

# Практическо упражнение № 1

## Устройство и работа с микроскоп. Външна и вътрешна морфология на клетката.

Цитолема, ендоплазмен ретикулум, рибозоми, митохондрии, лизозоми, комплекс на Голджи, ядро, цитоцентър, специализирани клетъчни органели и клетъчни включения.

Под **външна морфология** на клетката се разбира нейната форма, големина и цвят. Най-често клетките в живо състояние са безцветни или слабо белезникави. По-рядко могат да бъдат оцветени (напр. еритроцити). Формата и размерите на клетките варират в широки граници в зависимост от тяхното функционално състояние.

**Клетъчната мембрана (цитолема, плазмалема)** обгръща цитоплазмата отвън и определя клетъчните граници. Тя изпълнява ролята на своеобразна бариера като поддържа съществени различия в състава на цитозола и междуклетъчното вещество. Химичният състав на мембраната е представен от липиди, протеини и известно количество въглехидрати.

В зависимост от функциите на клетъчната мембрана, тя образува различни структури:

- по апикалната повърхност: микровили, киноцилии, стереоцилии;
- по базалната повърхност: базални инвагинации;
- по латералната повърхност: различни по вид контакти (бариерни, адхезионни и комуникационни)

**Ендоплазмения ретикулум** е задължителен клетъчен органел, който се среща във всички видове клетки, без еритроцитите. Представлява сложна мрежа от цистерни, тубули и мехурчета, свързани помежду си. Съществуват две форми – гранулиран и гладък. По външната повърхност на гранулирания ендоплазмен ретикулум са прикрепени рибозоми чрез голямата си субединица. Той представлява място на синтез на белтъци. Гладкият ендоплазмен ретикулум не притежава рибозоми. Неговите функции са свързани с липидния синтез, обезвреждането на токсични вещества, натрупването и освобождаването на  $\text{Ca}^{2+}$ .

**Рибозомите** са задължителни немембранни органели. Те се състоят от две субединици – малка и голяма. Двете субединици са свързани само по време на белтъчен синтез. Според разположението си рибозомите са два вида: свързани и свободни.

**Митохондриите** са задължителни клетъчни органели, които се срещат във всички растителни и животински клетки, с изключение на еритроцитите. Те осигуряват енергия за клетката чрез аеробно разграждане на органични вещества. Изградени са от две мембрани: външна и вътрешна, които заграждат две пространства: интермембранно и матрично.

**Лизозомите** са мембранно-ограничени клетъчни органели, съдържащи около 60 вида хидролитични ензими с кисел рН оптимум, като кисела фосфатаза, арилсулфатаза, бета-глюкуронидаза. Тези ензими се приемат за специфични лизозомни маркери.

**Комплексът на Голджи** е мембранно-ограничен клетъчен органел, който се среща при всички растителни и животински клетки, с изключение на еритроцитите. Състои се от многократно повтаряща се структура, наречена диктиозома. Всяка диктиозома се

състои от 3-12 сплеснати цистерни, малки везикули, разположени около цистерните и големи светли вакуоли. На диктиозомите се различават две повърхности: цис-повърхност – незряла, изпъкнала и обърната към ядрото или гранулирания ендоплазмен ретикулум и транс-повърхност – зряла, вдлъбната и насочена към секреторния полюс на клетката.

В комплекса на Голджи се извършва модификация на протеините и гликопротеините, които постъпват от гранулирания ендоплазмен ретикулум. Тя включва гликозилиране, сулфатиране и протеолитично откъсване на части от молекулата.

**Ядро** притежават всички жизнеспособни клетки. По рядко се наблюдават безядрени клетки, но те имат ограничен живот и не се делят. Основни структурни компоненти на ядрото са: ядрена мембрана, хроматин, ядърце и ядрен матрикс.

Ядрената обвивка е съставена от две мембрани. Външната е покрита с рибозоми и се свързва с цистерните на гранулирания ендоплазмен ретикулум. Вътрешната мембрана е гладка. На определени места двата листа на ядрената мембрана се сливат като образуват пори. Те са изградени от три пръстена, всеки съдържащ по осем белтъчни комплекса.

Хроматина представлява комплекс между ДНК и белтъци, които биват хистонов и нехистонов.

