

**Р. О. СТАРОВОЙТОВА,  
В. Д. МІШАЛОВ,  
Г. Ф. КРИВДА**

# **СУДОВО-МЕДИЧНА ЦИТОЛОГІЯ**

***Навчально-методичний  
посібник***

Рекомендовано  
Міністерством освіти і науки України  
(№1.4/18-Г-579 від 20.04.2007 р.)

Одеса  
“Астропрінт”  
2007

ББК 58.1:28.05я73

С 773

УДК 61:340.67(075.8)

Судово-медичні експертизи з кожним роком набувають більшої повноти й об'єктивності при комплексному вивченні макро- і мікроскопічних змін організму людини після заподіяння їй ушкоджень. Суттєвим при розкритті злочину є використання результатів судово-цитологічних досліджень, питома вага яких в експертній оцінці тілесних ушкоджень щороку зростає. З огляду на останнє, рівень підготовки судово-медичних цитологів також має бути високим. Однак в Україні сьогодні відсутня нова навчально-методична література, хоча за останні роки і був нагромаджений значний практичний матеріал, запропоновано нові методи фарбування та дослідження. Все це й стало передумовою для створення навчально-методичного посібника із судово-медичної цитології, який би включав нові сучасні дані. Матеріал, поданий в ньому, систематизований, охоплює майже всі теоретичні та практичні питання, що виникають при виконанні судово-цитологічних експертиз. У ньому наведено мікрографії тканин та окремих клітин людини, набутих із власної практики, що слугувати-ме критеріями при встановленні органної або тканинної належності мікрослідів біологічного походження.

Посібник дозволить підвищити якість судово-цитологічних експертиз, об'єктивність судово- медичного дослідження, значно підвищити ефективність розкриття тяжких кримінальних злочинів.

Навчально-методичний посібник розраховано на судово- медичних експертів-цитологів, курсантів кафедр судової медицини з післядипломною підготовкою, судово- медичних імунологів, викладачів усіх кафедр морфологічного напрямлення медичних університетів, кафедр юридичних університетів, працівників судово-слідчих органів.

**Рецензенти:**

**А. А. Бабанін** — завідувач кафедри судової медицини з основами права Кримського державного медичного університету ім. С. І. Георгієвського, доктор медичних наук, професор.

**О. М. Гуров** — завідувач кафедри судово- медичної експертизи Харківської медичної академії післядипломної освіти, кандидат медичних наук, доцент.

**В. І. Гарець** — завідувач кафедри медичної біології Дніпропетровської державної медичної академії, доктор медичних наук, професор.

Рекомендовано до видання Вченю радою Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика МОЗ України.

Протокол №3 від 14 березня 2007 р.

С 4109020000–081  
318–2007 Без оголош.

ISBN 966–318–684–4

© Р. О. Старовойтова,  
В. Д. Мішалов,  
Г. Ф. Кривда, 2007

## ЗМІСТ

---

<i>Вступ</i> .....	10
<b>Розділ 1</b>	
<b>ПОНЯТТЯ ПРО КЛІТИНИ ОРГАНІЗМУ ЛЮДИНИ</b> .....	12
1.1. Будова та функції клітин .....	12
1.2. Поділ клітин .....	14
1.3. Зміни клітини при її загибелі .....	20
1.4. Критерії придатності клітин для цитологічного обліку .....	21
<b>Розділ 2</b>	
<b>ОСОБЛИВОСТІ ВИЗНАЧЕННЯ ГЕНЕТИЧНОЇ СТАТИ</b> .....	22
2.1. Поняття про генетичну стать .....	22
2.2. Поняття про X-хроматин .....	22
2.3. Поняття про статевоспецифічні вирости сегментоядерних лейкоцитів .....	25
2.4. Поняття про Y-хроматин .....	27
2.5. Здатність до збереження статевоспецифічних ознак залежно від впливу зовнішнього середовища .....	29
2.6. Особливості генетичної статі при хромосомних аномаліях ..	30
<b>Розділ 3</b>	
<b>ХАРАКТЕРИСТИКА РІЗНОМАНІТНИХ ТКАНИН</b>	
<b>ЛЮДИНИ</b> .....	34
3.1. Класифікація тканин .....	34
3.2. Епітеліальні тканини .....	34
3.2.1. Одношаровий однорядний епітелій .....	38
3.2.2. Одношаровий багаторядний циліндричний епітелій ..	41
3.2.3. Багатошаровий плоский епітелій .....	42
3.2.4. Переходійний епітелій .....	44
3.3. Вистилка слизових оболонок людини .....	45
3.3.1. Дихальні шляхи (рис. 3.8, 3.9, 3.10) .....	45
3.3.2. Епітелій шлунково-кишкового тракту .....	49

