**ПОВРЕЖДЕНИЕ КЛЕТКИ**

Патологическая физиология изучает жизнедеятельность больного организма. Основной задачей ее является изучение наиболее общих закономерностей развития болезни. В системе медицинского образования патологическая физиологи является дисциплиной, связующей биологические науки с клиникой, способствующей формированию врачебного мышления у студентов. Курс патологической физиологии состоит из трех частей: нозологии (учении о болезни), типических патологических процессов и патологической физиологии органов и систем. основным методом патологической физиологии является эксперимент (острый и хронический), в котором на животных моделируются болезни человека или отдельные патологические процессы. В каждом патологическом процессе различают две стороны: собственно патологическую и защитно-приспособительная. Эта закономерность может быть прослежена на любом патологическом процессе.

Для того, чтобы понять сложный специфический процесс болезни, надо начинать его анализ с типовых, неспецифических нарушений, прежде всего, на базовом уровне- уровне клетки. Повреждение клетки является одним из основных механизмов развития многих патологических процессов, возникающих под действием физических, химических и биологических факторов. Являясь отражением собственно патологической стороны болезни, повреждение клеток в тоже время состоит из защитно- компенсаторных механизмов, направленных на ликвидацию как самого патогенного фактора, так и последствий его болезнетворного действия. Интенсивное развитие морфологических, функциональных и биохимических методов исследования позволило раскрыть основные механизмы и закономерности процесса повреждения клетки на субклеточном и молекулярном уровнях и на основе этого проникнуть в сущность патогенеза многих болезней. Это и предопределяет значение данной темы в курсе изучения патологической физиологии.

**Лизосомы**

Лизосомы - округлые образования до 0,4 мк в диаметре. Это органелы внутриклеточного пищеварения. Лизосомы содержат около 40 гидролитических ферментов: кислую фосфатазу, глюкуронидазу, сульфатазу, рибонуклеазу, коллагеназу и др. Маркером лизосом является кислая фосфатаза. Ферменты лизосом синтезируются в гранулярной эндоплазматической сети. Нормальное функционирование лизосом зависит от состояния мембраны и активности лизосомальных ферментов. К стабилизаторам лизосомальной мембраны относят: кортизон, холестерин, антигистаминные препараты, салицилаты, хлороксин, фенерган, циклический 3,5-АМФ. К стабилизаторам (дестабилизаторам) мембран лизосом относятся гипоксия, витамин Д, концерогенные вещества, фосфолипазы, продукты ПОЛ, нарушения кислотно-щелочного равновесия, белковое голодание, травматические повреждения, оперативные вмешательства, шок.

**Морфологические типы лизосом**

1. Первичные.

2. Вторичные.

3. Остаточные тельца.

Первичные лизосомы не окружены одноконтурной липопротеиновой мембраной, заполнены мелкозернистым содержимым. Эти лизосомы еще не участвовали в процессах лизиса.

Вторичные лизосомы представлены фаголизосомами и цитолизосомами - фаголизосомы (пищеварительные вакуоли) образуются при слиянии первичных лизосом с пиноцитозными пузырьками и фагосомами - цитолизосомы (аутофагические вакуоли) образуются при слиянии первичных лизосом с разрушенными, отмирающими структурами клетки.

Остаточные тельца (телолизосомы) - лизосомы с непереваренными остатками пищеварительных или аутофагирующих вакуолей. Содержимое телолизосом представлено липопигментами.

Лизосомы участвуют в утилизации фагоцитированного материала посредством гетеро- и аутофагии.

Гетерофагия - захват материала из вне с помощью эндоцитоза (поглощение частиц - фагоцитоз, поглощение растворимых мелких макромолекул

- пиноцитоз). Геторофагия характерна для нейтрофилов и макрофагов. Путем гетерофагоцитоза происходит поглощение бактерий нейтрофилами и удаление апоптозных телец макрофагами.

Аутофагия - процесс удаления разрушенных органелл поврежденной клетки. При этом внутриклеточные органеллы отделяются от цитоплазмы в аутофагические вакуоли, а затем сливаются с первичными лизосомами, образуя аутофаголизосому. Феномен аутофагии выражен в атрофирующихся клетках в результате недостаточного питания или гормональной инволюции.

**Липопигменты**

К липопигментам относят цитоплазматические гранулы и включения, содержащие белки и труднорастворимые липиды. Липопигменты представлены липофусцином и цероидом.

