

ПАТОМОРФОЛОГИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

(теоретический и практический курс для исследователей, работающих в области биомедицины)

Курс направлен на освоение теоретического материала и практическую подготовку к морфологическому исследованию экспериментальных животных. Он включает в себя изучение техники вскрытий, гистологической техники, основ общей патологии, нормальной анатомии и гистологии лабораторных животных (мышей, крыс, кроликов), этиологии, патогенеза, морфологии и диагностики заболеваний, в том числе инфекций, неинфекционных болезней и опухолевой патологии, частных патологических изменений органов и систем, а также изменений, которые наблюдаются при экспериментальных воздействиях и токсикологических исследованиях у разных видов и линий. Практическая часть занятий включает выполнение учащимися некропсий и патогистологических исследований готовых гистологических препаратов. Курс может быть полезен для всех научных работников, производящих биомедицинские исследования на лабораторных животных, в особенности для экспериментальных онкологов, патоморфологов, патофизиологов, фармакологов и токсикологов, занимающихся тестированием новых лекарственных препаратов, а также для ветеринарных врачей и сотрудников вивариев. Курс ориентирован на учащихся, имеющих биологическое, медицинское или ветеринарное образование и предполагает знание общих анатомии, гистологии, биохимии и физиологии (животных и человека), а также наличие представлений об иммунологии, микробиологии и вирусологии.

Преподаватель: Манских Василий Николаевич, доктор медицинских наук

Продолжительность: 14 занятий по 6 часов (84 часа)

Примерная программа

Занятие 1.

Некропсия.

Тема 1. Технические аспекты патоморфологического исследования лабораторных животных. Общие замечания, основные литературные источники. Варианты некропсии и их особенности: диагностика заболеваний (мониторинг здоровья), фенотипирование, токсикологическое исследование, регистрация результатов эксперимента. Базовые условия и инструменты для проведения некропсий. Регистрация результатов некропсий, описание выявленных изменений. Протокол некропсии.

Тема 2. Секционная анатомия лабораторных животных (мышей и крыс) и этапы некропсии. Наружный осмотр. Секционный разрез кожи и исследование подкожных анатомических структур. Вскрытие и исследование грудной полости и глубоких органов шеи. Вскрытие и исследование брюшной полости. Вскрытие и исследование полости черепа и позвоночного столба. Секционное исследование и взятие образцов тканей конечностей. Некоторые анатомические особенности других лабораторных животных.

Практическая часть: некропсия мыши, описание выявленных изменений, фиксация образцов органов и тканей, составление протокола патоморфологического исследования.

Занятие 2.

Гистологическая техника.

Тема 3. Гистологическая обработка материала. Оборудование и организация гистологической лаборатории. Фиксация: основные правила. Фиксирующие растворы, применяемые в экспериментальной патологии. Отмывание и хранение материала после фиксации. Декальцинация. Вырезка, современные правила вырезки и ориентирования материала для приготовления стандартных срезов. Проводка материала, особенности разных режимов и сред для проводки. Заливка. Приготовление срезов, монтирование их на предметных стеклах. Окраска срезов: общие принципы. Методы окраски, применяемые в современной экспериментально-морфологической практике: их назначение принципы, протоколы и тонкости выполнения. Заключение срезов. Понятие о методах молекулярной морфологии (гистохимия, иммуногистохимия, гибридизация *in situ*, электронная микроскопия, радиоавтография). Люминесцентная и поляризационная микроскопия в патологии. Цитологические препараты (мазки и отпечатки) в практике экспериментальной патологии. Хранение и архивирование материала.

Практическая часть: ознакомление с работой гистологической лаборатории, самостоятельная вырезка образцов, взятых на предыдущей некропсии, изготовление срезов на микротоме из готовых блоков, окраска срезов гематоксилином и эозином, ШИК и по Граму-Вейгерту. Некропсия крысы, описание выявленных изменений и составление протокола патоморфологического исследования.

Занятие 3.

Практическая нормальная микроскопическая анатомия лабораторных мышей и крыс и частные особенности гистологии других лабораторных животных.

Тема 4. Общая микроскопическая анатомия. Нормальная гистология кожных покровов, мягких тканей и опорно-двигательного аппарата, крови, органов кроветворения и иммуногенеза, сердца и кровеносной системы, органов дыхания с обращением внимания на детали, важные для оценки функционального состояния органов и патологических изменений.

