**Патологическая анатомия: введение в предмет, общие аспекты, методы исследования в патологии.**

ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ АНАТОМИЯ И ЕЕ МЕСТО СРЕДИ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ДИСЦИПЛИН

Патологическая анатомия является составной частью патологии — науки, изучающей закономерности возникновения и развития болезней, отдельных патологических процессов и состояний.

В истории развития патологической анатомии выделяют четыре основных периода: анатомический (с древности до начала XIX века), микроскопический (с первой трети XIX века до 50-х годов XX века), ультрамикроскопический (после 50-х годов XIX века); современный, четвертый период развития патологической анатомии можно охарактеризовать как период патологической анатомии живого человека.

Для современной медицины характерен постоянный поиск наиболее объективных материальных критериев диагностики и познания сущности болезни. Среди этих критериев морфологический приобретает исключительное значение как наиболее достоверный. Современная патологическая анатомия широко использует достижения других медико-биологических дисциплин, обобщая фактические данные биохимических, морфологических, генетических, патофизиологических и других исследований с целью установления закономерностей, касающихся работы того или иного органа, системы при различных заболеваниях. Благодаря задачам, которые решает в настоящее время патологическая анатомия, она занимает особое место среди медицинских дисциплин. С одной стороны, патологическая анатомия — это теория медицины, которая, раскрывая материальный субстрат болезни, непосредственно служит клинической практике, с другой — это клиническая морфология для диагноза, дающая материальный субстрат теории медицины — общей и частной патологии человека [Серов В.В., 1982].

Под **общей патологией** понимают наиболее общие, т.е. свойственные всем болезням, закономерности их возникновения, развития и исходов. Уходя своими корнями в частные проявления различных болезней и основываясь на этих частностях, общая патология одновременно синтезирует их, дает представление о типовых процессах, характерных для той или иной болезни.

В результате прогресса медико-биологических дисциплин (физиология, биохимия, генетика, иммунология) и сближения с ними классической морфологии стало очевидным существование единого материального субстрата проявлений жизнедеятельности, включающего весь диапазон уровней организации — от молекулярного до организменного, и никакие, даже ничтожные функциональные нарушения не могут возникнуть и исчезнуть, не отразившись в соответствующих структурных изменениях на молекулярном или ультраструктурном уровне. Таким образом, дальнейший прогресс общей патологии не может быть поставлен в зависимость от развития какой-либо одной дисциплины или их группы, так как общая патология сегодня представляет собой концентрированный опыт всех отраслей медицины, оцененный с широких биологических позиций.

Каждая из современных медицинских и медико-биологических дисциплин вносит свою лепту в построение теории медицины. Биохимия, эндокринология и фармакология раскрывают тонкие механизмы процессов жизнедеятельности на молекулярном уровне; в патологоанатомических исследованиях законы общей патологии получают морфологическую интерпретацию; патологическая физиология дает их функциональную характеристику; микробиология и вирусология являются важнейшими источниками разработки этиологического и иммунологического аспектов общей патологии; генетика раскрывает секреты индивидуальности реакций организма и принципы их внутриклеточного регулирования; клиническая медицина завершает оформление законов общей патологии человека на основе собственного богатейшего опыта и окончательной оценки получаемых экспериментальных данных под углом зрения психологических, социальных и других факторов. Итак, общая патология подразумевает такой подход к оценке наблюдаемых явлений, который характеризуется их широким медико-биологическим анализом. Для современного этапа развития медицины характерно то, что дисциплины, ранее бывшие преимущественно или даже исключительно экспериментальными (генетика, иммунология, биохимия, эндокринология, патологическая физиология и др.), становятся в равной мере и клиническими.

Таким образом, современная общая патология включает:

- обобщение фактических данных, полученных с помощью методов исследования, используемых в различных медико-биологических дисциплинах;

- изучение типовых патологических процессов;

- разработку проблем этиологии, патогенеза, морфогенеза болезней человека;

- развитие философско-методологических аспектов биологии и медицины (проблемы целесообразности, соотношения структуры и функции, части и целого, внутреннего и внешнего, социального и биологического, детерминизма, целостности организма, нервизма и др.) на основе осмысления всей совокупности фактов, полученных в различных областях медицины;

- формирование теории медицины вообще и учения о болезни в частности.

Быстрое развитие клинической физиологии, клинической морфологии, клинической иммунологии, клинической биохимии и фармакологии, медицинской генетики, принципиально новых методов рентгенологического исследования, эндоскопии, эхографии и чрезвычайно обогатило наши знания о фактических деталях и общих закономерностях развития болезней человека. Все более широкое использование неинвазивных методов исследования (компьютерная томография, ультразвуковая диагностика, эндоскопические методы и др.) позволяет визуально определять локализацию, размеры и даже в известной степени характер патологического процесса, что по существу открывает пути развития прижизненной патологической анатомии — клинической морфологии, которой посвящен курс частной патологической анатомии.

Сфера применения морфологического анализа в клинике постоянно расширяется благодаря все возрастающей хирургической активности и успехам медицинской техники, а также в связи с совершенствованием методических возможностей морфологии. Совершенствование медицинских инструментов привело к тому, что практически не осталось таких областей организма человека, которые были бы недоступны для врача. При этом особое значение для совершенствования клинической морфологии приобретает эндоскопия, позволяющая клиницисту заниматься морфологическим изучением болезни на макроскопическом (органном) уровне. Эндоскопические исследования служат и целям биопсии, с помощью которой патологоанатом получает материал для морфологического исследования и становится полноценным участником решения вопросов диагностики, терапевтической или хирургической тактики и прогноза заболевания. Используя материал биопсии, патологоанатом решает и многие теоретические вопросы патологии. Поэтому биоптат становится основным объектом исследования при решении практических и теоретических вопросов патологической анатомии.

Методические возможности современной морфологии удовлетворяют стремления патологоанатома ко все возрастающей точности морфологического анализа нарушенных процессов жизнедеятельности и все более полной и точной функциональной оценке структурных изменений. Современные методические возможности морфологии огромны. Они позволяют изучать патологические процессы и болезни на уровне организма, системы, органа, ткани, клетки, клеточной органеллы и макромолекулы. Это макроскопические и светооптические (микроскопические), электронно-микроскопические, цито- и гистохимические, иммуногистохимические и авторадиографические методы. Наблюдается тенденция к комплексированию ряда традиционных методов морфологического исследования, в результате чего возникли электронно-микроскопическая гистохимия, электронно-микроскопическая иммуноцитохимия, электронно-микроскопическая авторадиография, существенно расширившие возможности патологоанатома в диагностике и познании сущности болезней.

Наряду с качественной оценкой наблюдаемых процессов и явлений появилась возможность количественной оценки и при использовании новейших методов морфологического анализа. Морфометрия дала в руки исследователей возможности применения электронной техники и математики для суждения о достоверности результатов и правомочности трактовки выявленных закономерностей. С помощью современных методов исследования патологоанатом может обнаружить не только морфологические изменения, свойственные развернутой картине того или иного заболевания, но и начальные изменения при болезнях, клинические проявления которых еще отсутствуют в силу состоятельности компенсаторно-приспособительных процессов [Саркисов Д.С., 1988]. Следовательно, начальные изменения (доклинический период болезни) опережают их ранние клинические проявления (клинический период болезни). Поэтому главным ориентиром в диагностике начальных стадий развития заболевания служат морфологические изменения клеток и тканей. Патологическая анатомия, располагая современными техническими и методическими возможностями, призвана решать задачи как клинико-диагностического, так и научно-исследовательского характера. Вырастает значение экспериментального направления, когда ответы на сложные вопросы этиологии и патогенеза заболеваний ищут и клиницист, и патолог. Эксперимент используется прежде всего для моделирования патологических процессов и болезней, с его помощью разрабатываются и испытываются новые методы лечения. Однако морфологические данные, полученные в экспериментальной модели болезни, должны быть соотнесены с подобными данными при той же болезни у человека.