Липофусцин - гликопротеин, в состав которого входят жиры (фосфолипиды, холестерин, нейтральные жиры, продукты окисления жирных кислот), аминокислоты, ферменты, каротиноиды и флавиновые соединения. Ультраструктурная картина представлена электронно-плотными гранулами, окруженными двойной мембраной, содержащей миелиноподобные структуры.Липофусцин образуется путем аутофагии в паренхиматозных и мерных клетках. Выделяют две стадии развития липофусцина: раннюю и позднюю.

"Ранний" (незрелый) липофусцин представлен в виде пылевидных частиц светло-желтого цвета, расположенных перинуклеарно. Активность лизосомальных ферментов низкая. "Ранний" липофусцин дает положительные реакции на железо, медь, жир, ШИК-реакцию, содержит окислительно-восстановительных ферментов. Незрелый липофусцин располагается вблизи или внутри митохондрий.

"Поздний" (зрелый) липофусцин состоит из коричневых гранул, расположен на периферии клетки. В зрелом пигменте выявляется высокая активность лизосомальных ферментов, снижено содержание железа и жира.

Образование и накопление липофусцина в преклонном возрасте является физиологическим процессом, поэтому липофусцин называли "пигментом старения".

В настоящее время липофусцин относят к разряду клеточных органоидов, содержащих гранулы - цитосомы или каротиносомы. Функция липофусцина - депонирование кислорода. В условиях гипоксии липофусцин обеспечивает процессы окисления, а повышение количества липофусцина в клетке является адаптивным процессом.

**Процессы, приводящие к накоплению липофусцина:**

1. Увеличение функциональной нагрузки на клетку (гипертрофия миокарда).

2. Отравление.

3. Воздействие лекарственных веществ.

4. Недостаток витамина Е.

5. Кахексия.

6. Гипоксия.

7. Белковое голодание.

Избирательные липофусцинозы:

1. Синдром Дабина-Джонсона - избирательный липофусциноз гепатоцитов.

2. Цероид - липофусциноз нейронов.

Цероид - образуется в макрофагах путем гетерофагии. В отличие от липофусцина в цероиде преобладают липиды. У человека цероид чаще образуется при некрозе тканей.

**Наследственные болезни лизосом**

К наследственной патологии лизосом, связанной с нарушением их функций относят следующие группы заболеваний:

1. Заболевания, связанные с нарушением мембранных взаимодействий клетки.

2. Лизосомные энзимопатии.

К перовой группе наследственных заболеваний лизосом относят синдром Чедиака-Хигаси. При этом синдроме наблюдается дефект полимеризации микротрубочек, что вызывает замедленное слияние лизосом с фагосомами в лейкоцитах и приводит к появлению крупных аномальных лизосом.

Вторая группа наследственных болезней лизосом, связанных с нарушением их функции представлена лизосомными энзимопатиями. Эти заболевания развиваются в результате первичной генной мутации и проявляются либо полным браком синтеза фермента, либо снижением его биокаталитической продукции метаболизма в результате ферментных дефектов, что послужило основанием включения данных заболеваний в группу болезней накопления (тезауристозов).

Лизосомные энзимопатии представлены различными заболеваниями:

1. Гликогенозы:

- болезнь Помпе (II тип гликогенозов) - дефект кислой мальтазы (лизосомной a - 1,4 - глюкозидазы).

2. YМ2 - ганглиозидозы:

- болезнь Тея-Сакса - отсутствие А-гексоаминидазы;

- болезнь Сандхофа - отсутствие А- и В-гексоаминидазы;

- ювенильный ганглиозидоз - неполный блок А - гексоаминидазы.

3. Гепатозы:

- болезнь Дабина-Джонсона (конституциональная гипербилирубинемия).

**Синдром Чедиака-Хигаси**

Тип наследования - аутосомно-рецессивный. Впервые описан А.Ве- dисz-Cezap в 1943 г. Относится к группе наследственных нарушений функции фагоцитирующих клеток. Клинически может быть заподозрен в первые месяцы и годы жизни при наличии клинической картины, также рецидивов неясной лихорадки, частых инфекций дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта, кожи.

Клинические проявления разнообразны: рецидивирующие инфекции (ОРЗ, бронхиты, пневмония, отит, синуситы, абсцессы). Обычно инфекционные осложнения вызываются микробной флорой (стафилококк, Гр-), реже грибковый. Приблизительно у 1/3 больных выявляются геморрагии, повышение температуры тела при отсутствии инфекции.

У больных отмечается частичный альбинизм волос, кожи, окраски глаз. У них светлая прозрачная кожа с тонкими сухими светлыми волосами пепельного, серебристого или свинцового цвета. Радужная оболочка светлая, на сетчатке - пигментация, отмечается нистагм. Характерен универсальный гипергидроз и светобоязнь.

