Лабораторна робота №

**Тема:** «**СКЕЛЕТНІ ТКАНИНИ»**

**Мета:** ознайомитися з будовою та класифікацією скелетних тканин. Усвідомити особливість їхньої будови, співвідношення та розташування гістологічних елементів клітинного та неклітинного типів у зв’язку з виконуваною функцією. Вивчити шляхи розвитку кісткової тканини.

**Обладнання:** мікроскоп, гістологічні препарати, таблиці.

**Питання для самопідготовки:**

1. Класифікація скелетних тканин.
2. Особливості гістологічної будови гіалінового хряща.
3. Будова еластичного хряща.
4. Будова та функції волокнистого хряща.
5. Види кісткової тканини.
6. Особливість ретикулофіброзної тканини.
7. Відмінність між пластинчастою губчастою та компактною кістковою тканиною.

**Основна література:**

1. Александровская О.В., Радостина Т.Н. Цитология, гистология и эмбриология. –М.: Агропромиздат, 1987.- 205с.
2. Артишевский А. А., Леонтюк А.С., Слука Б.А. Гистология с техникой гистологических исследований: Учеб. пособие. — Минск: Вышсйшая школа, 1999.
3. Афанасьев Ю.И., Юрина Н.А. Гистология. — Москва: Медицина, 1989.
4. Гистология: введение в патологию / Под ред. Э.Г. Улумбекова и Ю.А. Челышева. -Москва: ГОЭТАР, 1997.
5. Гистология: Учебное пособие / Под ред. Э.Г. Улумбекова, Ю.А. Челышева. Москва: ГОЭТАР, 2001.
6. Елисеев Е.Г. Гистология. — Москва: Медицина, 1972

**ХІД РОБОТИ:**

Завдання 1. **Гіаліновий хрящ.**

Препарат: гіаліновий хрящ ребра ссавця.

Забарвлення: гематоксилін та еозин.

Збільшення: х 8, х 40.

Для виготовлення препарату орган фіксують у суміші спирту та формаліну, потім забарвлюють квасцовим гематоксиліном та еозином.

Мале збільшення: гіаліновий хрящ складається з щільної гомогенної міжклітинної речовини, яка має фіолетове забарвлення різних відтінків. У міжклітинній речовині розташовуються хрящові клітини. Хрящ зверху вкритий охрястям. Орієнтувати препарат таким чином, щоб охрястя знаходилося у верхній частині поля зору.

Велике збільшення: охрястя складається з двох шарів: поверхневий, який утворений щільною волокнистою неоформленою сполучною тканиною з кровоносними судинами, та хондрогенний, у якому розташовуються молоді клітини – *хондробласти*. У поверхневому шарі можна чітко розрізнити колагенові волокна рожевого кольору та ядра фіброцитів темно-синього або фіолетового кольору. У цьому шарі проходять капіляри. У хондрогенному, або внутрішньому, шарі розташовуються фібробласти та хондробласти. Колагенові пучки поступово стоншуються, просочуються аморфною речовиною та погано забарвлюються. Цей шар поступово переходить у зону молодого хряща.

Гіаліновий хрящ складається з великої кількості міжклітинної речовині, яка на препараті здається гомогенною. Насправді, міжклітинна речовина містить багато колагенових волокон, але вони мають практично такий самий коефіцієнт заломлення, як і хондромукоїди, тому на їхньому фоні колагенові волокна не виділяються.

У міжклітинній речовині знаходиться велика кількість хрящових порожнин, в яких містяться хрящові клітини. Форма клітин залежить від місця розташування у хрящі: безпосередньо під охрястям клітини веретеноподібні, по мірі просування у глибину хряща клітини більші та, здавлюючи одна одну, приймають багатокутну форму.

Хрящові клітини (хондробласти та хондроцити) містять дуже багато води. Під час виготовлення препарату внаслідок зневоднення вони стискаються і між клітинами та основною речовиною утворюється світла щілина (це частина порожнин, у якій знаходиться хондроцит).