Ядърцето е сферично образувание с диаметър 1-3  $\mu\text{m}$ . Съдържа големи гънки от ДНК, които носят гените за рРНК. Всяко ядърце е изградено от три части: светъл фибриларен център, плътна фибриларна част и грануларна част.

Ядреният матрикс е съставен от протеини, метаболити и йони.

**Цитоцентър** (центрозома) притежават всички делящи се клетки. Той е съставен от две центриоли и центросфера. Центриолите са цилиндрични телца, изградени от 9 триплети микротубули. Едната от тях се нарича майчина или зряла, а другата – дъщерна или незряла. Центросферата представлява радиерно разположени микротубули. Основната функция на цитоцентъра е образуването на делителното вретено.

**Клетъчните включвания** представляват отлагания в цитоплазмата, които са продукт на самата клетка или са постъпили от външната среда. Най-общо към тях се отнасят гликогеновите гранули, липидните капки, кристалоидите и пигментите.

За доказване на въглехидрати най-широко се използва PAS-реакцията (перйодна киселина и реактив на Шиф). Перйодната киселина е окислител. Тя разкъсва въглеродната верига при две съседни хидроксилни групи като ги превръща в алдехидни. След това с реактива на Шиф се образува стабилен цветен комплекс. Съседни хидроксилни групи има и при липидите. За да се провери дали оцветяването е специфично за гликоген, трябва да се проведе контрола (третиране с алфа-амилаза, след което не трябва да има оцветяване).

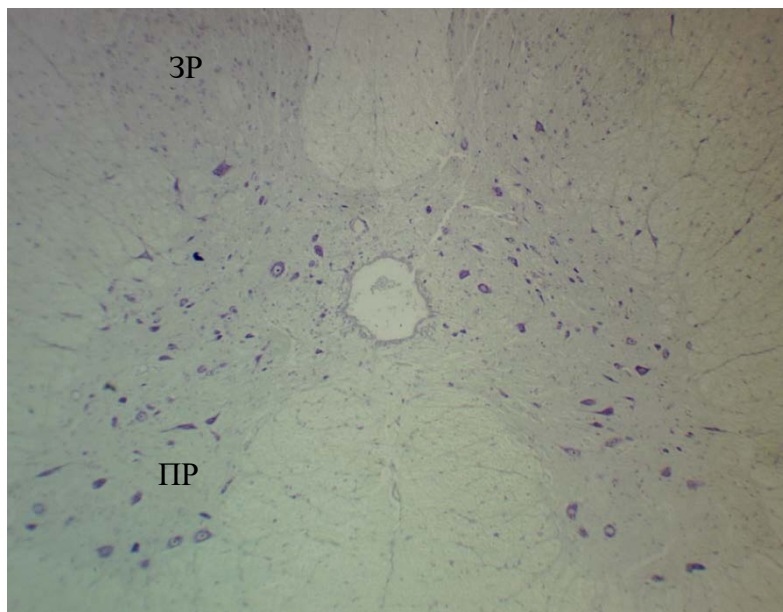
Липидите се доказват чрез използването на липобои. Такива са Судан III (оранжев), Судан IV (червен), Судан В (черен). Те имат много по висока разтворимост в липиди, отколкото в оцветителния разтвор.

Нуклеинови киселини могат да се докажат по метода на Браше. Използват се две бои: метилгрюн и пиронин. РНК се багри в червено от пиронина, а ДНК в зелено от метилгрюна.

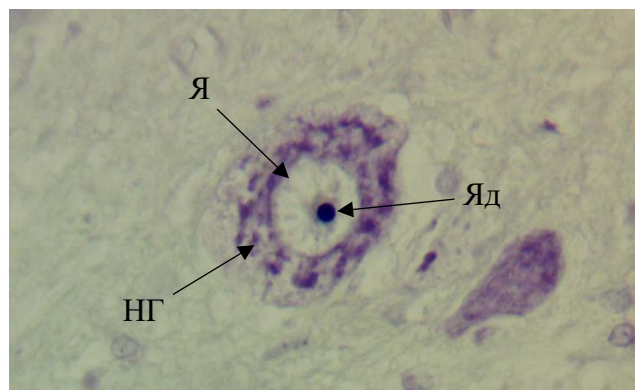
Доказването на ензими може да се осъществи по два основни начина – чрез каталитична ензимохистохимия и чрез имунохистохимия. При първия случай не се доказва самият ензим, а неговата активност. При взаимодействие със съответен субстрат се получава продукт, който може да бъде оцветен.

