МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Оренбургская государственная медицинская академия»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии

«УТВЕРЖДАЮ»
проректор по научной и клинической работе
профессор _____ Н.П. Сетко
« » _____20___ г.

РАБОЧАЯ ПРОГРАММА
дисциплины Основы экспериментальной гистологии

основной профессиональной образовательной программы послевузовского профессионального образования (аспирантура)

по научной специальности 03.03.04 «Клеточная биология, цитология, гистология»

Присуждается ученая степень
кандидат биологических наук
кандидат медицинских наук

Форма обучения
заочная

Оренбург, 20___

Содержание

1 Цели и задачи освоения дисциплины……

2 Место дисциплины в структуре ОПП ……

3 Требования к результатам освоения содержания дисциплины (разделов)

4 Объем дисциплины и виды учебной работы……..

5 Структура и содержание программы……

6 Структура и содержание дисциплины……..

7 Структура и содержание дисциплины (разделов) по видам учебной работы……..

8 Учебно-методическое и информационное обеспечение дисциплины……

9 Материально-техническое обеспечение дисциплины (раздела)…….

Лист регистрации внесения изменений…….

1. Цели и задачи освоения дисциплины:

Цель: формирование у аспирантов профессиональных знаний, умений и навыков, необходимых для проведения экспериментальных исследований в области клеточной биологии, цитологии и гистологии.

задачи: - формирование у аспирантов знаний умений и навыков по приготовлению гистологических препаратов и электронограмм;

- овладение умениями и навыками окраски гистологических препаратов, в том числе и иммуноцитохимическими методами;
- формирование знаний, умений и навыков качественного и количественного анализа гистологических препаратов и электронограмм;
- овладение современными технологиями культивирования клеток и тканей в условиях in vivo и in vitro;
- овладение современными технологиями презентации результатов научных исследований.

2. Место дисциплины в структуре ООП

Дисциплина относится к образовательной составляющей циклу дисциплин по выбору аспиранта.

Изучение данной дисциплины базируется на следующих дисциплинах:

- Гистология
- Цитология
- эмбриология

Основные положения дисциплины должны быть использованы в дальнейшем при изучении следующих дисциплин:

- Методики иммуноцитохимической идентификации про- и антиапоптотических генов
- Цитологические аспекты эмбриогенезов тканей

3. Требования к результатам освоения программы:

В результате освоения дисциплины аспирант должен

Знать: - основные способы фиксации гистологического материала;

- основные методы обзорных гистологических окрасок препаратов;
- основные гистохимические и иммуноцитохимические методики
- окраски гистологических и цитологических препаратов;
- методики электронной микроскопии;
- основные способы культивирования клеток и тканей в условиях in vivo и in vitro;
- основы использования компьютерной техники в экспериментальных исследованиях;

Уметь: - планировать и проводить экспериментальные исследования, необходимые для выполнения диссертационной работы; изготавливать, окрашивать и анализировать гистологические препараты; проводить морфометрию микроскопических биологических объектов с последующей статистической обработкой полученных цифровых данных; оценивать эффективность проведённых экспериментальных исследований; на основе результатов исследования готовить публикации для печати в научных изданиях; проводить презентацию результатов исследований на научных конференциях.

4. Объем дисциплины и виды учебной работы

Вид учебной работы	Трудоемкость, ч
Общая трудоемкость	**180**
Аудиторная работа	120
Лекции (Л) *Практические занятия (ПЗ)*	20 100
Самостоятельная работа	60
Самоподготовка (самостоятельное изучение разделов, проработка и повторение лекционного материала и материала учебников и учебных пособий, подготовка к практическим занятиям), (СР)	

Вид итогового контроля	Экзамен по программе кандидатского минимума

5. Структура и содержание программы

№ п/п	Модуль дисциплины	Виды учебной работы, включая самостоятельную работу аспирантов и трудоемкость (в часах)			Рубежные контрольные точки и итоговой контроль (формы контроля)
		Лекции	Прак. занят.	Самост. работа	
1	Подготовка гистологического материала для световых и электронномикроскопических исследований	4	20	20	тестирование, собеседование, аттестация практических навыков
2	Основные методы ультраструктурного анализа	4	20	10	тестирование, собеседование, аттестация практических навыков
3	Основы иммуноцитохимии	4	20	10	тестирование, собеседование, аттестация практических навыков
4	Методы культивирования клеток и тканей.	4	20	10	тестирование, собеседование, аттестация практических навыков задач.

