

УДК 611.018.1

М80

Авторы:

Коржевский Дмитрий Эдуардович - доктор медицинских наук, ведущий лабораторией функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы отдела общей и частной морфологии ФГБУ «НИИЭМ» СЗО РАМН;

Гилерович Елена Георгиевна — доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы отдела общей и частной морфологии ФГБУ «НИИЭМ» СЗО РАМН;

Кирик Ольга Викторовна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы отдела общей и частной морфологии ФГБУ «НИИЭМ» СЗО РАМН;

Сухорукова Елена Геннадьевна — кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы отдела общей и частной морфологии ФГБУ «НИИЭМ» СЗО РАМН;

Григорьев Игорь Павлович — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории функциональной морфологии центральной и периферической нервной системы отдела общей и частной морфологии ФГБУ «НИИЭМ» СЗО РАМН

Рецензент:

Иванов Игорь Николаевич — доктор медицинских наук, профессор кафедры судебной медицины ГБОУ ВПО «СЗГМУ им. И. И. Мечникова»

Морфологическая диагностика. Подготовка материала М80 для гистологического исследования и электронной микроскопии : руководство / под ред. Д. Э. Коржевского. — СПб.: СпецЛит, 2013. — 127 с.

ISBN 978-5-299-00569-1

В руководстве кратко изложен материал, необходимый для освоения современных методов гистологического и ультраструктурного исследования. Приведены сведения о теоретических основах используемых методов и практических приемах, часть из которых разработана и усовершенствована авторами издания.

Справочное пособие предназначено для специалистов, применяющих в своей работе различные методы гистологического исследования и электронную микроскопию (врачей-патологоанатомов, неврологов, гематологов, бактериологов, судебно-медицинских экспертов и научных работников), а также будет полезно для студентов биологических и медицинских факультетов, изучающих соответствующие дисциплины.

УДК 611.018.1

© Коржевский Д. Э., Гилерович Е. Г.,
Кирик О. В., Сухорукова Е. Г.,
Григорьев И. П. — 2013
© Издательство «СпецЛит», 2013

ISBN 978.5.299.00569.1

ОГЛАВЛЕНИЕ

Принятые сокращения	6
Предисловие.....	7

Раздел I

Подготовка материала для гистологического исследования

Глава 1. Фиксация материала для гистологического исследования (Д. Э. Коржневский)	10
1.1. Общие положения.....	10
1.2. Фиксация материала для световой микроскопии.....	11
1.2.1. Ацетон	12
1.2.2. Этанол	12
1.2.3. Сложные фиксирующие жидкости, содержащие этанол	14
1.2.4. Метанол.....	16
1.2.5. Изопропанол.....	16
1.2.6. Уксусная кислота.....	17
1.2.7. Формалин.....	17
1.2.8. Пикриновая кислота и жидкость Буэна.....	20
1.2.9. Другие фиксаторы общего назначения.....	22
1.3. Фиксация материала для иммуноцитохимического исследования	22
Глава 2. Декальцинация костной ткани (Д. Э. Коржневский)	26
2.1. Общие сведения о декальцинации	26
2.2. Кислотная декальцинация	27
2.3. Декальцинация при иммуногистохимическом исследовании	28
2.4. Контроль эффективности декальцинации	29
Глава 3. Обезвоживание объектов и заливка в парафин (Д. Э. Коржневский)	30
3.1. Обезвоживание материала	30
3.2. Заливка объектов в парафин	32
3.3. Применение целлоидина при заливке в парафин.....	35
Глава 4. Изготовление срезов и их наклейка (Д. Э. Коржневский, О. В. Кирик)	37
4.1. Изготовление срезов	37
4.2. Подготовка предметных стекол.....	38
Глава 5. Подготовка срезов к окрашиванию и заключение гистологического препарата (Д. Э. Коржневский, О. В. Кирик)	43
5.1. Депарафинирование и регидратация срезов перед окраской	43
5.2. Дегидратация, просветление и заключение срезов после окраски	“*5

