



**Банул Б.Ю.**

## **РОЗВИТОК ПАРАМЕЗОНЕФРАЛЬНИХ ПРОТОК ТА ЇХ ПОХІДНИХ НАПРИКІНЦІ ЗАРОДКОВОГО ПЕРІОДУ ОНТОГЕНЕЗУ ЛЮДИНИ**

*Кафедра анатомії людини ім. М.Г. Туркевича*

*Вищий державний навчальний заклад України*

*«Буковинський державний медичний університет»*

У зародків 11,0-12,0 мм ТКД спостерігається вигин мезонефроса, що пов'язано з появою природного вигину зародка. Зачатки гонад розміщуються на передньо-медіальній поверхні первинних нирок у вигляді поздовжніх гребінців. Целомічний епітелій переходить у зовнішній шар первинних нирок, мезонефральну та парамезонефральну протоки. Борозни, які є зачатками парамезонефральних проток, значно глибшають, їхні краї майже змикаються.

У зародків 12,0 мм ТКД зачатки парамезонефральних проток вже мають незначний просвіт. Довжина парамезонефральних проток досягає 660-10 мкм, їх просвіт становить 4-0,2 мкм. Просвіт як мезонефральної, так і парамезонефральної проток вистелений кубічним епітелієм. Від каудальних відділів статевих залоз і первинних нирок відходять каудально мезенхімні тяжі, які простягаються до щільної мезенхімної маси, розміщеної в порожнині майбутнього таза.

У зародків 13,5 мм ТКД первинні нирки значно випинають у порожнину целома. До їх передньо-медіальної поверхні примикають зачатки статевих залоз, до бічних поверхонь - сечостатеві тяжі, в складі яких проходять мезонефральні та парамезонефральні протоки. Довжина парамезонефральних проток досягає  $1,2 \pm 0,01$  мм, товщина – 120-4 мкм, вони ростуть у каудальному напрямку. Збільшуються також розміри постійних нирок, що розташовуються позаду нижньої третини первинних нирок, зміщуючи зазначений їх відділ у порожнину целома. До передньої поверхні сечостатевих комплексів примикають зачатки печінки, шлунка, підшлункової залози, дорсальний мезогастрій. До верхньої ділянки медіальної поверхні примикають надниркові залози. Сечостатеві комплекси розмежовані між собою дорсальною брижею. Первинні нирки відмежовуються від задньої стінки тулуба, з'єднуючись з останньою слабо вираженою брижею первинних нирок. Плевроперитонеальна складка з'єднана з краніальним полюсом первинної нирки діафрагмовою зв'язкою мезонефроса. Від каудальних відділів первинних нирок та статевих залоз донизу прямують тяжі зі щільно розміщених клітин мезенхіми, вкритих целомічним епітелієм, які у подальшому перетворюються у відповідні повідці статевих залоз. Ці тяжі досягають передньої стінки целома на рівні верхньої межі майбутнього таза. Довжина первинної нирки досягає  $2,8 \pm 0,02$  мм, а довжина правої статевої залози –  $1,2 \pm 0,01$  мм. Довжина лівої первинної нирки становить  $2,9 \pm 0,01$  мм, довжина лівої статевої залози –  $1,3 \pm 0,01$  мм.

У зародків 14,0-14,5 мм ТКД внаслідок нерівномірної проліферації целомічного епітелію просвіт парамезонефральних проток поблизу сечостатевої пазухи майже відсутній, що слід кваліфікувати стадією фізіологічної атрезії. Діаметр просвіту парамезонефральних проток на рівні верхньої третини первинних нирок досягає  $4 \pm 0,1$  мкм, каудальніше зазначеного рівня –  $2 \pm 0,05$  мкм. Затримка або відсутність реканалізації проток може спричинити недорозвиток, чи їх відсутність, що варто вважати одним із критичних періодів в розвитку цих структур. У цей період розвитку починається процес редукції первинних нирок, який відбувається в краніо-каудальному напрямку.

