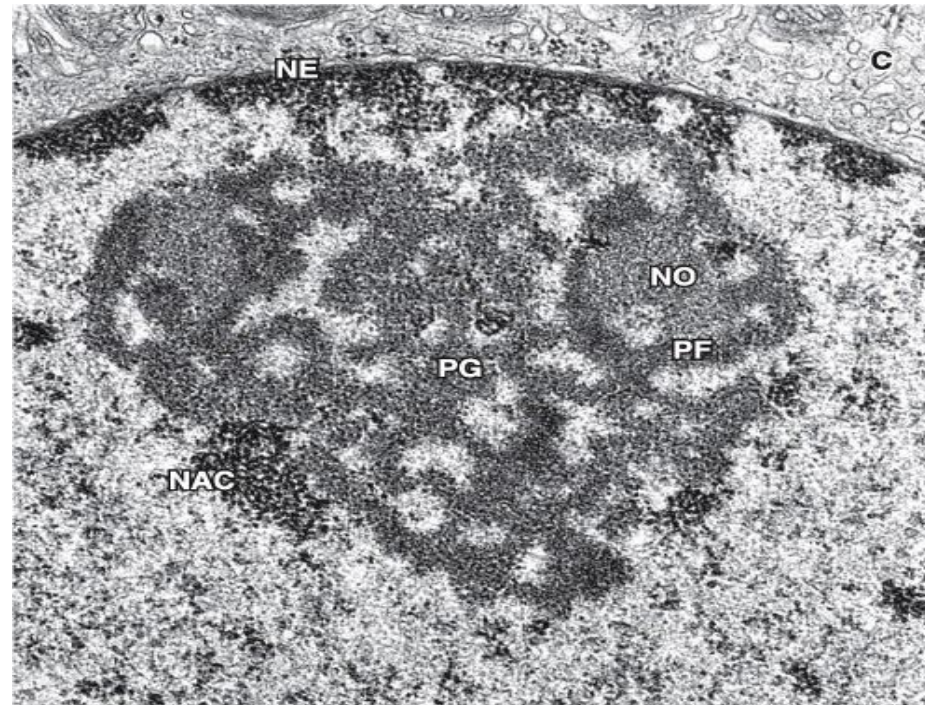
# Chromatin

- Dekondenzované chromozomy v interfázi
- Heterochromatin – **tmavé hrudky** (spiralizované a dehydratované úseky chromosomů)
  - marginální heterochromatin
  - s jadérkem asociovaný (perinukleolární) heterochromatin
  - karyosomy
- Euchromatin – **světlý, nebarví se**  
(aktivní úseky chromosomů s intenzívní syntézou RNK)



# Jadérko (nucleolus)

- Počet: nekonstantní (1 – více), mizí v profázi mitózy, objeví se v telofázi
- Velikost: 1 – 2  $\mu\text{m}$
- Tvar: sférický
- Složení: RNA, proteiny, DNA
- **jadérko není ohraničeno žádnou membránou!!!!**



Copyright ©2006 by The McGraw-Hill Companies, Inc.  
All rights reserved.

# Jadérko

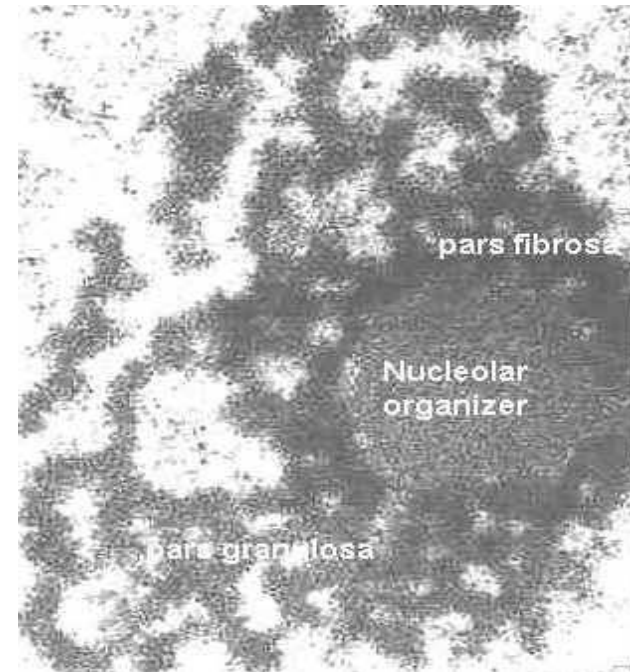
- **pars granulosa** – RNA granula (preribosomy) o  $\varnothing$  15-20 nm,
- **pars fibrosa** – RNA fibrily o  $\varnothing$  3-5 nm,
- **fibrilární centra** – DNA nukleolárního organizátoru

Typy jadérek podle aktivity buňky :

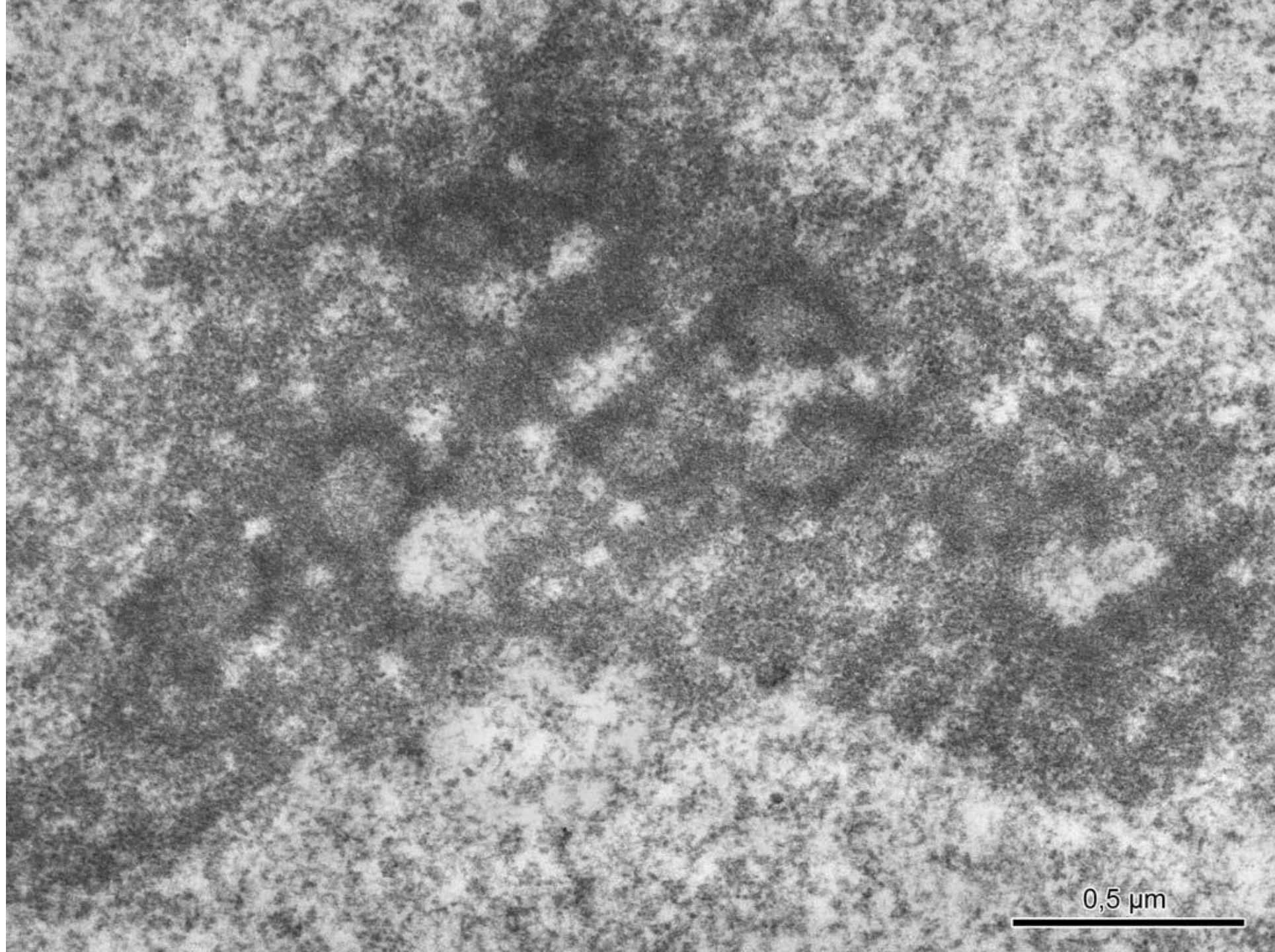
**Kompaktní typ** – velká aktivita, hodně fibrilárních center, promíšeny fibrilární a granulární komponenty

**Retikulární typ** – menší aktivita, méně center, zato větších, rozeznatelná fibrilární a granulární komponenta – anastomózující pentlice, nukleonemata

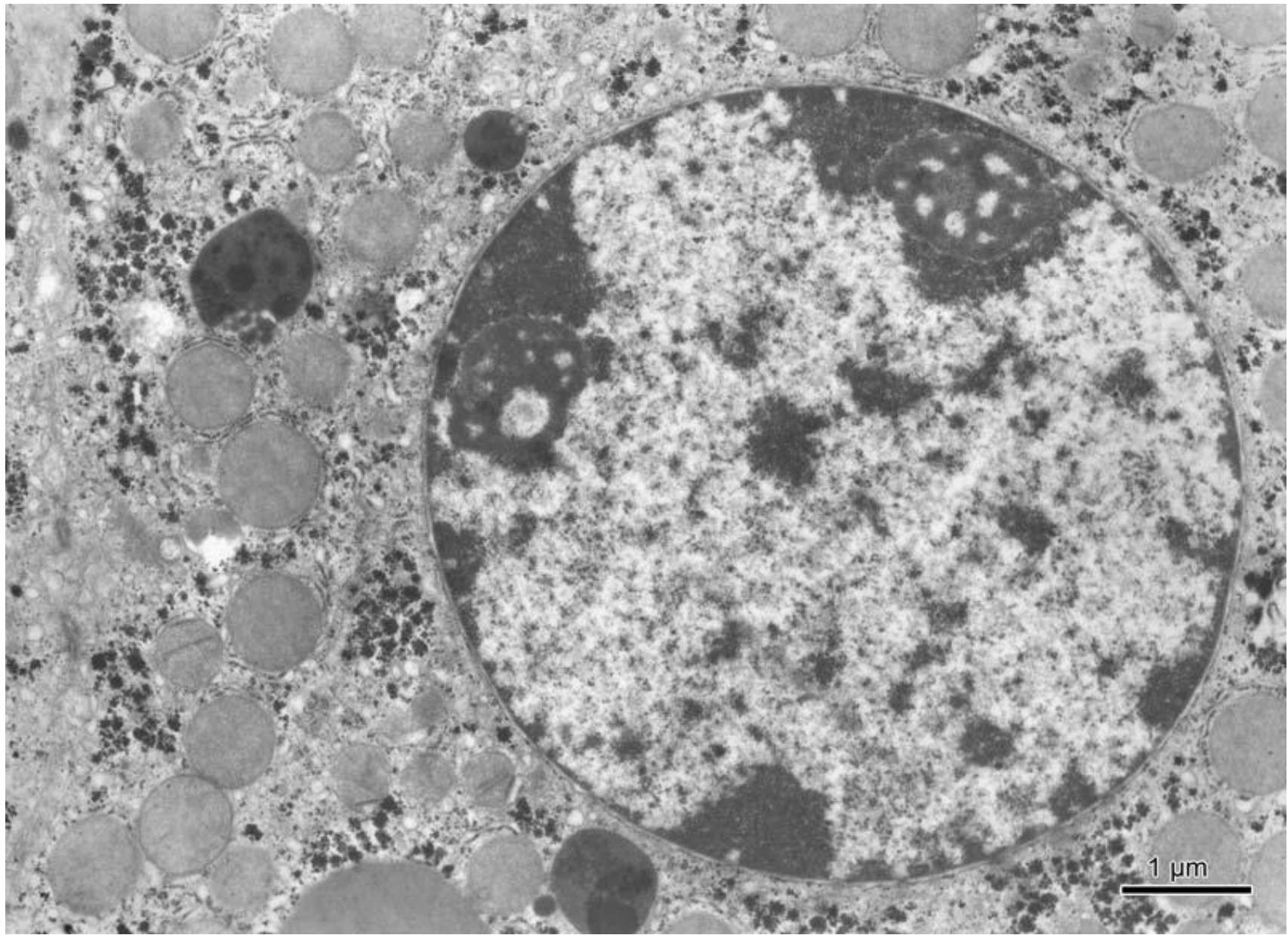
**Prstenčitý typ** – v buňkách se zastavenou proteosyntézou, jedno velké fibrilární centrum uprostřed jadérka







0,5 μm





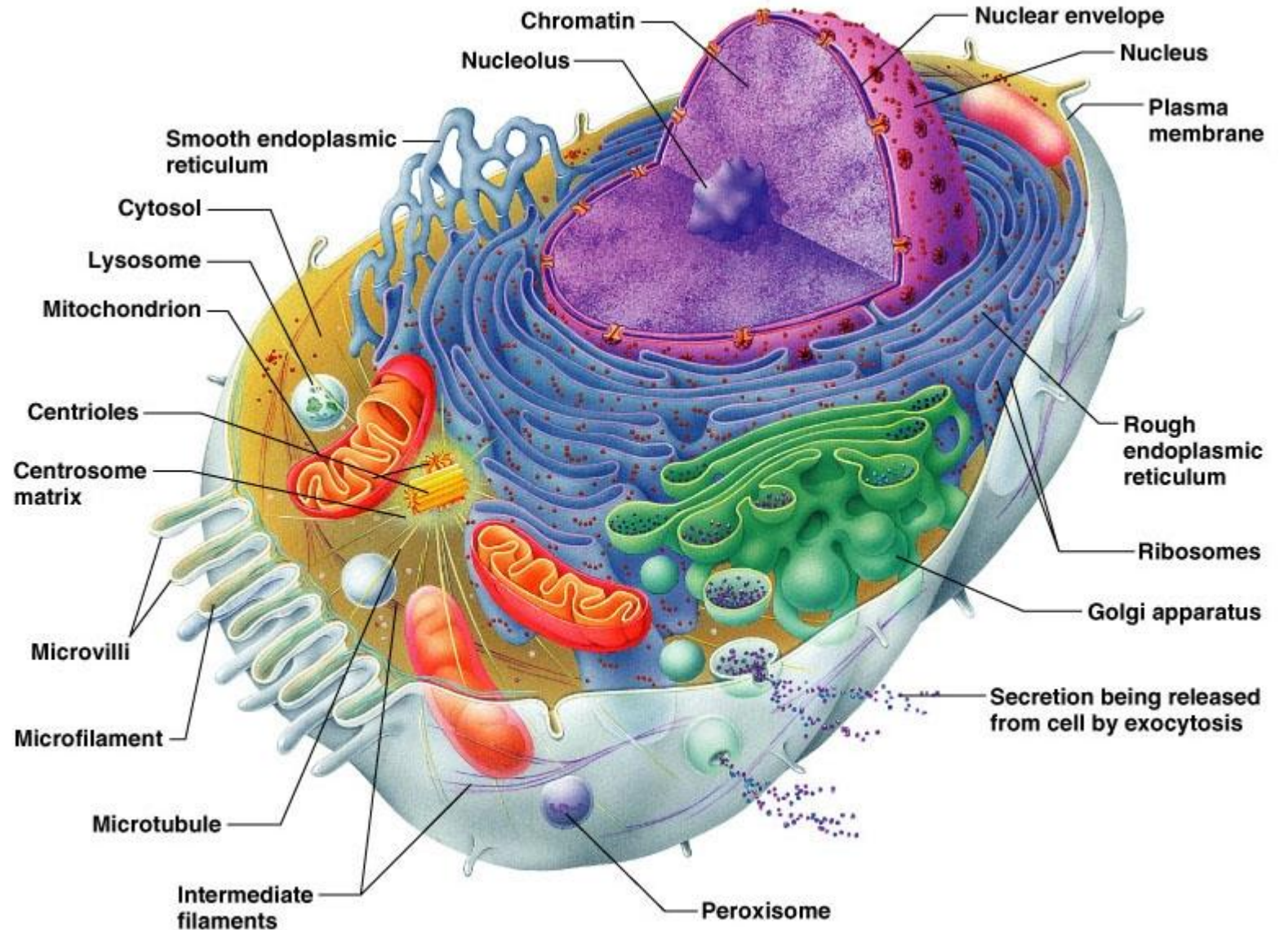
# Organely

## Membránové

- Mitochondrie
- Endoplazmatické retikulum
- Golgiho aparát
- Lyzosity a endosomy
- Peroxysomy

## Bez membrány

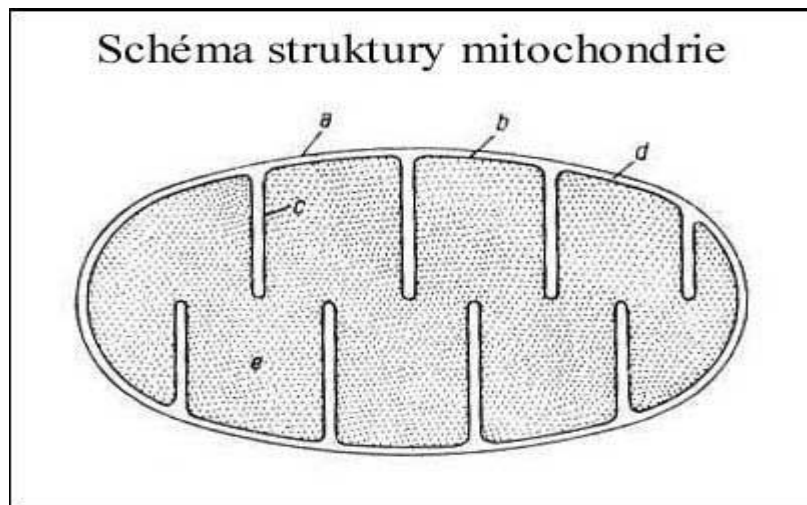
- Ribosomy
- Centrioly



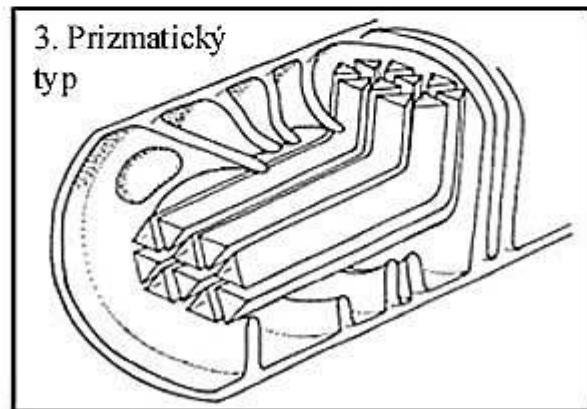
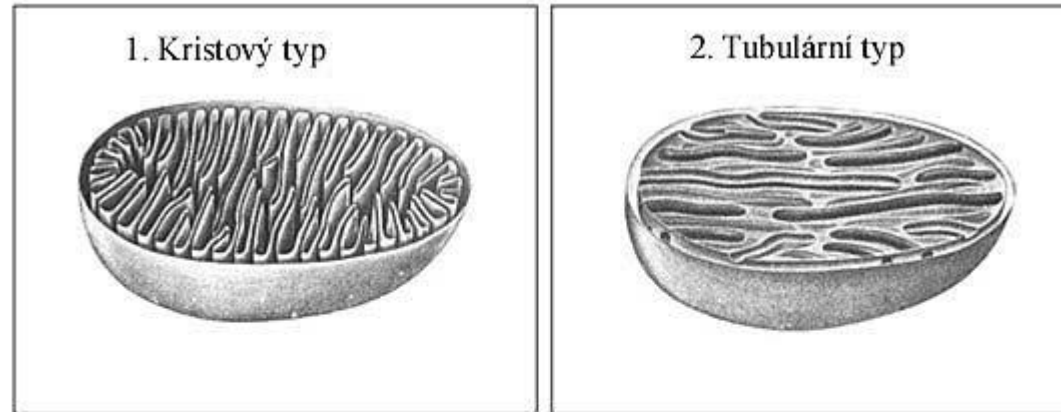