Практическая часть: некропсия мыши, описание выявленных изменений, фиксация образцов органов и тканей, составление протокола патоморфологического исследования.

Занятие 4.

Практическая нормальная микроскопическая анатомия лабораторных мышей и крыс и частные особенности гистологии других лабораторных животных (окончание).

Тема 5. Нормальная гистология мочевыделительной системы, половых органов самцов и самок, пищеварительной системы, печени и поджелудочной железы, эндокринных желез, нервной системы и органов чувств.

Практическая часть: некропия крысы, описание выявленных изменений, фиксация образцов органов и тканей, составление протокола патоморфологического исследования.

Занятие 5.

Общая и экспериментальная патология лабораторных животных.

Тема 6. Введение. Особенности исследования экспериментально-морфологического материала. Описание выявленных микроскопических изменений. Морфометрия и полуколичественная оценка степени выраженности. «Слепое исследование» как необходимое условие получения надежных данных. Важнейшие артефакты.

Тема 7. Альтерация. Патология метаболизма клетки и межклеточного вещества. Альтерация. Общие механизмы альтерации клетки и межклеточного вещества. Дистрофии как универсальные морфологические проявления патологии обменных процессов на тканевом уровне. Паренхиматозные и стромальные дистрофии. Истинные дистрофии (жировая, гиалиново-капельная, кристаллическая, баллонная (гидропическая), гликогеновая, амилоидоз, гиалиноз, кальциноз, пигментные депозиты, вирусные включения, мукоидное и фибриноидное набухание), биохимические механизмы развития, морфология и особенности проявлений в разных органах, биомедицинское значение. «Псевдодистрофии» (зернистая «дистрофия», эозинофильная и базофильная «дегенерации», роговая и слизистая «дистрофии»). Смерть клетки (некроз, апоптоз, аутофагия, сенесенс, митотическая катастрофа), ткани, органа (некроз), межклеточного вещества (фибриноидный некроз). Причины, механизмы клеточной гибели. Роль некроза и апоптоза в физиологии и патологии. Морфология некроза и апоптоза, молекулярные маркеры клеточной смерти. Органные особенности некроза. Аутолиз, его морфология и значение в патологии, дифференциация аутолиза и некроза.

Экспериментальная альтеративная патология. Моделирование острых (цитостатической болезни, острой токсической дистрофия печени) альтеративных патологий. Морфология и патогенез в сравнении с заболеваниями человека, морфологические критерии оценки. Ишемические повреждения. Экспериментальный инфаркт миокарда, почки, мозга. Моделирование в эксперименте. Сравнительная патология инфаркта миокарда и головного мозга человека и крысы по стадиям. Морфологические методы оценки степени повреждения, влияние нейропротекторов и кардипротекторов на течение патологии (патоморфоз).

Практическая часть: изучение гистологических препаратов по теме занятия, составление описания выявленных изменений и нормальных структур органов и тканей.

Занятие 6.

Общая и экспериментальная патология лабораторных животных (продолжение).

Тема 8. Воспаление и иммунопатологические реакции.

Воспаление. Причины, классификация, основные клеточные и молекулярные механизмы разных типов острого и хронического воспаления (экссудативного, продуктивного), их общая морфология, этиология и патогенез, исходы и роль в патологии человека и животных.

Общая иммунопатология. Основные механизмы, стадии и варианты иммунного ответа и их морфологические проявления в иммунокомпетентных органах (лимфатические узлы, селезенка, пейеровы бляшки). Первичные и вторичные иммунодефициты. Аллергические реакции (5 типов), их механизмы и роль в патологии. Аутоиммунные патологические процессы.

Экспериментальная патология воспаления и иммунного ответа. Экспериментальное воспроизведение острого и хронического воспаления (экспериментальный перитонит, пиелонефрит, экспериментальные гранулемы), сравнительная морфология, критерии патогистологической диагностики и количественной оценки. Проблема SIRS, септицемии и сепсиса. Экспериментальный сепсис и эндотоксиновый шок. Парциальные иммунодефициты, методы их получения. Экспериментальный аутоиммунный увеит, мембранозный гломерулонефрит, адьювантный и ревматоидный артрит, иммунные и неиммунные гранулемы. Моделирование в эксперименте, сравнение с аутоиммунной патологией человека, критерии морфологической оценки.

