

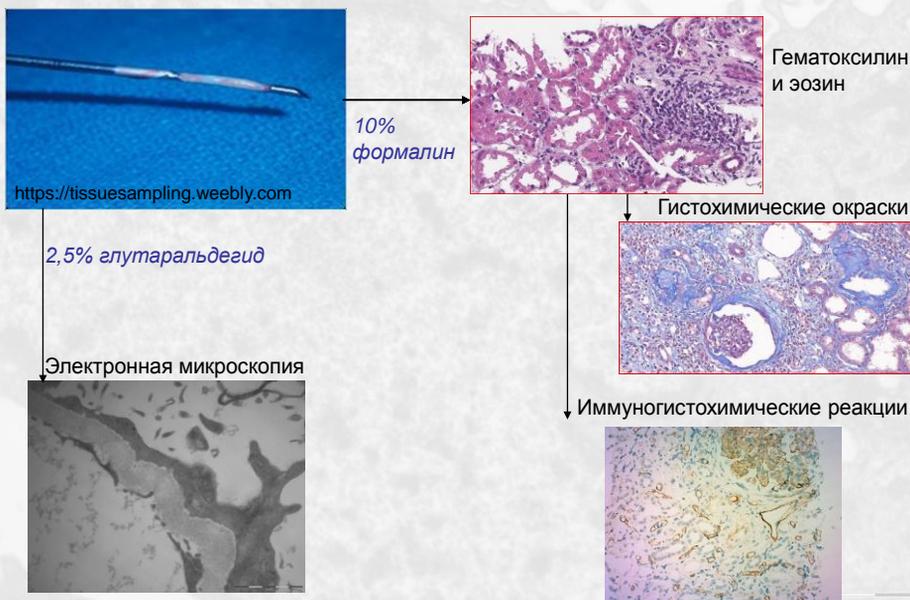
310 лет анатомическому театру Московского госпиталя

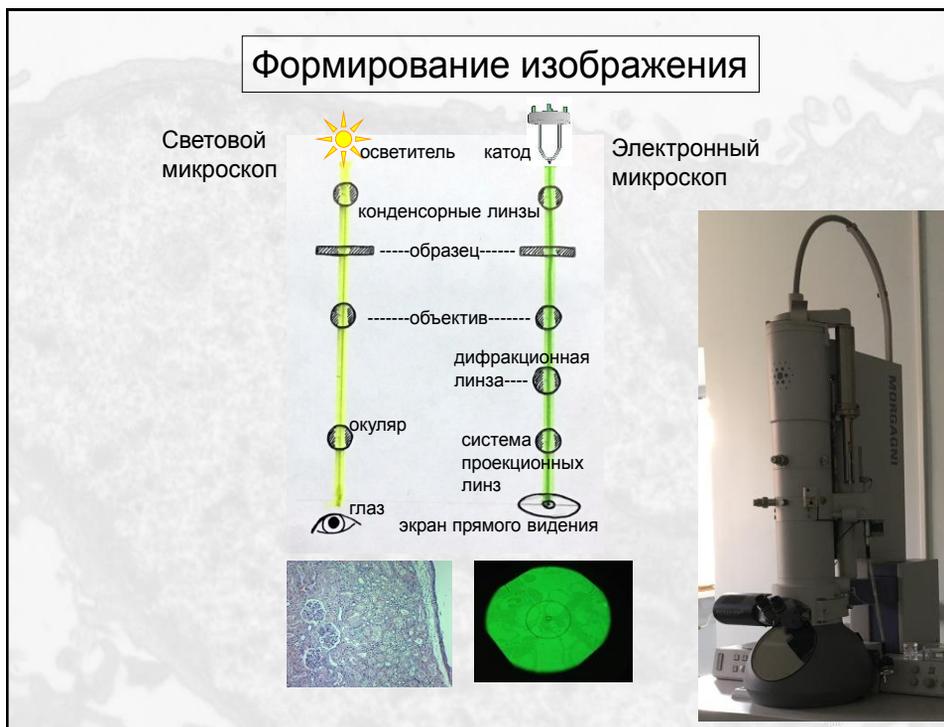
Роль электронной микроскопии в современной морфологической диагностике

Кушнир Б.Л.