5	Основы морфометрии биологических объектов	4	20	10	тестирование, собеседование, аттестация практических навыков
	Итого	20	100	60	

6. Структура и содержание дисциплины

№ п/п	Наименование модуля дисциплины Общая трудоемкость	Содержание модуля (в дидактических единицах)
1.	**Подготовка гистологического материала для световых и электронномикроскопических исследований 44 часа**	1. Взятие материала для светооптических исследований. Основные фиксаторы. Простые фиксаторы (формалин, этиловый спирт, ацетон).Фиксирующие смеси (жидкость Карнуа, жидкость Ценкера). Выбор фиксатора для исследования. Принципы и методы фиксации материала, 2. Взятие материала для электронномикроскопических исследований. Основные фиксаторы (глутаровый альдегид, параформальдегид, тетраокись осмия).Выбор фиксатора для исследования. Принципы и методы фиксации материала. 3. Подготовка материала к заливке в плотные среды (промывка материала, его обезвоживание). 4. Заливка материала в плотные среды для светооптических исследований. Заливка в парафин и смеси парафина с другими веществами. Заливка в целлоидин.

		5. Заливка материала в плотные среды для электронномикроскопических исследований. Заливка в аралдит. Заливка в эпон. 6.Изготовление срезов для светооптических исследований. Изготовление срезов на ротационном микротоме. Виды ротационных микротомов. Изготовление срезов на санном микротоме. Виды санных микротомов. Изготовление замороженных срезов на замораживающем микротоме.. 7.Приготовление полутонких срезов. для ультраструктурных исследований. Виды ультратомов. Особенности гистологической обработки биопсийного материала. 8. Подготовка гистологических срезов для окрашивания. Методики окрашивания гистологических препаратов. Обзорные гистологические методики. Основные методики окрашивания соединительных и мышечных тканей: окрашивание по Ван-Гизону, окрашивание по Маллори, окрашивание пикро-индигокармином. Особенности подготовки к окрашиванию и методики окрашивания костных тканей. Основные методы изучения тканевых элементов нервной системы: метод Ниссля, метод Гольджи. 9. Методики окрашивания гистологических препаратов.

		Гистохимические методики. Особенности подготовки материала для гистохимических исследований. Принципы и методы гистохимического окрашивания. Методы гистохимического выявления белков: окрашивание суммарного белка по методу Даниелли, реакция тетразониевого сочетания по Даниелли, окрашивание суммарного белка по Бонхегу, реакция Миллона в модификации Бейкера. Методы гистохимического выявления углеводных соединений: окрашивание альциановым синим, метахроматическое окрашивание толуидиновым синим, ШИК-реакция, гистохимические реакции на выявление кислых мукополисахаридов. Принципы дифференциальной диагностики углеводных биополимеров. Методы гистохимического выявления липидов: окраска суданом чёрным по Лизону, выявление холестерина методом Шультца. Методы гистохимического выявления нуклеиновых кислот: выявление ДНК и РНК по методу Браше. 10.Цитологические методы исследования. Приготовление мазков крови, лимфы, красного костного мозга).Окраска цитологических препаратов: окраска цитологических препаратов по Гимзе, окраска цитологических препаратов по Романовскому-

		Гимзе, окраска по Паппенгейму.
2	**Основные методы ультраструктурного анализа 34 часа**	1.История разработки методов ультраструктурного анализа клеток. Создание электронного микроскопа и его применения для анализа биологических объектов. Основные методы электронной микроскопии. Принцип работы электронных микроскопов. 2.Типы электронных микроскопов. Трансмиссионный электронный микроскоп. 3.Типы электронных микроскопов. Сканирующий электронный микроскоп. 4.Фиксаторы для ультраструктурных методов исследования. Принципы и методы фиксации материала. 5.Подготовка к заливке и заливка материала в плотные среды (эпон, аралдит) для ультраструктурных исследований. 6.Приготовление и окрашивание полутонких срезов. 7.Приготовление и контрастирование ультратонких срезов. 6.Особенности фотографирования биологических объектов в электронном микроскопе. 8.Анализ ультраструктурных компонентов клетки. 9.Компьютерная обработка результатов ультраструктурного анализа. 10. Основные возможные трудности, возникающие при электронномикроскопическом исследовании,
3	**Основы иммуноцитохимии 34 часа**	1. История разработки методов иммуноцитохимического анализа. Основные принципы иммуноцитохимического анализа. 2. Подготовка материала для иммуноцитохимических

