

**Л.П. Горальський**

д. вет. н.

ДВНЗ “Державний агроекологічний університет”

**В.Т. Хомич**

д. вет. н.

Національний аграрний університет

**О.І. Кононський**

д. б. н.

Білоцерківський державний аграрний університет

**І.А. Дергай**

лаборант кафедри фізики

Рівненський державний гуманітарний університет

### **МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ У НОРМІ ТА ПАТОЛОГІЇ**

*У роботі описані основні методи морфофункціональних досліджень, які широко використовуються у біології, ветеринарній і гуманній медицині. Матеріали рекомендуються студентам факультетів ветеринарної і гуманної медицини, спеціалістам морфологічних відділів лабораторій ветеринарної медицини, науковцям-морфологам, які в своїй роботі використовують морфофункціональні методи досліджень.*

#### **Постановка проблеми**

Морфофункціональні методи досліджень в даний час набули широкого застосування не тільки у науково-дослідній роботі, а й у практичній діяльності спеціалістів ветеринарної і гуманної медицини [1–4]. Їх також використовують і у навчальній роботі. Такий інтерес до цих методів не випадковий. За їх допомогою одержують знання про будову і функції організму тварин і людини

---

© Л.П. Горальський, В.Т. Хомич, О.І. Кононський, А.І. Дергай

на різних рівнях його структурної організації як в нормі, так і при патології. Ці знання дають змогу практичним лікарям аналізувати особливості метаболічних процесів, які відбуваються у клітинах, тканинах та органах і призводять до порушення гомеостазу організму при патології. Вирішальне значення вони мають для постановки і уточнення діагнозу та розроблення тактики лікування хворих.

Для ефективного використання морфофункціональних методів і одержання за їх допомогою достовірних результатів спеціалістам, особливо початківцям, необхідні не тільки дані про окремі методи та їх можливості, а й знання методик їх використання.

#### Загальна характеристика основних методів гістологічних досліджень

За допомогою гістологічних методів досліджень вивчають будову клітин, тканин і органів організму тварин і людини. Ці методи досліджень передбачають виготовлення гістологічних препаратів, які аналізують за допомогою світлового мікроскопа – світлова мікроскопія. Сучасні світлові мікроскопи дають збільшення об'єкта у 2000–2500 разів. Для більш глибокого його вивчення використовують електронну мікроскопію, яка здійснюється за допомогою відповідного мікроскопа. У результаті електронної мікроскопії отримують електронні мікрофотографії, на яких і вивчають будову певних структур організму тварин.

Гістологічні методи досліджень, які базуються на світловій мікроскопії, залежно від стану об'єкта ділять на поствітальні і вітальні. *Поствітальні (посмертні) методи* гістологічних досліджень найбільш поширені. Вони, як було відмічено вище, передбачають виготовлення постійних гістологічних препаратів і формують основу класичних гістологічних методів. Крім класичних гістологічних методів досліджень є й спеціальні методи світлової мікроскопії. До них відносять наступні методи: фазово-контрастна мікроскопія, флуоресцентна мікроскопія, ультрафіолетова мікроскопія, цитоспектрофотометричний і авторадіографічний методи, метод темно-польової мікроскопії та імуногістохімічні методи.

*Фазово-контрастна мікроскопія* використовується для вивчення прозорих безбарвних об'єктів, зокрема, живих клітин і тканин. Світлові хвилі, проходячи через таке середовище, зміщуються на величину, яка визначається товщиною матеріалу і швидкістю світла, що через нього проходить. Фазово-контрастний мікроскоп перетворює ці незримі зміщення у зміну амплітуди світлових хвиль. Одержують при цьому чорно-біле зображення, щільність окремих ділянок якого залежить від величини добутку товщини об'єкта на різницю у показниках заломлення світла в ньому і оточуючому середовищі.

*Флуоресцентна мікроскопія.* Флуоресценція – це світіння об'єкта, викликане променевою енергією. При такому дослідженні об'єкт розглядають в ультрафіолетових і синіх променях. Флуоресценція буває власною і наведеною. Остання викликається особливими барвниками – флуорохромами. Тому, флуоресцентна мікроскопія дає змогу вивчити як власну (первинну) флуоресценцію речовин, так і вторинну, завдяки фарбуванню клітинних

структур флуорохромами, які при взаємодії з різними компонентами клітин зумовлюють специфічне світіння відповідних структур. Так, наприклад, флуорохром акридиноий оранжевий з ДНК дає зелене світіння, а з РНК – червоне.

Перевагами флуоресцентної мікроскопії є:

1. Висока чутливість, тому що дані методи виявлення речовин у 1000 разів чутливіші адсорбційних, а наявність флуоресцюючого об'єкту в темному полі надає флуоресцентній мікроскопії надзвичайної зручності для виявлення та підрахунку у препараті маленьких часточок, у тому числі і окремих мікроорганізмів.
2. Висока специфічність. Вона характерна взагалі для всіх методів флуоресцентного аналізу.
3. Чіткість та контрастність люмінісцентно-мікроскопічних картин.
4. Використання методу для виявлення і вивчення певних речовин не тільки у фіксованих, але й у живих клітинах та тканинах.
5. Зручність у проведенні кількісних досліджень.
6. У багатьох випадках – простота методичних прийомів та доступність придбання реактивів.