ФГКУ «ГВКГ им. Н.Н. Бурденко» МО РФ

Морфологическое исследование биоптата





Рутинная трансмиссионная электронная микроскопия

Преимущества метода:

- непосредственная визуализация ультраструктуры клеток, их органелл, межклеточного матрикса;
- возможность оценки их расположения, пространственных взаимоотношений, морфометрических параметров;
- выявление структурных патологических изменений субклеточных элементов;
- независимость от направления диагностического поиска, намеченного патологом.

Ограничения метода:

- малая площадь исследуемой области;
- отсутствие информации о химическом составе структур образца, его антигенной экспрессии;
- использование дорогостоящего оборудования, необходимость дополнительного обучения сотрудников;
- алгоритм работы с материалом и реактивы отличаются от рутинных.

Особенности обработки материала для ЭМ

Разрешение $\sim 0,2$ нм

- высокое разрешение требует изготовления очень тонких срезов

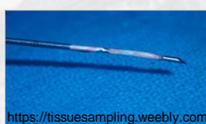
Исследование ультраструктуры мелких и нестабильных компонентов клеток

- требует более качественного их сохранения, чем исследование клеток и тканей при световой микроскопии

Изображение зависит от способности структур тормозить проходящие через ткань электроны

- чтобы увеличить контрастность, необходимо пропитывать ткань солями тяжёлых металлов

Обработка материала для ЭМ



<https://tissuesampling.weebly.com>

Биоптат

Фиксация в 2,5% глутаральдегиде (стабилизация белков)

Фрагменты по 1-1,5 мм³

Постфиксация в тетраоксиде осмия (стабилизация липидов, контрастирование)