		исследований. Технологические процессы в иммуноцитохимии (вопросы фиксации исследуемых объектов, изготовления гистологических срезов). Приготовление буферных растворов, дозозависимое разведение антител, методик окраски. 3. Оборудование и реактивы для иммуноцитохимического анализа. Антитела для иммуногистохимии. Общая характеристика антител, используемых для целей иммуногистохимии и их классификация. Современные представления о структуре моно- и поликлональных мышиных и кроличьих антител, меченых (энзимами, флурофорами, коллоидным золотом) антител как для световой, так и для электронной микроскопии. Диагностическая иммуногисто- и иммуноцитохимия. Прикладные аспекты иммуногистохимии, в частности - лабораторная диагностика опухолевого роста, включая канцерогенез. 4.Иммуноцитохимические методы выявления пролиферативной активности клеток: определение в гистологических срезах маркёра пролиферации белка Ki-67. 5.Иммуноцитохимические методы выявления процессов гинетически программированной клеточной гибели с помощью иммуноцитохимических методов: определение в гистологических срезах маркёра апоптоза белка P53, определение в гистологических срезах маркёра апоптоза

		белка каспазы-3, определение в гистологических срезах антиапоптотического белка bcl2. 6.Иммуноцитохимические методы выявления коллагенов. 7.Контроль специфичности иммуномечения. 8.Основные трудности, возникающие в процессе проведения иммуноцитохимических методик. 9.Новое направление исследований - иммуногистохимия на ультраструктурном уровне.Современные методики по определению антигенов в цитоплазме и ядрах клеток, включая использование специальных маркёров для их идентификации в органеллах. Использования микрофотографирования в иммуногистохимии. 10.Анализ результатов иммуноцитохимических методов исследования. Подготовка результатов иммуноцитохимического анализа для публикации в научных изданиях.
4	**Методы культивирования клеток и тканей.** **34 часа**	1. История создания методов культивирования клеток и тканей. Общие принципы культивирования. 2. Культивирование in vitro. 3. Культуральные среды. 4. Выделение клеток из органов и тканей. 5. Особенности культивирования клеток различных тканей в условиях in vitro: первичная культура, субкультура и клеточные линии, клонирование и селекция,

		разделение клеток, характеристика клеток, дифференцировка клеток, трансформация и иммортализация, контаминация, криоконсервация, культуры специфических типов клеток, культуры опухолевых клеток, органотипическая культура, крупномасштабное производство клеток. Различные осложнения, возникающие в ходе культивирования клеток. Основные причины ошибок и осложнений, которые могут иметь место на различных этапах культивирования. Трудности и сложности, возникающие при культивировании (медленный рост клеток, низкий выход клеток в первичной культуре, избыточный рост клеток, нарушение свойств клеток, которое может возникнуть при криоконсервации, различные случаи контаминации клеток. 6. Культивирование клеток и тканей в организме. Современные представления о выявлении и культивировании стволовых клеток. 7. Метод культивирования клеток и тканей в организме по Ф.М.Лазаренко. 8. Культивирование клеток и тканей в организме в условиях диффузионных камер. 9. Сокультивирование клеток и тканей в организме в

