



становленні патофізіологічних процесів, що лежать в основі розвитку багатьох захворювань.

Існує низка методів на виявлення радикалів. Безпосередній хімічний аналіз радикалів є проблематичним, так як на відміну від звичайних молекул їх не можна ні виділити, ні очистити внаслідок величезної реактивної здатності. Зазвичай, визначають стійкі молекулярні продукти реакцій, в яких брали участь радикали.

Прямий метод аналізу радикалів - метод електронного парамагнітного резонансу (ЕПР). У принципі він дозволяє не тільки виявити, а й ідентифікувати багато радикалів шляхом аналізу надтонкою структурою сигналів ЕПР. Однак, в біологічних системах він часто виявляється недостатньо чутливим через вкрай низьку стаціонарну концентрацію радикалів у клітинах і тканинах.

Найбільш відомі хемілюмінесцентні реакції в біохімічних системах - власне (надслабку) світіння при ланцюговому окисненні ліпідів, реакції люмінола з АФК (гідроксильних радикалом і супероксидом) і органічними радикалами, реакції люцигеніну і ряду похідних люциферинів з супероксидним радикалом.

Прикладом хемілюмінесцентного методу, є проведене нами дослідження по виявленню нітропероксидів в осередках запалення плаценти у вагітних із залізодефіцитною анемією. Методику здійснювали на заморожених зрізах плаценти. Хемілюмінесценцію ініціювали люмінолом і вивчали її у люмінесцентному мікроскопі ЛЮОММ-Р8. Кількісні вимірювання люмінесценції здійснювали на цифрових мікрофотографіях шляхом комп'ютерної оцінки інтенсивності світіння за шкалою у 256 градацій - від 0 (відсутність світіння) до «255» (максимальна інтенсивність світіння). Після проведеного дослідження у плацентах із запаленням, у кілька разів зростала інтенсивність світіння (хемілюмінесценція) нітропероксидів, а у поєднанні із залізодефіцитною анемією показники в середньому були вищими ніж без анемії.

Крім головного субстрату окислення молекул біомембран та ядерного хроматину, активні форми кисню викликають й окиснювальну модифікацію білків (ОМБ) яка в останній час знаходиться у центрі уваги морфологів та стала новим напрямком досліджень при різних патологічних станах.

Для мікроскопічної оцінки ОМБ в окремих клітинах можна застосовувати поєднання гістохімічної методики фарбування бромфеноловим синім на «кислі» та «основні» білки з комп'ютерною мікроспектрометрією результатів забарвлення на кольорових цифрових копіях зображення.

Так, на основі гістохімічного забарвлення бромфеноловим синім при низькому рН «кислих» та «основних» білків за методом Mikel Calvo вченими розроблено спосіб визначення окиснювальної модифікації білків, який був адаптований для гістологічних парафінових зрізів плаценти, а потім для печінки, шматочки яких попередньо піддавалися хімічній фіксації у нейтральному забуференому розчині формаліну. Спосіб пройшов успішну апробацію також на пінеалоцитах шишкоподібної залози та епітеліальних клітинах ендометрію при його різних станах непухлинного та пухлинного характеру. Досліджуючи різні структури плаценти за умов запального процесу, було відмічено характерні зміни окиснювальної модифікації білків трофобласта плаценти, які корелювали з концентрацією нітропероксидів цієї ж локалізації, що принципово підтвердило спроможність розробленої методики. У ракурсі ОМБ варто згадати також про гістохімічні методи визначення сульфгідрильних груп білків, які окислюються при активізації процесів вільнорадикального окиснення. Зокрема, для кількісних гістохімічних досліджень сульфгідрильних груп білків може бути придатна фері-феріціанідна реакція за Ліллі. З метою кількісної оцінки результатів фарбування при вказаній реакції можна застосувати метод комп'ютерної мікроденситометрії на фотокопіях оптичних зображень.

Сучасні імуногістохімічні методи дозволяють оцінити стан окремих речовин з протіоксидантними властивостями. Зокрема, виробниками імуногістохімічних засобів розроблені антитіла, які дозволяють верифікувати глутатіон (сумарний глутатіон - відновлена і окиснена форми разом), глутатіон-S-трансфераза, протеїн Bcl-2 (більш відомий в якості протиапоптотичного фактора). Всі вказані імуногістохімічні методики з метою їх кількісної оцінки можна поєднувати з комп'ютерною мікроденситометрією.

