

Histo logia

1677 - Antonie van Leeuwenhoek

1872 - Ernst Abbe

*Mikroskopowa budowa narządów,
tkanek i komórek*

***Budowa i funkcja zespołów
komórek, czyli tkanek***

Mikroskop optyczny



twórcy mikroskopu optycznego

Zachariasz Janssen i jego ojciec Hans

Pierwsze konstrukcje wykonali oni około roku 1590

powiększenie (10 razy) mikroskopy nie zdobyły wtedy uznania jako narzędzie badawcze.



Antonie van Leeuwenhoek,

jako pierwszy obserwował żywe komórki:

- plemniki
- pierwotniaki
- erytrocyty



Ernst Abbe

konstruktor wielu przyrządów optycznych, m.in.:

= refraktometru A,

= obiektywu apochromatycznego (1868)

= kondensora do mikroskopów. W 1872r.

wyposażył mikroskop w przyrząd oświetlający

opracował teorię mikroskopu optycznego

został jedynym właścicielem zakładów Carl
Zeiss.



Granice rozdzielczości:

Oko - 0,2 mm (200nm)

Świetlny- 200 nm

Elektronowy- 0,2 nm

Wymiary komórek

10-100um



**Wymiary organelli komórkowych
poniżej 1 um**

Budowa mikroskopu:



1. Okular
2. Rewolwer
3. Obiektyw
4. Śruba makrometryczna
5. Śruba mikrometryczna
6. Stolik
7. Źródło światła
8. Kondensator
9. Statyw

Zdolność rozdzielcza:

najmniejsza odległość dwóch struktur dających się odróżnić w obrazie mikroskopu jako 2 oddzielne punkty

zdolność ta jest zależna od

-apertury numerycznej obiektywu

im wyższa tym większa jest

zdolność rozdzielcza i siła światła

-długości używanej do badania fali świetlnej i wynosi 0,2 nm

dla światła niebieskiego (dł. fali 0,5 nm) granica

zdolności rozdzielczej wynosi 0,17 nm

dla ultrafioletu (dł. fali 0,275 nm) około 0,08 nm.

Hematoksylina

Eozyna

Oranż akrydyny

Czerwień jądrowa

Fluoresceina

Fikoerytryna

Orceina

Fikocjanina

Leukofuksyna

Fiolet krystaliczny

Błękit trypanu

Błękit toluidyny

Klasyfikacja barwników

ze względu na odczyn chemiczny:

1. Barwniki obojętne

– to związki barwne soli, kwasów i zasad (fiolet metylowy).

2. Barwniki kwaśne

– to kwasy i sole, które barwią cytoplazmę komórki (fuksyna kwaśna, oranż G, błękit anilinowy).

3. Barwniki zasadowe

– to sole zasad barwiące jądra komórkowe i zasadochłonne substancje cytoplazmatyczne (hematoksylina, błękit toluidynowy).

Hematoksylina (Zasada)



*Kwaśny substrat
komórkowy (np. DNA)* (Zasadochłonny
=bazofilny)

Eozyna (Kwas)



*Zasadowy substrat
komórkowy (np. białka cytoplazmy)* (Kwasochłonny
=eozynofilny)