Несмотря на то, что в последние годы во всех странах число вскрытий неуклонно снижается, патологоанатомическое исследование остается одним из главных методов научного познания болезни. С его помощью осуществляется экспертиза правильности диагноза и лечения, устанавливаются причины смерти. В связи с этим вскрытие трупа как завершающий этап диагностики необходимо не только клиницисту и патологоанатому, но и медицинскому статистику и организатору здравоохранения. Этот метод является базой научных исследований, преподавания фундаментальных и прикладных медицинских дисциплин, школой врача любой специальности. Анализ результатов вскрытия играет важную роль в решении ряда крупных научно-практических проблем, например проблемы изменчивости, или патоморфоза, болезней. Значение этой проблемы постоянно возрастает, так как все чаще и чаще перед клиницистом и патологоанатомом встает вопрос: где кончается патоморфоз и где начинается патология терапии?

**ОБЩАЯ ПАТОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА, ЕЕ ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ И ЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ ПРАКТИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ**

В условиях нарастающей дифференциации биологических и медицинских наук, а также стремления раскрыть молекулярные механизмы расстройств жизнедеятельности особенно важное значение приобретает интеграция наиболее существенных достижений различных отраслей знаний для создания целостного учения о болезни, отражающего наиболее общие закономерности ее возникновения, развития и завершения. Этой важнейшей задаче служит общая патология. Вбирая главные положения микробиологии, биологии, биохимии, генетики, иммунологии, гигиены, патофизиологии и патоморфологии, а также клинических дисциплин, общая патология является по существу научным фундаментом медицины. Она использует и экспериментальные, и клинические факты, анализирует расстройства и их проявления на всех уровнях — от молекулярного до системного и, что особенно важно, оценивает значение этих расстройств для организма как целого.

Общая патология устанавливает универсальные законы, в соответствии с которыми в животном организме совершаются всевозможные отклонения от нормы; она создает таким образом ряд типов болезненных процессов и является действительно общей частью всего объема патологии. Здесь следует учитывать два обстоятельства.

- Первое: общая патология основывается на изучении типовых форм патологии и общепатологических процессов (дистрофии, гипоксия, опухоли и др., а также тромбоз, воспаление, лихорадка и т.п.), при учете определенных закономерностей складывая из них различные болезни. Иначе говоря, она определяет то общее, что объединяет все болезни и приводит к пониманию их сущности.

- Второе: общая патология использует закономерности возникновения, развития и исхода общепатологических процессов в тех органах и системах, где они сформировались, нашли свою мишень. Иначе говоря, — в зависимости от функции и структуры органов и систем, а также их значения в поддержании гомеостаза и жизнедеятельности организма. От частных органосистемных проявлений общая патология поднимает патологические процессы до обобщения стереотипности, и в то же время она рассматривает роль органосистемных особенностей в развитии общепатологических процессов и типовых форм патологии. Для практической медицины важное значение имеет и первое, и второе. Первое дает основание для понимания сущности болезни вообще, а второе — для понимания природы формирования групп болезней и их отдельных нозологических форм.

Общая патология — наиболее сложная часть медицины, так как она обеспечивает высшее медицинское обобщение знаний на основе последних достижений частных дисциплин, включая клинические. Общая патология разрабатывает теорию болезни, что в настоящее время приобретает принципиально важное значение не только для медицины, но и для жизни нашего общества, в котором распространяются астрология, оккультные представления о болезни, пропагандируются лжетерапевтические возможности отдельных лиц и т.п.

Методологической основой разработки теории патологии является диалектический материализм; на его базе общая патология создала ряд принципиальных положений, которые позволяют по-новому анализировать проблему болезни и здоровья. Среди таких принципиальных положений необходимо назвать следующие: связь структуры и функции, системный подход в рассмотрении явлений патологии, принцип рекомбинационных преобразований, роль регуляции в процессах повреждения и приспособления, общебиологический подход к оценке процессов при патологии и значение их индивидуальных вариаций и др.

Структура и функция в патологии, их связь. При любом патологическом процессе или болезни обнаруживаются функциональные и структурные изменения. Хотя считается общепринятым, что две стороны всех жизненных процессов — биологическая функция и биологическая структура — взаимосвязаны, взаимозависимы и взаимообусловливают друг друга, постоянно встречаются утверждения о "первичности функциональных и вторичности структурных расстройств", наличии чисто функциональных стадий болезни, "функциональных" заболеваний, о "примате функции" и "инертности структуры". Даже при анализе механизмов развития болезни, подчеркивая различие функциональных и структурных расстройств, выделяют соответственно патогенез и морфогенез. Эти представления были основаны на попытке использовать в качестве методологической базы для анализа связи структуры и функции категорий "форма и содержание", хотя единственно правильно применять категории "материя и движение". Их связь и взаимообусловленность отражены в известном выражении крупного отечественного терапевта В.Х.Василенко: "Функция без структуры немыслима, а структура без функции бессмысленна".

**Биологическая структура** — это определенным образом организованная в пространстве живая материальная система или ее часть, обеспечивающая выполнение той или иной деятельности (молекула, субклеточная органелла, клетка, орган, система, организм). **Биологическая функция** — это деятельность, т.е. изменение во времени состояния и/или свойств живой материальной системы или ее части, направленное на получение полезного для нее результата и самосохранение.

Любая биологическая система организована, определенным образом структурирована, — от молекул различных веществ до организма в целом. Такая структурированность, обеспечивающая целесообразность функции, результат длительной эволюции живых существ в процессе их взаимодействия со средой обитания, и именно она является базой, которая определяет выполнение организмом специализированных форм деятельности. В сложных организмах разнообразные структуры выполняют свои специализированные функции (выделение секрета, сокращение/расслабление, передача возбуждения и многое другое). При этом деятельность — не только видимое изменение состояния структуры — укорочение (сокращение) мышцы, например; это и изменение ее свойств, в частности, для мышцы без видимого укорочения — изометрическое напряжение. Функции организма в эволюции развивались и совершенствовались сопряженно с развитием и совершенствованием структур, также приобретая целесообразный характер.

Дифференциация структур обеспечила "разделение труда", т.е. дифференциацию функций. Эта специализация структур (функций) поставила их в зависимость друг от друга; необходимость взаимосодействия структур определила формирование разных систем управления, в том числе нервной системы, которые стали важным механизмом единства, целостности организма и его взаимодействия со средой обитания. В эволюции полезные (целесообразные) для выживания древние структуры сохранялись и сохранялись их функции, в результате чего в сложных организмах сложились различные структурные и функциональные уровни жизнедеятельности: молекулярный, субклеточный, клеточный, органный и системный. Вместе с тем на всех уровнях жизнедеятельности имеет место взаимосвязь, сопряженность изменений структуры и функции как двух неразделимых сторон любого жизненного процесса. На всех уровнях структура и функция могут сопряженно изменяться в широких пределах как в микро-, так и в макроинтервалах времени. Изменение структуры под влиянием какого-либо фактора (например, мембрановстроенного рецептора) одновременно отражается на ее функциональных свойствах (аффинности рецептора к медиатору и передаче внутриклеточного сигнала). Функция клеток и их коопераций может ослабляться или даже прекращаться (резервные нефроны, альвеолы и т.п.) и параллельно происходит восстановление их ультраструктур. Структурно-функциональное взаимодействие на разных уровнях и их соподчиненность (субординационные отношения) являются основой регуляции процессов низшего уровня высшими: это также вносит существенный вклад в обеспечение целостности организма и его взаимодействие с окружающей средой. Неструктурированных биологических систем не существует; изменения структуры на любом уровне сопряжены с изменением ее состояния и свойств, т.е. функции, а изменения функции сопряжены с изменением организации системы, т.е. структуры. Конформационные изменения рецептора, например, встроенного в мембрану клетки, или даже отдельной молекулы, фермента в частности, — это одновременно трансформация их свойств, т.е. аффинности рецептора и активности фермента, иначе говоря, функции. В данном случае следует говорить скорее не о слиянии биохимии с морфологией и физиологией, а их взаимопроникновении; морфология принимает все более функциональный характер, а биохимия и физиология становятся все более структурированными (Д.С.Саркисов).

