

Шабалова И.П., Полонская Н.Ю.

ОСНОВЫ КЛИНИЧЕСКОЙ ЦИТОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ

Год издания 2010

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	3
Модуль 1 Клиническая цитология как метод морфологического анализа.....	4
Модуль 2 Основы общей цитологии.....	5
2.1 КЛЕТОЧНАЯ ТЕОРИЯ.....	6
2.2 СТРОЕНИЕ КЛЕТКИ.....	6
2.3 ДЕЛЕНИЕ КЛЕТКИ.....	13
2.4 ПЛОИДНОСТЬ.....	15
2.5 ЖИЗНЕННЫЙ ЦИКЛ КЛЕТКИ.....	16
2.6 МЕЖКЛЕТОЧНОЕ ВЕЩЕСТВО.....	18
2.7 ЖИДКОСТИ ОРГАНИЗМА.....	18
2.8 ФУНКЦИИ КЛЕТОК.....	19
Модуль 3 Понятие о тканях. Общие принципы классификации тканей.....	26
Модуль 4 Общепатологические процессы в цитологии.....	28
Модуль 5 Организация работы цитологической лаборатории.....	31
5.1 МЕТОДЫ ПРИГОТОВЛЕНИЯ И ОКРАШИВАНИЯ ПРЕПАРАТОВ.....	31
Модуль 6 Критерии цитологической диагностики.....	36
Модуль 7 Цитологическое исследование некоторых органов.....	38
ОТВЕТЫ.....	42
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	44
ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ИЛЛЮСТРАЦИИ.....	44

ВВЕДЕНИЕ

Для успешного лечения заболеваний необходимо точно установить клинический диагноз, что, как правило, невозможно без морфологического анализа. Цитологическое исследование, основанное на изучении клеток, отличаясь относительной простотой и малой травматичностью, широко используется в диагностике заболеваний и, наряду с гистологическим, является полноценным методом морфологической верификации диагноза. Цель настоящего пособия - изложение основ цитологического исследования. Цитологическая диагностика является одной из наиболее перспективных и быстро развивающихся дисциплин. Вместе с тем цитологическое исследование так же, как и другие диагностические методы, имеет определенные ограничения, которые могут зависеть от способа получения материала, локализации патологического очага, особенностей его гистологического строения, способности специалиста правильно идентифицировать клеточный состав препарата и интерпретировать картину. В цитологической диагностике важная роль принадлежит специалистам среднего звена, в том числе лаборантам и цитотехно-логам. Они должны владеть методиками приготовления, фиксации и окрашивания препаратов, а также уметь провести микроскопическое исследование, первичный осмотр цитологических мазков, определять норму, неопухолевые поражения и выявлять более серьезные изменения в препаратах, дальнейшую дифференциальную диагностику по которым осуществляет врач. Настоящее пособие составлено с учетом необходимых для специалиста среднего звена знаний, умений и навыков по цитологическому исследованию.

Модуль 1

Клиническая цитология как метод морфологического анализа.

Несравненные преимущества перед другими методами имеет цитологическое исследование в выявлении рака начальных стадий. Развитие эндоскопической техники, ультразвуковых методов исследования в немалой степени способствовало широкому внедрению цитологического анализа в диагностике новообразований практически из всех тканей организма, в том числе и из внутренних органов, ранее недоступных внеоперационному морфологическому анализу. Свидетельством этому является цитологическая диагностика рака желудка, легкого, мочевого пузыря и других органов при отсутствии клинических, рентгенологических и эндоскопических проявлений, еще до появления обнаруживаемых этими методами признаков.

Такой высокий уровень диагностики позволяет использовать в работе принятые международные морфологические классификации, что чрезвычайно важно, более того, способствует разработке соответствующих цитологических классификаций.

В настоящее время успехи в обеспечении здоровья населения во многом зависят от проведения массовых профилактических осмотров и, в первую очередь, групп с повышенным риском различных заболеваний, особенно злокачественных новообразований. Проведение эффективных массовых профилактических осмотров, как показывает наш опыт и опыт многих стран, невозможно без использования цитологического метода, получившего полное признание и широкое распространение. Ранняя и своевременная диагностика опухолей организационно складывается из двух этапов:

1. Массовое обследование населения (скрининг всей популяции или только групп повышенного риска) для выявления опухолей или признаков, не позволяющих исключить опухоль.

2. Уточняющая диагностика в отобранных во время скрининга случаях, в сравнительно небольших группах.

На 1-м этапе основным требованием к цитологическому исследованию как скрининг-тесту является высокая чувствительность (т.е. высокая частота обнаружения клеток опухоли у больных со злокачественными новообразованиями и низкое число так называемых «ложноотрицательных» результатов) при однократном исследовании материала. Цитологическое исследование мазков из шейки матки является высокоэффективным скрининг-тестом по раку этой локализации, ибо примерно в 10 раз повышает выявляемость опухолей по сравнению с визуальным обследованием; при этом значительно увеличивается относительная частота обнаружения рака в ранних и доклинических стадиях процесса.

На 2-м этапе ранней диагностики опухолей, наряду с необходимостью высокой чувствительности, к цитологическому методу предъявляется требование высокой специфичности (т.е. низкое число так называемых «ложноположительных» диагнозов злокачественного новообразования).

ВОПРОСЫ. МОДУЛЬ 1

1. Что такое цитология и клиническое цитологическое исследование?
2. Для чего используется клиническое цитологическое исследование?
3. Какие требования предъявляются к цитологическому исследованию при профилактических осмотрах и уточняющей диагностике?

Модуль 2

Основы общей цитологии

Цитология - наука о клетке. Без преувеличения можно утверждать, что успехи в разработке многих важных проблем биологии и медицины во многом зависят от уровня развития цитологии. Такие практически важные проблемы, как злокачественный рост, лучевые повреждения и многие другие, не могут решаться без углубленного цитологического анализа.

В связи с развитием и достижениями молекулярной биологии и генетики значительно изменились представления об организме человека и животных. Изучение организма на молекулярно-генетическом уровне идет постоянно, результаты этих исследований внедряются в медицинскую практику. В цитологической диагностике также активно и эффективно используются молекулярные исследования: иммуно-цитохимические, проточная цитометрия и другие методы. И чем больше мы узнаем о том, как устроено и как «работает» человеческое тело, тем понятнее становится, что это - непостижимое, великолепное создание, имеющее колоссальные компенсаторные возможности. Организм человека - целостная система, в которой все взаимосвязано, взаимообусловлено, поэтому нарушение функции какой-либо ее части нужно рассматривать как следствие нарушенного взаимодействия внутреннего мира человека с внешним.

Организм состоит из систем органов и тканей, которые в свою очередь состоят из клеток, межклеточных веществ и жидкостей.

Клетка - элементарная структурная и функциональная единица всех живых организмов.

Клетка обладает способностью приспосабливаться к условиям среды, видоизменяться и реагировать на различные факторы раздражения.

Клетки существуют как самостоятельные клетки-организмы (бактерии, простейшие) или входят в состав тканей многоклеточных организмов.

Клетки, соединяясь одна с другой, образуют кожный покров и стенки различных органов тела. Вытянутые, с удлинёнными окончаниями (до 1 м), они представляют собой «электрические провода», по которым передаются нервные импульсы. Благодаря клеткам тело человека двигается, питается, дышит, впитывает различную информацию и обменивается ею с другими организмами, выводит ненужные продукты обмена веществ, решает многие задачи, которые возникают в сознании человека и независимо от его сознания. Наконец, клетки служат живыми «транспортными средствами, защитниками и чистильщиками», циркулирующими в виде шариков в кровотоке, токе лимфы, других жидкостях, полостях. Их размеры колеблются от 0,01 мм у нервных клеток (нейронов) до 0,2 мм у яйцеклеток - самых крупных клеток человеческого организма.

Клетки составляют около 2/3 массы тела человека, остальной вес приходится на аморфное и волокнистое межклеточное вещество и жидкости. Если клетки человеческого организма (их около 220 млрд) расположить в один ряд, они вытянутся на 15 000 км! Это более чем 200 типов клеток; каждый из них великолепно приспособлен к выполнению определенных, присущих этому типу функций, в связи с чем клетки разных видов существенно различаются по форме, структурным и функциональным особенностям. Форма их может быть шарообразная, овальная, яйцевидная, цилиндрическая, ветвящаяся и извилистая или в виде подковы, звезды, шестигранника (рис. 2.1)¹.

В среднем, около 80% объема клетки составляет вода, 15% - белки, 3% - липиды, 1% - углеводы, 1% - нуклеиновые кислоты и минералы. Продолжительность существования разных клеток различна, так, например: нейронов и мышечных тканей - 100 лет и более, печени - 480 дней, эритроцитов - 120 дней; кишечника - 5 дней, т.е. скорость замещения

клеток кишечника - 1 млн в минуту, и каждые четыре дня появляется новый орган (за год мы изнашиваем 90 кишечника).

Для выживания клеток человека необходимо высокоспецифическое микроокружение, т.е. относительно узкие колебания пределов содержания минералов, воды, питательных веществ и других составляющих. В связи с этим в организме постоянно и незаметно работают энергетические и биохимические механизмы, позволяющие поддерживать на сравнительно постоянном уровне содержание различных веществ в окружении клеток.

Вместе с тем клетки всех типов характеризуются сходством общей организации и строения важнейших компонентов.

¹ Рисунки к данному изданию расположены на цветной вклейке.

2.1 КЛЕТочНАЯ ТЕОРИЯ

В 1839 г. Шлейден и Шванн независимо друг от друга сформулировали клеточную теорию, гласящую, что клетки представляют собой элементарные единицы, из которых построены все растения и все животные. Эта теория получила развитие в трудах Рудольфа Вирхова (1858 г.), который представил значение патологии клетки в патогенезе заболеваний, развив теорию «клеточного государства».

Основное положение клеточной теории - «*Omnis cellula e cellula*» - каждая клетка из клетки. Из этого следует, что:

1. Клетка является наименьшей единицей живого, все живые организмы состоят из одной или более клеток, через которые производится поглощение, превращение, депонирование и использование вещества и энергии, в которых хранится, перерабатывается и реализуется биологическая информация.

2. Клетки разных организмов сходны по своему строению.

3. Клетка может возникнуть только из другой клетки - размножение клеток происходит путем деления исходной клетки.

4. Многоклеточные организмы представляют собой сложные ансамбли клеток и их производных, объединенные в целостные системы тканей и органов, подчиненные и связанные между собой межклеточными, гуморальными и нервными формами регуляции.

2.2 СТРОЕНИЕ КЛЕТКИ

Клетка живых организмов имеет довольно сложную организацию, и каждый ее компонент выполняет определенную функцию. Каждая клетка состоит из ядра и цитоплазмы, отделенных друг от друга и окружающей среды оболочками (мембранами) (рис. 2.2).

Цитоплазма

Цитоплазма - сложная коллоидная система, в которой осуществляются процессы обмена и поддерживается клеточный *гомеостаз* (постоянство внутренней среды). Эта коллоидная система способна изменять свое физико-химическое состояние, причем разные ее участки могут находиться либо в жидком, либо в плотном состоянии со всеми переходами между ними, и содержит она:

- цитозоль;
- органеллы (мини-органы);
- рибосомы;
- сложную сеть филаментов и трубочек (цитоскелет);

- включения.

Цитоплазма отделена от внешней среды клеточной мембраной (плазмолеммой).

Мембрана

Мембрана (клеточная оболочка, плазмолемма) образует поверхность клетки; это хорошо укрепленная стена, через которую осуществляется обмен веществ с окружающей средой и соседними клетками; благодаря избирательной проницаемости поддерживается постоянство внутренней среды. На этой стене имеются «сторожа, часовые» - рецепторы, позволяющие отличать «своих» от «чужих», защищать клетку и сигнализировать «управляющим органам» - мозгу, эндокринной системе о происходящих неполадках.

Функции мембраны:

- 1) защитная, барьерная;
- 2) транспорт веществ в цитоплазму и из нее;
- 3) взаимодействие с так называемыми «сигнальными» молекулами;
- 4) распознавание данной клеткой других клеток и межклеточного вещества;
- 5) движение клеток.

Клеточная мембрана состоит из двойного липидного слоя, с которым связаны молекулы белков. Наружная поверхность мембраны покрыта слоем гликокаликса, который образован углеводными ветвящимися цепочками, соединенными с липидами и белками. Одни белки мембраны являются рецепторами, другие - ферментами, третьи - переносчиками различных веществ, обеспечивая дороги для транспорта и регулируя движение потоков различных материалов в клетку и из нее. Часть мембранных белков (интегральные белки) проходит через всю толщу мембраны, другие белки (периферические, или внешние) лежат во внутреннем или наружном слоях. В плазматической мембране есть многочисленные отверстия - поры, через которые внутрь клетки могут проникать ионы и молекулы (рис. 2.3).

Процесс поступления ионов и молекул в клетку - это активная работа, требующая затрат энергии. Транспорт веществ носит избирательный характер - клеточная мембрана проницаема для одних веществ и непроницаема для других. Химические соединения и твердые частицы также могут проникать в клетку путем пино- и фагоцитоза: мембрана образует выпячивания, края выпячиваний смыкаются, захватывая межклеточную жидкость (пиноцитоз) или твердые частицы (фагоцитоз).

Связи между соседними клетками осуществляются за счет многочисленных складок и выростов. На свободных поверхностях некоторых клеток формируются специфические структуры, например такие как щеточная кайма (в клетках кишечника), которая способствует активному всасыванию различных веществ, реснички (в клетках бронхиального дерева, маточных труб и др.), подталкивающие и таким образом передвигающие различные вещества и отдельные клетки.

Цитозоль (гиалоплазма)

Основное вещество цитоплазмы (матрикс, внутренняя среда) называют цитозолем или гиалоплазмой. Гиалоплазма имеет вид однородного стекловидного вещества, содержащего воду, белки, липиды, нуклеиновые кислоты, продукты их обмена, много ферментов (энзимов) - катализаторов в неорганической химии, неорганические вещества.

Органеллы (мини-органы)

Органеллы - субклеточные единицы, которые ограничены мембранами и отделяются при центрифугировании на высокой скорости. Это постоянные компоненты цитоплазмы, необходимые для обеспечения жизнедеятельности клетки. Большинство органелл клеток

можно рассмотреть только при помощи электронной микроскопии. В современной литературе к органеллам относят ядро, клеточный центр, митохондрии, комплекс Гольджи, эндоплазматическую сеть (ретику-лум), лизосомы, пероксисомы (рис. 2.4).

Ядро

Ядро является важнейшим компонентом клетки, содержащим ее генетический аппарат (гены, ДНК, хромосомы). Ядро регулирует жизнедеятельность и репродукцию клетки.

Функции ядра:

- 1) хранение генетической информации (в молекулах ДНК, находящихся в хромосомах);
- 2) реализация генетической информации (контроль разнообразных процессов в клетке);
- 3) воспроизведение и передача генетической информации (при делении клетки).

Обычно в клетке имеется только одно ядро, но встречаются двух- и многоядерные клетки, которые образуются вследствие деления клеток, не сопровождающегося делением цитоплазмы (цитотомией), или слияния нескольких одноядерных клеток. Располагается ядро ближе к центру клетки или на одном из полюсов (эксцентрически). Ядро в большинстве клеток округлое, иногда эллипсоидное; оно может быть оттеснено к периферии и иметь форму линзы (секретирующие клетки, где цитоплазма заполнена секретом). В некоторых клетках оно неправильной многолопастной формы (моноциты, нейтрофильные лейкоциты).

Размеры ядра зависят от типа клетки. В клетках млекопитающих размер большинства ядер равен 4-6 мкм. Соотношения объемов ядра и цитоплазмы - относительно постоянная величина для каждого типа клеток.

В ядре различают: двойную ядерную мембрану, хроматин, кариосомы (хромоцентры) - частицы, аналогичные хроматину, но более мелкие и расположенные между его нитями, ядерный сок (кариоплазму, нуклеоплазму) и ядрышки.

Ядерная оболочка (кариолема) на светооптическом уровне не всегда хорошо видна; под электронным микроскопом обнаруживается, что она состоит из двух мембран - наружной и внутренней. Наружная мембрана составляет единое целое с мембранами гранулярной эндоплазматической сети - на ее поверхности имеются рибосомы. Ядерная оболочка в клетках животных содержит множество пор, через которые в ядро из цитоплазмы поступают синтезированные белки, в обратном направлении переносятся молекулы РНК.

Хроматин (от греч. *chroma* - цвет) - особым образом расположенная нить из комплекса ДНК и белка, пребывающая в таком состоянии в период между делениями клетки.

Нуклеиновые кислоты. Молекулы ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота) и РНК(рибонуклеиновая кислота) - самые крупные из природных полимеров. Молекулы нуклеиновых кислот состоят из двух неветвящихся длинных цепей, скрученных в спираль (рис. 2.5). Каждая цепь представляет собой повторяющиеся единицы остатков сахаров (в ДНК - это 2-дезокси-D-рибоза, в РНК - D-рибоза) и фосфорной кислоты, от которых в виде ступенек винтовой лестницы, выступают азотистые основания. Азотистых оснований в молекуле нуклеиновой кислоты всего четыре (в ДНК - аденин, тимин, цитозин, гуанин, в РНК - вместо тимина - урацил), причем они соединяются в цепи таким образом, что аденин одной цепи всегда соединяется с тимином (в ДНК) или урацилом (в РНК) другой, а цитозин одной цепи - с гуанином другой. Таким образом, цепи удерживаются

относительно друг друга за счет связей между комплементарными азотистыми основаниями *аденин-тимин* и *гуанин-цитозин*, т.е. цепи не идентичны, а комплементарны друг другу. В свою очередь спирали ДНК закручены в крошечные «комочки», расположенные в ядре определенным образом. Если всю ДНК одной клетки человека вытянуть в линию, она расположится на расстоянии около 1,74 м; если расправить нити ДНК, содержащиеся почти в каждой клетке и представляющие собой «микрофильмы», обладающие генетической информацией о каждом индивидууме, и соединить их концы, то получится расстояние от Земли до Солнца (т.е. 150 млн. км). Эти «комочки» имеют участки, которые способны «работать», т.е. с них может считываться информация о последовательности расположения аминокислот в будущих белках. Для каждой из примерно 20 аминокислот, из которых должны строиться белки, существуют трехбуквенные кодовые «слова» (триплеты) из четырех азотистых оснований (аденин-тимин, цитозин-гуанин). В нити ДНК в каждой клетке есть другие участки, в которых ДНК «скомкана, скручена» и информация с этих участков считываться не может.

Участки ДНК, несущие определенную информацию о том, какой белок необходимо строить, называют генами, каждый из которых имеет данные об определенном белке и, таким образом, о том или ином признаке - от строения тех или иных клеток, до внешних признаков тела (цвет кожи, глаз, волос, форма носа, тембр голоса и пр.). За редким исключением, каждая клетка организма человека содержит абсолютно одинаковый набор генов (около 30 000). Большое разнообразие клеток связано с тем, что в различных их типах имеется различная комбинация экспрессируемых (проявляющих свои свойства) генов. Хроматин в результате конденсации и сжатия во время клеточного деления превращается в тельца, которые мы называем хромосомы, представляющие собой несколько удлинённых молекул ДНК. Вдоль каждой хромосомы располагаются тысячи генов, ответственных за наследственность, передачу генных признаков от родителей к детям. Число, размер и форма хромосом характерны для каждого вида. Изучение хромосом позволило установить, что:

- 1) во всех соматических клетках любого организма число хромосом одинаково;
- 2) половые клетки всегда содержат вдвое меньше хромосом, чем соматические клетки данного вида организма.

В каждой соматической клетке нашего тела имеется 23 пары хромосом.

Хромосомы содержат разнообразные белки, связанные с определенными последовательностями ДНК. Гистоны - это белки небольшого размера, прочно связанные с ДНК. Негистоновые белки - это разные типы регуляторных белков, а также ферменты, участвующие в биосинтезе.

Первичная структура РНК - это порядок чередования нуклеотидов (рибоз). Различают тРНК (транспортную), мРНК (матричную) и рРНК (рибосомную); все типы РНК имеют одну полипептидную цепь. Отдельные участки цепи РНК образуют спирализованные петли - «шпильки» между комплементарными азотистыми основаниями *аденин-урацил*, *гуанин-цитозин*.

Различают два вида хроматина - эухроматин и гетерохроматин (от греч. эу - хороший и гетеро - другой).

Эухроматин соответствует сегментам хромосом, которые открыты для считывания. Эти сегменты не окрашиваются и не видны в световой микроскоп. Гетерохроматин соответствует плотно скрученным сегментам хромосом (недоступным для считывания) и интенсивно окрашивается основными красителями. Хроматин или, точнее, содержащаяся в нем ДНК, окрашивается также весьма характерным образом при использовании реакции Фельгена.

Ядерный сок - жидкий компонент ядра, в котором располагаются хроматин и ядрышко.

Ядрышко - составная часть ядра клетки, представляющая собой оптически плотное, сильно преломляющее свет тельце. Это зона синтеза и накопления рибосомных РНК, которые затем транспортируются в цитоплазму. Ядрышко никогда не имеет мембраны, оно окружено слоем конденсированного хроматина (гетерохроматина). Тип ядрышка зависит от типа клетки и ее метаболического состояния: более крупные и плотные ядрышки характерны для клеток, отличающихся высокой активностью, а именно для интенсивно делящихся эмбриональных клеток и для клеток, осуществляющих синтез белка. В клетках реактивно измененных тканей значительно увеличиваются количество и размер ядрышек.

Форма, размеры ядра, характер распределения хроматина в нем имеют большое значение при определении на основании микроскопического исследования (цитологического и гистологического) принадлежности клетки к тому или иному виду или к той или иной стадии развития, при диагностике различных реактивных состояний. Структура хроматина - очень важный показатель нормального или патологического состояния клетки. Особенно сильно меняется характер ядра при предопухолевых состояниях и злокачественных новообразованиях.

Клеточный центр

Клеточный центр играет важную роль в делении клеток. Он образован двумя центриолями (хромофильными тельцами), расположенными во взаимно перпендикулярных плоскостях. Каждая центриоль состоит из 9 триплетов микротрубочек, расположенных в строгом геометрическом порядке. От центриолей начинает образовываться веретено деления, благодаря которому хромосомы в четком порядке расходятся по полюсам делящейся клетки (см. раздел «Деление клетки» рис. 2.12).

Митохондрии

Митохондрии - клеточная энергетическая система (энергетическая станция).

Функции. В митохондриях происходят одновременно дыхание и фосфорилирование, окисление и накопление энергии. Энергия, содержащаяся в питательных веществах, захватывается и хранится с помощью формирования молекул АТФ. АТФ в свою очередь работает как энергетическая «валюта» для работы клетки - поддержания энергии для движения, секреции, синтеза сложных структур. За счет этого митохондрии принимают участие в самой разнообразной функциональной деятельности: секреции, накоплении жира, гликогена, синтезе стероидов, в тех изменениях, которые вызваны влиянием пищи (в печени), резорбции (в почках) или в общем обмене веществ.

Структура. Митохондрии имеют эллиптическую, сферическую, палочковидную и другие формы; размеры их составляют 0,2-2,0 мкм. Они обладают оболочкой, состоящей из двух плотных мембран: наружной и внутренней. От внутренней мембраны оболочки отходят внутренние складки - кристы или гребни, которые образуют внутри митохондрии более или менее плотные перегородки, чаще поперечные или косые. Именно на внутренней мембране за счет окисления органических молекул происходит синтез АТФ. Митохондрии - самовоспроизводящиеся структуры с собственным геномом (митохондриальная ДНК кольцевидной формы и состоит из 37 генов) (рис. 2.6).

Эндоплазматическая сеть (ЭПС) (ретикулум)

Эндоплазматическая сеть - это фабрика клетки, т.е. обширная система трубочек (микрочанальцев), уплощенных мешков, образованных мембранами, пузырьков и полостей (цистерн) крайне разнообразных с морфологической точки зрения, но строго правильной структуры.

Эндоплазматическая сеть представляет собой единую структуру, всегда присутствующую в цитоплазме клетки. Деятельность ЭПС сводится в основном к двум функциям:

- 1) синтез углеводов, липидов и белков;
- 2) передвижение и циркуляция последних в клетке.

Значение ЭПС может существенно меняться в зависимости от физиологических условий, это весьма динамичная система, и ее элементы разнообразны в различных клетках. Толщина мембран ЭПС колеблется от 4 до 7,5 нм, размер полостей - от 50 нм (каналы) до 70 нм (цистерны). В зависимости от присутствия или отсутствия рибосом эндоплазматическая сеть может быть шероховатой (гранулярной, грубой) или гладкой (агранулярной). Гранулярная (шероховатая) ЭПС имеет зернистый вид в связи с тем, что на ее внешней поверхности располагаются частицы рибосом. Гранулярная ЭПС - места синтеза белков для: органелл, компонентов клеточной мембраны, секретов клетки (например, гормонов). Гладкая (агранулярная) ЭПС, в отличие от шероховатой, лишена рибосом. В основном она вовлечена в метаболизм липидов, дезинтоксикацию лекарств, дезактивацию стероидных гормонов. В мышечных тканях гладкая ЭПС (называемая саркоплазматическим ретикуломом) содержит большое количество кальция. Шероховатые участки ЭПС имеют большую или меньшую протяженность; они чередуются с гладкими участками (рис. 2.7).

Рибосомы обеспечивают образование белка, которое осуществляется на их поверхности и необходимо для роста клетки.

Это плотные сферические образования (15-30 нм) без мембраны, состоящие из большой и малой субъединиц, обеспечивающие синтез белка путем соединения аминокислот в полипептидные цепочки. Синтез белка рибосомой начинается со связывания ее с иРНК (информационная РНК), далее рибосома передвигается вдоль цепи иРНК не плавно, а прерывисто, триплет за триплетом.

Часть рибосом прикреплена к мембране ядра, но есть и свободные рибосомы и системы рибосом, связанные с эндоплазматической сетью, которые во время синтеза белка объединяются в полисомы, полирибосомы (рис. 2.8).

Комплекс (аппарат) Гольджи

Аппарат Гольджи описан как околядерная сетка, иногда имеющая вид палочек или дисков.

Структура и функции. Комплекс Гольджи можно представить как устройство для упаковки различных веществ для их удобной транспортировки.

Это система гладких мембран, 5-10 плоских дисков, которые располагаются друг на друге, как блины. Они формируют уплощенные мешки, пластины, заполненные жидкостью. В них различают основной элемент - цистерну и несколько диктиосом, или скоплений цистерн (рис. 2.9). Эти диктиосомы разъединяются и распределяются равномерно в период деления клетки. Комплекс Гольджи занимается переработкой различных веществ для того, чтобы их было удобно упаковать; сортирует их, «раскладывает по пакетам» для распределения в другие органеллы или выведения из клетки. Вследствие этого вокруг комплекса Гольджи всегда расположено множество разного рода маленьких пузырьков, окруженных мембраной, и несколько крупных вакуолей, образующих зону расширения. Вероятно, это пузырьки, которые переносят материал между комплексом Гольджи и другими участками клетки (так, например, пузырьки с белками от гранулярной эндоплазматической сети) или между комплексом Гольджи и клеточной мембраной. Комплекс Гольджи связан с основными обменными функциями:

- накоплением и конденсацией вырабатываемых ЭПС продуктов секреции;
- транспортом белков;
- обеспечением новообразованных гранул мембранами;
- синтезом полисахаридов и гликопротеинов.

Комплекс Гольджи связан с функциями, которые касаются секреторной активности, в нем накапливаются различные параплазма-тические образования (гранулы секрета, желтка, липидов, акросомы спермиев, гемицеллюлоза клеточной стенки и др.) (рис. 2.10).

Лизосомы

Лизосомы - это «желудок и кишечник» клетки - цитоплазма-тические структуры, которые образуются из пузырьков комплекса Гольджи.

Структура и функции. Лизосомы - пузырьки, содержащие несколько гидролитических ферментов (энзимов), от действия которых сама клетка защищена ограничивающей лизосомы мембраной. Внутренняя часть мембраны (микус) выстлана толстым слоем полисахаридов, которые препятствуют тому, чтобы эти ферменты разрушили собственный клеточный материал. Ферменты позволяют им переварить различные натуральные частицы, поврежденные органеллы, бактерии, попавшие в клетку через эндоцитоз. Лизосомы начинают функционировать, когда в клетку поступают вещества в результате эндоцитоза (пиноцитоза, фагоцитоза) (рис. 2.11).

Пузырьки, окруженные мембраной, которые путешествуют от мембраны и к мембране клетки - это важные переносчики белков в клетку и из клетки.

Экзоцитоз (секреция) - это вырост и слияние мембраны пузырька с мембраной клетки, что позволяет пузырьку (его содержимому) сек-ретироваться наружу клетки.

Эндоцитоз (пиноцитоз, фагоцитоз) - обратное состояние: мембрана втягивается и заглатывает неклеточный материал. Образовавшийся пузырек, окруженный мембраной и содержащий определенный материал, встраивается в клетку.

Лизосомы сливаются с мембраной, окружающей захваченный материал, и гидролитические ферменты активно воздействуют на субстрат, подлежащий перевариванию. В зависимости от функционального состояния различают первичные лизосомы, вторичные лизосомы, остаточные тельца. Первичные лизосомы представляют собой гранулы, состоящие из однослойной мембраны и содержащие кислые гидролазы. Вторичные лизосомы образуются при слиянии первичных с пиноцитоз-ными пузырьками и фагосомами (пищеварительными вакуолями) или с разрушенными отмирающими структурами. Остаточные тельца (тело-лизосомы) - остатки пищеварительных или аутофагирующих вакуолей после завершения в них процессов пищеварения или аутолиза.

Пероксисомы

Пероксисомы - одиночные органеллы, которые, наряду с митохондриями, служат основным местом использования кислорода. В этих органеллах содержится около 50 ферментов. В них много оксидаз, которые производят перекись водорода, а также содержатся первые два фермента, участвующие в синтезе плазмалогенов (плазмалогены - фосфолипиды, составляющие примерно 19% от фосфолипидов организма, в частности, они в высоких концентрациях находятся в мозге и сердце), ферменты, участвующие в расщеплении жирных кислот, обезвреживании поглощенного алкоголя в гепатоцитах и т.д.

Размножение пероксисом в клетках считают адаптивным ответом клеток на такие воздействия внешней среды, при которых для роста и выживания нужны ферменты, вырабатываемые этими органеллами (возможно, в клетках это что-то вроде «скорой помощи»).

Включения

Включения - временные компоненты цитоплазмы, появляющиеся в процессе жизнедеятельности клетки (вакуоли, гранулы и др.). Это трофические (питательные) (белки, липиды, гликоген, пигменты), секреторные (секреторные гранулы клеток различных желез) включения, связанные со специфическими функциями некоторых клеток (лейкоцитов, меланоцитов, тучных клеток и др.). В зависимости от физического состояния различают плотные включения (гранулы) и включения с жидким содержимым (вакуоли). Гранулы и вакуоли видны при световой микроскопии, и их присутствие позволяет идентифицировать некоторые клетки (меланоциты, клетки, секретирующие слизь, макрофаги с гемосидерином и пр.).

Цитоскелет

Цитоскелет - это опорный аппарат (кости и мышцы клетки), основа движения всей клетки и ее органелл. Он состоит из стрелок (пучков) белковых филаментов (нитей), формирующих сеть в цитозоле, придающую клетке ее форму. Основные типы цитоскелета:

- микротрубочки;
- филаменты актина;
- промежуточные филаменты.

Эти образования связаны с цитоплазматической мембраной и ядерной оболочкой, образуют сложные переплетения в цитоплазме, определяя форму клетки и обеспечивая движение внутриклеточных структур и перемещение всей клетки.

2.3 ДЕЛЕНИЕ КЛЕТКИ

Митоз и мейоз

Митоз - одно из центральных явлений жизни. В митозе слиты два процесса: предшествующий митозу (необходимый для него синтез ДНК) и митоз в собственном смысле слова. Этот процесс состоит из деления ядра (кариокинеза) и деления цитоплазмы (цитокинеза). Карио- и цитокинез тесно связаны между собой. В делении ядра участвуют два вида структур. К первой группе относятся структуры, связанные с цитоплазмой, образующие ахроматиновый аппарат митоза (его элементы окрашены слабее). Вторая группа структур связана с основным элементом ядра - хроматином. Он образует хроматиновую структуру митоза, основой которой являются хромосомы, содержащие основное составляющее ядра - ДНК.