Хрящ можна поділити на декілька зон:

* *зона молодого хряща*. Міжклітинна речовина слабо базофільна або слабо оксифільна. Клітини – хондробласти – розташовуються поодиноко, оточені капсулою.
* *проміжна зона зрілого хряща*. Міжклітинна речовина навколо хондроцитів базофільна. Хондроцити можуть ділитися амітозом. Внаслідок щільності міжклітинної речовини, хондроцити, які поділилися, не відходять один від одного, а залишаються поряд, формуючи таким чином ізогенну групу. Ізогенна група складається з 2-4 клітин. Ізогенна група оточена смужкою оксифільної речовини – хрящова капсула, базофільна зона навколо ізогенної групи – клітинна територія (територіальний матрикс), слабо базофільний матрикс між клітинними територіями – інтертеріторіальний матрикс.

- *глибока зона старого хряща.* Міжклітинна речовина складається з базофільних, слабо базофільних та оксифільних ділянок. У ізогенних групах значна кількість клітин.

Замалювати у альбом ділянку гіалінового хряща та зробити наступні позначення:

1 – охрястя

2 – поверхневий шар охрястя

3 – внутрішній шар охрястя

4 – хондробласти

5 – хондроцити

6 – ізогенні групи

7 – міжклітинна речовина

8 – територіальний матрикс

9 – інтертериторіальний матрикс

10 – хрящова капсула

11 – зона молодого хряща

12 – зона зрілого хряща

13 – зона старого хряща

Завдання 2. **Еластичний хрящ**

Препарат: еластичний хрящ вушної раковини ссавця.

Забарвлення: орсеїн.

Збільшення: х 8, х 40.

Еластичний хрящ більш гнучкий та еластичний, ніж гіаліновий. Шматочок вуха без шкіри фіксують у спирті з формаліном. Зрізи фарбують орсеїном.

Мале збільшення: з обох боків еластичний хрящ вкритий охрястям, яке без різкої межі переходить у зону молодого хряща. Роздивитися детальну будову еластичного хряща на великому збільшенні.

Велике збільшення: як і гіаліновий, він складається з декількох зон.

- *зона молодого хряща* знаходиться безпосередньо під охрястям. Хондробласти веретеноподібні та розташовані поодиноко паралельно до поверхні хряща. Міжклітинна речовина вся пронизана тонкими та пухко розташованими еластичними волокнами, які забарвлені орсеїном у темно-бурий колір. Колагенові волокна при такому методі не забарвлюються.

- *проміжна зона зрілого хряща* містить округлі хондроцити, які стискаються проміжною речовиною. Еластичні волокні більш товсті та розташовуються густіше.

- *глибока зона старого хряща* містить товсті еластичні волокна, які утворюють густу сітку. Хондроцити дещо витягнуті поперек хрящової пластинки та утворюють ізогенні групи, які оточені хрящовою капсулою. У ізогенних групах, як правило, кількість клітин не перевищує 2-3

Замалювати у альбом ділянку еластичного хряща та зробити наступні позначення:

1 – охрястя

2 – поверхневий шар охрястя

3 – внутрішній шар охрястя

4 – хондробласти

5 – хондроцити

6 – ізогенні групи

7 – міжклітинна речовина

8 – хрящова капсула

9 – зона молодого хряща

10 – зона зрілого хряща

11 – зона старого хряща

Завдання 3. **Волокнистий хрящ**

Препарат: міжхребцевий диск теляти.

Забарвлення: гематоксилін та еозин.

Збільшення х 8, х 40.

Волокнистий хрящ представляє собою проміжну тканину між гіаліновим хрящем та щільною волокнистою оформленою тканиною. З хребта новонародженого теля вирізають міжхребцевий диск таким чином, щоб з обох боків залишилися шматочки хребців. Фіксують та декальцинують у насиченому розчині пікринової кислоти. Роблять вертикальні зрізи, які забарвлюють квасцовим гематоксиліном та еозином.

Мале збільшення: з обох боків препарату видно частини хребців. З боків хребці з’єднуються зв’язками. Зовні зв’язка складається з сухожилка, який сформований щільною волокнистою оформленою тканиною. Зсередини зв’язка складається з волокнистого хряща, який поступово переходить у гіаліновий хрящ.