## 1. Medula spinalis (гръбначен мозък) – оцветяване по Нисъл (крезил виолет)

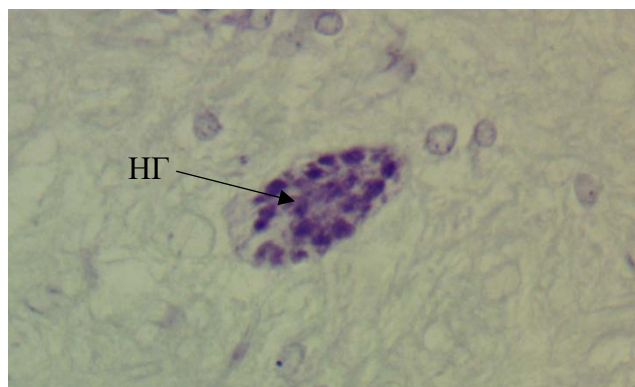
В предните рога на сивото мозъчно вещество се намират мултиполярни мотоневрони. При това оцветяване, в цитоплазмата им могат да се наблюдават силно базофилни зони, наречени Нислови грануляции. Те представляват плътно пакетирани цистерни на гранулирания ендоплазматичен ретикулум, а базофилията се дължи на големия брой рибозоми.



фиг 1.1 x40



фиг 1.2 x400



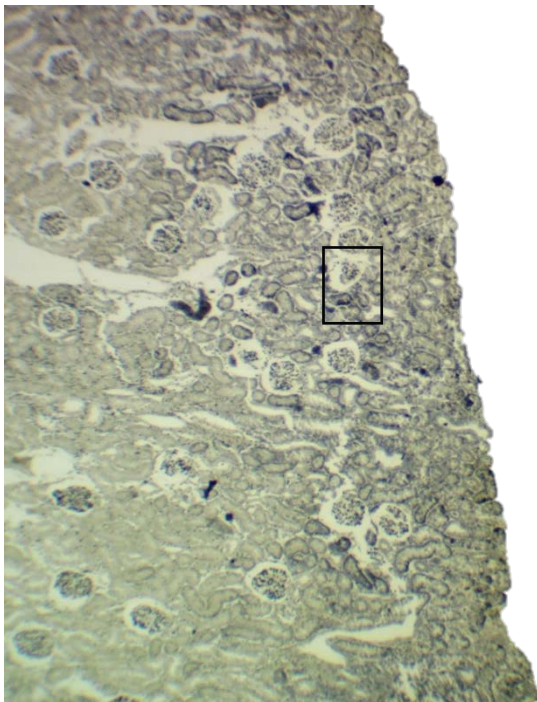
фиг 1.3 x400

ПР	преден рог
ЗР	заднен рог

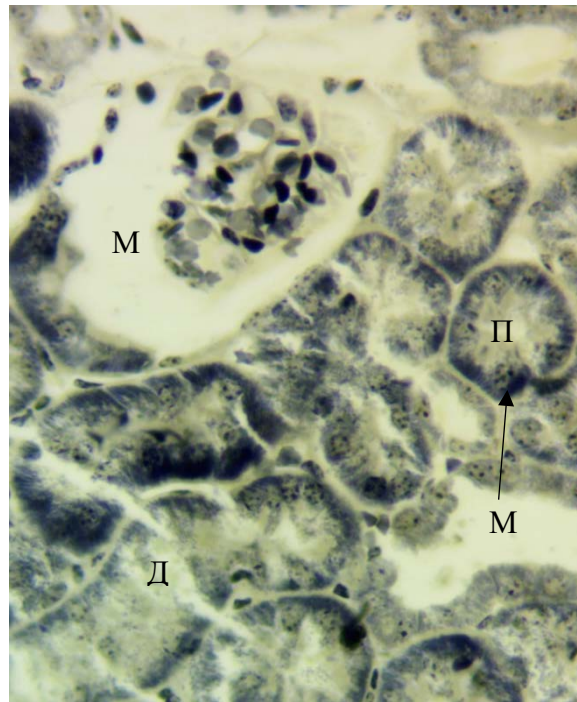
Я	ядро
Яд	ядърце
НГ	Нислови грануляции

## 2. Ren (бъбрек) – железен хематоксилин

В кората на бъбрека се откриват проксимални и дистални извити каналчета. Те са покрити с един ред призматични клетки. В базалния полюс на клетката има добре развити базални инвагинации, като между тях са струпани голямо количество митохондрии. Светлинномикроскопски те се визуализират като тъмни гранули.