Во время митоза ядро перестраивается, замещается конденсированными хромосомами (митотическое ядро), но всегда возвращается к исходному состоянию после деления. В митозе выделяют 4 фазы: профазу (ядро округляется, оболочка его разрушается, кариоплазма и цитоплазма сливаются, хромосомы отделяются друг от друга из нити хроматина), метафазу (хромосомы перемещаются к экватору, образуются хроматиды), анафазу (разделение хроматид и расхождение их по разным полюсам клетки), телофазу (разделение тела клетки на две клетки) (рис. 2.12, 2.13).

Одна из особенностей деления животной клетки заключается в образовании структуры, называемой звездой. Она образуется из микротрубочек (центриолей), расходящихся в виде лучей от центрального участка клеточного центра - центросомы. По мере того как парные центриоли расходятся, между ними протягиваются микротрубоччатые веретена и в конечном счете образуется двухполюсное веретено со звездой на каждом полюсе. Митоз является лишь частью цикла размножения клеток. Во время интерфазы (периода между концом телофазы и началом следующей - профазы) осуществляется вся

подготовка к митозу и цитокинезу. Для того чтобы размеры клетки оставались достаточно постоянными, в период между двумя делениями как ядро, так и цитоплазма должны расти. Для их роста необходим синтез входящих в состав клетки веществ, которые должны быть распределены между дочерними клетками. Во время интерфазы происходит точная репликация ядерной ДНК и связанная с этим редупликация хромосом, в процессе которой вместо одной хроматиды возникают две хроматиды. Синтез ДНК происходит не на всем протяжении интерфазы, а занимает лишь определенный интервал, называемый S-периодом. Промежуток времени между окончанием телофазы и началом синтеза ДНК называют G₁-периодом, а промежуток между завершением синтеза ДНК и наступлением профазы - G₂-периодом (рис. 2.14).

Продолжительность всего клеточного цикла и составляющих его периодов G₁, S, G₂ и M (митоз) варьирует для клеток разного типа. Продолжительность клеточного цикла и составляющих его периодов можно определить с помощью радиоавтографии с использованием тимидина. Постоянство числа хромосом у каждого вида сохраняется из поколения в поколение. И, следовательно, у видов с половым размножением половые клетки (гаметы) должны содержать вдвое меньше хромосом, чем зигота (клетка, образующаяся при слиянии гамет) и другие клетки тела (аутосомные клетки), поскольку последние образуются в результате митотического деления. Уменьшение (редукция) числа хромосом происходит путем деления особого типа, называемого мей-озом (рис. 2.15) и состоящего в том, что ядро и цитоплазма делятся дважды, но хромосомы при этом реплицируют только один раз. Как яйцеклетка, так и сперматозоид человека содержат 23 хромосомы, а образовавшаяся в результате оплодотворения зигота имеет 46 хромосом. Кроме того, не все эти 46 хромосом отличаются друг от друга; из них можно составить 23 пары, причем члены каждой пары одинаковы по форме, размерам и генетическому содержанию (рис. 2.16). Хромосомы, составляющие каждую такую пару, называют гомологичными друг другу и негомологичными по отношению ко всем остальным хромосомам. В зиготе в каждую пару гомологов входит одна хромосома, полученная от сперматозоида, и одна - от яйцеклетки.

Методы изучения ДНК

Для выделения ДНК из тканей из гомогената удаляют фрагменты клеточных органелл и мембран с помощью центрифугирования. В процессе выделения ДНК из тканей она фрагментируется. Получаются молекулы ДНК значительно меньше исходных, но все равно очень крупные. Такие молекулы не удобны для исследований, и их приходится еще раз фрагментировать. Для фрагментирования используют рестриктазы - ферменты, выделяемые из бактерий.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР). Для проведения некоторых исследований необходимо большое количество хорошо очищенной высокомолекулярной ДНК. Метод ПЦР дает возможность избирательно синтезировать *in vitro* небольшие участки ДНК и получить за 3-4 ч несколько миллионов копий исследуемого фрагмента. Объектами для выделения ДНК могут быть кровь, биоптат ткани, слюна, моча, околоплодные воды и т.д.

Гибридизация. Для изучения видовой специфичности нуклеиновых кислот применяют метод гибридизации. Он основан на способности ДНК к денатурации при нагревании (80-90°C) и ренативации при последующем охлаждении. Методом гибридизации можно установить сходства и различия первичной структуры нуклеиновых кислот.

Биосинтез ДНК (репликация). Репликация - матричный процесс. Во время репликации каждая из 2 цепей ДНК служит матрицей для образования новой цепи. Молекула ДНК человека имеет очень большие размеры, репликация такой большой молекулы (скорость 50 нук-леотидов в минуту) шла бы в течение примерно 800 ч. Ввиду этого начало синтеза ДНК происходит в нескольких точках хромосомы, которые называются точками инициации репликации, или ориджи-нами (*origin*) репликации. По завершении

репликации образуются 2 молекулы двухспиральной ДНК, каждая из которых содержит одну материнскую и одну вновь синтезированную нить. В результате митоза они поступают в дочерние клетки. Таким образом, репликация обеспечивает воспроизведение генотипа в новых поколениях.

Биосинтез РНК (транскрипция). Синтез РНК на ДНК-матрице называется транскрипцией. Образованные первичные транскрипты мРНК (матричная), тРНК (транспортная) и рРНК (рибосомная) комплементарны матричной цепи ДНК.

Трансляция как механизм перевода генотипической информации в фенотипические признаки. Синтез белка отличается от других матричных синтезов тем, что между матрицей и продуктом нет комплементарного соответствия. Поскольку матрица построена из четырех нуклеотидов, а продукт - полипептидная цепь, состоящая из 20 аминокислот, существует определенный закон шифрования аминокислот в нуклеотидной последовательности матрицы, т.е. биологический код.

Биологический код - это способ записи информации об аминокислотной последовательности белков с помощью последовательности нуклеотидов в ДНК или РНК. Он характеризуется следующими свойствами: триплетностью, специфичностью, наличием терминирующих кодонов, вырожденностью (см. таблицу 1).

2.4 ПЛОИДНОСТЬ

Определяя спектрофотометрически содержание красителя в расчете на одно ядро, можно показать, что количество ДНК, приходящееся на ядро, постоянно для каждого вида. Если в процессе жизненного цикла особи наблюдается чередование гаплоидного (от англ. *half* - половина) и диплоидного (ди - два) числа хромосом, то это должно сопровождаться соответствующим чередованием количества ДНК на ядро. Это количество выражается буквой С. Если принять за С количество ДНК в гаплоидном сперматозоиде или яйцеклетке, то содержание ДНК в диплоидной клетке (в зиготе или любой другой клетке, возникающей от нее путем митоза) будет равно 2С. При подготовке клетки к митозу количество ее ДНК во время S-периода увеличивается до 4С, а затем при расхождении хромосом в анафазе в каждом будущем ядре составляет 2С. Митоз способствует сохранению диплоидности клеток.

Таблица 1. Свойства биологического кода

Термин	Объяснение термина
Триплетность	Кодовое число равно 3. Три нуклеотидных остатка (триплет) кодируют одну аминокислоту. Терминирующие триплеты — UAA, UAG, UGA не кодируют аминокислоты и являются сигналами для прекращения синтеза белка
Специфичность	Каждый триплет кодирует только одну аминокислоту
Вырожденность	Одну аминокислоту могут кодировать несколько (от 2 до 6) триплетов
Универсальность	У всех видов организмов биологический код одинаков
Коллинеарность	Последовательность кодонов в зрелой мРНК соответствует последовательности аминокислот в синтезированном белке

Все образующиеся пары гомологичных хромосом сходны одна с другой, за исключением той пары, которая определяет пол. У женщины две X-хромосомы (XX), ее половые хромосомы сходны и гомологичны; у мужчин в клетках хромосомы XY, которые хотя и различаются по величине и форме, но все же достаточно гомологичны.

Диплоидный набор хромосом ($2C$) характерен для всех клеток тканей человека в норме. Существует метод, позволяющий окрашивать избирательно хроматин в ядре (метод Фельгена). С помощью анализа изображения или спектрофотометрии ядер, окрашенных по Фельгену, и сравнения интенсивности окрашивания их с ядрами заведомо диплоидной клетки (так, например, лимфоцита) можно определить содержание хроматина в ядрах исследуемого материала (в том числе в опухолях). Термин *плоидность* означает предполагаемое число хромосом в ядрах клетки на основании определения содержания хроматина в ядре, окрашенном по Фельгену. Если содержание хроматина оказывается кратным $2C$, оно называется *эуплоидным*, если оно в несколько раз превышает $2C$, оно называется *полиплоидным*. Синтез ДНК может протекать независимо от митоза, но тогда клетка становится *полиплоидной*. Полиплоидия может наблюдаться при злокачественном росте, когда клеточная пролиферация выходит из-под генетического контроля. Возможность полиплоидии заложена в интерфазе. Полиплоидия в норме может наблюдаться при регенераторных процессах, но обычно содержание ДНК остается кратным $2C$ и не превышает тетраплоидного (тетра - 4). Значительная полиплоидия и гетерогенность клеточного состава по плоидности отмечается при злокачественных опухолях. Если содержание хроматина не кратно $2C$, оно называется *анэуплоидным* (ан - отрицание). Этот показатель имеет важное диагностическое и прогностическое значение. Отсутствие в опухоли анэуплоидных клеток или их небольшое число чаще говорит о ее доброкачественном характере, но может наблюдаться и при злокачественных новообразованиях. Наличие в опухолевой ткани большого числа клеток с анэуплоидным содержанием ДНК свидетельствует в пользу ее злокачественного характера; установлено также, что такие опухоли по сравнению с «эуплоидными» новообразованиями сочетаются с более неблагоприятным прогнозом. Лечение цитостатиками и облучение также приводят к образованию полиплоидных клеточных образований.

2.5 ЖИЗНЕННЫЙ ЦИКЛ КЛЕТКИ

В жизненном цикле любой клетки различают 5 периодов: фаза роста и размножения в недифференцированном состоянии, фаза дифференцировки, фаза нормальной активности, фаза старения и терминальная фаза дезинтеграции и смерти.

Рост и размножение. Сразу же после своего «появления на свет» в момент деления материнской клетки дочерняя клетка начинает вырабатывать белки в соответствии с типом, предписанным ей генетическим кодом. Клетка растет, сохраняя при этом недифференцированный характер эмбриональной клетки - это период роста. Рост можно определить как увеличение массы, происходящее в результате усвоения веществ. Рост может быть связан с увеличением размера клеток или их числа; при этом исходные клетки извлекают из окружающей среды необходимые им вещества и используют их на увеличение своей массы или на построение новых подобных себе клеток. В таком недифференцированном состоянии клетка может делиться и давать начало двум новым клеткам, которых ожидает та же участь. Такой путь характерен для клеточных элементов герминативной зоны эпителиев, для стволовых клеток костного мозга и других клеток, способных к размножению.

Дифференцировка. Возможен и другой тип развития. После начального роста и размножения клетка начинает дифференцироваться, т.е. морфологически и функционально специализироваться. Процесс дифференцировки, обусловленный одновременно действием генов и влиянием внешней среды, вначале в течение некоторого времени обратим. Его можно приостановить, воздействуя различными факторами. В некоторых случаях, правда, исключительных, клетка подвергается как бы «дифференцировке». Однако почти всегда дифференцировка быстро достигает такой степени, когда «дифференцировка» становится невозможной.

Процесс дифференцировки - это развитие из однородного клеточного материала резко отличающихся друг от друга клеток и тканей различных органов. Дифференцированные клетки характеризуются своими морфологическими и особыми функциональными свойствами. Эти свойства обусловлены структурными и энзиматическими особенностями их специфических белков. Некоторые эмбриональные дифференцировки клеток и даже органов зависят от свойства клеточных мембран; свойства эти связаны со структурными и функциональными характеристиками белка. Таким образом, в основе всякой дифференцировки лежат структурные изменения белка, дифференцировка представляет собой процесс направленного изменения.

Развитие также связано с дифференцировкой, с приобретением (или утратой) различными клетками структурных специфических или функциональных особенностей, в результате чего эти клетки становятся специализированными для разных видов активности, свойственной живым существам.

Дифференцированная клетка вступает в функционально активную фазу, которая длится различное время в соответствии с природой данной клетки. Затем наступает период старения, для которого характерно появление некоторых структурных и функциональных расстройств. Эта фаза рано или поздно завершается смертью клетки.

Большая часть клеток в организме непрерывно обновляется, и продолжительность жизни клеток постоянна и варьирует в зависимости от типа клетки; следовательно, существует естественная смерть клетки.

Гибель клетки - постепенный процесс: вначале в клетке возникают обратимые повреждения, совместимые с жизнью; затем повреждения приобретают необратимый характер, но некоторые функции клетки сохраняются, и, наконец, наступает полное прекращение всех функций. Обычно применяемый цитологический критерий смерти клетки - диффузное окрашивание витальными красителями цитоплазмы и ядра, т.е. момент, когда эти красители получают свободный доступ к основным органоидам клетки. За смертью следует разрушение клетки - некроз. В процессе гибели клетки наиболее отчетливо проявляются признаки повреждения ядра:

- Околоядерные вакуоли. Ядерная мембрана может образовывать весьма характерные вакуоли, имеющие различный вид: полулунные, прижатые к периферии ядра; почкующиеся вакуоли; в отдельных случаях, когда это явление ярко выражено, образуется множество вакуолей, ядро же сморщивается, вакуоли, образующие выпячивания внутрь от мембраны, «расталкивают» хроматин. При резко выраженной вакуолизации ядра вакуоли сливаются и ядро «плавает» в светлой крупной вакуоли.

- Отек ядра. Ядро увеличивается и округляется, одновременно очертания хроматина стираются, и содержимое ядра становится гомогенным. Ядрышки, наоборот, отчетливо выделяются. Набухание ядра может привести к разрыву мембраны. Последнее происходит либо внутри цитоплазмы, либо, когда ядро образует выпячивание, на поверхности клетки в межклеточном пространстве.

- Пикноз ядра может происходить двояким образом: либо ядро постепенно уменьшается вследствие выделения ядерного сока, либо хроматин разжижается и собирается в гомогенную единую шаровидную массу.

- Фрагментация ядра (кариорексис). Термин «кариорексис» соответствует различным процессам: иногда ядро образует складки и распадается на доли, соединенные между собой мостиками хроматина (последние, в конце концов, разрываются); иногда фрагментация ядра вызывается «вскипанием»; при этом ядро распадается на несколько частей.

Финалом жизнедеятельности клеток или тяжелых повреждений клетки является гибель клетки. Исследование этого процесса показало, что пути его могут быть различными; в настоящее время выделяют два пути гибели клетки: некроз и апоптоз.

Некроз представляет процесс незапрограммированной гибели клетки. Апоптоз - программированный процесс саморазрушения клетки (процесс, противоположный митозу). Апоптоз как процесс проходит две фазы: в первой фазе в клетке происходит конденсация хроматина, образование и отделение окруженных мембраной клеточных фрагментов - апоптотических тел, во второй фазе эти тела фагоцитируются и перевариваются клетками окружающих тканей.

Апоптоз считают одним из важных механизмов, препятствующих злокачественному росту. В организме достаточно часто происходят мутации, любая клетка вследствие мутации может стать родоначальником злокачественной опухоли. Однако, благодаря тому что в такой измененной клетке активируется ген, отвечающий за апоптоз, она погибает, и злокачественный процесс в большинстве случаев не развивается.

Хотя апоптоз и некроз представляют собой самостоятельные пути гибели клетки, между ними не следует проводить резкой границы. Так, наблюдаемые кариопикноз и кариорексис могут быть этапами как некроза, так и апоптоза. Описан и так называемый «вторичный некроз» апоптотических тел, который неотличим от некроза.

2.6 МЕЖКЛЕТОЧНОЕ ВЕЩЕСТВО

Межклеточное вещество вырабатывается почти исключительно клетками соединительной ткани, выполняя две основных функции - механической опоры и питания. Оно представлено двумя типами:

- волокнистое;
- аморфное.

Волокнистое вещество

Коллаген. Состоит из прочных на растяжение волокон. Содержится в сухожилиях, формируется в рубцах и т.д.

Эластин. Состоит из волокон или пластин. Очень эластичен, хорошо растягивается. Присутствует в сосудистых стенках.

Аморфное вещество

Напоминает по консистенции гель или золь. Состоит из белково-углеводных соединений (гликозаминогликанов и протеогликанов) и выполняет опорно-трофическую функцию в межклеточных пространствах, в хрящевой ткани.

2.7 ЖИДКОСТИ ОРГАНИЗМА

Жидкости организма - кровь, тканевая жидкость, лимфа.

• Кровь состоит из форменных элементов и плазмы и часто называется 5-м типом ткани. Кровь циркулирует по сосудистому руслу,

и в зоне капиллярной сети плазма крови проникает (диализирует) через мельчайшие поры капилляров в межклеточное пространство, образуя тканевую жидкость.

• Тканевой жидкостью пропитано аморфное межклеточное вещество. Из плазмы в межклеточную жидкость поступают питательные вещества для тканевых клеток. Продукты обмена клеток выделяются в межклеточную жидкость и диффундируют в кровь.

- Лимфа. При избыточном образовании тканевая жидкость попадает в лимфатические сосуды - систему мелких трубочек - так образуется лимфа.

2.8 ФУНКЦИИ КЛЕТОК

Основаны на физиологических свойствах клеток.

- Раздражимость - способность клетки реагировать тем или иным образом на раздражитель физической, химической или электрической природы.

- Проводимость - способность создавать волну возбуждения в месте приложения раздражителя и распространять ее по поверхности клетки, что сопровождается изменением электрического потенциала вдоль ее пути.

- Сократимость - реакция на раздражение, проявляющаяся в укорочении клетки в каком-либо направлении.

- Поглощение и усвоение - все клетки способны поглощать питательные вещества со своей поверхности.

- Секретция - способность клетки синтезировать из поглощенных веществ новые нужные ей соединения, которые могут выделяться клеткой наружу.

- Экскреция - выделение клеткой через свою поверхность конечных продуктов обмена.

- Дыхание - клетки нуждаются в кислороде, который используется для окисления пищевых веществ в процессе клеточного дыхания, сопровождающегося освобождением энергии.

- Рост и размножение клеток требуют синтеза дополнительного клеточного вещества. Клетки не могут нормально функционировать, если они превышают определенные размеры, поэтому рост обычно происходит за счет увеличения числа клеток, а не их размеров.

ПРИЛОЖЕНИЕ К МОДУЛЮ 2 : ТИПЫ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ОРГАНИЗМА

Ороговевающие эпителиальные клетки

Кератиноциты эпидермиса (дифференцирующиеся эпителиальные клетки)

Базальная клетка эпидермиса (стволовая клетка) Кератиноцит ногтей

Базальная клетка ногтевого ложа (стволовая клетка) Клетки стержня волоса

Клетка сердцевины волоса

Кортикальная

Кутикулярная Клетки оболочки корня волоса

Кутикулярная

Слой Nuxley (Гексли)

Слой Henle (Генле)

Наружная

Клетка волосяного матрикса (стволовая клетка)

Клетки влажных плоских барьерных эпителиев

Поверхностная эпителиальная клетка многослойного плоского эпителия роговицы, языка, ротовой полости, пищевода, прямой кишки, дистальной части уретры, влагалища

Базальная клетка тех же видов эпителия (стволовая клетка) Клетка мочевыводящих путей эпителия (выстилаяющая мочевой пузырь и мочевыводящие пути)

Эпителиальные клетки, специализированные на экзокринной секреции

Клетки слюнной железы

Слизистая клетка (секрет богат полисахаридами)

Серозная клетка (секрет богат гликопротеиновыми ферментами)

Клетка железы фон Эбнера в языке (секрет служит для омывания вкусовых сосочков)

Клетка молочной железы, секретирующая молоко

Клетка слезной железы, секретирующая слезы

Клетка церуминовой железы уха, секретирующая ушную серу

¹ Дж. М. Фаллер, Д. Шилдс. Молекулярная биология клетки. Руководство для врачей / пер. с англ. под общей редакцией академика И.Б. Збарского.

Клетка эккриновой потовой железы, секретирующая гликопротеины (темная клетка)

Клетка эккриновой потовой железы, секретирующая малые молекулы (светлая клетка)

Клетка апокриновой потовой железы (выделяет пахучий секрет, чувствительна к половым гормонам)

Клетка железы Молля в веке (специализированная потовая железа)

Клетка сальной железы, секретирующая богатое липидами кожное сало

Клетка боуменовской железы в носу (секретирует жидкость, омывающую обонятельный эпителий)

Клетка бруннеровской железы в двенадцатиперстной кишке, секретирующая щелочной раствор слизи и ферментов

Клетка семенного пузырька, секретирующая компоненты семенной жидкости, включая фруктозу (как источник энергии для движения спермиев)

Клетка предстательной железы, секретирующая другие компоненты семенной жидкости

Клетка бульбоуретральной железы, секретирующая слизь

Клетка бартолиновых желез, секретирующая жидкость для увлажнения влагалища

Клетка железы Литтре, секретирующая слизь

Клетка эндометрия матки, секретирующая в основном углеводы

Изолированная бокаловидная клетка дыхательного и пищеварительного трактов, секретирующая слизь

Слизистая клетка выстилки желудка

Зимогенная клетка желез желудка, секретирующая пепсиноген Обкладочная клетка желез желудка, секретирующая HCl Клетка ацинуса поджелудочной железы, секретирующая пищеварительные ферменты и бикарбонат

Клетка Панета в тонком кишечнике, секретирующая лизоцим Пневмоцит II типа в легком, секретирующий сурфактант Клетка Клара легких (функция неизвестна)

Клетки, специализирующиеся на секреции гормонов

Клетки передней доли гипофиза, секретирующие гормон роста

фолликулостимулирующий гормон лютеинизирующий гормон пролактин

адренкортикотропный гормон
 тиреотропный гормон Клетка промежуточной доли гипофиза, секретирующая
 Меланотропный гормон Клетки задней доли гипофиза, секретирующие
 Окситоцин
 Вазопрессин
 Клетки желудочно-кишечного и дыхательного трактов, секреторирующие
 Серотонин
 Эндорфин
 Соматостатин
 Гастрин
 Секретин
 Холецистокинин
 Инсулин
 Глюкагон
 Бомбезин
 Клетки щитовидной железы, секретирующие
 Тиреоидный гормон
 Кальцитонин Клетки паращитовидной железы, секретирующие
 Паратирин
 Оксифильные клетки (функция неизвестна) Клетки надпочечников, секретирующие
 Адреналин
 Норадреналин
 Стероидные гормоны Минералокортикоиды Глюкокортикоиды Клетки половых желез, секретирующие
 Тестостерон (клетка Лейдига в семенниках)
 Эстроген (клетка внутренней оболочки (theca interna) фолликула в яичниках)
 Прогестерон (клетка желтого тела лопнувшего фолликула в яичниках)
 Клетки юкстагломерулярного аппарата почки
 Юкстагломерулярная клетка (секретирующая ренин) Клетка плотного пятна (macula densa). Периполярная клетка. Клетка мезанлия. Функции неясны, но вероятно близки; возможно участвуют в секреции эритропоэтина
 Эпителиальные всасывающие клетки желудочно-кишечного тракта, экзокринных желез и мочеполовых путей
 Клетка кишечного эпителия со щеточной каемкой (с микроворсинками)
 Исчерченная протоковая клетка экзокринных желез Эпителиальная клетка желчного пузыря
 Клетка со щеточной каемкой в проксимальном канальце почки Клетка дистального почечного канальца
 Безреснитчатая клетка (*ductulus efferens*) семявыводящего протока Главная клетка эпидидимиса Базальная клетка эпидидимиса

Клетки, ответственные за метаболизм и накопление резервных материалов

Гепатоцит (клетка печени) Жировая клетка (адипоцит)

Белая жировая клетка

Бурая жировая клетка

Липоцит печени

Эпителиальные клетки, выполняющие в основном барьерную функцию, выстилают легкие, желудочно-кишечный тракт, экзокринные железы и мочеполовой тракт

Пневмоцит I типа (выстилающий воздушные полости легкого) Клетка протока поджелудочной железы (центроакинозная клетка)

Неисчерченная клетка протоков потовой железы, слюнной железы, молочной железы и др.

Париетальная клетка почечного клубочка Подоцит почечного клубочка Клетка тонкой части петли Генле (в почках) Клетка собирательного канальца (в почках)

Клетка протока семенного пузырька, предстательной железы и т.д. (различные)

Эпителиальные клетки, выстилающие замкнутые внутренние полости тела

Клетка сосудистого эндотелия кровеносных и лимфатических сосудов

Фенестрированного (ячеистого)

Непрерывного

Селезеночного

Синовиальная клетка (выстилает полости суставов, секретирует в основном гиалуроновую кислоту)

Серозная клетка (выстилает полости брюшины, плевры и перикарда) Плоская клетка (выстилает перилимфатическое пространство уха) Клетки, выстилающие эндолимфатическое пространство уха Плоская клетка

Цилиндрическая клетка эндолимфатического мешочка

С микроворсинками

Без микроворсинок «Темная» клетка

Клетка вестибулярной мембраны Базальная клетка сосудистой полоски Краевая клетка сосудистой полоски Клетка Клаудиуса Клетка Бетчера

Ворсинчатая клетка сосудистого сплетения в желудочках головного мозга (секретирует цереброспинальную жидкость)

Плоская клетка мягкой и паутинной мозговых оболочек Клетки ворсинчатого эпителия глаза

Пигментированные

Непигментированные «Эндотелиальная» клетка роговицы

Реснитчатые клетки с проталкивающей функцией

Клетки дыхательных путей

Клетки маточных труб и эндометрия матки (у женщин) Клетки сети яичка (*rete testis*) и семявыводящего протока (у мужчин) Клетки центральной нервной системы (клетки эпендимы, выстилающие полости мозга)

Клетки, секретирующие внеклеточный матрикс

Эпителиальные

Амелобласт (секретирует зубную эмаль)

Клетка полулунной пластинки (*planum semilunatum*) вестибулярного аппарата уха (секретирует протеогликан)

Межзубная клетка кортиева органа (секретирует вещество текто-риальной «мембраны», покрывает волосковые клетки кортиева органа) Неэпителиальные (соединительнотканые)

Фибробласты (рыхлой соединительной ткани, роговицы, сухожилий, ретикулярной ткани костного мозга и др.)

Перицит кровеносного капилляра

Клетка студенистого ядра (*nucleus pulposus*) межпозвоночного диска

Цементобласт/цементоцит (секретирует цемент корня зуба, сходный с веществом кости)

Одонтобласт/одонтоцит (секретирует дентин зуба) Хондроциты

Гиалинового хряща

Фиброзного хряща

Эластического хряща

Остеобласт/остеоцит

Первичная остеогенная клетка (стволовая клетка остеобластов) Гиалоцит стекловидного тела глаза

Звездчатая клетка перилимфатического пространства уха

Сократительные клетки

Клетки скелетных мышц Красные (медленные) Белые (быстрые) Промежуточные

Мышечное веретено с ядерной сумкой

Мышечное веретено с ядерной цепочкой Клетка-сателлит (стволовая клетка) Клетки сердечной мышцы Обычные Узловые

Волокна Пуркинье Клетки гладкой мускулатуры (разные) Миоэпителиальные клетки

Радужной оболочки

Экзокринных желез

Клетки крови и иммунной системы

Эритроцит Мегакариоцит

Макрофаги и родственные клетки Моноцит

Макрофаги соединительной ткани (разные) Клетка Лангерганса (в эпидермисе)

Остеокласт (в кости)

Дендритная клетка (в лимфоидных тканях)

Клетка микроглии (в центральной нервной системе) Нейтрофил Эозинофил Базофил

Тучная клетка Т-лимфоцит

Т-Хелпер

Т-Супрессор

Т-Киллер В-лимфоцит, продуцирующий

Иммуноглобулин М

Иммуноглобулин С

Иммуноглобулин А

Иммуноглобулин Е Клетка-киллер
 Стволовые клетки и развивающиеся клетки крови и иммунной системы (разные)
 Чувствительные рецепторы
 Фоторецепторы
 Палочки
 Колбочки
 Чувствительные к синему Чувствительные к зеленому Чувствительные к красному
 Слуховые рецепторы
 Внутренние волосковые клетки кортиева органа
 Наружные волосковые клетки кортиева органа Рецепторы гравитации и ускорения
 Волосковая клетка I типа вестибулярного аппарата
 Волосковая клетка II типа вестибулярного аппарата Вкусовые рецепторы
 Клетка II типа вкусового сосочка Рецепторы запаха
 Обонятельный нейрон
 Базальная клетка обонятельного эпителия (стволовая клетка обонятельных нейронов)
 Рецепторы pH крови Клетка каротидного тельца
 I типа
 II типа Тактильные рецепторы
 Меркелевы клетки эпидермиса
 Первичные осязательные нейроны (разные) Рецепторы температуры
 Первичные терморепторные нейроны (разные)
 Чувствительные к холоду
 Чувствительные к теплу Рецепторы боли
 Первичные нейроны, воспринимающие боль (разные) Рецепторы положения и напряжений в скелетно-мышечной системе.
 Проприоцептивные первичные чувствительные нейроны (разные)
 Автономные нейроны
 Холинэргические (разные) Адренэргические (разные) Пептидэргические (разные)
 Опорные клетки органов чувств и периферических нейронов
 Опорные клетки кортиева органа
 Внутренняя столбовая клетка
 Наружная столбовая клетка
 Внутренняя фаланговая клетка
 Наружная фаланговая клетка
 Пограничная клетка
 Клетка Генсена Опорная клетка вестибулярного аппарата
 Опорная клетка вкусового сосочка (клетка вкусового сосочка I типа)
 Опорная клетка обонятельного эпителия Шванновская клетка
 Клетка-сателлит (инкапсулирующая тела периферических нейронов) Глиальная клетка кишечника

Нейроны и глиальные клетки центральной нервной системы

Нейроны (огромное разнообразие типов, до сих пор плохо классифицированное)
Клетки глии

Астроциты (разные) Олигодендроцит Клетки хрусталика

Клетка переднего эпителия хрусталика

Волокно хрусталика (клетка, содержащая кристаллин)

Пигментные клетки

Меланоцит

Эпитальная клетка пигментного слоя сетчатки

Половые клетки

Оогоний/ооцит Сперматоцит

Сперматогоний (стволовая клетка сперматоцита)

Питающие клетки

Клетка фолликула яичника Клетка Сертоли (в семеннике) Эпителиальная клетка тимуса

ВОПРОСЫ. МОДУЛЬ 2

1. Что такое клетка, каковы ее основные свойства и химический состав?
2. Из каких компонентов состоит клетка и какие функции выполняют эти компоненты?
3. Из чего состоит цитоплазма клеток?
4. Какую роль выполняет ядро клетки?
5. Что такое хромосомы?
6. Какую роль в организме выполняют нуклеиновые кислоты?
7. Что такое ДНК, ее строение и функции?

Тесты

1. Информация из ядра клетки в цитоплазму передается с помощью:
 - а) ферментов;
 - б) углеводов;
 - в) липидов;
 - г) РНК;
 - д) гормонов.
2. Обмен веществ в клетке между ядром и цитоплазмой осуществляется через:
 - а) митохондрии;
 - б) лизосомы;
 - в) ядерные поры;
 - г) клеточный центр;
 - д) рибосомы.
3. В цитоплазме осуществляется синтез:
 - а) белков;

- б) жиров;
- в) углеводов;
- г) гормонов;
- д) всего перечисленного.

4. ДНК находится:

- а) в цитоплазме;
- б) в ядрышке;
- в) в ядре;
- г) в цитолемме;
- д) в рибосомах.

5. Хромосомы начинают расходиться к полюсам в следующей фазе митоза:

- а) профазе;
- б) метафазе;
- в) анафазе;
- г) телофазе;
- д) фазе синтеза.