Принципиальная позиция о единстве функции и структуры снимает вопрос о возможности существования "функциональных" болезней и "функциональной стадии" заболеваний. Возникновение нервного импульса сопровождается изменением организации определенных молекул-ферментов, а при психических заболеваниях обнаруживается нарушение организации синапсов, "укладки" ферментов, нейромедиаторов и везикул. В живом организме каждая его функция может появиться и измениться вследствие действия физиологических или патогенных факторов на соответствующие структуры. Ни один из факторов среды не может оказывать прямого влияния на ту или другую функцию, не иначе как только опосредованно, через воздействие на структуры, формирующие эти функции.

Системный подход к оценке нормальных и патологических явлений. Стремление науки познать все более глубинные, молекулярные и субмолекулярные основы физиологической и патологической жизни кажется естественным, закономерным и перспективным. Однако любая реакция организма или процесс как в норме, так и при патологии на любом уровне — от молекулярного до организменного, является многокомпонентным, т.е. представляется системным и имеет свой результат. Система — это совокупность связанных и взаимодействующих элементов, дающая такой результат, который не может быть обусловлен ни одним из этих элементов в отдельности, причем биологическое значение результата любой биологической системы может быть объективно оценено лишь на организменном уровне. Таким образом, оказывается, что и симптомы, и синдромы, а также лежащие в их основе патологические или приспособительные процессы представляют собой системы со своими результатами. Соответственно и здоровье, и болезнь есть состояние системы, в данном случае организма как целого. Между тем в медицине постоянно используется понятийный аппарат, противоречащий системному принципу; хотя понятие "болезнь" применимо лишь к организму как целому, во многих случаях пишут о болезнях молекул (гемоглобина, например), лизосом, митохондрий, цитоскелета и т.д. Следует ограничиться хотя бы тем, что стало общепринятым в соответствии с органосистемным принципом в медицине (болезни сердца, желудка, эндокринной системы и т.п.). Вне системного принципа — единственно объективного инструмента анализа "целого" — познание болезни невозможно, так как она есть форма жизнедеятельности организма, а не его частей.

Регуляция жизнедеятельности в норме и при патологии; антагонистическая регуляция. Использование системного принципа при анализе болезни в свою очередь невозможно без правильного понимания закономерностей регуляции жизнедеятельности, поскольку регулирующие механизмы определяют связь элементов системы и отношения, которые складываются между различными системами. При этом большую роль играют исследование молекулярных и структурных основ регулирования физиологических процессов, значение степени и уровня повреждения в нарушении работы управляющих систем, выявление особых, отличающихся от нормы форм управления жизнедеятельностью и др. Основной принцип саморегуляции — любое отклонение от нормы — является стимулом возвращения к норме на определенных этапах развития патологии и на определенном, например высшем, уровне управления может утрачиваться. Однако механизмы саморегуляции жизнедеятельности не исчезают полностью до тех пор, пока сохраняется жизнь; с нарастанием тяжести расстройств ведущими становятся механизмы саморегуляции низких уровней жизнедеятельности вплоть до процессов в обмене веществ. В крайне тяжелых состояниях, угрожающих смертью, может изменяться форма регуляции и возникать так называемая экстремальная регуляция. Наряду с этим правильное использование системного подхода и определение роли регулирующих механизмов независимо от их уровня и сложности принципиально невозможны без понимания природы и значения основы любой формы управления, которая состоит в реципрокности регуляции. Именно антагонистическая регуляция, т.е. ± влияния — влияния противоположного знака, лежат ли они в основе прямых или обратных, внутри- или межсистемных связей, определяет организацию любых систем и их отношения в норме и при патологии (Д.С.Саркисов). С точки зрения Д.С.Саркисова, противоположность регулирующих влияний создает единство, целостность всего управления жизнедеятельностью организма, а базой такого управления является единство и противоположность анаболических и катаболических процессов в организме.

Требуют осмысления с современных позиций представления о месте нервной регуляции среди всего многообразия управляющих систем, их взаимосвязи, а также особенностях работы в условиях патологии прежде всего при формировании приспособительных процессов. От решения этих вопросов зависит правильное понимание тех отношений, которые складываются между местными и общими процессами в условиях патологии, и, помимо этого, правильное понимание целостности организма вообще в процессе развития болезни при ее неблагоприятном течении и в терминальных состояниях. Что происходит с интегративными процессами и приспособительными реакциями в подобных условиях нарастающей по тяжести болезни и при умирании? Интегративные связи могут быть менее сложными и многообразными, но они существуют и обеспечивают адаптивные реакции до тех пор, пока сохраняется жизнь. Очевидно, что целям приспособления служат не только расширение интегративных связей с возрастанием тех или иных функций (П.К.Анохин), но и сужение этих связей (изоляция клеток, органов или систем) с минимизацией функций. Минимизация функций позволяет уменьшить энергозатраты и сохранить энергообеспечение биогенеза структур — материальных носителей данных функций. Действительно, в любой специализированной клетке основная масса энергии АТФ идет на выполнение функции и реализацию управляющих сигналов; значительно меньшая часть энергии расходуется на пластические процессы и поддержание структуры. При снижении внутриклеточной регенерации АТФ первоначально снижаются энергозатраты на реализацию регулирующих влияний, что приводит к изоляции (автономизации) клетки или совокупности клеток, в том числе потому, что образование вторичных мессенджеров, например цАМФ и цГМФ, связано с использованием АТФ. В дальнейшем происходит прекращение функции, а в пейсмекерах сердца и дыхательных нейронах — минимизация функции до предела, совместимого с жизнью. Функциональная изоляция и минимизация функции позволяют определенное время сохранить на нормальном уровне пластические процессы и структуру клеток. Повреждения ультраструктур клеток начинаются с того момента, когда степень падения энергообеспечения превышает уровень, необходимый для выполнения функции. Это не означает, что при тяжелом энергетическом дефиците изменения функции клеток происходят без трансформации ультраструктур; напротив, ультраструктурные и функциональные изменения протекают сопряженно, изменения структуры имеют приспособительное значение. Помимо сказанного выше, системность реагирования организма и роль антагонистической регуляции могут быть правильно поняты и использованы при решении проблемы болезни лишь на основе принципа комбинации (рекомбинации) структур и функций, сформулированного Д.С.Саркисовым. В соответствии с этим принципом приспособление организма в норме и при патологии или его совершенствование в филогенезе и онтогенезе достигается не только за счет включения либо создания новых элементов биологических систем, но и вследствие оптимальных комбинаций и рекомбинаций элементов из числа имеющихся. С указанных позиций становятся понятными высокая скорость и специфичность приспособительных реакций на безграничное число патогенных факторов при большой экономии затрат энергии и пластического материала в любой биологической системе. Появляются также новые аспекты в понимании возникновения разнообразных форм патологии и стадийности их протекания. В частности, **относительно небольшое число общепатологических процессов вследствие своеобразного их сочетания в каждый данный момент и в динамике развития болезни определяют большое количество ее нозологических форм при практически бесконечной вариации индивидуального течения заболевания.** Вместе с тем рекомбинационный принцип формирования систем не может реализоваться без антагонистической регуляции, так как любая перегруппировка требует включения одних структур (функций) при выключении других; нарушение антагонистической регуляции при патологии приводит к расстройству системных приспособительных процессов.