# Mitochondrie

- Tvar: kulatý, oválný (až vláknitý)
- Velikost:  $\varnothing$  0,5  $\mu\text{m}$ , protáhlé – 1-10  $\mu\text{m}$
- Počet: různý dle metabolické aktivity buňky a jejich nároků na dodání energie (*např. v jaterní buňce 1000 – 2000 mitochondrií*)

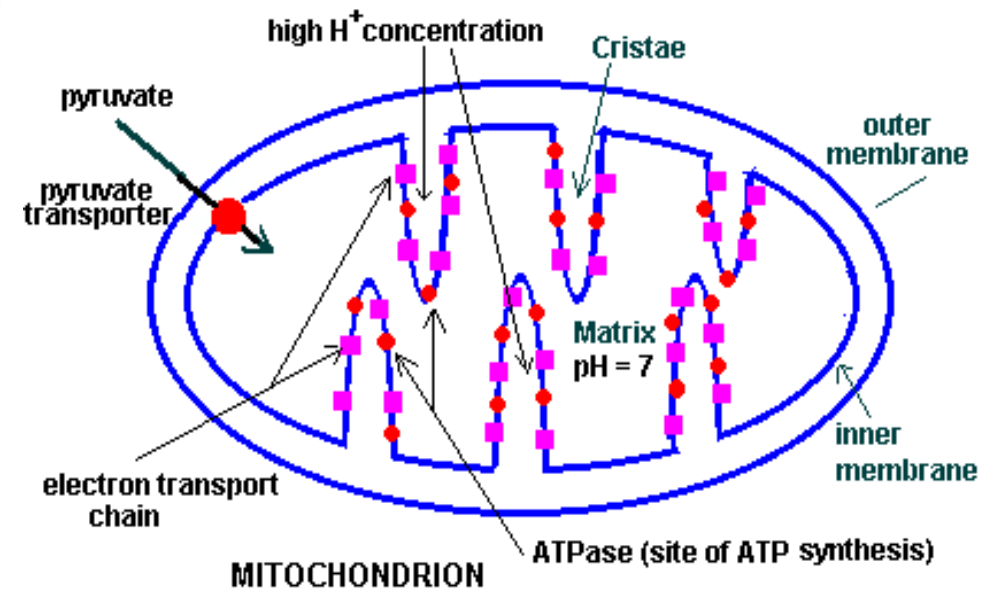


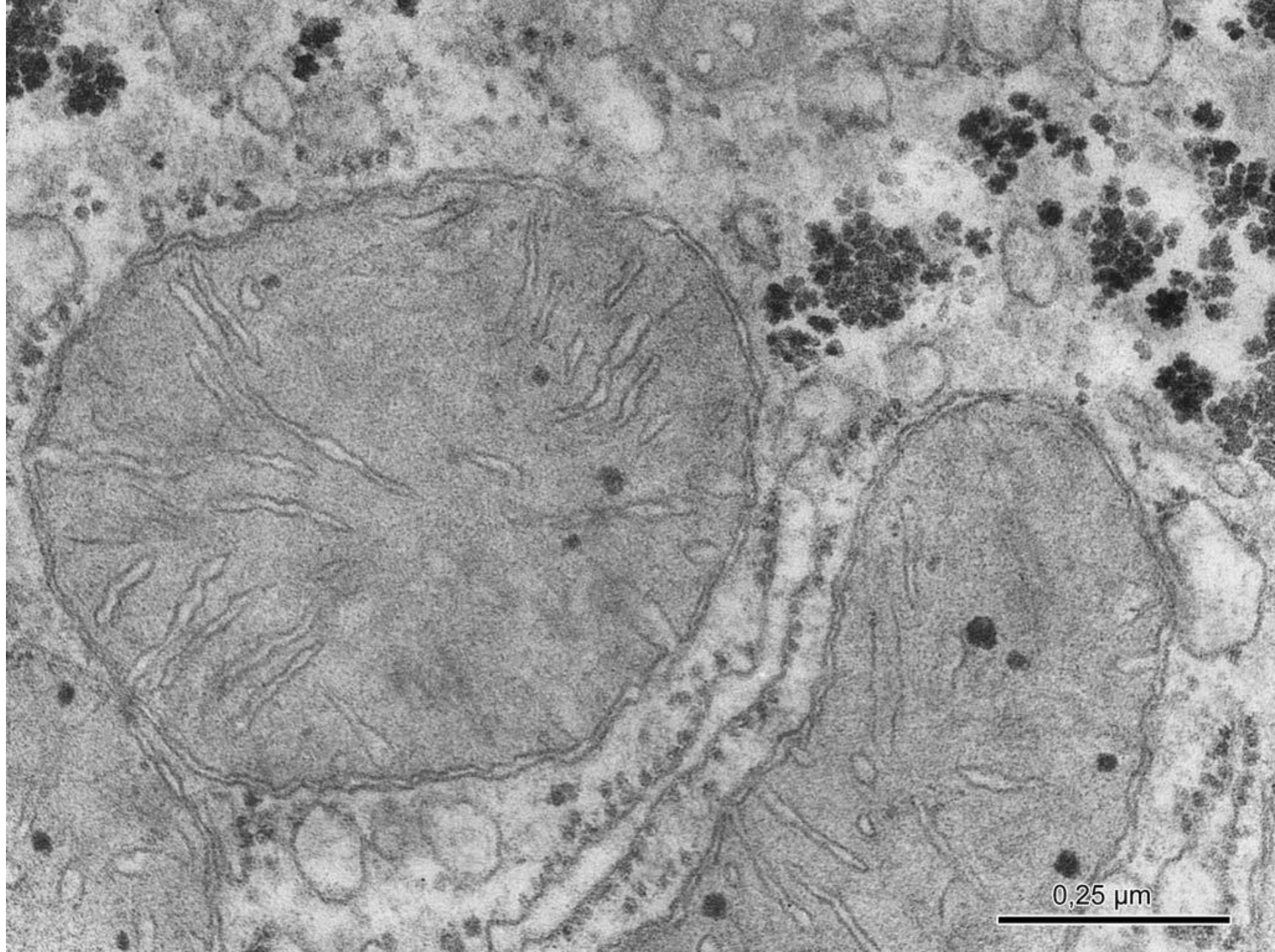
# Mitochondrie



V matrix + elementární částicích:  
**enzymy** Krebsova cyklu, dýchacího řetězce a oxidativní fosforylace

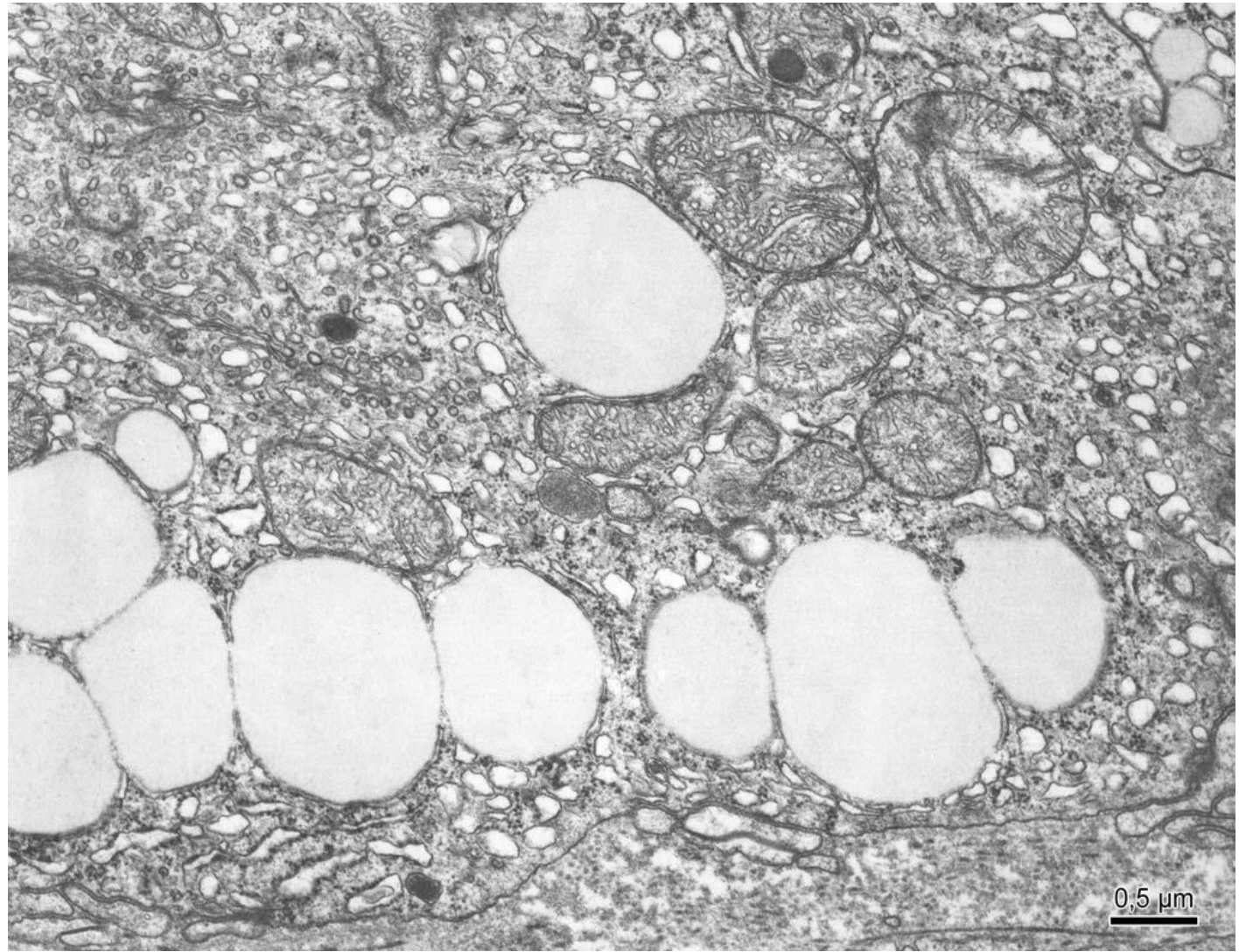
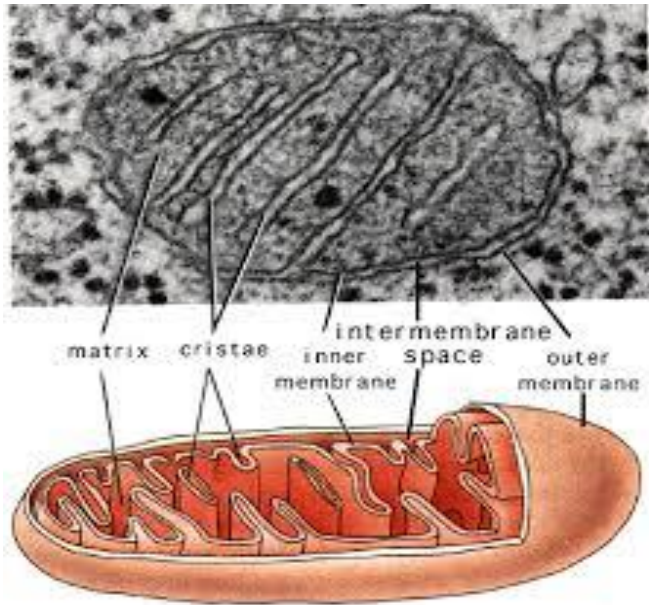
Hlavní funkce Mi:  
**uvolňování energie z ATP**





0,25 μm



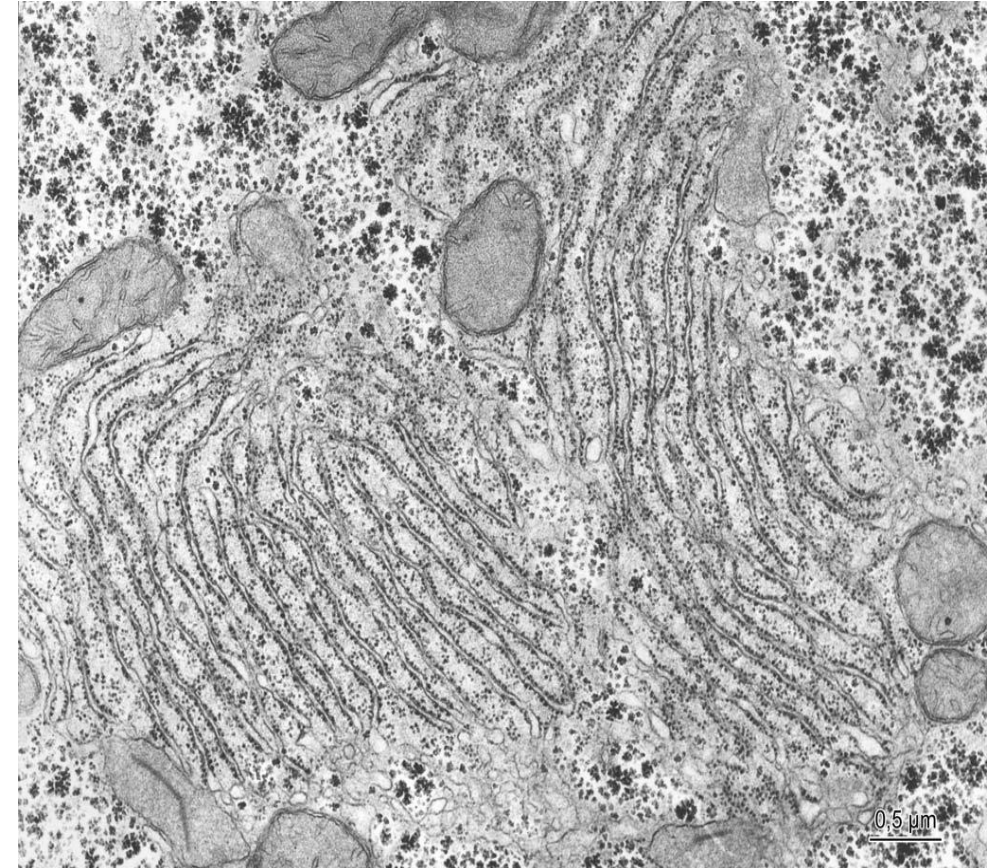
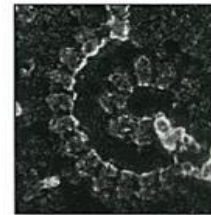
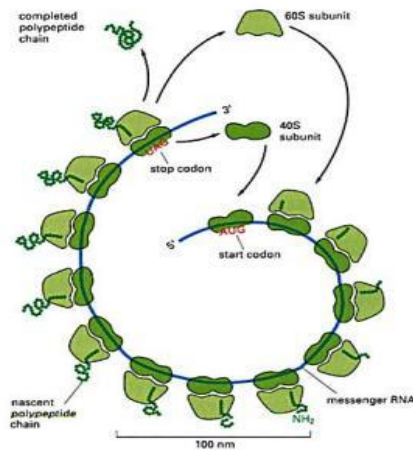
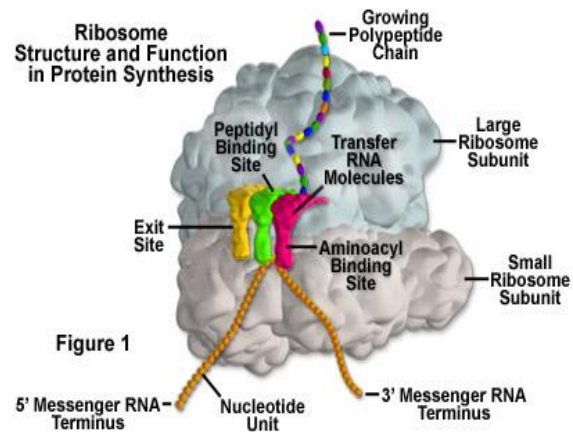




# Ribosomy

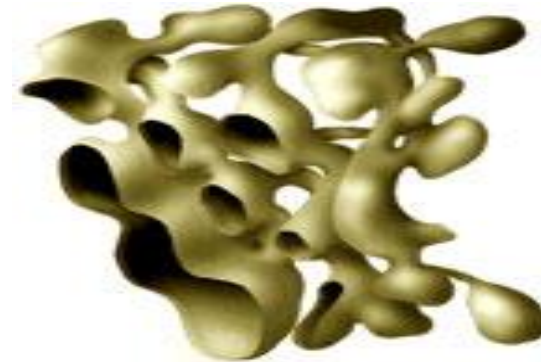
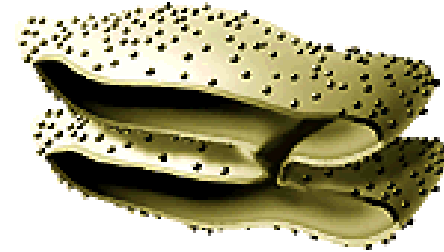
Tělíska složená ze 2 podjednotek

- Velikost ribosomu: 20 nm Ø
  - volné ribosomy
  - polyribosomy
  - ribosomy na endoplazmatickém retikulu



# Endoplazmatické retikulum

- Zrnité (granulární) ER – GER:  
systém plochých, anastomozujících  
cisteren + (poly)ribosomy reversibilně  
vázané na membránu
- Hladké (agranulární) ER – AER:  
systém tubulů a váčků  
s membránou bez ribosomů