Если заболевание протекает длительно - то характерны нарушения ЦНС - парезы, нарушения чувствительности, гипо- и арефлексия, мозжечковые нарушения, УО.

У большинства детей до 10 лет возникает острая (торпидная) фаза: повышение температуры, аденопатия, гепатоспленомегалия, геморрагический синдром, - связаны с тромбоцитопенией и нарушением функции нейтрофилов. Большинство детей в эту фазу умирают от геморрагического синдрома или сепсиса. Иначе эту стадию называют стадией акселерации.

Она может наступить в любом возрасте, от новорожденности до пубертата.

Морфологически характеризуется лимфогистиоцитарной инфильтрацией печени, селезенки, лимфоузла, тимуса с явлениями гемофагоцитоза различной выраженности. Необходимо отметить, что при этом синдроме обязательно исследуют спинномозговую жидкость, где также обнаруживается эритрофагия.

Характерная особенность синдрома - наличие гигантских пероксидазоположительных гранул в нейтрофилах, эозинофилах, моноцитах периферической крови и костный мозг, в клетках предшественницах гранулоцитов, которые содержат дегенеративные вакуоли. Гранулы появляются в результате слияния первичных и вторичных лизосом. Несмотря на высокий уровень в них пероксидазы, нарушение слияния с фагосомами препятствует завершению фагоцитоза, так как гигантские лизосомы не способны передавать свои гидролитические ферменты в фагосомы нейтрофилов, содержащих неинтегрированные бактерии. Это предрасполагает к бактериальным инфекциям. При этом заболевании фагоцитарная активность нейтрофилов и меланоцитов нормальные, а хемотаксис и переваривающая способность снижены. Это может привести к тому, что нейтрофилы могут стать "убежищем" для бактерий от антибиотиков и других фагоцитирующих клеток.

Причина неизвестна. Высказывают (White at ab. 1980г) предположение, что патогенез синдрома связан с наличием аномалии мембраны клеток. Поэтому возникает неконтролируемое слияние лизосом, нарушение хемотаксиса нейтрофилов, изменение функции тромбоцитов, снижение естественной киллерной активности лимфоцитов, снижение АЗКЦ. Большая часть клинических проявлений объясняется ненормальным распределением лизососмальных ферментов.

Повреждение клетки характеризуется изменением структурно-химических свойств, метаболизма, структуры и функций клетки, которые ведут к нарушению к ее жизнедеятельности.

Клетка является открытой саморегулирующейся системой. Структура нормальной клетки направлена на осуществление определенного метаболизма, дифференцировку и специализацию. Различные патогенные агенты при воздействии на клетку могут вызвать следующие процессы: адаптацию, повреждение, гибель.

Виды повреждения:

1. Частичное.

2. Полное.

3. Обратимое.

4. Необратимое (смерть).

Существует 2 типа клеточной смерти - некроз и апоптоз.

**Причины повреждения**

По природе:

1. Физические (колебания температуры, механическая травма, ионизирующая радиация, электрический шок).

2. Химические (яды, лекарственные вещества, факторы окружающей среды).

3. Биологические (инфекционные агенты, иммуннные реакции, генетические нарушения, дисбаланс питания).

По происхождению:

1. Экзогенные и эндогенные.

2. Инфекционные и неинфекционные.

Действие повреждающих факторов может быть прямым и опосредованныем.

Прямое повреждающее воздействие оказывают следующие факторы: яды (цианистый калий), аноксия, очень низкие значения рН, недостаток ионов кальция, ионизирующая радиация. При опосредованном повреждении развиваются вторичные реакции, образуются медиаторы повреждения либо другие вещества - посредники. Часто первичные изменеия при поврждении остаются неизвестными. Характер ответа клетки на повреждление зависит от ее гормонального статуса, характера питания и метаболических потребностей. Реакция клетки на повреждающий агент зависит от типа, продолжительности действия и степени тяжести повреждающего агента (например, глюкоза и поваренная соль в повышенных концентрациях, способны вызвать повреждения клеток путем нарушения электролитного гомеостаза).

Патология клетки является интегративным понятием, включающим патологию клеточных ультраструктур, и компонентов, механизмы струткурно-функциональных нарушений жизнедеятельности клетки, нарушение межклеточных взаимодействий и кооперации клеток при общепатологичсеких процессах.

**Механизмы повреждения клетки**

1. Повреждение мембранного аппарата и ферментных систем клетки.

