

LÉKAŘSKÁ HISTOLOGIE I.

Cytologie a obecná histologie

Luděk Vajner

Jiří Uhlík

Václava Konrádová



Lékařská histologie I.

Cytologie a obecná histologie

Luděk Vajner

Jiří Uhlík

Václava Konrádová

Recenzovali:

prof. MUDr. Drahomír Horký, DrSc.

prof. MUDr. Jaroslav Mokry, Ph.D.

Vydala Univerzita Karlova

Nakladatelství Karolinum

jako učební text pro posluchače lékařských fakult UK

Sazba DTP Nakladatelství Karolinum

Druhé, upravené vydání, první dotisk

© Univerzita Karlova, 2018

Text © Luděk Vajner, Jiří Uhlík, Václava Konrádová, 2018

Illustrations © Martin Wasserbauer, Michal Eid, Petra Dvořáková, 2018

ISBN 978-80-246-4107-2

ISBN 978-80-246-4106-5 (online : pdf)



Univerzita Karlova

Nakladatelství Karolinum 2019

www.karolinum.cz

ebooks@karolinum.cz

Obsah

Úvod (aneb Návod k použití se čte vždy jako poslední)-----	5
1/ Cytologie -----	8
2/ Tkáň epitelová -----	39
3/ Tkáně pojivové -----	54
4/ Nervová tkáň -----	73
5/ Svalová tkáň-----	86
6/ Krev a krevetvorba -----	100

Úvod

(aneb Návod k použití se čte vždy jako poslední)

Histologie je nauka o fyziologické, „normální“ stavbě buněk a tkání a principech jejich uspořádání. Znalost toho, jak je lidské tělo uspořádáno na mikroskopické úrovni, přijde lékaři velmi vhod. Byli bychom rádi, kdyby výuka histologie přinesla posluchačům i povědomí o souvislostech fyziologické struktury a fyziologické funkce a tušení, že porucha funkce obvykle úzce souvisí s poruchou struktury.

Pro toto přání máme pádný důvod. Histologie totiž umožňuje vidět řadu věcí na vlastní oči.

Světelný mikroskop, zkonstruovaný před více než 400 lety v Nizozemí, poskytl biologickým vědám zásadní informace, na jejichž základě **Purkyně, Schleiden, Schwann a Virchow** od roku 1837 postupně formulovali buněčnou teorii. Histologie tak leží v základech moderní medicíny.

Autorem první učebnice histologie z roku 1841 byl **Henle**. V této učebnici byly již popsány základní obecné rysy tkání a orgánů.

Druhá polovina 19. století a začátek 20. století byly obdobím největšího rozkvětu klasické deskriptivní histologie. V té době bylo získáno velké množství poznatků o struktuře jednotlivých orgánů lidského těla. Rozvoj histologie umožnil technický pokrok v konstrukci mikroskopů a mikrotomů a zdokonalení techniky zpracování tkání pro potřeby světelné mikroskopie.

V roce 1830 se podařilo odstranit chromatickou vadu objektivu, v roce 1898 byl nalezen způsob, jak odstranit astigmatismus čoček světelného mikroskopu. Byl také zkonstruován mikrotom, který umožnil zhotovit řezy tlusté kolem 10 μm . Byly popsány nové metody fixace a barvení tkání. Badatelé byli při své práci ale stále omezeni rozlišovací schopností světelného mikroskopu (0,2 μm).

Rozlišovací schopnost mikroskopu je dána nejmenší vzdáleností dvou bodů, které mohou být ještě rozlišeny jako samostatné jednotky. Závisí na parametrech mikroskopu, zejména na konstrukci jeho objektivu, a dále na vlnové délce záření, ve kterém objekt pozorujeme. Začátkem minulého století byly technické možnosti zlepšení konstrukce světelných mikroskopů již vyčerpány.

Badatelé **Knoll, Ruska a Knoblauch** proto začali hledat zdroj záření s kratší vlnovou délkou. Vypočetli, že při užití korpuskulárního záření – proudu urychlených elektronů – může být teoreticky dosažena rozlišovací schopnost 0,2 nm. Přístroj využívající tento druh záření – **elektronový mikroskop** – byl zkonstruován ve 30. letech 20. století skupinou německých techniků, kterou vedli. Do naší republiky se první elektronový mikroskop dostal až po 2. světové válce v rámci dodávek UNRRA. Světové úrovně dosáhl v konstrukci elektronových mikroskopů v Brně Armin **Delong**.