METACHROMAZJA -

selektywne barwienie struktur tkankowych na kolor inny niż kolor samego barwnika

barwa zależy od stopnia polimeryzacji cząsteczek barwnika

**Barwniki metachromatyczne: błękit toluidynowy ,
azur B, tionina, toluidyna**

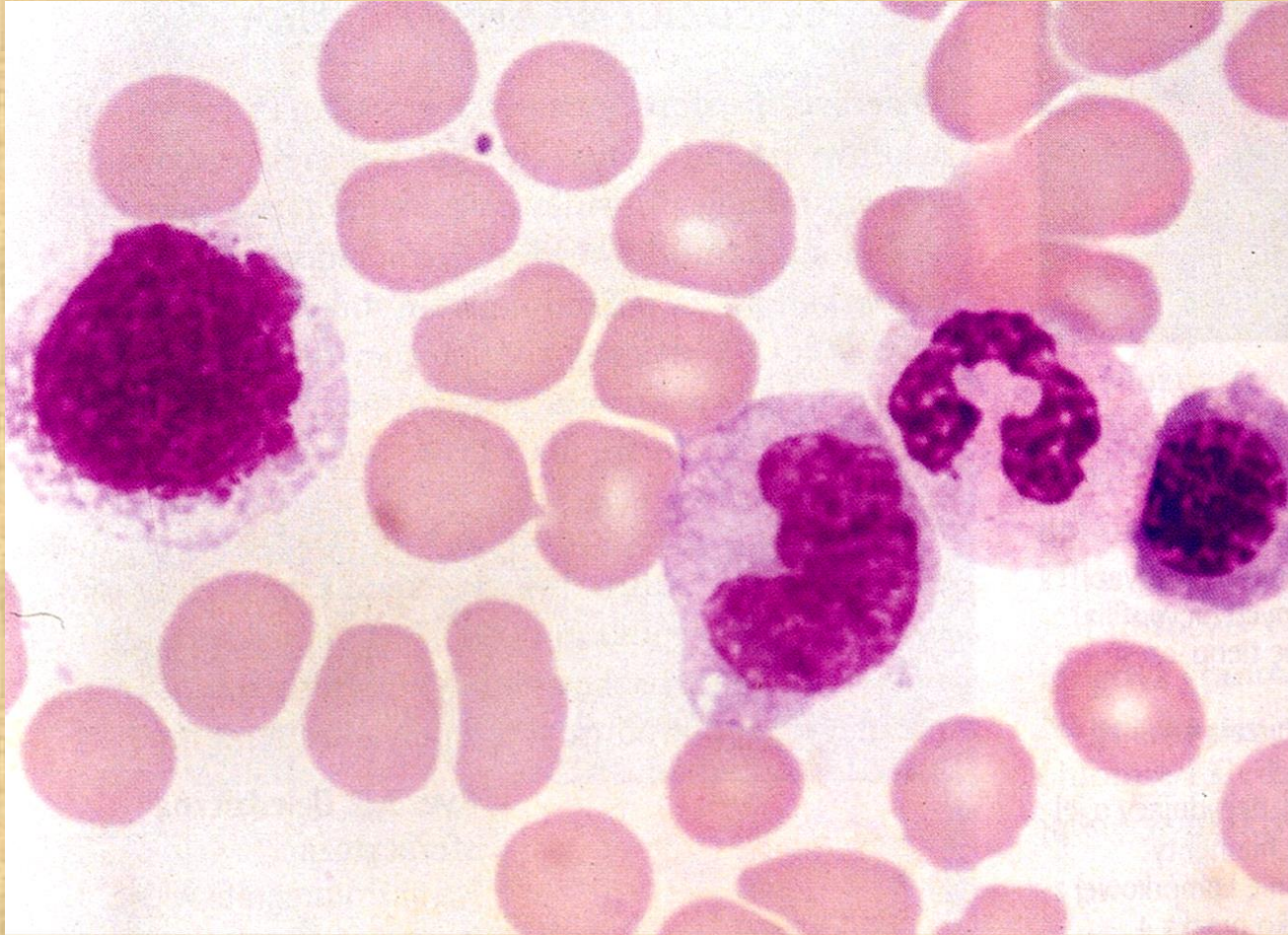
**pochłaniają światło o innej długości w formie monomeru i dimeru,
oraz w postaci polimerów**

