

Histologija (grč. *histo*, tkivo + *logos*, proučavati) proučava tkiva organizma i načine na koje se ta tkiva raspoređuju da bi izgradila organe. Razlikuju se četiri osnovna tkiva: epitelno, vezivno, mišićno i nervno tkivo.

Tkivo je građeno od ćelija i ekstracelularnog (vanćelijskog) matriksa, dveju komponenti koje praktično predstavljaju odvojene celine. Ekstracelularni matriks izgrađuje više vrsta molekula, od kojih su neki na visokom stupnju organizacije i grade kompleksne strukture, kao što su kolagena vlakna ili bazalna membrana. Ranije se smatralo da je osnovna funkcija ekstracelularnog matriksa pružanje mehaničke potpore ćelijama, dopremanje do njih hranljivih materija i odnošenje kataboličkih i sekretornih produkata. Osim toga, danas se zna da ćelije ne samo da sintetišu komponente ekstracelularnog matriksa nego mogu biti i pod njihovim uticajem. Naime, u tkivima postoji intenzivna interakcija između ćelija i matriksa. Osim toga, neki molekuli matriksa se prepoznaju vezivanjem za receptore prisutne na ćelijskoj membrani. Većina tih receptora su molekuli koji prolaze kroz ćelijsku membranu i vezuju se za molekule u citoplazmi. Stoga, ćelije i ekstracelularni matriks formiraju jedinstvenu celinu koja zajedno funkcioniše i reaguje na stimulatorne ili inhibitorne signale.

Svako od navedenih osnovnih tkiva građeno je od nekoliko vrsta ćelija i karakteriše se specifičnom povezanošću tih ćelija sa ekstracelularnim matriksom. Ta specifična povezanost omogućava studentu da lakše prepozna podvrste različitih tkiva. Većina organa građena je od nekoliko tkiva, izuzev centralnog nervnog sistema koji je u najvećoj meri izgrađen samo od nervnog tkiva. Precizna kombinacija tih tkiva omogućava funkcionisanje svakog organa i organizma kao celine.

Mala veličina ćelije i komponenti ekstracelularnog matriksa čini da je za proučavanje u histologiji neophodna upotreba mikroskopa. Napredak u hemiji, fiziologiji, imunologiji i patologiji, kao i povezanost tih disciplina, esencijalni su za bolje razumevanje biologije tkiva. U svakoj grani nauke bitno je poznavanje pomagala i metoda da bi se pravilno razumeo predmet proučavanja. U ovom poglavlju biće prikazane metode za proučavanje ćelija i tkiva koje se najčešće primenjuju, kao i načela na kojima se one zasnivaju.

PRIPREMA TKIVA ZA POSMATRANJE POD MIKROSKOPOM

Najuobičajeniji postupak za proučavanje tkiva je priprema histoloških preseka (rezova), koji se mogu posmatrati pod svetlosnim mikroskopom, pod kojim se tkiva posmatraju putem svetlosnih zraka koji se prenose kroz njih. Budući da su tkiva i organi obično debeli i stoga neprovidni, tkiva moraju da se seku

da bi se dobili tanki providni preseci (isečki). U nekim slučajevima žive ćelije, vrlo tanki slojevi tkiva ili prozirne membrane životinja (npr. mezenterijum, rep punoglavca, obraz hrčka) mogu se posmatrati pod mikroskopom, a da se tkivo ne mora prethodno iseći. U tom slučaju moguće je duže posmatrati ta tkiva i u različitim fiziološkim ili eksperimentalnim uslovima. Međutim, najčešće se tkiva mogu proučavati tek nakon što se tanko isecku. To se postiže preciznim instrumentima za sečenje, koji se nazivaju **mikrotomi**.

Idealni mikroskopski preparat tkiva (histološki preparat) treba da bude sačuvan tako da tkivo na predmetnom staklu ima istu građu i molekularni sastav kakav je imalo u organizmu. To se teorijski može postići, ali je u praksi retko izvodljivo, tako da u preparatu gotovo uvek ima artefakata, deformacija i gubitka komponenti tkiva nastalih tokom pripreme preparata.

Fiksacija



Ako želimo da dobijemo trajne preseke, tkivo mora da se fiksira. Da bi se izbegla razgradnja tkiva enzimima prisutnim u ćeliji (autoliza) ili bakterijama i sačuvala njegova struktura i molekulska građa, komadiće tkiva treba brzo i prikladno tretirati nakon što se izvade iz tela životinje. Taj postupak, **fiksacija**, obično se sprovodi upotrebom hemikalija (hemijska fiksacija) ili, ređe, fizičkim metodama. Pri hemijskoj fiksaciji tkivo se potapa u rastvore (**fiksative**) koji stabilizuju proteine u tkivu ili ih međusobno povezuju. S obzirom na to da je potrebno određeno vreme da fiksativ u potpunosti prožme tkivo, ono se obično iseče u male deliće pre fiksacije, te fiksativ lakše prožima tkivo što garantuje očuvanost tkivne strukture. Takođe, za fiksaciju tkiva može da se primeni i postupak intravaskularne perfuzije. U toj vrsti fiksacije, fiksativ putem krvnih sudova veoma brzo dospeva u tkivo, pa je fiksacija daleko bolja nego pri drugim postupcima.

Puferisani izotonični rastvor 4% formaldehida jedan je od najboljih fiksativa za pripremanje uzoraka tkiva radi posmatranja pod svetlosnim mikroskopom. Hemijske reakcije za vreme fiksacije su složene i nisu potpuno razjašnjene. Međutim, zna se da formaldehid i glutaraldehid, fiksativi koja su takođe u širokoj upotrebi, reaguju s NH_2 grupama tkivnih proteina. Fiksacijsko delovanje glutaraldehida je pojačano jer je on dialdehid koji stupa u reakciju unakrsnog povezivanja proteina.

Zbog veće rezolucije (moći razdvajanja) koja se postiže elektronskim mikroskopom, neophodna je bolja fiksacija posmatranog tkiva da bi se sačuvala ultrastrukturne pojedinosti (detalji). Zbog toga je dvostruka fiksacija tkiva postala standardna procedura u pripremi tkiva za posmatranje pod elektronskim