# Endoplasmic Reticulum

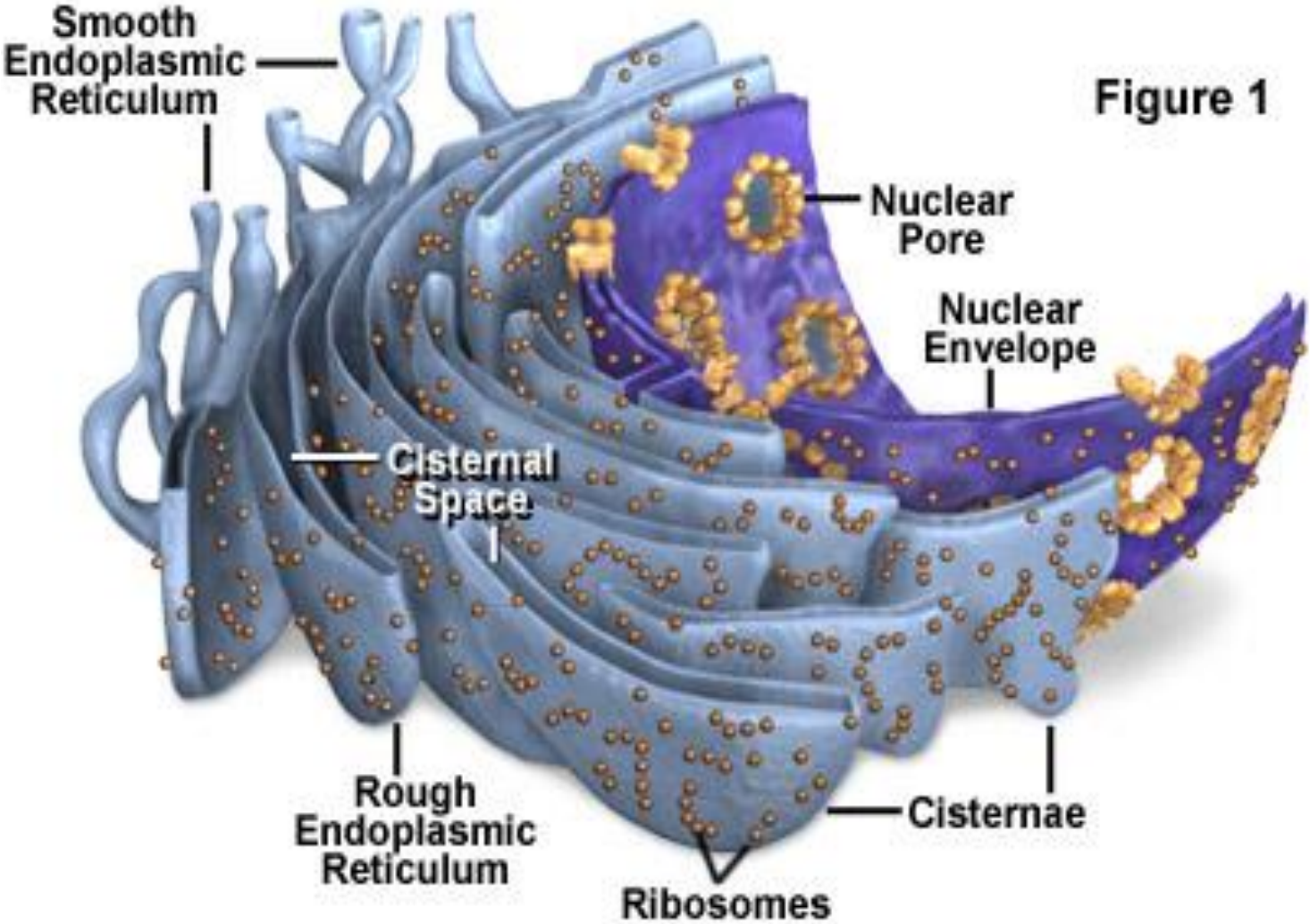
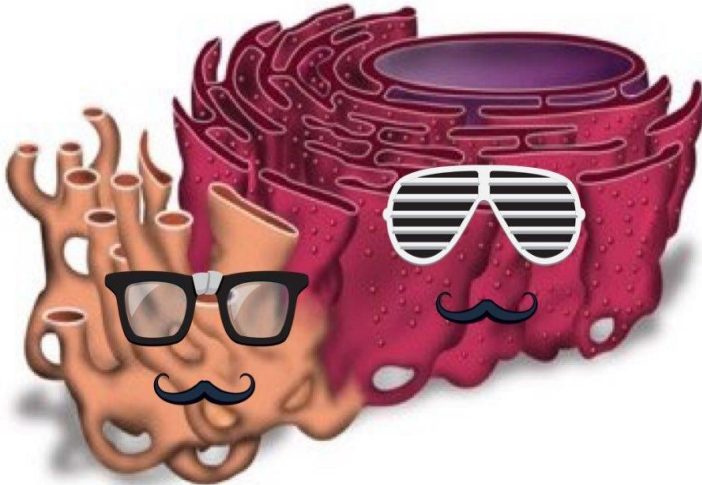


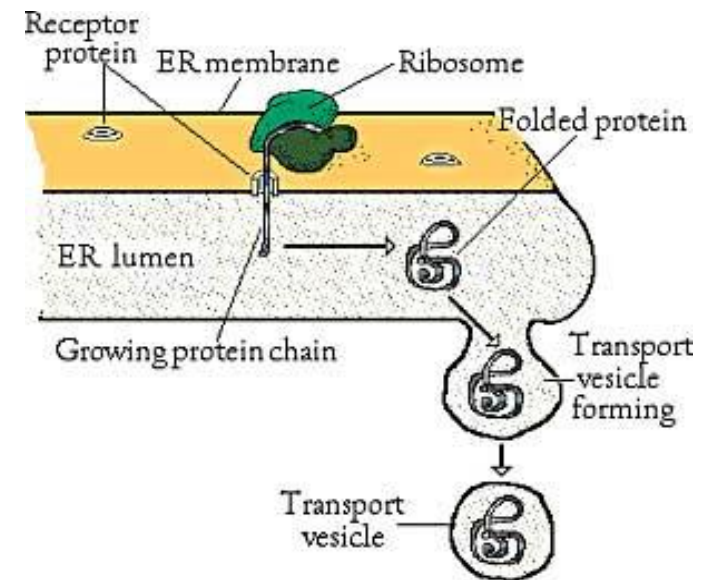
Figure 1

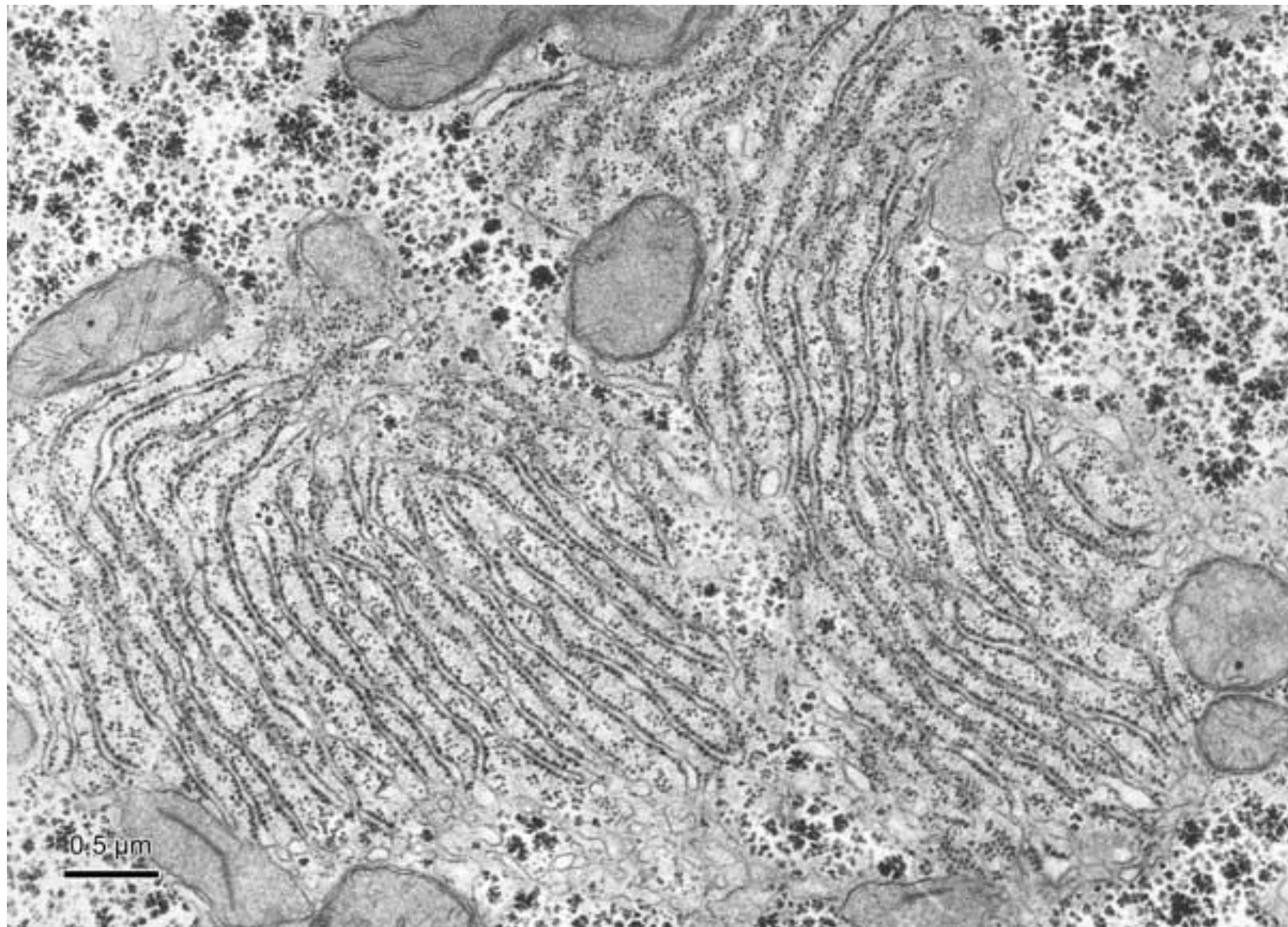




# Granulární endoplazmatické retikulum

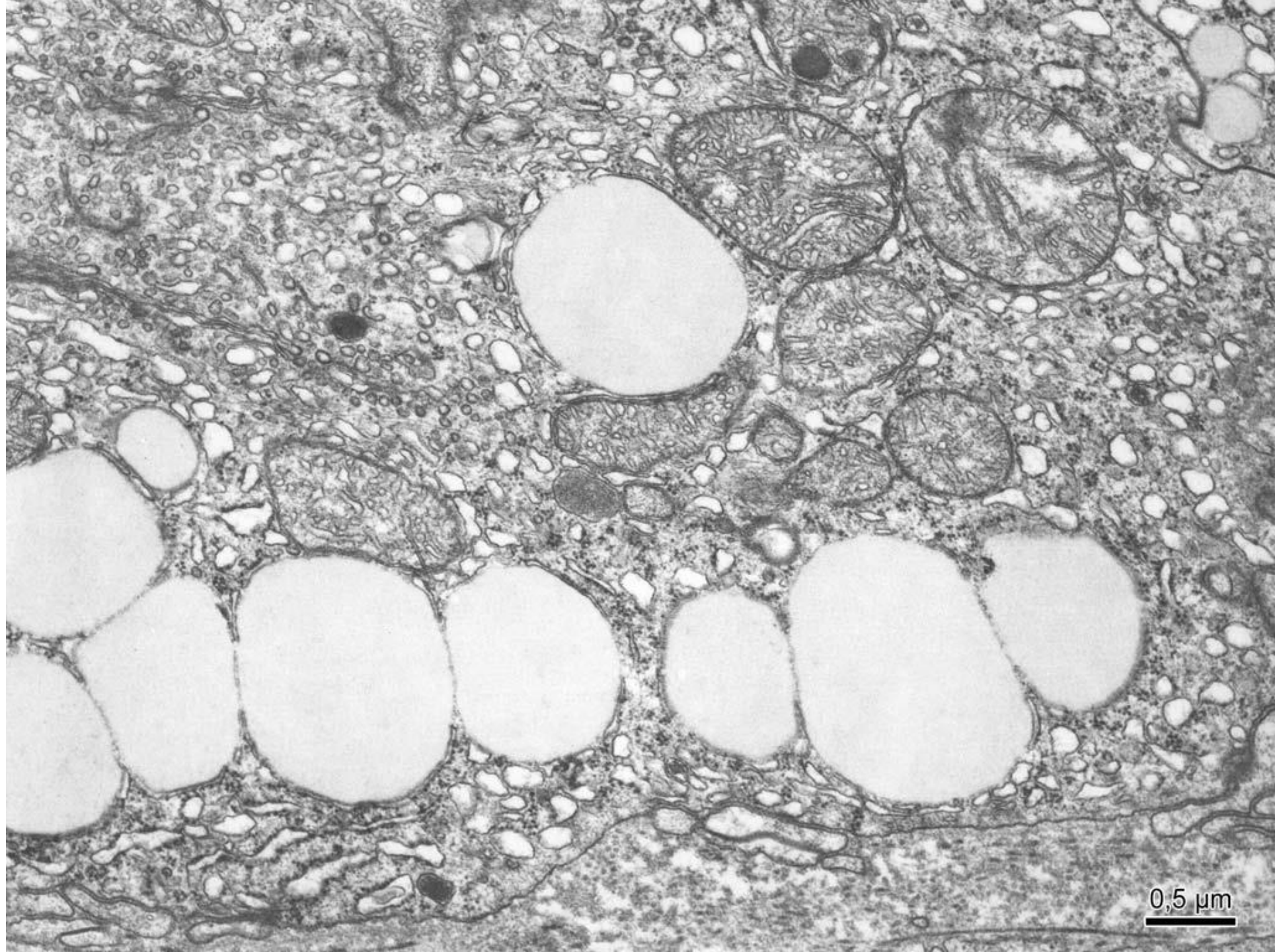
- GER – proteosyntéza (Ri) a transport proteinů do GA (transportními váčky)
- v kooperaci s GA:
  - intracelulární skladování (primární lyzosity a specifická granula leukocytů)
  - dočasné intracelulární skladování určené pro následný transport mimo buňku (sekreční zrna)





# Agranulární endoplazmatické retikulum

- AER – v buňkách:
  - syntetizujících **steroidy** (bb. kůry nadledvin, Leydigovy buňky varlete, bb. žlutého tělíska)
  - odbourávajících **glykogen** (jaterní buňky)
  - syntetizujících **HCl** (krycí buňky žaludečních žláz)
  - svalových (jako tzv. sarkoplazmatické retikulum, které obsahuje **Ca ionty**)



0,5 μm

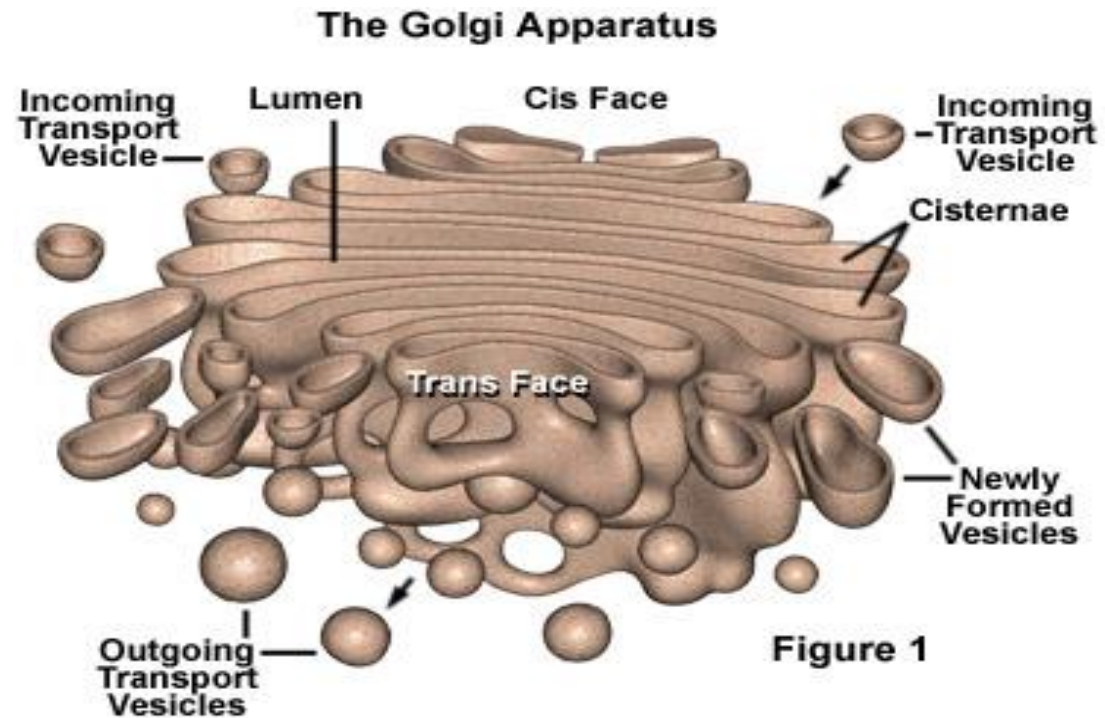


# Golgiho aparát

- Systém hladkých membrán, ohraničujících:

1. **cisterny** (5-20)  
(*dictyosom*)
2. **vesikuly**
3. **vakuoly**

*Polarita GA: cis, trans*



# Golgiho aparát

- transport proteinů z GER:

transportními váčky



Strana konvexní – cis face  
(vstupní /forming face/)

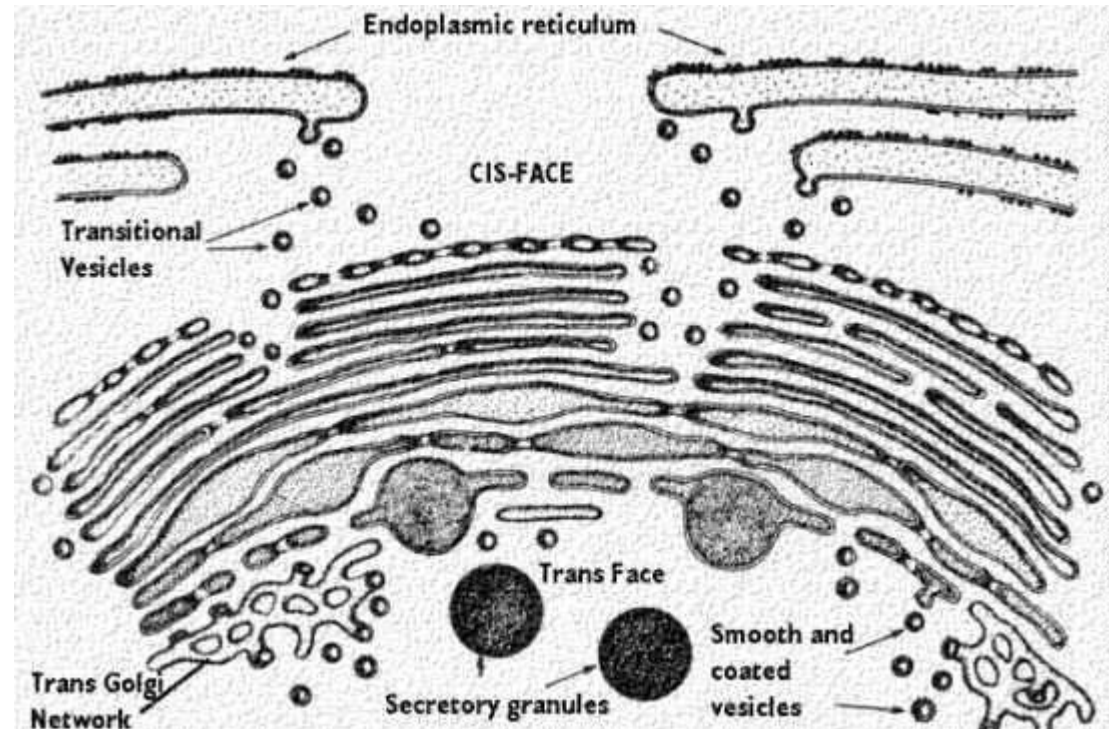
Strana konkávní – trans face  
(maturační /maturing face/)