		условиях двойных диффузионных камер. 10.Исследование роли и значимости гипоталамических нонапептидов в условиях культивирования в условиях in vivo и in vitro.
5	**Основы морфометрии биологических объектов.** **34 часа**	1.Основные методы морфометрии биологических объектов на гистологических срезах и мазках. 2.Определение линейных размеров биологических объектов на гистологических срезах и мазках. 3.Способы измерения площадных характеристик биологических объектов на гистологических срезах. 4. Способы определения объёмных характеристик биологических объектов на гистологических срезах. Понятие о стереометрическом анализе. 5. Особенности морфометрии ультраструктурных компонентов клетки: определение площади и объёма ядер, определение площади и объёма мембранных органелл клетки (митохондрии, аппарат Гольджи, гладкая и шероховатая эндоплазматическая сеть). 6.Статистическая обработка данных морфометрического анализа. 7.Компьютерная трёхмерная реконструкция биологических объектов на серийных гистологических срезах и электронограммах. 8.Приборы и оборудование для автоматического анализа качественных и количественных характеристик биологических объектов на гистологических срезах и

		электронограммах. 9.Качественный и количественнй анализ биологических объектов и компьютерная 3D гистология. 10. Основные сложности и ошибки, имеющие место при анализе морфометрических показателей биологических структур на биологических срезах и электронограммах.

7. Структура и содержание дисциплины (разделов) по видам учебной работы

№ п/п	Тематика практических занятий (семинаров)	Трудо-емкость (час.)	Недели в семестре
Модуль 1			
Подготовка гистологического материала для световых и электронномикроскопических исследований			
1. Аудиторная работа			
а) Лекции			
1		2	
2		2	
б) Практические занятия			
1	Взятие материала для светооптических исследований.	2	
2	Взятие материала для электронномикроскопических исследований.	2	
3	Подготовка материала к заливке в плотные среды	2	
4	Заливка материала в плотные среды для светооптических исследований.	2	
5	Заливка материала в плотные среды для электронномикроскопических исследований	2	
6	Изготовление срезов для светооптических исследований	2	
7	Приготовление полутонких срезов. для ультраструктурных исследований. Виды ультратомов.	2	
8	Подготовка гистологических срезов для окрашивания. Методики окрашивания гистологических препаратов. Обзорные гистологические методики.	2	
9	Методики окрашивания гистологических препаратов. Гистохимические методики.	2	

10	Цитологические методы исследования. Приготовление мазков крови, лимфы, красного костного мозга	2	
	в) Формы контроля		
2. Самостоятельная внеаудиторная работа			
	а) Обязательная		
	***Формы работы** - Самостоятельное изготовление гистологических препаратов.	12	
	***Виды контроля** -		
	б) Необязательная		
Модуль 2			
Основные методы ультраструктурного анализа			
1. Аудиторная работа			
а) Лекции			
1		2	
2		2	
б) Практические занятия			
1	История разработки методов ультраструктурного анализа клеток. Создание электронного микроскопа и его применения для анализа биологических объектов. Основные методы электронной микроскопии. Принцип работы электронных микроскопов.	2	
2.	Типы электронных микроскопов. Трансмиссионный электронный микроскоп.	2	
3	Типы электронных микроскопов. Сканирующий электронный микроскоп.	2	
4	Фиксаторы для ультраструктурных методов исследования. Принципы и методы фиксации материала.	2	
5	Подготовка к заливке и заливка материала в плотные среды (эпон, аралдит) для ультраструктурных исследований.	2	
6	Приготовление и окрашивание полутонких срезов.	2	
7	Приготовление и контрастирование ультратонких срезов.	2	
8	Приготовление и контрастирование ультратонких срезов.	2	
9	Компьютерная обработка результатов ультраструктурного анализа.	2	
10	Основные возможные трудности, возникающие при электронномикроскопическом исследовании,	2	
	в) Формы контроля		