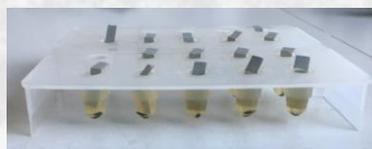
Обезвоживание в спиртах

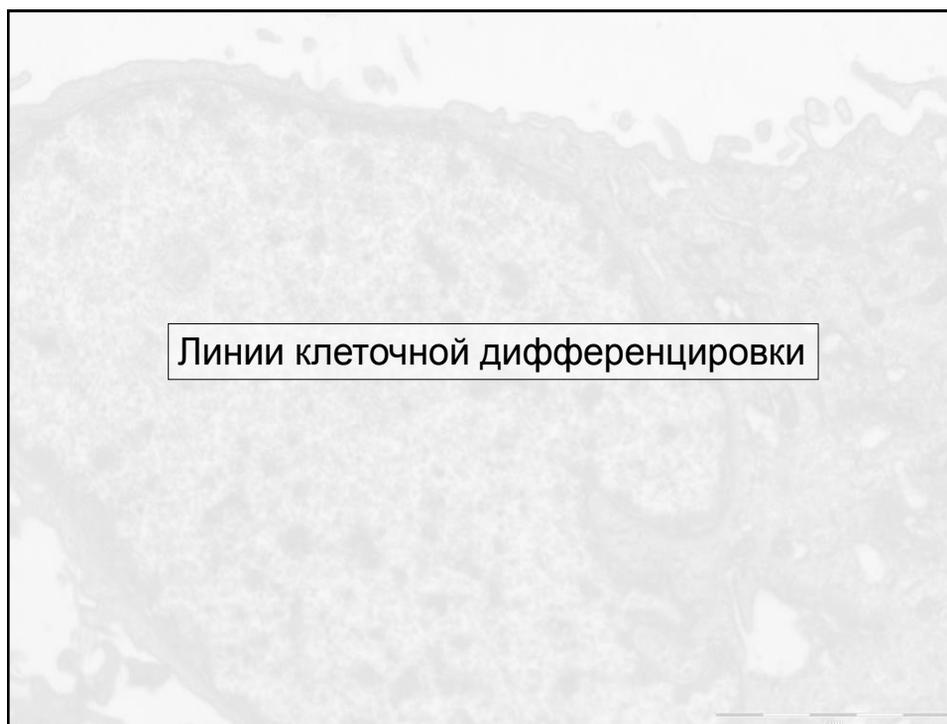
Контратирование уранилацетатом

Полимеризация смол в термостате

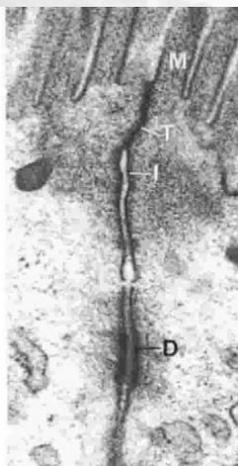
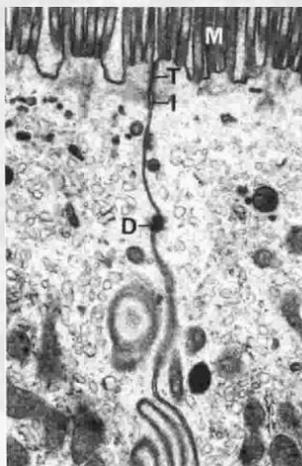
Пропитывание эпоксидными смолами

Заливка в специальные капсулы

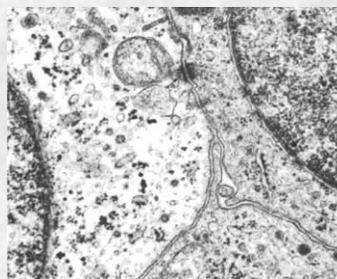




Эпителиальные клетки

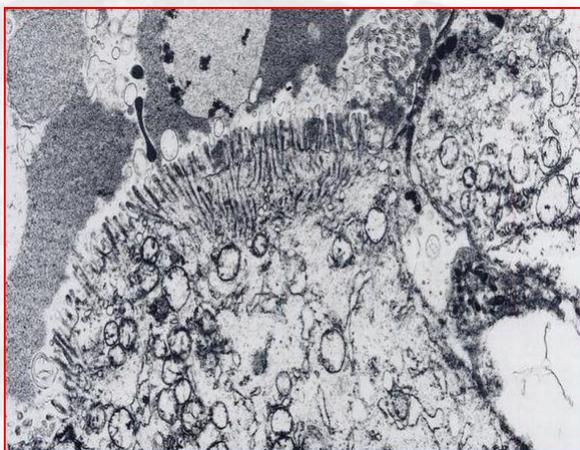


Межклеточные
соединения –
десмосомы,
плотные контакты



Feroze N. Ghadially, «Diagnostic Electron Microscopy of Tumours» – Edition 2, p. 68, 78.

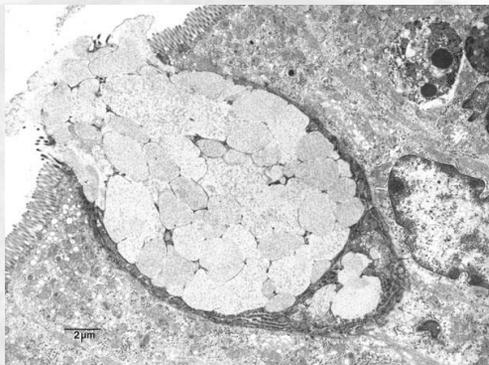
Эпителиальные клетки



Специализированная
клеточная
поверхность –
микроворсинки с
наличием
терминальной сети
цитоскелета:
специфичный признак
всасывающих клеток
ЖКТ

Ann M. Dvorak, Rita A. Monahan-Earley. Diagnostic Ultrastructural Pathology, Vol. 1: A Text-Atlas of Case Studies Illustrating The Correlative Clinical-Ultrastructural-Pathologic Approach to Diagnosis, p.51.

