

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова»
ИНСТИТУТ МЕДИЦИНСКОГО ОБРАЗОВАНИЯ

Кафедра лабораторной медицины и генетики

ОДОБРЕНО
Учебно-методическим советом
ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова»
Минздрава России

Протокол № 1/2022
«25» января 2022 г.

УТВЕРЖДАЮ
Директор Института медицинского
образования
ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова»
Минздрава России
Е.В. Пармон
«25» января 2022 г.

Жиленкова Ю.И., Черныш Н.Ю., Вавилова Т.В.

ОТ ЦИТОЛОГИИ К ЦИТОГЕНЕТИКЕ

учебно-методическое пособие для обучающихся
по дисциплине **«От цитологии к цитогенетике»**
по направлению подготовки 06.04.01 Биология (уровень магистратуры)
профиль «Клеточная и молекулярная биология»

УДК 576.3
ББК 28.04

Жиленкова Ю.И., Черныш Н.Ю., Вавилова Т.В. От цитологии к цитогенетике: учебно-методическое пособие / Ю.И. Жиленкова, Н.Ю. Черныш, Т.В. Вавилова – Издательство ... – СПб, 2022. – 24 с.

Авторы:

Жиленкова Ю.И. – доцент кафедры лабораторной медицины и генетики ИМО ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, к.м.н.;

Черныш Н.Ю. – доцент кафедры лабораторной медицины и генетики ИМО ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, к.м.н.;

Вавилова Т.В. – заведующий кафедрой лабораторной медицины и генетики ИМО ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, д.м.н., профессор.

Рецензент:

Гайковая Л.Б. – заведующая кафедрой биологической и общей химии им. В.В. Соколовского ФГБОУ ВО СЗГМУ им И.И. Мечникова Минздрава России, д.м.н., доцент

Учебно-методическое пособие предназначено для проведения практических занятий как одного из этапов дисциплины «От цитологии к цитогенетике» для обучающихся по направлению подготовки 06.04.01 Биология (уровень магистратуры).

Обсуждено на заседании кафедры лабораторной медицины и генетики
Института медицинского образования
ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	4
Раздел 1. Гематологические исследования	
1.1. Основные принципы микроскопии в гематологии.....	7
1.2. Реактивные изменения в крови	9
1.3. Опухолевые заболевания системы кроветворения.....	13
Раздел 2. Общеклинические исследования	
2.1. Особенности общеклинических методов исследования в диагностике различных заболеваний.....	15
Раздел 3. Цитологические исследования	
3.1. Цитологическая диагностика воспаления	18
3.2. Цитологическое исследование опухолей	21

ВВЕДЕНИЕ

Продолжительность изучения дисциплины «От цитологии к цитогенетике» – 72 часа

Лекции – 10 часов

Семинары – 6 часов

Практические занятия – 16 часов

Самостоятельная работа – 40 часов

Цель дисциплины – ознакомить обучающихся с основами морфологических и цитологических исследований биологических жидкостей организма человека и их ролью в комплексной диагностике различных заболеваний, в том числе опухолей.

В результате освоения дисциплины обучающиеся должны ознакомиться с основами и овладеть навыками морфологических, общеклинических и цитологических исследований.

Компетенции обучающегося, формируемые в результате освоения учебной дисциплины: УК 2.1, ОПК 3.3, ОПК 5.3, ПК 5.2.

Конкретные задачи

Компетенция	Индикатор	Показатели достижения освоения компетенции
УК-2 Способен управлять проектом на всех этапах его жизненного цикла	УК-2.1 Разрабатывает концепцию проекта в рамках обозначенной проблемы: формулирует цель, задачи, обосновывает актуальность, значимость, ожидаемые результаты и возможные сферы их применения	Знать: основы методологии морфологических и цитологических исследований в лаборатории
		Уметь: самостоятельно формулировать цели и задачи морфологических и цитологических исследований, оценивать полученные результаты и возможности их использования в диагностике различных заболеваний
ОПК-3 Способен использовать философские концепции естествознания и понимание современных биосферных процессов для системной оценки и прогноза развития сферы профессиональной деятельности	ОПК-3.3 Способен осуществить прогноз последствий реализации социально значимых проектов в сфере профессиональной деятельности	Знать: тенденции развития морфологических, цитологических и цитогенетических исследований в клинико-диагностической лаборатории
		Уметь: оценивать роль морфологических и цитологических исследований в комплексной, в том числе цитогенетической, диагностике различных заболеваний
ОПК-5 Способен участвовать в создании и реализации новых технологий в сфере профессиональной деятельности и контроле их экологической безопасности с использованием живых объектов	ОПК-5.3 Способен участвовать в создании и реализации новых технологий в сфере профессиональной деятельности	Знать: современные технологии в области морфологических, цитологических и цитогенетических исследований
		Уметь: использовать современные технологии морфологических и цитологических исследований в клинико-диагностических лабораториях
ПК-5 Способен осуществлять научные	ПК-5.2 Осуществляет контроль качества	Знать: основы научных исследований и доказательной медицины

исследования в области клеточной биологии, несет ответственность за качество работ и научную достоверность результатов	проводимых исследований	Уметь: организовывать научно-исследовательскую деятельность, обеспечивать контроль качества проводимых исследований и оценивать достоверность полученных результатов
--	-------------------------	--

Место проведения занятий и оснащение: учебные аудитории кафедры лабораторной медицины и генетики, мультимедийная аппаратура, методические материалы, световые микроскопы, счетные машинки, препараты крови (мазки фиксированы, окрашены), цитологические препараты.

