

Бюджетное учреждение высшего образования  
Ханты-Мансийского автономного округа – Югры  
«Ханты-Мансийская государственная медицинская академия»

Лечебный факультет

Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ  
ДЛЯ АСПИРАНТОВ К ПРАКТИЧЕСКИМ ЗАНЯТИЯМ ПО  
ДИСЦИПЛИНЕ**

**«МЕТОДЫ ЭМБРИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ»  
ОЧНАЯ/ЗАОЧНАЯ ФОРМА ОБУЧЕНИЯ**



Ханты-Мансийск, 2015

УДК 611-018  
ББК 28.706  
М54

Методические рекомендации разработаны в соответствии с рабочей программой дисциплины «методы эмбриологических исследований», предусмотренной учебным планом аспирантов очной/заочной формы обучения по направлению подготовки: 30.06.01 Фундаментальная медицина, по специальности: "Клеточная биология, цитология, гистология".

Утверждены цикловой методической комиссией математического и естественнонаучного цикла БУ «Ханты-Мансийская государственная медицинская академия» в качестве методических рекомендаций к практическим занятиям для аспирантов, обучающихся по специальности "Клеточная биология, цитология, гистология" по очной/заочной форме обучения (решение от « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2015г., протокол № \_\_\_\_).

*Рецензент:*

профессор кафедры патологической анатомии и судебной медицины БУ  
«Ханты – Мансийская государственная медицинская академия»  
к.м.н. А.А. Вотинцев

**Янин В.Л., Бондаренко О.М., Сазонова Н.А.**

М54 Методические рекомендации для аспирантов очной/заочной формы обучения к практическим занятиям по дисциплине «методы эмбриологических исследований». Методические рекомендации – Ханты-Мансийск: БУ «Ханты-Мансийская государственная медицинская академия», 2015. – 8с.

## ВВЕДЕНИЕ

Методические рекомендации разработаны в соответствии с рабочей программой дисциплины «Методы эмбриологических исследований» является частью подготовки кадров высшей квалификации по направлению подготовки 30.06.01 Фундаментальная медицина по специальности "Клеточная биология, цитология, гистология".

Для изучения данной дисциплины аспирант должен иметь представление о строении и развитии клеток, тканей и органов, владеть навыком микроскопии и изготовления гистологических препаратов.

Целью практических занятий по дисциплине «Методы эмбриологических исследований» является сформировать у аспиранта способность применять методы эмбриологических исследований при проектировании и осуществлении комплексных исследований в области биологии, цитологии и гистологии.

Для унификации преподавания дисциплины и повышения качества знаний аспирантов в настоящих рекомендациях используется единая структура практических занятий, включающая постановку цели, обсуждение значимости и актуальности материала занятия, разбор основополагающих вопросов темы и практическую часть.

Предложенная структура занятия позволяет максимально использовать принципы самостоятельного изучения предмета, оптимально организовать работу аспиранта как при подготовке к занятию, так и в процессе его проведения.

Методические рекомендации предназначены для аспирантов очной/заочной формы обучения по направлению подготовки: 30.06.01 Фундаментальная медицина, по специальности: "Клеточная биология, цитология, гистология" для работы на практических занятиях по дисциплине «Методы эмбриологических исследований».

## ЗАНЯТИЕ № 1

### КЛАССИФИКАЦИЯ ЭМБРИОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ.

#### ЛАБОРАТОРНЫЕ МЛЕКОПИТАЮЩИЕ, КАК ОБЪЕКТЫ БИОЛОГИИ РАЗВИТИЯ

**ЦЕЛЬ:** изучить особенности содержания и разведения лабораторных млекопитающих.

#### Теоретические вопросы для обсуждения на занятии

1. Классификация эмбриологических методов.
2. Лабораторные млекопитающие: мышь, крыса, кролик, хомячок – содержание и разведение.
3. Оснащение вивария.

#### Значимость изучаемой темы

При проведении любых исследований важнейшим этапом становится правильность выбора метода исследования. Разработка методов изучения эмбрионального развития млекопитающих осложняется их внутриутробным развитием. Многие эмбриологические методы не применимы в отношении изучения эмбрионального развития человека. В этой случае незаменимой моделью становятся лабораторные животные.