Велике збільшення: волокнистий хрящ відрізняється від гіалінового наявністю товстих пучків колагенових волокон, які розташовуються паралельно один одному. Між товстими пучками розташовуються прошарки гіалінового хряща з типовими округлими хрящовими клітинами. Хрящові клітини частіше розташовуються поодиноко, але можуть утворювати ізогенні групи з двох, рідше трьох клітин.

Якщо пересувати препарат від гіалінового хряща хребця, що розвивається, до сухожилка, то можна побачити поступовий перехід гіалінового хряща у волокнистий, а потім перехід волокнистого у сухожилок. Спочатку у гіаліновому хрящі з’являється більше колагенових волокон, які поступово складаються у пучки та потовщуються. Поступово пучки колагенових волокон витісняють гомогенну речовину, клітини ще деякий час зберігають форму та морфологію, типову для хрящових. Поступово волокнистий хрящ переходить у типову щільну волокнисту оформлену тканину сухожилка.

Замалювати у альбом волокнистий хрящ та зробити наступні позначення:

1 – хондроцити

2 – ізогенні групи

3 – гіаліновий хрящ

4 – колагенові пучки

5 – щільна волокниста оформлена сполучна тканина

Завдання 4. **Ретикулофіброзна кісткова тканина.**

Препарат: зяброва кришка оселедця.

Забарвлення: не забарвлений.

Збільшення: х 40.

Мале збільшення: препарат краще роздивлятися при прикритій діафрагмі. Знайти на гомогенному фоні препарату кісткові тільця та роздивитися їх при великому збільшенні.

Велике збільшення: основна речовина ретикулофіброзної кістки складається з осеїнових волокон та аморфної речовини, просякнутих вапняковими солями. Під мікроскопом воно виглядає безбарвною гомогенною речовиною.

У основній речовині хаотично розташовуються кісткові тільця – порожнини, у яких розташовуються кісткові клітини. Порожнина має витягнуту овальну форму, від неї у боки відходять кісткові канальці. Вони галузяться, пронизуючи всю основну речовину та з’єднуючи сусідні кісткові порожнини. Ті канальні, які розташовуються паралельно препараторському столику мікроскопа, мають вигляд гілочок, ті, які зрізані поперек – блискучих крапок.

У кісткових порожнинах знаходяться кісткові клітини, але внаслідок виготовлення препарату вони руйнуються та мають вигляд зернистої маси, що знаходиться всередині порожнини.

Замалювати у альбом ділянку кістки та зробити наступні позначення:

1 – кісткова порожнина

2 – кісткові канальні

3 – основна речовина

4 – зерниста маса (залишки остеоцитів)

Завдання 5. **Пластинчаста кісткова тканина**

Препарат: гомілкова кістка людини.

Забарвлення: не забарвлений.

Збільшення х 8, х 40.

*Поперечний зріз трубчастої кістки.*

Для виготовлення препарату шматочок діафізу трубчастої кістки фіксують формаліном, ущільнюють у 800-900 спирті та декальцінують у азотній кислоті. Мікротомують та забарвлюють зрізи за методикою Шморля.

Мале збільшення: на поперечному зрізі кістка має пошарову будову. Проміжна речовина кістки побудована з тонких кісткових пластин, які і є основною архітектурною одиницею кістки.

Зовні та зсередини кістка вкрита генеральними пластинами, які розташовуються паралельно до її поверхні. У деяких місцях зовні та зсередини кістки можна побачити залишки тканини – це залишки окістя (периоста) та ендоста – неоформлена щільна волокниста тканина.

Простір між зовнішніми та внутрішніми генеральними пластинами заповнений порожнистими циліндрами – остеонами. Роздивитися детальну будову остеона на великому збільшенні.

Велике збільшення: остеон побудований з концентричних кісткових пластин, вставлених одна в одну. У середині остеона проходить гаверсов канал. У ньому проходять судини та нерви, що живлять кістку, які супроводжує невелика кількість сполучної тканини. Внаслідок виготовлення препарату м’які тканини не зберігаються. Судини у кісці розташовуються паралельно до її поверхні, проникають у кістку через канали, що пронизують генеральні пластинки.