Междисциплинарные и внутридисциплинарные связи: для изучения данной дисциплины обучающимся необходимо владение знаниями из ранее освоенных дисциплин: «Биология Клетки», «Клеточная и молекулярная иммунология. Иммунопатогенез вирусных инфекций».

Основная литература

1. Гематология: национальное руководство / под ред. О. А. Рукавицына - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017. - Текст: электронный//URL: <https://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970441992.html>
2. Гены по Льюину/Дж. Кребс, Э. Голдштейн, С. Килпатрик - М.: Лаборатория знаний, 2017. - Текст: электронный//URL: <https://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785001015826.html>
3. Гистология, эмбриология, цитология: учебник/Данилов Р.К., Боровая Т.Г. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2020. - Текст: электронный//URL: <https://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970453612.html>
4. Иммуногеномика и генодиагностика человека / Р.М. Хаитов, Л.П. Алексеев, Д.Ю. Трофимов - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017. - Текст: электронный//URL: <https://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970441398.html>
5. Клетки по Льюину / Л. Кассимерис [и др.] - М.: Лаборатория знаний, 2018. - Текст: электронный//URL: <https://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785001015871.html>
6. Наследственные болезни/под ред. Е.К. Гинтера, В.П. Пузырева - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017. - Текст: электронный//URL: <https://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970439692.html>
7. Основы персонализированной медицины: медицина XXI века: омикс-технологии, новые знания, компетенции и инновации / Джайн К.К., Шарипов К.О. - М.: Литтерра,

2020. - Текст: электронный//URL:
<https://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785423503437.html>
8. Цитология и общая гистология: атлас / Банин В.В., Павлов А.В., Яцковский А.Н. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019. - Текст: электронный//URL: <https://www.rosmedlib.ru/book/06-COS-2411.htm>

Дополнительная литература

1. Медицинская биология и общая генетика: учебник/Р.Г. Заяц, В.Э. Бутвиловский, В.В. Давыдов, И.В. Рачковская - Минск: Выш. шк., 2017. - Текст
2. Медицинская лабораторная диагностика: программы и алгоритмы / под ред. А.И. Карпищенко - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014. - Текст : электронный // URL : <https://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970429587.html>
3. Основы биохимии Ленинджера: в 3 т. Т. 2: Биоэнергетика и метаболизм / Д. Нельсон, М. Кокс - М.: Лаборатория знаний, 2015. - Текст: электронный//URL: <https://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785996323173.html>
4. Цитология. Функциональная ультраструктура клетки. Атлас/Банин В.В. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. - Текст: электронный//URL: <https://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970438916.html>

РАЗДЕЛ 1

ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

1.1. Основные принципы микроскопии в гематологии

Цель: изучить основы микроскопии в гематологии.

Конкретные задачи: познакомиться с особенностями морфологических исследований препаратов крови и костного мозга, методами приготовления и окраски мазков, морфологической характеристикой клеток периферической крови и костного мозга без патологии.

Форма проведения практического занятия: семинар.

Продолжительность занятия: 2 академических часа.

Основные понятия

В эру до появления автоматических счетчиков крови все исследования общего анализа крови (ОАК) проводились вручную. В перечень исследования входили следующие параметры:

- подсчет количества лейкоцитов, эритроцитов, тромбоцитов в счетной камере;
- определение концентрации гемоглобина гемиглобинцианидным методом;
- определение гематокрита на гематокритной центрифуге;
- подсчет лейкоцитарной формулы и оценка морфологических характеристик эритроцитов (анизоцитоз, пойкилоцитоз, гипо/гиперхромия, наличие включений);
- определение СОЭ.

Дополнительно при необходимости:

- проводили морфологическую оценку тромбоцитов и их подсчет по Фонию;
- определение количества ретикулоцитов.

Сегодня все эти параметры и намного больше делает даже самый простой гематологический анализатор. Но в то же время, морфологическая оценка клеток крови остается важным этапом исследования в «сложных» случаях, когда анализатор не может дифференцировать клетки, а также при гематологической патологии, когда оценка окрашенных мазков является обязательной в большинстве случаев. Морфологическое исследование пунктата костного мозга с подсчетом миелограммы – более сложное исследование, требующее от специалиста лаборатории обширных знаний в области гематологии.

Задания для выполнения

1. Рассказать о правилах приготовления препаратов крови и способах их окрашивания, ошибках при приготовлении мазков, критериях оценивания их качества.
2. Рассказать о пункции костного мозга, приготовлении препаратов костного мозга и способах их окрашивания, ошибках при приготовлении мазков, критериях оценивания их качества.
3. Рассказать о строении микроскопа, правилах работы, настройке освещения по Келлеру, принципах микроскопии окрашенных мазков крови и костного мозга.
4. Нарисовать схему кроветворения в тетрадь с описанием морфологических особенностей клеток разной степени зрелости.