V 50. letech 20. století pokročila technologie zpracování živočišných tkání pro potřeby elektronové mikroskopie natolik, že byla dosažena praktická rozlišovací schopnost okolo 10 nm (v současnosti kolem 1 nm). Další bouřlivý rozvoj elektronové mikroskopie obohatil naše znalosti zejména v oblasti cytologie.

Za objev **kryoelektronové mikroskopie** byla udělena Nobelova cena v roce 2017 (**Dubochet, Frank a Henderson**).

Ve světelné mikroskopii mezitím došlo k objevu prakticky použitelných fluorescenčních barviv (fluorochromů), a proto se rozšířilo používání mikroskopu **fluorescenčního**. Ten využívá jevu, kdy je vysokoenergetické UV záření pohlcené fluorochromem vyzářeno ve viditelném spektru.

Oprášení a rozvinutí starého patentu snímání obrazu z jedné roviny zaostření (**Minsky** 1957; plzeňští **Petráň a Hadravský** 1965) vedlo v konci 20. století ke konstrukci prakticky využitelných světelných **konfokálních mikroskopů**. V roce 1990 (**Webb**) byl zaveden **dvoufotonový mikroskop**. Konfokální a dvoufotonové mikroskopy spolu s vizualizačními systémy dále zmíněných metod umožňují postihnout nejen zastavený děj ve fixované buňce nebo tkáni, ale i časové sekvence v buňkách živých nebo omezeně přežívajících. Složením jednotlivých rovin zaostření lze rovněž rekonstruovat trojrozměrný obraz řezů silných až 400 µm. Známa deskriptivní stránka histologie tak získává vztah k funkci buněk, tkání i orgánů.

K rozvoji histologie velkou měrou přispěly poznatky získané **histochemickými, imunocytochemickými, imunohistochemickými a hybridizačními** metodami. Zcela zásadní průlom přinesla v 70. letech minulého století možnost hybridomové konstrukce monoklonálních protilátek (Nobelova cena 1984 pro **Köhlera a Milsteina**), umožňujících imunolokalizaci jednotlivých epitopů sledovaných antigenů. Jinak řečeno, umožňujících identifikovat jednotlivé molekuly, ať už strukturální nebo funkčně důležité, v místě jejich výskytu neboli *in situ*.

A tu se dostáváme k dalšímu úskalí základního předmětu medicíny. Popisový aparát celé západní medicíny je založen na latinských a řeckých termínech, případně jejich hybridech. Je to logické, neboť latina byla dlouhou dobu universalizujícím jazykem vzdělaných lidí. Termíny proto v sobě nesou informaci, která posluchačům nepoznamenaným mnohdy ani základy latiny (natož koiné) bohužel uniká. Osobně bych si přál, aby i k našim studentům dolehl závan jazykové elegance a nebarbarského užívání odborných termínů.

Poslední přání souvisí s tím, že histologie je z pohledu posluchače lékařství jen jedním ze základních předmětů a že mu má posloužit jako **nástroj poznání a práce**. Zcela vědomě proto nebudeme úplně vysvětlovat pojmy a metody „vypůjčené“ ze sousedních oborů a budeme si přát, aby každá taková nejasnost (i v tomto úvodu už byly) byla popíchnutím k vlastní iniciativě. V dnešní době je informačních zdrojů přece *ad nauseam usque*.

Pan profesor Tomáš Halík nedávno konstatoval, že studenti řadu předmětů považují za **balast**, tedy zbytečnou věc.¹ Je zajímavé se vrátit k původnímu významu slova balast ze středověkého námořnictví. Plachetnice potřebovaly nějak vyvážit sílu větru na plachtoví. Proto se do kýlu umísťoval balast – zátěž (zpočátku kameny, pak kov, nakonec voda), která tvořila mrtvou, neužitečnou část přepravovaného objemu a hmotnosti. I přes tuto nevýhodu je balast důležitou součástí konstrukce lodí, neboť zabraňuje převržení lodi, a tedy **vůbec umožňuje lodi plout**.² **Takovým balastem histologie a embryologie pro medicínu opravdu je.** V angličtině posměšnou konotaci ono slovo nemá³. Inu, námořní velmoc. Džó, moře...