Глава 6. Красители, используемые в гистологии и цитологии (Д. Э. Коржевский)	
6.1. Гематоксилин.....	
6.1.1. Квасцовые гематоксилины	
6.1.2. Железные гематоксилины.....	
6.2. Эозин и обзорные методы окраски.....	
6.2.1. Обзорная окраска препаратов гематоксилином и эозином.....	
6.2.2. Обзорная окраска азур-эозином	
Глава 7. Специальные методы окраски, используемые для изучения структур клеточного ядра (Д. Э. Коржевский, О. В. Кирик)	
7.1. Реакция Фельгена.....	
7.2. Выявление ядрышек в интерфазных клетках при помощи метода AgNOR.....	
7.2.1. Импрегнационный метод выявления ядрышек в ядрах клеток разных тканей.....	
7.2.2. AgNOR-метод, рекомендуемый для парафиновых срезов и фиксированного в формалине материала	
7.3. Выявление структурных изменений ядра, характерных для апоптоза	
Глава 8. Методы окраски соединительной ткани (Д. Э. Коржевский) 8.1. Окраска препаратов по Ван-Гизону	
8.2. Окраска соединительной ткани по методу Маллори	
8.3. Окраска соединительной ткани по Маллори в модификации Слинченко	
8.4. Выявление эластических волокон.....	
Глава 9. Специальные методы окраски (Д. Э. Коржевский, Е. Г. Сухорукова)	
9.1. Выявление фибрина методом ОКГ по Зербино.....	
9.2. Выявление повреждений миокарда по Ли (1971) — ГОФП	
9.3. Окраска хроматофильной субстанции нервных клеток по Нисслию.....	
9.3.1. Окраска нервных клеток по Нисслию крезильовым фиолетовым.....	
9.3.2. Окраска нейронов по методу Ниссля в авторской прописи	
9.3.3. Окраска нейронов по методу Ниссля готовым красителем (толуидиновый синий («БиоВитрум»))	
9.4. Окраска миелиновых волокон.....	
9.5. Окраска микроорганизмов метиленовым синим Лефлера	
9.6. Окраска микроорганизмов по Граму—Вейгерту.....	
9.7. Окраска микобактерий карболовым фуксином по Цилю — Нильсену	
Глава 10. Гистохимические методы окрашивания гистологических препаратов (Д. Э. Коржевский, Е. Г. Сухорукова)	
10.1. Выявление включений амилоида	

10.1.1. Окраска амилоида по Беннхольду.....	85
10.1.2. Окраска амилоида толуидиновым синим	86
10.1.3. Флуоресцентные методы выявления амилоида.....	86
10.2. Выявление металлов	87
10.2.1. Выявление соединений железа (III) по Перлеу.....	87
10.2.2. Выявление соединений меди по Хоуэлу	88
10.2.3. Выявление соединений свинца	89
10.3. Выявление гемоглобина и гемоглинурийных пигментов	90
10.4. Выявление нейтральных жиров жирорастворимыми	
красителями.....	91
10.4.1. Выявление нейтральных жиров по Чиффеле и Путту	91
10.4.2. Выявление нейтральных жиров по Лилли и Ашберну	92
10.5. Выявление углеводов и мукополисахаридов	93
10.5.1. Выявление гликогена по Мак-Манусу.....	93
10.5.2. Выявление слизи альциановым синим	94
10.6. Комбинированная окраска тучных клеток и эозинофильных	
лейкоцитов по Сухоруковой и Ворончихину.....	95

Раздел II

Подготовка материала для электронной микроскопии

Глава 11. Введение в электронную микроскопию (И. П. Григорьев)	98
Глава 12. Особенности подготовки материала для электронно-микроскопического исследования (Е. Г. Гилерович)	102
12.1. Фиксация материала	102
12.2. Дополнительная (вторичная) фиксация материала.....	103
12.3. Проводка материала.....	104
12.4. Приготовление растворов для фиксации и постфиксации	107
Глава 13. Ультратомы и техника изготовления срезов (О. В. Кирик)	110
13.1. Получение полутонких срезов.....	110
13.2. Ультратонкие (тонкие) срезы	112
13.2.1. Нож для ультратомии	112
13.2.2. Получение ультратонких срезов	115
13.3. Извлечение срезов	117
Глава 14. Окрашивание и контрастирование (Е. Г. Гилерович, О. В. Кирик)	119
14.1. Окрашивание полутонких срезов	119
14.2. Контрастирование ультратонких срезов.....	120
14.3. Приготовление растворов для контрастирования срезов	121

Приложения

Приложение 1. Лабораторный менеджмент: организация рабочего процесса в гистологической лаборатории	123
Приложение 2. Таблица растворимости красителей	126