6. Морфологическим субстратом фагоцитоза являются следующие органоиды клетки:

- а) митохондрии;
- б) лизосомы;
- в) рибосомы;
- г) комплекс Гольджи;
- д) все субклеточные органеллы.

Модуль 3

Понятие о тканях. Общие принципы классификации тканей

• многослойный плоский эпителий с ороговением; в первом, в результате дифференцировки, происходит роговое перерождение цитоплазмы (рис. 3.4).

• многослойный плоский эпителий без ороговения. (рис. 3.5) Переходный эпителий, выстилающий на значительном протяжении мочевыводящие пути, отличается тем, что его строение изменяется в зависимости от степени растяжения. В одних случаях он имеет строение, напоминающее многослойный, в других - многорядный эпителий (рис. 3.6).

Железистый эпителий

Железистый эпителий (рис. 3.7) образует железы, которые могут состоять из одной клетки - бокаловидные клетки в кишечном и бронхиальном эпителиях (одноклеточные железы), и из множества клеток (многоклеточные железы). Последние, в свою очередь, делят на простые и сложные. В зависимости от характера структур, которые образуют многоклеточные железы, выделяют несколько видов.

- Простые альвеолярные железы.
- Простые трубчатые железы.
- Альвеолярно-трубчатые железы.

Выводные протоки в простых железах никогда не ветвятся.

Сложные железы характеризуются тем, что выводной проток их всегда разветвлен, напоподобие дерева, на «веточках» которого располагаются концевые секреторные отделы, слагающиеся в дольки. Железы также различают по способу секреции.

Мерокриновый тип секреции - накопление и выделение секрета происходит без разрушения цитоплазмы. Скопившийся в апикальной части секрет выделяется на поверхность эпителия. К этому типу секреции относят большинство желез (в частности, бокаловидные клетки).

Апокриновый тип секреции - скопившийся в апикальной части секрет выделяется вместе с этой частью цитоплазмы. По этому типу секреции работают клетки молочной железы и некоторых потовых желез.

Голокриновый тип секреции. К железам этого типа относят единственные железы - сальные. Секрет - жир с остатками цитоплазмы и ядра, так как в момент секреции железистая клетка полностью разрушается.

Функция этих клеток заключается в продукции и частичном разрушении межклеточного вещества. Большинство фибробластов разрушается в процессе жизнедеятельности, но часть из них превращается в конечную форму - фиброцит. Фиброцит - клетка веретенообразной формы, не способная к делению. Ядро округлой или вытянутой формы, располагается в центре, занимает большую утолщенную часть клетки. Цитоплазма - в виде длинных тонких отростков.

Гистиоциты (макрофаги) в рыхлой волокнистой соединительной ткани располагаются разрозненно или группами. Эти клетки присутствуют в одном из взаимнообратимых состояний:

- покоящихся клеток с более низкой функциональной активностью;
- блуждающих клеток с более высокой функциональной активностью.

Морфологически гистиоциты отличаются выраженным полиморфизмом, и структура их зависит от функциональной активности.

Покоящиеся гистиоциты имеют вид мелких уплотненных клеток удлиненной или отростчатой формы с небольшим темным ядром и плотной цитоплазмой.

Блуждающие или активные гистиоциты отличаются выраженным полиморфизмом. Форма клеток - отростчатая, реже - округлая.

Место, где происходит передача импульса с волокна нервной клетки на другие клетки, называется синапсом (рис. 3.15).

Нейроглия состоит из множества гетерогенных элементов, выполняющих опорную, трофическую, разграничительную, барьерную, секреторную и защитную функции.

ВОПРОСЫ. МОДУЛЬ 3

1. Перечислите виды тканей

2. Назовите наиболее характерные структурные и функциональные признаки:

- а) эпителиальной ткани;
- б) соединительной ткани;
- в) мышечной ткани;
- г) нервной ткани.

3. Назовите типы покровного эпителия. Тесты

1. Многослойный плоский эпителий состоит из:

- а) одного слоя клеток;
- б) одного ряда клеток;
- в) множества слоев и рядов клеток;
- г) одного слоя и множества рядов клеток;
- д) трех слоев клеток.

Модуль 4 Общепатологические процессы в цитологии

Преобладание той или иной формы регенерации в определенных органах и тканях определяется их функциональным назначением, структурно-функциональной специализацией. Все ткани и органы обладают способностью к регенерации, различны лишь ее формы в зависимости от структурно-функциональной специализации ткани или органа. Так, преимущественно клеточная регенерация характерна для кости, эпидермиса, слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта, дыхательных и мочевыводящих путей, рыхлой соединительной ткани, эндотелия, мезотелия, кроветворной системы, лимфоидной ткани. Цитологическая картина при этом может отличаться значительным количеством молодых форм, что не должно расцениваться как предопухолевая пролиферация.

Клеточная и внутриклеточная регенерация характерна для печени, почек, поджелудочной железы, эндокринных желез, легкого, гладких мышц. При этом может наблюдаться некоторое укрупнение клеток, ядер, появление некоторого полиморфизма клеточного и ядерного, что также должно получать соответствующую оценку. Внутриклеточная регенерация свойственна миокарду, скелетным мышцам, что проявляется укрупнением отдельных клеток и ядер.

Морфогенез регенераторного процесса складывается из двух фаз: пролиферации и дифференцировки. В фазу пролиферации размножаются молодые, недифференцированные клетки. Эти клетки называются камбиальными, стволовыми клетками или клетками-предшественниками.

Для каждой ткани характерны свои камбиальные клетки, которые отличаются степенью пролиферативной активности и специализации, однако стволовая клетка может быть родоначальником нескольких видов клеток (кроветворная ткань, соединительная ткань). Та же смена гиперплазии ультраструктур их дифференцировкой («созреванием») лежит в основе внутриклеточной регенерации. Таким образом, регенерация включает взаимосвязанные процессы: пролиферация - размножение клеток; гипертрофия - увеличение объема органа, ткани, клеток, внутриклеточных структур; гиперплазия - увеличение числа структурных элементов ткани и клеток. При гипертрофии может увеличиваться клеточный объем за счет гиперплазии (увеличение числа) внутриклеточных структур, в то же время при гиперплазии могут появляться гипертрофированные многоядерные клетки. Одновременно происходит дифференцировка - «созревание», структурная и функциональная специализация.

В процессе регенерации можно наблюдать и такое явление, как метаплазия.

Метаплазия - переход одного вида ткани в другой, родственный вид. Метаплазия возникает в связи с предшествующей пролиферацией недифференцированных клеток и начинается с размножения камбиальных клеток, дифференцирующихся в направлении не призматического, а многослойного плоского эпителия. Наблюдается метаплазия в дыхательных путях, выводных протоках слюнных желез, в поджелудочной железе. Может наблюдаться плоскоклеточная метаплазия цервикального эпителия. В переходном эпителии может наблюдаться плоскоклеточная и железистая метаплазия.

2. Дифференцированные клетки с ультраструктурными признаками того или иного типа клеток с разной степенью ультраструктурной дифференцировки и функциональной зрелости. Соотношение клеток первой и второй групп в различных опухолях может быть очень разнообразным. Встречаются опухоли, состоящие только из недифференцированных клеток, присутствуют также дифференцированные элементы.

При установлении гистогенеза (гистологической формы) опухоли следует учитывать, что характерные черты и свойства ткани сохраняются при опухолевом росте.

Для покровного эпителия при малигнизации сохраняется способность к образованию пластов. Для железистого эпителия характерно формирование железистых структур (папиллярные, тубулярные, розеткоподобные и др.). В органоспецифических опухолях (в частности, щитовидной железе) не утрачивается способность к формированию фолликулярных структур. В опухолях, гистогенетически связанных с соединительной тканью, сохраняется способность к образованию межучного вещества и волокон. Так, для опухолей из фиброзной ткани характерно образование пучков из вытянутых клеток, для хрящевых опухолей свойственно образование атипичного хондроиды, так же, как для костных - формирование атипичной кости (остеоиды). Для миогенных опухолей сохранение поперечной полосатости в соответствующих клетках, формирование пучков из вытянутых клеток является указанием на гистогенетическую принадлежность их к мышечной ткани.

Многочисленными и очень детальными исследованиями установлено, что клетка злокачественного новообразования не имеет строго специфических морфологических и цитохимических признаков. Однако, основываясь на комплексе цитологических критериев злокачественности, с достаточной степенью достоверности можно установить принадлежность клетки к злокачественному новообразованию.

Признаки злокачественности

Клетка:

а) размер клетки превосходит размеры клеток той ткани, которая явилась источником опухолевого роста: клетки могут быть гигантских размеров. Изменение размера - не абсолютный показатель, размеры клеток могут быть не изменены;

б) изменение формы клеток. Форма не полностью или мало соответствует свойственной клеткам нормальной ткани и может быть самой причудливой. Может определяться отчетливый клеточный полиморфизм, т.е. клетки разных размеров и формы:

III. Мезенхимальные опухоли.

IV. Опухоли меланинообразующей ткани.

V. Опухоли нервной системы и оболочек мозга.

VI. Опухоли системы крови.

VII. Тератомы.

Типы цитологических заключений

1. *Картина воспаления* - элементы воспаления (лейкоциты ней-трофильные и эозинофильные, лимфоидные элементы, гистиоциты, клетки фибробластического ряда, плазматические клетки).

2. *Проллиферирующие клеточные элементы.*

3. *Диагностическое заключение о доброкачественном процессе или опухоли*(цитологическая картина саркоидоза, цитограмма соответствует хондроме и др.).

4. *Клетки с признаками атипии* - это, как правило, доброкачественные элементы, а признаки атипии могут быть обусловлены быстрым ростом, воспалением (в таких случаях

необходимо повторить исследование, лечить воспаление или доброкачественный процесс с обследованием после лечения).

5. *Подозрение по принадлежности к элементам злокачественного образования* - заключение дается при обнаружении клеток с выражен-

ными признаками атипии или с выраженными дистрофическими изменениями; в таких случаях необходимо обязательное повторное исследование, наблюдение. Чаще всего при этом заключении есть серьезное основание подозревать злокачественный процесс.

6. *Диагностическое заключение о злокачественной опухоли* (плоскоклеточный с орогованием рак, лимфогранулематоз, остеогенная саркома и др.).

7. *Описательный ответ* - может быть дан при малом количестве материала, или если материал предоставлен, в основном, элементами воспаления или периферической крови, отдельными клеточными элементами с выраженными дистрофическими или дегенеративными изменениями, затрудняющими идентификацию клеток. В описании может быть указано, что послужило причиной отсутствия диагностического заключения (малое количество материала, трудность трактовки обнаруженных клеточных элементов и всей цитологической картины).

8. *Отрицательный ответ* - клеток злокачественного новообразования не обнаружено. В таких случаях можно указать, какие элементы обнаружены (периферическая кровь, элементы воспаления и др.).

ВОПРОСЫ. МОДУЛЬ 4

Тесты

1. Для экссудата при воспалении, вызванном микобактериями туберкулеза, характерны:

- а) лимфоциты;
- б) эпителиоидные клетки;
- в) клетки Пирогова-Лангханса;
- г) плазматические клетки;
- д) все перечисленные клеточные элементы.

2. В препарате среди отдельных нейтрофилов обнаруживается значительное количество лимфоцитов, гистиоцитов 2-4 в поле зрения, единичные макрофаги и клетки типа инородных тел. Эта цитологическая картина характерна для:

- в) инфильтративный рост;
- г) ни один из перечисленных;
- д) медленный, экспансивный рост.

17. Рак развивается из:

- а) соединительной ткани;
- б) мышечной ткани;
- в) эпителиальной ткани;
- г) нервной ткани;
- д) мезенхимальной ткани.

18. Характерным для клеток злокачественных опухолей являются:

- а) нарушение дифференцировки;
- б) полиморфизм;
- в) анизохромия;
- г) все перечисленное;
- д) ничего из перечисленного.

19. Из перечисленного для клеток злокачественной опухоли наиболее характерно:

- а) дистрофия;
- б) нарушение дифференцировки;
- в) вакуолизация;
- г) гиперхромия ядер;
- д) гиперхромия цитоплазмы

Модуль 5

Организация работы цитологической лаборатории

- ведет графики, выписывает химические реактивы, перевязочный материал и др.;
- готовит основные растворы химических реактивов, осуществляет их учет и хранение;
- организует учебу среднего и младшего персонала в лаборатории;
- помогает заведующему отделением (лабораторией) в составлении отчетов и заявок на химические реактивы и оборудование;
- следит за санитарно-эпидемиологическим состоянием лаборатории.

Медицинский технолог, фельдшер-лаборант

- осуществляет микроскопические исследования профилактического и гормонального материала;
- оформляет документацию для регистрации цитологического материала;
- обрабатывает цитологический материал с применением дополнительных методик;
- осуществляет срочное изготовление цитологических препаратов;
- оформляет выдачи микропрепаратов из архива;
- осуществляет уход за приборами и аппаратурой;
- готовит химические реактивы;
- участвует в организационно-методической работе по улучшению качества материала;
- ежемесячно отчитывается о проделанной работе.

5.1 МЕТОДЫ ПРИГОТОВЛЕНИЯ И ОКРАШИВАНИЯ ПРЕПАРАТОВ

Материал для цитологического исследования

1. Эксфолиативный материал

Секреты, экскреты, отделяемое и соскобы с поверхностей эрозий, язв, ран, свищей, мокрота, промывные воды, экссудаты, транссудаты. Особое место занимает цитологическое исследование материала, полученного при профилактических осмотрах населения. Наиболее распространенным и обязательным является исследование при профилактических гинекологических осмотрах.

2. Пункционный материал

Пунктаты, полученные тонкой иглой (тонкоигольная биопсия) из опухолей, опухолеподобных образований, уплотнений любой локализации: головы, шеи, молочной, щитовидной желез, лимфатических узлов, костей, мягких тканей конечностей, кожи, легких, средостения, органов брюшной полости и забрюшинного пространства.

- кожа и слизистые оболочки - мазки с соскобов из участков поражения, при опухоли - пункция тонкой иглой;

- мягкие ткани, молочная железа, лимфатические узлы, щитовидная железа - пункция тонкой иглой;

- (щитовидная железа, легкое, опухоли шеи, печень, селезенка, почка, яичник, предстательная и поджелудочная железа, забрю-

шинные опухоли). Пункция под контролем ультразвука или рентгенологического исследования. • цитологическому исследованию обязательно должны подвергаться пунктаты серозной полости, кист, отделяемое молочной железы и др. При поражениях мочевого пузыря для цитологического исследования может быть использована нативная моча (эффективность цитологической диагностики 40-50%), спиртовой смыв (эффективность цитологической диагностики 60-65%), мазки-отпечатки с кусочков опухоли, взятых при цистоскопии (эффективность цитологической диагностики около 90%). При комплексном исследовании эффективность цитологической диагностики составляет около 100%.

Техника приготовления мазков из материала, доставленного в лабораторию

Полученное количество материала не всегда определяет возможности диагностики, иногда очень малое количество материала является достаточным для постановки диагноза.

Присутствие большого количества крови часто является помехой. При ее наличии мазки необходимо делать как можно скорее, иначе наступает свертывание, и из свернувшегося сгустка очень трудно сделать мазки и провести исследование. Материал наносят на стекло и очень аккуратно делают мазки, так как клетки очень ранимы, а наличие большого числа разрушенных клеток мешает правильной диагностике.

Перед окраской предварительной фиксации мазков не требуется. На подсохшие на воздухе мазки наливают краску - фиксатор Мая- Грюнвальда - на 3 мин. Не сливая краски, к ней добавляют такое же количество дистиллированной воды. Через минуту краску с мазка сливают и, не ополаскивая мазка, наливают рабочий раствор готовой краски Романовского-Гимзы (1 мл краски плюс 4 мл дистиллированной воды с рН 6,8) на 5 мин. Готовую краску Романовского-Гимзы перед приготовлением рабочего раствора фильтруют. После окраски препараты промывают дистиллированной водой и высушивают на воздухе, установив вертикально в специально изготовленной сушилке.

Окрашивание по Паппенгейму (модификация) Красители

1. Мая-Грювальда 0,3%.

300 мг порошка краски Май-Грювальда растворяют в 100 мл метилового спирта. Раствор созревает 3 дня.

2. Азур II. 1,0 г порошка растворяют в 1000 мл кипящей воды.

3. Эозин К или Na. Для приготовления эозина К берут 1,0 г порошка и растворяют в 1000 мл кипящей воды. Для получения эозина Na берут 0,5 г порошка на то же количество воды.

Буферный раствор

1. Однозамещенный фосфорнокислый К или Na. 1,7 г соли на 100 мл дистиллированной воды.

2. Двухзамещенный фосфорнокислый К или Na. 1,7 г соли на 100 мл дистиллированной воды.

Растворы можно хранить в холодильнике. Для получения воды с рН 6,8-7,2 необходимо смешать одну часть 1-го и две части 2-го раствора (10 мл 1-го раствора и 20 мл 2-го раствора на 1 л дистиллированной воды).

Ход окрашивания

1. Фиксируют мазки (высушенные) в метаноле 3 мин.

2. Окрашивают в течение 10 мин в растворе состава: 1 часть красителя Мая-Грюнвальда 0,3% на 4 части дистиллированной воды (рН 6,8-7,2).

3. Докрашивают азур-эозином в течение 20 мин:

- раствор азура - 1 часть;
- раствор эозина - 1 часть;
- дистиллированная вода (рН 6,8-7,2) - 5 частей.

4. Смывают краску проточной водой.

5. Высушивают мазки на воздухе.

Окрашивание мазков по Лейшману Красители

1. Краска Лейшмана.

2,5 г сухой краски Лейшмана на 1 л метилового спирта. Краска созревает 3-4 дня.

2. Азур.

1 г сухой краски азур на 1 л дистиллированной воды. Краска созревает 3-4 нед.

3. Эозин.

1 г сухой краски эозин на 1 л дистиллированной воды. Краска созревает 3-4 нед. Ход окрашивания

1. Высушить мазок на воздухе.

2. Опустить в краску Лейшмана на 3 мин.

3. Промыть водопроводной водой.

4. Стряхнуть избыток воды.

5. Залить препарат краской в составе: азур - 40 мл; эозин - 30 мл; дистиллированная вода - 70 мл.

Краску готовят перед работой!

Мазки окрашивают в течение 30-40 мин.

6. Промыть водопроводной водой.

7. Высушить на воздухе или промокнуть фильтровальной бумагой.

Срочное окрашивание по Н.Г. Алексееву

Тонкие мазки окрашивают по методике Н.Г. Алексеева

1. Фиксируют в подогретом до 35-40°C растворе Мая-Грюнвальда в течение 30 с.

2. Ополаскивают водой.

3. Окрашивают в 0,1% растворе азура-эозина (в соотношении 2:1) в течение 2 мин.

4. Ополаскивают водой.
5. Промокают, высушивают.

Методика окрашивания по Папаниколау

Для окрашивания препаратов по методу Папаниколау обязательна влажная фиксация мазка. Мазок сразу же после получения, пока он еще влажный, фиксируют одним из перечисленных методов:

- специальными аэрозолями;
- каплевым фиксатором;
- в 96° спирте (10-20 мин);
- в смеси Никифорова (30 мин).

Для окрашивания лучше всего пользоваться фирменными красителями, к которым обычно прилагается методика окрашивания

После этого высушивают на воздухе.

После окрашивания препарата его необходимо заключить в бальзам, для чего:

Окрашивание на гликоген (мукополисахариды) - PAS -реакция Реактивы:

метиловый спирт (СН₃ОН); йодная кислота;

фуксин основной для фуксинсернистой кислоты;

1N раствор HCl;

сернокислый натрий (Na₂S₂O₅);

активированный уголь;

гематоксилин;

K (NaJO₃ и KJO₃ соответственно); калийные квасцы; лимонная кислота.

Приготовление реактивов

1. 1N раствор HCl:

В мерную колбу на 1 л наливают 82,5 мл концентрированной соляной кислоты (HCl) и добавляют дистиллированную воду до метки. Хранят в холодильнике.

2. Реактив Шиффа:

1 г основного фуксина растворяют в 200 мл дистиллированной воды.

Кипятят в течение нескольких минут. Остужают раствор до 50°С. Фильтруют раствор. Добавляют 20 мл 1N HCl. Остужают.

Добавляют 1 г Na₂S₂O₅ (метабисульфит натрия). Добавляют активированный уголь (бесцветный). Когда раствор обесцвечивается (через сутки), он готов к употреблению. Хранят в холодильнике.

3. Сернистая вода. Готовят перед работой!

Смешивают 1 г Na₂S₂O₅, 200 мл дистиллированной воды и 10 мл 1N HCl.

4. Йодная кислота. Готовят перед работой!

Смешивают 200 мг йодной кислоты и 40 мл дистиллированной воды

5. Гематоксилин Эрлиха. Смешивают: гематоксилин - 1 г; NaJO₃ - 0,2 г; калийные квасцы - 50 г; лимонная кислота - 1 г; дистиллированная вода - 1 л.

Краска созревает 15 дней в сосуде, прикрытом бумажным колпачком, при частом взбалтывании. При хранении в хорошо закрытом сосуде раствор остается годным к использованию в течение длительного времени

6. Солянокислый спирт: смешивают 99 мл 70° С₂H₅ОН и 1 мл концентрированной HCl.

Ход реакции

1. Препарат фиксируют в метаноле 20 мин.
2. Промывают проточной водой 15 мин.
3. Опускают в эфир на несколько секунд.
4. Промывают дистиллированной водой 20 мин.

Значение реакции. Наиболее важное значение имеет реакция в гематологических исследованиях, для определения формы лейкоза.

Наличие пероксидазы характерно для клеток миелоидного ряда, продукт реакции - желто-коричневого цвета. При миелобластном лейкозе продукт реакции в бластах определяется в виде гранул. При лимфобластном лейкозе - в виде крупных гранул. Реакция на пероксидазу используется также для выявления продукта реакции антиген-антитело при проведении иммуноцитохимических реакций.

Окраска бактерий в мазках

В цитологической практике нередко возникает необходимость в окраске и исследовании бактерий. Это чаще всего касается мазков из шейки матки и других органов и тканей, различного рода экссудатов. Мазки готовят разными способами. В тех случаях, когда материал жидкий, наносят его каплю на чистое предметное стекло и размазывают, пользуясь краем другого предметного стекла (лучше шлифованного). Если материал очень густой (например, гной), то его либо разводят физиологическим раствором и тогда поступают, как в первом случае, либо размазывают тонким слоем по предметному стеклу при помощи петли или стеклянной палочки. Наконец, можно готовить мазки-отпечатки, для чего чистое предметное стекло прикладывают непосредственно к серозному покрову, слизистой оболочке или к свежей поверхности разреза какого-либо органа (ткани). При наличии жидкого содержимого (экссудат, моча и пр.) его рекомендуют центрифугировать и из осадка готовить мазки.

Полученные по одному из вышеуказанных способов мазки тщательно высушивают и затем фиксируют сухим жаром. Фиксация достигается посредством несильного нагревания (примерно 70°С) предметного стекла, которое для этого трижды проводят над пламенем спиртовки мазком вверх. Можно фиксировать мазки и в 96° спирте (10-15 мин).

Фиксированные мазки сохраняются в течение какого угодно времени.

Окрашенные мазки исследуют с иммерсионным объективом. При желании заключают в бальзам: на окрашенный и хорошо высушенный мазок наносят каплю бальзама и помещают под покровное стекло.

Окраска метиленовым синим Лефлера Ход окраски

1. Наливают на фиксированный мазок 0,1% водный раствор метиленового синего на 3-5 мин. Краску можно не фильтровать.
2. Сливают краситель и препарат основательно споласкивают в водопроводной воде.
3. Мазок просушивают фильтровальной бумагой.

Окраска по Граму Ход окраски

1. Наливают на фиксированный мазок карболовый или анилиновый генциановый фиолетовый краситель (или кристаллический фиолетовый) на 2-3 мин.

Во избежание осадка окрашивают через фильтровальную бумагу.

Очень удобно работать с полосками фильтровальной бумаги, предварительно пропитанной 1% спиртовым раствором одного из вышеуказанных красителей и затем высушенной. Таковую окрашенную и высушенную бумагу накладывают на мазок и смачивают дистиллированной водой. Продолжительность окрашивания остается прежней (2-3 мин).

2. Сливают краску, аккуратно удаляют фильтровальную бумагу и быстро споласкивают в водопроводной воде (15-30 с).

3. Обрабатывают, наливая на мазок раствор Люголя, 1-2-3 мин.

4. Споласкивают в водопроводной воде (не обязательно).

5. Дифференцируют 96° спиртом, наливая и сливая его, пока не отойдет синяя краска и не обесцветится мазок (приблизительно 20-40-60 с). Во время дифференцировки препарат постоянно покачивают.

6. Хорошо споласкивают в воде.

7. Дополнительно окрашивают (для выявления грамтрицательных бактерий) либо 0,5% водным раствором нейтрального красного (нейтраль-рот), либо разведенным (в 10 раз) карбол-фуксином Циля (1-2-3 мин).

а) 96% этанол;

б) 100% этанол;

в) 10% формалин;

г) смесь Никифорова;

д) метанол.

3. Качество окрашивания цитологических препаратов зависит от:

а) вида, состава, концентрации красителя;

б) продолжительности окрашивания;

в) времени изготовления препаратов;

г) pH среды;

д) температуры воздуха в процессе окрашивания;

е) всего вышеперечисленного.

4. Для цитохимических исследований используется фиксатор:

а) метанол;

б) этанол 70%;

в) формалин 10%;

г) специальные фиксаторы;

д) смесь Никифорова.

Модуль 6

Критерии цитологической диагностики

- Разрозненно.
- В скоплениях.

- В структурах.

Разрозненное расположение означает, что клетки лежат в препаратах поодиночке, отдельно друг от друга; расположение в скоплениях - клетки прилегают друг к другу, но достаточно свободно, не образуя структур; расположение в структурах - клетки связаны между собой в образования определенного вида:

- Пласты.
- Сотоподобные структуры (рис. 6.1).
- Палисадообразные структуры (клетки располагаются в виде полосы с «частоколом» ядер).
- Сосочкоподобные (папиллярные) структуры (клетки обволакивают друг друга).
- Железистоподобные структуры (структуры округлые, ядра расположены эксцентрически, в центре - секрет, бесструктурное вещество).
- Шаровидные структуры.
- Фолликулярные (фолликулоподобные) - клетки располагаются по периферии, в центре структуры - секрет.
- В виде розеток (однослойная структура, основная часть клеток образует круг, несколько клеток располагаются в центре).

Для доброкачественных поражений характерно правильное, упорядоченное расположение клеток, примерно одинаковое расстояние между ними, сходные размеры клеток и ядер, образующих структуру.

Для злокачественных новообразований характерны структуры, которые называются комплексами (встречаются при раке, опухоли из эпителиальной ткани) или пучками (встречаются при саркоме, опухоли из неэпителиальной ткани - соединительной, мышечной, нервной).

Клетки в комплексах нагромождаются друг на друга, отсутствует упорядоченность их расположения. В зависимости от морфологических особенностей комплексы могут быть:

- В виде пластов (рыхлое неупорядоченное расположение клеток):
 - неопределенной формы (рис. 6.2);
 - в виде «булыжной мостовой»;
- Изменение характера окрашивания цитоплазмы (неравномерное окрашивание разных участков).

2. Образование комплексов из клеток - структур, отличных от нормальных:

- Разное расстояние между клетками.
- Нагромождение клеток.
- Потеря полярности - ядра клеток ориентированы в разных направлениях.

3. Изменение фона препарата; для многих злокачественных опухолей характерен так называемый опухолевый диатез - реакция соединительной ткани на инвазию (прорастание опухоли). Эта реакция выражается в появлении зернистых масс, лейкоцитов, эритроцитов, что создает вид «грязного» фона.

Сравнительная характеристика доброкачественных и злокачественных состояний приведена на рис. 6.5-6.14.

ВОПРОСЫ. МОДУЛЬ 6

1. Перечислить исследования, осуществляемые с помощью цитологического метода.

2. Перечислите основные критерии злокачественной опухоли.

Тест

Цитологическое исследование состоит из:

- а) обработки материала;
- б) приготовления препарата;
- в) окраски;
- г) микроскопии;
- д) трактовки цитограммы и заключения;
- е) всего перечисленного.

Модуль 7

Цитологическое исследование некоторых органов

Эпителий влагалища в наибольшей степени подвержен гормональным воздействиям, поэтому на изучении клеточного состава этого эпителия основана гормональная цитологическая диагностика.

В связи с тем, что по мере дифференцировки и созревания клеток размер цитоплазмы увеличивается, а размер ядра уменьшается:

- клетки с крупным ядром и необильной цитоплазмой в цитологических препаратах сохраняют округлую форму (1-3).
- клетки с мелким ядром и обильной цитоплазмой принимают неправильно округлую или полигональную форму; цитоплазма располагается свободно, ложится складками, контуры ее становятся неровными (4-6).
- накопление гликогена в клетках поверхностного слоя изменяет характер окрашивания цитоплазмы (при окрашивании по

Папаниколау - в розовые тона, при окрашивании по методу Романовского - в светло-голубые, почти бесцветные, тона).

Зона стыка

Область шейки матки, в которой цилиндрический эпителий эндо-цервикса соединяется с плоским эпителием влагалищной части, называют зоной стыка или естественной зоной стыка. У девочек естественная зона стыка расположена в цервикальном канале, у женщины репродуктивного возраста - на уровне наружного зева. Зона стыка под действием гормональных и других факторов может переместиться на влагалищную часть шейки матки. В постменопаузе зона стыка может опять сместиться в цервикальный канал. Появление цилиндрического эпителия на влагалищной части шейки называют эктопией.

Зона трансформации (превращения)

Под действием содержимого влагалища участок эктопии подвергается физиологическим изменениям, метаплазии в плоский эпителий (рис. 7.6). Участок, покрытый незрелым метаплазированным эпителием, носит название зоны трансформации или зоны превращения. У женщин репродуктивного возраста зона стыка, как правило, представлена участками естественной зоны стыка и участками зоны трансформации (метаплазированным эпителием). Зона трансформации может располагаться на влагалищной части шейки матки, а может полностью или частично «уходить» в цервикальный канал. У женщин в постменопаузе зоны стыка и трансформации чаще всего располагаются в цервикальном канале. Зона трансформации

наиболее «опасна» с точки зрения возможности патологических изменений, в том числе рака.

Важно, чтобы в мазок попал материал из зоны трансформации, так как около 90% неопластических состояний исходят из зоны стыка плоского и цилиндрического эпителия и зоны трансформации, и только 10% - из цилиндрического эпителия цервикального канала.

Приготовление, фиксация мазков, жидкостная цитология, окрашивание мазков

Материал необходимо распределить тонким слоем, важно, чтобы весь он оказался на стекле. При получении материала отдельно из экто- и эндоцервикса его распределяют вдоль или поперек одной из половинок стекла (рис. 7.10).

Фиксация мазков

Если мазки предполагают окрашивать по методу Папаниколау, их необходимо зафиксировать влажными, сразу после получения (влажная фиксация). Фиксацию проводят специальными аэрозолями или фиксатором в капельной форме (фиксатор наносят на влажную поверхность мазка) (рис.7.11). Можно зафиксировать мазки, поместив их после получения в кювету с 96° этиловым спиртом на 10-20 мин. Затем мазки высушивают на воздухе.

Если мазки предполагают окрасить методом Романовского (модификации Лейшмана, Май-Грюнвальд-Гимзы, Паппенгейма), после получения их высушивают на воздухе (сухая фиксация).

Если предполагается окрашивание гематоксилином и эозином, можно использовать как сухую, так и влажную фиксацию мазков.

Жидкостная цитология

В настоящее время все чаще применяют метод жидкостной цитологии. Главное отличие данного метода от традиционного в том, что материал не наносят сразу на стекло, а помещают во флакон со стабилизирующим раствором (рис. 7.12). Стабилизирующий раствор обеспечивает сохранение морфологических, иммуноци-

тохимических и генетических свойств клеток. В лаборатории готовят монослойные препараты, предварительно стандартизовав образец по клеточности и с помощью цитоцентрифуги типа центрифуги «Cytospin», «Rotofix» и др. Можно сначала сделать мазки стандартным способом, а оставшийся на щетке (шпателе) материал поместить в стабилизирующий раствор и обработать описанным выше методом.