Эпителиальные клетки



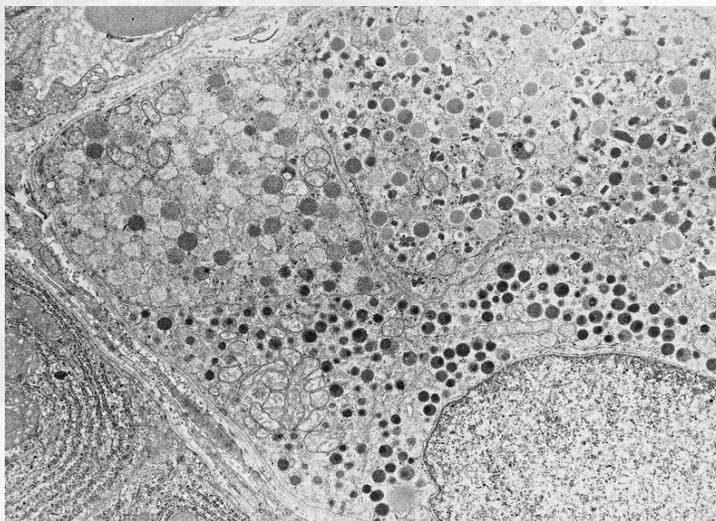
Капли муцина в
бокаловидной
клетке

<http://www.kumc.edu/emrl/cell-structure-atlas.html>



Kanthan et al. Goblet Cell Carcinoids of Appendix.
Arch Pathol Lab Med—Vol 125, March 2001

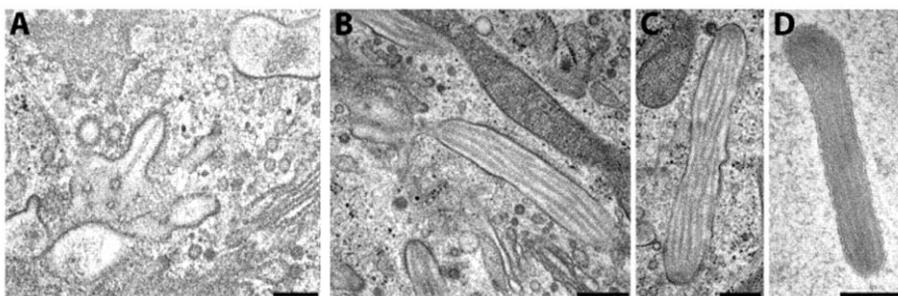
Нейроэндокринные клетки



Различные
типы
зимогенных
гранул

[http://www.pathologyoutlines.com/topic/pancreassuperpagenontumor.html](http://www.pathologyoutlines.com/topic/pancreassuperpaganontumor.html)

Эндотелий



Daniel J. Metcalf, Thomas D. Nightingale, Helen L. Zenner, Winnie W. Lui-Roberts, Daniel F. Cutler. Formation and function of Weibel-Palade bodies. *Journal of Cell Science* 2008 121: 19-27.

Тельца Weibel-Palade

Фибробласты, миофибробласты



D.E.Comings,T.A.Okada. Electron microscopy of human fibroblasts in tissue culture during logarithmic and confluent stages of growth. *Experimental Cell Research*. Volume 61, Issues 2-3, August 1970, Pages 295-301.

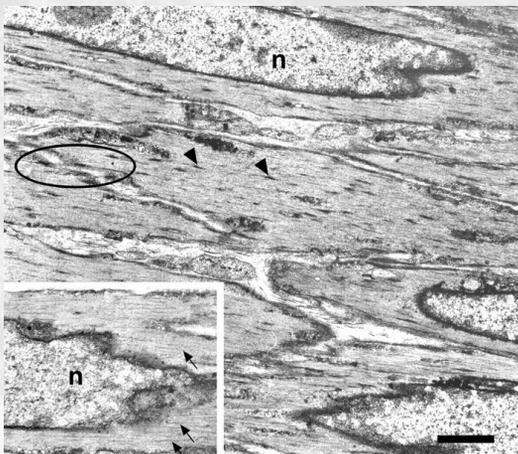
Фибробласт с хорошо развитой шероховатой эндоплазматической сетью



B. Eyden. The myofibroblast: phenotypic characterization as a prerequisite to understanding its functions in translational medicine. *J Cell Mol Med*. 2008 Jan; 12(1): 22-37. Published online 2007 Dec 25.