2. Самостоятельная внеаудиторная работа			
	а) Обязательная		
	***Формы работы** - Самостоятельное изготовление электронограмм, их описание и анализ.	12	
	***Виды контроля** -		
	б) Необязательная		
Модуль 3			
Основы иммуноцитохимии			
1. Аудиторная работа			
а) Лекции			
1		2	
2		2	
б) Практические занятия			
1	История разработки методов иммуноцитохимического анализа. Основные принципы иммуноцитохимического анализа.	2	
2.	Подготовка материала для иммуноцитохимических исследований.	2	
3	Оборудование и реактивы для иммуноцитохимического анализа. Антитела для иммуногистохимии.	2	
4	Иммуноцитохимические методы выявления пролиферативной активности клеток	2	
5	Иммуноцитохимические методы выявления процессов гинетически программированной клеточной гибели с помощью иммуноцитохимических методов	2	
6	Иммуноцитохимические методы выявления коллагенов.	2	
7	Контроль специфичности иммуномечения.	2	
8	Основные трудности, возникающие в процессе проведения иммуноцитохимических методик.	2	
9	Новое направление исследований - иммуногистохимия на ультраструктурном уровне.	2	
10	Анализ результатов иммуноцитохимических методов исследования.	2	
	в) Формы контроля		
2. Самостоятельная внеаудиторная работа			
	а) Обязательная		
	***Формы работы** - Иммуноцитохимическая окраска самостоятельно изготовленных гистологических препаратов, их описание и анализ.	12	
	***Виды контроля** -		
	б) Необязательная		

Модуль 4			
Методы культивирования клеток и тканей			
1. Аудиторная работа			
а) Лекции			
1		2	
2		2	
б) Практические занятия			
1	1. История создания методов культивирования клеток и тканей. Общие принципы культивирования.	2	
2.	2. Культивирование in vitro.	2	
3	Культуральные среды.	2	
4	Выделение клеток из органов и тканей.	2	
5	Особенности культивирования клеток различных тканей в условиях in vitro:	2	
6	Культивирование клеток и тканей в организме. Современные представления о выявлении и культивировании стволовых клеток.	2	
7	Метод культивирования клеток и тканей в организме по Ф.М.Лазаренко.	2	
8	Культивирование клеток и тканей в организме в условиях диффузионных камер.	2	
9	Сокультивирование клеток и тканей в организме в условиях двойных диффузионных камер.	2	
10	Исследование роли и значимости гипоталамических нонапептидов в условиях культивирования в условиях in vivo и in vitro.	2	
	в) Формы контроля		
2. Самостоятельная внеаудиторная работа			
	а) Обязательная		
	***Формы работы** - Проведение культивирования в условиях in vivo по Ф.М. Лазаренко фрагментов внутренних органов лабораторных животных. Изготовление, окраска и анализ гистологических препаратов по результатам эксперимента.	12	
	***Виды контроля** -		
	б) Необязательная		
Модуль 5			
Основы морфометрии биологических объектов			
1. Аудиторная работа			
а) Лекции			
1		2	

2		2	
б) Практические занятия			
1	Основные методы морфометрии биологических объектов на гистологических срезах и мазках.	2	
2.	Определение линейных размеров биологических объектов на гистологических срезах и мазках.	2	
3	Способы измерения площадных характеристик биологических объектов на гистологических срезах.	2	
4	Способы определения объёмных характеристик биологических объектов на гистологических срезах. Понятие о стереометрическом анализе.	2	
5	Особенности морфометрии ультраструктурных компонентов клетки.	2	
6	Статистическая обработка данных морфометрического анализа.	2	
7	Компьютерная трёхмерная реконструкция биологических объектов на серийных гистологических срезах и электронограммах.	2	
8	Приборы и оборудование для автоматического анализа качественных и количественных характеристик биологических объектов на гистологических срезах и электронограммах.	2	
9	Качественный и количественнй анализ биологических объектов и компьютерная 3D гистология.	2	
10	Основные сложности и ошибки, имеющие место при анализе морфометрических показателей биологических структур на биологических срезах и электронограммах.	2	
	в) Формы контроля		
2. Самостоятельная внеаудиторная работа			
	а) Обязательная		
	***Формы работы** - Проведение морфометрии самостоятельно изготовленных гистологических препаратов. Статистическая обработка полученных цифровых показателей.	12	
	***Виды контроля** -		
	б) Необязательная		

8. Учебно-методическое и информационное обеспечение дисциплины:

8.1 Рекомендуемая литература

8.1.1 Основная литература

1. Канюков В.Н., Стадников А.А., Трубина О.М., Стрекаловская А.Д. Методы исследования в биологии и медицине. Оренбург: ОАО"Агентство "ПРЕССА", 2013, 196 с.

2. «Клетки». Под ред. Б.Льюина и др.Пер. с англ. д-ра биол. наук, профессора И.В.Филипповича под ред. д-ра биол. наук, профессора Ю.С.Ченцова. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2011, 951 с.