Za sebe i za spoluautory přeje příjemné čtení
Luděk Vajner
V Praze 2010 a 2018

¹ *Lidový slovník pro chalupáře* [online]. [cit. 19. 4. 2018]. Dostupné z: <http://lidovyslovník.cz/index.php?dotaz=balast/>

² Volně podle Wikipedie. Otevřená encyklopedie [online]. [cit. 19. 4. 2018]. Dostupné z: https://cs.wikipedia.org/wiki/Balastní_nádrž/

³ *Wiktionary. The Free Dictionary* [online]. [cit. 19. 4. 2018]. Dostupné z: <https://en.wiktionary.org/wiki/ballast/>

Ale nyní prosím *in medias res*!

Buňky jsou předmětem zájmu **CYTOLOGIE**.

Jednotlivé buňky v organismu zpravidla spolupracují, a tak vytvářejí funkční soubory zvané **tkáně**. Základní typy tkání jsou překvapivě jen čtyři (epitelová, pojivová, svalová a nervová) a pojednává o nich **OBEČNÁ HISTOLOGIE**. Jejich kombinací vznikají tkáně odvozené, složené (např. tkáň lymfatická).

Tkáně jsou základem pro **orgány** a **orgánové systémy** studované histologií speciální neboli **MIKROSKOPICKOU ANATOMIÍ**.

1/ Cytologie

Buňka je základní **strukturální** i **funkční** jednotkou téměř všech živých organismů, a to jednobuněčných i mnohobuněčných. Její živá hmota, **protoplasma**, je od okolí ohraničena buněčnou membránou. V buňce probíhají metabolické děje, buňka je schopna růstu a pohybu a odpovídá na zevní podněty. Tak je zajištěna existence buňky i předpoklad její replikace.

Existují dva morfologicky odlišné typy buněk (Archaea pro naše potřeby vynecháme), jednak buňky prokaryotické, jednak eukaryotické. Buňky **prokaryotické** nemají vyvinutý obal, který odděluje genetický materiál – deoxyribonukleovou kyselinu (DNA) – od dalších složek buňky. Jejich DNA není ani vázaná na specifické bazické proteiny histony. V protoplasmě nemají dále vyvinutou žádnou membránou ohraničené buněčné organely. Jsou to buňky malé, průměrně obvykle měří pouze do 5 μm . Typickými představiteli prokaryotických buněk jsou bakterie. Buňky **eukaryotické** jsou obvykle větší. Došlo zde k oddělení karyoplasmy od cytoplasmy, to znamená, že buňky obsahují jádro oddělené jaderným obalem od cytoplasmy. V jádře se kromě nukleových kyselin vyskytují i histony. V cytoplasmě nacházíme četné membránou ohraničené organely. Protože předmětem našeho studia je histologie člověka, bude se další výklad týkat výhradně buněk eukaryotických.

V průběhu fylogenetického vývoje se nediferencované primitivní buňky, které musely vykonávat doposud nepříliš efektivně celou řadu aktivit, postupně transformují v buňky, které jsou schopny vykonávat, obvykle ve spolupráci s dalšími obdobnými buňkami, velice efektivně pouze omezený počet funkcí. Obdobné procesy pozorujeme i v průběhu ontogenetického vývoje. Tento proces funkční specializace se označuje jako **buněčná diferenciac**e. V lidském organismu se vyskytuje okolo 200 typů různě terminálně diferencovaných buněk.

Právě díky proběhlé diferenciaci je **tv**ar buněk v těle mnohobuněčných organismů velmi různý. Je ovlivněn funkcí buněk i jejich vztahem k okolí. Buňky těsně vedle sebe uspořádané, tvořící buněčné vrstvy, mají obvykle tvar polyedrický. Podle výšky je rozdělujeme na buňky ploché (dlaždicové), kubické nebo cylindrické. Buňky vystýlající sférické prostory acinů mají tvar pyramidový. Buňky, které se uvolňují ze svazku s okolními buňkami nebo jsou suspendovány v řídkém prostředí, mají tendenci se zakulacovat, nabývat tvaru sférického. Některé buňky mají speciální tvar. Hladké svalové buňky jsou vřetenovité, některé neurony se svými četnými výběžky mají tvar hvězdicový. Jiné neurony mají tvar pyramid. Buňky až bizarních specializovaných tvarů se nacházejí zejména v některých smyslových orgánech.

