

Κεφάλαιο 1

Εισαγωγή στην Ιστολογία

Η Ιστολογία είναι η μελέτη των μικροσκοπικών δομών και της λειτουργίας των ιστών. Ιστός είναι μια γενική λέξη που χρησιμοποιείται για την περιγραφή των συστατικών των ζώων (και φυτών), και οι ιστοί αποτελούνται από κύτταρα και από τις υποστηρικτικές δομές που τα περιβάλλουν (εξωκυττάριο δίκτυο). Ιστορικά, τέσσερα είδη κύριων ιστών ταξινομήθηκαν (ιστα ζώα) ομαδοποιώντας κύτταρα με παρόμοια μορφή και λειτουργία: ο επιθηλιακός ιστός, ο συνδετικός ιστός, ο μυϊκός ιστός και ο νευρικός ιστός. Τα κύτταρα που ανήκουν σε αυτές τις κατηγορίες ιστών μπορούν να διαφέρουν στη δομή τους και μπορεί να είναι εξειδικευμένα ανάλογα με τη λειτουργία και τη θέση τους. Το μεγαλύτερο μέρος του εξωκυττάριου δικτύου προέρχεται από τα κύτταρα που περιβάλλει, και η σύνθεσή του σχετίζεται με τη λειτουργία του. Για παράδειγμα, ένα πολύ πυκνό, σκληρό, εξωκυττάριο δίκτυο σχηματίζεται από τα κύτταρα των συστάσης, αλλά, αντίθετα, το δίκτυο στο οποίο ρέει το αίμα είναι ρευστό (αν και τα περισσότερα κύτταρα του αίματος δεν συμβάλλουν στο υγρό που τα υποστηρίζει). Διάφοροι συνδυασμοί ιστών σχηματίζουν όργανα (π.χ. τον εγκέφαλο και το ήπαρ), συνδετικές δομές (π.χ. σύνδεσμοι) και το περιβλήμα ιστού γύρω από τα όργανα (π.χ. γύρω από τα νεφρά). Επιπλέον, διάφοροι συνδυασμοί οργάνων και άλλων δομών σχηματίζουν συστήματα του σώματος τα οποία μαζί εκτελούν σχετικές λειτουργίες (βλ. Κεφάλαια 10–16).

Το γυμνό (καλό) μάτι μπορεί να δει αντικείμενα τα οποία είναι 200 μμ σε διάμετρο. Πολύ λίγα κύτταρα είναι τόσο μεγάλα, αν και πολύ λεπτές τρίχες μπορεί να έχουν τέτοιο πάχος. Όμως, υπάρχουν ιδιαίτερες προκλήσεις στην εξέταση δομών που είναι μικρότερες από 200 μμ. Τα περισσότερα συστατικά των ιστών έχουν απαλό χρώμα και αντίθεση, και έτσι τα κύτταρα και τα δίκτυα που τα περιβάλλουν δεν διακρίνονται εάν περάσει από μέσα τους φως με τη χρήση ενός φωτονικού μικροσκοπίου. Πράγματι, το φως διαπερνά μόνο λεπτές τομές ιστών ή λεπτά στρώματα κυττάρων που αναπτύσσονται σε δοκιμαστικό σωλήνα. Διάφοροι τύποι μικροσκοπίων και μέθοδοι παραγωγής

δειγμάτων για εξέταση έχουν αναπτυχθεί. Ζωντανά, απομονωμένα, ολόκληρα κύτταρα μπορούν να εξεταστούν χρησιμοποιώντας ειδικά (αντίθετης φάσης) φωτονικά μικροσκόπια, αλλά η αντίθεση περιορίζεται και τα κύτταρα σπάνια έχουν γύρω τους τις δομές που είχαν στο σώμα. Στην καθημερινή ιστολογία, προετοιμάζονται πολύ λεπτές τομές ιστών (5–10 μμ πάχος) μέσα από τις οποίες θα περάσει το φως. Για να επιτευχθεί αρκετή αντίθεση και χρώματα στους ιστούς προκειμένου να απεικονισθούν, στις τομές των ιστών χρησιμοποιούνται χρώσεις ή συγκεκριμένα χημικά. Σε αυτά τα δείγματα, η φωτονική μικροσκοπία μπορεί να αποκαλύψει λεπτομέρειες δομών της τάξης 0,2 μμ. Ωστόσο, με τη χρήση πολύ λεπτότερων τομών και ηλεκτρονίων αντί φωτός, η ηλεκτρονική μικροσκοπία μπορεί να αποκαλύψει λεπτομέρειες μέχρι 0,0002 μμ (Σημείωση: 1 μμ = 1.000 μμ).

Διάφορες προηγμένες τεχνικές, κατάλληλες για φωτονική και ηλεκτρονική μικροσκοπία, μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να αναγνωριστούν συγκεκριμένα μόρια σε ιστούς μέσω της αντιδρασής τους με χαρακτηρισμένα μόρια. Το χαρακτηρισμένο μόριο ανιχνεύεται τότε, π.χ. ως χρώμα χρησιμοποιώντας κανονική φωτονική μικροσκοπία, ως φθορισμός χρησιμοποιώντας υπεριώδες φως ή ως ραδιενέργεια χρησιμοποιώντας φωτογραφικό φίλμ. Λεπτομέρειες προηγμένων τεχνικών για τη μελέτη των συστατικών των ιστών με φωτονικά και ηλεκτρονικά μικροσκόπια βρίσκονται πέραν του σκοπού του παρόντος βιβλίου και ο αναγνώστης μπορεί να συμβουλευθεί άλλα κείμενα. Εντούτοις, παραθέτουμε κάτωθι μια σύντομη επισκόπηση των βασικών ιστολογικών τεχνικών.