Тема 9. Компенсаторно-приспособительные процессы и атрофия. Понятие об аномалиях развития.

Компенсаторно-приспособительные процессы. Регенерация, ее общие механизмы и разновидности. Механизмы и формы регенерации разных органов и тканей с точки зрения современных данных сравнительной и экспериментальной патологии, возможности управления регенерацией у млекопитающих. Метаплазия, дисплазия, гистологическая аккомодация, гипертрофия, организация, атрофия: определения, общие механизмы, патогенетические связи, морфологические проявления и роль в патологии. Аномалии эмбриогенеза и постэмбриогенеза.

Практическая часть: изучение гистологических препаратов по теме занятия, составление описания выявленных изменений и нормальных структур органов и тканей.

Занятие 7.

Общая и экспериментальная патология лабораторных животных (окончание)

Тема 10. Опухолевый рост.

Опухолевый рост. Определение, терминология, общие свойства, принципы классификации. Характеристика опухолевой клетки и малигнизированной ткани. Основные молекулярные механизмы развития опухолей. Понятие о предраковых процессах. Метастазирование, его сущность, клеточные и молекулярные механизмы, возможные причины избирательной локализации метастазов. Теория метастатических ниш. Доброкачественные опухоли, их природа, морфология важнейших доброкачественных новообразований человека и лабораторных животных. Злокачественные опухоли. Раки, саркомы, нейрогенные и

миогенные опухоли. Важнейшие спонтанные злокачественные опухоли человека и животных, особенности их морфологии и патологии. Экспериментальное воспроизведение опухолей – перевивные опухоли (особенности отдельных штаммов), индукция опухолей канцерогенными агентами, трансгенные и нокаутные модели опухолевого роста.

Тема 11. Нарушения кровообращения.

Нарушения кровообращения как важные элементы патологии человека и животных, их классификация, причины и роль в конкретных нозологиях. Общая морфология и клеточные реакции при общем венозном полнокровии. Отек тканей, его природа и исходы. Шок. Стазы и сладжи. Понятие об эмболиях, тромбозах и тромбоемболиях, морфология тромба, отличие от кровяного сгустка. Патогенез и морфология ДВС-синдрома. Ишемия. Кровотечения и кровоизлияния.

Тема 12. Экспериментальная патология важнейших метаболических заболеваний человека (атеросклероз, сахарный диабет, гипертоническая болезнь, амилоидоз).

Экспериментальная патология болезней обмена и нейрогормональной регуляции. Модели атеросклероза, диабета, амилоидоза, артериальной гипертензии. Патогенез, сопоставление с патологией человека, морфологические проявления.

Практическая часть: изучение гистологических препаратов по теме занятия, составление описания выявленных изменений и нормальных структур органов и тканей.

Занятие 8.

Спонтанная патология у лабораторных животных.

Тема 13. Инфекционные болезни лабораторных животных и их влияние на результаты экспериментальных исследований

Вирусные инфекции (эктромелия (мышьяная оспа), коронавирусный сиалоаденит, вирусный гепатит, норовирусная инфекция, ротавирусная инфекция, парвовирусная инфекция, пневмовирусная инфекция, сендай-вирусная инфекция, пневмотропная к-вирусная инфекция, пикорнавирусная инфекция (вирусный энцефаломиелит), инфекция, вызванная вирусом лимфоцитарного хориоменингита, цитомегаловирусная инфекция, аденовирусная инфекция, реовирусная инфекция, инфекция, вызванная тимическим вирусом, вирусная инфекция, повышающая уровень лактатдегидрогеназы, вирус полиомы, онкогенные ретровирусы и ретроэлементы), бактериальные инфекции (болезнь Тиззера (Тайзера), сальмонеллез, эшерихиоз, контагиозная гиперплазия толстой кишки (цитробактериоз), хеликобактериозы, псевдомембранозный колит (клостридиальная энтеропатия), микоплазмоз, респираторная инфекция, вызванная саг-бактериями, хламидиоз, псевдотуберкулез, микобактериоз, туляремия, чума, коринебактериальные инфекции, стрептобациллярная инфекция, неспецифические гнойно-воспалительные заболевания, лептоспироз, лавсониоз), микозы (дерматомикозы, кандидозы, пневмоцистоз), протозойные инвазии (сапрофитные простейшие, кокцидозы, интестинальные инвазии патогенными

флагеллятами, микроспориозы), гельминтозы (оксиуриазы («pinworms»), цестодозы («tapeworms»)), поражения, вызываемые членистоногими

Практическая часть: решение ситуационных задач – изучение макроскопических фотографий, микрофотографий и гистологических препаратов, составление описания выявленных изменений и нормальных структур органов и тканей.