Общебиологический подход к оценке явлений патологии. Этот подход к миру патологии наиболее объемно и аргументированно применен И.В.Давыдовским. Выработанные и закрепленные в генотипе организмов комбинации, которые мы наблюдаем у индивида в форме того или иного процесса и неправильно называем общепатологическими, не являются патологическими по существу, по их происхождению. У индивида они могут стать повреждающими, а чаще приобретают двойственное значение (и положительное, и отрицательное) нередко одновременно вследствие либо нарушения генетической программы, либо расстройств ее реализации. С точки зрения высказанных ранее концептуальных положений и общебиологического подхода, необходимо полностью пересмотреть фундаментальные аспекты теории патологии: учение об общепатологических (типовых патологических) процессах, общую этиологию, патогенез, болезнь и др.

Так называемые типовые патологические процессы, их роль в приспособлении и расстройствах жизнедеятельности. Среди многообразных процессов в развитии болезни имеется особая группа так называемых типовых (стереотипных, общепатологических) процессов, которые занимают особое место в патологии, так как выработаны в процессе эволюции, закрепились, развивались и усовершенствовались, обеспечивая приспособление и выживание видов. К ним обычно относят гиперплазию (регенерацию), гипертрофию, тромбоз, воспаление, лихорадку, иммунитет, инфекционный процесс и др. Эти процессы характеризуются тем, что вызываются разными патогенными факторами, имеют стереотипные проявления и лежат в основе многих заболеваний или сопутствуют им. Помимо таких типовых патологических процессов, существуют также типовые формы патологии — дистрофия, гипоксия, отек, опухолевый процесс и др., которые представлены на всех этапах эволюционного развития, но возникают вследствие недостаточности естественных исторических механизмов приспособления, поддерживающих обмен веществ (дистрофия), кислородный и энергетический режим (гипоксия), а также постоянство клеточного состава организма (опухоль). Некоторые авторы и эти явления относят к типовым патологическим процессам.

Воспаление — типовой патологический процесс, сформировавшийся в эволюции в качестве защитно-приспособительной реакции организма на местное повреждение тканей, которая обеспечивает локализованную фиксацию, уничтожение и элиминацию патогенного агента и продуктов распада тканей, а также восстановление их целостности. Если воспаление не формируется или снижается его барьерная роль, возникает угроза генерализации процесса и развития сепсиса. Вместе с тем эволюционно выработанный приспособительный процесс воспаления, как и другие (тромбоз, лихорадка, инфекционный процесс), могут приводить отдельные организмы к гибели. Таким образом, реализация генетически детерминированных (эволюционно закрепленных) потенциально полезных программ реагирования у отдельных индивидов может нарушаться. Чаще всего результат реализации таких программ приобретает двойственное, и полезное, и вредное, значение для организма, что требует врачебной коррекции. Нарушение реализации этих приспособительных программ связано с особенностями патогенных факторов, локализацией их действия и свойствами организма, его реактивностью.

В теории патологии можно выделить ряд аспектов, имеющих наиболее существенное значение, без раскрытия которых невозможно сформировать учение о болезни. Прежде всего это **проблема причинности** в патологии и решение узловых вопросов общей этиологии болезней человека. В данном разделе следует определить роль внешних и внутренних факторов в возникновении болезни, так называемого пускового значения патогенного раздражителя, факторов риска и т.п. Необходимо уяснить, что следует вкладывать в понятие "патогенный" (чрезвычайный, или болезненный) раздражитель; какими свойствами обладают патогенный раздражитель и конкретный организм, следствием чего при их взаимодействии возникает болезнь; что представляет собой процесс взаимодействия патогенного агента и организма с методологической и медицинской точек зрения? Важно отдавать себе отчет в том, что один и тот же патогенный раздражитель может вызывать разные заболевания (например, один аллерген — различные аллергические болезни), а одно и то же заболевание может возникать под влиянием многих патогенных факторов (гипертоническая болезнь). Не исключено, что с развитием медицинской науки данный постулат может подвергаться существенной корректировке. Гипертоническая болезнь, например, распадется на различные нозологические формы. В каждом из этих заболеваний будут обнаружены специфические особенности, связанные со свойствами патогенного(ых) фактора(ов). Вместе с тем в ряде случаев в возникновении болезни определенную роль приобретают болезнетворные условия (например, доза, частота, кратность и место введения аллергена); они же могут определять специфические черты болезни.

Разработка разных вопросов патогенеза болезни в настоящее время сохраняет свою актуальность. В этом направлении существенную роль играют определение сущности повреждения, выделение его форм, уровней и механизмов, определение критериев физиологического и патологического повреждения, а также обратимости последнего и многие другие вопросы. Помимо переосмысления с современных позиций механизмов смены причинно-следственных отношений, прежде всего нейрогенных, формирования

порочных кругов и самоуглубления повреждения, требует пристального внимания вопрос о методологических основах развития болезни; болезнь — "фильм", а не "фотография". Она постоянно развивается, иногда затухая, а затем возобновляясь. Как ответить на вопрос: что является методологической основой развития болезни, ее стадийности? С позиции самого повреждения ответ на этот вопрос получить невозможно. Противоречивость болезни и методологическая основа ее развития состоят в наличии и противодействии повреждения и приспособления (патогенеза и саногенеза). В разработке всех аспектов патогенеза, как и саногенеза, принципиальное значение имеет правильное решение проблемы связи структуры и функции в современном понимании данных биологических категорий. Хотя очевидно, что эта проблема должна решаться на основе взаимообусловленности и сопряженности структурных и функциональных изменений, в нарушение этого положения нередко в болезни наряду с патогенезом выделяют морфогенез. Если следовать положению о неразрывности структуры и функции, то в патогенезе (как и саногенезе) необходимо видеть не только морфогенез, но и функциогенез (Д.С.Саркисов).

Важнейшим направлением в общей патологии является изучение саногенеза, проявления которого в форме реакций немедленно включаются при действии патогенных факторов, и расстройства жизнедеятельности не возникают до тех пор, пока достаточно эффективно функционируют саногенетические механизмы. Общая патология должна ответить не только на вопрос, почему болезнь возникает, но и почему болезнь не возникает или почему она возникает только у отдельных лиц при действии на многих из них патогенных факторов. Проявления саногенеза обнаруживаются во все периоды болезни и строятся на принципах саморегуляции, как и в норме, однако при болезни они могут приобретать качественные особенности, связанные с повреждением. Общая патология должна раскрывать существо и значение этих особенностей приспособительных процессов.

Разработка рассмотренных выше аспектов является обязательной предпосылкой для формулировки ясной и четкой теории болезни — концепции об узловых закономерностях ее возникновения, качественных особенностях, отличающих болезнь от здоровья, значении ее для вида и индивида, т.е. роли с общебиологической и медицинской точек зрения. Существующие дефиниции болезни либо акцентируют внимание на каком-либо одном ее проявлении ("отклонение от нормы", "нарушение уравновешивания организма со средой", "повреждение структур" и т.п.), либо настолько громоздки, что не позволяют показать главное, составляющее существо болезни и не могут служить руководством к действию в практической медицине. Даже в клинике сейчас наблюдается тенденция к доминированию симптомологии и синдромологии над нозологией; нозологический принцип должен быть главным в мышлении врача, определяя его стратегию и тактику в практической деятельности.