*Ультрафіолетова мікроскопія* ґрунтується на використанні коротких ультрафіолетових променів довжиною хвилі 0,2 мкм. Вона дає можливість досліджувати хімічний склад гістологічних структур. При цьому зображення реєструється на фотоплівці або люмінісцентному екрані.

*Цитоспектрофотометричний метод* досліджень дає змогу визначити кількісний вміст речовин у клітині та їх складових елементів за результатами поглинання ними світлових променів певної довжини хвилі.

*Авторадіографічний метод* дозволяє аналізувати локалізацію у клітинах і тканинах речовин, мічених радіоактивними ізотопами. В основі методу лежить фотографічний процес. Внесені у клітини ізотопи відновлюють бромисте срібло фотоемульсії, що покриває зріз. Після проявлення фотоемульсії гістозріз фіксують, промивають, забарвлюють, зневоднюють, заключають у бальзам і розглядають за допомогою мікроскопа. Добре видимі зерна срібла (треки) чорного кольору свідчать про локалізацію у клітинах і тканинах мічених речовин. Методом авторадіографії також виявляють місця синтезу певних речовин, склад білків, шляхи внутрішньоклітинного транспорту.

*Метод темно-польової мікроскопії* полягає в тому, що дрібні часточки, які лежать за межами дозволеної здатності мікроскопа, стають видимими у променях, що йдуть під великим кутом і в об'єктив мікроскопа безпосередньо не потрапляють. В об'єктив потрапляє лише світло, відбите від цих часточок. Останні мають вигляд світлих плям на темному фоні. Цей метод є цінним при вивченні колоїдів клітини.

*Імуногістохімічні методи.* Ці високочутливі методи застосовуються при дослідженні у тканинах і клітинах специфічних біологічних речовин – білків, гормонів, нуклеїнових кислот тощо. Спочатку імунізують лабораторну тварину і через деякий час з її крові отримують антисироватку. Антитіла, що містяться в її глобуліновій фракції, використовують для виявлення у тканинах

відповідних біологічних речовин.

При застосуванні особливого різновиду імуногістохімічного методу – *імунофлуоресценції* антитіла сироватки хімічним способом з'єднують з флуорохромами і наносять на гістологічні зрізи. Речовини, з якими специфічно прореагували антитіла, виявляються по яскравому світінню у флуоресцентному мікроскопі.

При дослідженнях в електронному мікроскопі до антитіл імунної антисироватки приєднують атом важкого металу або радіоактивний ізотоп. В останньому випадку локалізація комплексу антиген-антитіло виявляється шляхом проведення додаткової *авторадіографії*.

Названі вище методи різняться за чутливістю (найменш чутлива – цитоспектрофотометрія, високочутлива – авторадіографія) та займають широкий спектральний діапазон (від рентгенівської до інфрачервоної областей спектру).

За допомогою *вітальних (прижиттєвих) методів* досліджень вивчають рух крові у кровеносних судинах, міграцію лейкоцитів, ріст кровеносних і лімфатичних капілярів (методи із застосуванням “прозорих камер” і “мікроскопів ілюмінаторів”). Для вивчення процесів росту, поділу і руху клітин та їх реакцію на дію хімічних і фізичних чинників широко використовують методи прижиттєвого вивчення культур клітин і тканин.

*Метод мікрохірургії (мікрургії)* використовується для проведення досліджень на клітинах, тканинах і зародках. За допомогою мікрооперацій можна, наприклад, видалити з клітини ядро, перенести його з однієї клітини до іншої, перемістити частину клітин зародка, з'єднати бластомери яйця, яке дробиться і т. д. Такі операції здійснюються за допомогою особливого приладу – мікроманіпулятора. До його складу входить мікроскоп і система важелів плавного регулювання. До важелів приєднуються мініатюрні інструменти – скляні капіляри, голки, гачки тощо.

### Висновки

1. Морфофункціональні методи досліджень доцільно використовувати у науково-дослідницькій роботі, у практичній діяльності спеціалістів ветеринарної і гуманної медицини.

2. Вищезгадані методи дозволяють виявити глибину метаболічних процесів в органах і тканинах при розвитку комплексної патології, дають можливість вирішувати питання діагностики, тактики лікування та прогнозу захворювань.

### Перспективи подальших досліджень

Застосування морфофункціональних методів досліджень дасть змогу практичним лікарям аналізувати особливості метаболічних процесів, які відбуваються у клітинах, тканинах та органах і призводять до порушення гомеостазу організму при патології. Вирішальне значення вони мають для постановки і уточнення діагнозу та розроблення тактики лікування хворих.

---

### Література

---

1. Горальський Л.П. Фізико-хімічні методи в патоморфології // Фізико-хімічні методи досліджень. Наукові статті науково-методичного семінару. – Рівне, 1998. – С. 61–63.
  2. Горальський Л.П., Хомич В.Т., Кононський О.І. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології. Навчальний посібник. – Житомир: “Полісся”, 2005. – 288 с.
  3. Морфофункциональные методы исследования в норме и при патологии / Киселёва А.Ф., Житников А.Я., Кейсевич Л.В. и др. – Киев: Здоровье, 1983. – 168 с.
  4. Серов В.В. Гистохимические методы исследования. – БМЭ в 30 томах. – 3-е изд. – М., 1977. – Т. 6. – С. 78.
-