

Světelná a elektronová mikroskopie

V histologii studujeme vnitřní stavbu buněk, tkání a orgánů lidského těla buď pomocí **světelného mikroskopu (SM)**, v tom případě mluvíme o mikroskopické struktuře, nebo pomocí **elektronového mikroskopu (EM)**, pak mluvíme o ultrastruktuře nebo o submikroskopické stavbě. Dále rozlišujeme dva druhy EM. **Transmisní, prozařovací (TEM)**, kterým vyšetřujeme vnitřní stavbu buněk a tkání a **raastrovací (REM)**, v anglické literatuře SEM (scanning electron microscope), který slouží ke studiu volných povrchů (epitely s mikrokly a ciliemi) a je vhodný i pro uměle vytvořené povrchy (lom kosti, povrch zubní skloviny).

Tyto mikroskopy mají značně rozdílný rozsah zvětšení a rozlišovací schopnost, jak uvádí následující tabulka.

MIKROSKOP	Maximální zvětšení	Rozlišovací schopnost
SVĚTELNÝ SM	1 000 x	0,2 μm
ELEKTRONOVÝ TRANSMISNÍ TEM	1 000 000 x	0,2 nm
ELEKTRONOVÝ RASTROVACÍ REM	50 000 x	8 – 10 nm

Tab. 1: Srovnání fyzikálních parametrů světelného mikroskopu a obou typů elektronových mikroskopů:

Kritickým faktorem získání dobrého mikroskopického obrazu je **rozlišovací schopnost**. Definujeme ji jako nejmenší vzdálenost mezi dvěma objekty, při které je ještě dokážeme rozlišit jako samostatné útvary. Rozlišovací schopnost nejlepších světelných mikroskopů se pohybuje okolo 0,2 μm, což poskytuje dobrý obraz při zvětšení 1000 až 1500krát. Kvalita obrazu – jeho jasnost a bohatství detailů – je tedy dána rozlišovací schopností mikroskopu. Zvětšení je na rozlišovací schopnosti sice nezávislé, avšak samo o sobě je bezcenné, není-li doprovázeno dostatečným rozlišením. Rozlišovací schopnost mikroskopu závisí především na čočce objektivu.

Elektronová je založena na interakci elektronů s tkáňovými složkami. Elektronový mikroskop je zobrazovací systém, který umožňuje vysoké rozlišení (0,1 nm). V praxi se považuje rozlišení 1 nm ve tkáňových řezech za zcela dostatečné. To umožňuje zvětšení (400krát) větší než v SM. TEM slouží

k prohlížení preparátů v procházejícím proudu elektronů. Elektrony se mohou pohybovat pouze ve vakuu. Preparáty k prohlížení musí být bezvodé a mnohonásobně tenčí než řezy pro SM. Proto se používají tzv. ultratenké řezy. REM umožňuje získat zdánlivě trojrozměrný obraz povrchů buněk, tkání a orgánů. Na každé místo povrchu (řádek po řádku) je systematicky zaměřen pohybující se úzký svazek elektronů o průměru kolem 10 nm. Ve výsledku vzniká velmi názorný plastický obraz studovaného povrchu, který má téměř neomezenou hloubku ostrosti. Obraz poskytuje velmi dobrou prostorovou orientaci povrchových struktur, poněvadž vzorek můžeme během pozorování naklánět a rotovat všemi směry. Rozsah zvětšení je velmi široký (od 30x do 300 000x). Můžeme pozorovat velké preparáty (o hraně několika mm) při malém zvětšení i detaily na povrchu buněk. Pro studium nejmenších buněčných ultrastruktur však vhodný není, protože rozlišovací schopnost je asi 30x menší než u TEM.



Obr. 1: Světelný mikroskop

http://www.emssales.net/store/cart.php?m=product_detail&slug=olympus-cx22-microscope



Obr. 2: Transmisní elektronový mikroskop

<http://quickr.cz/clanek/189-mikroskopicky-hmyz-podcockou-hypermoderniho-elektronoveho-mikroskopu>

Zdroje:

Malínský J., Lichnovský V., Michalíkova Z. Přehled histologie člověka v obrazech. I. díl. Univerzita Palackého v Olomouci, Olomouc 2007, 153 s. ISBN 978-80-244-1769-1

Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Základy histologie. 1. české vydání. Přeložil prof. MUDr. Richard Jelínek, DrSc., H&H nakladatelství, Praha 1997