Συντήρηση ιστών (μονιμοποίηση)

Εάν οποιοδήποτε μέρος ενός ζωντανού σώματος αφαιρεθεί, αρχίζει να εκφυλίζεται καθώς προκύπτει ο κυτταρικός θάνατος: αυτή η διαδικασία αναφέρεται ως νέκρωση. Σε αυτή τη διαδικασία, ένζυμα στο κύτταρο απελευθερώνονται από τη φυσιολογική τους θέση και διασπούν τα κύτταρα και τα μόρια

στις γύρω περιοχές. Συνεπώς, η ακριβής τρισδιάστατη διάταξη των δομών εντός και γύρω από τα κύτταρα στη ζωή εξαφανίζεται. Για να μελετηθεί η διάταξη των μορίων, των κυττάρων, των εξωκυττάριων δικτύων, των ιστών και των οργάνων όπως ήταν στη ζωή, η νέκρωση πρέπει να αποτραπεί και τα μόρια, τα κύτταρα, κτλ. πρέπει να συντηρηθούν. Υπάρχουν διάφορες μέθοδοι συντήρησης, αλλά ένας τυπικός τρόπος είναι να τοποθετηθούν τα δείγματα ιστών σε ένα διάλυμα φορμαλδεϋδης όσο το δυνατόν γρηγορότερα μετά τον θάνατο ή την αφαίρεση από το ζωντανό σώμα. Η φορμαλδεϋδη αλλάζει την κατάσταση διαμόρφωσης των πρωτεΐνων (και άλλων μεγάλων μορίων) και αποτρέπει τη διάσπαση των ιστών από τα ένζυμα: αυτή η διαδικασία ονομάζεται μονιμοποίηση. Αυτή η χημική μονιμοποίηση μπορεί να συγκριθεί με το βράσιμο ενός αβγού στο οποίο η θερμότητα αλλάζει την κατάσταση διαμόρφωσης των πρωτεΐνων και, με αρκετό βράσιμο, οι πρωτεΐνες στο ασπράδι και στον κρόκο του αβγού γίνονται στερεές.

Επεξεργασία ιστών για τεμαχισμό (κατάτμηση)

Οι περισσότεροι ιστοί είναι μαλακοί στη ζωή και μόνο λίγο οικληρότεροι αφού έχουν μονιμοποιηθεί σε φορμαλδεϋδη. Έτσι είναι δύσκολο να γίνουν λεπτές τομές για να εξεταστούν χρησιμοποιώντας ένα κανονικό μικροσκόπιο. Για να προετοιμαστούν λεπτές τομές, τα δείγματα ιστών διαποτίζονται με μια ουσία που τα κάνει στερεά. Το μέσον που χρησιμοποιείται στην καθημερινή ιστολογία για να προσδώσει στερεότητα είναι το κερί παραφίνης, το οποίο είναι υψηλό στους 58 °C αλλά στερεό σε θερμοκρασία δωματίου. Το κερί και ιστοί με βάση το νερό δεν αναμειγνύονται και έτσι δείγματα ιστών που έχουν στερεωθεί με φορμαλδεϋδη δεν μπορούν να διαποτίστούν άμεσα με κερί. Έτσι, τα δείγματα ιστών πρέπει να υποστούν επεξεργασία μέσω ενός προγράμματος που αφαιρεί και αντικαθιστά το νερό. Αυτό επιτυγχάνεται πολύ εύκολα με τη μεταφορά του δείγματος του ιστού σε σταδιακή αύξηση συγκεντρώσεων

οινοπνεύματος που (σε συγκέντρωση 100%) αντικαθίστα όλο το νερό. Το οινόπνευμα επίσης δεν αναμειγνύεται με το κερί αλλά αντικαθίσταται στο δείγμα ιστού προς επεξεργασία μέσω της μεταφοράς του μέσα από αυξανόμενες συγκεντρώσεις ενός διαλύτη που μπορεί να αναμιχθεί με το οινόπνευμα και το κερί, π.χ. χλωροφόρμιο ή ξυλένιο. Αυτός ο διαλύτης με τη σειρά του αφαιρείται περνώντας το δείγμα ιστού μέσω πολλών αλλαγών συγκέντρωσης υγρού κεριού, έτσι ώστε το κερί να διαπεράσει τον ιστό. Το δείγμα στο υγρό κερί αφήνεται να μονιμοποιηθεί και ένα συμπαγές κομμάτι κεριού σχηματίζεται στο οποίο είναι ενσωματωμένο το δείγμα ιστού. Ο ιστός είναι τότε έτοιμος για κατάτμηση. Δεδομένης της τοξικότητας των ουσιών που χρησιμοποιούνται σε αυτές τις διαδικασίες, πρέπει να λαμβάνονται κατάλληλες προφυλάξεις.