Задания для самоподготовки (контрольные вопросы текущего контроля)

1. Общий анализ крови. Преаналитический этап, параметры, референтные интервалы, технологии выполнения исследования. Морфологическая картина клеток периферической крови.
2. Автоматизированные методы анализа в гематологии: принципы, виды гематологических анализаторов, параметры.
3. Гемопоз. Морфологические особенности клеток костного мозга.
4. Исследование пунктата костного мозга: подготовка материала, оценка миеелограммы.

Наглядные материалы для выполнения работы по теме: микроскопы, предметные стекла, окрашенные препараты крови и костного мозга.

Литература

1. Луговская С.А. Гематологический атлас / Луговская С.А., Почтарь М.Е. — М.: Триада, 2016. — 434 с.: ил.
2. Клиническая лабораторная диагностика Учебник : в 2-х томах. / под ред. профессора В. В. Долгова. — М. : Лабдиаг, Том 1— 688 с, 2017., Том 2. - - 780 с., 2018 г.
3. Руководство по лабораторным методам диагностики [Электронный ресурс] / Кишкун А.А. - 2-е изд., перераб. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014. — Режим доступа: <https://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970431023.html>

1.2. Реактивные изменения в крови

Цель: ознакомиться с реактивными изменениями в крови при различных состояниях.

Конкретные задачи: изучить причины реактивных лейкоцитозов и лейкопений, эритроцитозов и анемий, тромбоцитозов и тромбоцитопений. Познакомиться с понятием «лейкемоидные реакции». Провести подсчет лейкоцитарной формулы и оценку морфологии клеток крови при различных реактивных состояниях.

Форма проведения практического занятия: практическое занятие.

Продолжительность занятия: 4 академических часа.

Основные понятия

ЭРИТРОЦИТЫ – высокоспециализированные безъядерные клетки, лишенные внутриклеточных органелл. Главная функция эритроцитов – перенос кислорода из легких в ткани и углекислого газа из тканей в легкие. Клетка имеет форму двояковогнутого диска, что способствует увеличению площади газообмена и активной подвижности мембраны эритроцита. Двояковогнутая форма обладает незначительными диффузными преимуществами, перед сферой, однако, объем диска имеет в 1,7 раза большую поверхность, чем объем у сферы. Эритроцит имеет белково-липидную мембрану, очень эластичную, внутри которой содержится плотно упакованная молекула гемоглобина. За 100-120 дней циркуляции в организме понижаются способность эритроцита к деформации, и стойкость к внешним воздействиям.

Эритроциты изучают в мазке, окрашенном по Романовскому, после подсчета лейкоцитарной формулы. В таких препаратах эритроцит – это клетка округлой, слегка овальной формы, окрашенные кислым компонентом краски Романовского в розовый цвет, из-за своей формы имея просветление в центре. В щелочной среде, если, например, используются многоразовые стекла с остатками моющего раствора, эритроциты будут синюшными, тогда как в кислой среде, что чаще связано с кислой pH воды, эритроциты ярко красного цвета.

При оценке эритроцитов учитывают 4 параметра:

1. размер эритроцита;
2. интенсивность окраски;
3. форму эритроцита;
4. наличие включений в эритроцит.

АНИЗОЦИТОЗ - изменение диаметра эритроцитов.

АНИЗОХРОМИЯ - клетки разной степени окрашивания (chromos (греч.) - окраска).

РЕТИКУЛОЦИТЫ – молодые эритроциты, образующиеся после потери нормоцитами ядра. Диаметр ретикулоцитов 7,7-8,5 мкм. Референтный интервал 0,2-1,2%. Увеличение их количества – ретикулоцитоз.

НОРМОБЛАСТЫ – эритроциты, попавшие в периферическую кровь с сохраненным ядром, встречаются при нарушении эритропоэза, причины могут быть различны.

ПОЙКИЛОЦИТОЗ (от греч. poikilos – пестрый разнообразный) – изменение формы эритроцита.

ТЕЛЬЦА ЖОЛЛИ – это остатки ядра в эритроцитах, разной величины, округлые включения единичные, но может быть несколько.

КОЛЬЦА КЕБОТА – тонкие нитеобразные, кольцевидные или в виде восьмерки включения, являющиеся остатками ядерной мембраны.

БАЗОФИЛЬНАЯ ПУНКТАЦИЯ ЭРИТРОЦИТОВ – рассеянные гранулы темного цвета, связанные с РНК-содержащими органеллами. Может быть при тяжелых формах анемий, при интоксикации свинцом или тяжелыми металлами, талассемии, алкогольной интоксикации, миелодиспластическом синдроме, мегалобластных анемиях. Включения – показатель дисэритропоэза.

ТЕЛЬЦА ГЕЙНЦА образуются при супровитальном окрашивании за счет преципитации гемоглобина. Нежно-голубые клетки с единичными синими включениями округлой формы. Появляются в периферической крови только после спленэктомии.