Важен и сложен вопрос эволюции болезней человека; его решение входит в сферу стратегических направлений современной теоретической и практической медицины. Освоение ранее необжитых регионов Земли, космического пространства, появление новых технологий и в связи со всем этим новых патогенных факторов, с которыми человечество не контактировало, чревато появлением ранее не существовавших болезней. Широкое распространение, особенно при неправильном использовании, сульфаниламидов и антибиотиков приводит к появлению болезней со стертой или необычной картиной, резистентных форм инфекций, аллергии, а применение стероидов — к возникновению разного рода эндокринопатий и иммунных дефицитов. Трансформация свойств патогенных факторов и появление их новых видов, особенности патологических процессов в разные периоды развития человечества, а также их терапия — обязательная сфера внимания патолога и врача (эволюционная патология, экологическая патология, лекарственная патология). Важное значение с практической точки зрения имеют вопросы, касающиеся выделения и существа стадий заболеваний, особенно неинфекционных, расшифровки механизмов их закономерной смены. Здесь особенно серьезную роль для медицинской практики играет анализ доклинических форм заболевания и закономерностей выздоровления организма. Разработка основных направлений учения о болезни и создание ее концепции должны стать новой базой для теории построения диагноза, т.е. определения его обязательной адекватной структуры. Изучение проблемы причинности в патологии и этиологии, а также патогенеза и саногенеза болезней с углубленным анализом роли общепатологических процессов в их развитии создает необходимые предпосылки для создания современных принципов профилактики и терапии.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ В ПАТОЛОГИИ

Цели, стоящие перед любой наукой, могут быть достигнуты только в том случае, если она владеет методами и методиками, адекватными поставленным задачам. Поэтому и патология на протяжении столетий разрабатывала и совершенствовала свои методики. Именно новые возможности, которые возникали с появлением новых методов исследования, позволяли делать открытия, радикально менявшие взгляды на патологию, начинать качественно новые этапы её развития.

Патологическая анатомия использует три основных метода исследования — вскрытие трупов людей, умерших от болезней (1); микроскопические методы изучения тканей (2); эксперимент, позволяющий моделировать на животных патологические процессы и болезни (3). Каждый из этих методов имеет множество методик, которые в совокупности позволяют наблюдать патологические процессы не только на уровне организма, но и на клеточном, субклеточном и молекулярном уровнях. Благодаря этим методам патолог может наблюдать единство структуры и функции и в физиологических условиях, и в условиях патологии, что качественно отличает современную патологию от патологической анатомии и патологической физиологии даже первой половины XX в.

**Аутопсия**

Вскрытие трупов (аутопсия) — один из наиболее старых методов морфологического исследования. С древних времён вскрытие (сначала отдельных органов, а затем и трупов) использовали для определения причин болезней и выявления тех изменений органов и тканей, которые возникают при заболевании и приводят больного к смерти. Именно вскрытие трупов умерших позволяет говорить о том, что представляет собой болезнь, какой морфологический субстрат соответствует нарушениям функций и клиническим проявлениям болезни в ее динамике, при выздоровлении, инвалидизации или смерти больного. По изменениям органов и тканей, обнаруженным при вскрытии, можно судить об эффективности тех или иных лечебных мероприятий, об индуцированном патоморфозе болезней, а также о врачебных ошибках и ятрогениях. Нередко лишь на вскрытии возникают подозрения на то или иное инфекционное заболевание, что позволяет провести соответствующие исследования совместно с инфекционистами, эпидемиологами, фтизиатрами и другими специалистами. Иногда во время вскрытия трупа обнаруживаются погрешности в оперативном вмешательстве или в проведённых манипуляциях, а также криминальные причины смерти. Наконец, именно результаты вскрытия, тщательное исследование всех изменений органов и систем умершего позволяют составить наиболее полное и объективное представление о том заболевании, которым страдал больной при жизни. Поэтому вскрытие обязательно предусматривает составление патологоанатомического диагноза, который строится по тем же принципам, что и клинический диагноз. Это позволяет сравнивать клинический и патологоанатомический диагнозы, констатировать их совпадение или **расхождение** и в последнем случае оценивать значение врачебной ошибки и искать вместе с клиницистами её причину. Тем самым вскрытие трупов умерших служит целям контроля лечебно-диагностической деятельности больницы или поликлиники и повышения квалификации врачебного персонала.

Вместе с тем результаты аутопсии, зафиксированные в протоколе вскрытия, позволяют проводить анализ ведения больного в клинике в тех случаях, когда речь может идти о врачебных преступлениях, дают возможность вести научные исследования и разрабатывать статистические данные. По результатам патологоанатомических исследований медицинская статистика анализирует причины и характер смертности населения.

В связи с указанным аутопсия не теряет своего значения и при широком использовании биопсийной диагностики заболеваний. Только вскрытие трупа позволяет увидеть и оценить всю историю болезни человека от начала и до конца, вместе с клиницистами проанализировать все этапы лечения больного, суммировать как положительный, так и отрицательный опыт врачей и обсудить все аспекты лечения и ошибок на клинико-анатомических конференциях лечебных учреждений.

Патологоанатомические вскрытия трупов производит врач-прозектор в патологоанатомическом отделении больницы. Иногда прозекторов называют патологоанатомами. Здесь нет принципиальных различий, но патологоанатомами официально являются преподаватели кафедр патологической анатомии и сотрудники соответствующих подразделений научно-исследовательских институтов. В управлениях и комитетах здравоохранения городского уровня, а также в министерствах здравоохранения областного, краевого и республиканского уровней имеется патологоанатомическая служба и должность главного патологоанатома.

Результаты аутопсии во многом зависят от метода вскрытия трупа. Существует несколько методов, которые использует патологоанатом в зависимости от конкретной ситуации и условий, в которых производится аутопсия. Одним из первых специальный метод вскрытия предложил **Рудольф фон Вирхов,** извлекавший органы по отдельности. При этом, однако, нарушаются анатомические связи между органами, что в ряде случаев может привести прозектора к ошибке. Позднее **А.И. Абрикосов** предложил вести вскрытие, следуя топографическому расположению органов, которые при этом делятся на пять систем и извлекаются в пять приёмов. Недостатком метода является то, что он приводит к расчленению анатомо-физиологических систем на фрагменты. Иногда при этом приходится рассекать опухоль или оперированные органы. Наибольшее распространение в практике получил способ **Г.В. Шора**, при котором органы выделяют не поодиночке, а целым **органокомплексом**. При эвисцерации сохраняются естественные связи между органами, а также изменения в их топографии, возникшие в результате операции, определяются пределы прорастания опухоли и т.п. Использование метода вскрытия по Шору не препятствует применению специальных способов вскрытия отдельных систем организма (например, эндокринной). Особенности различных способов вскрытия трупов описаны в специальной литературе.

**Биопсия**

Биопсия — прижизненное взятие тканей, органов или взвеси клеток для микроскопического исследования с диагностической целью, а также для изучения динамики патологического процесса и влияния на него лечебных мероприятий. В зависимости от способа взятия материала выделяют инцизионную, пункционную, эндоскопическую и аспирационную биопсии.

**Инцизионная биопсия**

При инцизионной биопсии часть ткани из органа или целый орган иссекают хирургическим путём. Биоптат фиксируют в растворе формалина или другой фиксирующей жидкости, после чего проводят гистологическое исследование. Нередко характер патологического процесса (например, характер опухоли) необходимо установить во время операции. В этих случаях показана **срочная биопсия**. Ткань фиксируют быстро, обычно путём замораживания её в жидком азоте или с помощью углекислого газа. Затем из биоптата готовят гистологические срезы, окрашивают и исследуют под микроскопом с целью срочной диагностики. Это чрезвычайно важно для определения объёма оперативного вмешательства.