zależy to od: rozcieńczenia roztworu,

pH

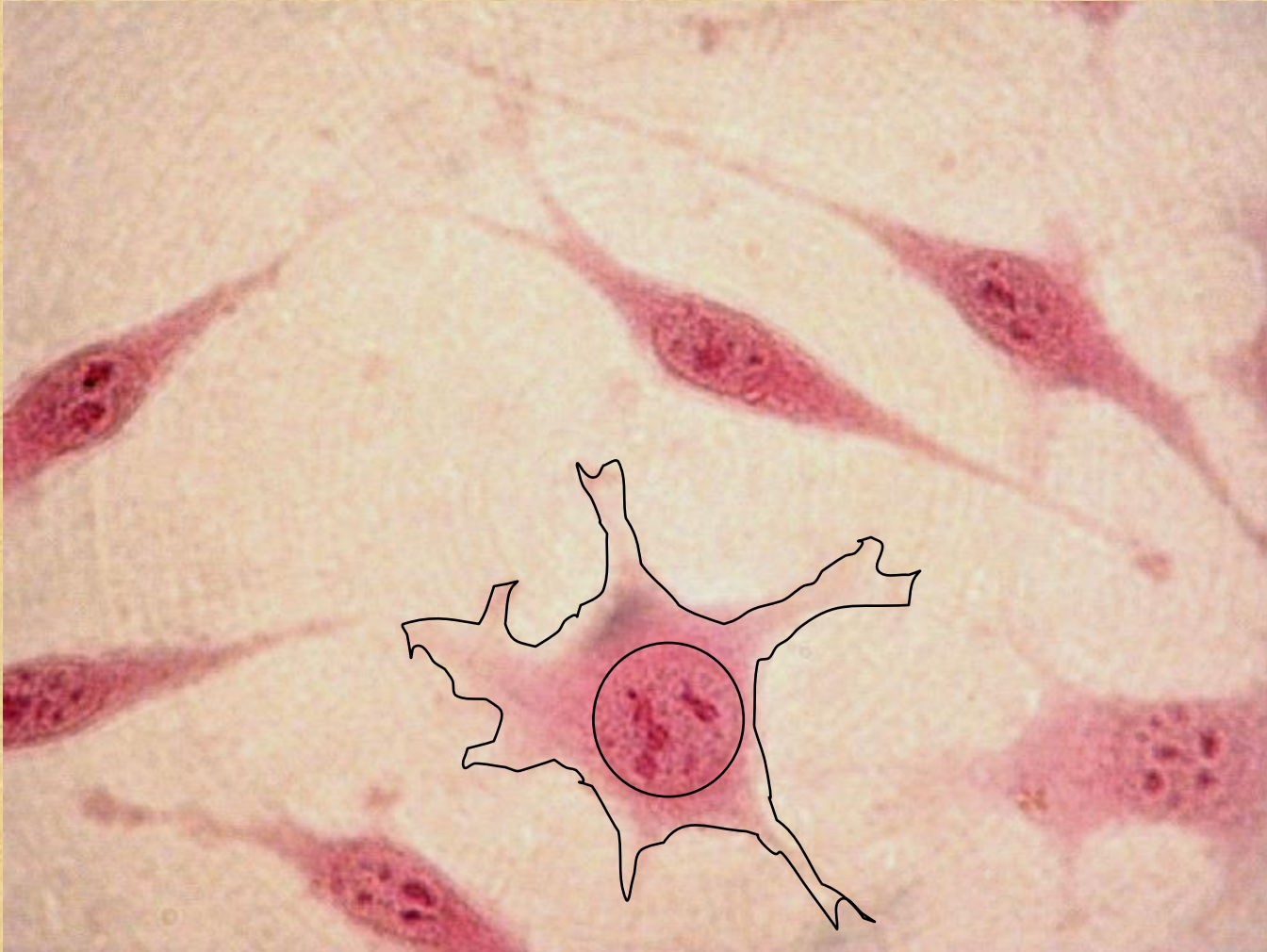
temperatury

Komórki z płynu otrzewnowego



Barwienie HE

Fibroblasty w hodowli *in vitro*