Окрашивание мазков

У каждого из методов окрашивания есть свои преимущества и недостатки.

Метод окрашивания по Папаниколау лучше всего подходит для гинекологических мазков, так как позволяет оценить степень зрелости цитоплазмы (от сине-зеленого цвета в незрелых клетках до розового в клетках со зрелой цитоплазмой и оранжевого в клетках с ороговением). Благодаря влажной фиксации хорошо сохраняются ядра, клеточная мембрана и структура хроматина.

Окрашивание по методу Романовского (азур-эозиновой смесью) используют в разных модификациях: по Паппенгейму (Май-Грюнвальд-Гимзе), Лейшману, Романовскому-Гимзе и др. Преимущество метода в четком прокрашивании ядерной субстанции, вследствие чего хорошо просматривается структура хроматина, а также бактериальной флоры и простейших. Поскольку существует множество модификаций, в тексте атласа при описании особенностей окрашивания клеток методом Романовского названы все методы, в которых применяют азур-эозиновую смесь.

Преимущество метода «гематоксилин - эозином» - в выраженном окрашивании атипичных ядер, поэтому его активно используют при скрининге.

Цитологические особенности эпителиальных клеток шейки матки

При взятии материала с поверхности слизистой оболочки шейки матки и цервикального канала в препарат для цитологического исследования попадают клетки с влажной части шейки матки (многослойный плоский неороговевающий эпителий), зоны стыка или трансформации (цилиндрический и при наличии плоскоклеточной метаплазии - метаплазированный эпителий) и собственно клетки цервикального канала (цилиндрический эпителий).

Клетки плоского эпителия

Мазки для цитологического исследования получают с поверхности слизистой оболочки, поэтому их клеточный состав представлен слущенными клетками. Чем лучше выражена способность эпителия к созреванию, тем более зрелые клетки попадают в мазок. При атрофических изменениях на поверхности эпителиального пласта располагаются менее зрелые клетки (рис. 7.13).

Маркировка, доставка и обработка материала в цитологической лаборатории

Цитологический материал доставляют в лабораторию в ближайшие сроки после его получения. Особенно это относится к содержимому кист и любому кровянистому материалу. Для доставки необходимо иметь специальные контейнеры для предметных стекол, пробирки. Не допускается контакт нативного материала, в том числе подсушенного предметного стекла, с бланком-направлением.

Полученный материал доставляют в лабораторию с бланком-направлением, в котором должны быть представлены паспортные данные обследуемой пациентки, диагноз, проведенное лечение, точно должны быть указаны локализация участка, откуда был взят материал, и способ его получения.

Лаборант, который принимает материал, должен проверить маркировку препаратов, пробирок и т.д., оформление направления, отметить характер и количество биоматериала, число присланных мазков.

Приготовление препаратов

Правила приготовления препаратов едины вне зависимости от того, делается мазок специалистом, получившим материал, или готовится в лаборатории.

Хороший мазок должен быть максимально тонким (максимально приближающимся к однослойному), равномерной толщины (не волнообразным) на всем протяжении. Материал распределяется по стеклу краем шлифованного стекла или ребром иглы.

Мазок должен начинаться на 1 см от узкого края предметного стекла и заканчиваться примерно в 1,5 см от другого края; мазок не должен достигать широкого края стекла, между мазком и широким краем предметного стекла должно оставаться расстояние не менее 0,3 см.

Жидкости, полученные при пункции, тут же центрифугируют, сливают верхний слой центрифугата, а из осадка делают мазки с помощью специального шлифованного стекла или пластинки (методика приготовления препаратов аналогична мазкам крови). При этом получают тонкие препараты со щеточкой по краю для цитологического исследования.

Обкладочные (париетальные) клетки - крупные клетки с внутриклеточными выводными протоками. Они активно переносят из внутренней среды во внешнюю ионы водорода, за которыми следуют ионы хлора.

Добавочные или слизистые клетки (мукоциты) - цилиндрические (призматические), продуцируют слизь, сходны с покровно-ямочными клетками.

Нейроэндокринные клетки расположены в области дна железы, синтезируют гастрин и секретин. Эти клетки можно дифференцировать в цитологических препаратах только с помощью иммуно-цитохимических исследований или при опухолях (например, при карциноиде), когда они в препаратах располагаются полями и имеют характерное строение.

Получение и обработка материала для цитологического исследования

Материалом для цитологического исследования при заболеваниях желудка служит материал, полученный при гастроскопии (отпечатки с биоптатов, соскобы щеткой). Мазки делает медсестра или врач эндоскопической диагностики. Окрашивают препарат по Романовскому или гематоксилин-эозин.

Цитологические особенности основных клеточных элементов в материале гастроскопии

Клетки покровно-ямочного эпителия (рис. 7.50), их характеристика:

- Располагаются в пластах.
- Цитоплазма небильная.
- Ядра округло-овальные, среднего размера.
- Хроматин распределен равномерно. Клетки эпителия желез (рис. 7.51) Главные:
 - Форма неправильная.
 - Ядра округлые.
 - В цитоплазме обильные базофильные гранулы (пепсиногена). Обкладочные:
 - Округлой формы.
 - Крупные, с обильной цитоплазмой.
 - Ядра округлые, расположены центрально.
 - Цитоплазма окрашивается в разные оттенки - от розового до серого.

ВОПРОСЫ. МОДУЛЬ 7

1. Каким эпителием выстлана стенка влагалища:

- а) многослойным плоским ороговевающим эпителием;
- б) многослойным плоским неороговевающим эпителием;
- в) многорядным мерцательным эпителием;
- г) переходным эпителием;
- д) однорядным мерцательным эпителием.

2. Каким дням менструального цикла соответствует картина: промежуточные клетки, небольшое количество поверхностных, отдельные парабазальные клетки, лейкоциты немногочисленны и в небольшом количестве палочки Дедерлейна:

- а) 4-6-й день;
- б) 7-10-й день;
- в) 11-14-й день;
- г) 15-18-й день;
- д) 19-23-й день.

3. Каким дням менструального цикла соответствует картина: преимущественно поверхностный эпителий, редко лейкоциты, фон мазка чистый, значительное количество палочек Дедерлейна:

- а) 4-6-й день;
- б) 7-10-й день;
- в) 11-14-й день;
- г) 15-18-й день;
- д) 19-23-й день.

4. Каким эпителием выстлана трахея и крупные бронхи:

- а) многослойным плоским ороговевающим эпителием;
- б) однослойным плоским эпителием;
- в) многослойным плоским неороговевающим эпителием;
- г) многорядным мерцательным эпителием.

ОТВЕТЫ

Модуль 1

Ответы в тексте

Модуль 2.

Вопросы 1-7 - Ответы в тексте Тесты:

- 1. г;
- 2. в;
- 3. д;
- 4. в;
- 5. в;
- 6. б.

Модуль 3

1. Ответы:

- а) эпителиальная;
- б) соединительная;
- в) мышечная;
- г) нервная.

2. Ответы:

- а) образование пластов и формирование железистых структур, продукция кератогиалина или слизи;
- б) продукция межклеточного вещества, образование волокон;
- в) способность к сокращению, зрелые клетки вытянутой формы, часть с формированием пучков;
- г) исключительное разнообразие клеточных форм, часто цитоплазма с отростками.

3. Ответы:

- а) многослойный неороговевающий эпителий;
- б) многослойный ороговевающий эпителий;
- в) однослойный плоский эпителий;
- г) многорядный мерцательный эпителий;

д) переходный эпителий. Тест

1. в.

Модуль 4

Тесты

1. д;

2. в;

3. а;

4. а;

5. б;

6. д;

7. д;

8. г;

9. а;

10. б;

11. а;

12. г;

13. д;

14. г;

15. в;

16. д;

17. в;

18. г;

19. б.

Модуль 5

1. г;

2. в;

3. е;

4. а.

Модуль 6

1. Ответы:

а) эксфолиативная цитология;

б) пункционная цитология;

в) эндоскопическое исследование;

г) мазки-отпечатки биопсийного и операционного материала.

2. Ответы в тексте. Тест

1. е.

Модуль 7

1. б;

2. а;

3. в;

4. г.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Полонская Н.Ю., Егорова О.В. Основы цитологической диагностики и микроскопическая техника. - М.: Медицина, 2005.

2. Почтарь М.Е., Луговская С.А., Морозова В.Т. Цитохимическая диагностика в лабораторной гематологии. Методическое руководство. Атлас. - С.-Пб., 2003.

3. Руководство по цитологической диагностике опухолей человека./ Под ред. Петровой А.С. - М.: Медицина, 1976.

4. Справочник по клиническим лабораторным методам исследования. /Под ред. Е.А. Кост. - М.: Медицина, 1975.

5. Шабалова И.П., Касоян К.Т. Цитологическая диагностика заболеваний шейки матки. - М.: Триада, 2006.

6. Шабалова И.П., Джангирова Т.В., Волченко Н.Н., Пугачев К.К. Цитологическая диагностика заболеваний молочной железы. - М.: Триада, 2005.

7. Шапиро Н.А. Цитологическая диагностика заболеваний легких. - М.: Репроцентр, 2005.

8. Фаллер Д.М., Шилдс Д. Молекулярная биология клетки. Руководство для врачей, пер. с англ. - М.: Бином, 2003.

9. Хэм А., Кормак Д. Гистология. В 5 т., пер. с англ. - М.: Мир, 1983.

10. Kuehnel W. Color Atlas of Cytology, Histology and Microscopic Anatomy, 4th edition, Thieme Stuttgart , New York, 2003.

11. Jenny J., NG A.B.P. Gynekozytologie und Krebsvorsorge in der gynekologischen Praxis. Verlag Hans Huber, Bern, G[^]tingen, Toronto, Seattle, 1993.

12. Sraudt J., Merker H.-J. Funktionelle Anatomie und Histologie in Text und Bild, VEB Verlag Volk und Gesundheit Berlin, 1990.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ИЛЛЮСТРАЦИИ

Модуль 2

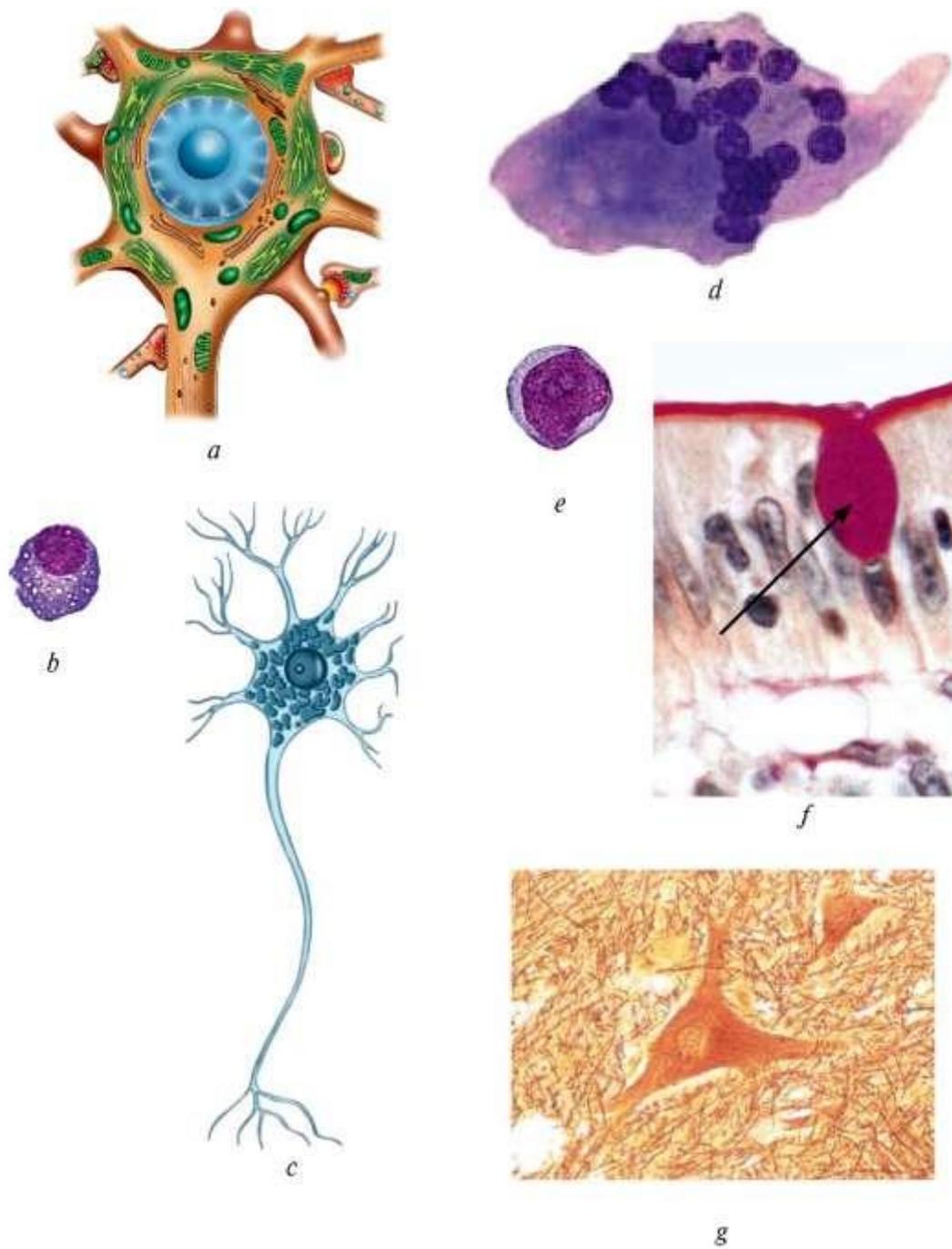


Рис. 2.1. Клетки разного размера и формы: *a*, *c* - в виде звезды с отростками, *b*, *e* - округлые, *d* - полигональная с множеством ядер, *f* - вытянутые клетки и бокаловидная клетка (отмечена стрелкой), *g* - клетки треугольной формы

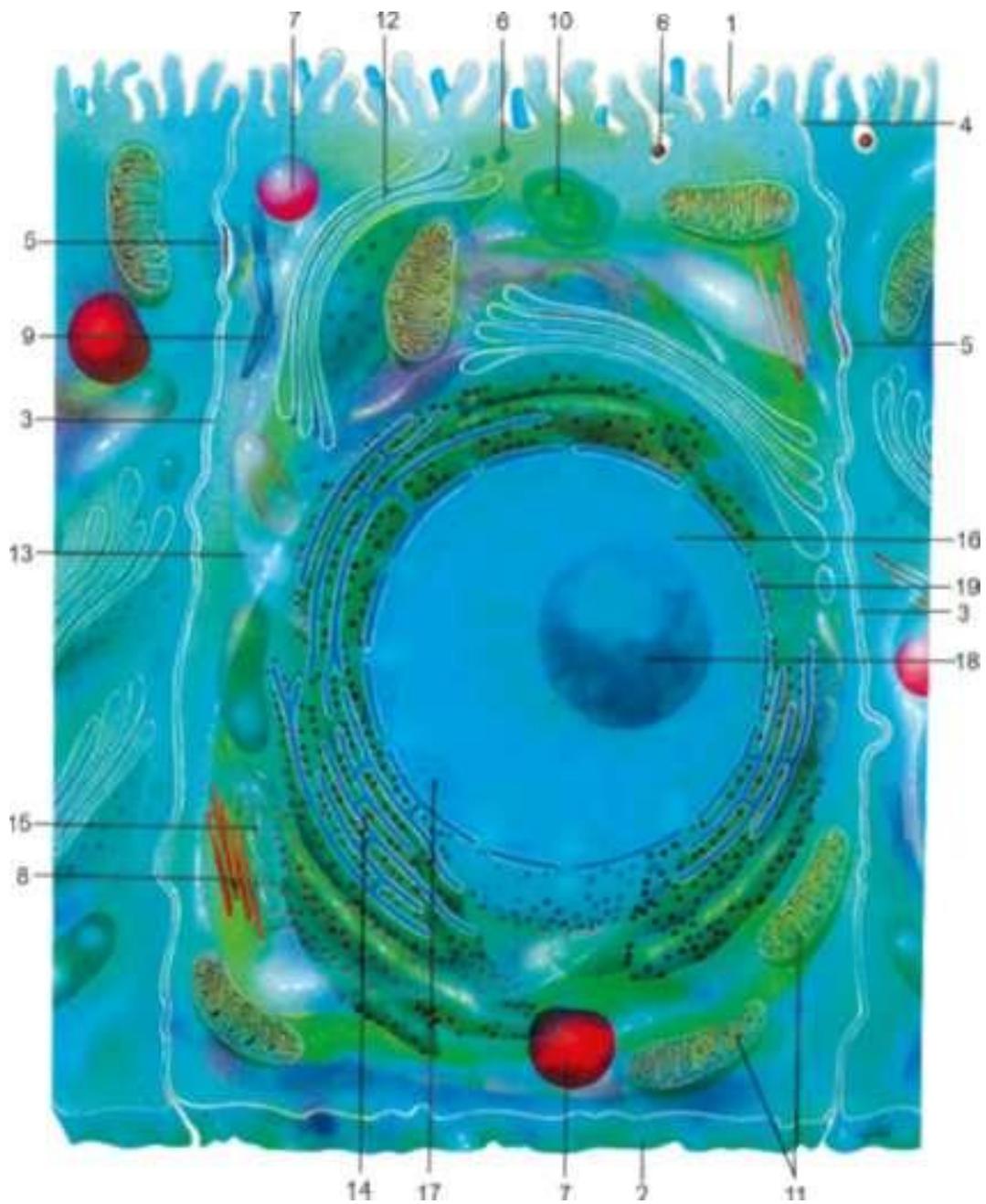


Рис. 2.2. Строение клетки: 1 - апикальная поверхность клетки; 2 - базальная поверхность клетки; 3 - латеральная поверхность клетки; 4 - плотное соединение; 5 - десмо-сома; 6 - эндоцитоз; 7 - лизосома; 8 - цитоскелет (микротрубочки); 9 - цитоскелет (филаменты); 10 - секреторная гранула; 11 - митохондрии; 12 - аппарат Гольджи; 13 - гиало-плазма (цитозоль); 14 - гранулярная эндоплазматическая сеть (эндоп-лазматический ретикулум); 15- гладкая эндоплазматическая сеть (эндоплазматический ретикулум); 16 - карิโอплазма ядра (эухроматин); 17 - гетерохроматин; 18 - ядрышко; 19 - мембрана ядра

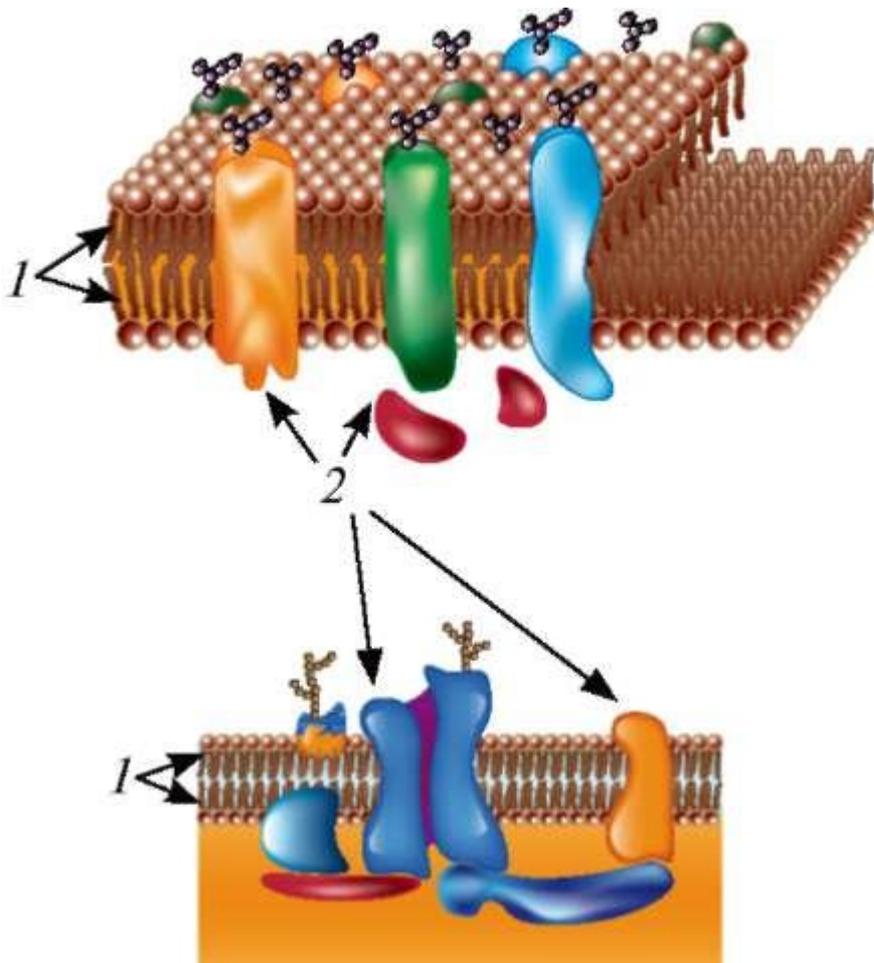


Рис. 2.3. Строение клеточной мембраны: двойной липидный слой (1) и мембранные белки (2)

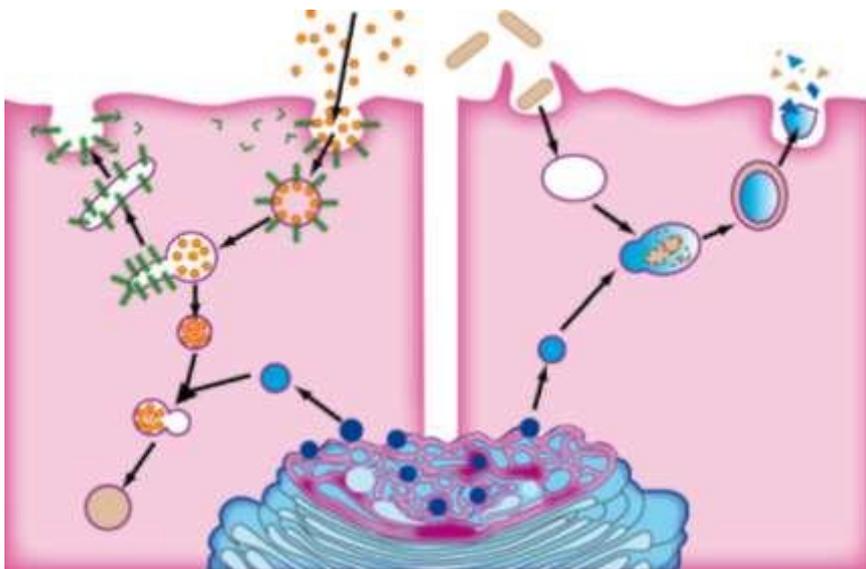


Рис. 2.11. Пиноцитоз (фагоцитоз) - описание в тексте

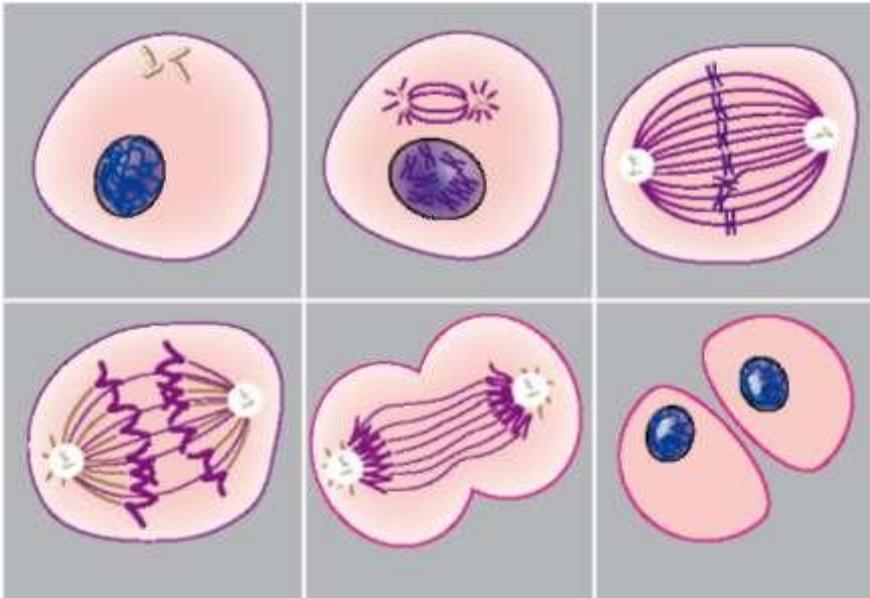


Рис. 2.12. Фазы митоза (схема) - описание в тексте

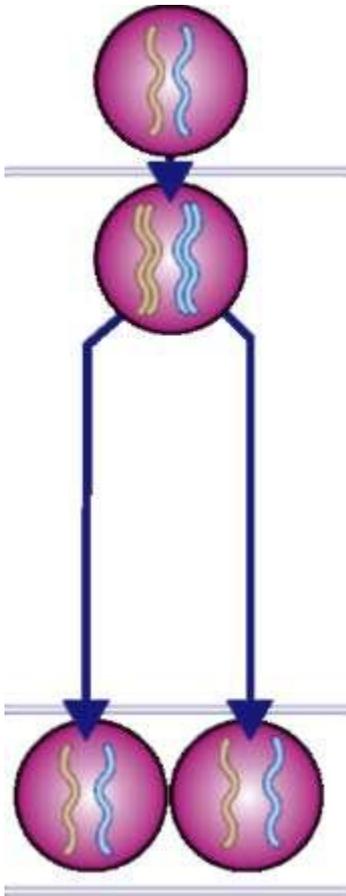


Рис. 2.13. Митоз - удвоение хромосом и распределение их в дочерние клетки

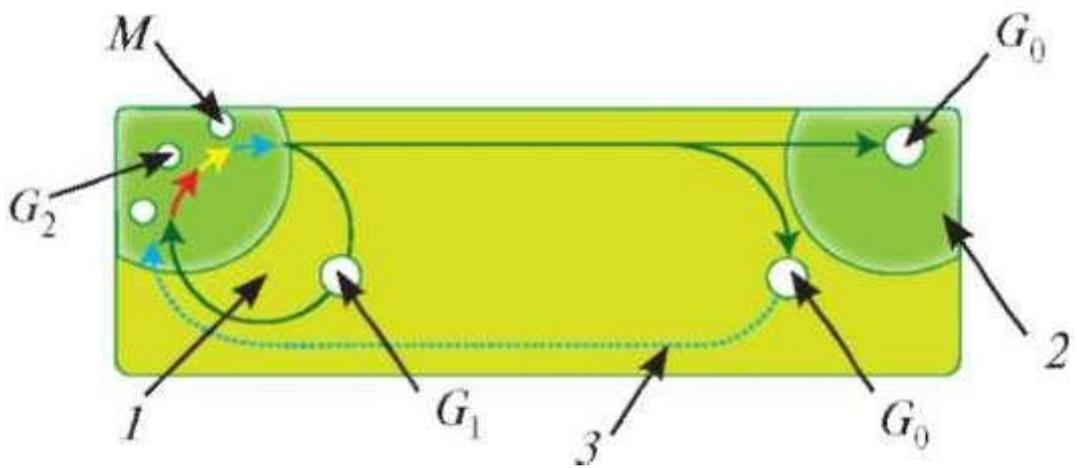


Рис. 2.14. Клеточный цикл и репликация (схема) Фазы G_0 - клетка вне клеточного цикла, G_1 - M (описание в тексте). 1 - постоянно делящаяся клетка, 2 - конечная дифференцировка клетки, 3 - возврат (факультативный) клетки к делению

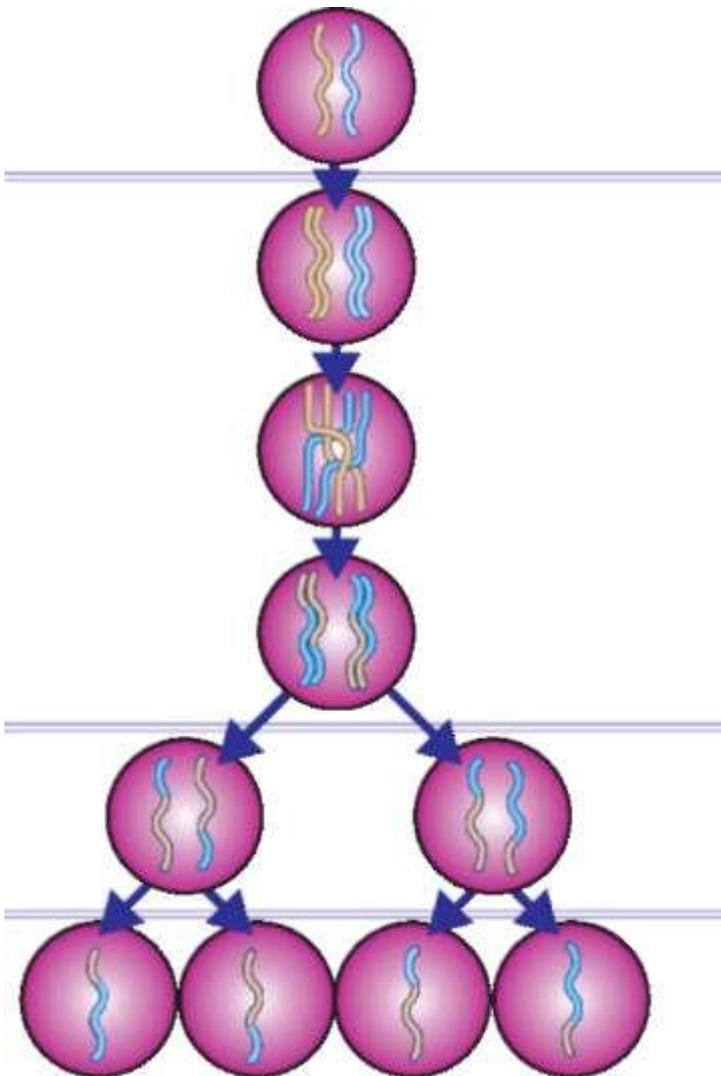


Рис. 2.15. Мейоз, деление половой клетки, в процессе которого образуется клетка с половинным (гаплоидным) набором хромосом

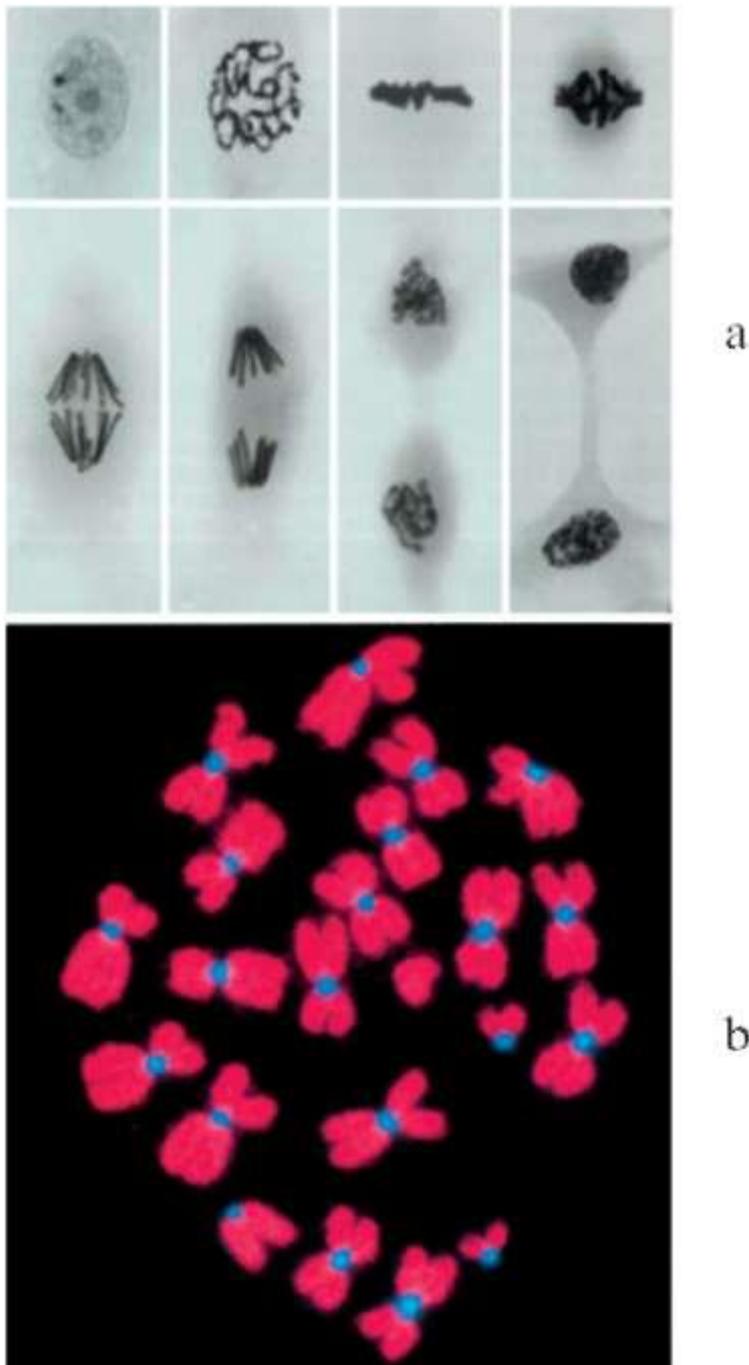


Рис. 2.16. а - фазы митоза, световая микроскопия (описание в тексте), б - хромосомы (митотическое ядро)