фиг 2.1 x40



фиг 2.2 x400

---

<b>П</b>	<b>проксимално каналче</b>
<b>К</b>	<b>дистално каналче</b>

---

---

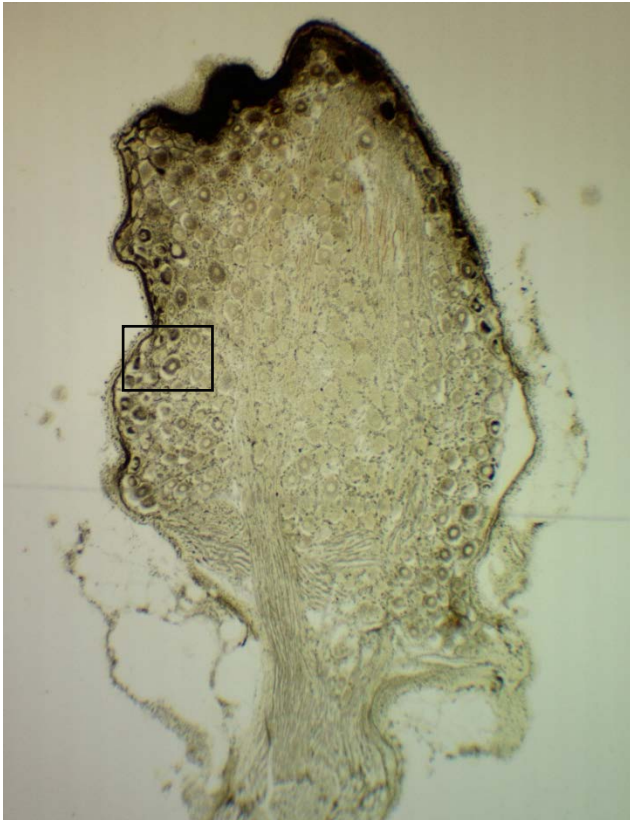
<b>М</b>	<b>малпигиево телце</b>
<b>Т</b>	<b>митохондрии</b>

---

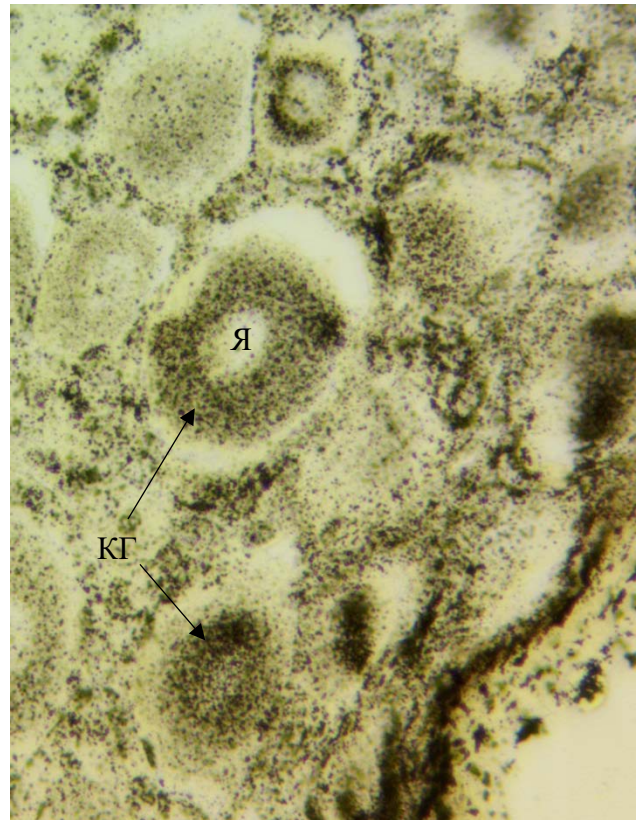


### 3. Ganglion spinale (гръбначно-мозъчен ганглий) – AgNO<sub>3</sub>

В гръбначно-мозъчния ганглий се наблюдават сетивните псевдоуниполярни неврони. Те имат окръглена форма и централно разположено светло ядро. Около ядрото се наблюдава разпръсната гранулация, която е светлинно-микроскопски израз на комплекса на Голджи.