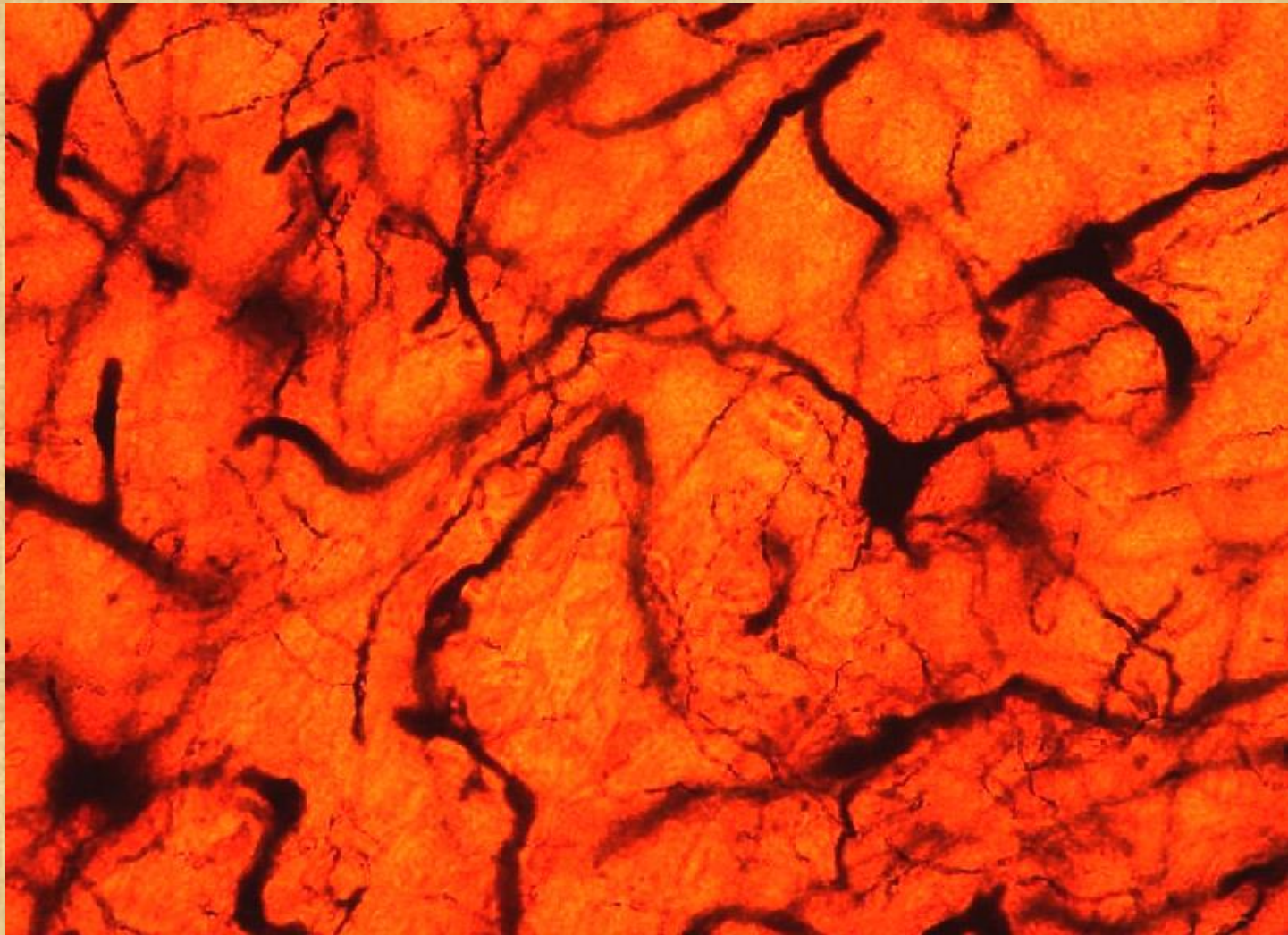
Barwienie HE

Izolowane miocyty mięśniówki gładkiej



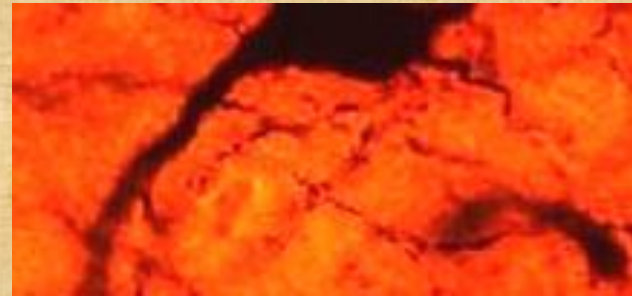
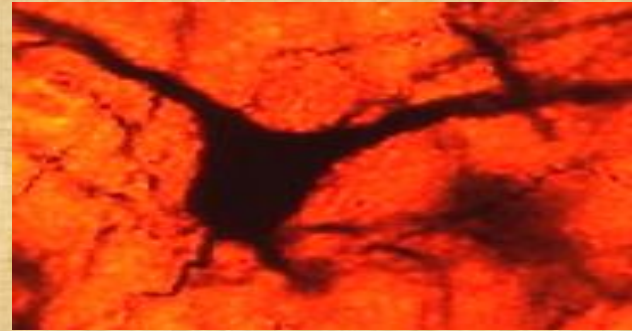
Barwienie HE

