

УДК 611.018:57.086.88

И.И. Старченко, А.К. Прилуцкий

**ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ПЛАСТИНАЦИИ В СТЕРЕОМОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ**

Украинская медицинская стоматологическая академия (г. Полтава)

Как известно, традиционные гистологические препараты дают, в общем, плоскостное изображение структур, имеющих определённый объём, который соответствует толщине среза. Поэтому изучение гистологических срезов неизбежно приводит исследователя к неверному толкованию формы, размеров и залегания изучаемых структур [1], в связи с чем в современной морфологии широкое распространение получил метод изучения трёхмерной пространственной организации микроскопических объектов.

В основе данного метода лежит восстановление трёхмерно-пространственной структуры объекта графическим или пластическим методом по сериям гистологических срезов [3,4]. Благодаря этому методу представляется возможным получить наглядное представление о форме анатомических образований, их взаимном расположении, конструкции микрососудистого русла и т.п. Использование методов трёхмерной графической и пластической реконструкции позволили внести существенный вклад в развитие морфологической науки [3,5,6,7,8].

Для изготовления трёхмерных графических и пластических реконструкций используются серийные традиционные или полутонкие срезы, полученные из объектов, залитых в парафин или в эпоксидные смолы соответственно [2,4,8].

Указанные методики, к сожалению, не лишены ряда недостатков. Так, при заключении в парафин объекты значительно деформируются, форма их изменяется при изготовлении гистологических срезов. Используя полутонкие срезы, в значительной мере сокращается масштаб исследования (обычно максимальные размеры полутонкого среза не превышают 5x4 мм), неизбежны потери в сериях при замене стеклянных ножей, наклейке срезов и последующей их окраске.

В целях преодоления этих недостатков мы разработали новую методику для изучения трёхмерно-пространственной организации микроскопических объектов. В основе метода лежит соединение метода пластинации анатомических объектов [9] и традиционного метода заливки гистологических объектов в эпоксидные смолы для последующего электронно-микроскопического исследования [2].

Для проведения методики пригодны объекты размерами до 2x1x1 см, фиксированные в формалине.

Фиксированный объект обезвоживается в спиртах восходящей концентрации (от 50° до абсолют-

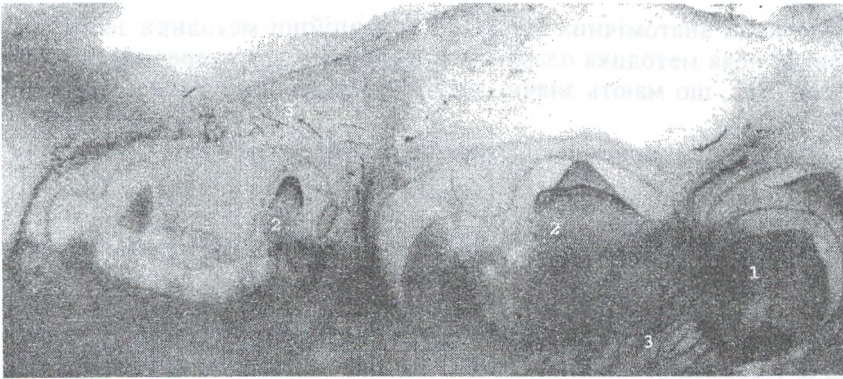
ного спирта) с последующей заменой спирта на ацетон. В отличие от заливки материала для электронно-микроскопических исследований, исключается постфиксация в осмиевой кислоте, продолжительность пребывания объекта в каждом из спиртов и в ацетонах возрастает в 2–3 раза в зависимости от размеров. На последующих этапах объект пропитывается эпоксидной смолой (в нашем случае ЭПОН-812) также с увеличением примерно в два раза времени экспозиции и помещается в форму соответствующих размеров, после чего подвергается полимеризации в стандартных условиях. После полимеризации производят удаление избытка эпоксидной смолы до обнажения ткани методом шлифовки на абразивной шкурке с последующей полировкой на войлочном круге.

Полученный таким образом препарат достаточно прозрачен, что позволяет провести изучение на макромикроскопическом уровне, после чего его можно окрасить 0,5% раствором толуидинового синего на фосфатном буфере, либо 1% раствором метиленового синего [2,10]. Для проведения окраски залитый объект целиком помещают в ёмкость с красителем на 10 – 60 минут при температуре 35-45°С.