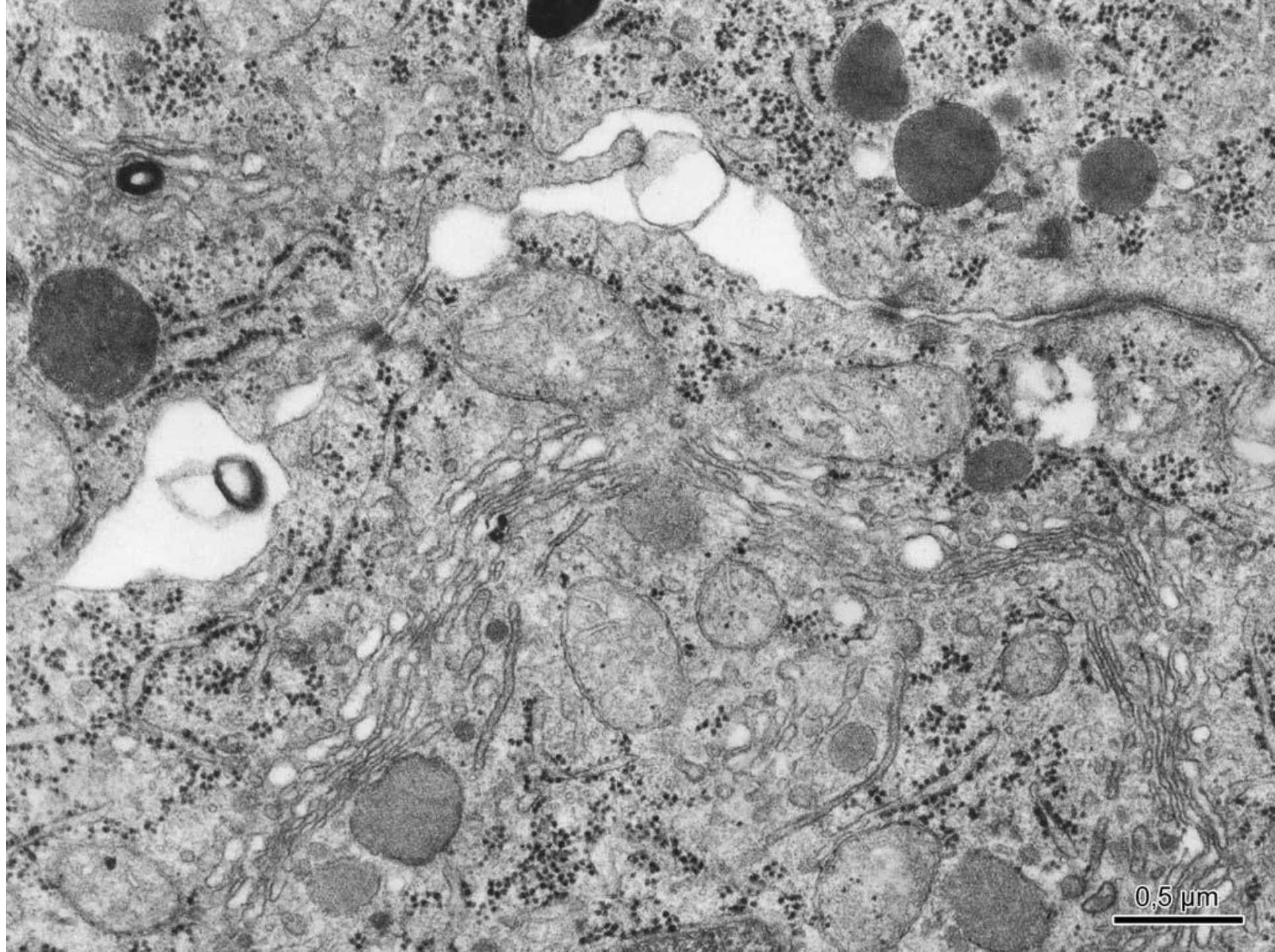


kondenzační vakuoly



sekreční zrna    lyzosity

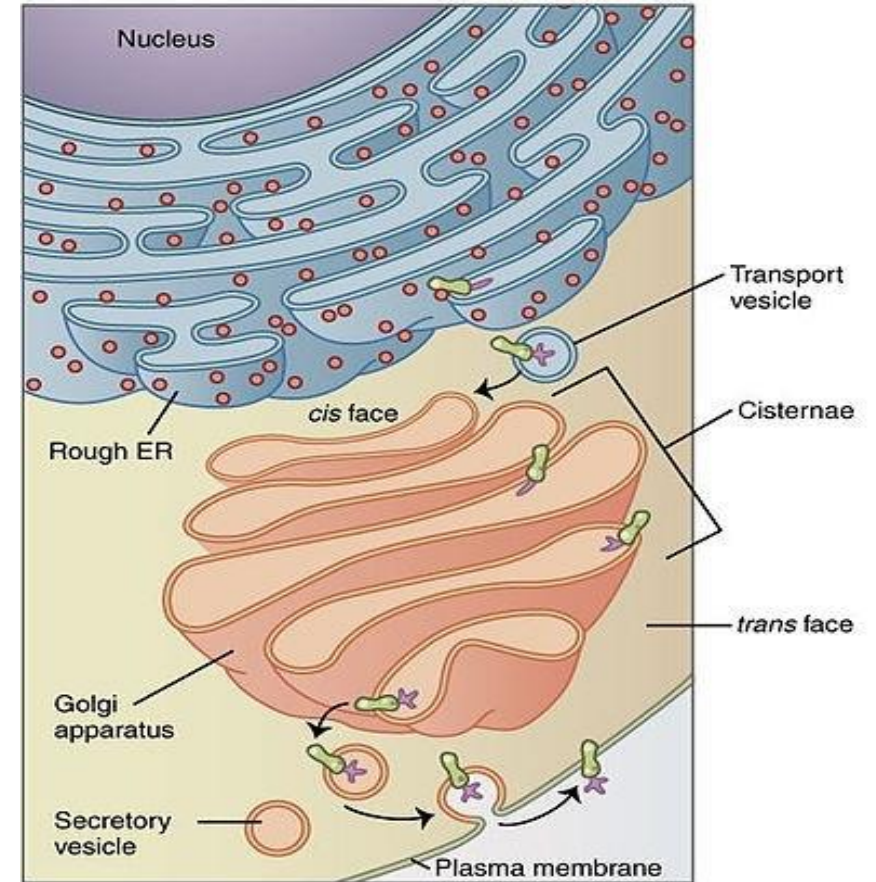






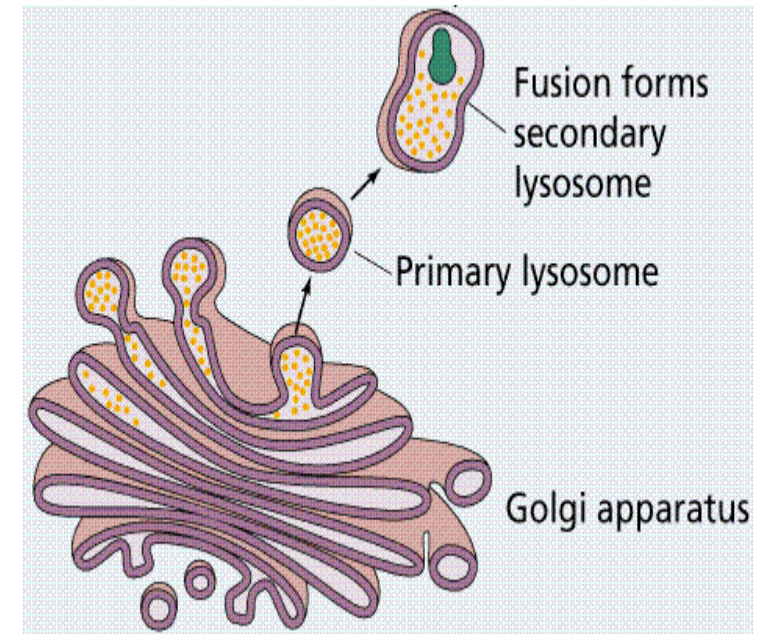
# Golgiho aparát

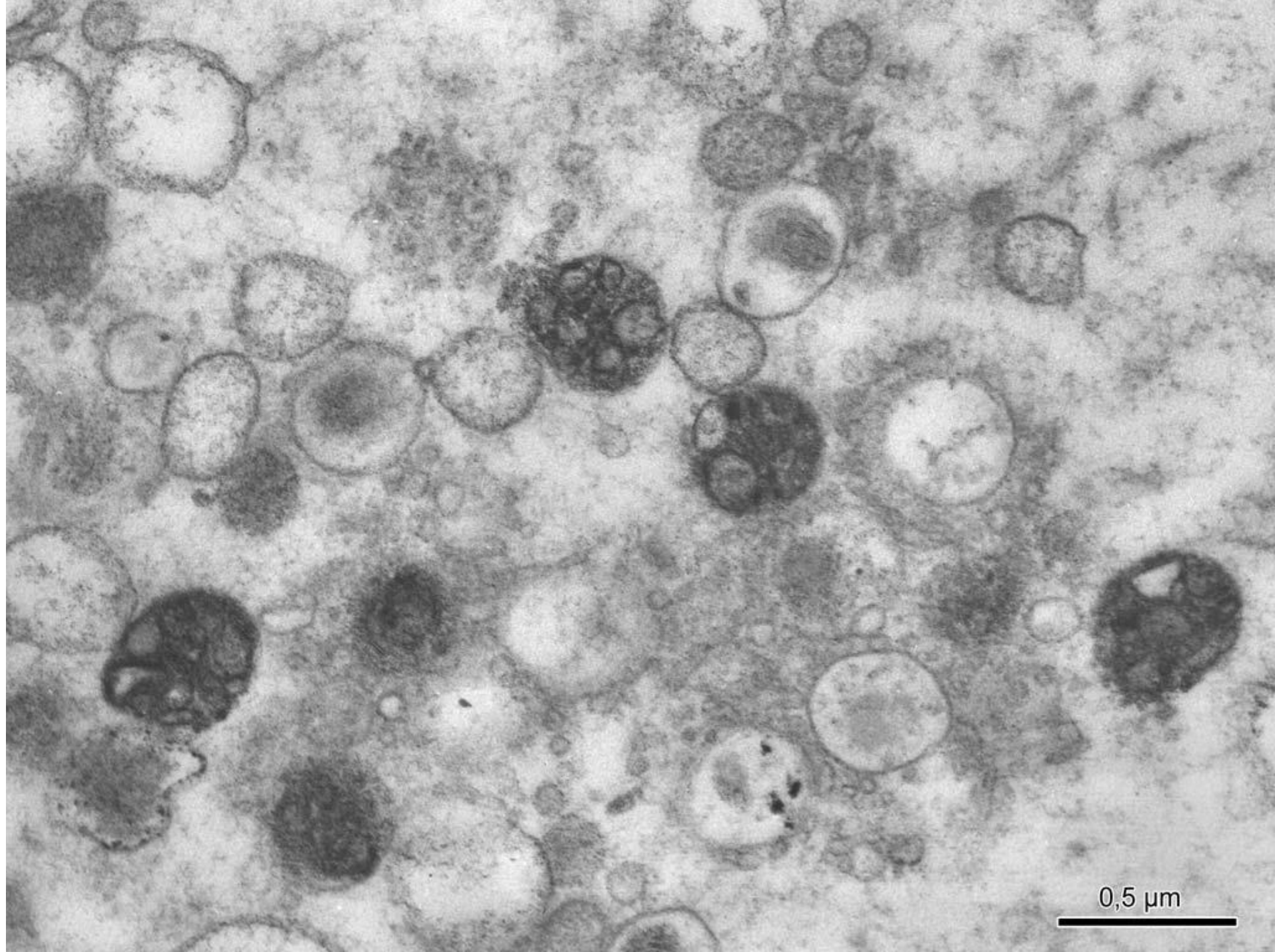
- postsyntetická úprava proteinů (glykosylace, sulfatace, fosforylace)
- kondenzace a skladování sekrečních produktů ⇒ kondenzační vakuoly, sekreční granula
- vznik akrozomálního váčku při přeměně spermatidy ve spermii
- donor membrán (pro některé orgány).



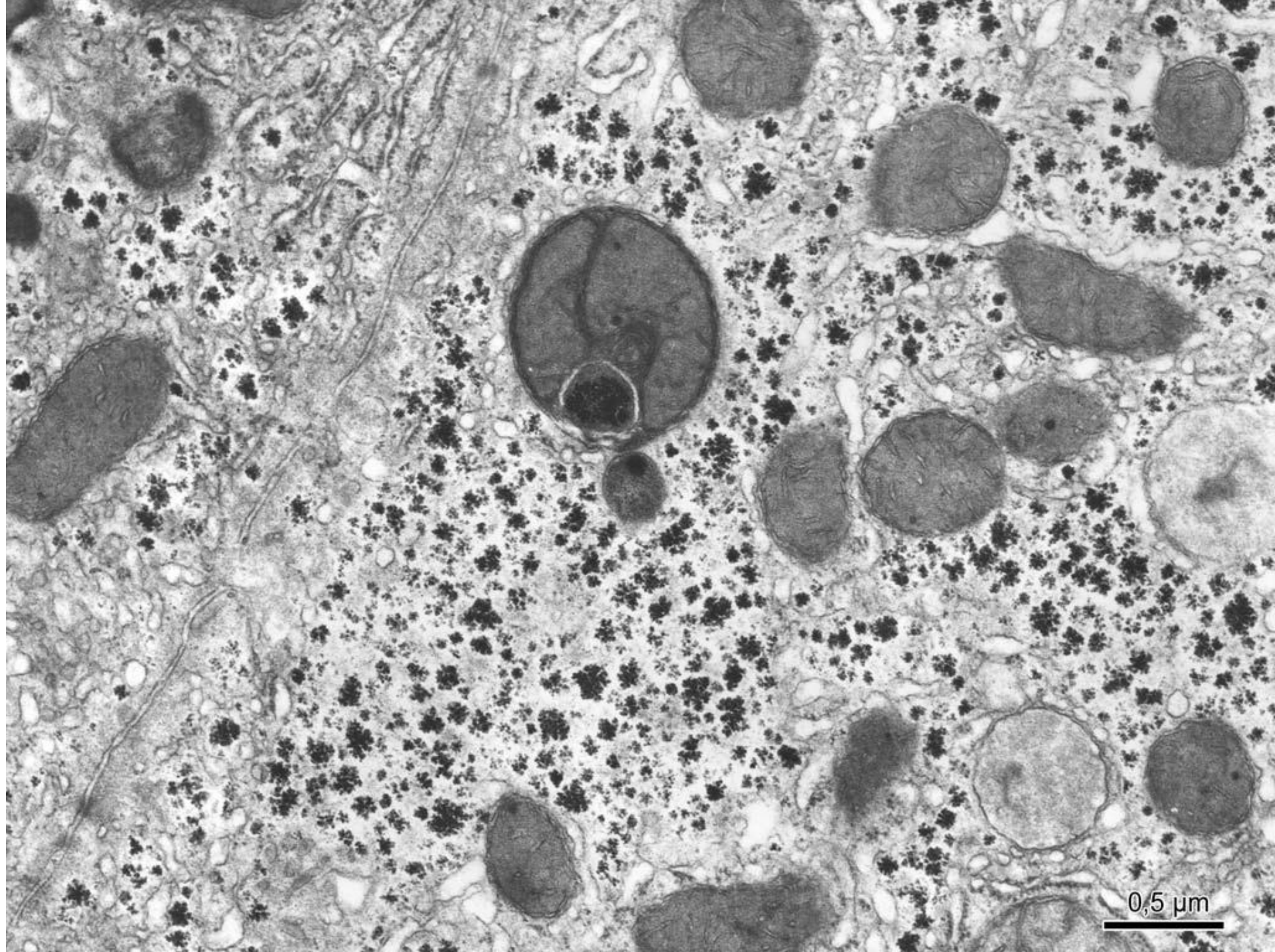
# Lysozomy

- Váčky – od  $0,5 \mu\text{m}$   $\emptyset$ , jednoduchá membrána, matrix s hydrolytickými enzymy kyselého pH (kys. fosfatáza, karboxylesterhydrolázy, katepsiny, hyaluronidáza, nespecifická esteráza, lipáza, ribonukleáza, aj.)
- **Funkce** : – intracelulární digesce endo- a exo-genního materiálu
  - primární
  - sekundární → fagosomy  
autofagické vakuoly
  - reziduální tělíška (př. pigment *lipofuscin*)









# Peroxisomy

- Váčky – 0,1 - 0,5  $\mu\text{m}$   $\emptyset$ , jednoduchá membrána, matrix s oxidativními enzymy (peroxidáza, kataláza, urikáza aj.)
- Funkce : detoxikace (rozklad  $\text{H}_2\text{O}_2$ , štěpení purinů a MK)