Neurony w preparacie mózgowia



Barwienie solami srebra

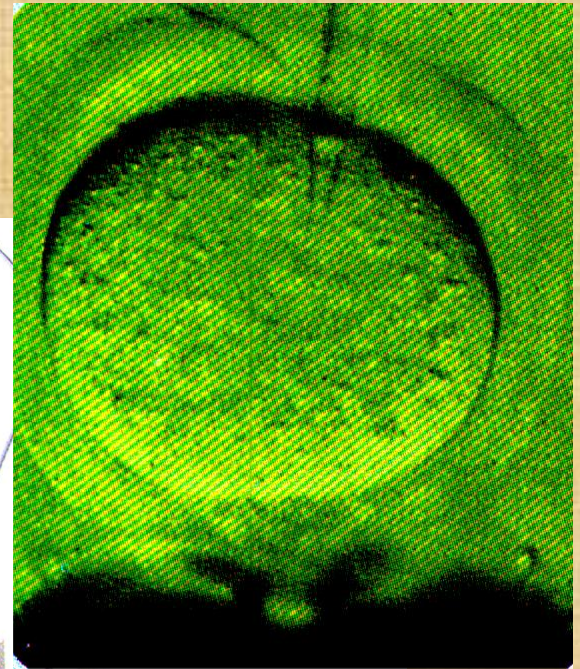
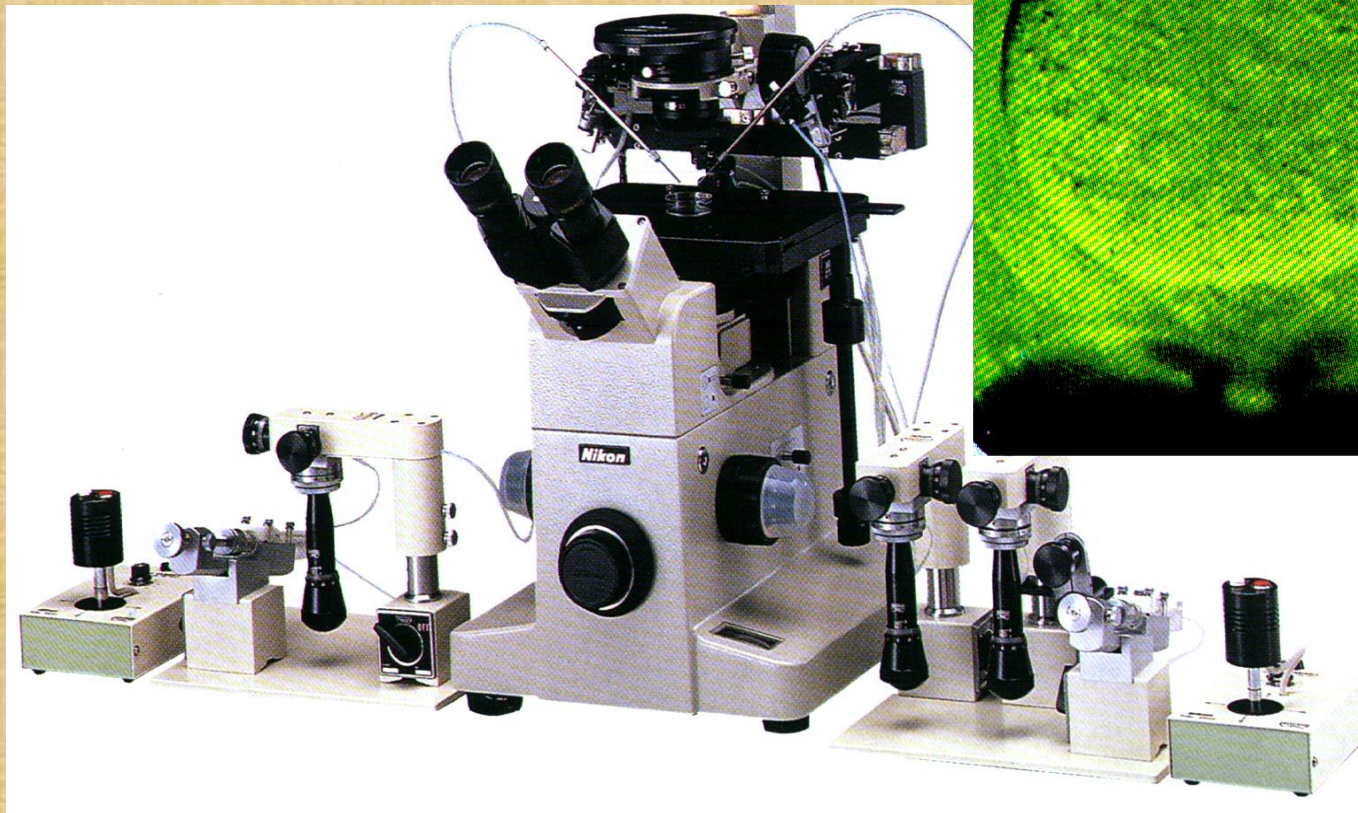
Neurony w preparacie mózgowia - schemat