Προηγμένες τεχνικές χρησιμοποιούν μια ποικιλία μέσων στερεής υποστήριξης, π.χ. μια σκληρή συνθετική ρητίνη μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να ενσωματώσει δείγματα ιστών και πολύ λεπτά τμήματα (0,1 τμ) μπορεί να κοπούν και να εξεταστούν χρησιμοποιώντας ένα ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Επιπλέον, ψύχοντας ένα δείγμα ιστού αμέσως μετά την αφαίρεση από το ζωντανό σώμα, σχηματίζεται ένα άμεσο μέσο υποστήριξης πάγου. Η κατάτμηση μπορεί να γίνει σε θερμοκρασία υπό το μηδέν και λαμβάνονται ιστολογικές τομές οι οποίες μπορούν να εξεταστούν

εντός λεπτών από τη λήψη των δειγμάτων. Αυτή είναι μια τυπική ρουτίνα που χρησιμοποιείται από χειρουργούς που λαμβάνουν απόφαση για το πώς θα συνεχίσουν με μια επιέμβαση (ταχεία βιοψία).

Διαχωρισμός ιστών σε τμήματα

Λεπτά τμήματα (τομές) κόβονται με τη χρήση ενός μικροτόμου, μιας μηχανής που κρατά ένα δείγμα ενσωματωμένου ιστού σταθερά και κόβει λεπτές τομές με μια πολύ κοφτερή λεπίδα. Τυπικά, ένα δείγμα ιστού διαποτισμένου με κερί μπορεί να κοπεί σε πάχος 5 μμ. Οι τομές τότε τοποθετούνται σε γυάλινες διαφάνειες μικροσκοπίου και είναι έτοιμες για τη διαδικασία χρώσης ώστε να πραγματοποιηθεί η απεικόνιση των συστατικών του δείγματος ιστού.

Μέθοδοι για την απεικόνιση ιστών για μικροσκοπία φωτός

Καθώς οι περισσότερες μέθοδοι χρωματισμού χρησιμοποιούν χρώσεις διαλυτές σε νερό, σε τομές ιστών διαποτισμένα με κερί πρέπει να γίνει επεξεργασία κατά την αντίθετη ακολουθία των διαλυτών που χρησιμοποιούνται για να διαποτιστούν οι ιστοί ώστε να αφαιρεθεί το κερί και να επιστρέψει το δείγμα ιστού σε ένα υδάτινο διάλυμα.

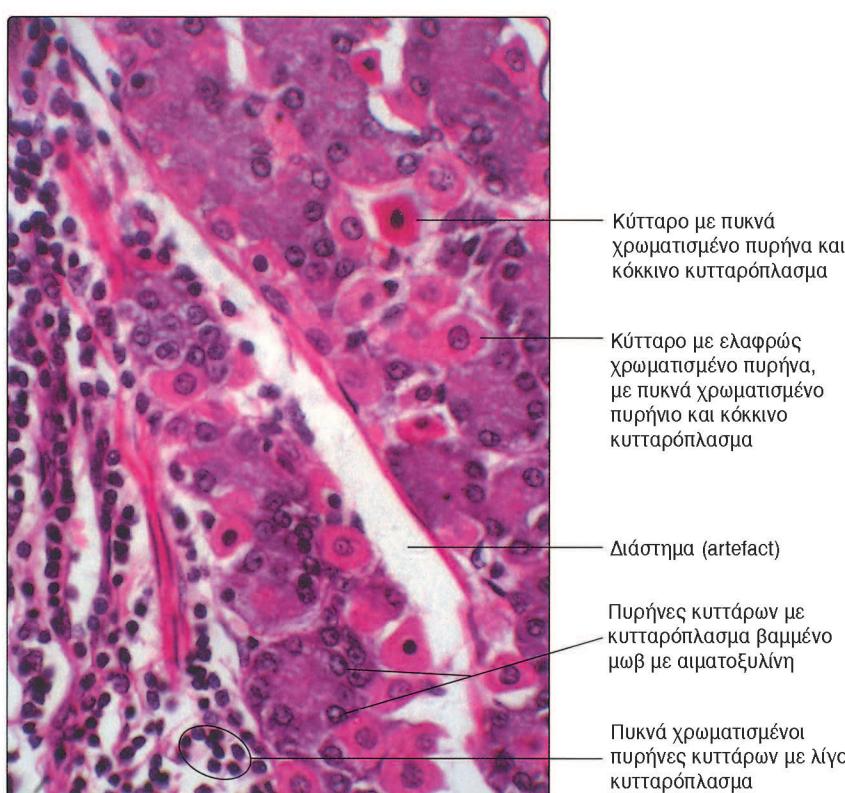
Πολλές μέθοδοι χρωματισμού εξαρτώνται από τη χημική έλξη των χρώσεων για ιδιαίτερες μοριακές διατάξεις στους ιστούς. Η πιο κοινή τεχνική που χρησιμοποιείται για να απεικονιστεί η γενική τοπογραφία των ιστών χρησιμοποιεί τις χρώσεις αιματοξυλίνη και ηωσίνη (H&E). Περίπου μισές από τις απεικόνισεις σε αυτό το βιβλίο είναι φωτο-μικρογραφίες τομών που χρωματίζονται με τη μέθοδο H&E. Άλλες εικονογραφήσεις είναι τομές που προετοιμάστηκαν χρησιμοποιώντας ειδικές μεθόδους όπως φαίνεται από το κείμενο και τις λεζάντες.