2. Дисбаланс ионов и жидкости в клетки.

3. Нарушение энергентического обеспечения клеточных процессов.

4. Нарушение генетической программы клетки и механимов ее реализации.

5. Расстройства внутриклеточных механизмов регуляции функции клетки.

**Патология клеточного ядра**

К патологии клеточного ядра относятся следующие состояния:

1. Патология самого ядра (изменения размеров и структуры ядра, формы, количества ядер и ядрышек, появление ядерных включений).

2. Патология ядерной мембраны.

3. Патология митоза.

**Изменения структуры ядра**

Полиплоидия - увеличение числа хромосом до величины, кратной их нормальному гаплоидному набору (23 хромосомы). Таким образом, при триплоидии общее число хромосом равно 69, при тетраплоидии - 92 и т.д. При полиплоидии процесс репродукции не достигает типичного эндотитоза. Полиплоидия развивается при редуплинации ДНК и отсутсвии спирализации хромосом.

Полипоидные клетки выявляются:

1. В нормально функционирующих органах, тканях и клетках человека: в печени, почках, миокарде, эпидермисе мегакриоцитах, гигантских клетках трофобласта.

2. При старении организма.

3. При репаративной регенерации (печень), при компенсаторной гипертрофии (миокард).

4. При опухолевом росте.

Способы выявления полиплоидии:

1. По размеру ядра.

2. По увеличению количества ДНК в интерфазном ядре.

3. По увеличению числа хромосом в митатической клетке.

Анеуплодия - изменение в виде неполного набора хромосом. При анеуплодии происходит рост или снижение общего числа хромомсом в генотипе организма по отношению к его нормальной величины. При этом изменения не захватывают каждую хромосому в нормальном гиплоидном наборе. Анеуплодия связана с хромосомными мутациями. При анеуплодии может меняться число аутосом и количество половых хромосом. Проявление анеуплодии обнаруживаются злокачественных опухолях.

**Микротельца (пероксисомы)**

Пероксисомы являются вспомогательной системой окисления в клетке. Изменения микротелец отражают нарушения оксидазно-каталазной активности клеток. При повреждении клетки могут наблюдаться следующие изменения микротелец:

1. Первичные - "пероксисомные болезни".

2. Вторичные - изменение числа и структурных компонентов пероксисом.

**Пероксисомные болезни**

1. Акаталаземия. Характеризуется резким снижением активности каталазы в печени и других органах. Клинически проявляется изъязвлениями в полости рта.

2. Цереброгепаторенальный синдром Целлвегера. Характеризуется отсутствием пероксисом в гепатоцитах. Нарушен синтез желчных кислот.

3. Системная недостаточность карнитина. Характеризуется выраженным дефицитом карнитина в различных органах и тканях. Клинически проявляется миопатией, нарушением функций печени и головного мозга.

Увеличение числа пероксисом возникает при алкогольной интоксикации. Снижение числа пероксисом наблюдается при гипоксии, воздействие ионизирующего излучения. Разрушение пероксисомного матрикса происходит при перевязки печеночных вен, вирусном гепатите, ишемическом некрозе, гиперлипидемии, гиперхостеринемии, при опухолевом росте.

Реакция непрямой дегрануляции тучных клеток рассматривается как пример повреждения клетки при аллергическом процессе.

**Реакция непрямой дегрануляции** **тучных клеток**

(в модификации Л.М.Ишимовой и Л.И.Зеличенко)

Постановка теста предусматривает использование следующих ингредиентов:

1. Сыворотки крови обследуемого больного.

2. Перитонеальных тучных клеток крысы.

3. Специфического (опытного) аллергена растительного или пищевого происхождения, рассматриваемого как фактор сенсибилизации.

4. Заведомо неспецифического (контрольного) аллергена.

Кровь для исследования от больного обычно получают путем протокола кожи пальца или берут из вены, в количестве, необходимом для исследования. На каждый опытных препарат требуется 0,05 мл сыворотки и столько же сыворотки для контроля. Сыворотку получают путем центрифугирования крови в течение 20-30 мин. при 1500 об/мин. В реакции можно использовать как свежую сыворотку, так и сыворотку, сохраняемую при температуре - 200С. Специальные эксперименты показали, что непрямая дегрануляция тучных клеток не происходит в бескомплементарной среде. Так, если в инактированной нагреванием сыворотке без комплемента число дегранулированных клеток не превышало 2% (Л.И.Зеличенко,1969 г.), то при использовании той же сыворотки, но не подвергшейся инактивации, частота дегрануляции достигла 60%. При добавлении к перитонеальным клеткам крысы инактивированной сыворотки, специфического аллергена и комплемента человека реакция полностью восстанавливалась.