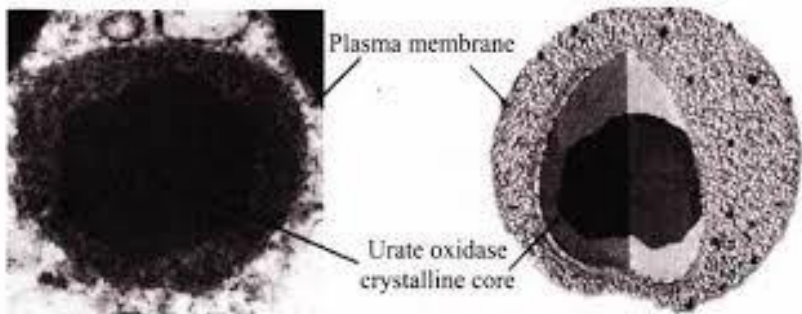
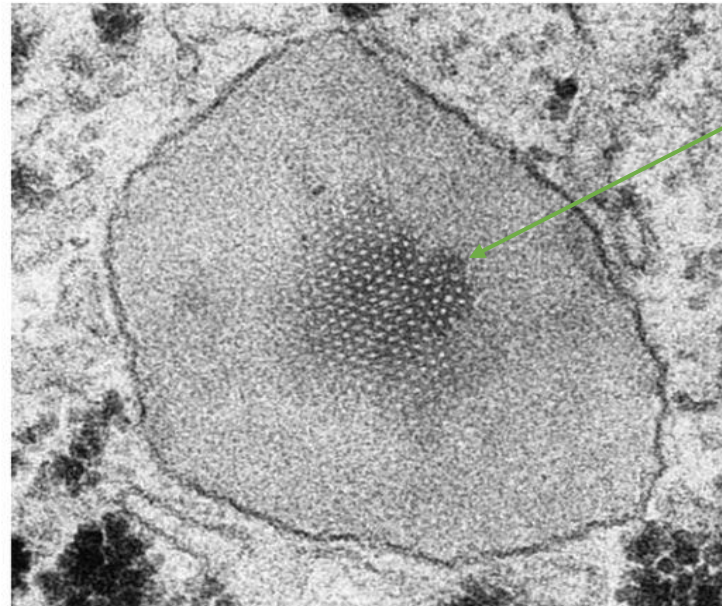


Figure 4.59: Transmission electron micrograph of a peroxisome



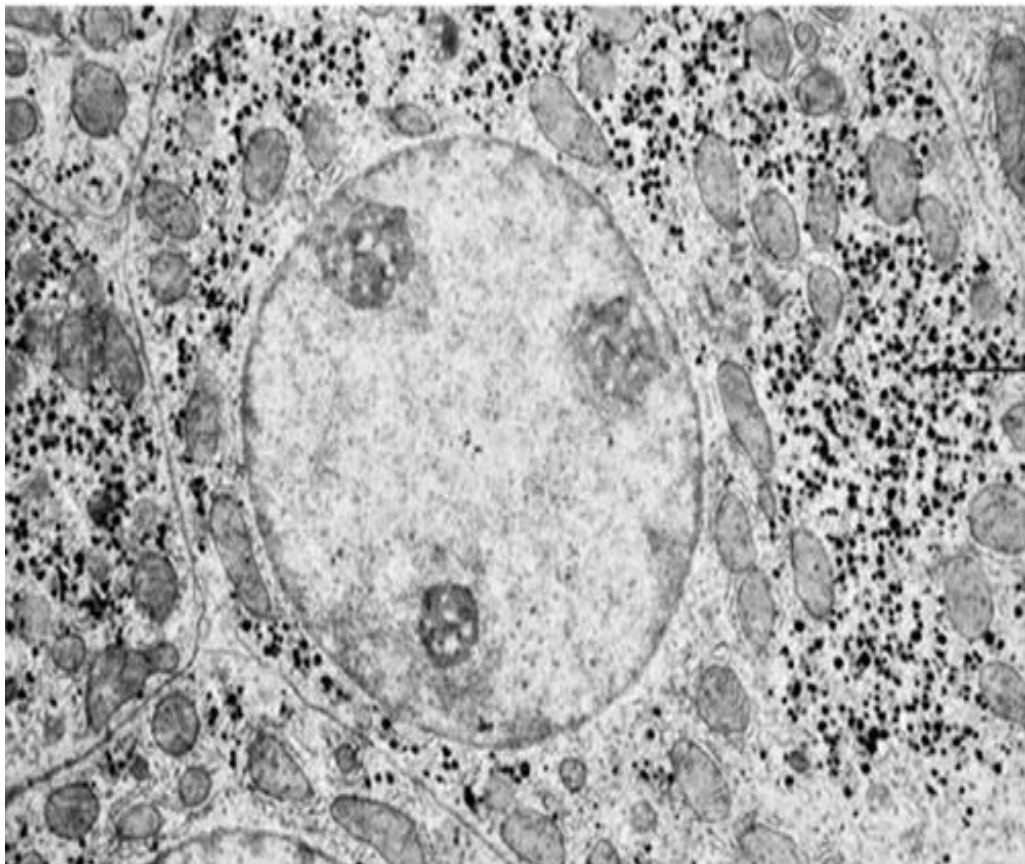
nukleoid



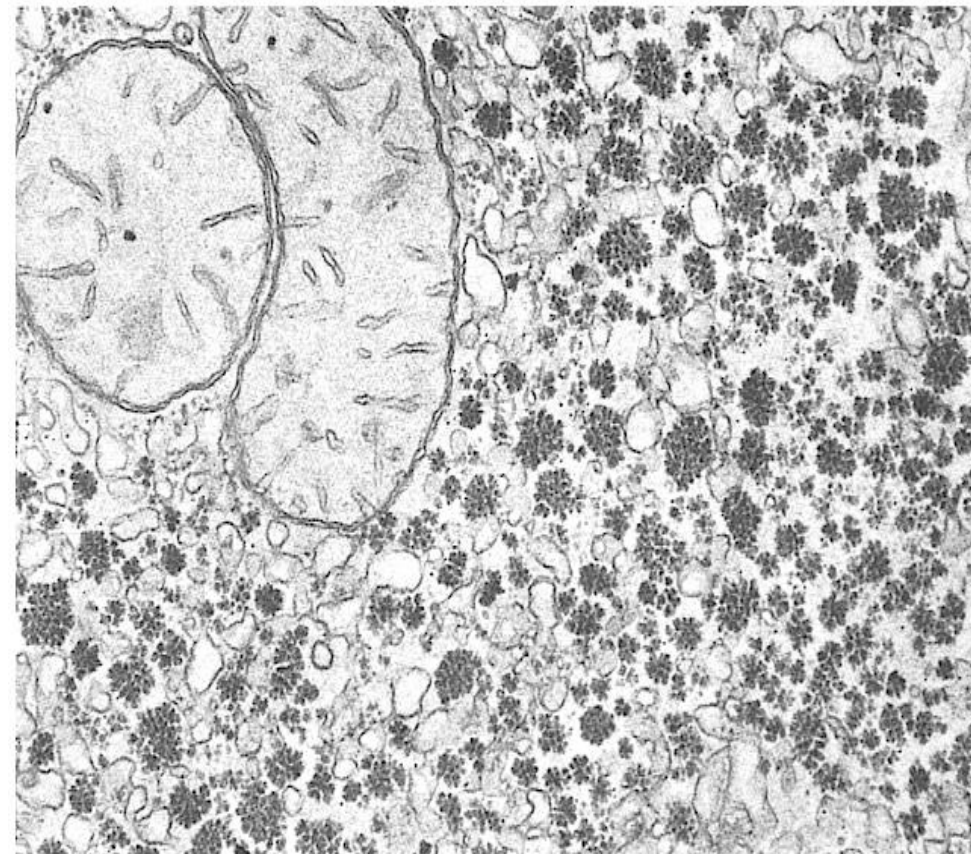
# Inkluze

- Sekreční granula
- Zásobní látky
  - glykogen
  - lipidové kapky
- Krystaly (proteiny)
- Pigmenty
  - endogenní
    - autogenní
    - hematogenní
    - lipofuscin
  - exogenní – prach, barviva (karoten), tetováž

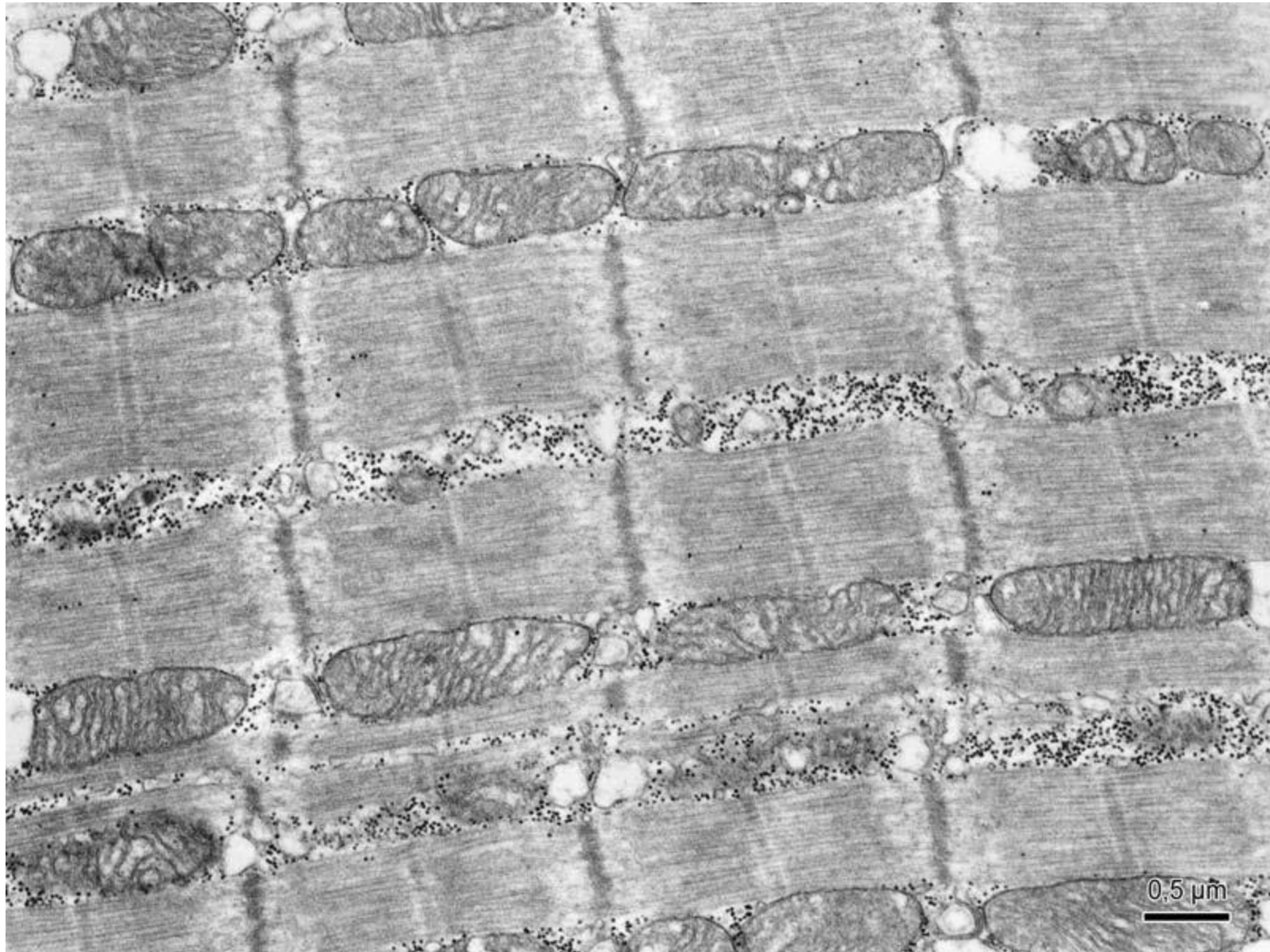
# Glykogen

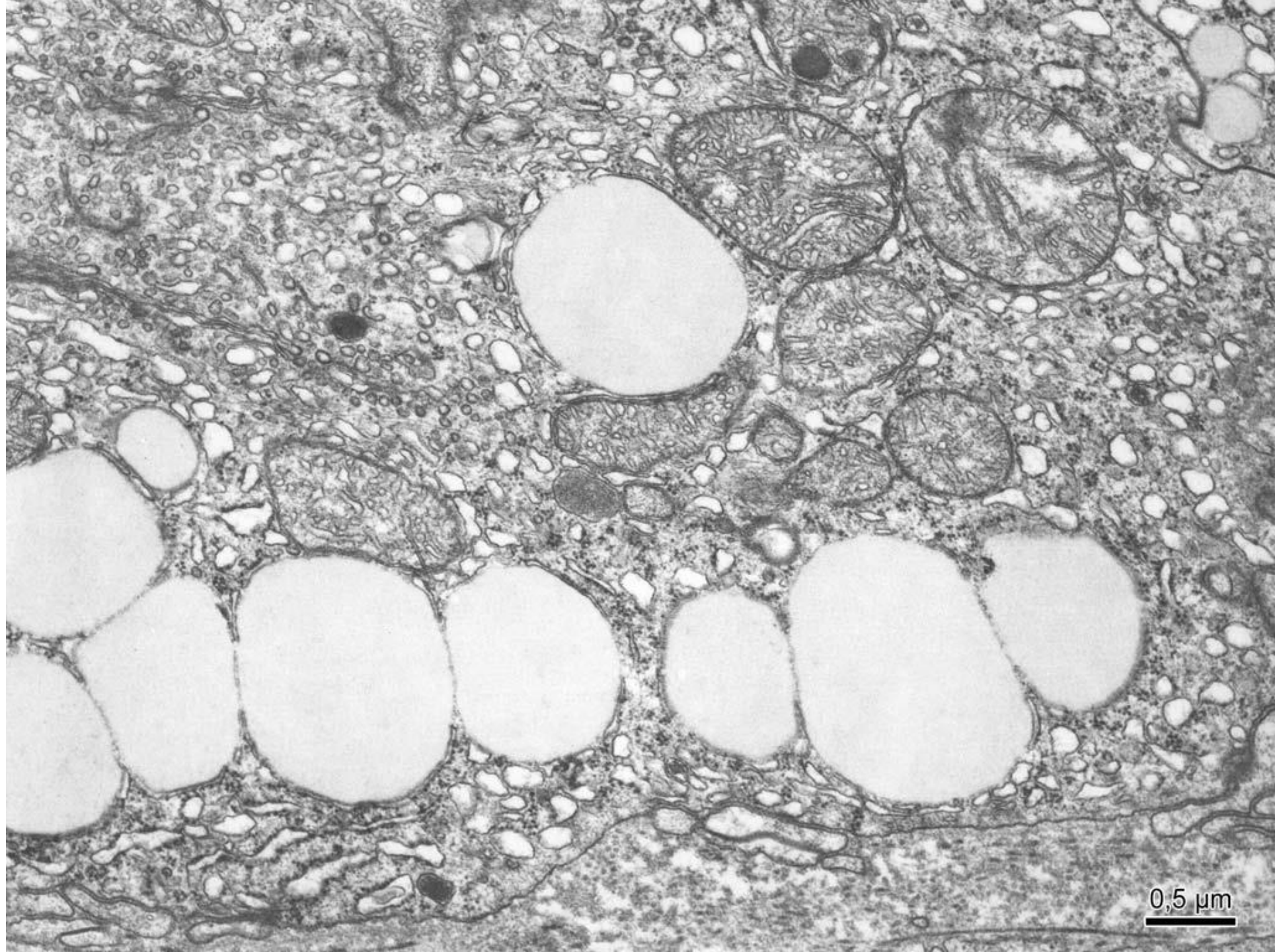


$\beta$  – granula (40 nm)



$\alpha$  – granula (až 400 nm)



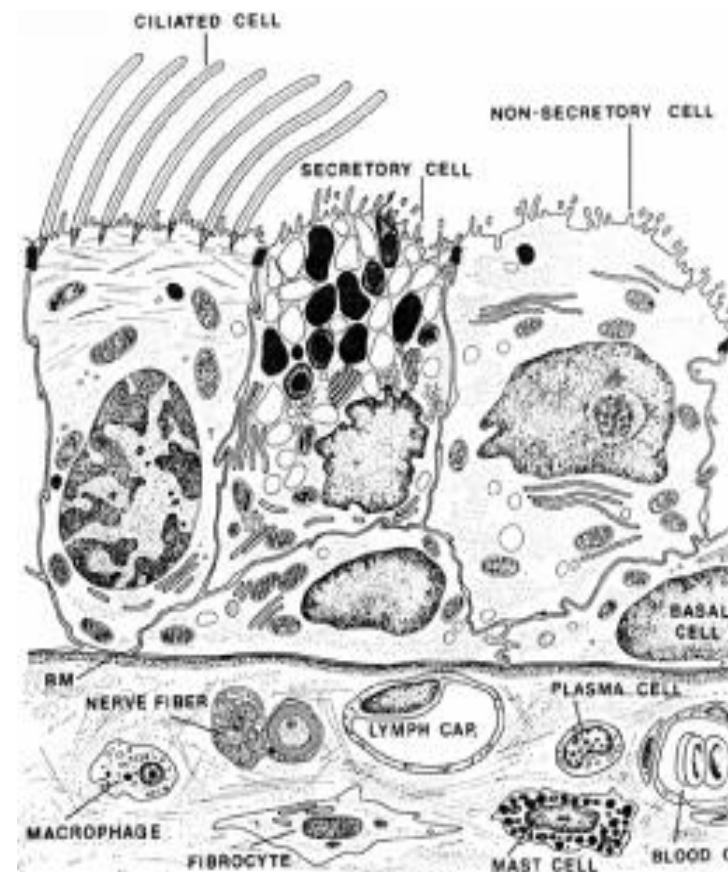


0,5 μm

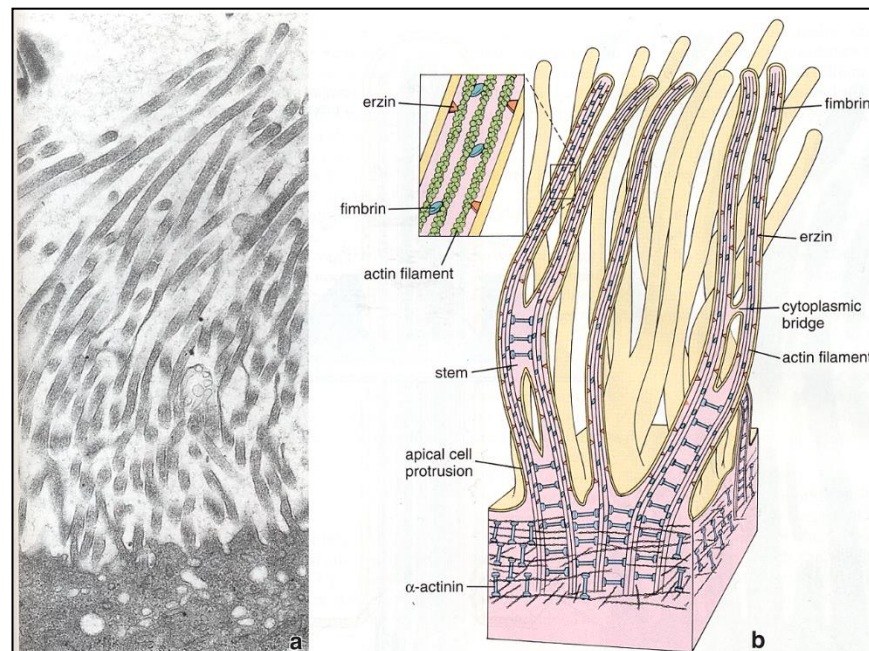
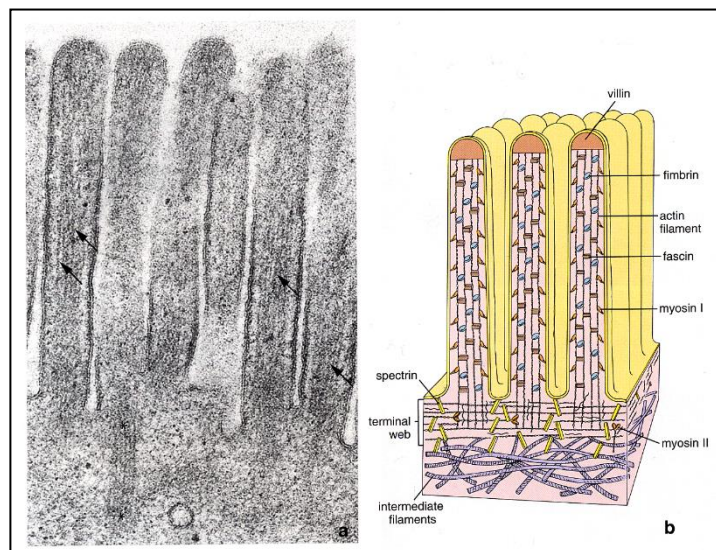