ЛЕЙКОЦИТЫ (белые клетки крови) – многообразная группа клеток, которые развиваются из различных клеток-предшественников. Специфические функции категорий лейкоцитов значительно отличаются, их предназначение – защита организма от инородных агентов. Миелоидные лейкоциты производятся в костном мозге, а развитие лимфоидных клеток не ограничено костным мозгом и происходит в первичных и вторичных лимфоидных органах.

Общее количество в организме здорового взрослого человека составляет $4-9 \times 10^9$ /л, причем лимфоциты и нейтрофилы составляют в них большинство. Эозинофилы, базофилы и моноциты содержатся в организме здорового человека в гораздо меньших количествах. Абсолютное количество каждого типа лейкоцитов в периферической крови имеет клиническое значение и более информативно, чем относительный подсчет, представленный в процентном соотношении. По своему строению их делят на две группы: гранулоциты и агранулоциты. Гранулоциты – лейкоциты, в цитоплазме которых содержится зернистость. К гранулоцитам относятся: нейтрофилы, эозинофилы и базофилы. Агранулоциты – лейкоциты, цитоплазма которых не содержит зернистости. К агранулоцитам относятся: моноциты, лимфоциты, плазматические клетки. Рутинная оценка общего количества лейкоцитов

производится после полного лизиса безядерных элементов.

Лейкоцитоз – увеличение содержания лейкоцитов более $9,0 \times 10^9/\text{л}$. Лейкопения – снижение содержания лейкоцитов в крови менее $4,0 \times 10^9/\text{л}$. Снижение абсолютного числа ниже $0,5 \times 10^9/\text{л}$ – агранулоцитоз.

ЛЕЙКОЦИТАРНАЯ ФОРМУЛА – процентное соотношение отдельных форм лейкоцитов. Оценка соотношения различных лейкоцитов осуществляется в мазке, окрашенном по Романовскому, методом иммерсионной микроскопии с окуляром 10 и объективом 100. Соотношение клеток оценивают из расчета на 100, 200 или при необходимости большего количества лейкоцитов. При отсутствии изменений в лейкоцитарной формуле выявляется 6 групп лейкоцитов: палочкоядерные нейтрофилы, сегментоядерные нейтрофилы, базофилы, эозинофилы, лимфоциты и моноциты. При изменениях клеточный состав меняется и могут появиться молодые клеточные формы или клеточные ростки (плазматические клетки), измениться соотношение обычно встречаемых элементов (табл. 1).

Таблица 1

Референтные значения лейкоцитарной формулы

Клетки	Референтные значения %
Палочкоядерные нейтрофилы	1.0-6.0
Сегментоядерные нейтрофилы	47.0-72.0
Эозинофилы	0-5.0
Базофилы	0-1.0
Моноциты	3.0-11.0
Лимфоциты	19.0-39.0

ВАЖНО!

Бласты, промиелоциты, миелоциты, метомieloциты В НОРМЕ НЕ ВСТРЕЧАЮТСЯ в периферической крови.

Задания для выполнения

1. Провести микроскопическое исследование препаратов периферической крови пациентов с различными вариантами анемий. Посчитать лейкоцитарную формулу, описать изменения морфологии эритроцитов (и других клеток при необходимости). Рассказать, к какой группе может относиться данный вариант анемии (морфологическая, патогенетическая классификация).
2. Провести микроскопическое исследование препаратов периферической крови пациентов

с воспалением различной природы (бактериальным, вирусным). Посчитать лейкоцитарную формулу, описать изменения лейкоцитарного звена (и других клеток при необходимости). Рассказать, каким состояниям могут соответствовать выявленные изменения.

3. Провести подсчет ретикулоцитов и тромбоцитов в окрашенных препаратах крови. Рассказать о диагностической значимости данных исследований и возможных причинах ретикулоцитоза / ретикулопении, тромбоцитоза / тромбоцитопении.

Задания для самоподготовки (контрольные вопросы текущего контроля)

1. Классификации анемий. Особенности морфологии эритроцитов при различных видах анемий.
2. Лабораторные алгоритмы диагностики анемий.
3. Ретикулоциты. Методы оценки. Ретикулоцитарные индексы. Интерпретация результатов.
4. Тромбоциты. Морфология. Референтные значения. Методы определения. Интерпретация результатов.
5. Особенности клинического анализа крови при бактериальных, вирусных инфекциях, системных и хронических заболеваниях.

Наглядные материалы для выполнения работы по теме: микроскопы, окрашенные препараты крови, счетчики клеток крови, бланки для записи лейкоцитарных формул.

Литература

1. Луговская С.А. Гематологический атлас / Луговская С.А., Почтарь М.Е. – М.: Триада, 2016. – 434 с.: ил.
2. Клиническая лабораторная диагностика Учебник : в 2-х томах. / под ред. профессора В. В.Долгова. – М. : Лабдиаг, Том 1 – 688 с, 2017; Том 2. – 780 с., 2018.
3. Руководство по лабораторным методам диагностики [Электронный ресурс] / Кишкун А.А. - 2-е изд., перераб. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014. – Режим доступа: <https://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970431023.html>

1.3 Опухолевые заболевания системы кроветворения

Цель: познакомиться с принципами лабораторной диагностики опухолевых заболеваний системы крови.

