

ВВЕДЕНИЕ. ИСТОРИЯ РАЗВИТИЯ И МЕТОДЫ ЦИТОЛОГИИ

1. Предмет и задачи цитологии

Цитология (от греческого слова *kitos* – полость, ячейка, клетка) – наука о строении, развитии и жизнедеятельности клетки.

Клетка – основная форма организации живой материи, элементарная единица организма. Клеткам свойственны следующие признаки живого: определенная структурная организация, обмен веществ, постоянное самообновление и самовоспроизведение, раздражимость и возбудимость, наследственность, движение.

Цель изучения дисциплины: изучить структурные, функциональные и генетические особенности клетки всех организмов.

В **задачи** цитологии входит изучение строения и функционирования клеток, их химического состава, функций отдельных клеточных компонентов, познание процессов воспроизведения клеток, приспособления к условиям окружающей среды, исследование особенностей строения специализированных клеток, этапов становления их особых функций, развитие специфических клеточных структур и др. Для решения этих задач в цитологии используются различные методы.

2. Основные этапы развития цитологии

В цитологии можно выделить четыре этапа развития. Первый этап – Зарождение понятий о клетке.

Второй этап – Возникновение клеточной теории.

Третий этап – Развитие клеточной теории.

Совершенствование микроскопической техники и методов исследования (введение в микроскопию иммерсионных объективов, конденсора Э. Аббе (1873 г.) и апохроматов (1886 г.), а также применение различных методов фиксации и окраски тканей, использование микротомов способствовало быстрому развитию цитологии.

Четвертый этап – Современный этап развития цитологии.

С 50-х гг. 20 в. цитология вступила в современный этап своего развития.

3. Клеточная теория и её суть

Создателями клеточной теории считают ботаника Матиаса Шлейдена и зоолога Теодора Шванна.

В настоящее время клеточная теория постулирует:

1. Клетка – элементарная единица живого;
2. Клетки разных организмов гомологичны по своему строению;
3. Размножение клеток происходит путём деления исходной клетки;
4. Многоклеточные организмы представляют собой сложные ансамбли клеток, объединённых в систему тканей и органов, подчинённых и связанных между собой межклеточными формами регуляции.

4. Связь цитологии с другими науками

Цитология тесно сопряжена с научными и методическими достижениями биохимии, биофизики, молекулярной биологии и генетики, т. е. цитология тесно связана практически со всеми биологическими дисциплинами, так как все живое на Земле имеет клеточное строение, а цитология занимается изучением клеток во всем их многообразии.

Цитология тесно связана с зоологией и ботаникой, поскольку изучает особенности строения растительных и животных клеток; с эмбриологией при изучении строения половых клеток; с гистологией – строение клеток отдельных тканей; с анатомией и физиологией, так как на основе цитологических знаний изучается строение органов и их функционирование.

Клетка имеет богатый химический состав, в ней протекают сложные биохимические процессы – фотосинтез, биосинтез белка, дыхание, а также происходят важные физические явления, в частности, возникновение возбуждения, нервного импульса, поэтому цитология тесно связана с биохимией и биофизикой.

Чтобы понять сложные механизмы наследственности, нужно изучить и понять их материальные носители – гены, ДНК, которые являются составными компонентами клеточных структур. Из этого возникает тесная связь цитологии с генетикой и молекулярной биологией.

Данные цитологических исследований широко используются в медицине, так как многие заболевания развиваются на молекулярно-генетическом уровне (различные нарушения обмена веществ, заболевания крови, онкологические заболевания, заболевания иммунной системы).

Цитология тесно связана экологией, так как многие нарушения жизнедеятельности организмов, связанные с неблагоприятным воздействием экологических факторов, связаны с нарушением деятельности клеток и проявляются на уровне клеток.

Имеется связь цитологии и с сельским хозяйством и селекцией, так как цитологические данные необходимы для полной характеристики сортов, пород и штаммов и их дальнейшей селекции, с клеточной инженерией, так как является одним из главных разделов современной биотехнологии, основанной на культивировании тканей и отдельных клеток.

5. Классификация методов исследований

Основной метод, который используют цитологии – это метод световой микроскопии. К методам цитологических исследований относят:

1. Оптические методы.
2. Прижизненное изучение клеток.
3. Цитофизические методы.
4. Исследование ультраструктуры клеток.
5. Цито- и гистохимические методы.
6. Фракционирование клеток.