# Buněčné povrchy

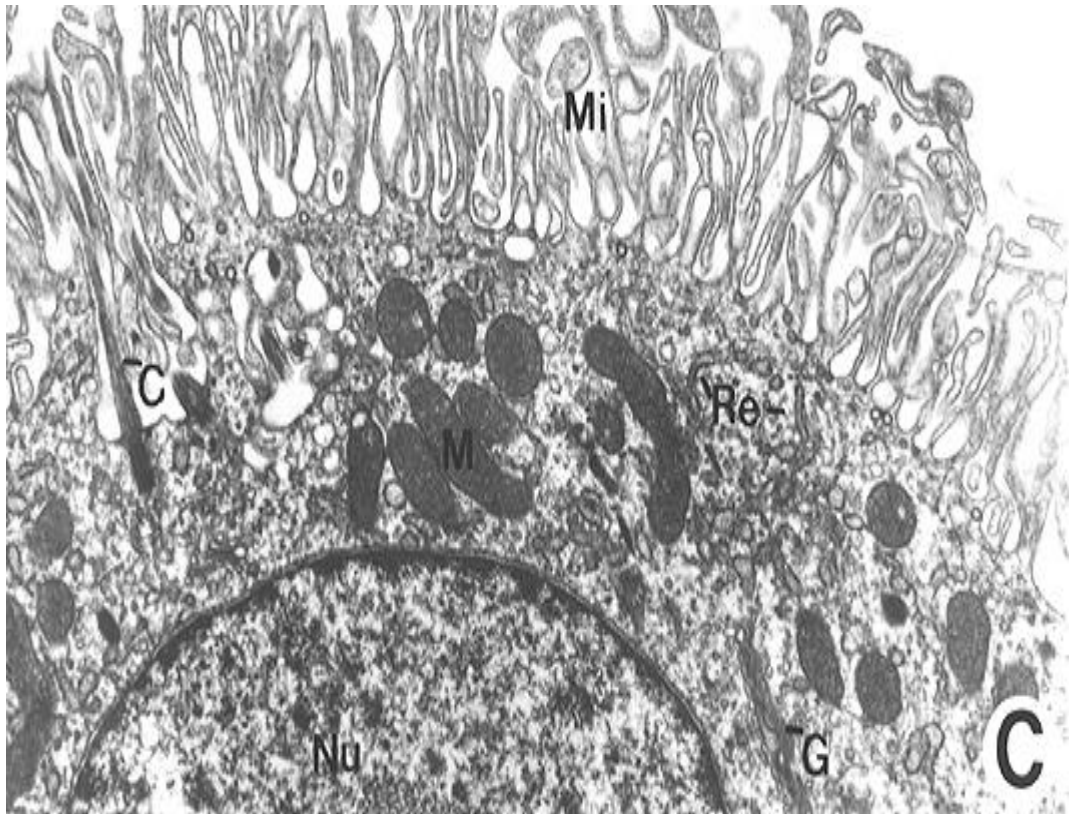
- Volný povrch (apikální)  
– **hladký nebo s výběžky (mikroklky, řasinky, bičíky)**
- Povrch přivrácený k jiné buňce (laterální) – **mezibuněčné spoje**
- Bazální povrch (přivrácený k nebuněčné struktuře – lamina basalis nebo bazální membrána)  
– **poloviční spoje (hemidesmosomy)**



# Buněčné povrch - apikální

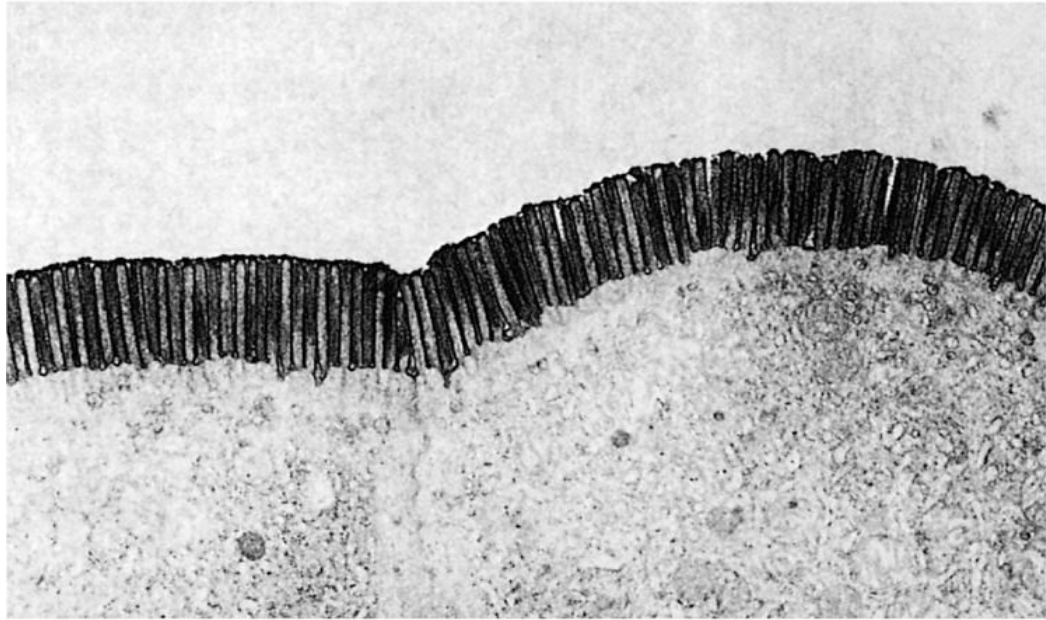
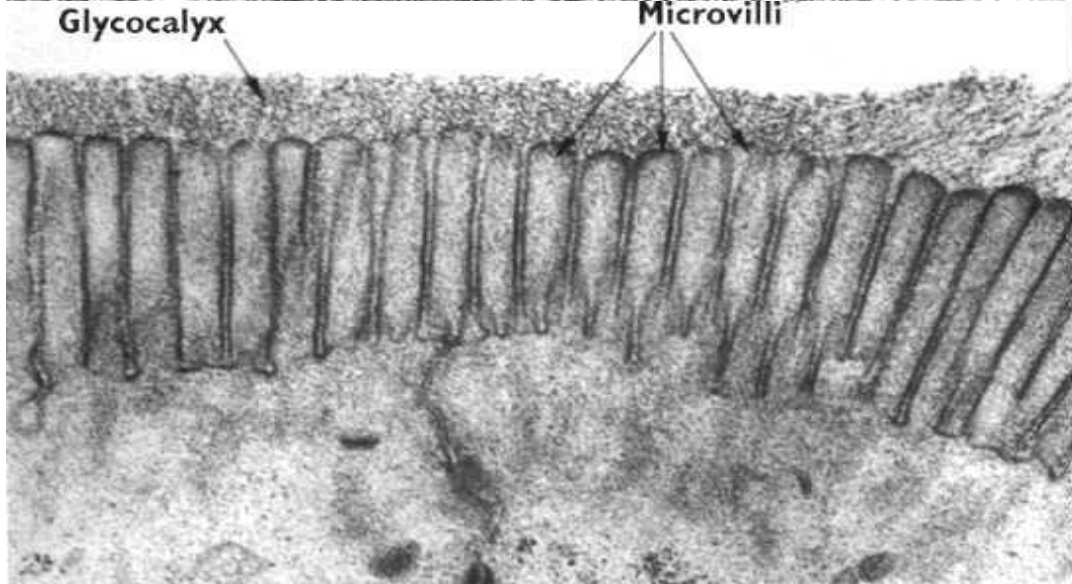


**Mikroklky** = výběžky cytoplazmy vyztužené aktinovými mikrofilamenty – dle uspořádání:  
krátké, nepravidelné  
žíhaná kutikula – př. *epitel. bb. střeva*  
kartáčový lem – př. *kanálky nefronu*  
stereocilie – př. *ductus deferens*



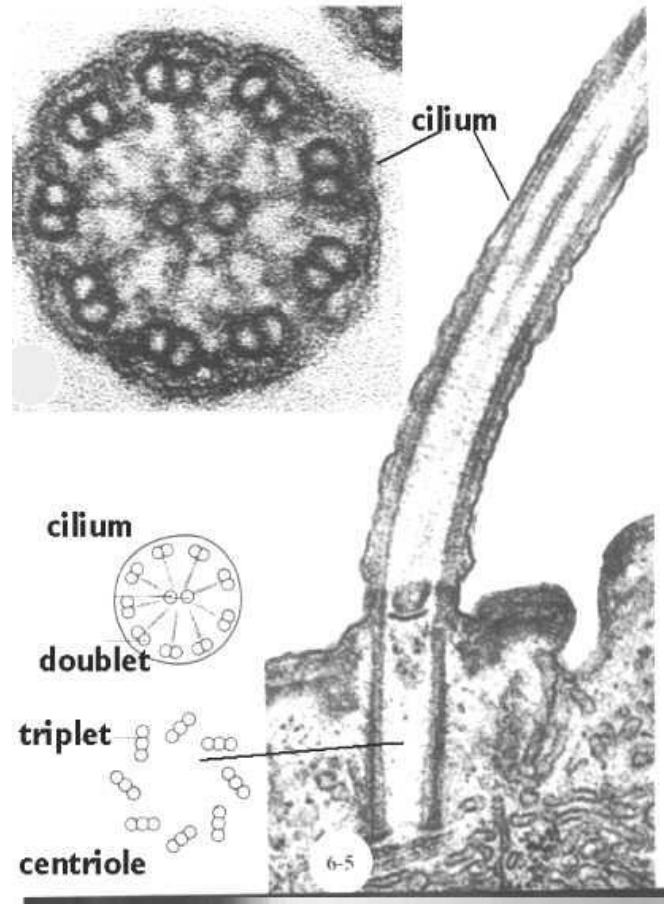
Kartáčový lem (proximální tubulus nefronu)

Žíhaná kutikula (enterocyty)