Také **velikost buněk** je různá, v lidském těle široce kolísá mezi 4 až 150 μm . V jedné vrstvě kůry mozečku nacházíme jedny z nejmenších buněk v lidském organismu – drobné neurony s průměrnou velikostí okolo 4 μm . V sousední vrstvě se vyskytují velké neurony zvláštního tvaru – Purkyňovy buňky, které dosahují velikosti až 120 μm . Největší buňkou lidského organismu je oocyt. Jeho průměr dosahuje až 150 μm . Průměrná velikost somatických buněk se ale pohybuje v rozmezí mezi 10 – 20 μm .

Délka života jednotlivých buněk se rovněž výrazně liší. Některé buňky, například krevní elementy, žijí poměrně krátce, jen několik dnů. Naopak jiné buňky by měly žít po celou dobu existence lidského organismu. Příkladem takových buněk jsou neurony a kardiomyocyty.

Protoplasma eukaryotických buněk lze popsat, jak už bylo naznačeno, jako dvě části – **karyoplasma** a **cytoplasma**. Společně tvoří tyto dvě části celek, který je nezbytný pro zajištění životních projevů a funkcí buňky. Jen ojediněle a na předem naprogramovanou dobu mohou existovat buňky bez jader, např. erythrocyty nebo vlákna čočky.

Cytoplasma buňky můžeme definovat jako veškerou živou hmotu buňky kromě jádra. Od okolního prostředí je oddělena **buněčnou membránou – plasmalemou**. Cytoplasma tvoří buněčná matrix neboli cytosol, v němž jsou obsaženy struktury, které můžeme rozdělit do tří skupin. Jsou to buněčné organely, elementy cytoskeletu a inkluse. S rozvojem buněčné biologie se však zdá, že toto dělení má spíše didaktický, než faktický význam, jak konečně vyplývá i z našeho dalšího výkladu.

Buněčné **organely** jsou **permanentní součástí** cytoplasmy eukaryotických buněk. Většina jejich typů je **ohraňována membránou**. Obsahují **enzymy, které se účastní metabolických pochodů buňky**. Mezi organely patří:

- mitochondrie,
- endoplasmatické retikulum (ER),
- Golgiho komplex,
- lysosomy,
- peroxisomy
- a dále tak zvané nemembránové organely, jako jsou ribosomy, proteasomy (které jsou permanentními složkami cytoplasmy) a několik dalších, dosud ne úplně přesně zařazených struktur, které buňka obsahovat nemusí.

Elementy cytoskeletu představují v cytoplasmě dynamickou **opěrnou a transportní síť**. Elementy cytoskeletu jsou:

- mikrofilamenta,
- intermediální filamenta a
- mikrotubuly a jejich komplexy – centriol a jeho deriváty.

Cytoplasmatické **inkluse** jsou **dočasné** komponenty buňky, které **mohou** nebo **nemusí být ohraňovány membránou**. Mohou obsahovat některé enzymy, které se však na metabolických pochodech buňky přímo **nepodílejí**. Jedná se obvykle o různé pigmenty nebo o nahromadění buněčných metabolitů – lipidů, proteinů a sacharidů.

Biologická membrána

Buňky vymezuje vůči okolnímu prostředí **buněčná membrána – plasmalemma**. Tato membrána zprostředkovává mezi buňkou a jejím okolím výměnu nejrůznějších látek, důležitých pro životní funkce buňky jak metabolicky, tak informačně. Jak již bylo naznačeno v úvodu kapitoly, kromě buněčné membrány se v buňce vyskytují i **membrány ohraňující řadu dalších struktur**. Najdeme je kolem většiny organel, některých inklusí, tvoří jaderný obal. Tyto membrány tedy jednak oddělují jednotlivá prostředí („kompartmenty“), jednak zprostředkují jejich vzájemnou komunikaci.

Existenci membrány, která obklopuje a chrání buňku, prokázal již v roce 1855 Nägeli. Odhalil také semipermeabilní charakter této struktury. Mnohem později bylo zjištěno, že buněčná membrána je 7,5 až 10 nm silná. Je tedy hluboko pod rozlišovací schopností světelného mikroskopu. Struktura, kterou na povrchu buněk popsal Nägeli a kterou i my nyní pozorujeme ve světelném mikroskopu, je vlastní buněčná membrána, její zevní obal a také vrstvička proteinů přiložená k cytoplasmatickému povrchu membrány.