Миофибробласт с шероховатой эндоплазматической сетью и расположенными по периферии актиновыми волокнами

Гладкомышечные клетки



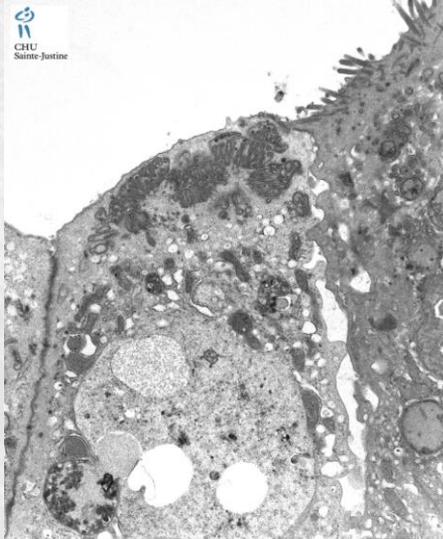
Актиновые волокна с плотными овальными тельцами

Kuo-Hsing Kuo, Chun Y. Seow. Contractile filament architecture and force transmission in swine airway smooth muscle. *Journal of Cell Science* 2004 117: 1503-1511.

Клетки с неясной дифференцировкой

Недифференцированные клетки

Синдром мальабсорбции

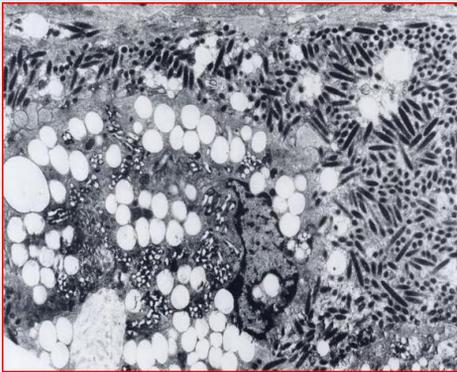


CHU
Sainte-Justine

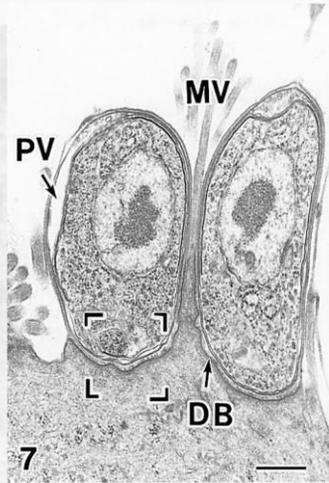
Болезнь включённых
микроворсинок

<http://humpath.com/spip.php?article7646>

Инфекционные заболевания



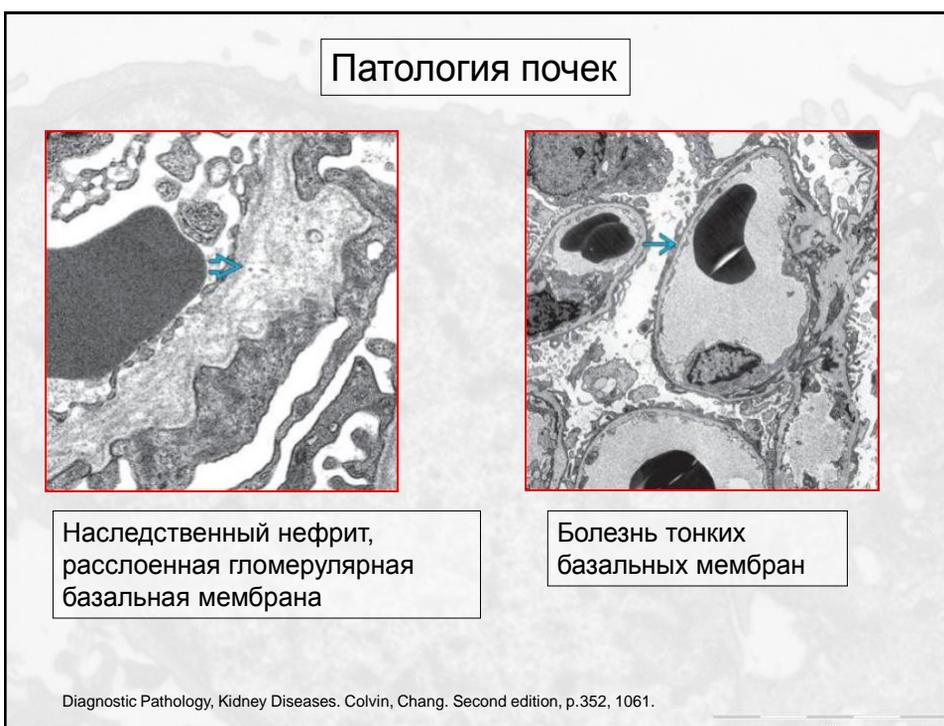