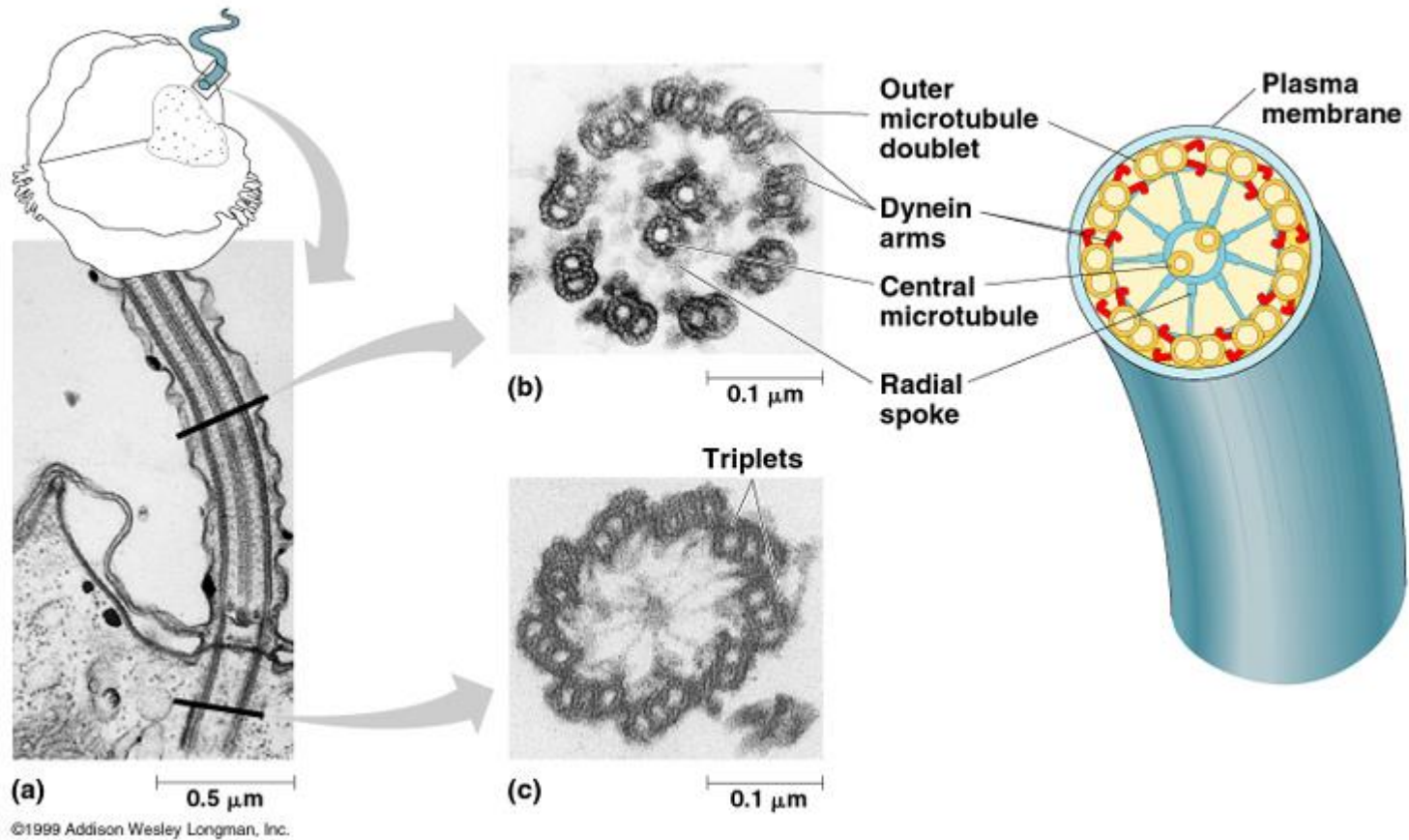


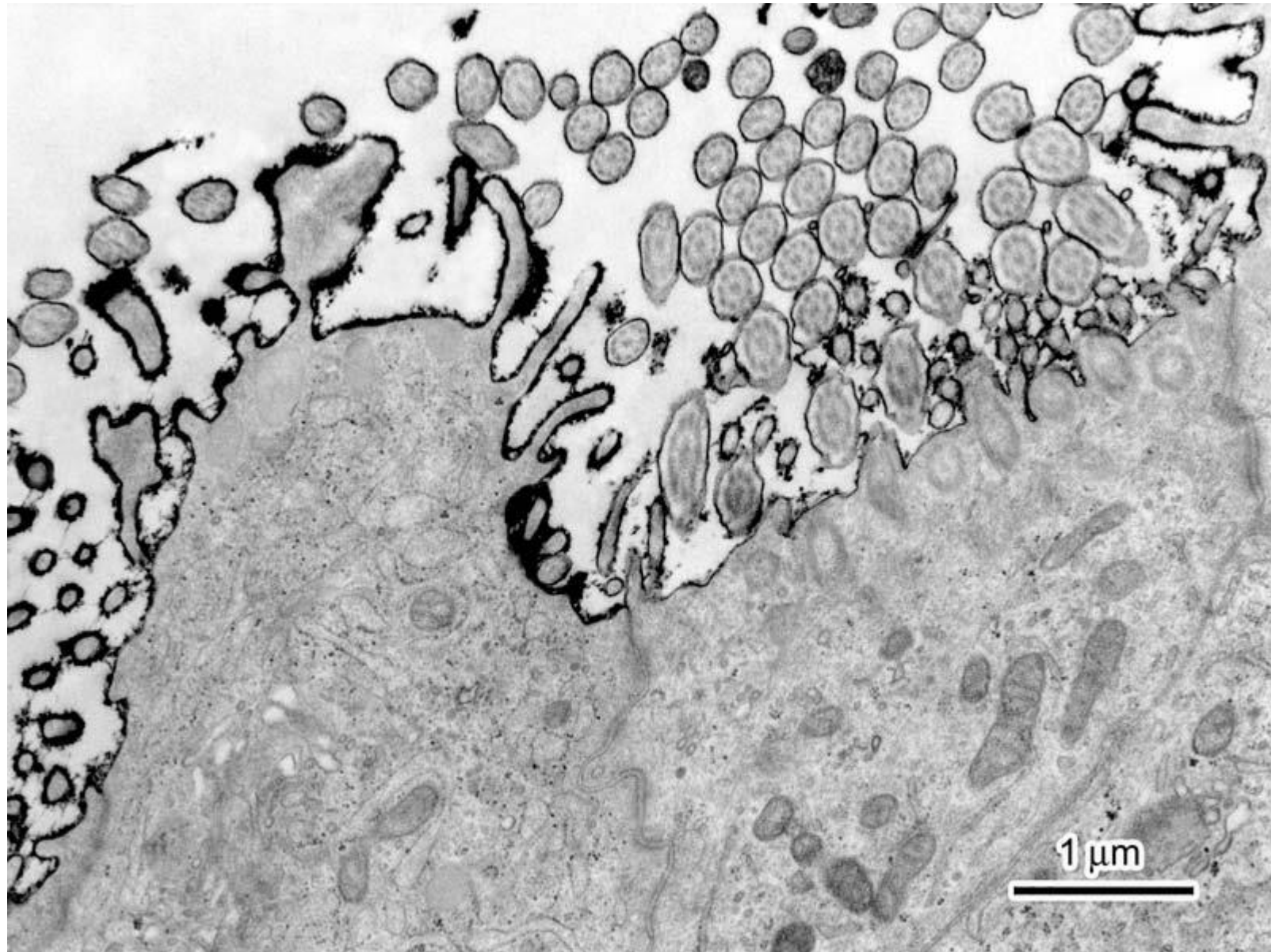
# Řasinka

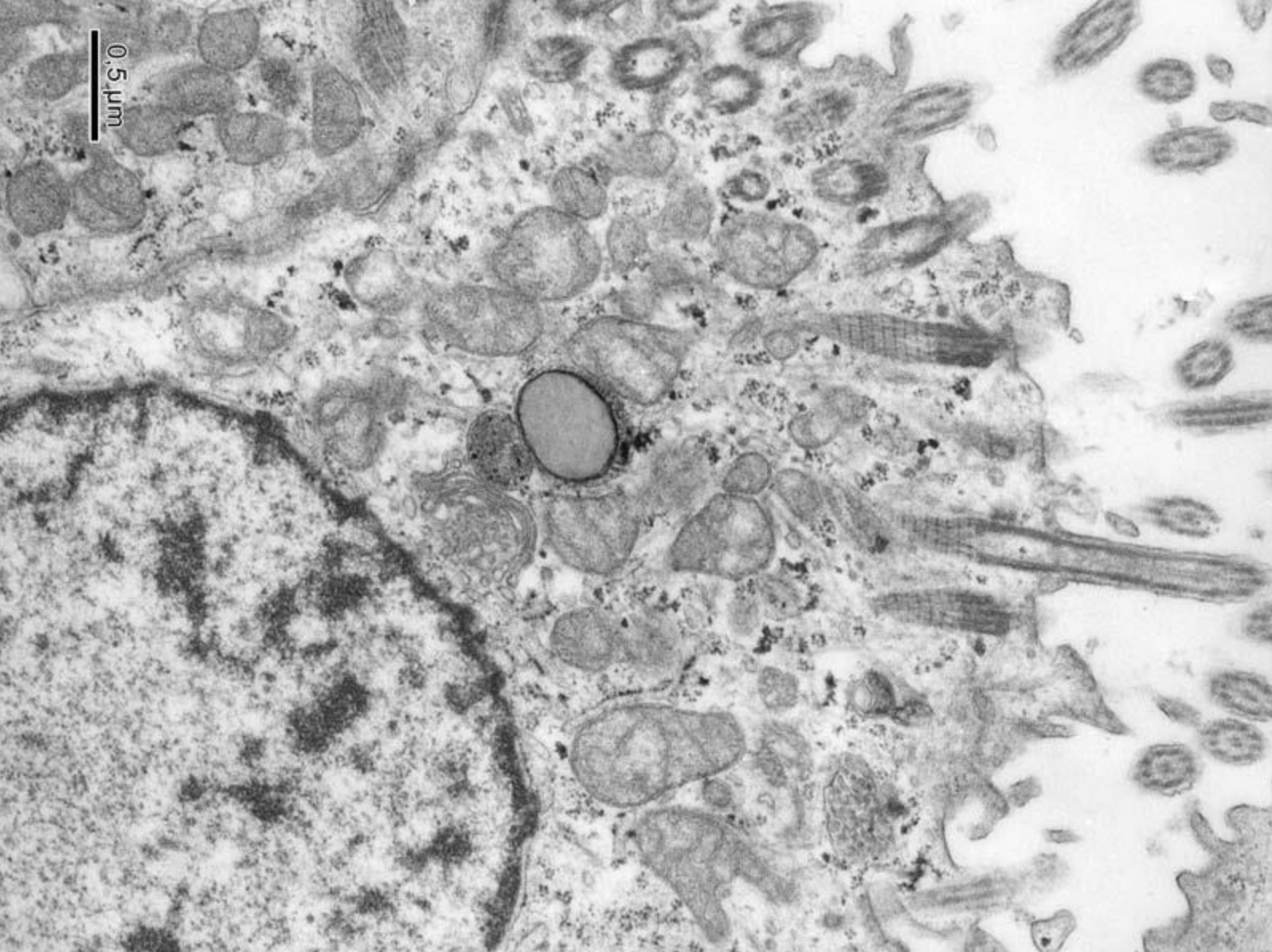


- Pohyblivé výběžky cytoplazmy vyztužené **mikrotubuly**:  
9 dubletů + 1 centrální pár = **AXONEMA**
- **Bazální tělísko** = centriol (9 tripletů)
- Žíhaná nožka









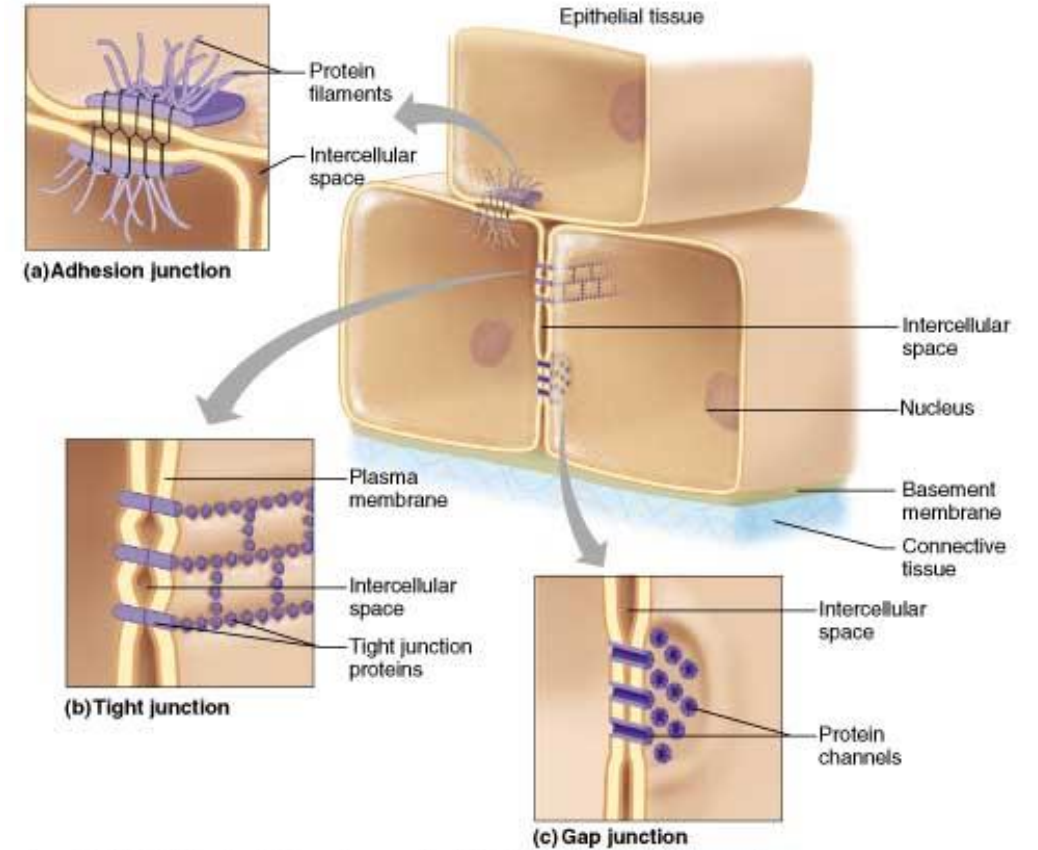
# Flagellum





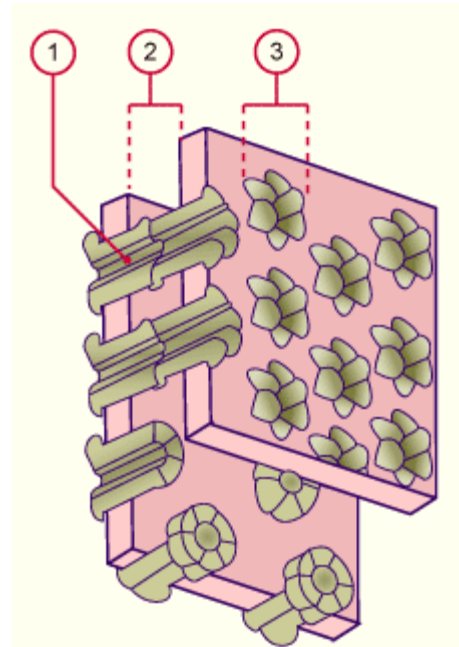
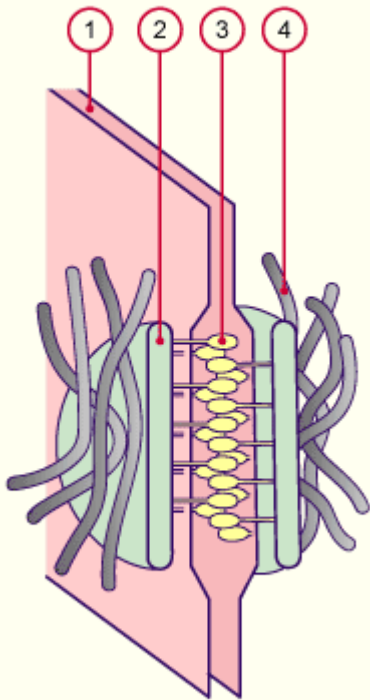
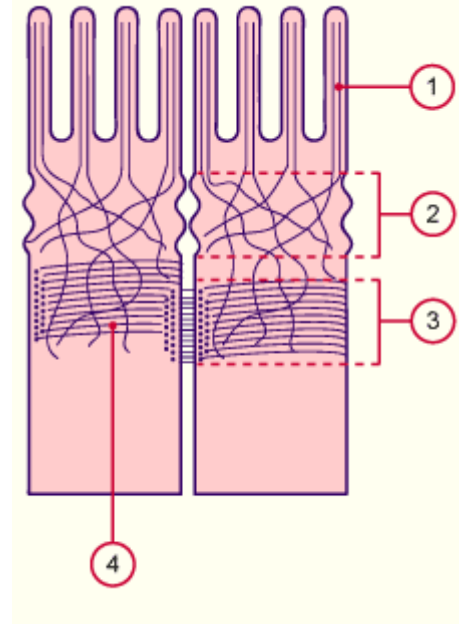
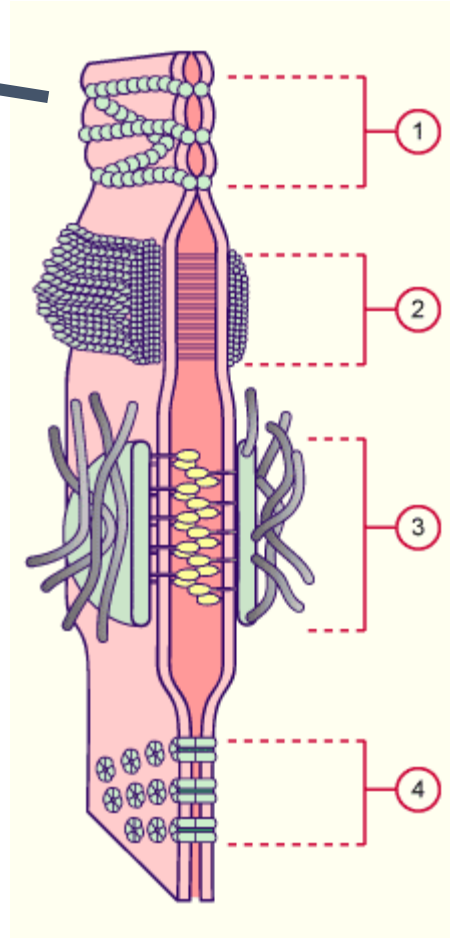
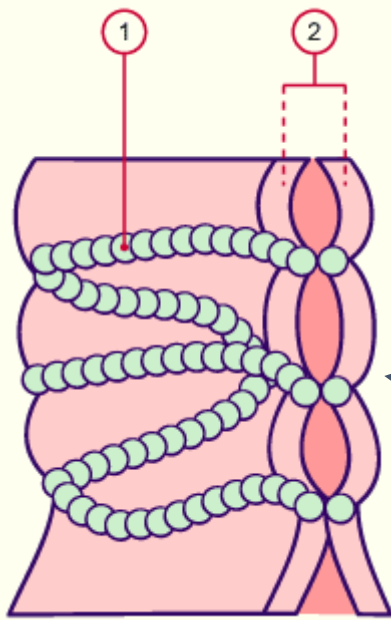
# Laterální povrchy

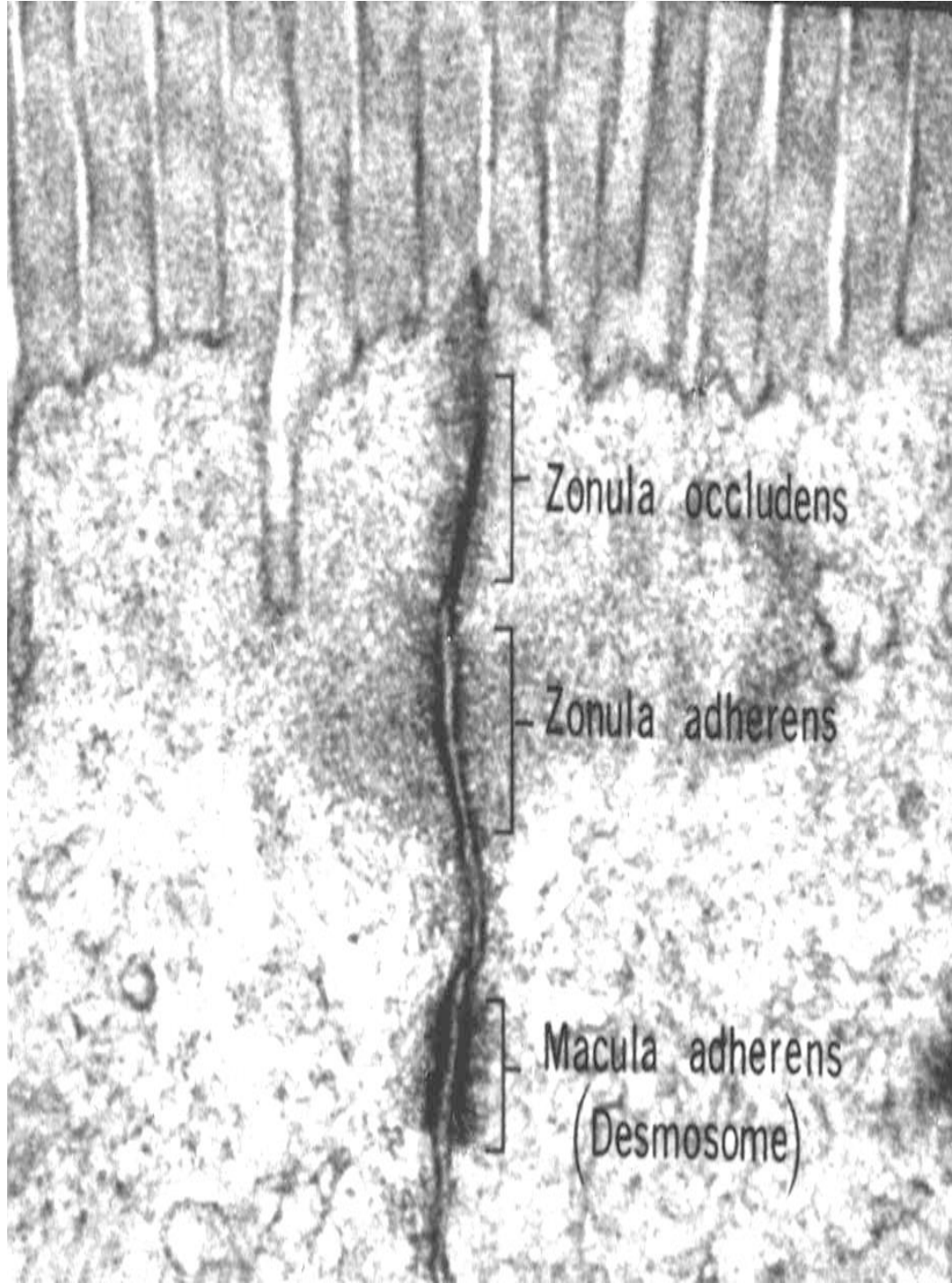
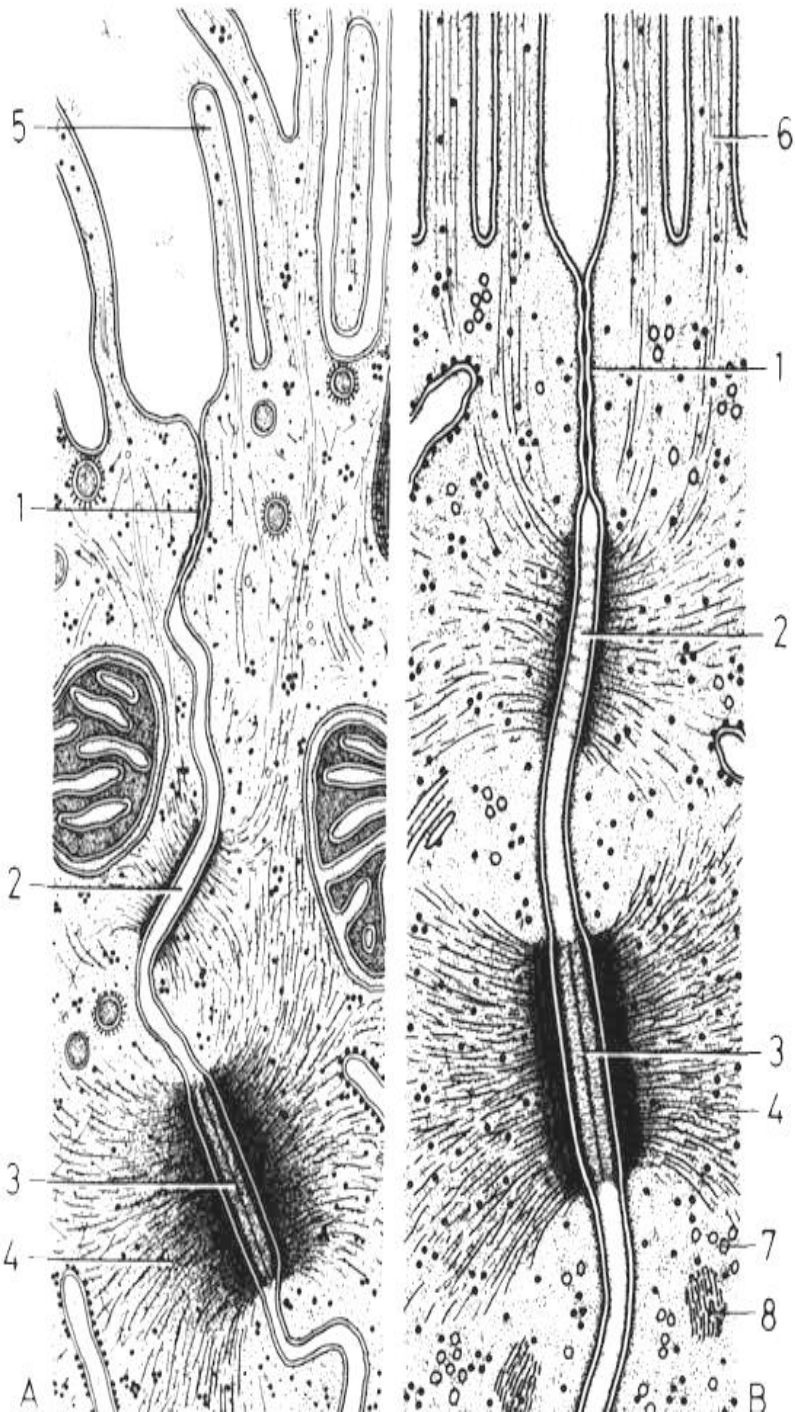
- Těsná = okluzní: **zonula occludens**
- Adhezní: **zonula adherens**,  
**desmosom (macula adherens)**
- Komunikační: **nexus**  
(gap junction)



Copyright © 2001 Benjamin Cummings, an imprint of Addison Wesley Longman, Inc.