При получении перитонеальных тучных клеток крысы (лучше использовать самцов весом 140-200 гр.) животных забивают путем кровопускания из сонной артерии или декапитации, после чего им вводят внутрибрюшинно 6-8 мл. подогретого (370С) раствора Тироде без глюкозы или раствора "Хемоцелл" (ГДР). В продолжение 1-11/2 минут производят легкий массаж передней стенки живота и затем по его средней линии делают ножницами послойный разрез длиной 1,5-2 см. Осторожно переворачивают тушку разрезом вниз с тем, чтобы из нее свисали петли кишечника. Подставляют к петлям пробирку, смоченную гепарином. При этом с петель кишечника в пробирку начинает стекать перитонеальная взвесь. Для получения антикоагулирующего эффекта ее осторожно перемешивают и в продолжение всего исследования хранят при 370С.

С целью отделения тучных клеток от остальных клеточных элементов перитонеальной взвеси применяют метод дифференциального центрифугирования в градиенте плотности сахарозы. Сахароза может быть заменена полисахаридом - фиколлом, концентрированным раствором альбумина или другими высокомолекулярными соединениями. Особенность таких растворов состоит в том, что они не стимулируют спонтанную дегрануляцию тучных клеток. Для проверки этого клетки перед каждым новым исследованием просматривают под микроскопом. При обнаружении дегрануляции взвесь тучных клеток бракуют.

При постановке теста используют предметные стекла, предварительно окрашенные 0,3% раствором нейтрального красного, приготовленным на абсолютном спирте. На предметное стекло наносят 0,05 мл исследуемой сыворотки крови 0,05 мл перитонеальной взвеси, полученной от крысы, и 0,05 мл опытного или контрольного аллергена. Смесь накрывают покровным стеклом, края которого промазаны вазелином. Препараты на 10-15 мин помещают в термостат при 370С и затем микроскопируют. Каждому опыту сопутствуют три контроля: 1)взвесь тучных клеток и аллерген; 2)взвесь тучных клеток и исследуемая сыворотка; 3)взвесь тучных клеток, исследуемая сыворотка и неспецифический аллерген, например, один из пищевых аллергенов. Допустимая дегрануляция в контролях не более 10% от числа отсчитанных клеток.

Оценка теста производится путем микроскопии препарата (Х280), в котором просматривается 100 тучных клеток, не соприкасающихся друг с другом. Клетки делятся на 2 категории: нормальные и дегранулированные. Нормальные клетки обычно имеют округлую форму, реже - удлиненную или веретенообразную. Их протоплазма компактно заполнена гранулами малинового цвета. Ядро клетки светлое. Иногда на него накладываются окрашенные гранулы.

Дегрануляция тучных клеток выражается в ослаблении окраски гранул,в цитоплазме обнаруживаются вакуоли. Края клетки могут становиться разбухшими, неровными, с бесцветной "кроной", разрывом и "выходом" гранул. Клетки, потерявшие окраску полностью, имеют вид "медовых сот". Тест считается отрицательным, если число дегранулированных клеток не превышает 10%. Процент дегранулированных тучных клеток определяется путем вычивания наибольшего числа дегранулированных клеток в одном из контролей из результатов подсчета клеток в опытном препарате. Так, если число дегранулированных клеток в опытном препарате составляет 16%, а в одном из контролей доходит до 8%, то конечный результат будет составлять 8%. В этом случае тест учитывается как отрицательный. При резко положительной реакции окончательный результат может превышать 30%. Условно выделяют 3 степени положительной реакции: 1)слабоположительную (+) - от 10 до 29% дегранулированных клеток; 2)положительную (++) - от 20 до 29%; 3) резко положительную (+++) - от 30% и более.

Литература

1. Общая патология человека. Под. ред. Струкова А.И. - М.,Медицина, - 1990. - С.104-209.
2. Патологическая физиология. Под ред. Адо А.Д. Томск.1994. - С.27-44, 50-82.
3. Патологическая физиология. Под ред. Зайко Н.Н.,Киев.1985 .
4. Патофизиология. Курс лекций. Под ред. П.Ф. Литвицкого. М.: "Медицина". - 1995.- С.43-97; 18; 30-38.
5. Патологическая анатомия. Курс лекций. Учеб.пособие. / Под. ред. В.В. Серова, М.А. Пальцева. - М.: Медицина.