Velmi záhy bylo zjištěno, že hemolýzou erytrocytů je velmi snadné získat izolované buněčné membrány ve velkém množství. Vzhledem ke snadné dostupnosti tohoto materiálu bylo chemické složení buněčné membrány známo dříve než její ultrastruktura.

Již v roce 1925 Gartner a Grendel vyslovili názor, že buněčná membrána se skládá z bimolekulární vrstvy lipidů s vysokým obsahem fosfolipidů. Další chemický výzkum ukázal, že molekuly fosfolipidů se skládají z hydrofilní a hydrofobní části. Dále bylo zjištěno, že proteinové molekuly se vážou na hydrofilní části těchto molekul. Na základě těchto poznatků vytvořili v roce 1935 Dawson a Danielli model biologické membrány.

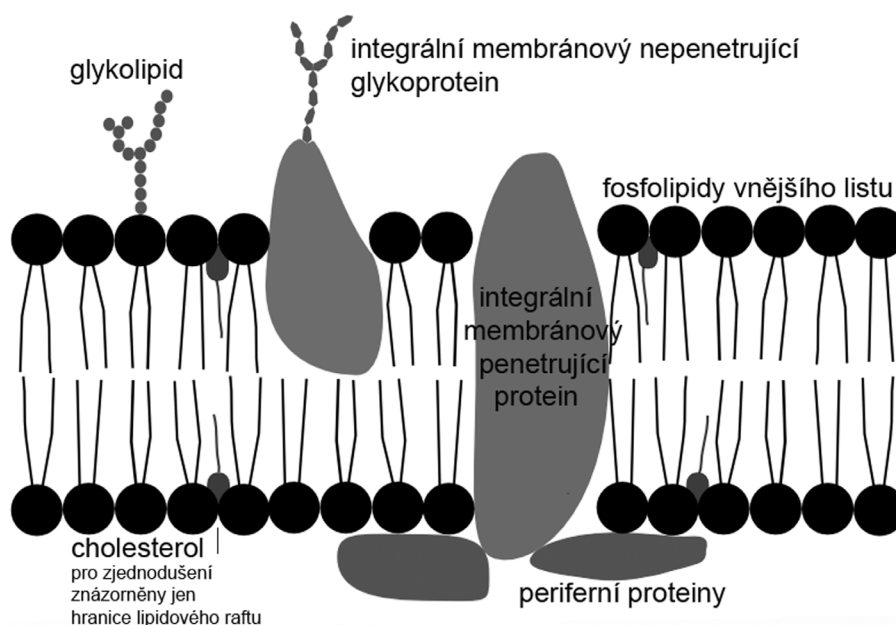
Ultrastrukturou membránových struktur, které se v buňce nacházejí, se v 50. letech 20. století zabýval Robertson. Zjistil, že jednotlivé membrány v buňce – buněčná membrána, membrány ohraničující jednotlivé orgány i membrány tvořící jaderný obal – se do jisté míry liší. Nejnápadnější jsou rozdíly v jejich tloušťce. Tenčí a méně kompaktní membrány vytvářejí fosfolipidy s nenasycenými vazbami v hydrofobních částech molekuly (viz dále). Ultrastrukturu mají však v zásadě stejnou. V transmisním elektronovém mikroskopu se všechny membrány jeví jako trojvrstevné. Setkáme se také s názvy trojitě nebo dvojité konturované (obr. 1). Robertson se domníval, že elektronově densní vrstvy jsou tvořeny proteiny a střední vrstvička je tvořena lipidy. Membrány vyskytující se v buňce nazval „unit membranes“. V češtině se užívá název **biologická membrána**.

V roce 1972 Singer a Nicholson vytvořili nový model struktury biologické membrány. Tento model se nazývá **model tekuté mozaiky** (obr. 2) nebo také „dvojměrná kapalina“. Je dosud platný a shrnuje naše současné představy o molekulární struktuře membrán přítomných v buňce. Složky membrány jsou samozřejmě kódovány genomem, ale výsledná podoba konkrétní membrány je dána matricovým způsobem, tj. množení membrán probíhá vždy jako pokračování již existující membrány – tedy všechny membrány jsou **maternálního** původu! V somatické buňce počíná replikace membrány v hladkém endoplasmatickém retikulu.