1. ZO, 2. ZA, 3. MA, 4. N

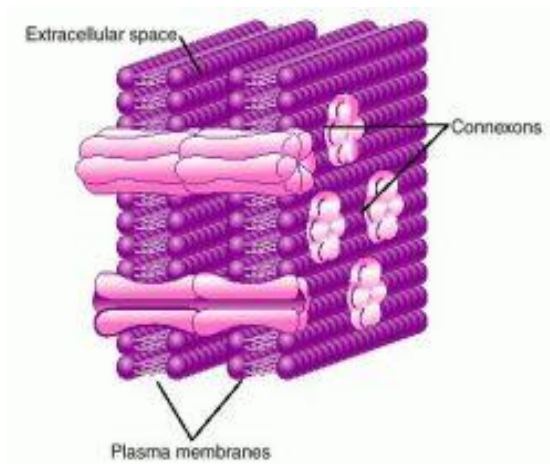
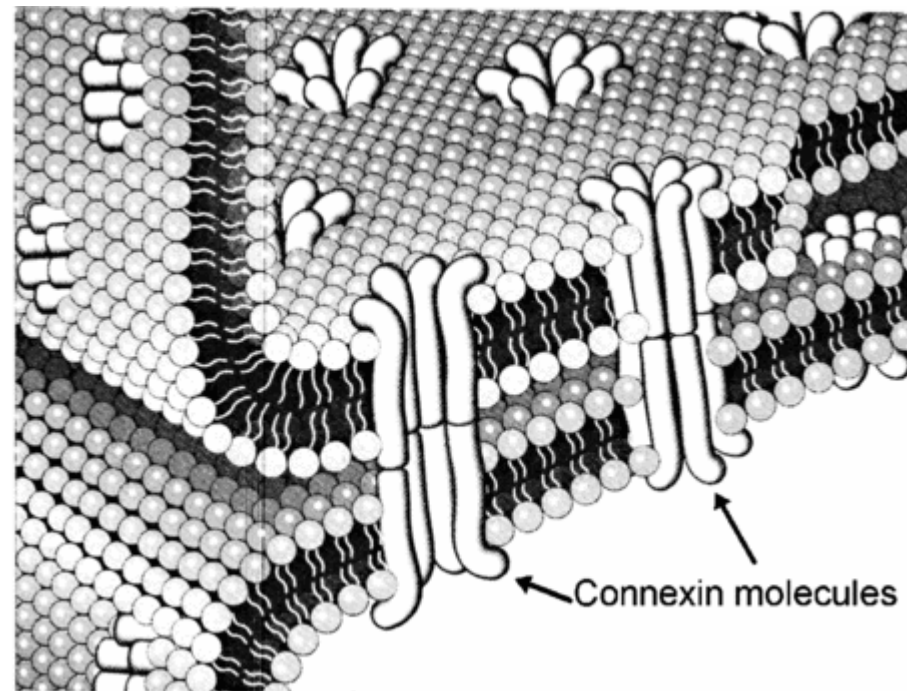






# Laterální povrchy

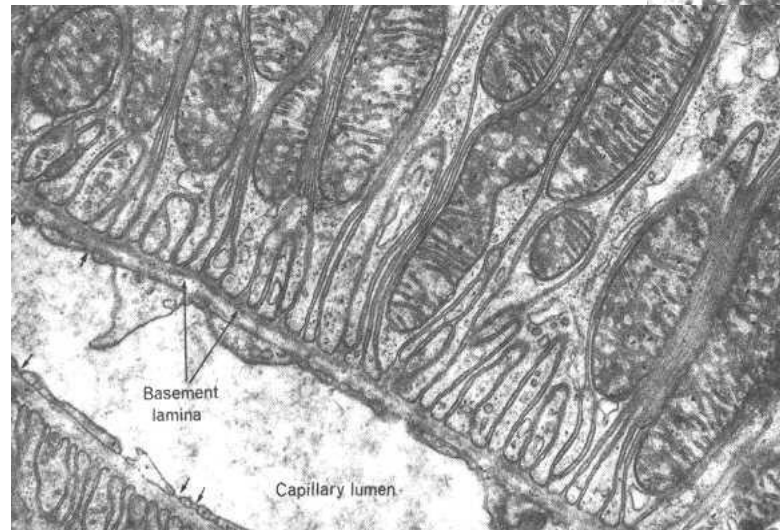
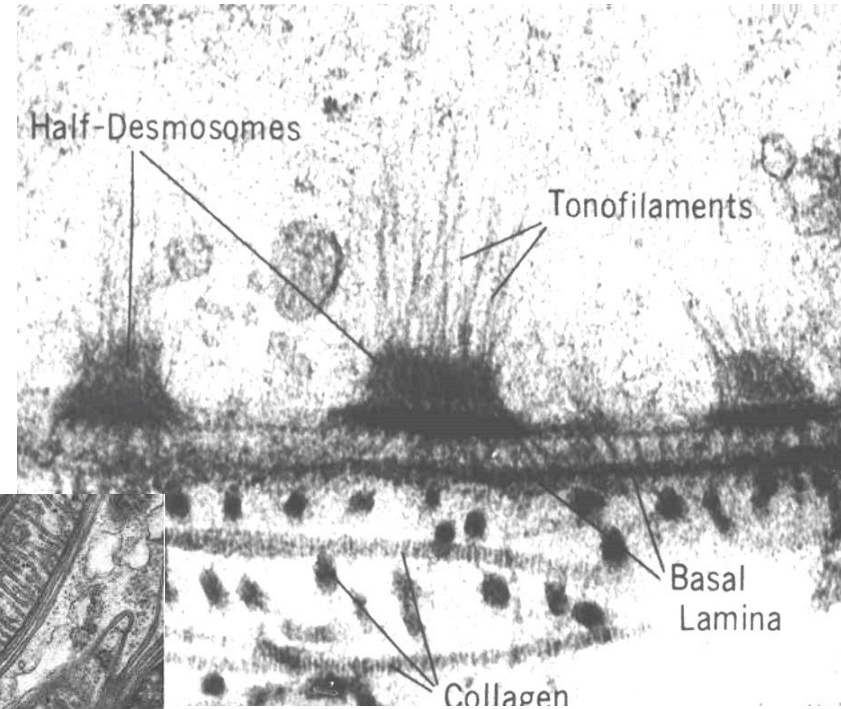
- Intercelulární štěrbina 2 – 4 nm
- konexony – kanálky
- konexiny – 6 protein.mol





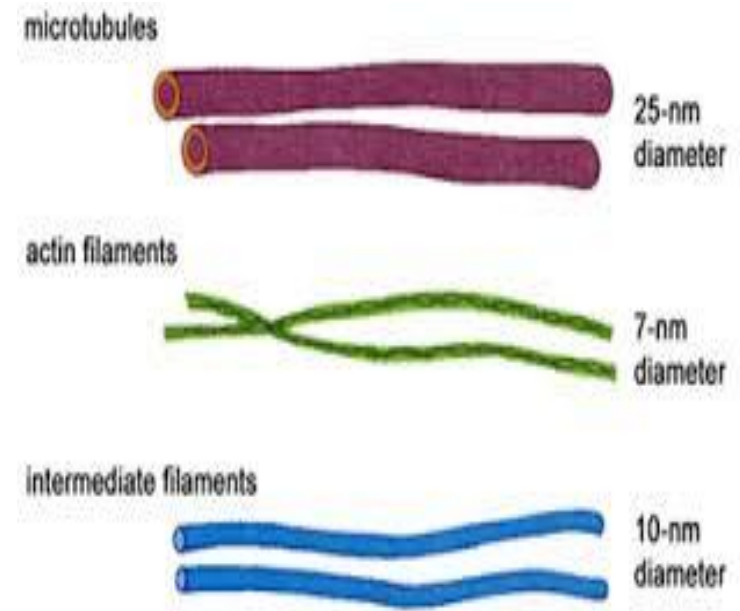
# Bazální povrch

- přivrácen k buňce (*viz výše – laterální povrch*)
- přivácen k lamina basalis:
- hemidesmosomy
- bazální labyrint



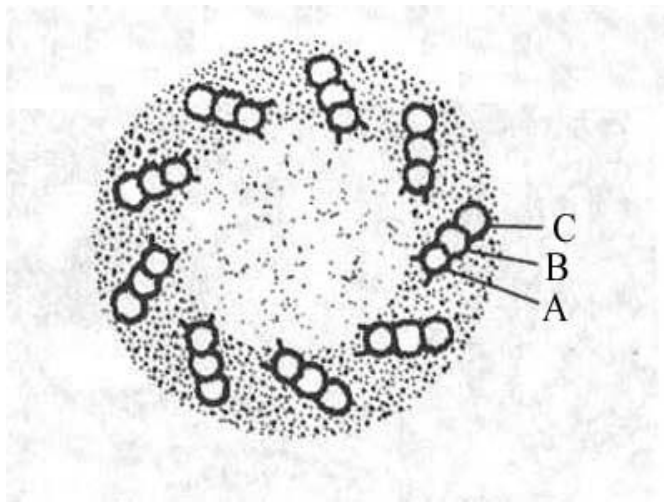
# Cytoskelet

- Mikrotubuly [válce o  $\varnothing$  22 nm,  $\alpha$  +  $\beta$  TUBULIN]
- Mikrofilamenta [vlákna o  $\varnothing$  5-7 nm, AKTIN]
- Intermediární filamenta [vlákna o  $\varnothing$  8-11 nm, CYTOKERATIN, VIMENTIN, DESMIN, NEUROFILAMENTA, GFAP]

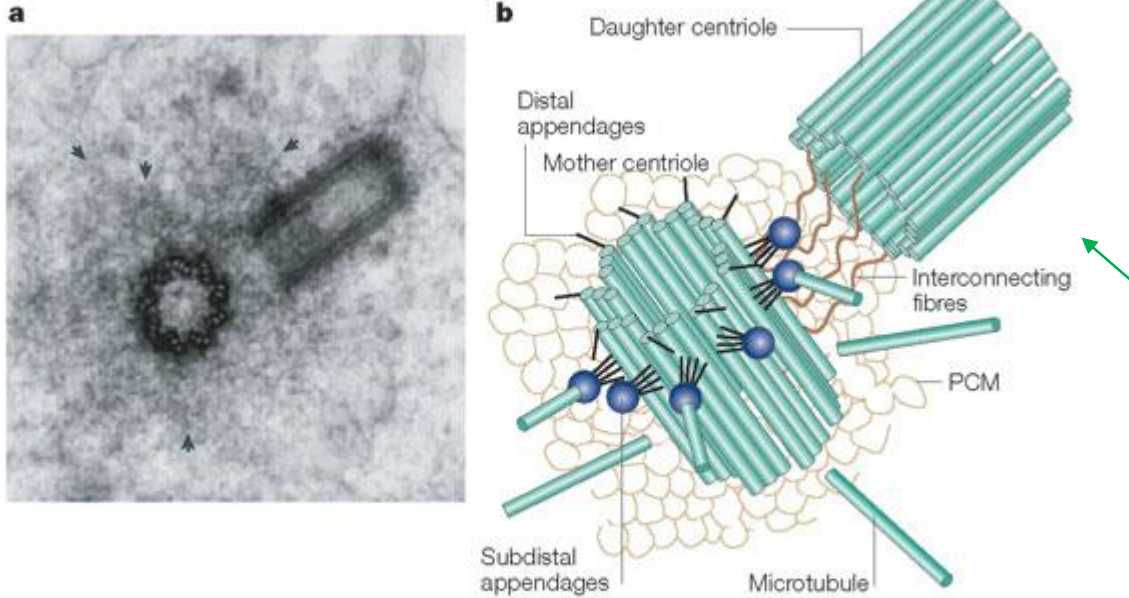


# Centriol

- Tvar: **cylindr (válec)**
- Velikost:  **$\varnothing$  0,2  $\mu\text{m}$ , délka 0,3 - 0,5  $\mu\text{m}$**
- Stavba: **9 tripletů mikrotubulů po obvodu válce**
- Výskyt v buňce (v interfázi):  
**1 pár centriolů [„T“] v oblasti cytoplazmy = centrosoma**



# Centriol

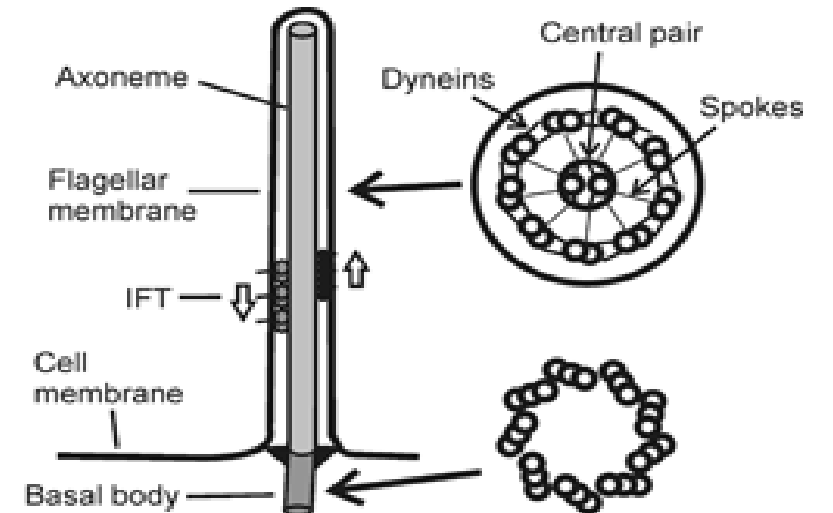


Copyright © 2005 Nature Publishing Group  
Nature Reviews | Molecular Cell Biology

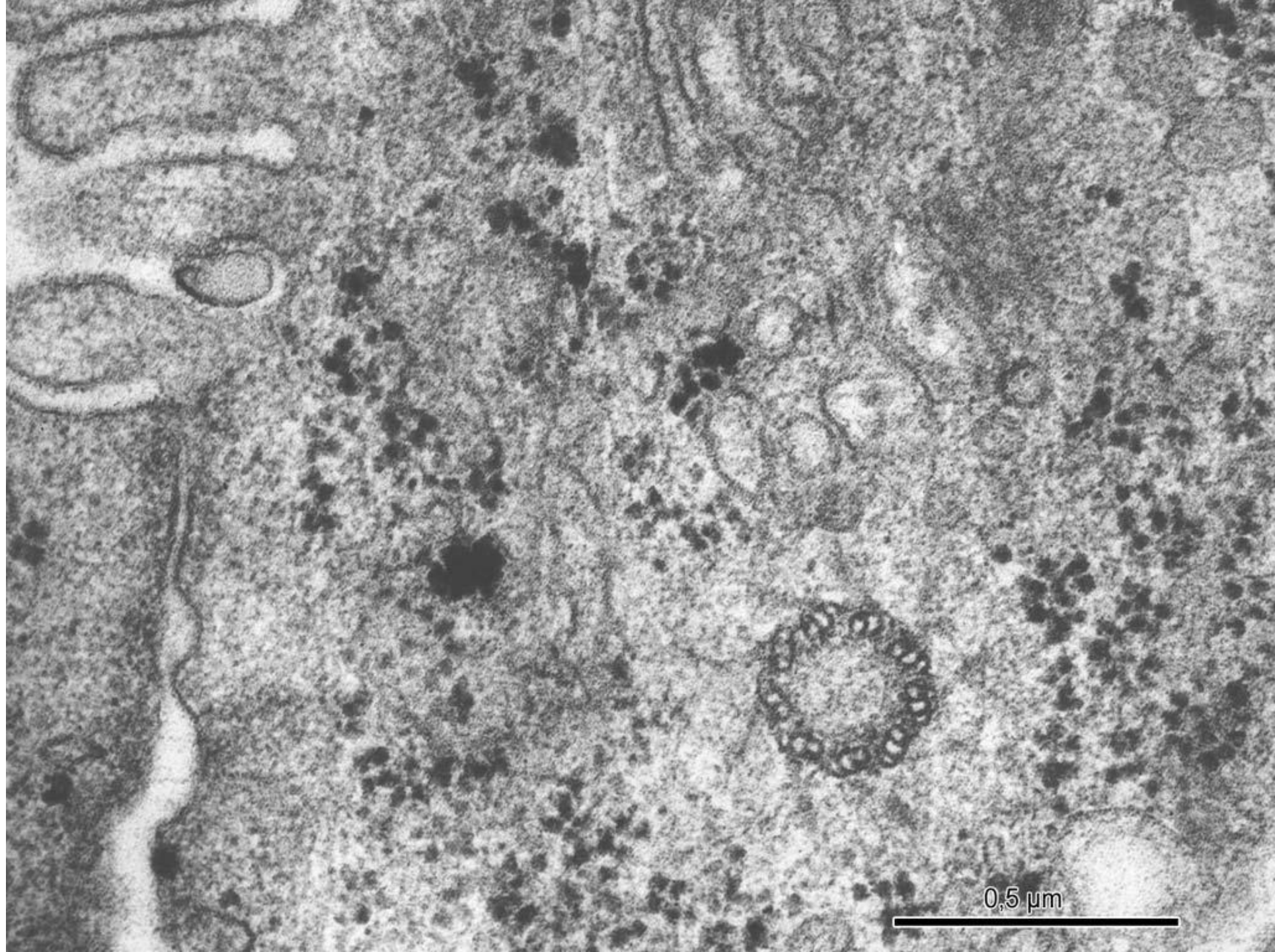
Duplikace centriolů v průběhu dělení buňky  
⇒ vznik dělicího vřeténka

Centrozom - 2 centrioly + pericentriolární matrix

Mnohočetná replikace centriolů v průběhu ciliogeneze ⇒ vznik bazálních tělísek řasinek







0,5 μm





# CYTOLOGIE I + II

## Atlas elektronmikroskopických snímků

1. Centriol (20, 21)
  2. Sekreční granula (16, 50, 51)
  3. Glykogen ( $\alpha$  – 8, 13, 14, 17;  $\beta$  – 22, 53)
  4. Lipidové kapky (23)
  5. Pinocytární váčky (33)
  6. Buněčné povrchy (48)
  7. Mikroklky (20, 24, 27, 28, 30)
  8. Kinocilie (26, 29, 30), bičík (31)
  9. Intercelulární štěrbin (9, 10, 13, 20, 24, 25, 26, 28)
  10. Desmosomy a tonofilamenta (9, 24, 26)
  11. Zonula occludens, adherens (28)
  12. Nexus (25)
  13. Bazální labyrint (49)
- Jádro, jadérko, mitochondrie, Golgiho aparát, GER, SER, peroxisom, sekreční granula, glykogen, tukové kapénky (1-14)