Модуль 3

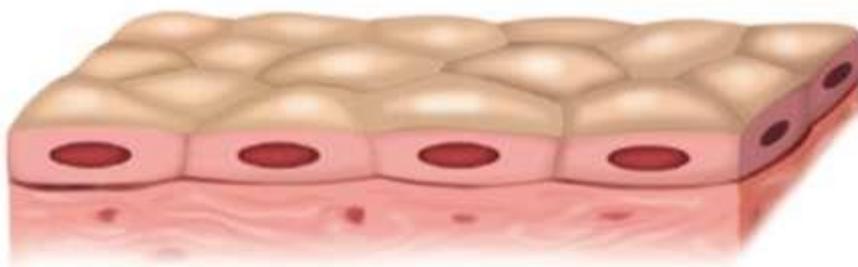
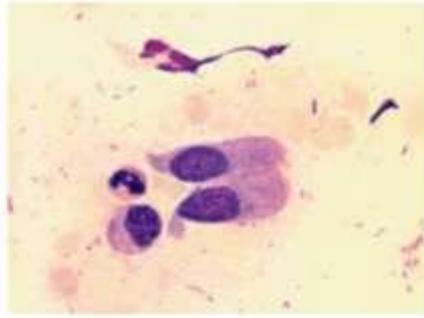
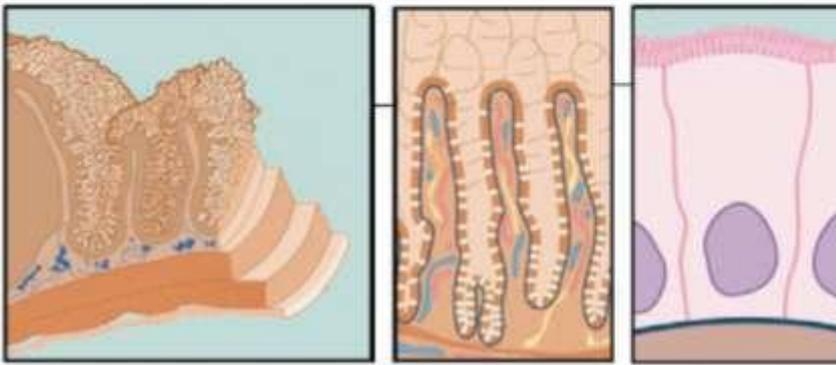


Рис. 3.1. Однорядный плоский эпителий, эпителиальные клетки отделены от соединительной ткани базальной мембраной



a



b

Рис. 3.2. Однорядный цилиндрический (призматический) эпителий. *a* - клетки вытянутой формы в цитологическом препарате, *b* - схема строения слизистой оболочки кишечника, справа - клетка, имеющая на апикальном крае щеточную кайму

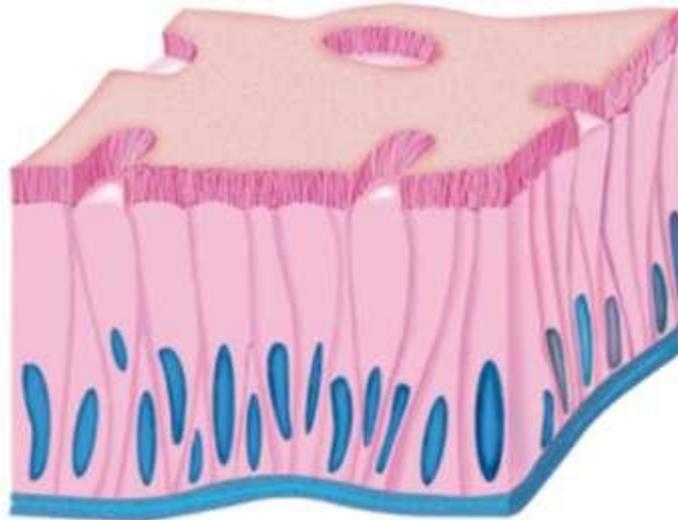


Рис. 3.3. Многорядный цилиндрический эпителий дыхательных путей. Реснички, расположенные на апикальном крае, образуют «ковер»

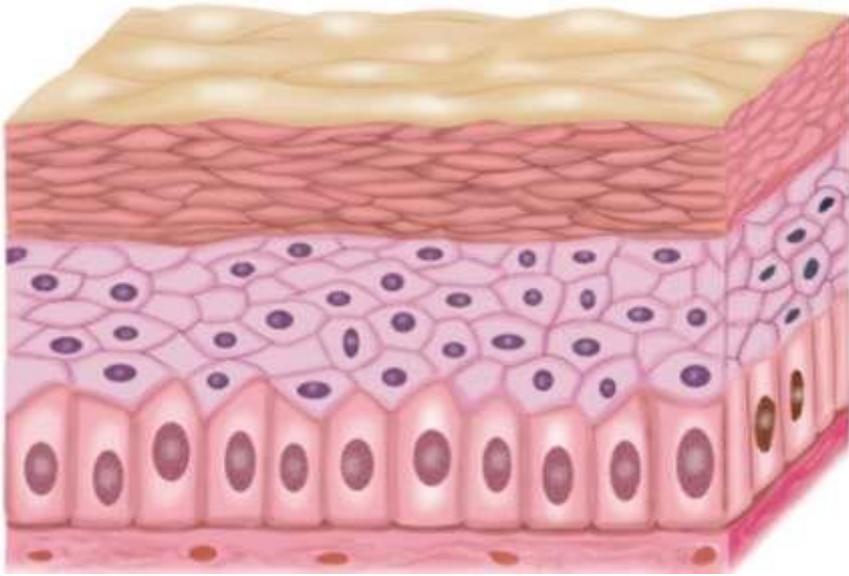


Рис. 3.4. Многослойный плоский эпителий с ороговением. Верхний слой составляют клетки, лишенные ядер (чешуйки)

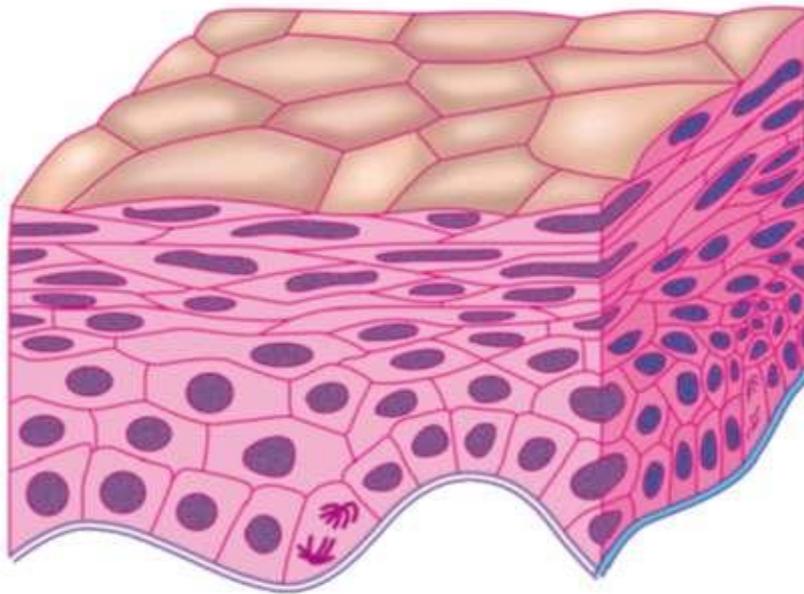
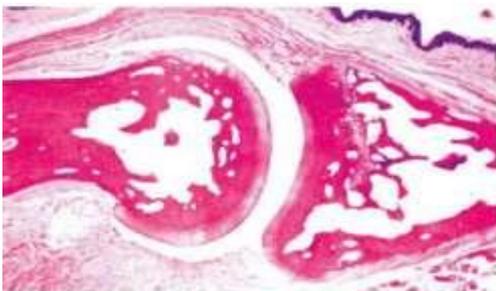
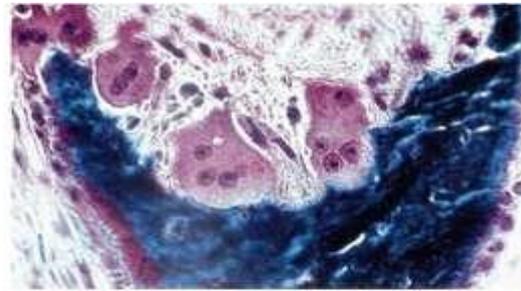


Рис. 3.5. Многослойный плоский эпителий без ороговения. Ядра имеются во всех клетках, в нижнем ряду (базальном) - клетка в состоянии митоза



a



b

Рис. 3.9. Опорные ткани (гистологические препараты) *a* - костная ткань, *b* - хрящевая ткань

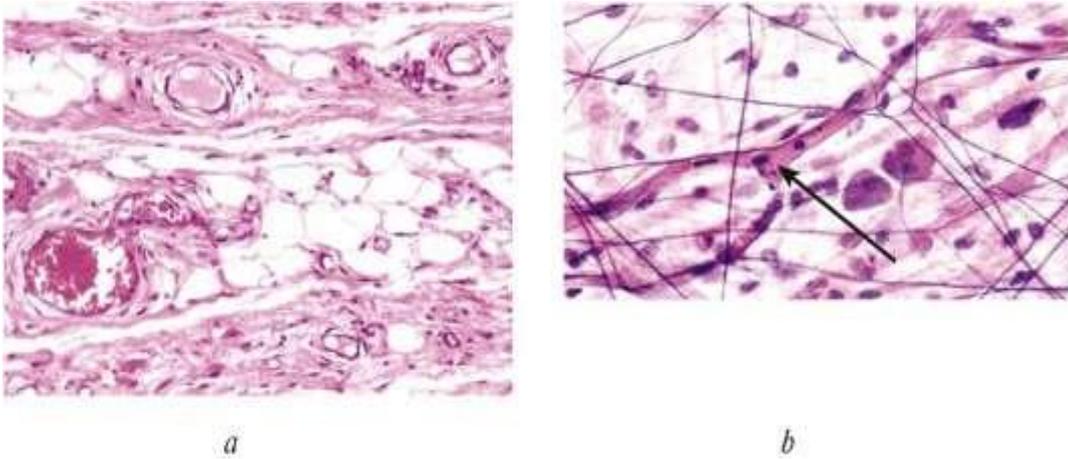


Рис. 3.10. Рыхлая соединительная ткань (гистологические препараты) *a* - сосуды, жировые клетки, *b* - волокна, ветвящийся сосуд С указан стрелкой), клетки рыхлой соединительной ткани

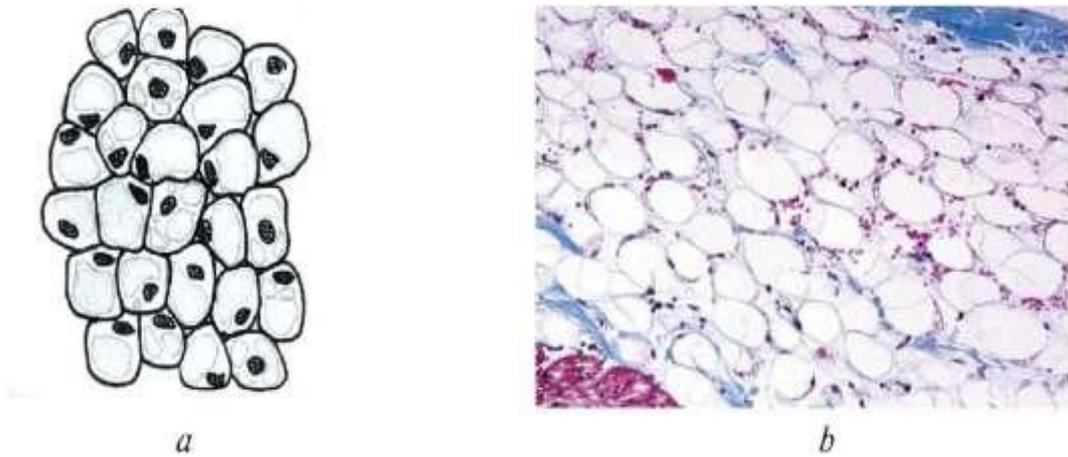


Рис. 3.11. Жировая ткань. *a* - схема, *b* - гистологический препарат. Клетки округлой формы с крупной вакуолью, оттесняющей ядро к периферии

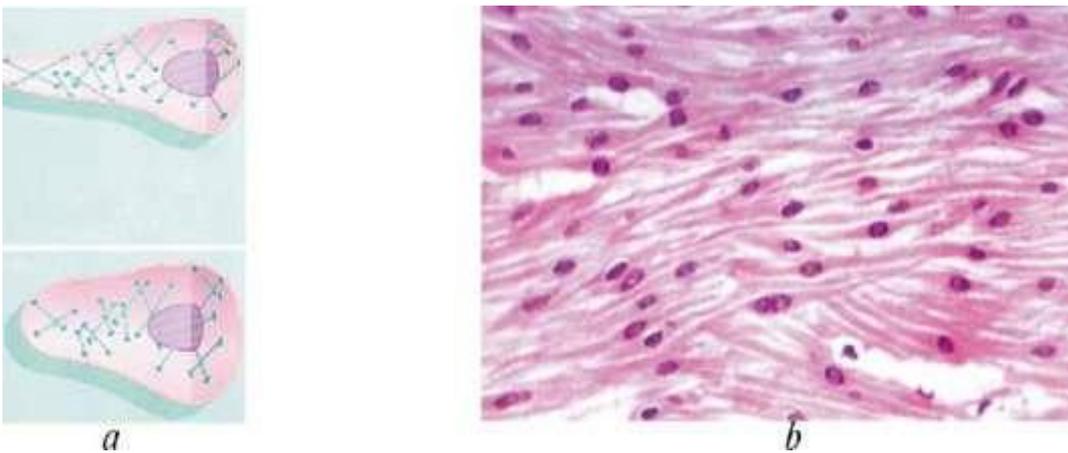


Рис. 3.12. Гладкая мышечная ткань. Клетки вытянутой формы с центрально расположенным ядром: *a* - схема сокращения клетки, *b* - гистологический препарат

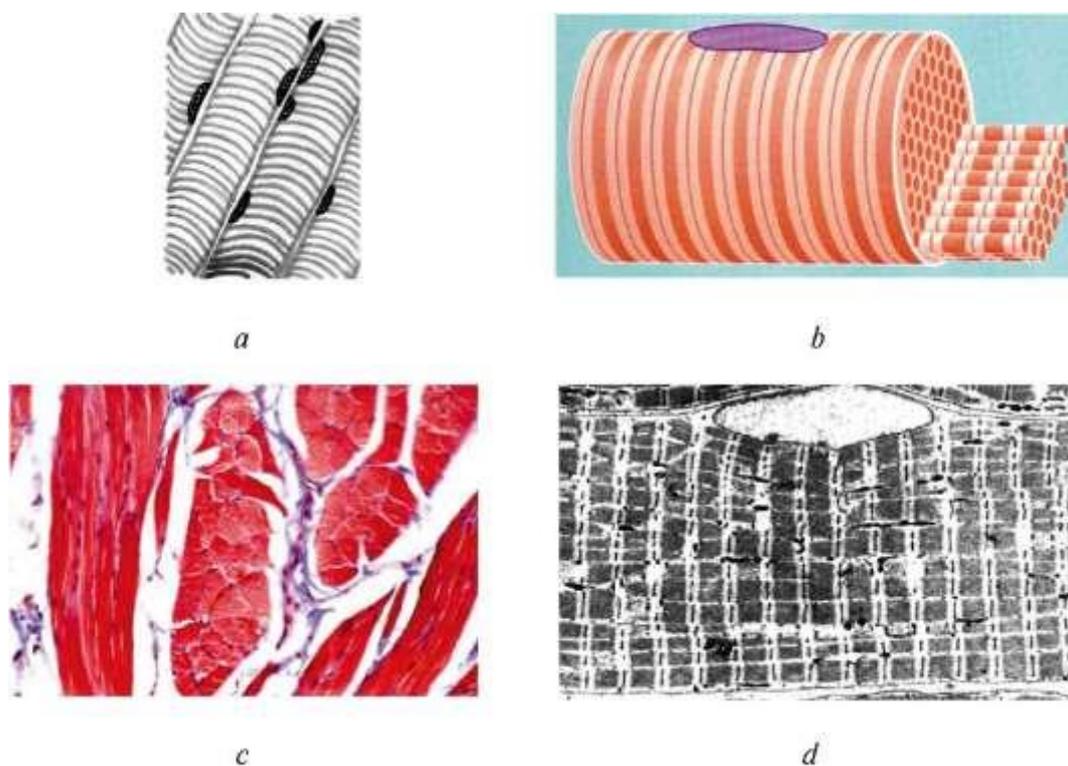


Рис. 3.13. Поперечно-полосатая мышечная ткань. *a* , *b* - схема строения, *c* - гистологический препарат, *d* - электронная микроскопия (описание в тексте)

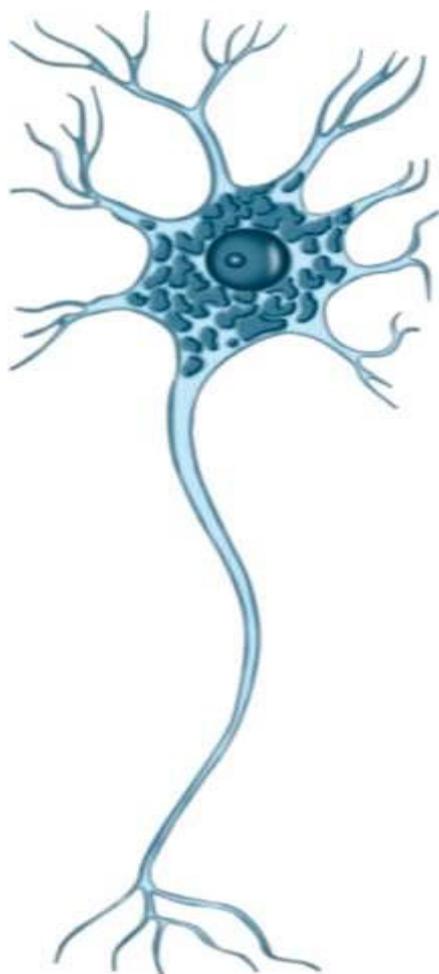


Рис. 3.14. Нервная клетка (нейрон) - схема. Клетка звездчатой формы с многочисленными отростками.

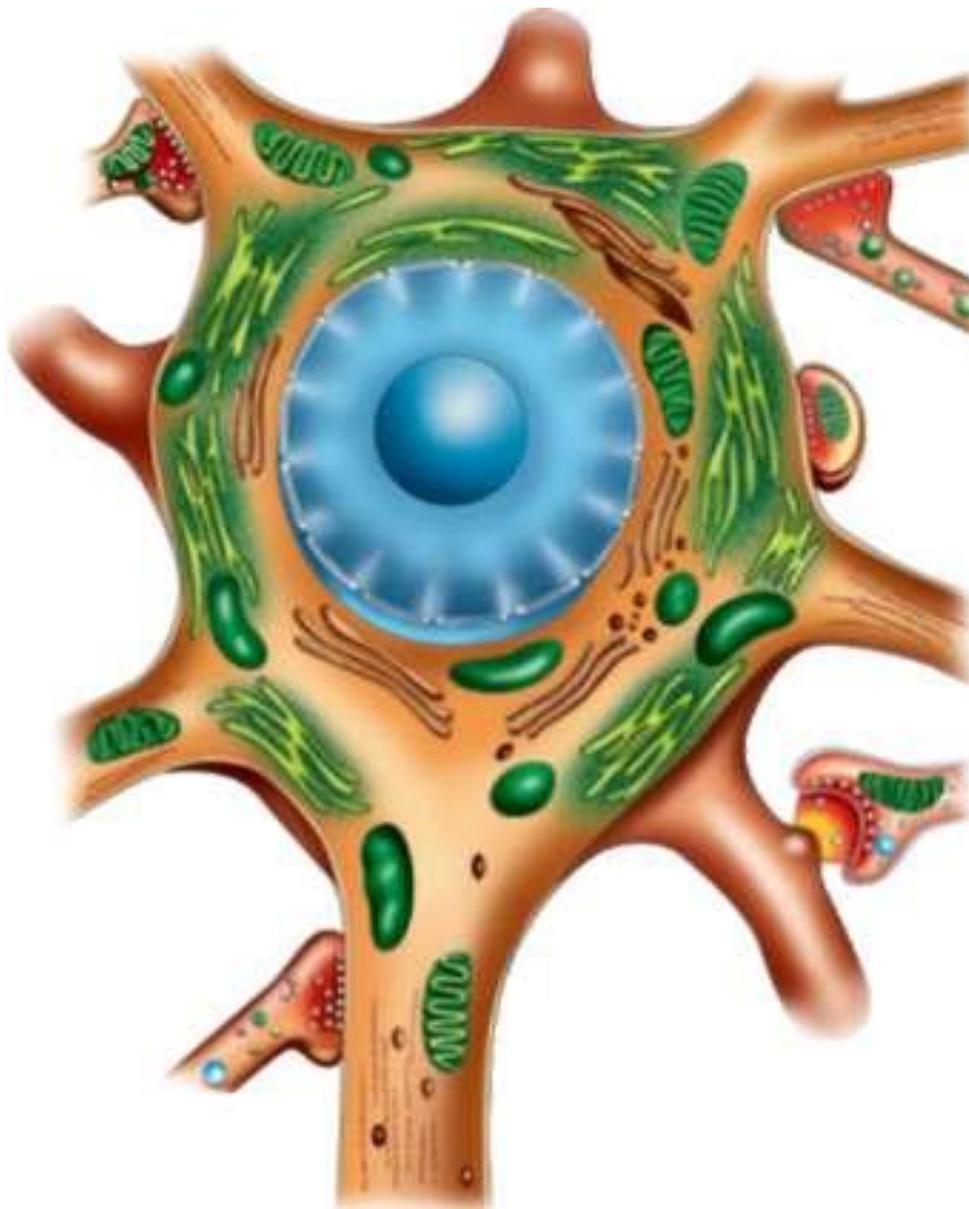


Рис. 3.15. Нервная клетка (нейрон) - схема. Клетка звездчатой формы с синапсами, участками присоединения нервных волокон, в которых происходит передача импульсов

Модуль 4

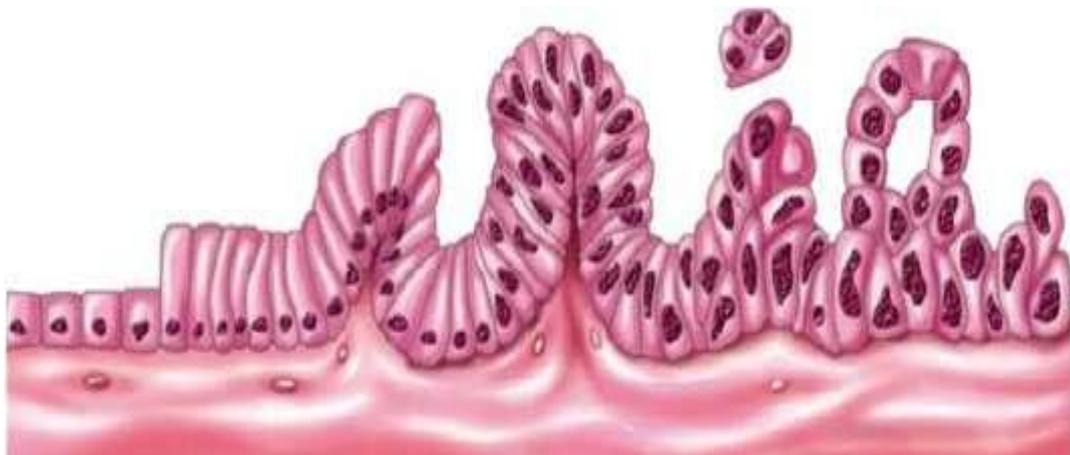


Рис. 4.1. Нарастание клеточной и структурной атипии в процессе злокачественной трансформации

Модуль 6

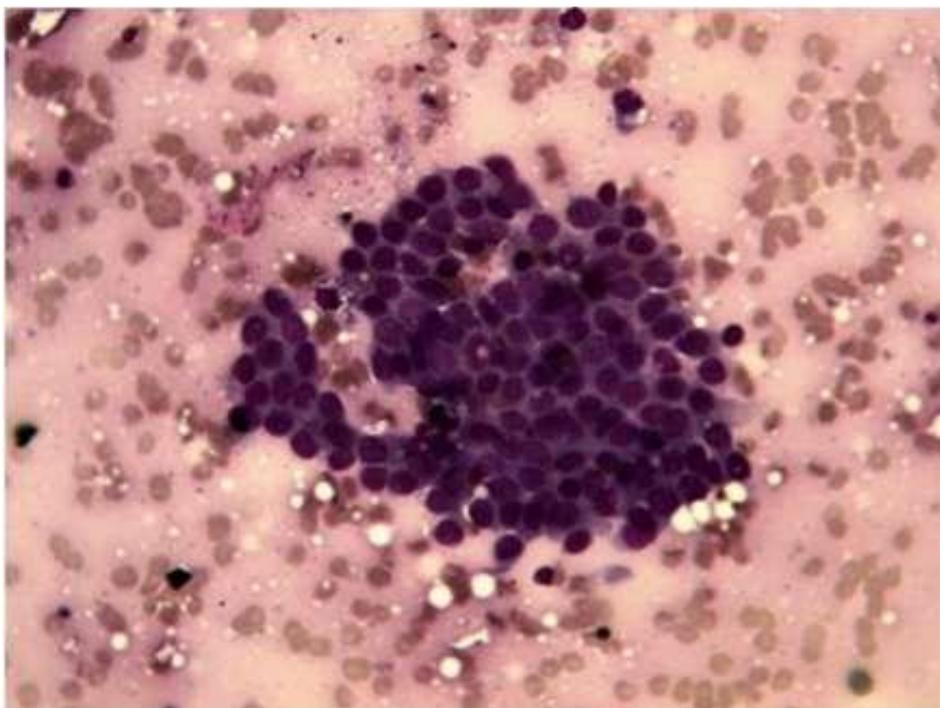


Рис. 6.1. Структура сотоподобная. Упорядоченное расположение клеток в виде пчелиных сот - клетки в форме шестигранников. Пунктат молочной железы - фиброзно-кис-тозная болезнь. Окрашивание по Романовскому. Увеличение -400

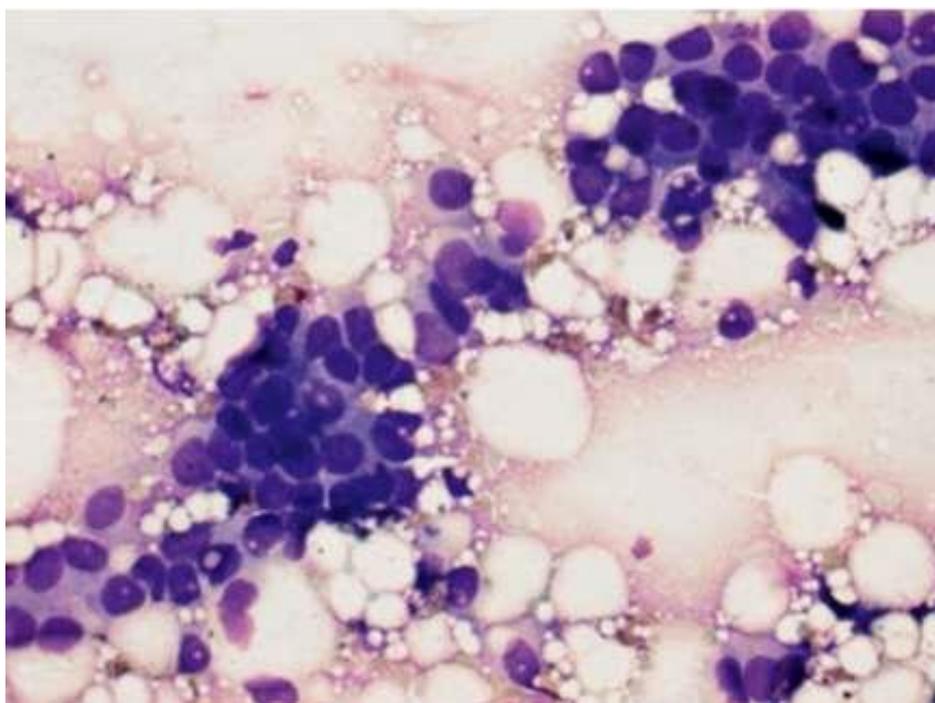


Рис. 6.2. Комплексы в виде пластов неопределенной формы. Клетки располагаются беспорядочно, нагромождаются друг на друга. Пунктат молочной железы - рак.