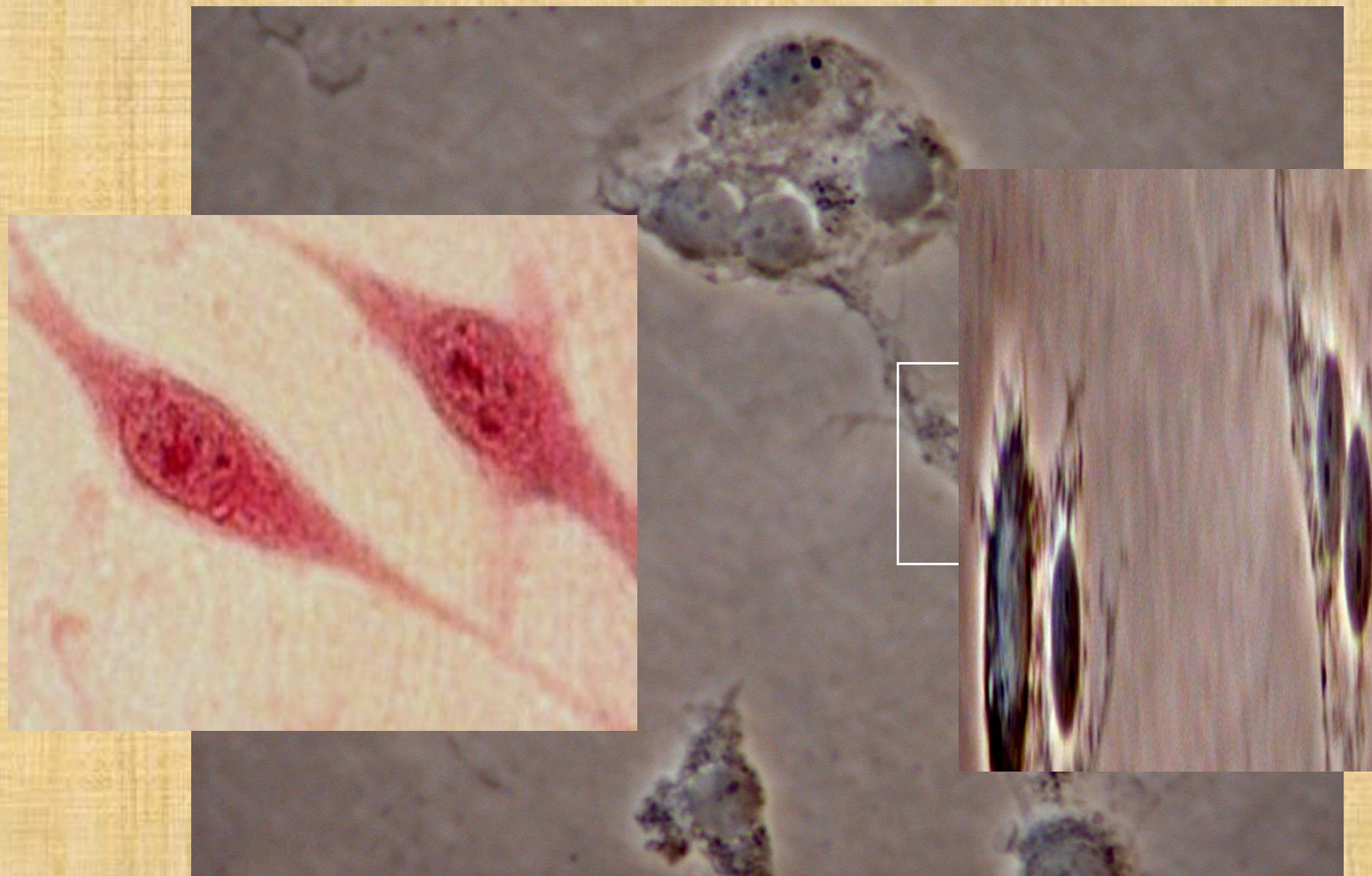
Rodzaje mikroskopów

- mikroskop akustyczny
- mikroskop elektronowy
- mikroskop fluorescencyjny
- mikroskop holograficzny
- mikroskopy konfokalne
- mikroskop metalograficzny
- mikroskop operacyjny
- mikroskop optyczny
- mikroskop polaryzacyjny
- mikroskop pomiarowy
- mikroskop porównawczy
- **mikroskop sił atomowych**
- mikroskop stereoskopowy
- mikroskop warsztatowy
- skaningowy mikroskop tunelowy

Mikroskop kontrastowo-fazowy (zestaw do mikromanipulacji)

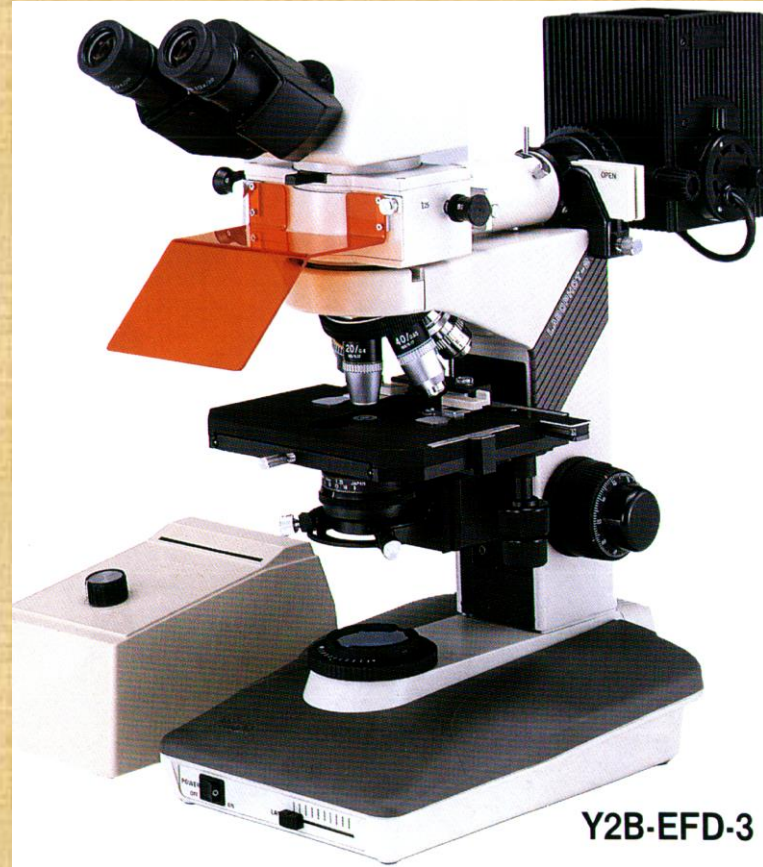
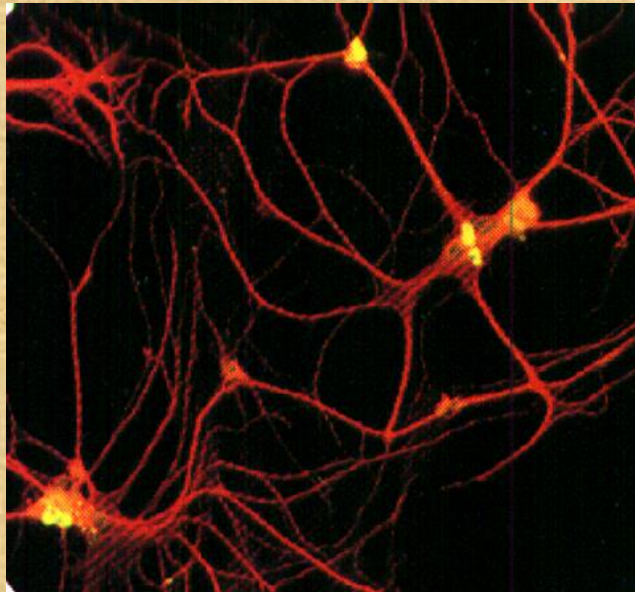