К наиболее распространенным лабораторным животным, широко используемым для самых различных экспериментально-биологических и медицинских целей относятся мыши, крысы, кролики и хомячки. Они являются объектами описательной и экспериментальной эмбриологии. Эти животные служат биологическими моделями для познания общих закономерностей эмбрионального развития млекопитающих, изучения механизмов цитодифференцировки, гистогенеза, морфогенеза и др. Эмбрионы этих животных (особенно мышей и кроликов) все чаще используются в биохимических исследованиях, посвященных синтезу ДНК, РНК, белков, анализу функции и механизмов регуляции клеточного генома. На эмбрионах лабораторных млекопитающих решают и цитогенетические задачи. Их используют для создания генетических химер (аллофенных животных), гибридизации соматических клеток, изоляции, дезагрегации, реассоциации и трансплантации бластомеров. И конечно же большинство тератологических исследований не обходятся без лабораторных животных.

Успешная работа с лабораторными млекопитающими требует знания особенностей их содержания и разведения.

#### Задание

1. Составьте недельный рацион для группы животных состоящей из:
  - a. 10 половозрелых самок белых крыс и 5 самцов;
  - b. 5 беременных крольчих и 1 самца;
  - c. 10 беременных мышей и 5 самцов;
  - d. 10 половозрелых самок сирийского хомячка и 5 самцов.

2. Произведите расчет минимальной площади вивария для содержания:

- a. 50 крыс;
- b. 50 мышей;
- c. 50 кроликов;
- d. 50 хомяков.

3. Заполните таблицу.

Название животного	Показатели содержания						
	Температура	Влажность	Вентиляция	Размеры клетки	Количество животных в клетке	Суточная потребность в кормах	Особенности
Мышь							
Крыса							
Кролик							
Хомячок							

## ЗАНЯТИЕ № 2

### ПОЛУЧЕНИЕ ЖИВОТНЫХ С ДАТИРОВАННЫМ СРОКОМ БЕРЕМЕННОСТИ.

**ЦЕЛЬ:** освоить методику получения животных с датированным сроком беременности.

#### Теоретические вопросы для обсуждения на занятии

1. Строение и свойства половых клеток лабораторных млекопитающих.
2. Методика получения животных с датированным сроком беременности.
3. Приготовление и анализ вагинального мазка, спаривание животных.

#### Значимость изучаемой темы

При проведении многих экспериментальных работ необходимо знать датированный срок беременности, что бы точно понимать стадию развития эмбриона. При этом широкое распространение получил именно метод вагинальных мазков.

#### Задание

1. Промископировать препараты мазков спермы мыши, крысы, хомячка. Выявить морфологические отличия сперматозоидов лабораторных животных.
2. Провести анализ предложенных вагинальных мазков лабораторных животных и определить стадию эстрального цикла.
3. Осуществить подсадку животного. Взять вагинальный мазок (через время определенное методикой). Определить наступила ли беременность.

## ЗАНЯТИЕ №3

### МАНИПУЛЯЦИИ С ЭМБРИОНАМИ И КЛЕТКАМИ.

**ЦЕЛЬ:** получить представления о основных манипуляциях с эмбриональным материалом.

#### Теоретические вопросы для обсуждения на занятии

1. Правила забоя лабораторного животного.
2. Манипуляции с зародышем до стадии имплантации.
3. Извлечение эмбрионов и определение стадии их развития.
4. Выделение тканей или частей эмбриона.
5. Ферментативное разделение тканей.
6. Культивирование изолированных тканей и фракций

#### Значимость изучаемой темы

Не зависимо от целей эмбриологического исследования существуют общие схемы и правила работы с эмбриональным материалом. В первую очередь это касается методов извлечения самого эмбриона (зародыша) ввиду его внутриутробного развития, а так же способов выделения и культивирования тканей.

#### **Задание**

1. Произведите забой лабораторного животного (срок беременности 4 суток);
2. Отпрепарируйте яйцеводы с маткой и согласно методике произведите забор эмбриологического материала на стадии морулы.
3. Согласно методике удалите блестящую оболочку и произведите диссоциацию клеток с последующим их культивированием.
4. Произведите забой лабораторного животного (срок беременности более 14 суток);
5. Согласно методике извлеките эмбрионы и определите стадию их развития.

## ЗАНЯТИЕ № 4

### ОСОБЕННОСТИ ОПИСАТЕЛЬНОГО И СРАВНИТЕЛЬНО-ЭМБРИОЛОГИЧЕСКОГО МЕТОДОВ В ЭМБРИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

**ЦЕЛЬ:** ознакомиться с описательным и сравнительно-эмбриологическим методами в эмбриологических исследованиях.

#### Теоретические вопросы для обсуждения на занятии

1. Особенности приготовления гистологических препаратов эмбриологического материала.
2. Описание гистологических препаратов эмбрионов лабораторных млекопитающих на разных стадиях развития.
3. Сравнительный анализ органогенеза мочевыделительной системы у лабораторных млекопитающих.