фиг 3.1 x40



фиг 3.2 x400

---

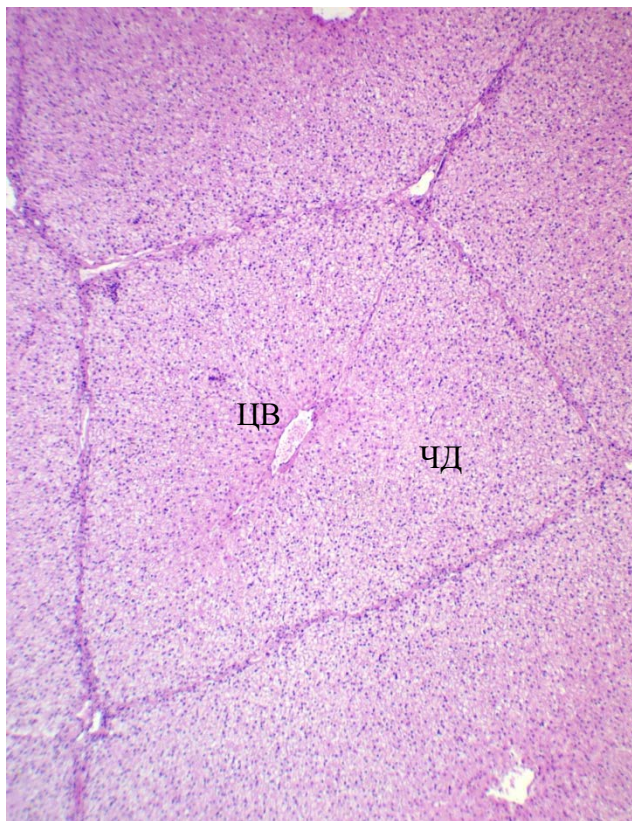
**Я** ядро

**КГ** комплекс на Голджи

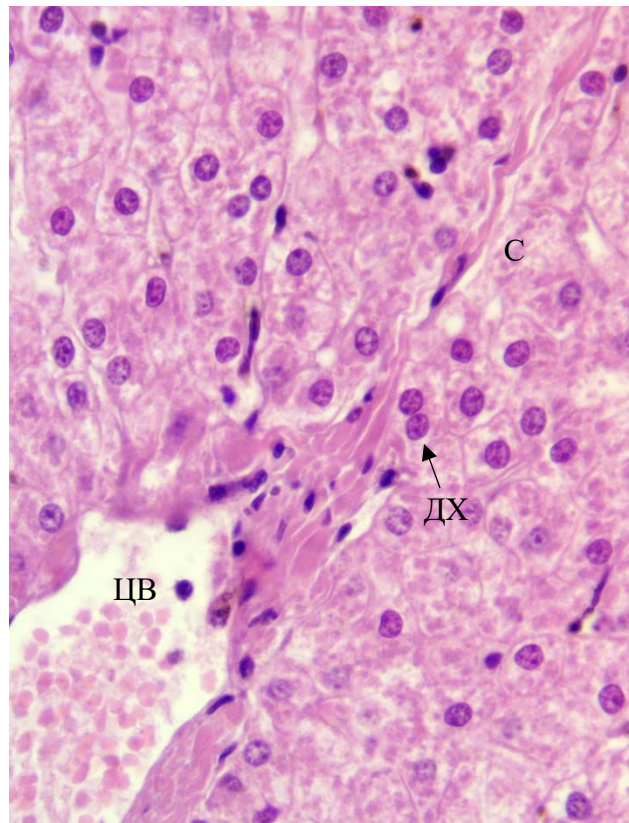
---

#### 4. Нерар (черен дроб) – ХЕ

Вътрешността на черния дроб е изградена от делчета като в центъра на всяко се разполага една централна вена. Делчетата съдържат още полигонални клетки (хепатоцити) с централно разположени ядра. Те имат светли и тъмни участъци, изградени от еухроматин и хетерохроматин. Често се срещат клетки с две ядра.