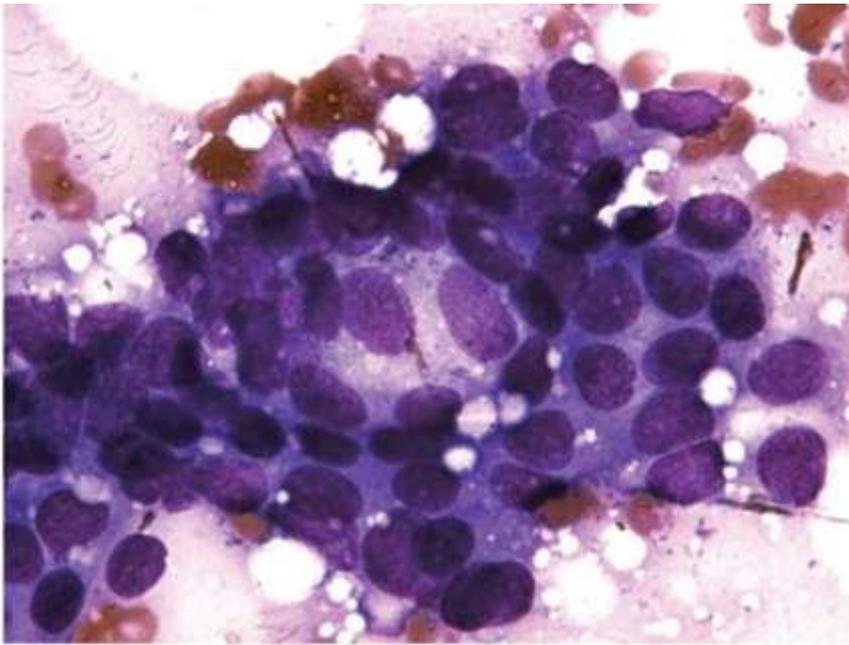


Рис. 6.5. Пунктат опухоли молочной железы. Окончательный диагноз - фибroadенома (доброкачественная опухоль). Структура в виде пласта неопределенной формы из клеток одинаковых размеров, располагающихся на одинаковом расстоянии друг от друга; ядра мономорфные овальные; хроматин распределен равномерно; ядрышки не видны. Окрашивание по Романовскому. Увеличение -1000

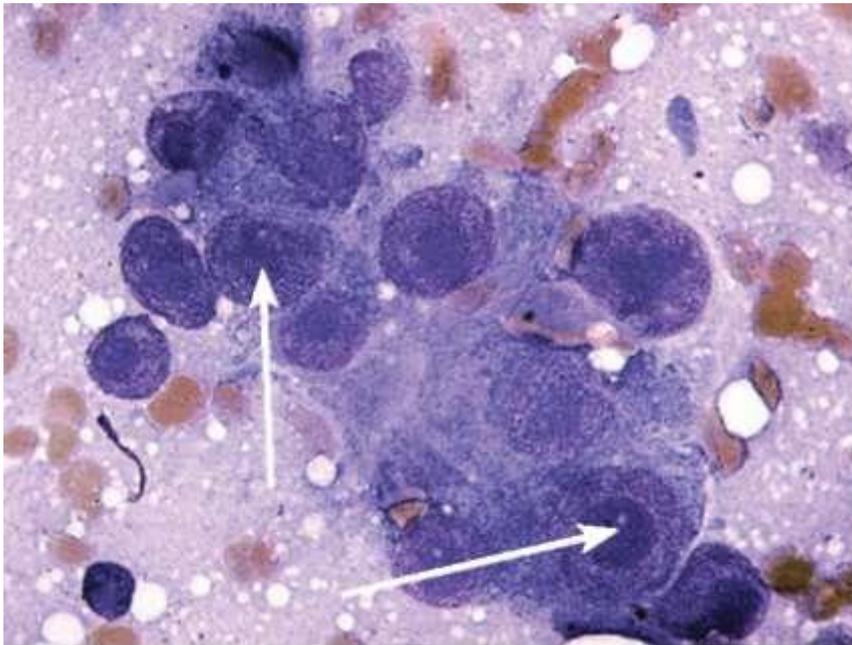


Рис. 6.6. Пунктат опухоли молочной железы. Окончательный диагноз - рак. Комплекс неопределенной формы из клеток разных размеров, располагающихся на разном расстоянии друг от друга; ядра различных размеров и формы; хроматин распределен неравномерно, видны крупные ядрышки (отмечены стрелками). Окрашивание по Романовскому. Увеличение -1000.

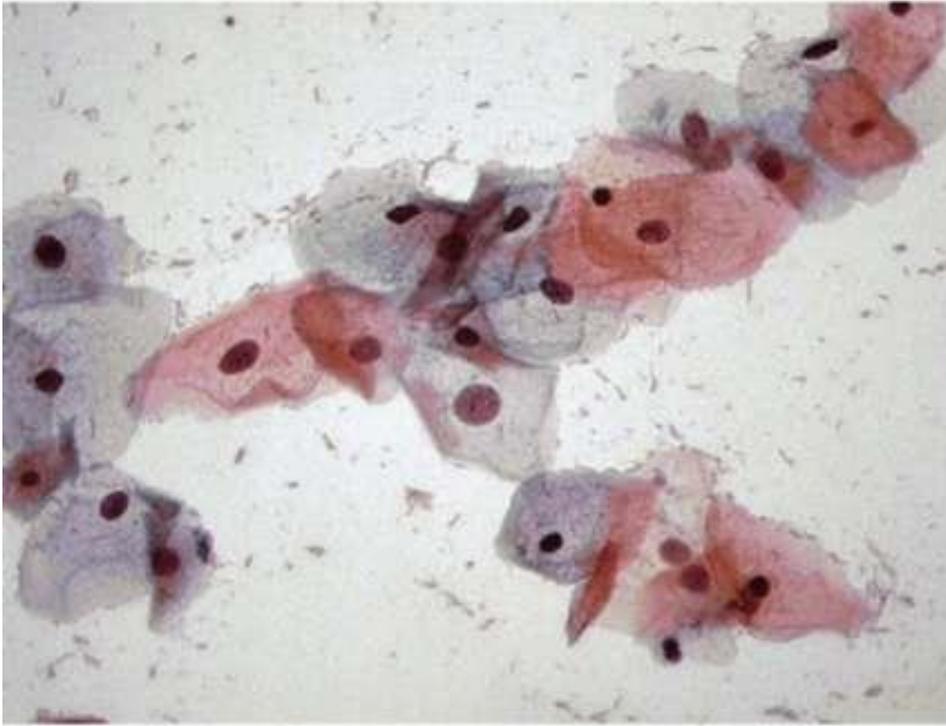


Рис. 6.7. Мазок из шейки матки. Норма. Зрелые клетки плоского эпителия крупного размера; ядра мелкие, правильной овальной и округлой формы, окрашены равномерно. Окрашивание по Папаниколау. Увеличение -400

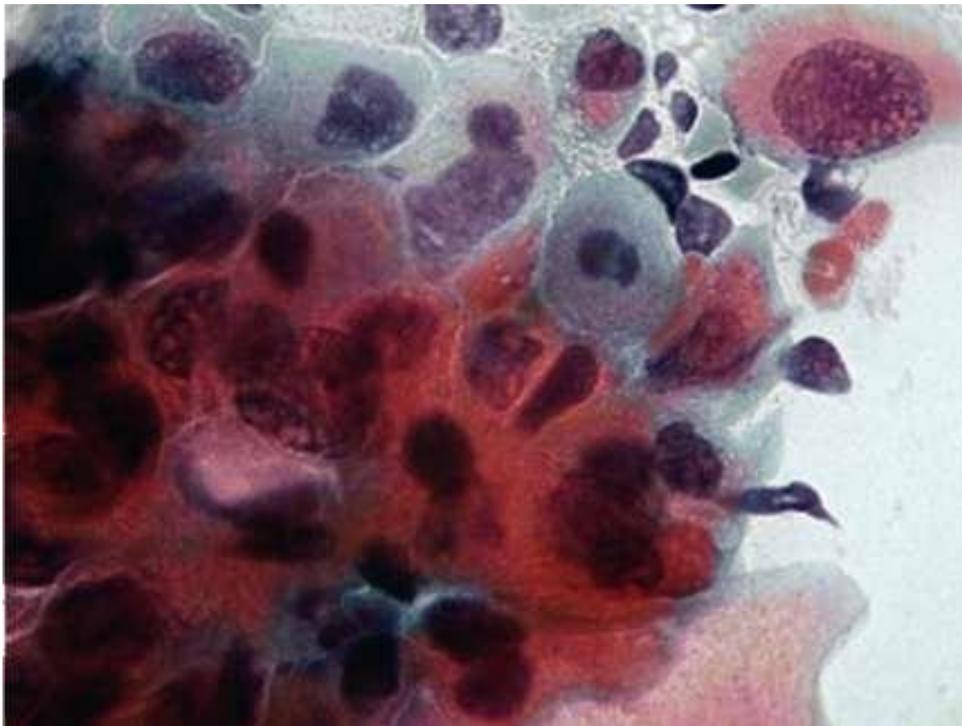


Рис. 6.8. Мазок из шейки матки. Рак. Клетки плоского эпителия среднего и мелкого размера; ядра разные по размерам, неправильной формы; хроматин распределен неравномерно. Окрашивание по Папаниколау. Увеличение -1000

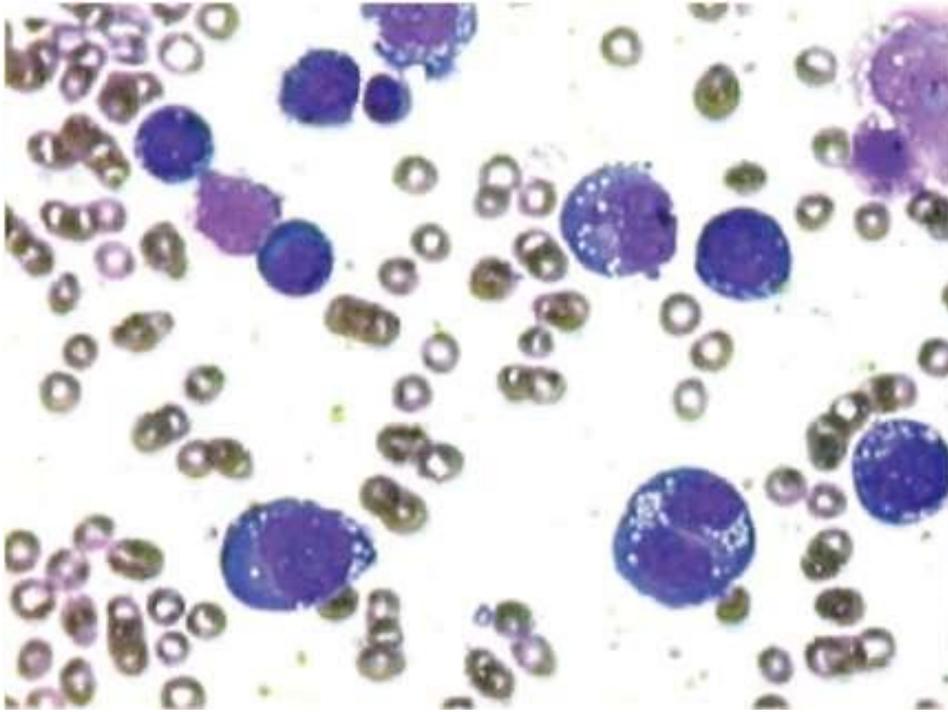


Рис. 6.9. Плевральная жидкость (злокачественная лимфома). Злокачественные лимфоидные клетки расположены разрозненно. Увеличение

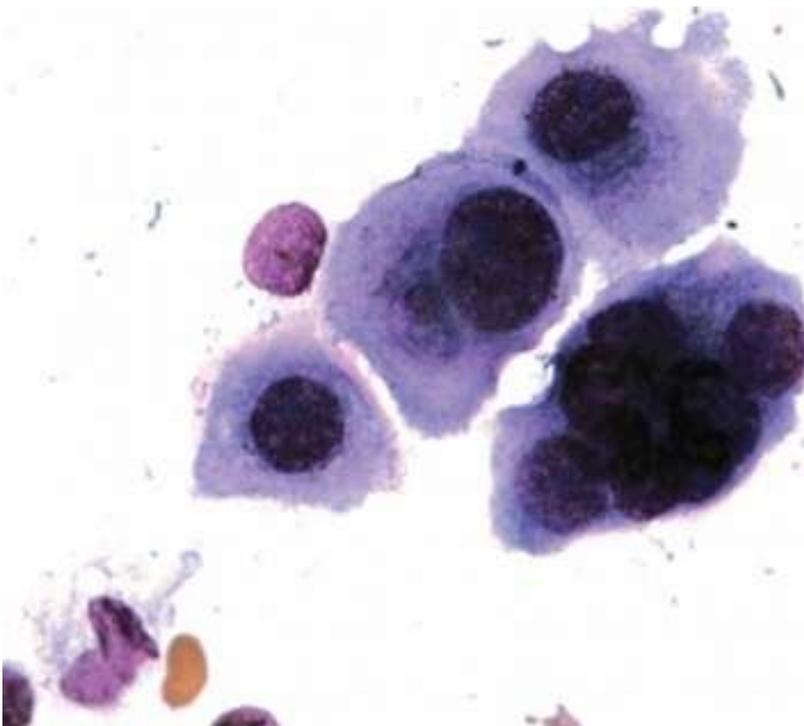


Рис. 6.12. Плевральный выпот (злокачественная мезотелиома). Клетки мезотелия: три одноядерные, одна многоядерная. Ядра гиперхромные, разного размера и формы. Увеличение -1000

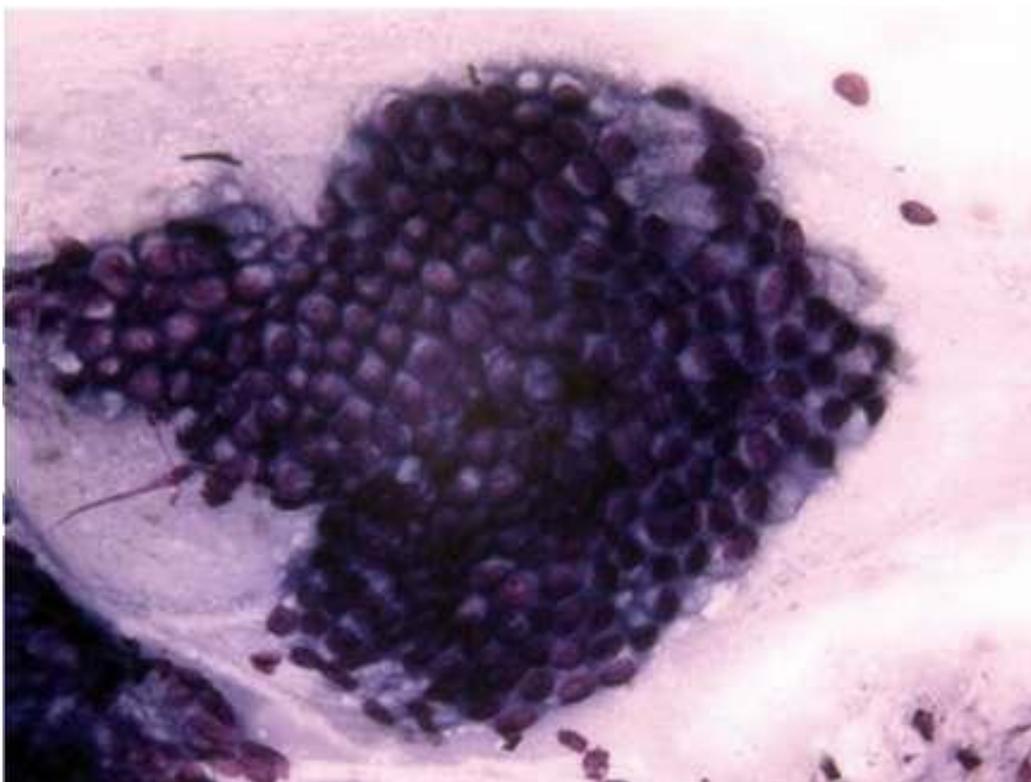


Рис. 6.13. Материал, полученный при эндоскопии (отпечаток с биоптата опухоли слизистой оболочки желудка). (Гиперпластический полип). Однослойная структура из клеток типа «пчелиных сот». Увеличение -400

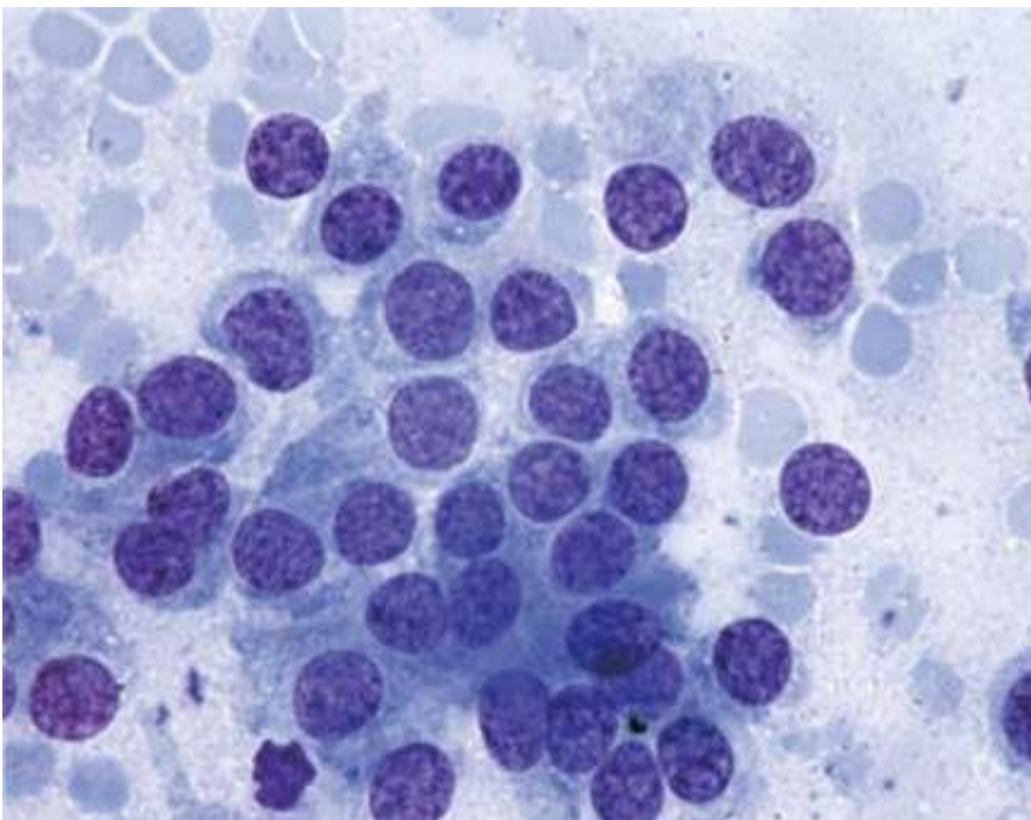


Рис. 6.14. Материал, полученный при эндоскопии (отпечаток с био-птата опухоли слизистой оболочки желудка - карциноид). Рыхлая однослойная структура неопределенной формы. Ядра сравнительно мономорфные, хроматин мелко-глыбчатый. Увеличение -1000

Модуль 7



Рис. 7.1. Анатомия матки и влагалища (описание в тексте)



Рис. 7.2. Матка, яичники, фаллопиевы трубы, влагалище (схема) (описание в тексте)

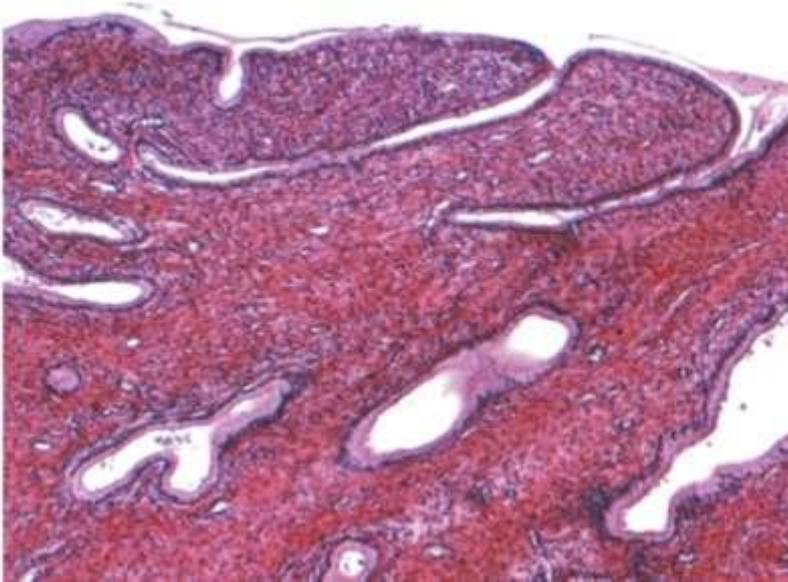


Рис. 7.3. Эндоцервикс. Гистологический препарат

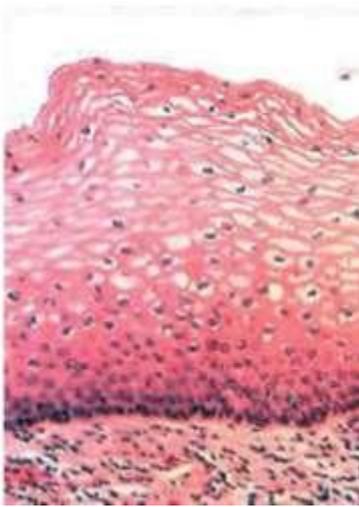


Рис. 7.4. Многослойный плоский неороговевающий эпителий экзоцервикса (описание в тексте)

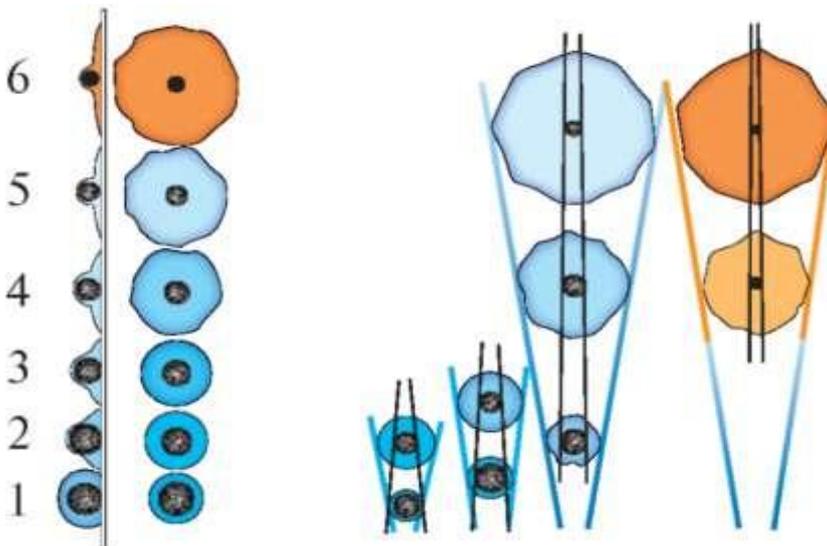


Рис. 7.5. Созревание клеток многослойного плоского эпителия (схема) (описание в тексте)

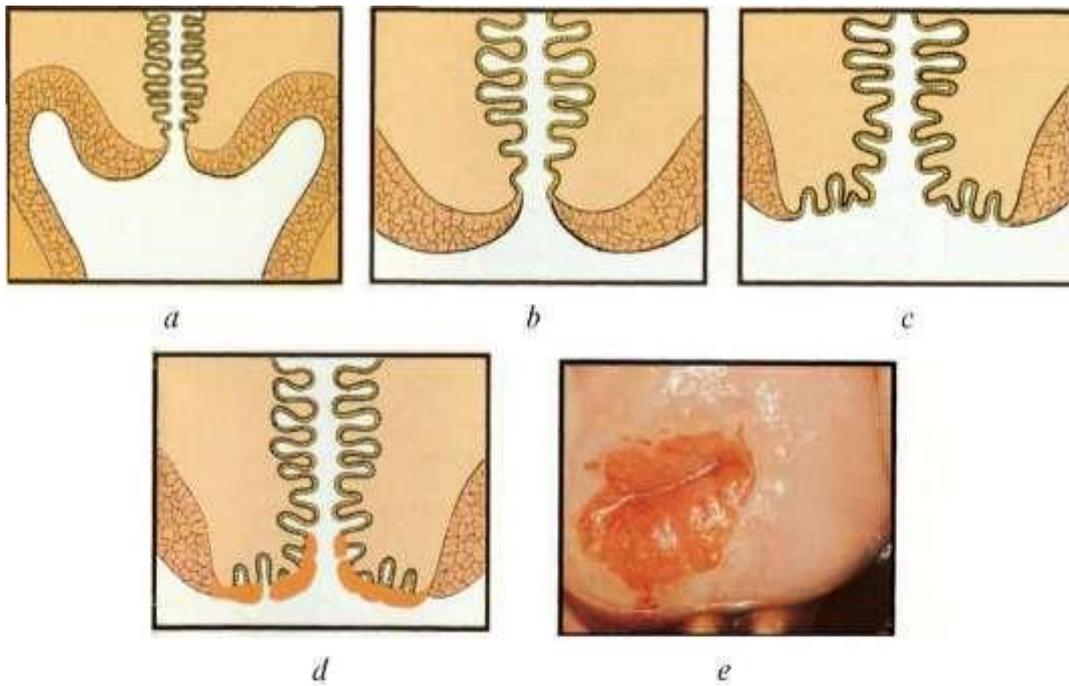


Рис. 7.6. Расположение цилиндрического эпителия и зоны стыка в шейке матки: *a* - до полового созревания; *b, c* - во время полового созревания; *d* - замена цилиндрического

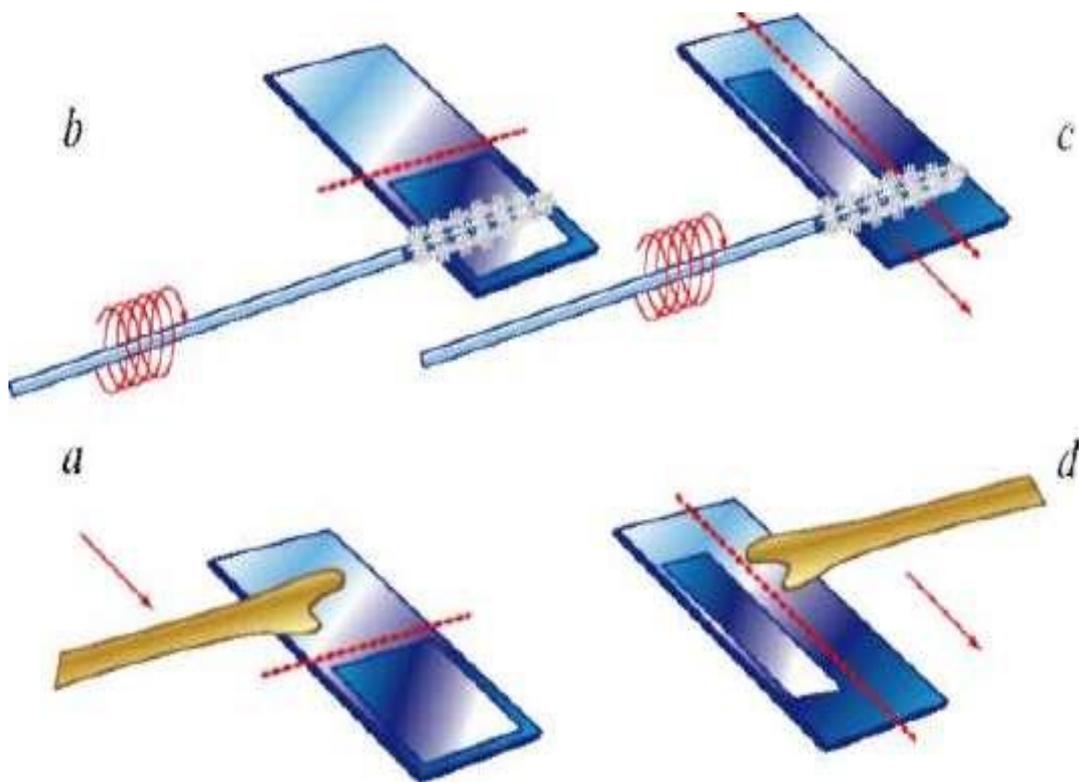


Рис 7.10. Приготовление мазков: *a, b* - распределение материала поперек стекла щетка: *a* - шпатель, *b* - щетка; *c, d* - распределение материала вдоль стекла: *c* - щетка, *d* - шпатель

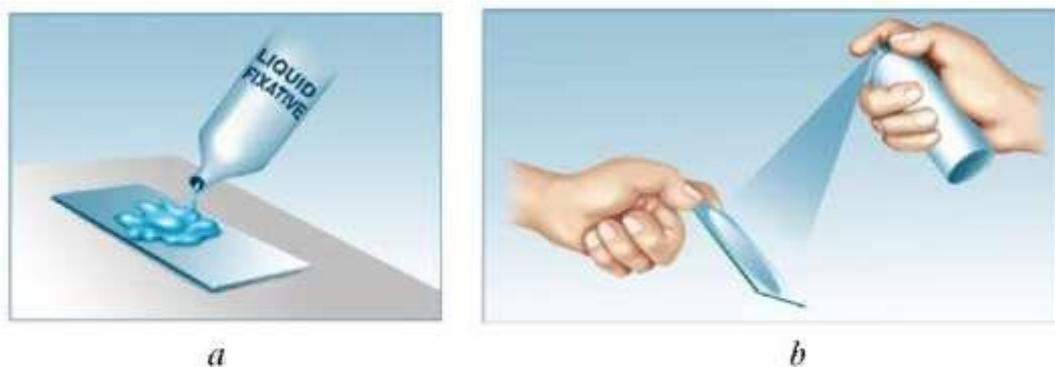


Рис. 7.11. Фиксация мазков: *a* - капельный фиксатор, *b* - аэрозольный фиксатор.
Описание в тексте

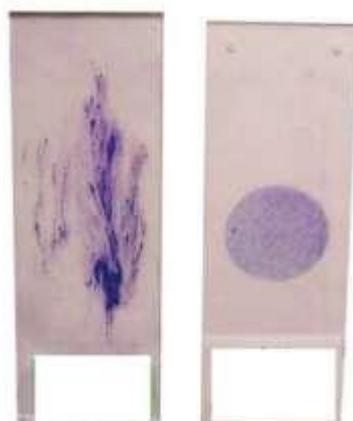


Рис. 7.12. Жидкостная цитология: *a*, *b* - щеточка-кисточка для взятия материала и контейнер со стабилизирующим раствором; *c* - система «CYTO-screen» для приготовления монослойных цитологических препаратов; *d* - препарат, приготовленный стандартным способом (слева) и тонкослойный препарат (справа)

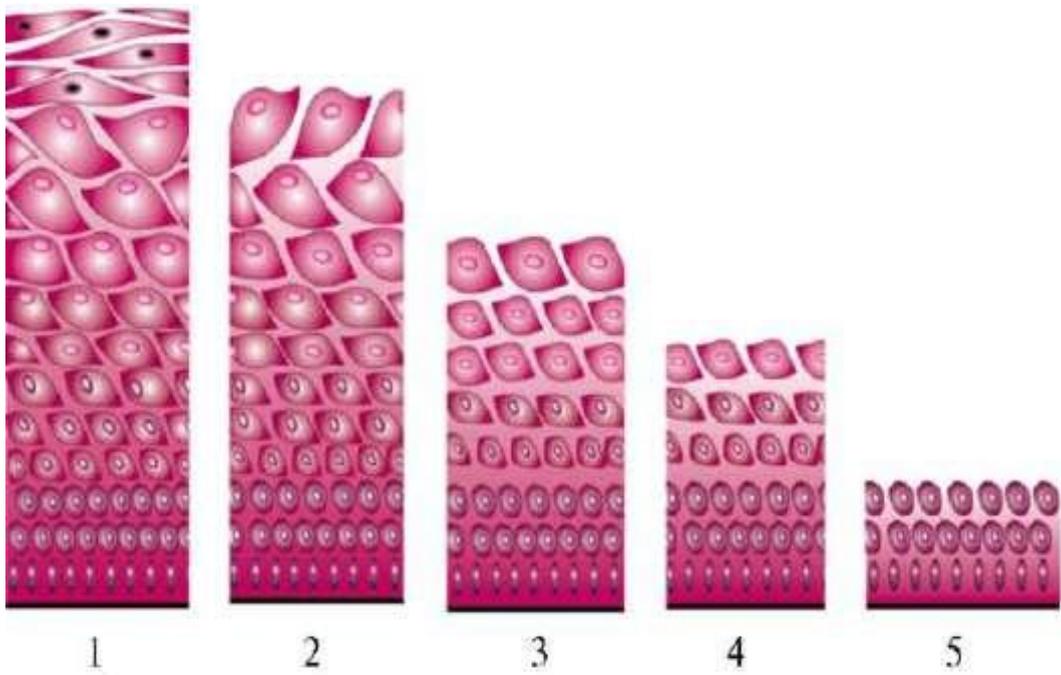


Рис. 7.13. Разные степени созревания многослойного плоского эпителия в норме: 1 - в репродуктивном возрасте; 2 - при беременности и в постменопаузе; 2-5 - при кормлении ребенка и в постменопаузе; 1 - зрелый эпителий, на поверхности - зрелые клетки поверхностного слоя с пикнотичными ядрами; 2 - эпителий созревает до промежуточного слоя, на поверхности - зрелые промежуточные клетки; 3 - эпителий созревает до промежуточного слоя, на поверхности - незрелые промежуточные клетки; 4-5 - эпителий созревает только до парабазального слоя, на поверхности - парабазальные клетки