Кісткові пластинки розташовуються навколо гаверсового каналу таким чином, що утворюється система циліндрів, вставлена один в один. Внаслідок такої будови утворюється довга трубка з товстою стінкою та вузьким каналом – гаверсовим каналом. Така система називається гаверсовою системою. Окремі гаверсові системи відокремлені одна від одною спайною лінією.

Кісткові пластинки складаються з пучків осеїнових волокон, які розташовуються у певному спрямуванні, при чому, у сусідніх пластинках волокна розташовуються майже перпендикулярно одне до одного. Між собою сусідні кісткові пластинки склеєні аморфною речовиною – осемукоїдом. Така спайна лінія добре виділяється на препараті.

Внаслідок того, що осеїнові волокна сусідніх пластинок розташовуються майже під прямим кутом одне до одного, деякі пластинки на препараті мають темний колір (волокна зрізані поперек), деякі світлий колір (волокна зрізані вздовж). Таким чином, гаверсова система утворена темними та світлими кільцями, які розташовуються почергово.

Між гаверсовоми системами залишаються порожнини, які заповнені пластинками неправильної форми – залишки остеонів, що зруйнувалися.

У кісткових пластинках та поміж ними розташовуються кісткові порожнини, від яких відходять розгалужені кісткові канальні. На препараті кісткові порожнини забарвлені у чорний колір. У живій кісці у кісткових порожнинах знаходяться остеоцити. У сусідніх пластинках кісткові порожнини розташовуються паралельно та утворюють характерні кільця у гаверсових системах. Кісткові канальні пронизують усі пластинки остеона у радіальному спрямуванні та відкриваються у гаверсов канал.

*Повздовжній зріз трубчастої кістки.*

Мале збільшення: гаверсові канали розрізані вздовж та мають вигляд вузьких щілин, що розташовуються паралельно. У деяких місцях вони з’єднуються один з одним за допомогою перемичок. Концентричні кісткові пластинки перерізані вздовж та надають повздовжню смугастість основній речовині кістки. Кісткові порожнини розташовуються між кістковими пластинками та утворюють паралельні ряди.

Велике збільшення: кісткові порожнини мають зірчасту форму та кісткові канальні, що відходять від них та пронизують основну речовину і відкриваються у гаверсов канал.

Замалювати у альбом ділянку кістки, зрізану вздовж та поперек та зробити наступні позначення:

1 – окістя

2 – генеральні кісткові пластинки

3 – остеон

4 – гаверсов канал

5 – кісткова порожнина

6 – кісткові канальці

7 – вставні ділянки

8 – кісткові пластинки

9 – ендост

10 – фолькмановські канали

Завдання 6. **Розвиток кістки з мезенхіми**

Препарат: нижня щелепа зародка свині.

Забарвлення: гематоксилін та еозин.

Збільшення: х 8, х 40.

Морфологічно розвиток кістки з мезенхіми відбувається простіше, тому доцільно спочатку розглянути такий тип утворення кістки.

Нижню щелепу зародка свині фіксують у суміші Ценкера та фарбують квасцовим гематоксиліном та еозином.

Мале збільшення: кісткову тканину, що розвивається легко пізнати по наявності великої кількості перекладин та виступів рожевого кольору, що утворюють неправильну сітку. Вивчити таку ділянку при великому збільшенні.

Велике збільшення: ззовні знаходиться остеогенна тканина – майбутнє окістя. Її утворюють витягнуті, багатокутні клітини, які мають багато відростків. Між клітинами розташовуються тонкі колагенові волокна.

Перекладини кісткової речовини здаються гомогенними. Краї перекладин мають трохи світліший колір внаслідок меншого вмісту осемукоїда порівняно з їх центральною частиною. Перекладини оточені остеобластами. Вони мають кубічну або циліндричну форму, базофільну цитоплазму та ядро з великою кількістю хроматину. Клітини лежать групами, у проміжках між групами проходять колагенові волокна.

На поверхні перекладин іде постійне утворення нових шарів кісткової тканини. Внаслідок цього частина остеобластів стає замурованими у основну речовину та перетворюються у остеоцити, які лежать у кісткових порожнинах.