3. Крстич Р.В. "Атлас микроскопической анатомии человека: Учебное пособие для студентов высших учебных заведений".Под ред. Р.П.Самусева. (Перевод с английского).М.: ООО"Издательство Оникс":ООО"Издательство "Мир и образование", 2010, 608 с.

8.1.2 Дополнительная литература

1. Семченко В.В., Барашкова С.А., Ноздрин В.И., Артемьев В.Н. Гистологическая техника: учебное пособие.3-е изд., доп. и перераб. Омск-Орёл: Омская областная типография, 2006, 290 с.

2. Фрешни Р.Я. "Культура животных клеток: практическое руко-водство".Перевод с 5-го английского издания. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2010, 691 с.

3. Ovalle W.K., Nahirney P.C. Netters essential histology.Philadelphia: Saunders, 2008, 493 p.

4. Buchwalow I.B., BocKer W. Immunogistochemistry: Basis and Methods. Hardcover: Springer, 2010, 153 p.

8.1.3 Периодическая литература

Отечественные журналы морфологического профиля:

"Морфология",

"Морфологические ведомости"

"Цитология",

"Онтогенез",

"Успехи современной биологии".

Иностранные журналы морфологического профиля,

"Developmental dynamics",

"The anatomical Record",

"Journal of Histochemistry & Cytochemistry",

"Journal of Morphology",

"Cell",

"BioTechniques",

"Journal of Neurocytology".

8.1.4 Нормативно-правовые документы

8.1.5 Программное обеспечение (общесистемное, прикладное)

1. Windows
2.Microsoft Office
3. Irbis bib

8.1.6 Информационно-справочные и поисковые системы

1. Книгофонд.
2. Консультант студент
3. Электронная библиотека
4. Incis

9 Материально-техническое обеспечение дисциплины

9.1 Учебно-лабораторное оборудование

Оборудование, приборы, инструменты и химические реактивы гистологической лаборатории; оборудование и инструментарий экспериментальной операционной для операций на животных.

9.2 Технические и электронные средства обучения и контроля знаний аспирантов

Мультимедийный комплекс (ноутбук, проектор, экран), слайдоскоп, ПК, доски, мультимедийные презентации, таблицы, наборы слайдов и таблиц по различным разделам дисциплины, ситуационные задачи, тестовые задания.

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Оренбургская государственная медицинская академия»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

ЛИСТ РЕГИСТРАЦИИ ВНЕСЕНИЙ ИЗМЕНЕНИЙ

Утверждено на совещании кафедры _____

Протокол №_____ от «___»_____20__ г.

Зав. кафедрой _____
(Ф.И.О)

№	Раздела рабочей програм -мы	Наименование пункта	Дата введения изменений в действие	Подпись исполнителя	Подпись зав. кафедрой

Программа составлена в соответствии с утвержденными федеральными государственными требованиями к структуре основной профессиональной образовательной программе послевузовского профессионального образования (аспирантура), утверждённого приказом Минобрнауки России 16.03.2011 № 1365.

Разработчики:

Зав. кафедрой гистологии,
цитологии и эмбриологии,
з.д.н. РФ,д.б.н., проф _____«__» _____20___ г. Стадников А.А.
подпись *дата*

Профессор кафедры гистологии, цитологии
и эмбриологии, д.б.н., проф. _____«__» _____20___ г. Шевлюк Н.Н.

подпись *дата*

Программа одобрена на заседании кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии, протокол № ___ от «__» _____20___г.

Программа рассмотрена и одобрена на заседании методического совета по аспирантуре, протокол № __ от «__» _____20___г.

СОГЛАСОВАНО:

Декан педиатрического факультета и
факультета клинической психологии
д.м.н., профессор _____«____»____ 20___ г. Л.М. Железнов
подпись *дата*

Председатель
методического совета по аспирантуре
д.м.н. профессор. _____«__» _____20___ г. А.А. Вялкова
подпись *дата*

Начальник отдела
аспирантуры, докторантуры и организации
научных исследований _____«__» _____20___ М.В. Фомина
подпись *дата*