фиг 4.1 x40



фиг 4.2 x400

---

ЦВ	централна вена
ЧД	чернодробно делче

---

---

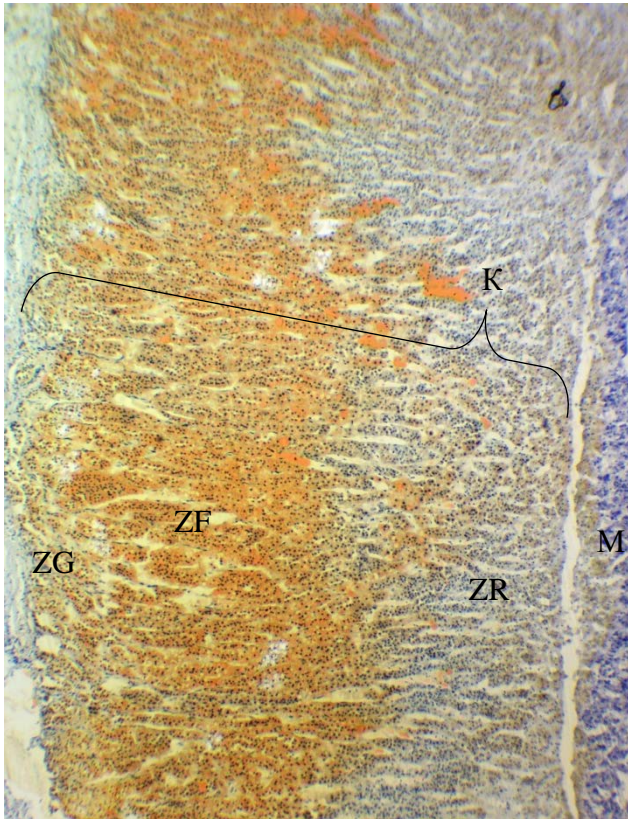
ДХ	двуядрен хепатоцит
С	синусоида

---

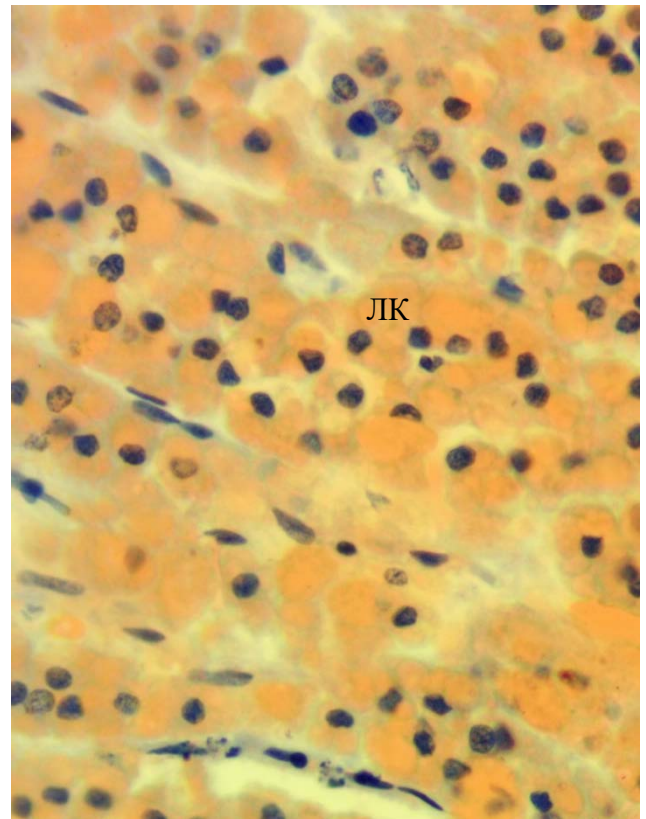


## 5. Glandula suprarenalis (надбъбречна жлеза) – Судан III

Клетките от кората на надбъбречните жлези произвеждат хормони със стероиден характер. Такива клетки притежават в цитоплазмата си голямо количество липидни капки. Те се оцветяват интензивно в оранжево от боята.