Конкретные задачи: изучить современную классификацию и особенности морфологии клеток крови и костного мозга при острых лейкозах, миелопролиферативных и лимфопролиферативных заболеваниях.

Форма проведения практического занятия: практическое занятие.

Продолжительность занятия: 4 академических часа.

Основные понятия

Методы исследования в гематологии:

1. Общий анализ крови – исследование клеток периферической крови.
2. Миелограмма – аспирационная биопсия костного мозга – морфологическое исследование клеток костного мозга.
3. Трепанобиопсия – вид пункционной биопсии, заключающийся во взятии кусочков костного мозга и костной ткани для гистологического исследования с целью комплексного анализа кроветворных клеток и стромы.
4. Цитохимия клеток крови и костного мозга изучает химическую природу клеточных структур.
5. Проточная цитометрия – исследование клеток крови и костного мозга с использованием моноклональных антител, меченных флюоресцентными красителями, целью которого является выявление группы одинаковых клеток, по которым точно определяют вариант опухоли, выбор лечения и его результат.
6. Цитогенетика – исследование, которое выявляет болезнь на уровне хромосом.
7. Молекулярно-генетические методы исследования (ПЦР и FISH) – поиск мутаций генов, сопровождающих болезнь.

Задания для выполнения

1. Провести микроскопическое исследование препаратов периферической крови пациентов с острым лейкозом. Посчитать лейкоцитарную формулу, описать изменения лейкоцитарного звена и других клеток.
2. Провести микроскопическое исследование препаратов периферической крови пациентов с миелопролиферативными заболеваниями. Посчитайте лейкоцитарную формулу, опишите изменения лейкоцитарного звена и других клеток.

3. Провести микроскопическое исследование препаратов периферической крови пациентов с лимфопролиферативными заболеваниями. Посчитайте лейкоцитарную формулу, опишите изменения лейкоцитарного звена и других клеток.
4. Провести микроскопическое исследование препаратов костного мозга, миеелограммы пациентов с различными гемобластозами.

Задания для самоподготовки (контрольные вопросы текущего контроля)

1. Лабораторная диагностика острых лейкозов. ВОЗ-классификация. Лабораторные критерии стадий течения острых лейкозов.
2. Миелодиспластический синдром. Классификация. Диспластические изменения в периферической крови и костном мозге.
3. Миелоэпролиферативные заболевания, лабораторные критерии, морфологические особенности при исследовании периферической крови и пунктата костного мозга, дифференциальная диагностика.
4. Лимфопролиферативные заболевания, лабораторные критерии, морфологические особенности при исследовании периферической крови и пунктата костного мозга, дифференциальная диагностика.

Литература

1. Луговская С.А. Гематологический атлас / Луговская С.А., Почтарь М.Е. — М.: Триада, 2016. — 434 с.: ил.
2. WHO classification of tumors of hematopoietic and lymphoid tissues. / Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al.// IARC. Lyon.— 2017. — Revised 4th Ed. — P. 588.
3. Луговская, С. А. Морфология клеток костного мозга в норме и патология: интерпретация миеелограмм / С. А. Луговская, М. Е. Почтарь. - Тверь : Триада, 2018. - 246 с. : ил.

РАЗДЕЛ 2

ОБЩЕКЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Особенности общеклинических методов исследования в диагностике различных заболеваний

Цель: ознакомиться с общеклиническими исследованиями в лаборатории.

Конкретные задачи: изучить особенности общеклинических методов исследования в диагностике заболеваний мочеполовой системы, женских и мужских половых органов, желудочно-кишечного тракта, бронхо-легочной системы, серозных оболочек, центральной нервной системы.

Форма проведения практического занятия: семинар.

Продолжительность занятия: 4 академических часа.

Основные понятия

Общеклинические исследования – группа лабораторных исследований биологических жидкостей организма человека, выполняемых в клинико-диагностических лабораториях, в основном при помощи микроскопии.

Исследование мочи:

- общий анализ мочи,
- исследование мочи методом Нечипоренко,
- проба Зимницкого,
- анализ мочи на микобактерии туберкулеза.

Исследование мокроты:

- анализ мокроты на микобактерии туберкулеза,
- общеклиническое исследование мокроты.

Исследование кала:

- общий анализ кала – копрограмма,
- исследование кала на яйца гельминтов,
- исследование кала на скрытую кровь,
- исследование кала на простейшие.

Исследование отделяемого мочеполовых органов:

- микроскопическое исследование отделяемого женских мочеполовых органов,
- микроскопическое исследование отделяемого мужских мочеполовых органов,

- общеклиническое исследование секрета предстательной железы,
- исследование эякулята.

Исследование спинномозговой жидкости:

- анализ спинномозговой жидкости на микобактерии туберкулеза,
- общеклиническое исследование спинномозговой жидкости.