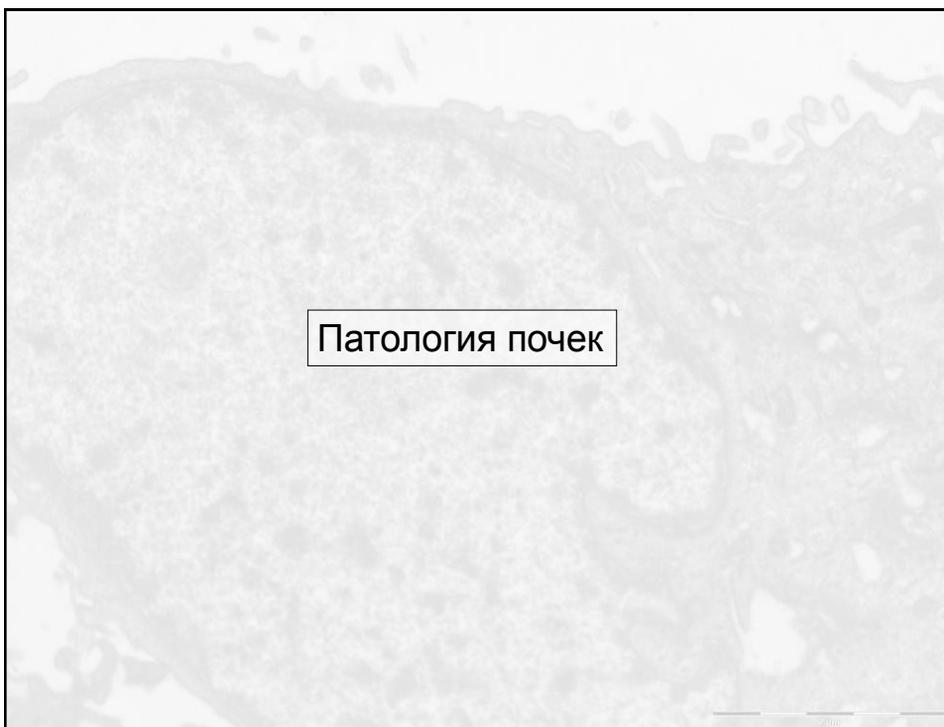
Болезнь Уиппла



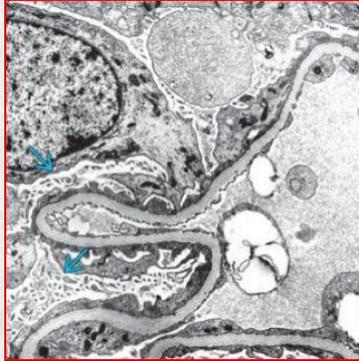
Криптоспоридиоз

Ann M. Dvorak, Rita A. Monahan-Earley. Diagnostic Ultrastructural Pathology: A Text-Atlas of Case Studies Illustrating The Correlative Clinical-Ultrastructural-Pathologic Approach to Diagnosis, Vol. 1, p.38

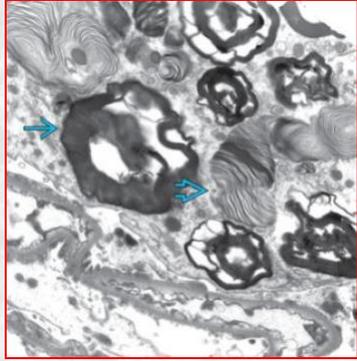
Rika Umeyiya, Minoru Fukuda, Kozo Fujisaki, and Toshihiro Matsui. Electron Microscopic Observation of The Invasion Process of *Cryptosporidium parvum* in Severe Combined Immunodeficiency Mice. Journal of Parasitology, 91(5):1034-1039. 2005.



Патология почек



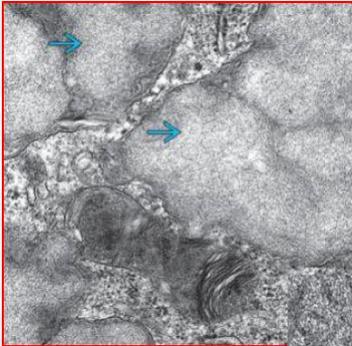
Болезнь малых отростков подоцитов (болезнь минимальных изменений).