Μέθοδος H&E

Η αιματοξυλίνη είναι μια βασική χρώση η οποία συνδέεται με τα δίξινα συστατικά στους ιστούς, παράγοντας ένα μπλε/πορφυρό χρώμα. Τυπικά, η αιματοξυλίνη συνδέεται με τους πυρήνες καθώς αυτοί περιέχουν δεοξυριβονυκλεϊκό (DNA) και σε ριβονουκλεϊκό οξύ (RNA). Οι πυρήνες που περιέχουν κυρίως ανενεργό DNA εμφανίζονται ως πυκνά χρωματισμένες δομές σε τομές που χρωματίστηκαν με H&E (Εικ. 1.1). Σε μερικές περιπτώσεις, μερικές τομές εμφανίζονται ελαφρώς χρωματισμένα και αυτό σημαίνει ότι το DNA έχει εκτυλιχθεί και ότι ήταν σε ενεργή χρήση πριν τη μονιμοποίηση. Επιπλέον, σε μερικούς ελαφρώς χρωματισμένους πυρήνες μπορεί να εμφανίζεται μια μικρή, πυκνή, στρογγυλή περιοχή χρώσης: αυτή είναι ένα πυρήνιο (Εικ. 1.1). Η έντονη χρώση, από αιματοξυλίνη, του RNA σε ένα πυρήνιο δηλώνει ότι το κύτταρο ενεργά συνέθετε πρωτεΐνη (βλ. Κεφάλαιο 2). Τα κύτταρα που συνθέτουν μεγάλες ποσότητες πρωτεΐνών επίσης περιέχουν μεγάλες ποσότητες RNA στο κυτταρόπλασμά τους, και αυτό επίσης μπορεί να απεικονιστεί καθώς θα συνδεθεί με την αιματοξυλίνη και θα φανεί μπλε μωβ (Εικ. 1.1). Αντίθετα, η ηωσίνη είναι μια δίξινη χρώση και συνδέεται με βάσεις. Οι πρωτεΐνες στο κυτταρόπλασμα πολλών κυττάρων (Εικ. 1.1) και οι πρωτεΐνες στα εξωκυττάρια δίκτυα βάφονται με ηωσίνη και εμφανίζονται κόκκινες ή ροζ πορτοκαλί.

Ιστοχημεία και ανοσοϊστοχημεία

Σε αντίθεση με τον χρωματισμό με χρώσεις, οι τεχνικές ιστοχημείας και ανοσοϊστοχημείας εμπεριέχουν συγκεκριμένες χημικές ή ανοσολογικές αντιδράσεις για να ανιχνευθούν διάφορα συστατικά ιστών. Για παράδειγμα, η ιστοχημεία μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να ανιχνευθούν τύποι και τοποθεσίες υδρογονανθράκων (Εικ. 1.2) και ενζύμων. Η ανοσοϊστοχημεία μπορεί να ανιχνεύσει μόρια που είναι αντιγόνα επιθέτοντας χαρακτηρισμένα αντισώματα που μπορούν να απεικονιστούν με τη χρήση μικροσκοπίου. Οι λεπτομερειες των διαθέσιμων μεθόδων για την



Εικ. 1.1 Στόμαχος. Συνηθισμένη τομή εμποτισμένη με κερί, χρωματισμένη με αιματοξυλίνη και ηωσίνη. Μέση μεγέθυνση.

απεικόνιση συγκεκριμένων μορίων σε ιστούς υπερβαίνει τους σκοπούς αυτού του βιβλίου.