Исследование выпотных жидкостей:

- Синовиальная,
- Плевральная,
- Асцитическая и т.д.

Задания для выполнения

1. Рассказать об особенностях преаналитического этапа общеклинических исследований.
2. Рассказать об этапах выполнения общеклинических исследований в лаборатории: оценка физико-химических параметров, микроскопия (неокрашенных и окрашенных препаратов).
3. Идентифицировать элементы биологических жидкостей под микроскопом.

Задания для самоподготовки (контрольные вопросы текущего контроля)

1. Общеклинические исследования в лаборатории: особенности преаналитического этапа, технологии выполнения исследования.
2. Общий анализ мочи: преаналитический этап, параметры, технологии исследования. Микроскопия мочевого осадка. Интерпретация результатов.
3. Микроскопическое исследование отделяемого женских половых органов. Интерпретация результатов.
4. Микроскопическое исследование отделяемого мужских половых органов. Интерпретация результатов.
5. Анализ мокроты. Физико-химические свойства. Микроскопия. Пре- и постаналитика. Интерпретация результатов.
6. Анализ выпотных жидкостей. Физико-химические свойства. Микроскопия. Пре- и постаналитика. Интерпретация результатов.
7. Анализ спинномозговой жидкости. Физико-химические свойства. Микроскопия. Пре- и постаналитика. Интерпретация результатов.

Литература

1. Выпотные жидкости. Лабораторное исследование /Долгов В.В., Шабалова И.П., Миронова И.И. и др. – М.-Тверь: Триада, 2006 – 161 с.: ил.
2. Общеклинические исследования: моча, кал, ликвор, мокрота / И.И. Миронова, Л.А. Романова, В.В. Долгов. - Учебно-практическое руководство. 3-е издание, исправленное и дополненное, 2012. 420 с., 840 ил.
3. Руководство по лабораторным методам диагностики [Электронный ресурс] / Кишкун А.А. - 2-е изд., перераб. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014. – Режим доступа: <https://www.rosmedlib.ru/book/ISBN9785970431023.html>

РАЗДЕЛ 3

ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Цитологическая диагностика воспаления

Цель: познакомиться с основами цитологической диагностики воспаления.

Конкретные задачи: изучить методы получения материала для цитологической диагностики, методы приготовления и окрашивания препаратов для цитологической диагностики; изучить формы воспаления (альтеративное, экссудативное, продуктивное, гранулематозное), морфологическую характеристику клеточных элементов воспаления и их значение, познакомиться с цитологической диагностикой воспаления (острого, хронического, продуктивного, гранулематозного) и современным представлением о компенсаторно-приспособительных процессах, пролиферации и регенерации.

Форма проведения практического занятия: практическое занятие.

Продолжительность занятия: 4 академических часа.

Основные понятия

Цитопатология, клиническая или диагностическая цитология, изучает клеточный состав патологических процессов. В качестве отдельной медицинской специальности официально признана в 1941 г. после работ Папаниколау Г. и Траута Н. В развитии цитологии можно выделить три основных этапа: эксфолиативная, в основном гинекологическая цитопатология; аспирационная цитология, бурный расцвет которой начинается с 80-х годов и связан с внедрением ультразвуковой диагностики, и современный этап развития определяется применением иммуноцитохимических и молекулярных методов исследования, а также автоматизированного скрининга в гинекологической цитологии.

Цитологический метод технически прост, быстр, сравнительно дешев, малотравматичен. Однако «легкость» цитологического метода обманчива, так как цитологическое исследование должно заканчиваться формулировкой заключения, основываясь на котором разрабатывается тактика лечения.

По способу получения материала цитологию можно подразделить на дооперационную (эксфолиативную, абразивную, аспирационную) и интраоперационную. Эксфолиативная цитология включает в себя исследование вагинальных мазков, мокроты, мочи, плевральной, перитонеальной, перикардальной, цереброспинальной, синовиальной жидкости и т.д. Этот раздел цитологии отличается простотой техники получения большого количества различного типа клеток, в том числе воспалительного ряда. Клеточный материал

может быть не очень хорошо сохранен. Для получения информативного материала с поверхности патологического очага удаляют гноевидные массы, корочки, некротический налет. Если полученный материал представляет жидкость, то в нее добавляется цитрат натрия, чтобы жидкость не свернулась.

Абразивная цитология получает материал из определенного участка внутренних органов, в том числе исследуются субэпителиальные поражения с помощью фиброоптических инструментов. При таком взятии материала клетки хорошо сохраняются, и препараты легко интерпретировать. Материал получают из шейки матки, вагины, эндометрия, респираторного, желудочно-кишечного, мочеполового тракта.

Тонкоигольная биопсия в настоящее время позволяет получить материал практически из любого органа. Метод постоянно совершенствуется и дает оптимальные результаты, что делает его в плане диагностики высокоэффективным и экономичным.

Взятый для цитологического исследования материал помещают на край предметного стекла и другим предметным или покровным стеклом равномерно, сильно не надавливая, тонким слоем распределяют по всей поверхности препарата.