Základ biologické membrány tvoří **bimolekulární vrstva fosfolipidů**. V nejlépe prozkoumané buněčné membráně skládají **vnější list**, hraničící s mimobuněčným prostorem, převážně molekuly fosfatidylcholinu neboli lecitinu a sfingomyelinu neboli sfingolecitinu. **Vnitřní list**, obrácený k cytoplasmě, skládají převážně molekuly fosfatidyletanolaminu neboli kefalínu, fosfatidylinositolu a fosfatidylserinu neboli serinkefalínu. Za určitých okolností může dojít k rotaci fosfolipidu v rámci listu nebo mnohem vzácněji k překlopení fosfolipidu (např. fosfatidylserinu) z jednoho listu do druhého za účasti enzymu **skramblázy**. Molekuly fosfolipidů jsou odvozeny od triacylglycerolu. V biologické membráně směřují jejich dlouhé apolární hydrofobní řetězce do středu membrány, jejich hydrofilní části tvoří povrchy obou listů biologické membrány. Mezi fosfolipidy jsou vmezeřeny menší molekuly **cholesterolu**. Zejména ve vnějším listu buněčné membrány jsou přítomny i molekuly **glykolipidů**. Tím je založena asymetrie biologických membrán. Molekuly cholesterolu se kumulují spolu s transmembránovými úseky molekul proteinů nebo glykolipidů, čímž omezují jejich libovolnou **laterální difúzi** (tj. „plutí“ listem membrány) a vytvářejí funkční mikrodomény zvané **lipidové rafty**.



Obr. 1: Struktura biologické membrány



Obr. 2: Biologická membrána v modelu tekuté mozaiky

Proteiny tvoří obvykle okolo 50 % hmotnosti každé membrány, jejich zastoupení v jednotlivých membránách se ale často výrazně liší. Vnitřní mitochondriální membrána obsahuje až 80 % proteinů, naopak v modifikovaných buněčných membránách tvořících myelinové pochvy nacházíme méně než 18 % proteinů.

Proteiny obsažené v membránách dělíme na integrální a periferní. **Integrální proteiny** představují skupinu proteinů, které jsou přímo zabudovány do lipidové dvojvrstvy a jsou zde pevně vázány. Jejich vazba je výsledkem interakce mezi lipidy a hydrofobními oblastmi na povrchu makromolekul proteinů. Integrální membránové proteiny lze z membrán izolovat pouze drastickými metodami, například užitím detergentů, což vede k destrukci struktury zkoumaného úseku.

Integrální membránové proteiny můžeme dále dělit na penetrující (transmembránové) a nepenetrující. **Nepenetrující integrální membránové proteiny** jsou zakotveny do lipidové dvojvrstvy, případně jen do jednoho jejího listu, a vyčnívají jen na jednom povrchu membrány. Molekuly **penetrujících integrálních proteinů** jsou tak velké, že prostupují celou dvojvrstvou lipidových molekul. **Periferní proteiny** jsou k povrchu membrán připojeny volněji. Lze je izolovat aplikací některých solných roztoků.

Fosfolipidová dvojvrstva představuje prostředí, ve kterém nejsou integrální membránové proteiny rigidně vázány na jednom místě, ale mohou se touto dvojvrstvou pohybovat ve směrech rovnoběžných s povrchem membrán (laterální difúze). Mohou se kumulovat v určité oblasti membrány a spolu s cholesterolem vytvářet lipidové rafty. Tím lze dosáhnout výrazné asymetrie v uložení proteinových molekul, například nahloučení receptorů. Pohyb integrálních membránových proteinů není náhodný. Je řízen mechanismem, ve kterém hrají velkou úlohu aktinová mikrofilamenta, která tvoří terminální síť v oblasti pod buněčnou membránou. Překážku pro volný pohyb integrálních membránových proteinů lipidovou dvojvrstvou představují zonulae occludentes (viz dále).

Důležitou úlohu ve struktuře biologické membrány hrají také **sacharidy**. Sacharidové řetězce se tu vyskytují ve vazbě na lipidy nebo proteiny, tedy jako glykolipidové nebo glykoproteinové molekuly. Sacharidové řetězce glykoproteinů a glykolipidů vyčnívají v případě buněčné membrány nad zevní povrch. Představují důležité komponenty **membránových receptorů**, které hrají důležitou úlohu při zajišťování adheze a rozpoznávání různých látek buňkou. Lokalizace sacharidových řetězců glykolipidů a glykoproteinů dále přispívá k asymetrii, která je jednou ze základních vlastností biologických membrán. Na některých buněčných membránách nacházíme velké množství anténovitě vyčnívajících