фиг 5.1. x40



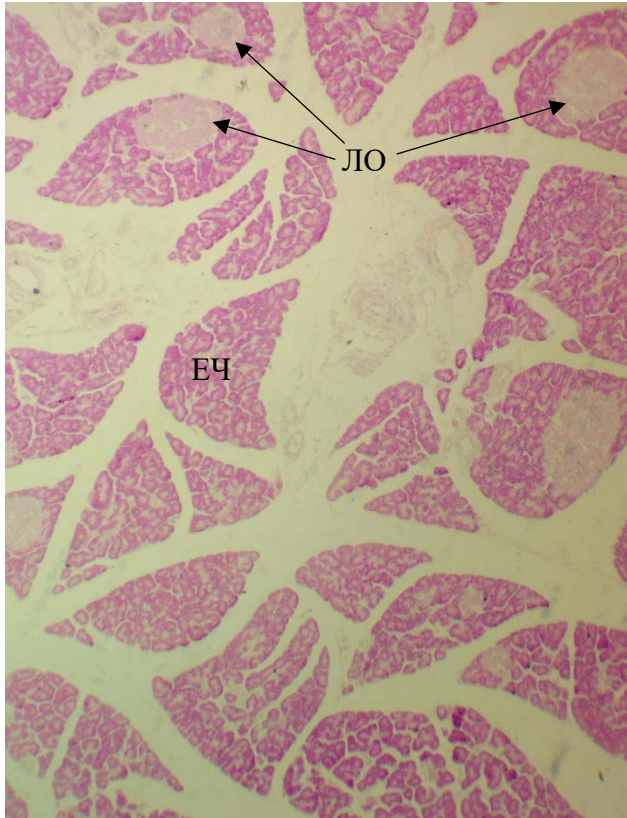
фиг 5.2 x400

<b>К</b>	<b>кора</b>
<b>М</b>	<b>медула</b>
<b>ЛК</b>	<b>липидни капки</b>

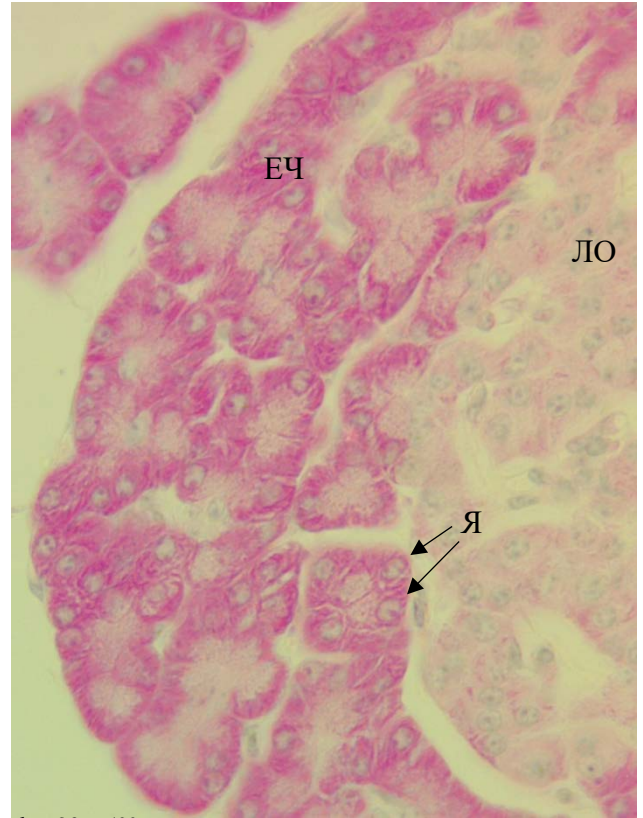
<b>ZG</b>	<b>zona glomerulosa</b>
<b>ZF</b>	<b>zona fasciculata</b>
<b>ZR</b>	<b>zona reticularis</b>

## 6. Pancreas (задстомашна жлеза) – Браше (пиронин и метилгрюн)

Цитоплазмата и ядърцето на клетките, изграждащи екзокринната част на панкреаса се оцветяват в червено от пиронина. Това се дължи на съдържащата се в тях РНК. Останалата част от ядрата се оцветява в зелено поради наличието на ДНК.



фиг 6.1 x40



фиг 6.2 x400

---

**ЛО** Лангерхансов остров

**ЧК** екзокринна част

**Я** ядра

---