В последние годы помимо рутинных цитологических мазков для получения качественных монослойных цитологических препаратов используется жидкостная система: пунктаты вносятся в специальную среду накопления, после чего центрифугируются в режиме 1000 оборотов в течение 5 минут при среднем ускорении на центрифуге (Cytospin-3, Cytospin-4). Применение методики жидкостной цитологии имеет ряд преимуществ: обеспечивает сохранность клеточных структур, уменьшает фон, клетки сосредотачиваются в одном месте – «окошке», что сокращает время просмотра препарата и значительно экономит дорогие сыворотки при проведении иммуноцитохимического исследования. Для создания архива и возможности последующего исследования материала используется методика Cell-block, при которой получают препараты, занимающие промежуточное положение между цитологическими и гистологическими.

Влажная фиксация препарата в спирте сразу после взятия мазков применяется при окраске по Папаниколау. В остальных случаях мазки высушивают на воздухе, а затем фиксируют уже в лаборатории. Наиболее распространенный способ фиксации – в равных объемах спирта и эфира (смесь Никифорова). Для иммуноцитохимического исследования применяют фиксацию ацетоном. При окраске мазков используют панхромную окраску азур-эозином по методу Романовского – Гимза в различных модификациях (Лейшмана, Паппенгейма), а также окраска гематоксилином и эозином, особенно при исследовании гинекологического материала используется окраска по Папаниколау. Возможно при рутинном исследовании или специальной окраске выявление бактериальной флоры, в том

числе бацилл Коха, лепры, хеликобактера, трихомонад и т.д.

Цитологическая диагностика основана на следующих принципах:

- Разница клеточного состава в норме и патологии.
- Оценка не одной отдельно взятой клетки, а совокупности клеток, большое значение придается фону препарата.
- Цитолог должен иметь патологоанатомический базис.
- Каждое исследование завершается формулировкой заключения.

Основные задачи цитологической диагностики состоят в следующем:

- Формулировка заключения до лечения.
- Интраоперационная срочная диагностика.
- Контроль эффективности лечения.
- Оценка важнейших факторов прогноза течения заболевания.

Задания для выполнения

1. Рассказать о формах воспаления, морфологических особенностях клеточных элементов воспаления.
2. Рассказать о современном представлении о компенсаторно-приспособительных процессах, пролиферации и регенерации.
3. Провести цитологическую диагностику препаратов с различными формами воспаления.

Задания для самоподготовки (контрольные вопросы текущего контроля)

1. Цитологические исследования: показания, методы получения материала.
2. Методы приготовления и окрашивания препаратов для цитологической диагностики, жидкостная цитология.
3. Формы воспаления (альтеративное, экссудативное, продуктивное, гранулематозное). Морфологическая картина клеточных элементов острого и хронического воспалительных процессов. Цитологическая диагностика воспаления.
4. Критерии цитологической диагностики неопухолевых воспалительных (бактериальных, вирусных, грибковых) заболеваний.
5. Современные представления о компенсаторно-приспособительных процессах, пролиферации и регенерации.

Литература

1. Быков В.Л. Гистология, цитология и эмбриология. Атлас: учебное пособие / Быков В.Л. Юшканцева С.И. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. – 296 с.: ил.

2. Выпотные жидкости. Лабораторное исследование / Долгов В.В., Шабалова И.П., Миронова И.И. и др. – М.-Тверь: Триада, 2006 – 161 с.: ил.
3. Лекции по гистологии, цитологии и эмбриологии: Учеб. пособие. – 3-е изд., стереотип. – М.: ООО «Издательство «Медицинское информационное агентство», 2014. – Режим доступа: <https://www.medlib.ru/library/library/books/431>
4. Цитология жидкостная и традиционная при заболеваниях шейки матки: цитологический атлас / [Шабалова И. П. и др.] ; под. ред. И. П. Шабаловой и К. Т. Касоян ; М-во здравоохранения Российской Федерации, ГБОУ ДПО "Российская мед. акад. последипломного образования", Каф. КЛД. - 4-е изд., доп. - Москва : Триада, 2016. – 318 с.
5. Cytology [Электронный ресурс] / Cibas E. S. Fifth Edition. Copyright © 2021 by Elsevier Inc. - Режим доступа: <https://www.clinicalkey.com/#!/browse/book/3-s2.0-C20160040287>

3.2. Цитологическое исследование опухолей

Цель: познакомиться с основами цитологической диагностики опухолей.

Конкретные задачи: изучить основные цитологические характеристики опухолевого процесса, цитологические критерии злокачественности, освоить навыки микроскопии цитологических препаратов.

Форма проведения практического занятия: практическое занятие.

Продолжительность занятия: 4 академических часа.

Основные понятия

Критерии цитологической диагностики злокачественных новообразований состояются из оценки клетки, ядра и ядрышка.

Клетка:

- увеличена в размере, иногда гигантская, редко размер близок к норме, что затрудняет цитологическую диагностику, например, при коллоидном, тубулярном раке, маститоподобном варианте долькового рака молочной железы, фолликулярном раке щитовидной железы, карциноиде, почечноклеточном светлоклеточном раке, высокодифференцированных веретенчатых саркомах;
- изменение формы и полиморфизм клеточных элементов;
- нарушение соотношения ядра и цитоплазмы в сторону увеличения доли ядра;
- диссоциация степени зрелости ядра и цитоплазмы, например, молодое ядро в ороговевающей цитоплазме при высокодифференцированном плоскоклеточном раке.