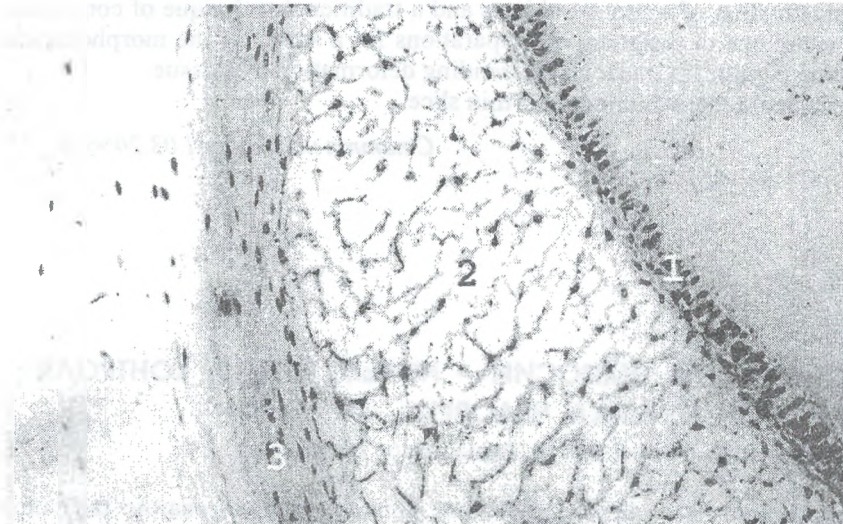
После проведения окраски становятся доступными для изучения при помощи светового микроскопа структуры, находящиеся на поверхности объекта. Изучаемый участок фотографируется, в зависимости от свойств изучаемого объекта, в проходящем или отражённом свете, после чего методом шлифовки на абразивной шкурке удаляется некоторая толщина объекта (в нашем случае 0,1 мм), далее плоскость объекта полируется, окрашивается, фотографируется и описанный цикл повторяется заново необходимое количество раз.

По серии полученных таким образом микрофотокарт, используя соответствующие компьютерные программы [8] или традиционные методы, представляется возможным осуществить пространственную реконструкцию гистологического объекта, имеющего значительные линейные размеры, избегая существенной деформации ткани.

Не исключается также возможность, после целенаправленного выделения из объекта интересующего участка, изготовления из него традиционных полутонких срезов для изучения при максимальных разрешениях световой микроскопии, а также использование сканирующей и трансмиссионной электронной микроскопии.



**Рис. 1.** Фрагмент нижньої щелепи 24-недельного плода людини. Фотографія препарата. Окраска метиленовий синій.  
1 – зачаток молочного кльця;  
2 – зачатки молочних молярів;  
3 – кровеносні судини;  
4 – стомодеальний епітелій



**Рис. 2.** Емалевий орган зачатка молочного кльця (фрагмент попереднього препарата). Окраска метиленовим синім.  
Об. 25х, ок. 10х.  
1 – внутрішній епітелій;  
2 – зірчастий ретикулум;  
3 – зовнішній епітелій

Описувані метод були застосовані нами при вивченні ембріогенезу молочних зубів зародка людини на 18-24 тижнях внутрішнього розвитку. Нам вдалося отримати цілісну картину половини нижньої щелепи зародка з розташованими в ній зачатками як постійних, так і молочних зубів, вивчити форму і розміри зачатків зубів різних груп в певні терміни ембріогенезу, отримати картину кровоносного мікроциркуляторного русла зубних зачатків (рис. 1, 2).

**СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Войно-Ясенецький М.Ф., Жаботинський Ю.М. Джерела помилок при морфологічних дослідженнях. – Л.: Медицина, 1970. – 319 с.
2. Карупа В.Я. Електронна мікроскопія. – К.: Вища школа, 1984. – 240 с.
3. Костиленко Ю.П. Структурне забезпечення секреторного процесу слинних залоз крыси: Автореф. дисс... д. мед. н. / Москва, 1984. – 30 с.
4. Костиленко Ю.П., Ковалів Е.В. Методи роботи з полутонкими епоксидними срізами в гистологічній практиці. //

Архив анатомии, гистологии, эмбриологии. – 1978, – Т. 75, В. 12 – С. 68-72.

5. Пелипенко Л.Б. Просторова організація епітеліальних комплексів та судин гемомікроциркуляторного русла в межах долічок підшлункової залози людини: Автореф. дис... к. мед. н. / Харків, 1998. – 18 с.
6. Старченко І.І., Ерошенко Г.А. Стереологічний аналіз структурної організації спинномозгових вузлів білої крыси // Актуальні питання морфології. Наукові праці ІІІ національного конгресу АГЕТ.-Київ.-2002.- С 298-299.
7. Тумакова Е. Б. Просторова організація секреторного епітелію та кровоносного мікроциркуляторного русла коловушної залози білих пацюків та людини: Автореф. дис... канд. мед. наук / Харків, 1998. – 22 с.
8. Cerri PS, de Faria FP, Villa RG, Katchburian E. Light microscopy and computer three-dimensional reconstruction of the blood capillaries of the enamel organ of rat molar tooth germs. // J. Anat. – 2004. – V. 204 (3). – P. 191 – 195.
9. Gunther von Hagens, Angelina Whalley. Anatomy art. Fascination beneath surface. / Institute for plastination, Heidelberg, 1982. – 96 p.
10. Lynn J.A. Rapid toluidine blue staining of Epon – embedded and mounted «adjacent» section // J. An. Cell. – 1965. – V.44. – P.57-57.