Занятие 9.

Спонтанная патология у лабораторных животных (продолжение).

Тема 14. Неинфекционные и неопухолевые болезни лабораторных животных

Атриальный (кардиальный) тромбоз, прогрессирующая мышечная кардиомиопатия, хроническая прогрессирующая нефропатия, гломерулонефриты, обструктивный урологический синдром, «нефрит с включениями», гидронефроз и поликистоз почек, «мезентериальная болезнь», амилоидоз, рейе-подобный синдром, спонтанные неврологические поражения, синдром кристаллического пневмонита, кишечная непроходимость (илеус) лактирующих мышей, «миелофиброз» (фибро-оссальное поражение), мукометра (гидрометра), неспецифические васкулиты (полиартерииты), стресс-синдром, кальциноз (синдром минерализации тканей), важнейшие аномалии эмбрионального и постэмбрионального онтогенеза, особые патологические явления, связанные с условиями содержания или поведением животных

Практическая часть: решение ситуационных задач – изучение макроскопических фотографий, микрофотографий и гистологических препаратов, составление описания выявленных изменений и нормальных структур органов и тканей.

Занятие 10.

Спонтанная патология у лабораторных животных (окончание).

Тема 15. Опухоли и гиперпластические процессы.

Опухоли и гиперплазии молочных желез, легких, опухоли кроветворной системы – лимфомы, опухоли кроветворной системы нелимфоидной природы, опухоли и гиперплазии печени и желчного пузыря, кожи и ее придатков, мягких тканей и опорно-двигательного аппарата, опухоли серозных оболочек (мезотелиомы), опухоли и гиперплазии половой системы самок, половой системы самцов, мочевой системы, одонтогенные опухоли, опухоли слюнных желез, опухоли и гиперплазии пищеварительного тракта, гипофиза, поджелудочной железы, щитовидной и паращитовидных желез, надпочечников, опухоли центральной нервной системы, специфические пролиферативные поражения органов чувств

Практическая часть: решение ситуационных задач – изучение макроскопических фотографий, микрофотографий и гистологических препаратов, составление описания выявленных изменений и нормальных структур органов и тканей.

Занятие 11.

Органные проявления фоновой и токсикологической патологии у лабораторных животных.

Тема 16. Патоморфология кожных покровов, мягких тканей и опорно-двигательного аппарата, крови, органов кроветворения и иммуногенеза, сердца и кровеносной системы, органов дыхания

Практическая часть: решение ситуационных задач – изучение макроскопических фотографий, микрофотографий и гистологических препаратов, составление описания выявленных изменений и нормальных структур органов и тканей.

Занятие 12.

Органные проявления фоновой и токсикологической патологии у лабораторных животных (окончание).

Тема 17. Патоморфология мочевыделительной системы, половых органов самцов и самок, пищеварительной системы, печени и поджелудочной железы, эндокринных желез, нервной системы и органов чувств.

Практическая часть: решение ситуационных задач – изучение макроскопических фотографий, микрофотографий и гистологических препаратов, составление описания выявленных изменений и нормальных структур органов и тканей.

Занятие 13.

Определение причины смерти и особенности отдельных линий лабораторных животных

Тема 18. Проблема определения причин смерти у лабораторных животных. Понятия фатальной и инцидентальной патологии.

Тема 19. Патологическая характеристика важнейших линий лабораторных животных.

Практическая часть: решение ситуационных задач – изучение макроскопических фотографий, микрофотографий и гистологических препаратов, составление описания выявленных изменений и нормальных структур органов и тканей.

Занятие 14.

Обсуждение вопросов и консультации по всем пройденным темам. Зачет (ответы на вопросы, анализ патологических изменений, представленных на фотографиях и в гистологических препаратах).