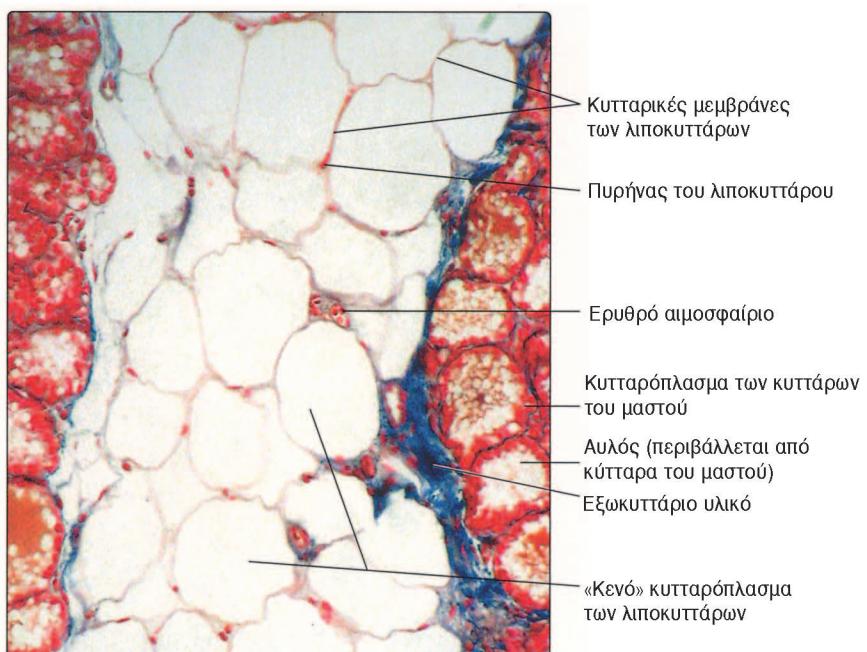
Οι εικόνες του βιβλίου

Οι περισσότερες εικόνες του βιβλίου φωτογραφήθηκαν με ένα φωτονικό μικροσκόπιο Zeiss ή Olympus χρησιμοποιώντας φακούς που μεγεθύνουν από 12 μέχρι και 120 φορές (x12 και x120) (Μερικά κύτταρα αίματος φωτογραφήθηκαν χρησιμοποιώντας φακούς που μεγεθύνουν περίπου x350). Μερικές εικόνες φωτογραφήθηκαν χρησιμοποιώντας έγχρωμο θετικό φίλμ διαφάνειας (περίπου 10 x 13 cm), άλλες χρησιμο-

ποιώντας φίλμ 35 mm (αρνητικό και θετικό) και άλλες χρησιμοποιώντας μια ψηφιακή κάμερα με οπτική μεγέθυνση x4 πέραν της μεγέθυνσης των μικροσκοπικών φακών. Πάνω από τις μισές απεικονίσεις με τη χρήση φωτονικού μικροσκοπίου ελήφθησαν ειδικά για αυτό το βιβλίο. Οι άλλες εικόνες χρησιμοποιώντας φωτονική και ηλεκτρονική μικροσκοπία είναι από υλικό προετοιμασμένο και αρχειοθετημένο από την Ομάδα Ανθρώπινης Μορφολογίας στο Πανεπιστήμιο του Southampton, UK, και βρίσκονται αυτή τη στιγμή στο Κέντρο Εκμάθησης Ανατομικών Επιστημών της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου του Southampton.



Εικ. 1.2 Λεπτό έντερο. Συνήθης τομή εμποτισμένη με κερί, χρωματισμένη με ειδική χρώση, η οποία απεικονίζει συγκεκριμένα μεγάλα μόρια υδατανθράκων ως μπλε/τιρκουάζ. Υψηλή μεγέθυνση.

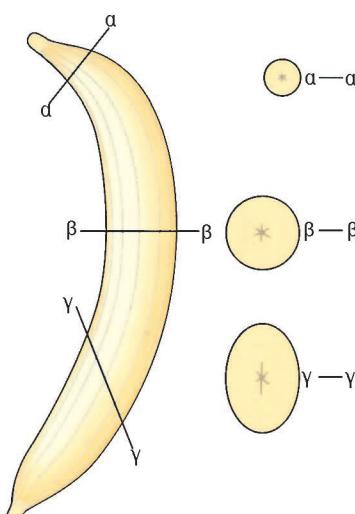


Εικ. 1.3 Μαστός κατά τη διάρκεια της γαλουχίας. Συνήθης τομή εμποτισμένη με κερί, χρωματισμένη με ειδική χρώση, η οποία χρωματίζει μπλε τις εξωκυττάριες πρωτεΐνες. Τα ερυθροκύτταρα απεικονίζονται πορφυρά. Συγκρίνετε το μέγεθος των ερυθροκυττάρων με αυτό των λιποκυττάρων. (Τα λιποκύτταρα είναι μερικά από τα μεγαλύτερα κύτταρα του σώματος και τα ερυθροκύτταρα είναι περίπου 7 μμ σε διάμετρο). Μικρή μεγέθυνση.

Η ερμηνεία στην Ιστολογία

Κατά τη μελέτη ιστολογικών τομών, μία από τις προκλήσεις όσον αφορά στην ερμηνεία των δομών και των λειτουργιών τους είναι η αξιολόγηση του μεγέθους των αντικειμένων που απεικονίζονται (όταν χρησιμοποιείται ένα μικροσκόπιο ή όταν κοιτάζουμε μια απεικόνιση). Εάν τα ερυθρά αιμοσφαίρια μπορούν να αναγνωριστούν, είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν ως μια πρόχειρη κλίμακα για τον υπολογισμό του μεγέθους άλλων δομών καθώς η μέγιστη διάμετρος τους είναι 7 μμ (Εικ. 1.3). Δεν θα κατηγοριοποιηθούν όλα τα ερυθροκύτταρα βάσει της μεγαλύτερης τους διαμέτρου. Είτε θα πρέπει να προσέχουμε κατά την αξιολόγηση του μεγέθους των δομών όταν τις συγκρίνουμε με ερυθροκύτταρα.