Підсумовуючи, на сьогоднішній день морфологічними методами можна вивчати і кількісно оцінювати окремі сторони вільнорадикальних процесів: відносну концентрацію нітропероксидів (метод хемілюмінесценції з люмінолом на заморожених гістологічних зрізах у поєднанні з комп'ютерною оцінкою інтенсивності світіння), окиснювальну модифікацію білків (гістохімічна реакція на "кислі" та "основні" білки з бромфеноловим синім за Mikel Calvo у поєднанні з мікроспектрофотометрією за коефіцієнтом R/B), окиснення сульфгідрильних груп (гістохімічна фері-феріціанідна реакція за Ліллі у поєднанні з комп'ютерною мікроденситометрією), протіоксидантні речовини - сумарний глутатіон, глутатіон-S-трансфераза, протеїн Bcl-2 (імуногістохімічний метод у поєднанні з комп'ютерною мікроденситометрією).

Ліка В. В.

МОРФОЛОГІЧНІ ПІДХОДИ ЩОДО ВИЗНАЧЕННЯ СТУПЕНЯ ОКИСНЮВАЛЬНОЇ МОДИФІКАЦІЇ БІЛКІВ ТА КІЛЬКІСНОЇ ОЦІНКИ НІТРОПЕРОКСИДІВ В ОСЕРЕДКУ ЗАПАЛЕННЯ ПОСЛІДУ ПРИ ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНІЙ АНЕМІЇ У ВАГІТНИХ

Кафедра патологічної анатомії

Вищий державний навчальний заклад України

«Буковинський державний медичний університет»

До числа активних метаболітів кисню, що утворюються в зоні запалення, відносяться вільні радикали, зокрема, супероксидний аніон радикал, гідроксильний радикал, пергідроксил. Найбільш активним та живучим радикалом є нітропероксид, який взаємодіє з більшістю органічних молекул.



Характерним для радикалів кисню є їх висока реактивність внаслідок наявності на їх зовнішній орбіталі одного або декількох непарних електронів. Джерелами вільних радикалів в зоні запалення служать: дихальний вибух фагоцитів при їх стимуляції, каскад арахідонової кислоти, ферментні процеси в ЕПР і пероксисомах, мітохондріях, цитоплазмі, а також самоокислення катехоламінів, лейкофлавінів, гідрокінонів. Вільні радикали взаємодіють з різними субстратами клітин: особливо з ліпідними компонентами біологічних мембран з утворенням ендоперекісей. Проте активні форми кисню хімічно дуже агресивні та окрім перекісного окиснення ліпідів та ушкодження ДНК, призводять до окиснювальної модифікації білків (ОМБ), що веде до важкого пошкодження мембрани.

За допомогою хемілюмінесцентного методу провели кількісне визначення нітропероксидів в осередку запалення, з наступним встановленням, імуногістохімічним методом, ступеня ОМБ у децидуїтах базальної пластинки при хронічному базальному децидуїті у поєднанні із залізодефіцитною анемією вагітних (ЗДАВ).

Для дослідження обрано 82 плаценти: 20 плацент з фізіологічною вагітністю, 21 із ЗДАВ без запалення, 20 зразків з хронічним базальним децидуїтом, та 21 з запаленням у поєднанні із ЗДАВ.

Хемілюмінесцентний метод виконували шляхом замороження зрізів плаценти. Хемілюмінесценцію ініціювали люмінолом і вивчали в люмінесцентному мікроскопі ЛІОММ-Р8. Далі на отриманих цифрових мікрофотографіях шляхом комп'ютерної оцінки інтенсивності світіння здійснювали кількісні вимірювання люмінесценції. Гістохімічну методику на визначення ступеня ОМБ виконували з бромфеноловим синім на «кислі» та «основні» білки за Mikel Calvo. За допомогою цифрової фотокамери оптичні зображення переводили у цифрові та аналізували за допомогою ліцензійної копії комп'ютерної програми ImageJ з наступним визначенням коефіцієнту R/B (співвідношення карбоксильних та аміногруп). Для визначення достовірності різниці середніх величин використовувався критерій Стьюдента.