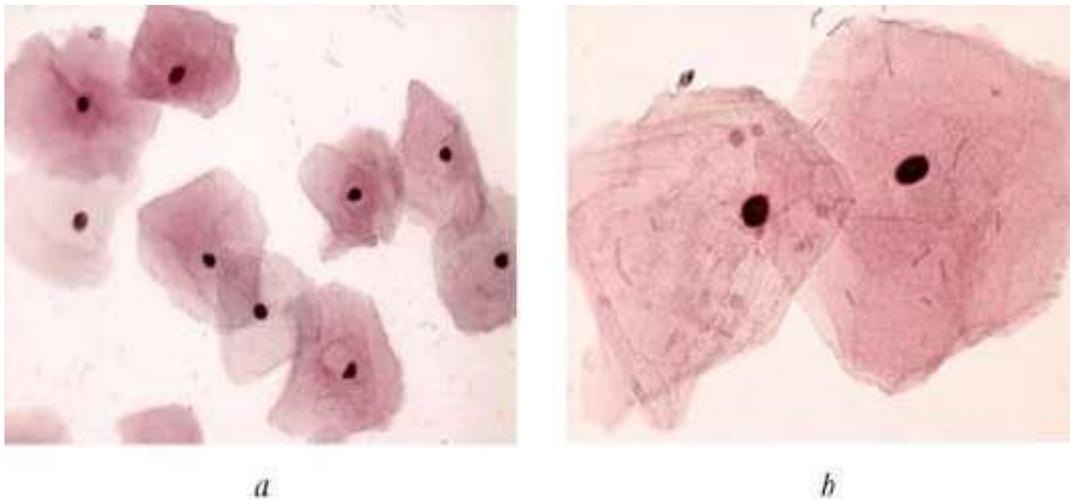


Рис. 7.14. Клетки поверхностного эпителия. Клетки полигональной формы, расположены разрозненно; цитоплазма обильная, с небольшими складками, гранулами; ядра мелкие пикнотичные. Препарат приготовлен с помощью метода жидкостной цитологии. Окрашивание по Папаниколау. Увеличение: *a* - -400; *b* - -1000

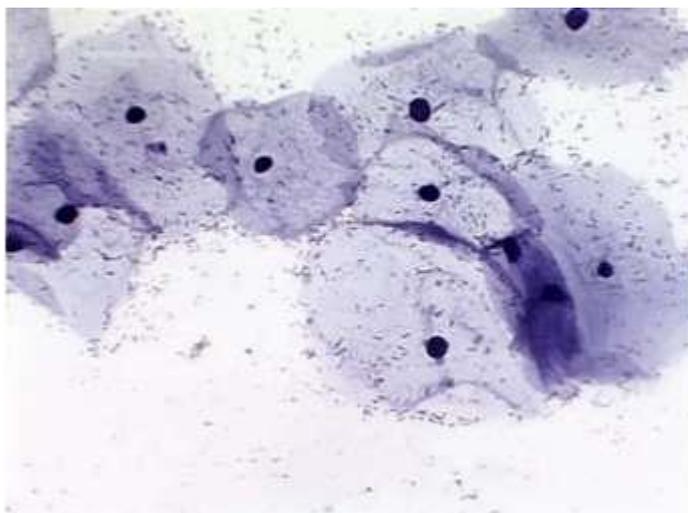


Рис. 7.15. Клетки поверхностного эпителия. Клетки полигональной формы, расположены небольшими пластами и разрозненно; цитоплазма обильная, со складками; ядра мелкие пикнотичные. Окрашивание по Паппенгейму. Увеличение -400



a

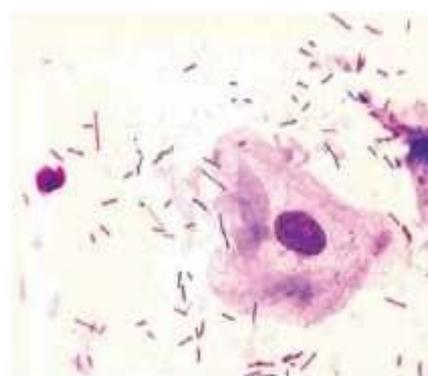


b

Рис. 7.16. Поверхностные клетки плоского эпителия. Цитоплазма обильная, в части клеток - зрелая, эозинофильная, у менее зрелых - голубая; ядра мелкие пикнотичные. Немного лейкоцитов с сохранившимися ядрами и цитоплазмой. Материал из эктоцервикса. Окрашивание по Папаниколау. Увеличение: *a* - -200; *b* - -1000



a



b

Рис. 7.17. Материал из эктоцервикса: *a, b*-промежуточные клетки полигональной формы; ядра округло-овальные, пузырьковидные, хроматин распределен равномерно. Цитоплазма обильная, с завернутыми краями. Большое число палочек типа лактобацилл. Окрашивание по Паппенгейму. Увеличение -1000

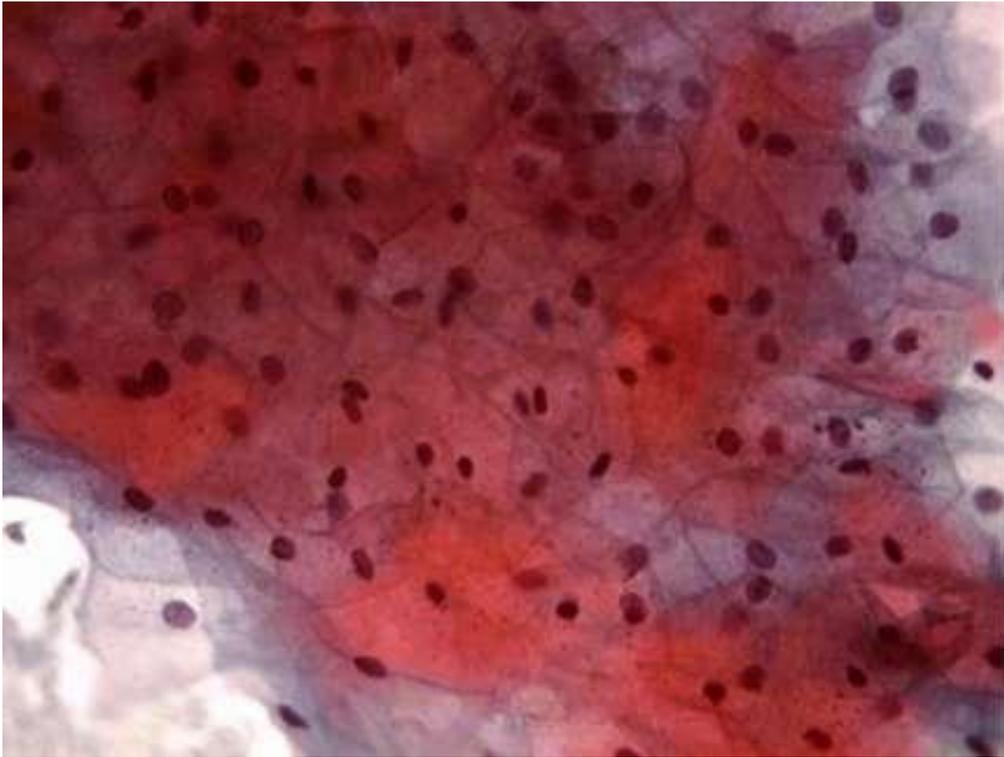


Рис. 7.18. Мазок из эктоцервикса. Зрелые промежуточные клетки с овальными и округлыми, пузырьковидными ядрами. Цитоплазма обильная полигональная, окрашена в синеватые и оранжевые тона. Окрашивание по Папаниколау. Увеличение-400

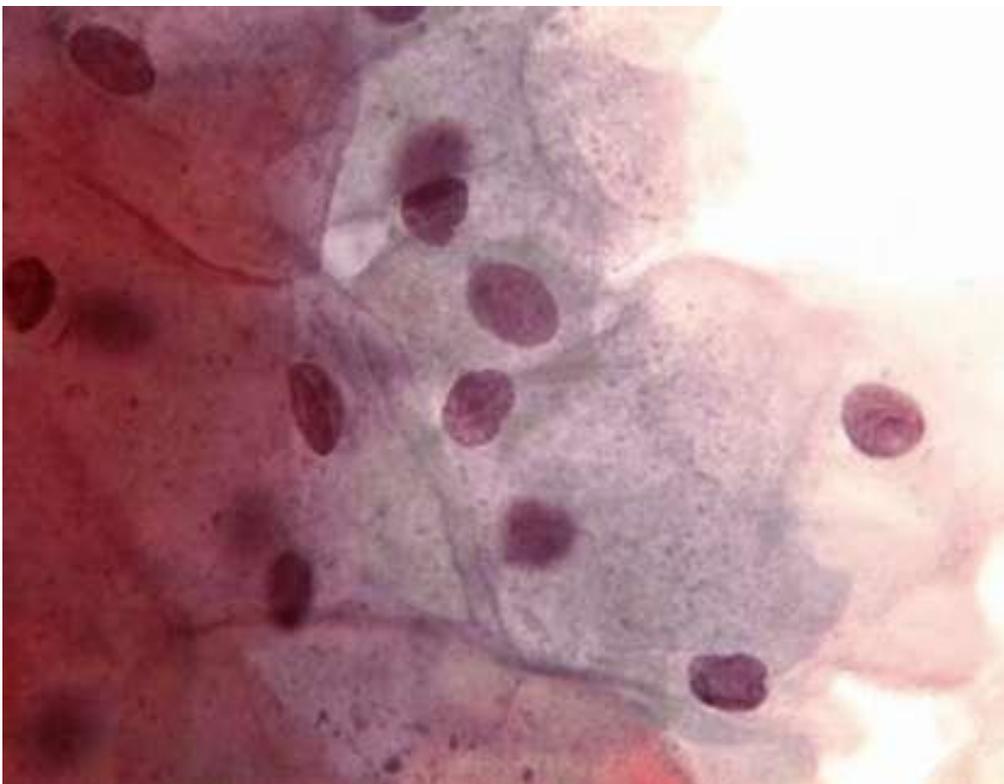


Рис. 7.19. Мазок из эндоцервикса. Зрелые промежуточные клетки с пузырьковидными ядрами, светлой цитоплазмой. Окрашивание по Папани-колау. Увеличение -1000



Рис. 7.20. Клетки плоского эпителия поверхностного и промежуточного слоев. Цитоплазма обильная; ядра с ровными контурами, хроматин распределен равномерно. Препарат приготовлен с помощью метода жидкостной цитологии. Окрашивание по Папаниколау. Увеличение -400.

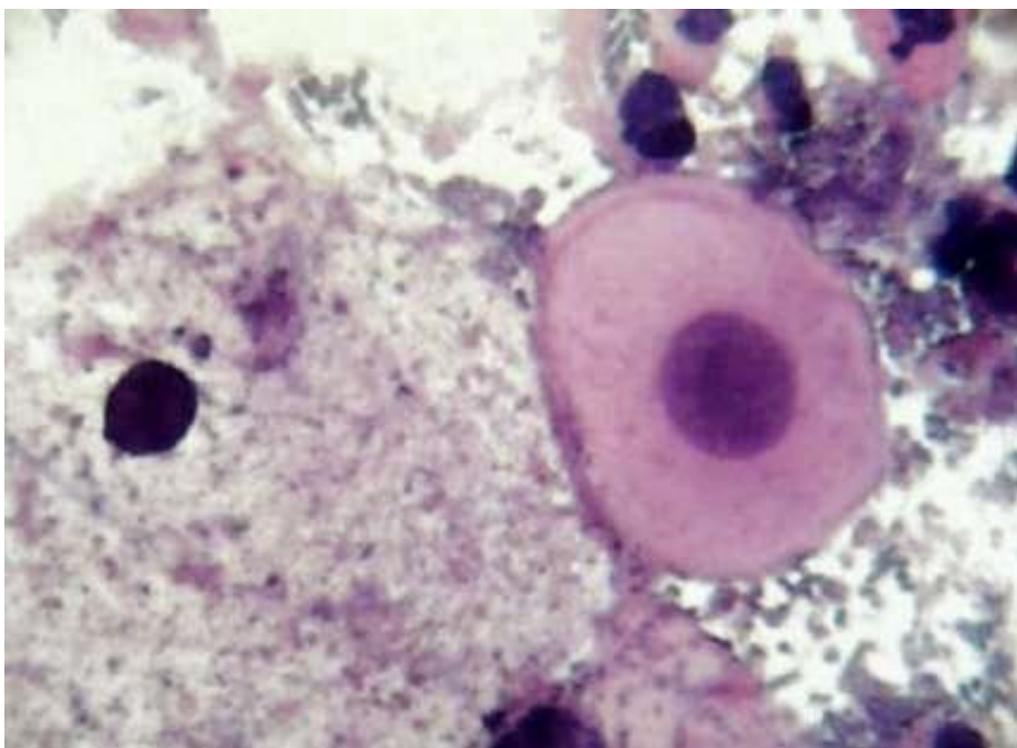


Рис. 7.21. Поверхностная (слева) и незрелая промежуточная (справа) клетки. Окрашивание гематоксилин-эозином. Увеличение -1000.

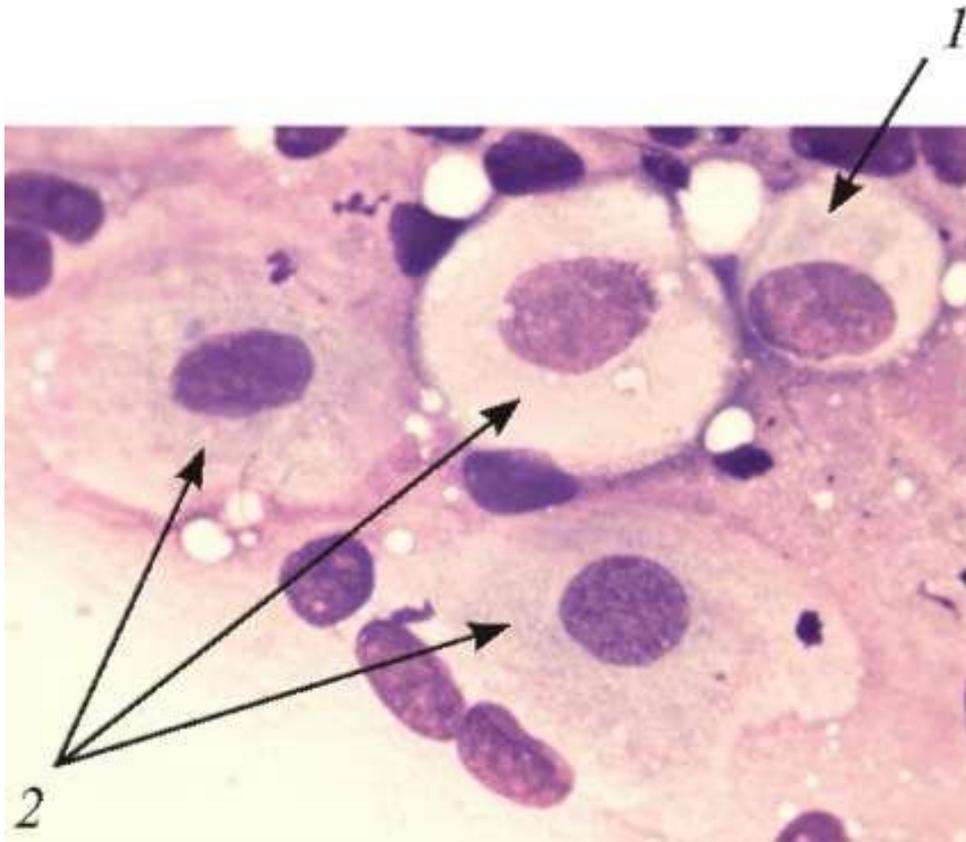


Рис. 7.22. Клетка парабазального слоя (1). Три клетки промежуточного слоя (незрелые) (2). 1 - форма округлая, ядро крупное овальное. 2 - крупные клетки, округлой и слегка полигональной формы. Мазок из эктоцер-викса. Окрашивание по Романовско-му-Гимзе. Увеличение -1000

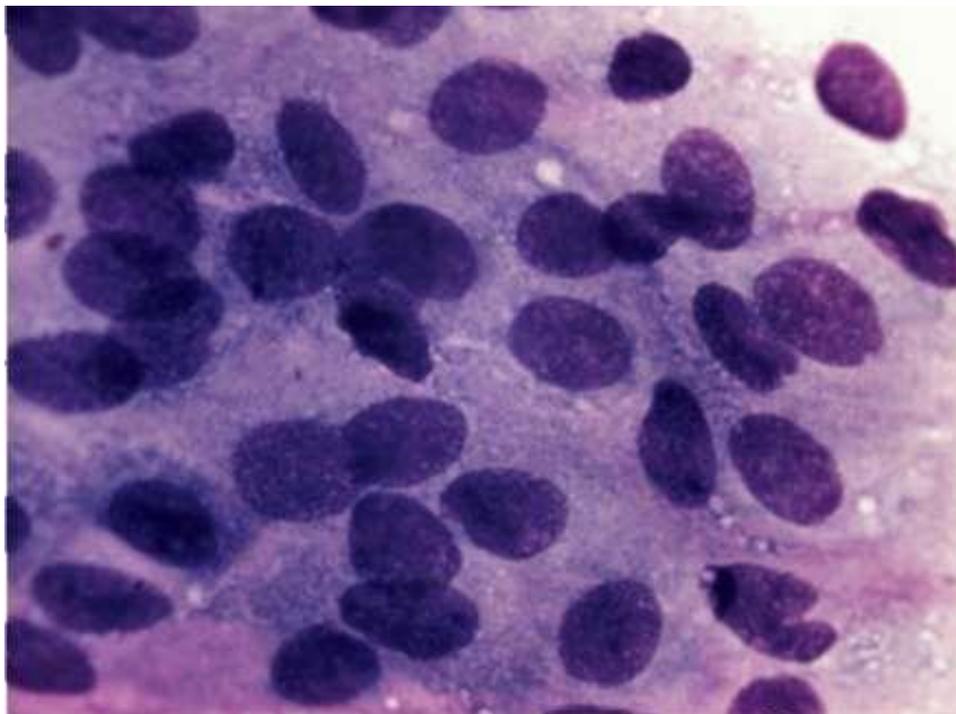


Рис. 7.25. Пласт из парабазальных клеток. Ядра овальные; хроматин мелкозернистый, распределен равномерно. Окрашивание по Паппенгейму. Увеличение -1000

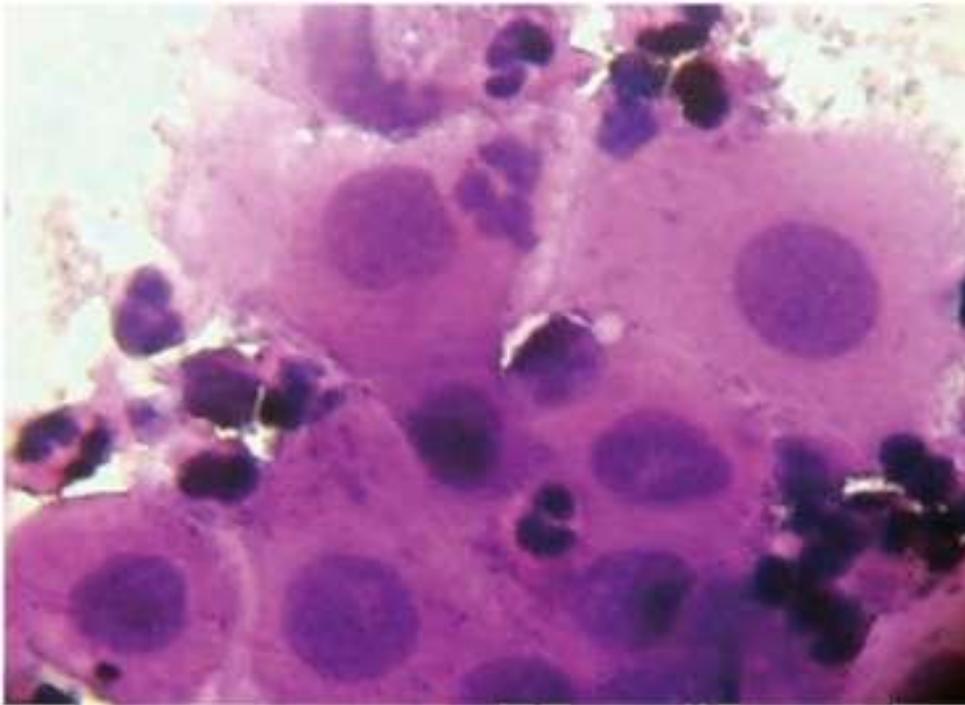


Рис. 7.26. Парабазальные и промежуточные клетки. Окрашивание гематоксилин-эозином. Увеличение -1000



Рис. 7.27. Клетки цилиндрического эпителия в виде сотоподобной структуры. Ядра округлые и овальные, контуры ровные; хроматин распределен равномерно. Цитоплазма нежная. Материал из цервикального канала. Препарат приготовлен с помощью метода жидкостной цитологии. Окрашивание по Папаниколау. Увеличение -400

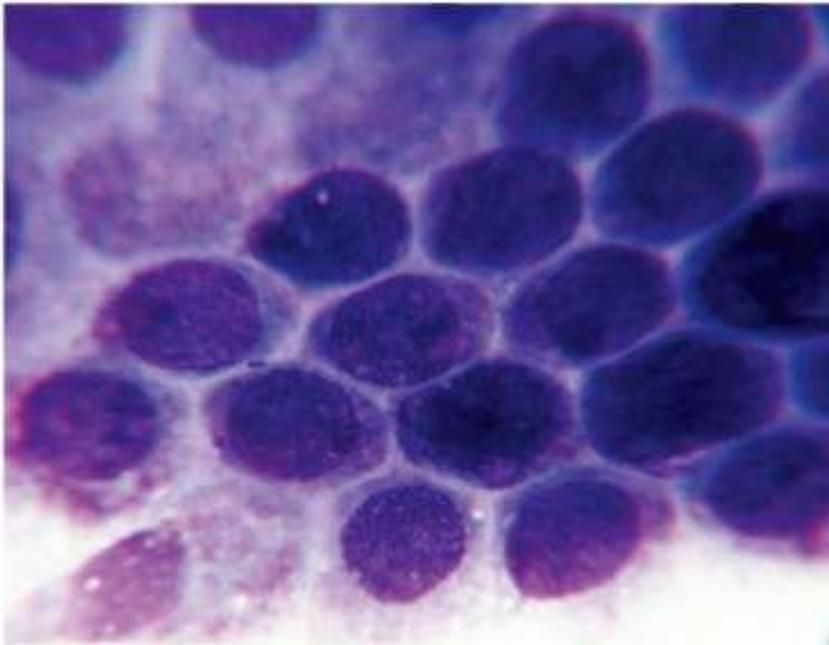


Рис. 7.28. Небольшая сотоподобная структура из клеток цилиндрического эпителия. Мазок из эндоцервикса. Окрашивание по Паппенгейму. Увеличение -1000

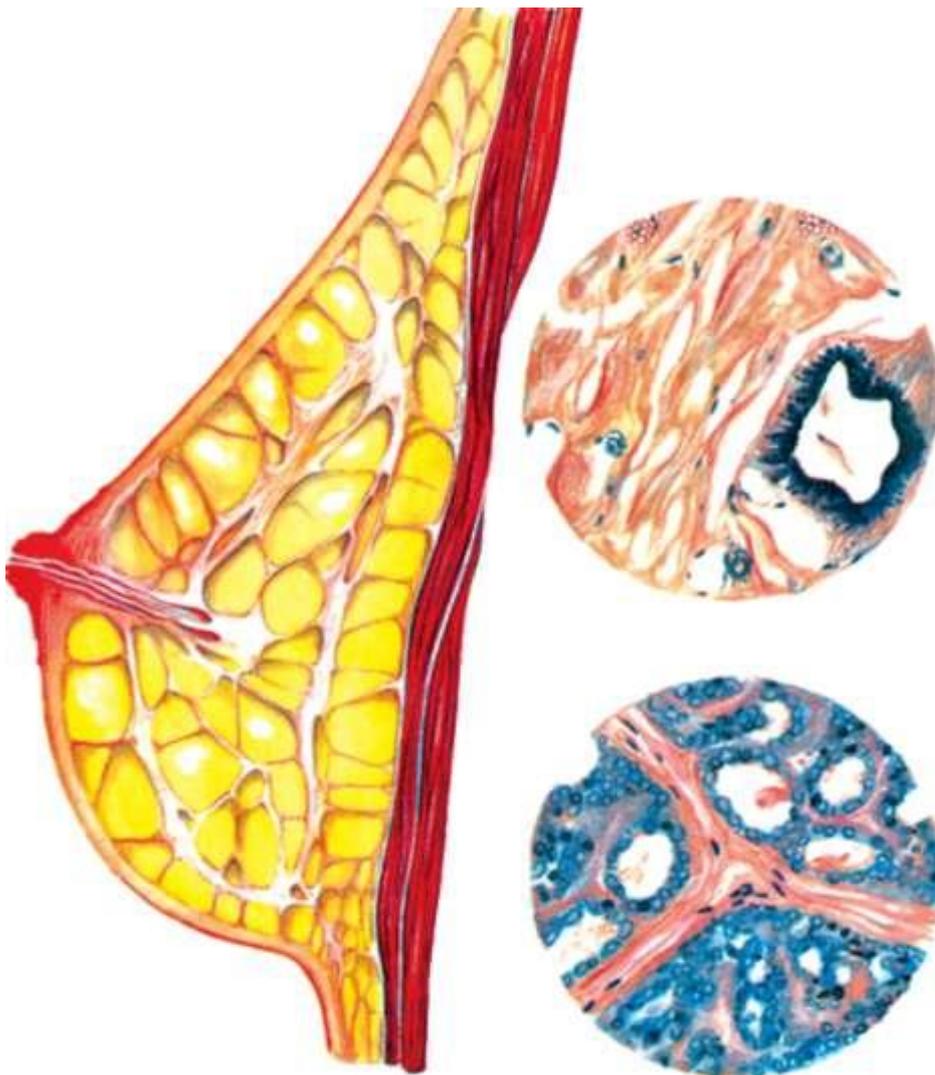


Рис. 7.34. Строение молочной железы (схема)

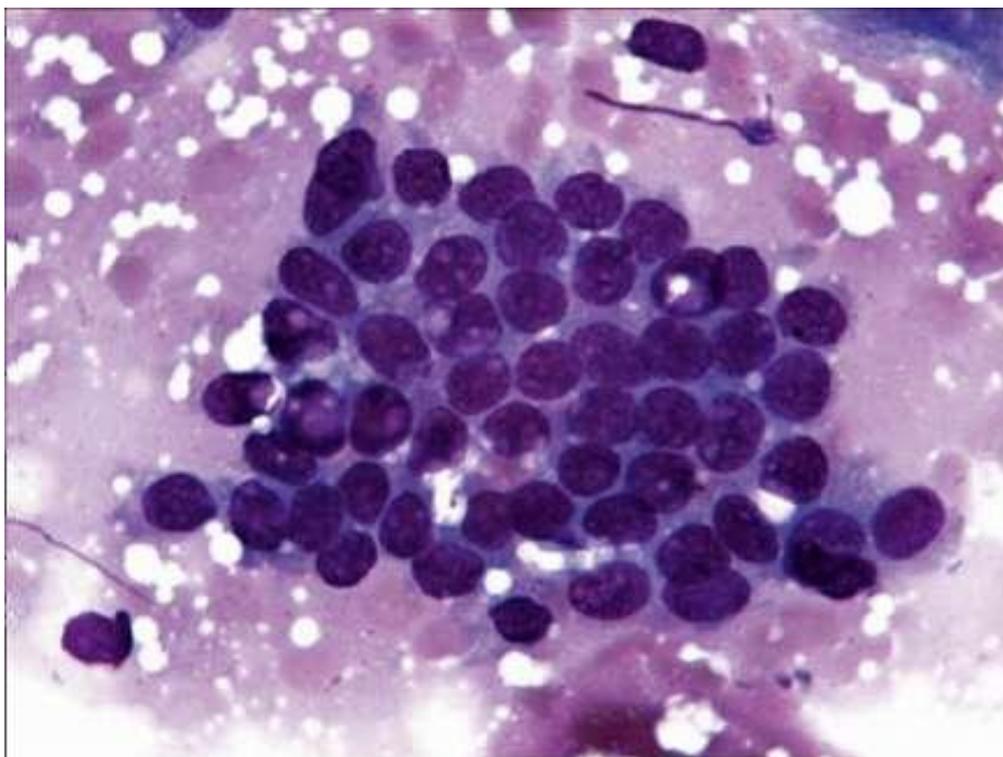


Рис. 7.35. Структура типа пчелиных сот. Расположенные рядом клетки имеют вид шестигранников. Капли жира и вакуоли цитоплазмы, накладываясь на ядра, могут напоминать ядрышки (стрелка); в отличие от ядрышек, они имеют размытые границы.