Μια άλλη πρόκληση κατά την ερμηνεία τομών των ιστών είναι ότι μια ποικιλία απεικονίσεων μπορεί να προκύπτει από την κατάτμηση τρισδιάστατων δομών και την εξέτασή τους ως πολύ λεπτών τομών, στην ουσία δηλαδή ως δισδιάστατων δομών. Θεωρήστε ότι κόβετε μια κυρτή, καθαρισμένη μπανάνα (Εικ. 1.4). Η λήψη μιας τομής κατά μήκος της θα δείξει ότι είναι καμπυλή και ότι είναι ένα στερεό αντικείμενο. Κόβοντας σε κάθετες γωνίες το μήκος της μπανάνας θα παράγει κυκλικές (στερεές) τομές οι οποίες θα είναι μικρότερες σε διάμετρο εάν κοπεί πιο κοντά στο τέλος παρά στο μέσον. Πλάγια κομμένες τομές θα παράγουν στερεές ελλειψοειδείς μορφές οι οποίες θα έχουν διαφορετικό σχήμα και μέγεθος ανάλογα με τη γωνία τομής. Ιστολογικά τμήματα σε διαφάνειες μικροσκοπίου πρέπει να ερμηνευτούν κατασκευάζοντας πιθανά σχήματα τριών διαστάσεων από τη δισδιάστατη απεικόνιση. Για παράδειγμα,



Εικ. 1.4 Μπανάνα που δείχνει την εμφάνιση κομματών που κόβονται σε διαφορετικά επίπεδα. Οι τομές α-α και β-β είναι εγκάρσιες, ενώ η τομή γ-γ είναι λοξή.

εάν μια κοιλή κυκλική δομή φανεί σε μια ιστολογική τομή μπορεί να είναι από μια κοιλή σφαίρα ή μέρος ενός ευθέος ή ενός συσπειρωμένου κοιλού σωλήνα κομμένου σε ορθές γωνίες κατά μήκος του.

Οι τεχνητά παραγόμενες (μη αληθείς) εικόνες (artefacts) παρουσιάζουν άλλες προκλήσεις κατά την ερμηνεία ιστολογικών τομών. Οι τεχνητά παραγόμενες εικόνες είναι απεικονίσεις σε ιστολογικές τομές οι οποίες είναι μια συνέπεια των διαδικασιών που χρησιμοποιούνται για την προετοιμασία των δειγμάτων ιστών. Κατά τη διάρκεια της μονιμοποίησης, π.χ. με φορμαλδεΰδη, πολλά μικρά υδατοδιαλυτά μόρια δεν «μονιμοποιούνται» και ακόμη και τα μόρια που μονιμοποιούνται μπορεί να συρρικνωθούν και να αποκολληθούν από γειτονικές δομές. Τα κενά που εμφανίζονται σε ιστολογικές τομές (Εικ. 1.1–1.3) πρέπει να αξιολογηθούν και να καθοριστεί η αιτία τους (τεχνητά παραγόμενες –μη αληθείς– εικόνες ή όχι). Η εμπειρία και η γνώση των εξεταζόμενων δομών βοηθούν να αναγνωριστεί το κενό στην Εικ. 1.1 ως τεχνητό προϊόν. Αντίθετα, το κενό στην Εικ. 1.2 δεν είναι τεχνητό προϊόν: είναι μέρος μιας άδειας κοιλότητας του λεπτού εντέρου. Άλλοι άδειοι χώροι στα δείγματα ιστών μπορεί να οφείλονται στην αφαίρεση λίπους με οργανικούς διαλύτες που χρησιμοποιούνται στην τυπική ιστολογική επεξεργασία ή σε συστατικά που δεν αντιδρούν με τις χρώσεις που χρησιμοποιούνται. Τα φαινομενικά μεγάλα κενά στην Εικ. 1.3 δείχνουν την τυπική εμφάνιση των λιποκυττάρων. Υπάρχουν κύτταρα στα οποία το λίπος περιλαμβάνει το μεγαλύτερο μέρος του κυτταροπλάσματος. Η τυπική επεξεργασία αφαίρεσε το λίπος και μπορεί να φανεί μόνο ο πυρήνας και η μεμβράνη γύρω από κάθε λιποκύτταρο. Στην Εικ. 1.2, τα κύτταρα που έχουν βαφεί μπλε εξαιτίας του περιεχομένου τους σε υδρογονάνθρακα, θα είχαν δεσμεύσει λίγο ή καθόλου H&E και έτοι θα είχαν εμφανιστεί κενά σε μια τυπική προετοιμασία.

Περίληψη

- Ιστολογία είναι η μελέτη των μικροσκοπικών δομών και της λειτουργίας των ιστών.
- Τα συστατικά του σώματος ταξινομούνται ως τέσσερεις τύποι ιστών: επιθηλιακός, συνδετικός, μυϊκός και νευρικός. Οι ιστοί περιλαμβάνουν κύτταρα και εξωκυττάριο υλικό τα οποία εκτελούν συγκεκριμένες λειτουργίες.
- Διάφοροι συνδυασμοί ιστών σχηματίζουν όργανα και άλλα συστατικά του σώματος.

Για να εξεταστεί η μικροσκοπική δομή των ιστών, διάφορες διαδικασίες είναι απαραίτητες. Οι τυπικές διαδικασίες είναι:

- **Μονιμοποίηση.** Οι ιστοί βιθίζονται σε φορμαλδεΰδη, που διατηρεί τα μόρια και τη μοριακή τους διάταξη στους ιστούς όσο πιο κοντά στην κατάστασή τους στη ζωή (και αποτρέπει τη νέκρωση).
- **Επεξεργασία.** Αυτά τα στάδια αντικαθιστούν το νερό με διαλύτες που είναι αναμείξιμοι με λιωμένο κερί.
- **Έγκλειση.** Ιστοί σε λιωμένο κερί ψύχονται και το στερεό κερί υποστηρίζει τον ιστό.
- **Κατάτμηση.** Λεπτές τομές ιστού εμποποιούνται με κερί κόβονται και τοποθετούνται σε διαφάνεις μικροσκοπίου.
- **Επεξεργασία.** Αυτή αφαιρεί το κερί και επιστρέφει τους ιστούς σε μια υδάπινη κατάσταση.
- **Χρωματισμός.** Επιτρέπει στα συστατικά του ιστού να απεικονιστούν. Η αιματοξυλίνη χρωματίζει όξινες ουσίες (π.χ. DNA στους πυρήνες) μπλε/μωβ και η ηωσίνη χρωματίζει βασικές ουσίες (π.χ. πολλές κυτταροπλασματικές πρωτεΐνες) κόκκινο/πορτοκαλί.