**Пункционная биопсия**

При пункционной биопсии столбик ткани из органа получают с помощью специальной иглы или троакара. Разновидностью пункционной биопсии является трепанобиопсия, при которой получают ткань костей или костного мозга с помощью специального инструмента — трепана.

**Эндоскопическая биопсия**

Благодаря развитию эндоскопических методов исследования появилась эндоскопическая биопсия. Особенно широкое распространение получила эндоскопическая биопсия желудка, кишечника и бронхов. Объём материала, полученного с помощью эндоскопа, очень мал, поэтому высокая степень верификации патологического процесса может быть обеспечена только при исследовании 4—6 биоптатов.

**Аспирационная биопсия**

Аспирационную биопсию применяют для исследования жидкого содержимого полых органов или аспирата, полученного из полостей тела с помощью специальных инструментов. С этой же целью изучают диализный раствор из бронхов, желудка, плевральной или брюшной полостей, из полости матки. Полученный материал подвергают в основном цитологическому исследованию.

Подготовка материала

Полученные тем или иным путём кусочки ткани для последующей световой микроскопии (СМ) обычно фиксируют в 10% нейтральном забуференном формалине. Для выявления отдельных компонентов клеток используют специальные фиксирующие жидкости — Буэна, Карнуа и др. Фиксированный материал режут на микротоме, после чего применяют обзорные окраски срезов или проводят различные гистохимические реакции. Для электронной микроскопии (ЭМ) существуют специальные методы приготовления биопсийного материала, который затем режут на ультратоме, добиваясь толщины среза в 30—50 нм.

Биопсию применяют и в поликлинике, где широкое распространение получили инцизионные биопсии шейки матки, кожи, пункционные биопсии поверхностно расположенных опухолей, аспирационные биопсии содержимого полости матки, верхнечелюстных (гайморовых) пазух и некоторых других полостей.

Биопсийный материал может быть получен и для ЭМ-изучения. Этот метод наиболее широко используют в онкологии. Иногда только исследование ультраструктуры клеток опухоли позволяет установить её гистогенез.

**Микроскопические методы исследования**

Микроскопические методы исследования — способы изучения различных объектов с помощью микроскопа. В биологии и медицине этими методами изучают строение микроскопических объектов, размеры которых лежат за пределами разрешающей способности глаза человека. Основу микроскопических методов исследования составляют СМ и ЭМ. СМ имеет несколько разновидностей, каждая из которых использует различные свойства света: фазово-контрастная, интерференционная, люминесцентная, поляризационная, стереоскопическая, ультрафиолетовая, инфракрасная. В ЭМ изображение объектов исследования возникает в результате направленного потока электронов.

**Световая микроскопия**

СМ основывается на таких определяющих факторах, как разрешающая способность микроскопа, направленность светового луча, а также особенности изучаемого объекта, который может быть прозрачным и непрозрачным. В зависимости от свойств объекта изменяются физические свойства света — его цвет и яркость, связанные с длиной и амплитудой волны, фаза, плоскость и направление распространения волны. Для СМ биологические объекты обычно окрашивают для выявления тех или иных их свойств. При этом ткани должны быть фиксированы, так как окраска выявляет определённые структуры только погибших клеток. В живой клетке краситель обособляется в цитоплазме в виде вакуоли и не прокрашивает клеточные структуры. Тем не менее в СМ можно изучать и живые биологические объекты (витальная микроскопия). В этом случае применяют тёмнопольный конденсор.

**Фазово-контрастная микроскопия** применяется для исследования живых и неокрашенных биологических объектов. Она основана на дифракции луча света в зависимости от особенностей объекта изучения, от которых зависит изменение длины и фазы световой волны. В патологии фазово-контрастная микроскопия находит применение при исследовании простейших, клеток растений и животных, при подсчёте и дифференцировке клеток костного мозга и периферической крови, при изучении клеток культуры тканей и др.

**Поляризационная микроскопия** позволяет изучать биологические объекты в свете, образованном двумя лучами, поляризованными во взаимно перпендикулярных плоскостях, т.е. в поляризованном свете. Этого достигают с помощью плёнчатых поляроидов или призм Николя, которые помещают в микроскопе между источником света и препаратом. Поляризация меняется при прохождении (или отражении) лучей света через различные и оптически разнородные структуры. В так называемых изотропных структурах скорость распространения поляризованного света не зависит от плоскости поляризации, а в анизотропных структурах скорость его распространения меняется в зависимости от направления света по продольной или поперечной оси объекта. Если показатель преломления света вдоль структуры больше, чем в поперечном направлении, возникает положительное двойное лучепреломление, при обратных взаимоотношениях — отрицательное двойное лучепреломление. Многие биологические объекты имеют строгую молекулярную ориентацию, являются анизотропными и обладают положительным двойным лучепреломлением. Такими свойствами обладают миофибриллы, реснички мерцательного эпителия, коллагеновые волокна и др. Сопоставление характера лучепреломления поляризованного света и величины анизотропии объекта позволяет судить о молекулярной организации его структуры. Поляризационная микроскопия является одним из гистологических, а также цитологических методов исследования, способом микробиологической диагностики и др. Важно, что в поляризованном свете можно исследовать как окрашенные, так и неокрашенные и нефиксированные (нативные) срезы тканей.

**Люминесцентная микроскопия** основана на свойстве многих веществ давать свечение — люминесценцию в УФ-лучах или в сине-фиолетовой части спектра света. Ряд биологических веществ, таких как простые белки, коферменты, некоторые витамины, лекарственные средства (ЛС) обладают собственной (первичной) люминесценцией. Другие вещества начинают светиться при добавлении к ним специальных красителей — флюорохромов (вторичная люминесценция). Флюорохромы могут распределяться в клетке диффузно, но могут избирательно окрашивать отдельные клеточные структуры или определённые химические соединения. На этом основано использование люминесцентной микроскопии в цитологических и гистохимических исследованиях. Иммунофлюоресценция в люминесцентном микроскопе позволяет выявлять различные Аг и их концентрацию в клетках, при этом возможна идентификация вирусов, определение AT и иммунных комплексов, гормонов, различных продуктов метаболизма и др.Люминесцентную микроскопию применяют для диагностики вирусных инфекций, с помощью вторичной люминесценции диагностируют злокачественные опухоли в гистологических и цитологических препаратах, определяют очаги ишемии мышцы сердца при ранних сроках инфаркта миокарда, выявляют амилоид в биоптатах тканей и т. д.

**Ультрафиолетовая и инфракрасная микроскопия** основана на способности поглощения УФ- и инфракрасных лучей определённых длин волн некоторыми веществами, входящими в состав живых клеток, микроорганизмов или фиксированных, но не окрашенных тканей, прозрачных в видимом свете. Свойством поглощать УФ-лучи обладают высокомолекулярные соединения, такие как нуклеиновые кислоты, белки, ароматические аминокислоты (тирозин, триптофан, метилаланин), пуриновые и пиримидиновые основания и др. С помощью УФ-микроскопии изучают локализацию и количество таких веществ, а при исследовании живых объектов — их изменения в процессе жизнедеятельности. Инфракрасная микроскопия применяется в медицине преимущественно в нейроморфологии и офтальмологии.

Для специальных целей в патологии используются и другие микроскопические методы — интерференционная, стереоскопическая микроскопия и др.