Навколо кісткової речовини та у комірках сітки, утвореною перекладинами, знаходиться синтиціальна ембріональна тканина – мезенхіма.

Замалювати у альбом декілька ділянок кістки на різних стадіях розвитку та зробити наступні позначення:1 – мезенхіма

2 – остеогенна тканина

3 – кіткова перекладина

4 – остеобласт

5 – остеоцити

Завдання 7. **Розвиток кістки на місці хряща**

Препарат: кінцівка зародка свині.

Забарвлення: гематоксилін та еозин.

Збільшення: х 8.

Розвиток кістки на місці хряща представляє собою складний процес. Для його усвідомлення необхідно вивчити не певну ділянку препарату, а цілий препарат.

Кінцівку зародка свині фіксують у суміші Ценкера, декальцінують протягом доби у азотній кислоті. Роблять повздовжні зрізи та забарвлюють їх квасцовим гематоксиліном та еозином.

Скостеніня хрящової моделі починається з центра діафіза - первинна точка скостеніння. Скостеніння починається з дегенерації хрящової тканини, яке поширюється до епіфізів. Кінці хрящової моделі відповідають епіфізам майбутньої кістки. Вони побудовані з типового гіалінового хряща, основна речовина якого базофільна, в ній розташовуються ізогенні групи хрящових клітин.

Ближче до діафізу хрящові клітини інтенсивно розмножуються, але розташовуються не хаотично, а формують клітинні колонки, паралельні довгій осі діафіза – монетні стовпчики. Колонки утворюють сплощені хрящові клітини, розташовані одна над одною. Між колонками залишаються тонкі прошарки основної речовини хряща.

Ближче до середини діалізу хрящові клітини перестають ділитися, здуваються та збільшуються – утворюють так звані пухирчасті клітини. Прошарки основної речовини ще стоншуються, просікається вапновими солями – звапнення хряща, що є ознакою його дегенерації. Місця звапненя хряща забарвлюються інтенсивно гематоксиліном.

У середині діафіза охрястя перетворюється у окістя. Кістка з ембріональної тканини окістя розвивається за таким принципом, як описано для кістки нижньої щелепи (див. завдання № 6). Кістка, що утворюється у окісті, охоплює зі всіх боків середину діалізу у вигляді кільця – періостальна манжетка. Вона поступово росте та подовжується у спрямуванні до епіфізів.

У комірках періостальної манжетки знаходиться остеогенна тканина з великою кількістю капілярів.

У середині діафізу хрящ перестає рости, а зі сторони епіфізів продовжує, внаслідок цього хрящова модель приймає вигляд пісочного годинника. Поступово відбувається вростання остеогенной тканини у хрящ. Судини разом з клітинами проникають у середину діафізу, руйнують хрящову тканину: розчинюють тонкі прошарки між порожнинами пухирчастих клітин, клітинних колонок. Внаслідок цього хрящові клітини гинуть. Прошарки основної речовини хряща не повністю руйнуються, а залишається у вигляді «поїдених» перекладин.

У середній частині діафізу добре видно первинну кісткомозкову порожнину, у якій знаходяться первинний кістковий мозок, остеобласти, широкі кровоносні судини та залишки основної речовини хряща, інтенсивно забарвленої гематоксиліном.

Остеобласти на поверхні залишків основної речовини хряща розташовуються щільним шаром, схожим на епітелій. Починається утворення шарів кісткової речовини, при чому деякі з остеобластів замуровуються та перетворюються у остеобласти. Потім окремі кісткові перекладини зливаються та утворюється губчаста кістка.

Замалювати у альбом кістку, що розвиваються, та зробити наступні позначення:

1 – охрястя

2 – окістя

3 – кісткова манжетка

4 – кісткові перекладини

5 – остеобласти

6 – остеоцити

7 – остеобласти

8 – запнений хрящ

9 – зона зруйнованого хряща

10 – зона пухирчастого хряща

11 – зона монетних стовпчиків

12 – зона незміненого хряща

**Питання для контролю:**

1. Дайте характеристику різним видам хрящової тканини.

2. Які види кісткової тканини вам відомі?

3. Що таке остеон та яка його будова?

4. Які шляхи розвитку кістки вам відомі?