Η εξήγηση της μικροσκοπικής δομής μπορεί να περιλαμβάνει την αξιολόγηση των ακολούθων:

- **Πιθανές τρισδιάστατες δομές απεικονίζονται σε δισδιάστατη εικόνα**
- **Το μέγεθος και η ταυτότητα των δομών (συμπεριλαμβανομένων των χημικών συνθέσεων τους) και της λειτουργίας τους**
- **Εάν η εμφάνιση οφείλεται σε τεχνητά παραγόμενες (μη αληθείς) εικόνες (artefacts)**
- **Η σημασία του χρόνου σε σχέση με το δείγμα του ιστού, π.χ. δείχνει ότι εάν ένας παρόμοιος ιστός παραμείνει στο σώμα θα μπορούσε να είναι επιβλαβής;**

Άλλη μια πρόκληση που παρουσιάστηκε, ειδικά σε ιστοπαθολόγους και ερευνητές, είναι να αποφασίσουν εάν οι τομές του ιστού που εξετάζεται είναι φυσιολογικό ή μη φυσιολογικό. Σε μερικές περιπτώσεις, εάν ο ιστός δεν έχει μονιμοποιηθεί γρήγορα μετά τον θάνατο, προκύπτει νέκρωση και αυτό αλλάζει την εμφάνιση του κατατετμημένου ιστού. Επιπλέον, οι ιστοπαθολόγοι και οι ερευνητές πρέπει να είναι ικανοί να ερμηνεύσουν την εμφάνιση των δειγμάτων ιστών και να λάβουν υπ' όψιν τον ιστό σε σχέση με τον χρόνο και το περιεχόμενο ολόκληρου του

σώματος. Ερμηνεύοντας το τι συνέβη προηγουμένως μπορεί να επιτρέψει μια διάγνωση ασθενειας. Η πρόβλεψη τού τι μπορεί να ουδείσθει σε έναν ασθενή μπορεί να είναι σημαντική, ειδικά εάν το δείγμα του ιστού δείχνει καρκίνο. Σκεφτείτε ότι κοιτάτε ένα κατατετμημένο πολύ βρασμένο αβγό (που περιγράφεται παραπάνω ως παράδειγμα μονιμοποίησης). Σκεφτείτε τη δισδιάστατη τομή του αβγού στο πλαίσιο του χρόνου. Πώς θα ήταν 20 ή περισσότερες ημέρες πριν το βράσιμο (στερέωση), ή πώς θα ήταν 20 μέρες αργότερα εάν δεν είχε βραστεί;