**Электронная микроскопия**

ЭМ применяют для изучения структуры клеток, микроорганизмов и вирусов на субклеточном и макромолекулярном уровнях. Значительную разрешающую способность ЭМ обеспечивает поток электронов, проходящих в вакууме через электромагнитные поля, создаваемые электромагнитными линзами. При трансмиссионной ЭМ электроны проходят через структуры исследуемого объекта, а при сканирующей ЭМ они отражаются от этих структур, отклоняясь под разными углами. В результате возникает изображение на люминесцирующем экране микроскопа. При трансмиссионной (просвечивающей) ЭМ получают плоскостное изображение внутриклеточных структур, при сканирующей — объёмное. Весьма полезно сочетание ЭМ с другими методами — авторадиографией, гистохимическими, иммунологическими методами. Возникает возможность наблюдать течение биохимических и иммунологических процессов в клетке в сочетании с изменениями внутриклеточных структур. ЭМ требует специальной химической или физической фиксации тканей. Для исследования берут в основном биопсийный материал. Может быть использован и секционный материал, но в максимально короткие сроки после смерти, обычно исчисляемые минутами. После фиксации ткани обезвоживают, заливают в эпоксидные смолы, режут стеклянными или алмазными ножами на ультратомах. При этом получают ультратонкие срезы тканей толщиной 30—50 нм. Их контрастируют, переносят на специальные металлические сетки и затем изучают в ЭМ.

При ультратомировании препарата можно получить так называемые полутонкие срезы толщиной 1,5 мкм, которые после окраски метиленовым синим исследуют в СМ. Это позволяет получить представление о состоянии той ткани, клетки которой будут затем изучены в ЭМ. Метод может иметь и самостоятельное значение.

В сканирующем (растровом) ЭМ исследуют поверхность биологических и небиологических объектов, напыляя в вакуумной камере на их поверхность электроноплотные вещества и изучая эти реплики, повторяющие контуры объекта исследования.

**Методы окрашивания**

Микроскопические методы используют в медицине в сочетании с гистологическими методами исследования клеток и тканей. Для этого, как правило, фиксированные тканевые срезы должны быть окрашены с целью выявления различных клеточных структур. Последние воспринимают красители в зависимости от их физико-химических свойств. Поэтому красители подразделяют на основные, кислые и нейтральные.

Основные, или базофильные, красители являются красящими основаниями или их солями (гематоксилин, метиленовый синий, толуидиновый синий и др.). В цветовой гамме этих красителей преобладают оттенки синего цвета. Интенсивность окраски (базофилия) зависит от числа кислотных групп в структурах клетки, способных взаимодействовать с основными красителями. Кислые, или ацидофильные, красители — красящие кислоты или их соли, окрашивающие клеточные структуры в различные оттенки красного (эозин, эритрозин, Конго красный, оранж и др.). Нейтральные, красители содержат и базофильные, и ацидофильные вещества (например, смесь Романовского—Гимзы). Такие красители могут обладать способностью растворяться в определённых веществах, окрашивая их (судан III, шарлах и др.). Нередко для контрастирования структур клеток или тканей используют методы, основанные на способности этих тканей удерживать или восстанавливать соли тяжёлых металлов (серебра, золота, осмия, свинца и др.). Эти методы контрастирования называются импрегнацией, они используются как в СМ, так и в ЭМ.

С помощью различных красителей в повседневной и научной практике применяют обзорные окраски для составления общего представления о состоянии исследуемой ткани (гематоксилин и эозин, азур-фукселин и др.), а также специальные окраски для выявления особенностей процессов, протекающих в тканях и клетках. Так, используют окраску Суданом III для выявления жировой дистрофии клеток, Конго красным — для определения отложений амилоида, импрегнацию серебром — для исследования нервной ткани и т.п. Живые и неокрашенные объекты исследуют с помощью специальных микроскопических методов, описанных выше.

**Гистохимические методы**

Гистохимические и гистоферментохимические методы позволяют проследить и оценить обмен веществ в тканях и клетках в норме и вусловиях патологии; избирательно оценить метаболизм белков, липидов, углеводов и других метаболитов, локализацию и активность ферментов и гормонов, проанализировать особенности окислительно-восстановительных процессов, протекающих в клетках и тканях в условиях патологии, при приспособлении и компенсации. Диапазон применения гистохимических методов в патологии необычайно широк. Для гистохимических исследований используют срезы свежезамороженных тканей, приготовленные в криостате, что позволяет сохранить прижизненную локализацию того или иного химического соединения. Гистохимические методы часто сочетают с другими методами СМ и ЭМ. Для количественной оценки результатов гистохимических реакций применяют гистофотометрию, цитофотометрию, микрофлюорометрию и др.

**Цитологическое исследование мазков, соскобов и отпечатков**

Традиционными методами, используемыми патологоанатомами для диагностики различных заболеваний, являются цитологическое исследование мазков, соскобов и отпечатков ткани из различных органов и морфологическое изучение замороженных или заключённых в парафин биоптатов органов и тканей. Цитологические исследования позволяют дать предварительный диагноз в течение 20—30 мин, они широко применяются в поликлинической и хирургической практике. Однако при цитологическом исследовании нарушаются взаимоотношения между различными клетками и внеклеточным матриксом. Кроме того, в цитологическом образце могут отсутствовать отдельные типы клеток. Поэтому цитологические данные часто носят предварительный характер, а окончательный диагноз ставят после морфологического исследования биоптата через 4—5 дней. Использование срезов, полученных из замороженной ткани (криостатных срезов), позволяет ускорить обработку материала до 1—2 ч, но за счёт ухудшения морфологической картины. В связи с этим исследование биопсийного материала, заключённого в парафин, остаётся основным подходом в патологоанатомической диагностике. Очень информативна иммуноцитохимия. Используя специфические AT и эффективные системы их визуализации, можно получить данные, определяющие выбор терапии заболевания и его прогноз. Особенно эффективно использование этих методик при диагностике опухолей, иммунных, аутоиммунных и воспалительных процессов.

**Авторадиография**

Близка к гастохимическим методам исследования авторадиография, основанная на выявлении в клетках и в субклеточных структурах в СМ или ЭМ локализации радиоактивных изотопов. Метод позволяет визуально оценить интенсивность метаболизма в клетках и во внутриклеточных структурах, а также в структурах различных микробных и вирусных возбудителей болезней. Авторадиография позволяет наблюдать динамику процессов метаболизма, так как α- и β-частицы используемых изотопов, локализуясь и перемещаясь в определённых структурах, оставляют след на фотоэмульсии, которой покрывают гистологический или ультратонкий срез ткани.

**МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ**

Бурное развитие и прогресс в области иммунологии, генетики, биотехнологии, клеточной и молекулярной биологии привели к дальнейшему совершенствованию методического арсенала патолога. В области цитологии появились цитологические центрифуги (цитоспины), позволяющие сконцентрировать клетки из различных биологических жидкостей и получить качественный клеточный монослой, пригодный для цитологического и иммуноцитологического исследований в минимальные сроки.

**Проточная цитофлюориметрия**

Важным достижением в области цитологии явилось использование проточной цитофлюориметрии. Проточный цитофлюориметр — прибор, позволяющий производить качественный и количественный анализы физических и биологических параметров клеток, фенотипирование лейкоцитов, ДНК-анализ. Прибор автоматически измеряет количество света из флюорохрома, связанного со специфическими AT (CD3, CD4, CD8, CD19 и т.д.) или определёнными веществами (например, этидиумом бромида — 4',6-диамидино-2-фенилиндолом [DAPI]), окрашивающими ДНК или РНК. Используя различные флюорохромы, можно получить многопараметровые данные из одного образца. Сигнал из каждой клетки собирается в течение нескольких микросекунд при прохождении клетки через лазерный пучок, обрабатывается компьютером и представляется на дисплее в виде количественных данных. Образцы, содержащие суспензию или мелкие агрегаты клеток, готовятся в течение 2—3 ч. Наиболее широко проточная цитофлюориметрия стала использоваться в цитологической практике после развития ультразвуковой диагностики и применения техники тонкоигольчатой аспирационной биопсии. В отличие от обычной биопсии, тонкоигольчатая аспирационная биопсия менее травматична, не требует специальной подготовки больного и стерильных условий. Из получаемого аспирационного материала готовят мазок для цитологического исследования и клеточную суспензию для проточной цитофлюориметрии. Недостатком тонкоигольчатой аспирационной биопсии является её меньшая информативность и невозможность получения суспензии клеток из солидных тканей для проточной цитофлюориметрии.