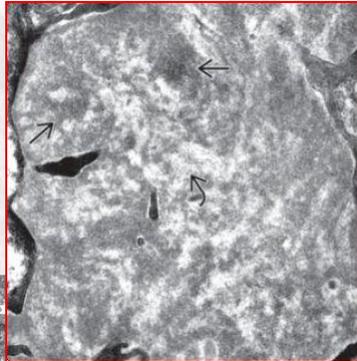
Болезнь Фабри

Diagnostic Pathology, Kidney Diseases. Colvin, Chang. Second edition, p.54, 421.

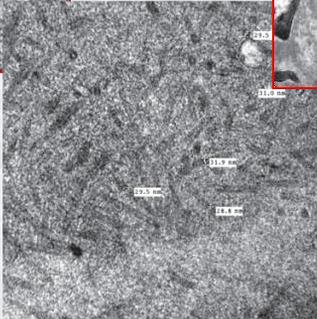
Патология почек



Амилоидоз



Фибронектиновая нефропатия



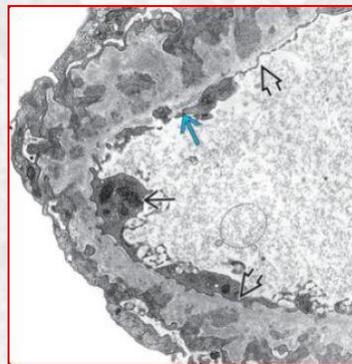
Иммунотактоидная нефропатия

Diagnostic Pathology, Kidney Diseases. Colvin, Chang. Second edition, p. 194, 243, 270.

Патология почек



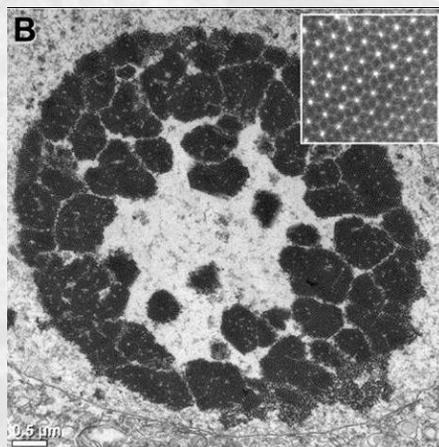
Болезнь плотных депозитов



Люпус-нефрит, V класс

Diagnostic Pathology, Kidney Diseases. Colvin, Chang. Second edition, p. 23, 101.

Патология почек



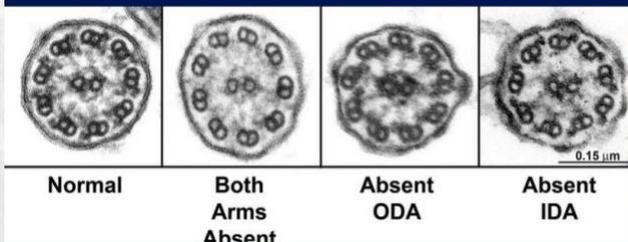
Полиомавирусная нефропатия

Roingeard P. Viral detection by electron microscopy: past, present and future. Biol Cell. 2008 Aug;100(8):491-501.

Первичная цилиарная дискинезия

Хронические инфекции респираторной системы, синдром Картагенера, мужское бесплодие

Primary Ciliary Dyskinesia

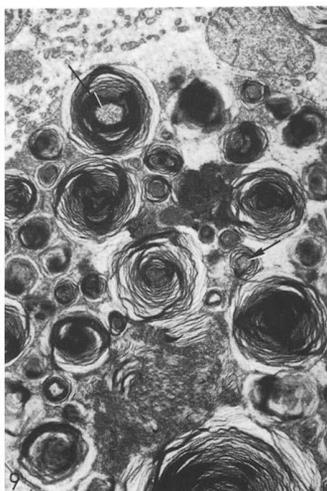


Варианты патологии динеиновых ручек

<http://medifitbiologicals.com/primary-ciliary-dyskinesia/>

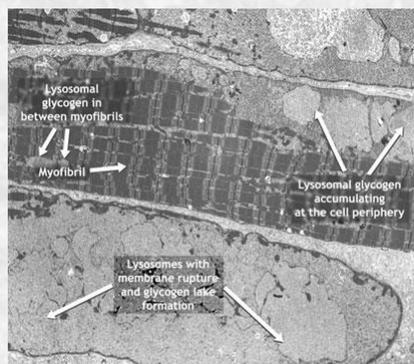
Метаболические заболевания

Лизосомальные болезни



M. A. Spycher. Electron microscopy: a method for the diagnosis of inherited metabolic storage diseases. Path. Res. Pract. 167, 118-135 (1980)