Κεφάλαιο 2

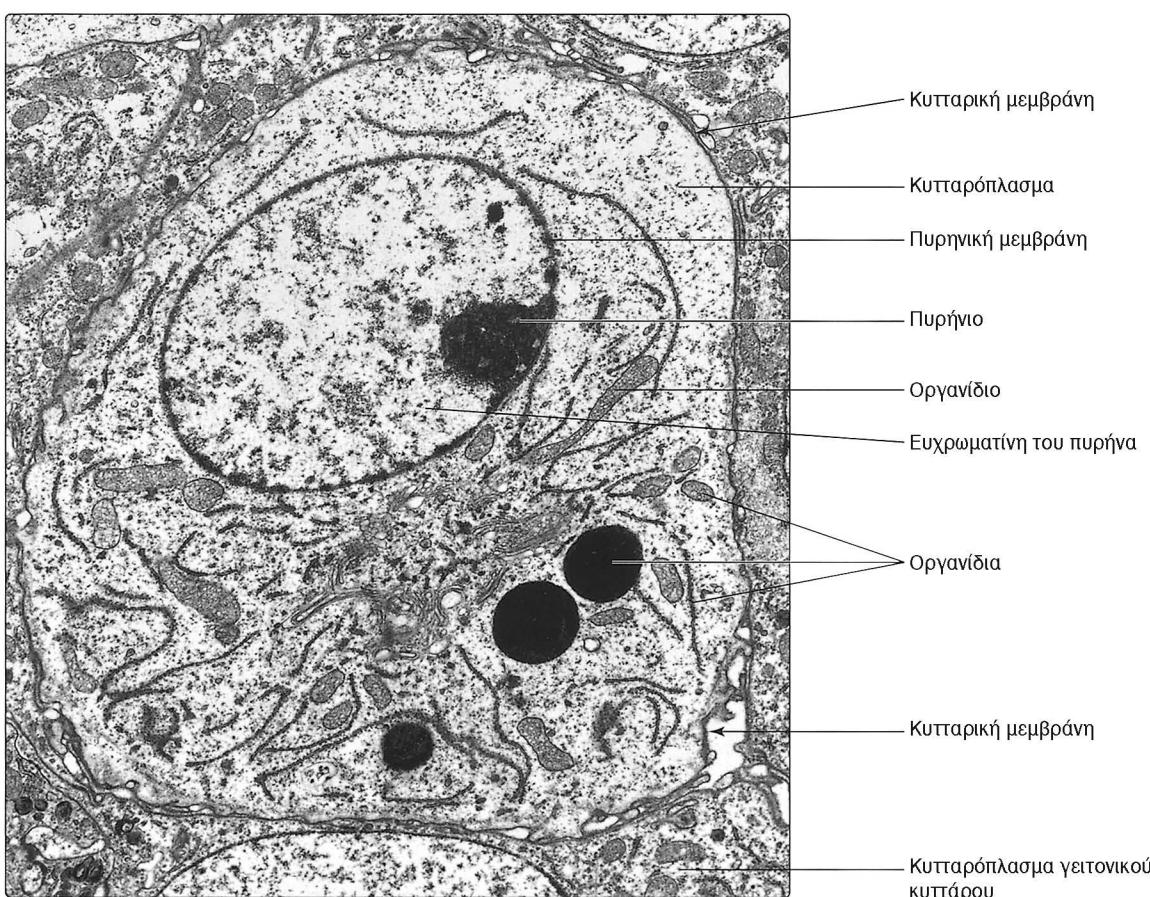
Το κύτταρο

Τα κύτταρα είναι οι θεμελιώδεις μονάδες ζωής. Τα βιβλία μπορεί να περιγράφουν ένα «τυπικό» κύτταρο, αλλά ένα τέτοιο κύτταρο δεν υπάρχει. Τα περισσότερα κύτταρα είναι, σε κάποιο βαθμό, εξειδικευμένα όσον αφορά στη δομή και στη λειτουργία τους. Κατά τον ίδιο τρόπο, η δομική εμφάνιση των κυττάρων μπορεί να παρέχει πληροφορίες για τη λειτουργία τους. Ο όρος που χρησιμοποιείται για να περιγράψει το πώς τα κύτταρα εξειδικεύονται είναι «διαφοροποίηση». Τα περισσότερα κύτταρα έχουν έναν πυρήνα ο οποίος περιέχει μοριακά «προγράμματα» κωδικοποιημένα σε DNA (σε χρωμοσώματα) που καθοδηγούν το πώς ένα κύτταρο διαφοροποιείται και το τι λειτουργίες εκτελεί. Πολλοί τύποι κυττάρων, ακόμη και μερικοί που είναι διαφοροποιημένοι, έχουν επίσης την ικανότητα να αναπαράγονται μέσω

μιας διαδικασίας κυτταρικής διαίρεσης γνωστής ως μίτωση (βλ. παρακάτω). Η μιτωτική δραστηριότητα μπορεί να συνεχιστεί σε πολλούς τύπους κυττάρων σε όλη τη ζωή του ατόμου. Κύτταρα που υπόκεινται σε διαδοχικούς κύκλους μίτωσης περνάνε από μια σειρά γεγονότων που είναι γνωστά ως ο κύκλος του κυττάρου (βλ. παρακάτω). Άλλα κύτταρα μπορεί να φτάσουν στην τελική φάση της διαφοροποίησης και να μην μπορούν να υποβληθούν σε μίτωση και να αναπαραχθούν περαιτέρω. Για παράδειγμα, λίγο μετά τη γέννηση τα νευρικά κύτταρα (νευρώνες) σταματούν να διαιρούνται και να αναπαράγονται.

Παρά το ότι δεν υπάρχει ένα «τυπικό» κύτταρο, τα κύτταρα μοιράζονται κοινά χαρακτηριστικά. Όλα έχουν μια κυτταρική μεμβράνη η οποία περιβάλλει το κυτταρόπλασμα. Στα περισσότερα

κύτταρα το κυτταρόπλασμα περιβάλλει έναν πυρήνα (Τα ώριμα ερυθροκύτταρα σε ανθρώπους δεν έχουν πυρήνα· παρ' όλα αυτά ζουν για περίπου 100 ημέρες). Αν και ο πυρήνας και το κυτταρόπλασμα μπορούν να διακρίνονται εμφανώς με τη χρήση ενός φωτονικού μικροσκοπίου για την εξέταση των κυττάρων σε ιστολογικές τομές (Κεφάλαιο 1), για να φανούν περισσότερες λεπτομέρειες μπορεί να χρησιμοποιηθεί το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Καθώς το μήκος κύματος των ηλεκτρονίων είναι πολύ μικρότερο από τα κύματα φωτός, η ηλεκτρονική μικροσκοπία μπορεί να δείξει δομές που είναι 1.000 φορές μικρότερες από αυτές που μπορεί να δείξει το φωτονικό μικροσκόπιο. Μέσα στο κυτταρόπλασμα, η ηλεκτρονική μικροσκοπία αποκαλύπτει ένα εύρος οργανιδίων και άλλων δομών που περιβάλλονται από τη μεμβράνη



Εικ. 2.1 Ηλεκτρονική μικροφωτογραφία σενός κυττάρου. Χαμηλή μεγέθυνση.