**Метод двойной или тройной метки**

Совершенствование систем визуализации флюоресцентных и ферментных меток позволило использовать несколько помеченных разными метками различных AT на одном препарате при иммуногистохимическом исследовании. Это метод двойной или тройной метки.

Этот методический подход особенно важен при исследовании гетерогенной по составу ткани и позволяет выявить распределение различных популяций клеток при инфильтративном росте опухолей, развитии локального иммунного ответа и т.д. При определённых условиях одна и та же клетка может экспрессировать несколько Аг (коэкспрессия), выявляемых обычно на различных клетках. В таких случаях используют флюоресцентный микроскоп, изображение с которого передаётся в компьютер.

Ещё более эффективно исследование таких препаратов с помощью конфокальной сканирующей лазерной микроскопии. Монохромный источник освещения (лазер) не даёт оптических искажений и позволяет сканировать клетки в срезе или мазке в одной плоскости на различной глубине. Специальная компьютерная программа позволяет совмещать изображения одних и тех же участков, содержащих клетки с различными флюорохромами, и анализировать распределение различных меток на клетках. При совпадении меток и наложении их друг на друга появляется псевдоцветное свечение жёлтого цвета.

**Гибридизация in situ**

**В** последнее десятилетие в патологии активно используют гибридизационную иммуногистохимию, или гибридизацию in situ. Эта техника, в отличие от описанных выше, способна продемонстрировать распределение специфических последовательностей ДНК или **РНК** в индивидуальных клетках на срезах ткани, в мазке, в культуре клеток, хромосомных препаратах.

Гибридизация in situ способна определять 20—50 копий определённых последовательностей **ДНК** или РНК в одной клетке. Таким образом, этот метод позволяет судить о биосинтетической активности отдельных клеток при их прямой визуализации и широко используется в диагностике инфекционных заболеваний и неопластических процессов, включая онкогены, гены-супрессоры, ростовые факторы и факторы, регулирующие клеточный цикл. Например, эта техника используется для идентификации экспрессии **РНК** в опухолях эндокринной системы, негативных при иммуногистохимической окраске. Гибридизация in situ является также важным инструментом в мониторинге генной терапии, поскольку позволяет выявлять локализацию и распределение терапевтических генов, трансфецированных вирусными или плазмидными векторами в клетки или органы. Недостатком гибридизации in situ является её относительно низкая чувствительность. Этот недостаток с успехом компенсируется использованием полимеразной цепной реакции.

**Полимеразная цепная реакция**

Полимеразная цепная реакция **(ПЦР)** — метод, в основе которого лежит ферментное накопление специфических ДНК-последовательностей. В ПЦР используются олигонуклеотидные праймеры (короткие ДНК-последовательности), которые располагаются сбоку от цепи ДНК и тем самым определяют интересующую область в исследуемой ДНК. Процедура включает повторные серии циклов, каждый из которых состоит из шаблонной денатурации, отжига праймера и удлинения прай-мера термостабильной ДНК-полимеразой до создания экспоненциального накопления специфического фрагмента ДНК, конец которого определяется 5'-концом праймера. После 20 циклов количество копий возрастает в 106—108 раз. Для ПЦР, помимо ДНК, может быть в качестве стартового материала использована РНК. Эта процедура известна как ПЦР с обратной транскрипцией. При помощи обратной транскрипции происходит построение комплементарной ДНК, которая и определяется ПЦР. ПЦР является чрезвычайно чувствительным методом, способным увеличивать 1—2 копии генов до уровня, легко определяемого гель-электрофорезом или блот-гибридизацией по Э. Саузерну (англ. название метода — southern blotting). Эта повышенная чувствительность ПЦР часто способна давать ложноположительные результаты при контаминации образцов. Современная лабораторная техника максимально предотвращает подобное загрязнение. Наиболее важным правилом ПЦР является раздельное проведение пре- и пост-ПЦР этапов. Кроме того, каждая ПЦР включает негативный ПЦР-контроль

В настоящее время ПЦР получила дальнейшее развитие в виде **ПЦР в реальном времени,** способной давать количественную оценку исследуемых нуклеиновых кислот. При проведении ПЦР требуется разрушение клеток и тканей для изоляции нуклеиновых кислот и перевода их в жидкую фазу. Следовательно, результаты ПЦР невозможно связать с конкретным гистологическим типом клетки, определить процент клеток, содержащих исследуемую последовательность.

Молекулярная техника, объединившая высокую чувствительность ПЦР и клеточную локализацию последовательностей, выявляемых гибридизацией in situ, получила название **ПЦР** in situ. Часто эта техника используется для определения вирусных или провирусных последовательностей нуклеиновых кислот. Помимо этого, ПЦР in situ применяют для изучения эндогенных последовательностей ДНК, включая перестроение клеточных генов, хромосомные транслокации и картирование геномных последовательностей с небольшим числом копий в метафазных хромосомах. Однако эта техника не находит широкого применения из-за лёгкости получения псевдоположительного результата и необходимости проведения большого количества контролей, сложности интерпретации полученных результатов и их низкой воспроизводимости.

**Микродиссекция**

**В** связи с вышеизложенным, был предложен метод микродиссекции, позволяющий вырезать отдельные идентифицированные клетки или группы клеток с последующим их анализом с помощью обычной ПЦР. Первые шаги в этом направлении были сделаны путём вырезания бритвой или соскобов интересующих участков ткани на срезе под микроскопом. В дальнейшем стали использовать микроманипуляторы, позволяющие точно выделить отдельные скопления клеток. В обоих методах процесс микродиссекции очень долог и во многом зависит от мастерства оператора. В настоящее время для точной и воспроизводимой микродиссекции всё чаще используют лазеры. В ряде приборов применён принцип лазерной микропучковой микродиссекции, когда точно сфокусированным пучком ультрафиолетового лазера вырезают клетки или область, защищенную фотопигментом, предотвращающим разрушение ДНК в УФ-свете. В других приборах используют принцип лазерного захвата. Этот принцип основан на селективном прилипании выбранных клеток или фрагментов ткани к термопластической мембране, активированной пульсами низкоэнергетического инфракрасного лазера. Термопластическая мембрана, используемая для переноса выбранных клеток, имеет диаметр около 6 мм и располагается на дне оптически прозрачной крышки, которая закрывает 0,5 мл микроцентрифужную пробирку с раствором для экстракции ДНК или РНК. Морфология вырезанных клеток хорошо сохраняется и может быть документирована на всех стадиях процедуры. Поскольку микродиссекция с лазерным захватом не разрушает окружающие ткани, 2—3 участка, содержащие разнородные морфологические структуры (нормальные, пограничные и опухолевые клетки), могут быть взяты для анализа с одного препарата. В настоящее время микродиссекция с лазерным захватом широко используется для анализа генетических изменений ДНК, определения потери гетерозиготности в инвазивных опухолях.

Таким образом, современный патолог обладает возможностью использовать значительный арсенал методов, начиная с рутинных и заканчивая молекулярно-биологическими, для диагностики цитологического и биопсийного материалов.

Выбор тех или иных методов обусловливается видом материала (мазок, криостатный или парафиновый срез), особенностями его фиксации, гистоархитектурными особенностями ткани и конечными целями исследования.