**Бачинський В.Т., Гаразюк М.С., Беженар І.Л., Кишкан Я.С.**

## **МОЖЛИВІСТЬ ВИЗНАЧЕННЯ ЧАСУ НАСТАННЯ СМЕРТІ ЗА ВЛАСНОЮ ФЛУОРИСЦЕНЦІЄЮ ПЛІВОК ЛІКВОРУ У КОРОТКОХВИЛЬОВОМУ СПЕКТРІ**

*Кафедра судової медицини та медичного правознавства*

*Вищого державного навчального закладу України*

*«Буковинський державний медичний університет»*

Визначення давності настання смерті (ДНС) - одне із основних проблемних питань судово-медичної практики через малу точність та об'єктивність використовуваних нині методів. Перспективними і порівняно мало вивченими у цій сфері є лазерні поляриметричні методи діагностики ДНС.

Розробити та апробувати метод двомірного картографування флуоресценції біологічних шарів для більш точного визначення ДНС шляхом статистичного аналізу динаміки посмертних змін координатних розподілів інтенсивності лазерно-індукованої флуоресценції (ЛІФ) полікристалічних плівок ліквору (ППЛ).

Об'єктом дослідження є ППЛ від 78 трупів (основна група) із попередньо відомою ДНС та 20 здорових добровольців (група контролю).

Проводилося вимірювання двомірних розподілів параметрів вектора Стокса та визначалися координатні розподіли значень ЛІФ зображення з наступним обчисленням величини статистичних моментів (СМ) 1 – 4-го порядків і статистичною обробкою вимірної сукупності значень вказаних СМ для кожного зразку ППЛ в оптичному розташуванні стокс-поляриметра. Будувалися часові залежності зміни величини найбільш чутливих СМ до досягнення стабілізації значень.

Досліджено динаміку посмертних змін величини СМ 1 – 4-го порядків, які характеризують розподіли значень ЛІФ зображень ППЛ та виявлено, що СМ 1- і 3-го порядків є найбільш чутливими для короткохвильового спектру оптичного випромінювання. Було встановлено інтервал 24 години з точністю визначення 25 хвилин методом короткохвильової автофлуоресценції для білка та молекул НАДН плівок



ліквору. Отож динамічні зміни лазерних характеристик ППЛ показали ефективність методу у часовому моніторингу посмертних змін молекулярних комплексів ендogenous флуорофорів з метою визначення ДНС.

**Давиденко І.С.**

**МОДИФІКАЦІЯ ГІСТОХІМІЧНОЇ МЕТОДИКИ НА «КИСЛІ» ТА «ОСНОВНІ» БІЛКИ ЗА MIKEL CALVO ДЛЯ МОЖЛИВОСТІ ЇЇ ЗАСТОСУВАННЯ НА ГІСТОЛОГІЧНИХ ЗРІЗАХ, МАЗКАХ КРОВІ ТА ПРЕПАРАТАХ-ВІДБИТКАХ**

*Кафедра патологічної анатомії*

*Вищий державний навчальний заклад України*

*«Буковинський державний медичний університет»*

Гістохімічна методика на «кислі» та «основні» білки з бромфеноловим синім за Mikel Calvo (Мікель Кальво) придатна для оцінки змін у білках, коли міняється співвідношення між аміно- та карбоксильними чи гідроксильними групами в них, наприклад, при окиснювальній модифікації білків, при неферментативному чи ферментативному глікозуванні (глікуванні) протеїнів, при гідроксилуванні проліну та лізину в колагені в процесі його дозрівання, або при порушеннях синтезу білків зміненим геномом клітини (пухлинні клітини, клітини при тезаурисмозах-протеїнозах). Якісна оцінка може бути проведена візуально по певним особливостям забарвлення, а кількісна оцінка здійснюється методом комп'ютерної мікроспектрофотометрії.