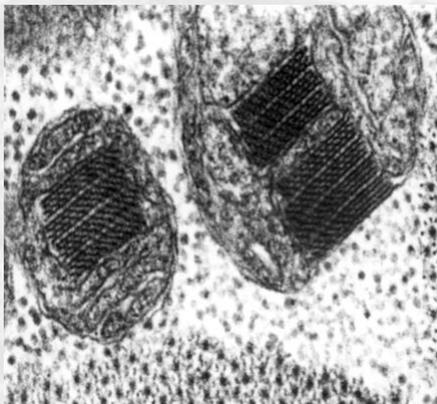
Болезнь Тей-Сакса



<http://pathologyoutlines.com/topic/thyroidisd.html>

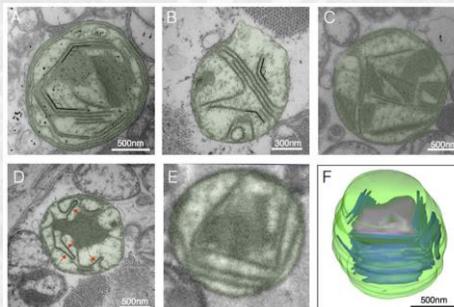
Болезнь Помпе

Метаболические заболевания



Паракристаллические включения

Митохондриальные болезни

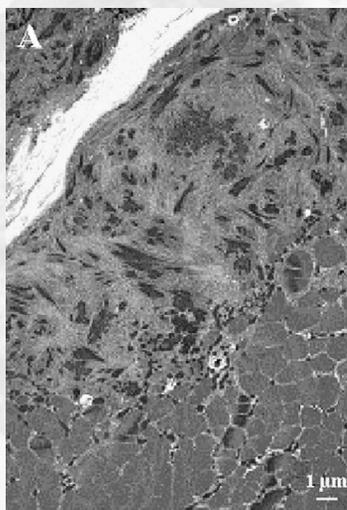


Неправильно сформированные и расположенные крипты

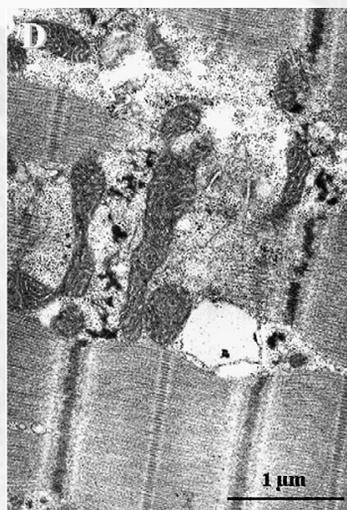
Oren Cohen, Israel Steiner, Zohar Argov, Avi Ashkenazi. Mitochondrial myopathy with atypical subacute presentation. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, Volume 64, Issue 3.

Amy E. Vincent, Yi Shiao Ng, Kathryn White et al. The Spectrum of Mitochondrial Ultrastructural Defects in Mitochondrial Myopathy. *Scientific Reports* 6, Article number: 30610 (2016)

Миофибриллярные миопатии



Аккумуляция филаментов в патологически сформированные пучки при мутации ZASP



Sandwich-like структуры при десминопатии

Claeys KG, Fardeau M, Schröder R, Suominen T, Tolksdorf K, Behin A, Dubourg O, Eymard B, Maisonobe T, Stojkovic T, Faulkner G, Richard P, Vicart P, Udd B, Voit T, Stoltenburg G. Electron microscopy in myofibrillar myopathies reveals clues to the mutated gene. *Neuromuscul Disord*. 2008 Aug;18(8):656-66.