6. Оптические методы

К оптическим методам относят:

1. Световая микроскопия. Объекты исследования – препараты, которые можно рассматривать в проходящем свете. Они должны быть достаточно прозрачны, тонки и контрастны.
2. Темнопольная микроскопия. Метод основан на принципе рассеивания света на границе между фазами с разными показателями преломления.
3. Фазово-контрастная микроскопия. Метод основан на том, что отдельные участки прозрачного препарата отличаются от окружающей среды по показателю преломления
4. Интерференционная микроскопия. Этот метод близок к методу фазово-контрастной микроскопии и дает возможность получить контрастные изображения неокрашенных прозрачных живых клеток, а также вычислить сухой вес клеток.

7. Витальное (прижизненное) изучение клеток.

1. Приготовление препаратов живых клеток. Световой микроскоп позволяет видеть живые клетки. Для кратковременного наблюдения клетки помещают просто в жидкую среду на предметное стекло; если нужно длительное наблюдение за клетками, то используются специальные камеры.

2. Метод клеточных культур. Культивирование клеток и тканей вне организма (*in vitro*) связано с соблюдением определенных условий.

3. Методы микрохирургии. Данные методы предполагают оперативное воздействие на клетку.

4. Методы прижизненной окраски. При изучении живых клеток пытаются их окрашивать с помощью так называемых витальных красителей.

8. Цитофизические методы

1. Метод поглощения рентгеновских лучей. Метод основан на том, что разные вещества в определенной длине волны по-разному поглощают рентгеновские лучи.

2. Флуоресцентная микроскопия. В основу метода положено свойство некоторых веществ флуоресцировать в ультрафиолетовых лучах.

3. Метод радиографии. Метод основан на том, что радиоактивные изотопы, будучи введенными в организм, вступают в общий клеточный обмен и включаются в молекулы соответствующих веществ.

9. Методы исследования ультраструктуры

1. Поляризационная микроскопия. В основе метода лежит способность различных компонентов клеток и тканей к преломлению поляризованного света.

2. Метод рентгеноструктурного анализа. В основу метода положено свойство рентгеновских лучей испытывать дифракцию при прохождении через кристаллы.

3. Метод рентгеноструктурного анализа применяется для изучения строения молекул белков, нуклеиновых кислот и других веществ, входящих в состав цитоплазмы и ядра клеток.

4. Электронная микроскопия. Электронный микроскоп отличается от светового микроскопа тем, что в нем вместо света используется быстрый поток электронов, а стеклянные линзы заменены электромагнитными полями.

5. Специальные методы электронной микроскопии биологических объектов. В настоящее время методы электронной микроскопии развиваются и совершенствуются.

6. Методы высоковольтной микроскопии – сконструированы электронные микроскопы с ускоряющим напряжением 1–3 млн. Этот метод перспективен в том, что если при сверхвысокой энергии электронов уменьшается их воздействие с объектом, то в принципе это можно использовать при изучении ультраструктуры живых объектов.

7. Метод сканирующей (растровой) электронной микроскопии позволяет изучить трехмерную картину поверхности клетки.

10. Цито- и гистохимические методы

Цито- и гистохимическими методами можно определить содержание и локализацию веществ в клетке с помощью химических реактивов, дающих с выявленным веществом новое вещество специфического цвета. Методы аналогичны методам определения веществ в аналитической химии, но реакция происходит непосредственно на препарате ткани, и именно в том месте, где локализовано искомое вещество. Количество конечного продукта цитохимической реакции можно определить с помощью метода цитофотометрии. Основу

его составляет определение количества химических веществ по поглощению ими света определенной длины волны.

11. Фракционирование клеток

Принцип метода состоит в том, что при центрифугировании развивается центробежная сила, под воздействием которой взвешенные частицы оседают на дно центрифужной пробирки в виде отдельных фракций клеточных компонентов, после чего изучают их химию, ультраструктуру и свойства. Прежде, чем подвергнуть клетки центрифугированию, их необходимо разрушить – разрушить жесткий каркас клеточных оболочек, с помощью ультразвуковой вибрации, продавливания через маленькие отверстия или самое обычное измельчение растительных тканей пестиком в фарфоровой ступе. При осторожном применении методов разрушения можно сохранить некоторые органеллы целыми.