Ядро:

– увеличение размера, полиморфизм, бугристость, неравномерный рисунок хроматина, наиболее постоянный признак – неровность контуров, гиперхромия, фигуры клеточного деления в цитологических препаратах сравнительно редки.

Ядрышко:

– число ядрышек больше, чем в нормальной клетке, ядрышки увеличены в размере, неправильной формы.

Несмотря на присутствие критериев злокачественности у подавляющего большинства клеток, в некоторых клетках рака эти критерии могут отсутствовать или быть выражены в неполном объеме. Необходимо обращать внимание на особенности взаимного расположения клеток, характер межклеточных связей. Заключение формулируют по совокупности признаков при достаточном количестве клеточного материала. Попытка оценить мазок по неадекватно взятому материалу – наиболее частая причина ошибочных заключений.

Цитологическое заключение до лечения включает:

- определение гистогенеза новообразований;
- установление степени дифференцировки опухолевого процесса;
- уточнение степени распространенности опухоли;
- изучение фоновых изменений;
- определение некоторых факторов прогноза;
- возможность исследования бактериальной флоры.

Современное цитологическое заключение не только констатирует наличие рака, но и указывает гистологический тип опухоли и степень дифференцировки согласно общепринятым международным классификациям (МКБ-О и ВОЗ).

Достоверность цитологической диагностики высокая и составляет, например, при опухолях молочной железы 96%, щитовидной железы – 95,%, кожи – 94%, шейки матки – 98%.

Критериями достоверности цитологического метода являются результаты сопоставления с плановым гистологическим исследованием. Наибольший процент совпадений цитологического заключения с окончательным гистологическим заключением наблюдается при исследовании образований кожи, молочной, щитовидной железы, при метастатическом поражении лимфатических узлов. Результаты исследования гиперпластических процессов в эндометрии неудовлетворительны (достоверность 30–50%) и заставляют искать пути совершенствования диагностики. Достоверность цитологической диагностики патологии шейки матки составляет 75-90%. 3-24% исследований, в

зависимости от локализации и способа получения материала, оказываются неудачными из-за неадекватно полученного неинформативного материала.

В настоящее время в отделении онкоцитологии применяются высокотехнологичные методы уточняющей диагностики: иммуноцитохимический, морфометрический метод, проточная цитофлюорометрия, осваивается метод гибридизации *in situ* (FISH – метод).

Использование этих методов позволяет уточнить гистогенез и провести дифференциальную диагностику опухолей, определить источник метастазирования, иммунофенотипировать лимфомы, определить экспрессию рецепторов эстрогенов, прогестерона, онкопротеина C-erbB-2, p53, факторов апоптоза и т.д., а также подтвердить наличие изменений на генетическом уровне. Точный цитологический диагноз способствует разработке адекватных схем лечения еще на дооперационном этапе.

Задания для выполнения

1. Рассказать о современном представлении о канцерогенезе.
2. Рассказать о цитологических критериях злокачественности.
3. Рассказать о роли иммуноцитохимических и молекулярно-генетических исследований в цитологической диагностике опухолей.

Задания для самоподготовки (контрольные вопросы текущего контроля)

1. Современное представление о канцерогенезе.
2. Классификации опухолевого процесса. Международные цитологические классификации (ВОЗ, рабочие классификации).
3. Цитологическая характеристика опухолевого процесса. Цитологические критерии злокачественности.
4. Молекулярно-генетические исследования в цитологической диагностике.
5. Иммуноцитохимические исследования.

Литература

1. Быков В.Л. Гистология, цитология и эмбриология. Атлас: учебное пособие / Быков В.Л., Юшканцева С.И. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. – 296 с.: ил.
2. Лекции по гистологии, цитологии и эмбриологии: Учеб. пособие. – 3-е изд., стереотип. – М.: ООО «Издательство «Медицинское информационное агентство», 2014. – Режим доступа: <https://www.medlib.ru/library/library/books/431>
3. Цитология жидкостная и традиционная при заболеваниях шейки матки: цитологический атлас / [Шабалова И. П. и др.] ; под. ред. И. П. Шабаловой и К. Т.

Касоян; М-во здравоохранения Российской Федерации, ГБОУ ДПО "Российская мед. акад. последипломного образования", Каф. КЛД. – 4-е изд., доп. - Москва : Триада, 2016. - 318 с.

4. Cytology [Электронный ресурс] / Cibas E. S. Fifth Edition. Copyright © 2021 by Elsevier Inc. Режим доступа: <https://www.clinicalkey.com/#!/browse/book/3-s2.0-C20160040287>

ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России

Сертификат **01D9A9C6655B6ED0000BADF200060002**

Владелец **Пармон Елена Валерьевна**

Действителен **с 28.06.2023 по 28.06.2024**