УДК 611.018:57.086.88

**ЗАСТОСУВАННЯ МЕТОДУ ПЛАСТИНАЦІЇ В СТЕРЕОМОРФОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕННЯХ**

Старченко І.І., Прилуцький О.К.

**Резюме.** У роботі описуються переваги стереоморфологічних методів дослідження перед традиційними, представлена порівняльна характеристика методів одержання гістологічних зрізів для трьохмірно-просторової реконструкції анатомічних об'єктів.

Авторами, на підставі методу пластинації анатомічних об'єктів і традиційної методики заливання об'єктів в епоксидні смоли, запропонована нова методика одержання препаратів для стереоморфологічних досліджень, що дозволяє вивчати об'єкти, що мають значні лінійні розміри, уникаючи деформації тканини.

**Ключові слова:** пластинація, трьохмірно-просторова реконструкція, напівтонкий зріз.

UDC 611.018:57.086.88

## APPLICATION OF METHOD OF PLASTINATION IN STEREOMORPHOLOGICAL RESEARCHES

Starchenko I.I., Prilutsky A.K.

**Summary.** In work it is described advantages of stereomorphological methods of research before traditional, the comparative characteristic of methods of reception of histological slices for three-dimensional reconstruction of anatomic objects.

Authors, on the basis of method of plastination of anatomic objects and a traditional technique of conclusion of objects in epoxid pitches offer a new technique of reception of preparations for a stereo of the morphological researches, allowing studying objects having significant linear sizes, avoiding deformation of a tissue.

**Key words:** plastination, three-dimensional reconstruction, half-thin slice.

*Стаття надійшла 1.03.2006 р.*

УДК 616.617 – 007.63 – 073.432.1

Р.П. Федоришин

## РЕГИСТРАЦИЯ СИГНАЛОВ АКУСТИЧЕСКОЙ ЭМИССИИ – НОВЫЙ МЕТОД КОНТРОЛЯ НАД БАЛЛОННОЙ ДИЛАТАЦИЕЙ МОЧЕТОЧНИКА ЧЕЛОВЕКА «IN VITRO»

Донецкий государственный медицинский университет им. М. Горького (г. Донецк)

**Вступление.** В настоящее время предложено большое количество малоинвазивных способов лечения стенозов и стриктур мочеточника различной этиологии [9]. Одним из наиболее эффективных и перспективных методов является рентгенэндоскопическая баллонная дилатация (БД) мочеточника [2].

Лечебный эффект БД заключается в возникновении микроразрывов суженной части стенки мочеточника с развитием остаточной деформации и формированием фиброза в этой зоне, но при этом просвет мочеточника остается достаточно широким [1].

В последнее десятилетие отмечена тенденция к снижению количества выполняемых БД при стриктурах мочеточника [8]. Основной причиной, сдерживающей широкое использование БД, является отсутствие надежного метода объективного контроля над процессом разрушения стенки мочеточника в момент его принудительной дилатации. Невозможно точно установить начало микроразрушения (пластической деформации) мочеточника, которое является обязательным условием получения остаточной деформации в зоне стриктуры и, следовательно, целью БД. Отсюда и высокий риск возникновения непрогнозируемого разрыва мочеточника во время проведения манипуляции, и отсутствие эффекта после недостаточного расширения мочеточника [7].

Для исправления сложившейся ситуации необходим поиск новых более совершенных методов контроля над процессом дилатации мочеточника.

Перспективным является использование сигналов акустической эмиссии (АЭ), так как установлено, что при внешней деформации биообъекта (например, мочеточника), в момент достижения им предела упругости, еще до появления визуально определяемых признаков разрушения, возникают сигналы АЭ [5, 6].

Целью исследования явилась разработка нового метода объективного контроля над процессами разрушения стенки мочеточника при проведении его баллонной дилатации *in vitro*.

**Объект и методы исследования.** Материалом для исследования служили сегменты мочеточника, полученные при аутопсии [3]. Всего было исследовано 42 мочеточника. Брали по одному сегменту длиной 22 мм, в верхней или нижней трети мочеточника. Возраст пострадавших находился в пределах от 42 до 73 лет. Среди пострадавших было 18 мужчин и 24 женщины.

В основу разработанного нами метода контроля над процессами, происходящими в стенке мочеточника, положена регистрация сигналов АЭ, снятых из зоны проведения БД сегмента мочеточника *in vitro*. Возникновение сигналов АЭ свидетельствовало о начале пластической деформации мочеточника, необходимой для последующего формирования остаточного расширения просвета мочеточника.

На приведенной схеме (рис.1) представлен созданный нами аппаратно-программный комплекс (АПК) «Visual», позволяющий выполнять БД мочеточника в эксперименте, а также регистрировать