Оригінальну процедуру гістохімічної методики на «кислі» та «основні» білки з бромфеноловим синім за Mikel Calvo (1957) можна знайти в книзі українського видавництва «Кононский А.И. Гистохимия. - Киев: Вища школа, 1976. - 278 с.» на сторінці 104. Методика виконується або на фіксованих заморожених зрізах, або на парафінових чи целоїдинових зрізах після попередньої фіксації в 10% нейтральному забуференому розчині формаліну чи в рідині Карнуа і включає такі етапи обробки скелець: 1. Зрізи беруть з води, фарбують 2-10 хвилин (для стандартизації слід застосовувати – 8 хвилин) у розчині «А» (21 мл етанолу, 9 мл крижаної оцтової кислоти, 0,03 г бромфенолового синього) або (56 мл етанолу, 24 мл крижаної оцтової кислоти, 0,08 г бромфенолового синього). 2. Диференціюють кожне скло окремо доти, поки не відійдуть жовто-зелені хмаринки фарби у розчині «В» (21 мл етанолу, 9 мл дистильованої води, 0,3 мл крижаної оцтової кислоти). 3. Зневоднювання в спиртах (етанолі) або ацетоні. Ксилол. Полістирол.

Результат забарвлення: «основні» білки – блакитні та сині тони, «кислі» білки – червоний, жовтий і зелений колір. Зазначена характеристика забарвлення підходить для візуальної оцінки, а для кількісної оцінки методом комп'ютерної мікроспектрофотометрії найбільш придатне співвідношення між величинами червоного та синього спектрів забарвлення шляхом обрахування коефіцієнту R/B (від англ. “Red” / “Blue”).

Вищевказана оригінальна процедура добре працює на гістологічних парафінових чи целоїдинових зрізах, але непридатна для використання на мазках крові, препаратах відбитках чи нефіксованих заморожених зрізах з причини негативного впливу на біологічні структури високої концентрації кислоти в робочому розчині барвника, що призводить до повного або часткового руйнування клітин. Спроби працювати з буферними розчинами не дають позитивного результату.

Однак, нами винайдена така модифікація методики Mikel Calvo, яка придатна як для класичних гістологічних парафінових чи целоїдинових зрізів, так і для нефіксованих чи фіксованих мазків крові, препаратів-відбитків та заморожених зрізів.

Головним принципом даної модифікації є відмова від кислоти в робочому розчині барвника та в диференціюючому розчині. Однак, це не просто відмова від кислоти, а забезпечення реалізації хімізму реакції шляхом певних нюансів передобробки (рідина/реактив до робочого розчину барвника) та постобробки (рідина /реактив після робочого розчину барвника – диференціюючий розчин). Головна задача передобробки та постобробки – виключити потрапляння води чи кислоти в препарати.

Отже, гістологічні парафінові зрізи після депарафінізації в органічному розчиннику (ксилол, хлороформ, толуол тощо) промивають від органічного розчинника в двох порціях 96-градусного етанолу (по 5-10 хвилин в кожній порції), а мазки крові, препарати-відбитки чи заморожені зрізи спочатку ретельно висушують, а потім занурюють на 5 хвилин у 96-градусний етанол.

Далі процедура виконується за однаковим сценарієм: 1. Зрізи, мазки, препарати-відбитки беруть з 96-градусного етанолу, фарбують 8 хвилин у робочому розчині барвника (80 мл 96-градусного етанолу, 0,08 г бромфенолового синього). 2. Зрізи обробляють у двох порціях 96-градусного етанолу по 5 хвилин у кожній порції. Дуже важливо перед обробкою в етанолі не висушувати зрізи чи не обробляти їх рідинами, які містять воду або ж кислотою, інакше це може змінити хімізм реакції. Обробка в етанолі є процедурою диференціювання (вимиванням барвника з місць неспецифічного забарвлення), тобто є заміною процедури диференціювання в розчині «В» в оригінальному прописі методики за Mikel Calvo. 3. Зрізи промивають у двох порціях чистого ксилолу по 5-10 хвилин у кожній порції (вимивають етанол), після чого заключають у полістирол.

Заклучення пофарбованих препаратів у полістирол є необхідним для фіксації результатів фарбування, щоби в препаратах не відбувалися випадкові хімічні реакції при подальшому збереженні пофарбованих препаратів, наприклад, при впливові кисню повітря. Варто зазначити, що не можна здійснювати заклучення препаратів у канадський бальзам, бо він є кислим середовищем і здатний поміняти результати забарвлення.

Отже, застосування вказаної модифікації методики Mikel Calvo дозволяє виконати гістохімічну реакцію на «кислі» та «основні» білки не тільки на гістологічних парафінових чи целоїдинових зрізах, але і на мазках,