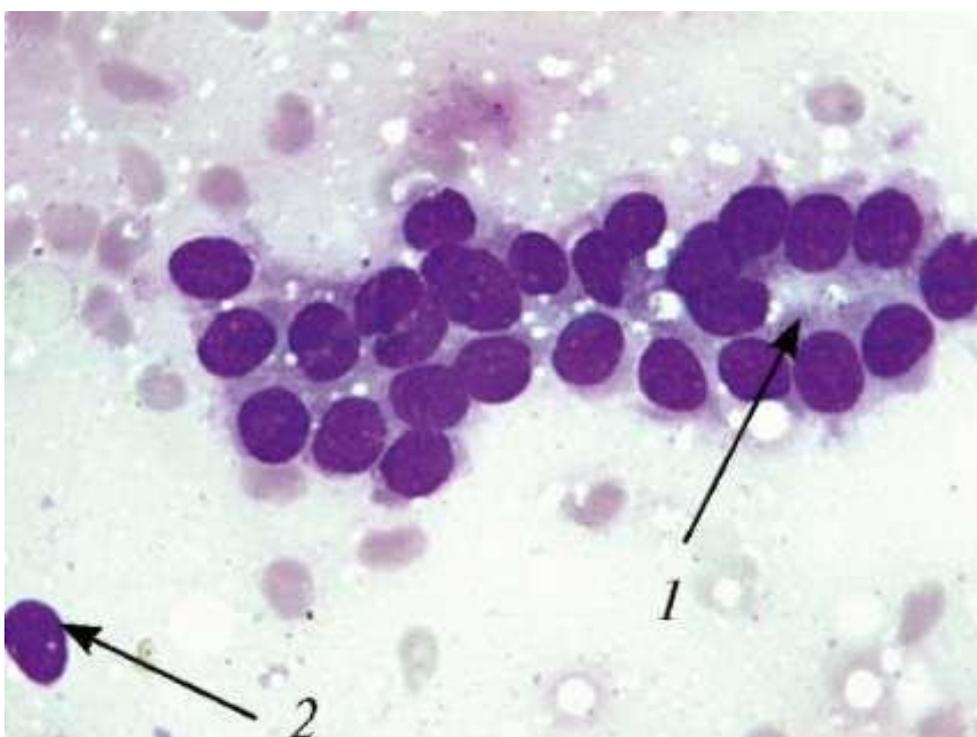
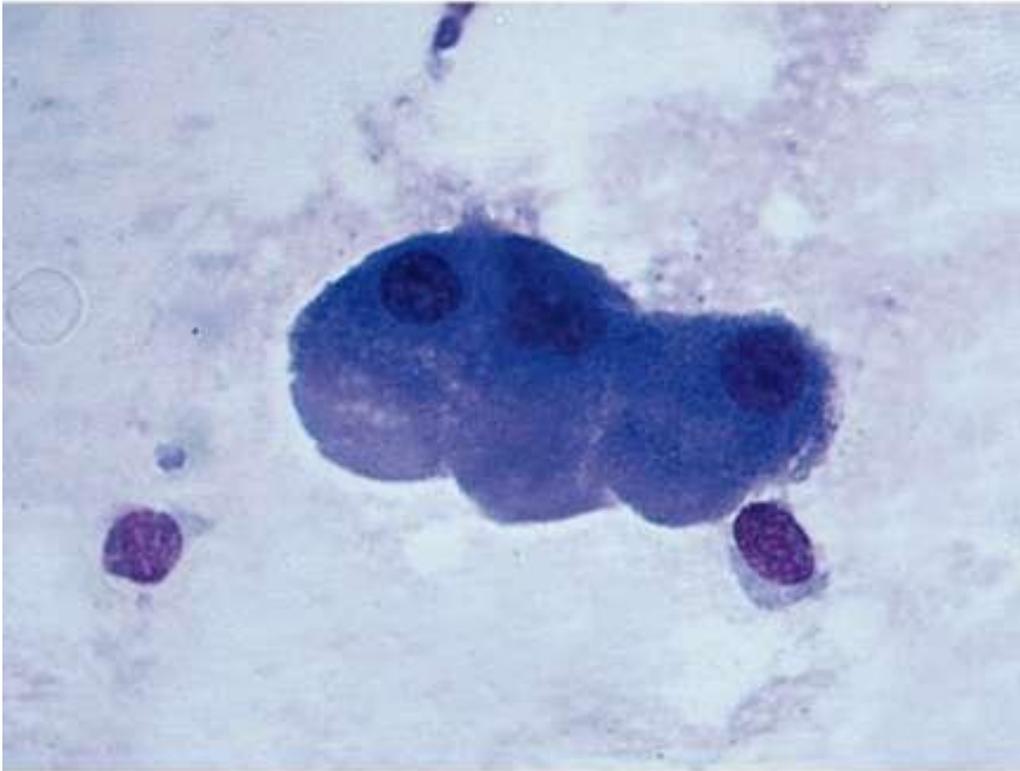
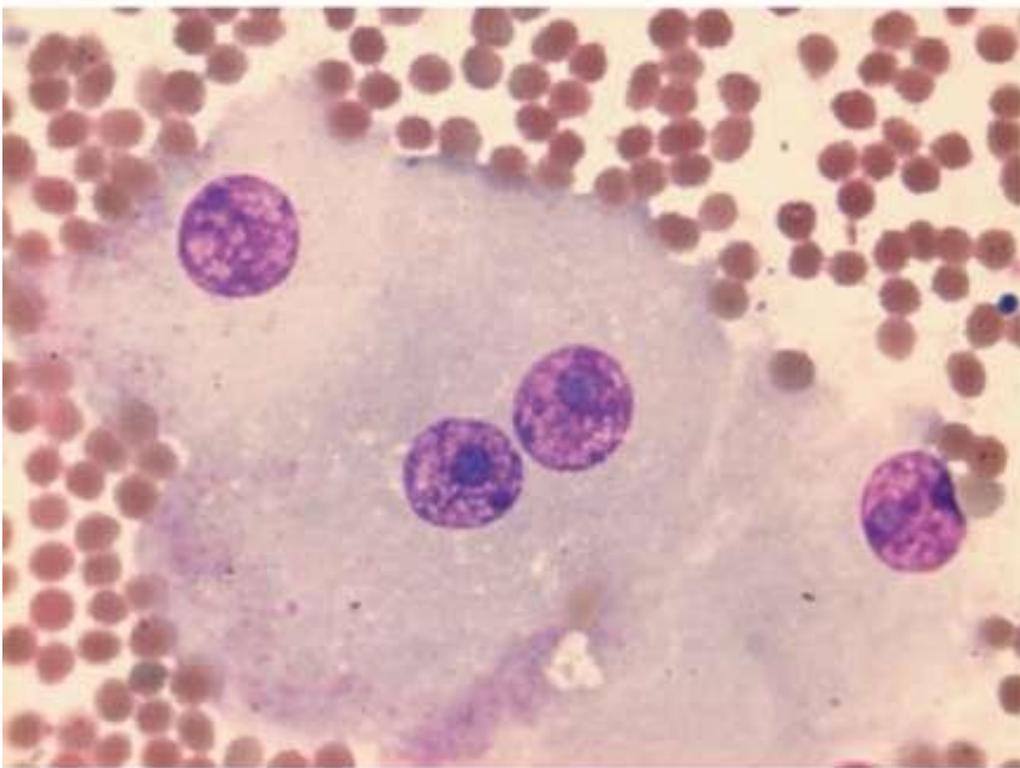


Рис. 7.36. Структуры из клеток при доброкачественных состояниях. Пунктат молочной железы. Фибринозно-кистозная болезнь (ФКБ). Увеличение $\cdot 1000$. Структура в виде вытянутой трубочки, состоящей из двух рядов клеток, и ацинуса с эксцентрическим расположением ядер и просветом в центре (1). «Голое» ядро разрушенной клетки (2), строение хроматина такое же, как в ядрах сохранившихся клеток. Окрашивание по Паппенгейму



a



б

Рис.7.37. Апокринные клетки - обильная цитоплазма, округлые ядра, небольшие ядрышки. Окрашивание по Паппенгейму, $\cdot 1000$

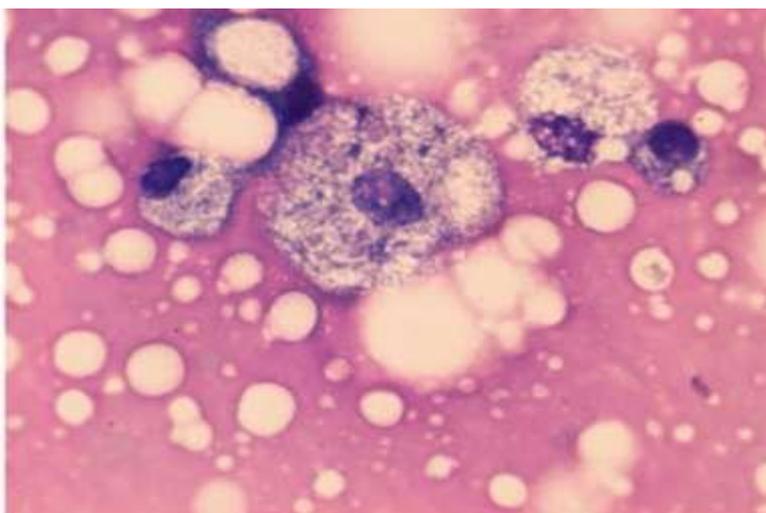


Рис. 7.38. Пенистые клетки (молозивные тельца)

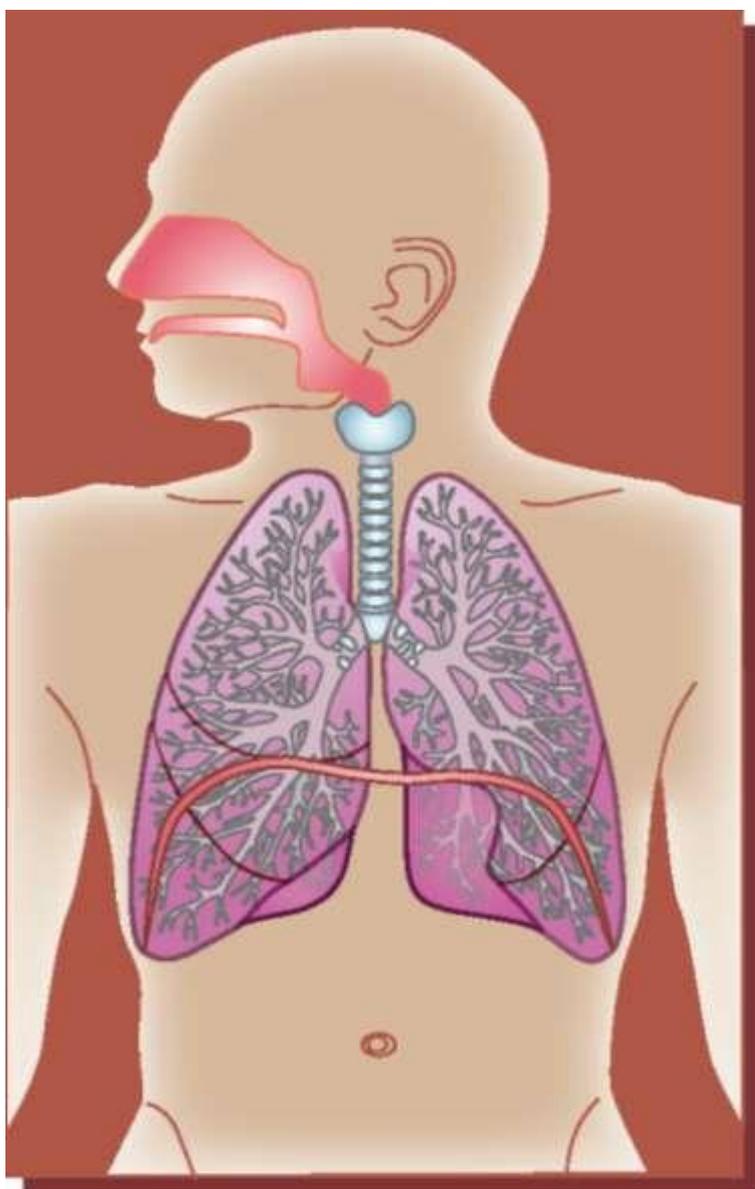
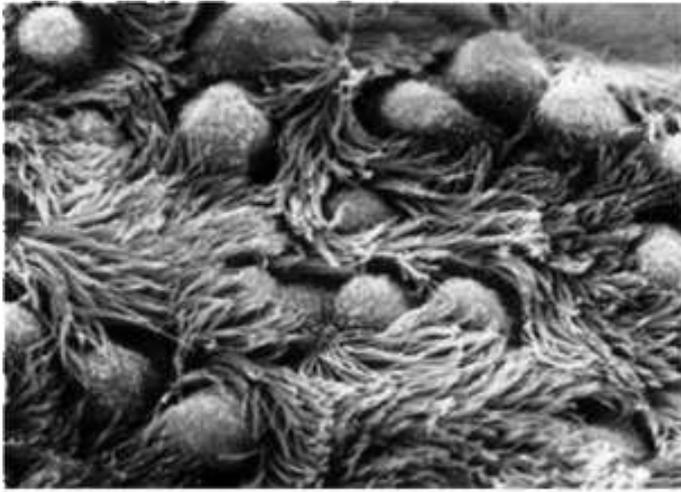


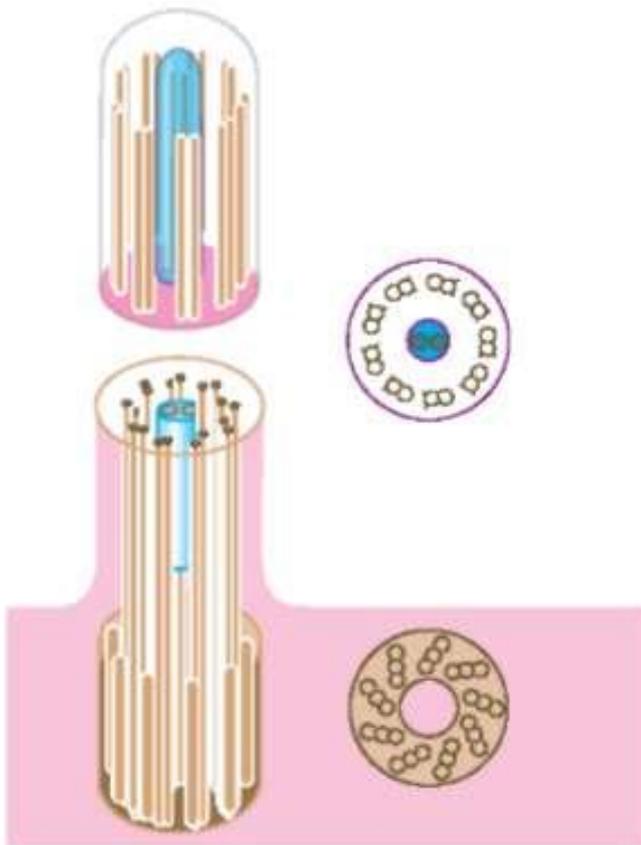
Рис. 7.39. Строение дыхательной системы



Рис. 7.40. Концевые отделы бронхо-легочной системы (терминальные и респираторные бронхиолы, альвеолы) (схема).

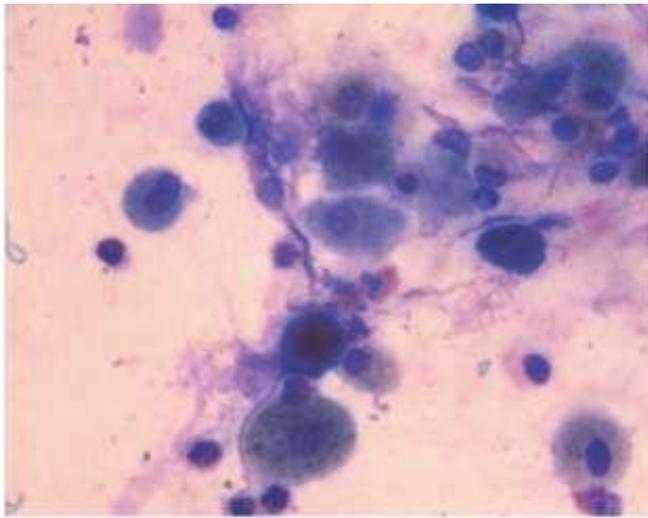


a

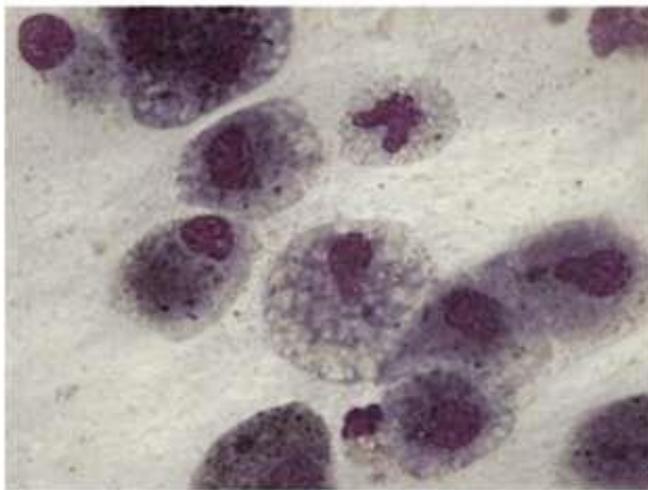


b

Рис. 7.41. Поверхность слизистой оболочки бронхов: *a* - «ковёр из ресничек», округлые бокаловидные клетки. Электронная микроскопия. *b* - строение реснички (схема)

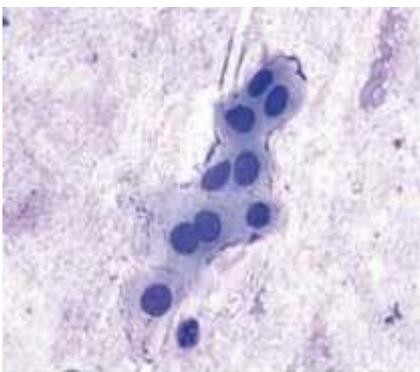


a

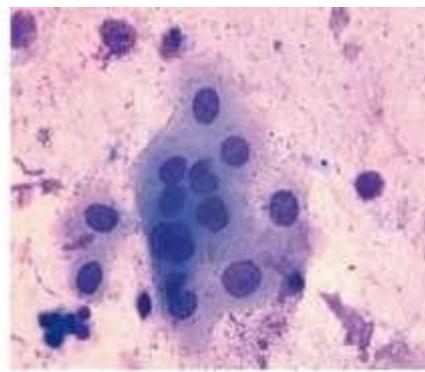


b

Рис. 7.44. Альвеолярные макрофаги. Клетки округлой формы, разного размера, цитоплазма - голубоватая, розоватая, зеленоватая, гранулы в цитоплазме. Окрашивание по Романовскому, *a* - увеличение $\bullet 400$, *b* - увеличение $\bullet 1000$



a



b

Рис. 7.45. Пласты из клеток метаплазированного эпителия. Ядра округлые, цитоплазма светло-голубая, плотная. Окрашивание по Паппенгейму. Увеличение -400

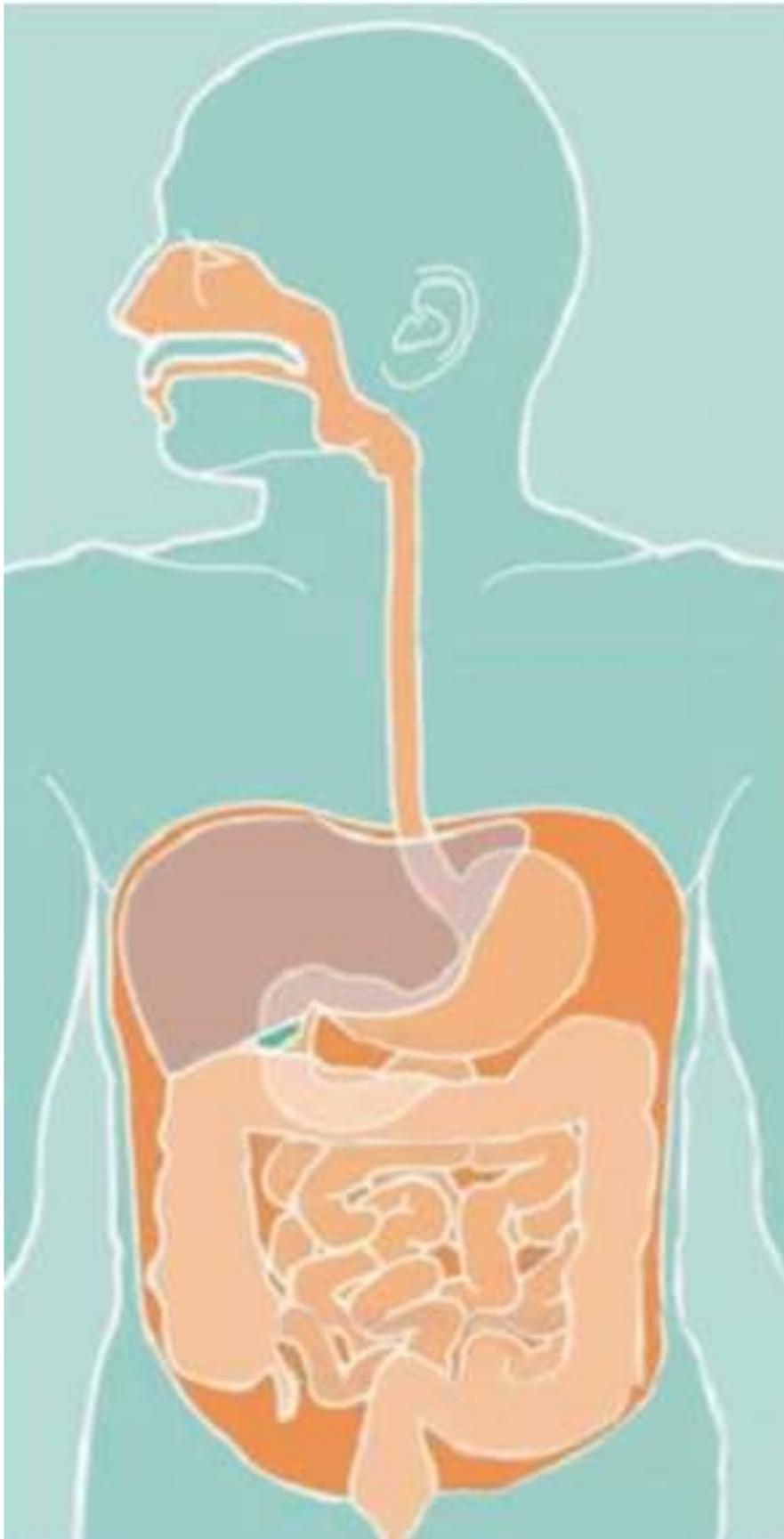


Рис. 7.46. Строение пищеварительной системы (схема)

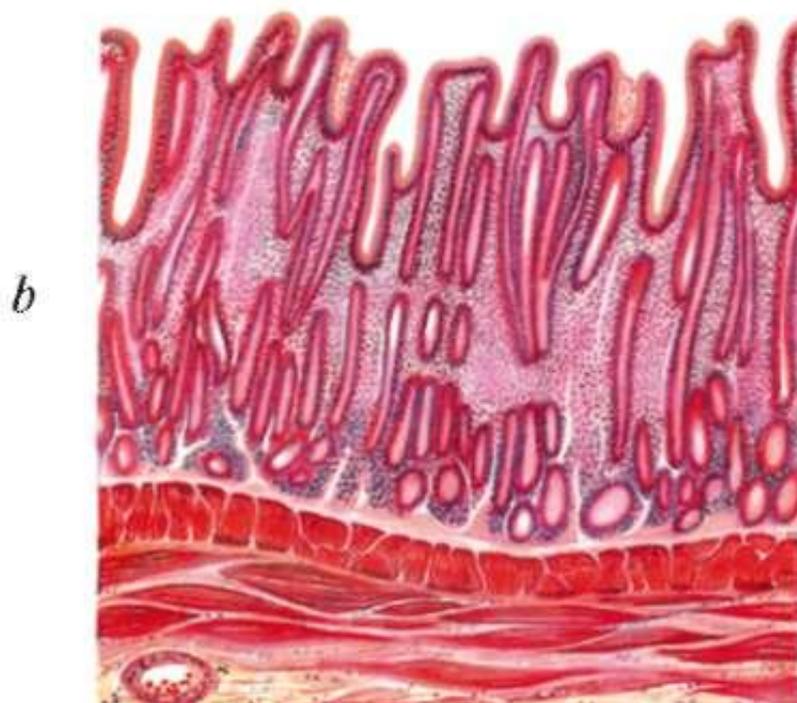
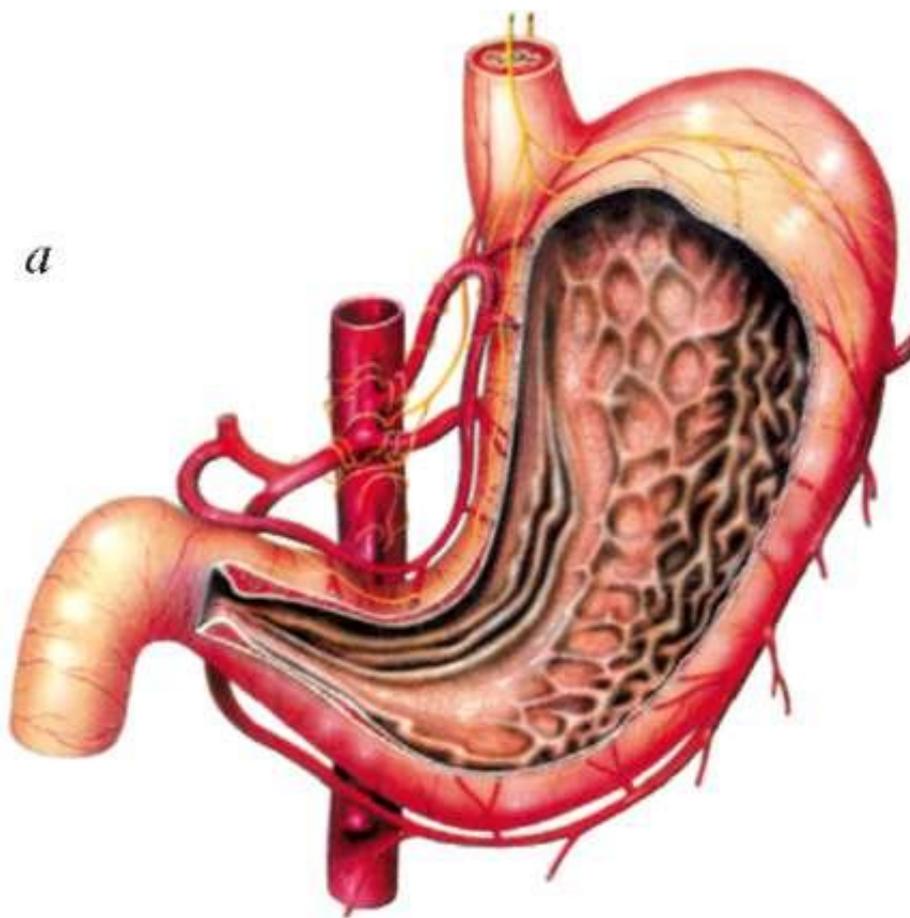


Рис. 7.47. Желудок, складки слизистой оболочки: *a* - схема; *b* - гистологический препарат

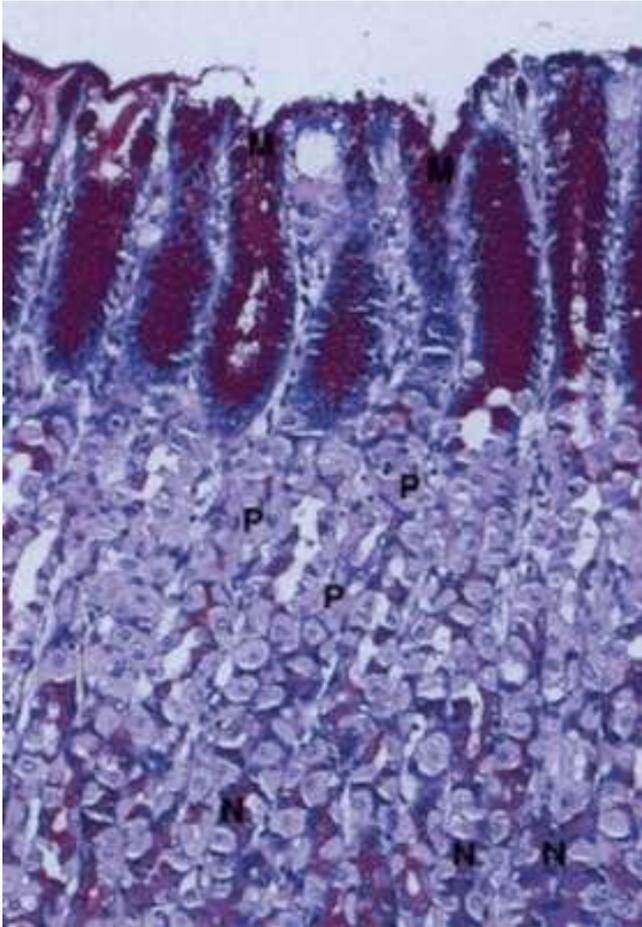


Рис. 7.48. Эпителий желудка покровно-ямочный и эпителий желез. Гистологический препарат. ШИК-реакция, окрашивание на гликоген. Увеличение -100

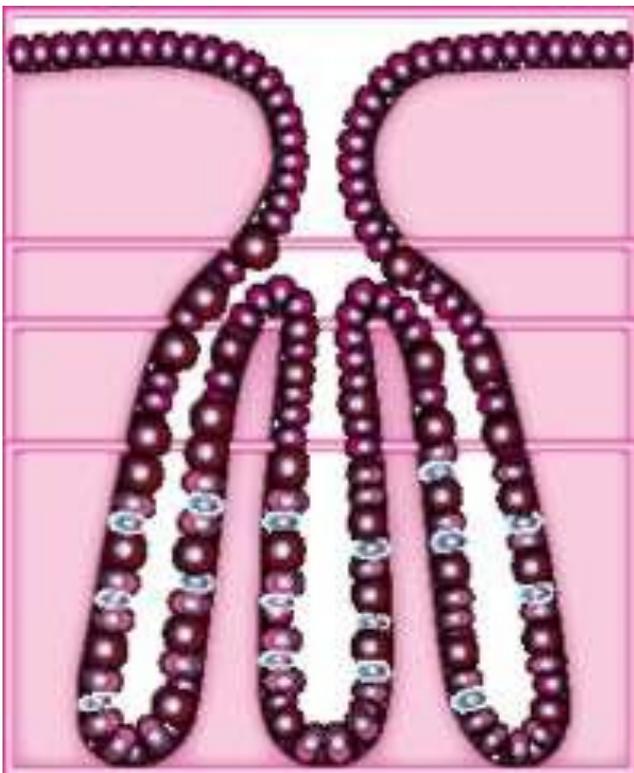


Рис 7.49. Структура главных (фундаль-ных) желез желудка (схема)

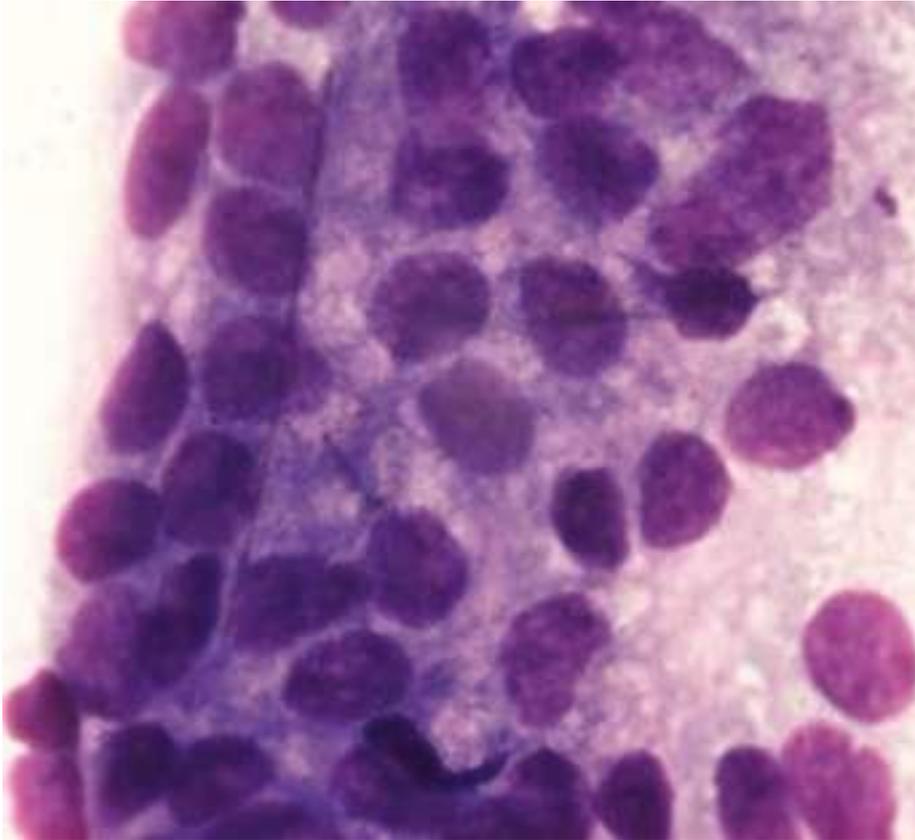


Рис. 7.50. Пласт из клеток покровно-ямочного эпителия. Окрашивание по Романовскому, увеличение -1000 (описание в тексте)

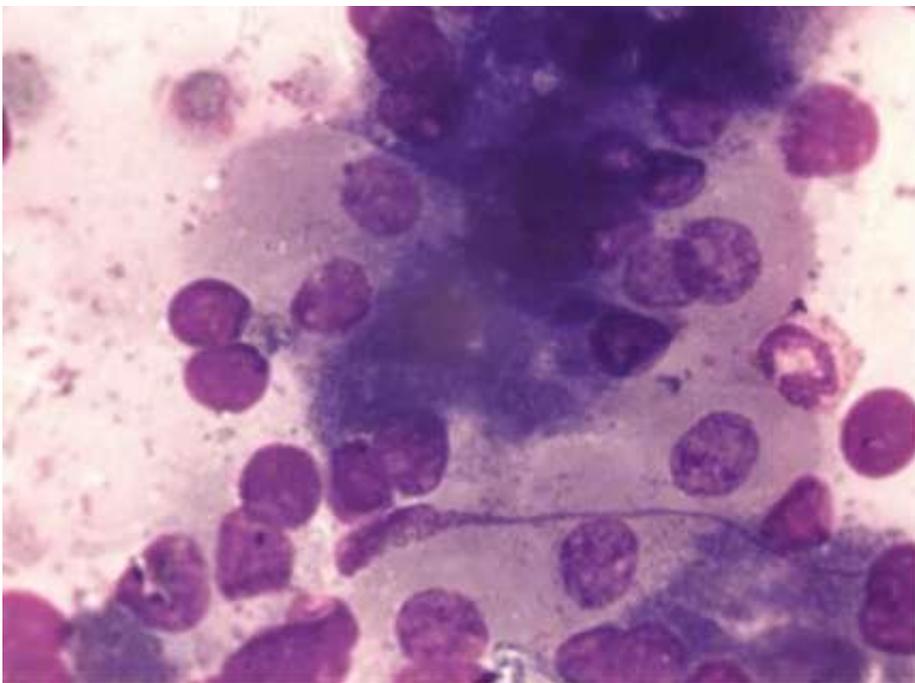


Рис. 7.51. Клетки эпителия желез (главные и обкладочные). Окрашивание по Романовскому, увеличение -1000 (описание в тексте)