Hodowla komórek nabłonkowych *in vitro*



Kontrast fazowy

Mikroskop fluorescencyjny



Mikroskop fluorescencyjny

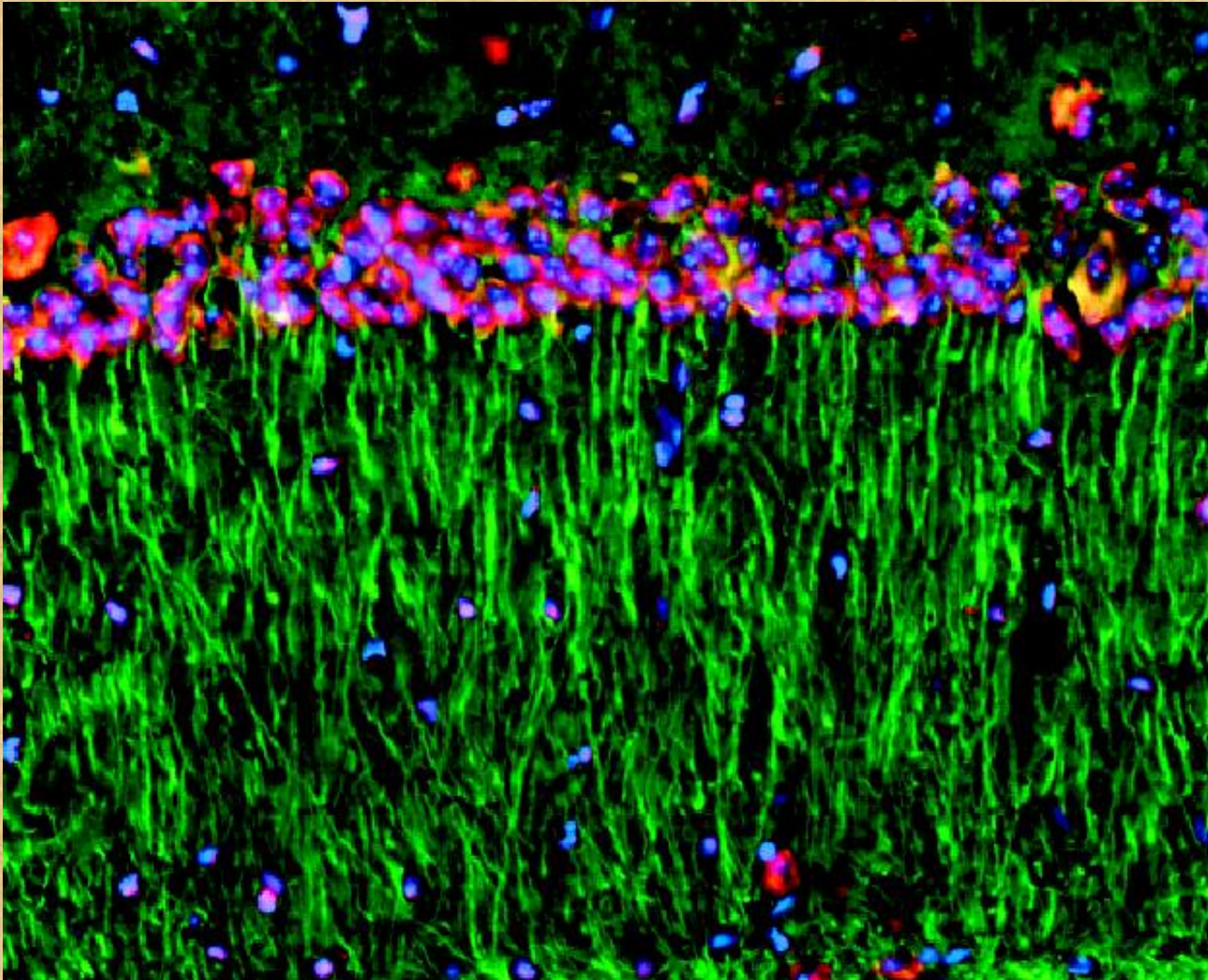
to mikroskop świetlny używany w badaniach substancji organicznych i nieorganicznych, działanie oparte jest na zjawisku

fluorescencji i fosforescencji

Fluorescencja może być:

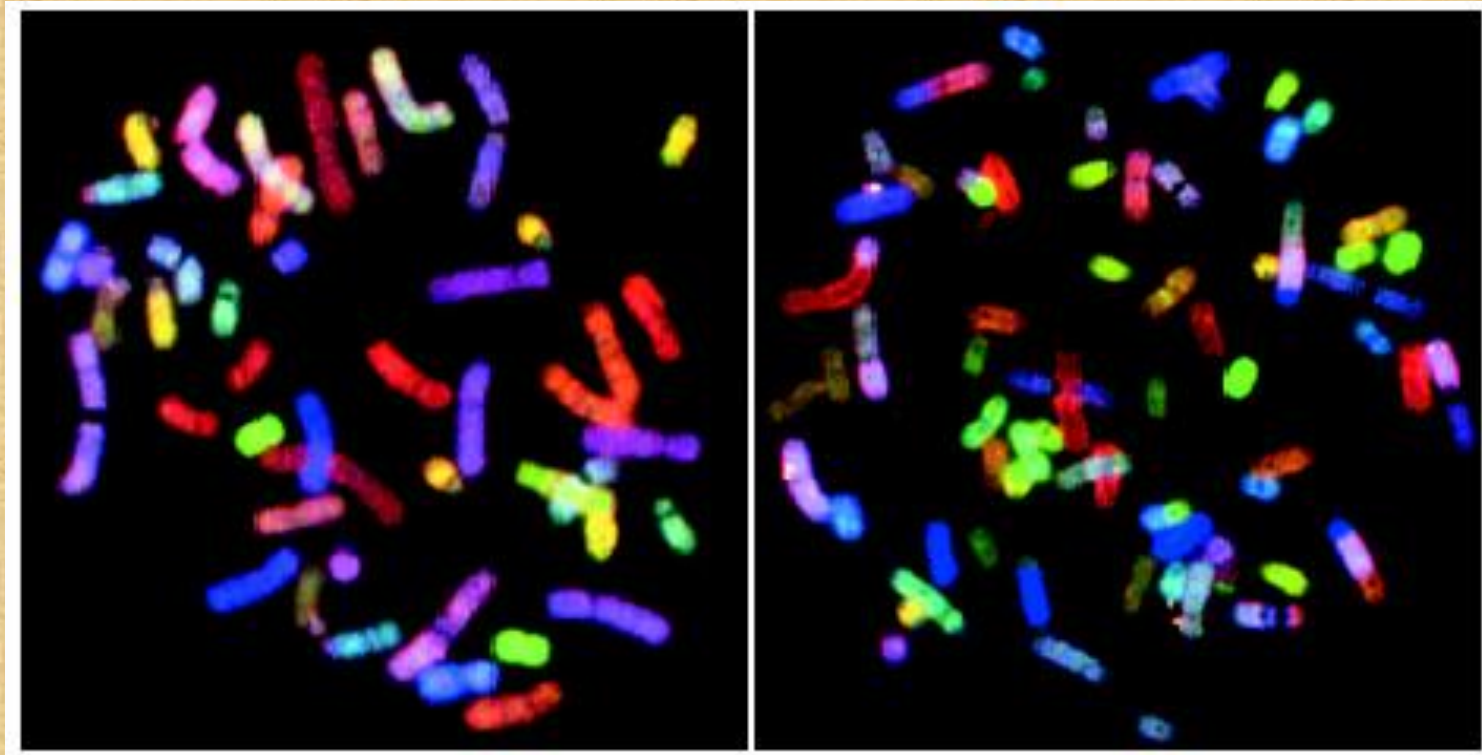
- naturalna**
- wzbudzona (światłem o określonej długości fali)**

Immunofluorescencja



Preparat mózgowia myszy, okolica hipokampa

Hybrydyzacja z sondą molekularną (FISH)



Komórki zdrowe

Komórki rakowe

SEMINARIUM - Mikroskop, technika histologiczna.
ĆWICZENIE - Różnorodne typy komórek. Zasady pracy z mikroskopem.



Mikrotom saneczkowy

1. Omówienie regulaminu ćwiczeń.
2. Podstawy techniki histologicznej.
3. Mikroskop, budowa, działanie.
4. Izolowane komórki mięśni gładkich (preparat nr 19, p. d.)
5. Fibroblasty (preparat nr 97, p. d.)
6. Srebrzone komórki nerwowe (preparat nr 112, p. d.)

Literatura obowiązkowa:

- Sawicki W., Malejczyk J., „Histologia”, PZWL, Warszawa 2019
- Sadler T.W., Langman Embriologia, red. wyd. pol. J. Malejczyk, M.Kujawa, Edra Urban&Partner, Warszawa 2017
- Chiego Daniel J. Jr, "Histologia i Embriologia jamy ustnej" , red. wyd. pol. P. Włodarski, Edra Urban & Partner., Wrocław 2017
- Kmiec Z., „Histologia i cytofizjologia zęba i jamy ustnej” – podręcznik dla studentów stomatologii. Elsevier Urban & Partner, Wrocław 2007

Literatura uzupełniająca:

- Nanci A., Ten Cate's Oral Histology, Development, Structure, and Function, Elsevier , 9th Edition, 2017
- Chiego, Daniel J. Jr., Essentials of Oral Histology and Embryology: A Clinical Approach, Elsevier, 4th Edition, 2014
- Bartel H., Embriologia. PZWL. Warszawa 2022
- Eroshenko Victor P., Atlas Histologiczny z powiązaniem czynnościowymi., red. wyd. pol. M. Kujawa, MediPage, Warszawa 2019