#### Значимость темы

Не смотря на длительную историю эмбриологических исследований описательный метод не утратил своей актуальности. Изучение особенностей морфогенеза органических систем чаще всего базируется на анализе и описании гистологических препаратов.

#### Задание

1. Отработайте методику приготовления серийных срезов.
2. Проведите микроскопическую диагностику гистологических препаратов эмбрионов крыс/хомячков на разных стадиях развития.
3. На основе микроскопической картины опишите этапы формирования почки у крыс/хомячков.

## ЗАНЯТИЕ № 5

### РОЛЬ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ПРИ ЭМБРИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ.

**ЦЕЛЬ:** изучить применение иммуногистохимических методов при эмбриологических исследованиях.

#### Теоретические вопросы для обсуждения на занятии

1. Роль иммуногистохимических методов в изучении гисто и органогенезов.
2. Методы выявления комплекса антиген-антитело на гистологических препаратах.

### 3. Методы иммуноферментной окраски. Особенности флуоресцентной микроскопии.

#### Значимость изучаемой темы

**Имуногистохимия** – метод морфологической диагностики, в основе которого лежит визуализация и оценка с помощью микроскопа результатов реакции антиген-антитело в срезах ткани. Этот метод применяется в частности для изучения процессов дифференцировки клеток, выявления в них специфических химических соединений и структур, и позволяет получать информацию о функциональном состоянии клетки, ее взаимодействии с микросредой, устанавливать фенотип и принадлежность клетки к определенной ткани. Так, исследование содержания в клетке анти- и проапоптотических факторов позволяет судить о состоянии системы апоптоза в клетке. Изучение рецепторного аппарата дает возможность глубже понять межклеточные взаимоотношения.

#### Задание

1. Провести иммуногистохимическую реакцию на парафиновых срезах.

### **ЗАНЯТИЕ № 6**

#### **МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРЕНАТАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ ЧЕЛОВЕКА**

**ЦЕЛЬ:** получить представления о методах исследования пренатального развития человека.

#### Теоретические вопросы для обсуждения на занятии

1. Этические и правовые нормы использования эмбриологического материала человека в научных целях.
2. Метод экстракорпорального оплодотворения: получение яйцеклеток, получение спермы, оплодотворение *in vitro*, перенос эмбриона в матку, дополнительные мероприятия при культивировании эмбрионов.

#### Значимость изучаемой темы

Новейшим достижением экспериментальной эмбриологии явилась разработка метода экстракорпорального оплодотворения. Пересадка зародышей, зачатых в пробирке, в матку составляет основу лечения бесплодия. В 1973 г. Л. Шеттлз (США) извлек преовуляторную яйцеклетку из яичника бесплодной женщины и оплодотворил ее сперматозоидами мужа. Так было положено начало технике пересадки зародышей человека с целью лечения бесплодия. Однако только в 1978 г. в Великобритании в результате успешной пересадки в матку бесплодной

женщины зародыша человека на стадии 8 бластомеров после 2,5 суток культивирования появился первый в мире "пробирочный" ребенок массой 2700 г.

На сегодняшний день метод экстракорпорального оплодотворения является эффективной технологией репродуктивной медицины, но требует строго соблюдения технологии и большого практического опыта.

### **Задание**

1. По результатам теоретической подготовки и ознакомительного посещения перинатального центра Окружной клинической больницы ХМАО-Югры написать литературный обзор по теме «проблемы применения метода ЭКО».

## Список основной и дополнительной литературы

### Основная литература:

1. Гистология, цитология и эмбриология: учеб. / Ю.И.Афанасьев, Н.А.Юрина, Е.Ф.Котовский и др. / под ред. Ю.И.Афанасьева, Н.А.Юриной. - 6-е изд., перераб.и доп. - М.: Гэотар-Медиа, 2012. - 800 с.: ил. Уч.Рек.

### Дополнительная литература:

1. <http://www.studmedlib.ru/ru/book/ISBN9785970430804.html?>  
Terminologia Embryologica. Международные термины по эмбриологии человека с официальным списком русских эквивалентов / под ред. Л. Л. Колесникова, Н. Н. Шевлюка, Л. М. Ерофеевой. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014.