При фізіологічній вагітності інтенсивність світіння нітропероксидів становить $34 \pm 3,8$ а коефіцієнт R/B, який характеризує ступень ОМБ - $1,04 \pm 0,008$. У плацентах із ЗДАВ хемілюмінесценція нітропероксидів - $38 \pm 4,2$; коефіцієнт R/B - $1,06 \pm 0,009$ ($P > 0,05$). У зразках з запаленням при хемілюмінесцентному методі визначення інтенсивності світіння нітропероксидів у децидуїтах базальної пластинки плаценти при хронічному базальному децидуїті інтенсивність світіння становить $130 \pm 4,4$, а коефіцієнт R/B - $1,89 \pm 0,015$. При дослідженні запалення плаценти із ЗДАВ, спостерігається стрімке зростання показників, що може свідчити про інтенсифікацію процесів: інтенсивність світіння - $164 \pm 4,5$, коефіцієнт R/B склав $2,14 \pm 0,018$ ($P < 0,001$).

Таким чином, при базальному децидуїті в кілька разів зростає інтенсивність світіння нітропероксидів та ступень ОМБ у порівнянні із фізіологічною вагітністю та плацентами з ЗДАВ без запалення. При запаленні посліду у жінок із залізодефіцитною анемією інтенсивність світіння нітропероксидів та коефіцієнт R/B у середньому вищий ніж без неї.

Кашперук-Карпук І.С. МОРФОМЕТРИЧНІ ПАРАМЕТРИ МІХУРОВО-СЕЧІВНИКОВОГО СЕГМЕНТА У НОВОНАРОДЖЕНИХ

*Кафедра анатомії, топографічної анатомії та оперативної хірургії
Вищий державний навчальний заклад України
«Буковинський державний медичний університет»*

З 2007 року 189 країн світу (зокрема й Україна) керуються новими критеріями визначення перинатального періоду та життєздатності плода. Однією з причин перинатальної та ранньої неонатальної смертності є природжені вади. Вади органів сечовидільної системи в останні роки по виявленню в пренатальному періоді діагностуються найчастіше (їх частка складає 28-30%).

Метою роботи було визначення анатомічних особливостей будови міхурово-сечівникового сегмента у новонароджених. Дослідження проведено на 10 трупах (4 – жіночої статі, 6 – чоловічої) новонароджених на базі Чернівецького обласного патологоанатомічного бюро під час планових розтинів та 20 органокomплексах з музею кафедри. Використовували комплекс методів морфологічного дослідження: антропометрію, ін'єкцію судин, макромікропрепарування, рентгенографію, гістологічний метод, морфометрію, 3D реконструювання.

До задньої стінки міхурово-сечівникового сегмента у новонароджених чоловічої статі примикає основа передміхурової залози, передміхуровозалозове венозне сплетення, сім'яні міхурці, передня стінка прямої кишки. У новонароджених жіночої статі позаду стінки міхурово-сечівникового сегмента визначається піхвове венозне сплетення. Довжина міхурово-сечівникового сегмента у новонароджених чоловічої статі становить $43,5 \pm 3,2$ мм, у новонароджених жіночої статі – $25,2 \pm 2,3$ мм.

У новонароджених при макроскопічному дослідженні внутрішньої поверхні сечового міхура відмічається велика кількість складок. Складки задньої стінки хвилясті з неглибокими впадинами. В верхніх відділах вони поздовжні, в нижніх – косопоперечні та поперечні. Між вічками сечоводів простежується потовщення слизової оболонки у вигляді валика, який є основою трикутника міхура, а також верхньою межею міхурово-сечівникового сегмента. Трикутник міхура знаходиться в фронтальній площині, сторони його рівнобічні. Основа трикутника стає більшою за бічні сторони у новонароджених.

За результатами 3D реконструювання сворено об'ємну модель міхурово-сечівникового сегмента у новонароджених. Скелетотопічно міхурово-сечівниковий перехід визначається на рівні нижньої третини лобкового симфізу.

Отже, міхурово-сечівниковий сегмент наприкінці 10-го місяця пренатального розвитку макроскопічно