3.3.3. Епітелій сечостатевої системи: .....	49
3.3.4. Жіночі статеві органи .....	50
3.4. Залозистий епітелій .....	50
3.5. Тканини внутрішнього середовища.....	51
3.5.1. Кров .....	51
3.5.2. Лімфа .....	54
3.6. Сполучна тканина .....	54
3.7. Кісткова тканина .....	57
3.8. Хрящова тканина .....	58
3.9. Тканини спеціалізовані .....	59
3.9.1. М'язова тканина ділиться на непосмуговану та посмуговану або скелетну .....	59
3.9.2. Нервова тканина складається з нервових клітин і нейроглії .....	61
<b>Розділ 4</b>	
<b>ОСНОВИ МІКРОСКОПІЧНОЇ ТЕХНІКИ.</b>	
<b>ВІДИ МІКРОСКОПІЇ .....</b>	<b>63</b>
4.1. Види мікроскопії та мікроскопів .....	63
4.2. Оптичні частини мікроскопа .....	65
4.3. Хід променів світла в мікроскопі .....	67
4.4. Мікроскопічна техніка і правила роботи з мікроскопами .....	68
4.5. Основні помилки при роботі з мікроскопом .....	68
4.6. Словник .....	69
<b>Розділ 5</b>	
<b>ТЕХНІКА ПРИГОТУВАННЯ ЦИТОЛОГІЧНИХ ПРЕПАРАТІВ .....</b>	<b>71</b>
5.1. Пошук слідів біологічного походження на речових доказах та підготовка матеріалу для приготування цитологічних препаратів .....	71
5.2. Способи приготування цитологічних препаратів .....	73
5.2.1. Способи приготування цитологічних препаратів залежно від матеріалу предмета-носія .....	73
5.2.2. Приготування цитологічних препаратів із волосся .....	74

5.2.3. Приготування цитологічних препаратів із висохлих часток тканин, виявлених на знаряддях травми .....	76
5.2.4. Приготування цитологічних препаратів із частин розчленованого трупа .....	78
5.3. Обробка лабораторного посуду .....	79
<b>Розділ 6</b>	
<b>МЕТОДИ ФАРБУВАННЯ ПРЕПАРАТІВ ПРИ ПРОВЕДЕННІ СУДОВО-ЦИТОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.</b> .....	81
6.1. Загальні вимоги до фарбування препаратів .....	81
6.2. Фарбування препаратів для виявлення Y-хроматину.....	82
6.2.1. Фарбування препаратів за М.В. Одинцовим .....	82
6.2.2. Методика фарбування пропілакрихініпритом (надається по інструкції щодо реактиву ПАІ у рідкому стані) .....	83
6.3. Фарбування препаратів для виявлення X-хроматину.....	84
6.3.1. Фарбування азур-еозиновою сумішшю .....	84
6.3.2. Фарбування метиленовим синім .....	85
6.4. Цитохімічні методи дослідження .....	85
6.4.1.Фарбування флюорохромом — акридновим оранжевим (АО) .....	85
6.4.2. Виявлення глікогену в цитоплазмі клітини .....	87
6.4.3. Метод одночасного фарбування ядра та цитоплазми за Н. Г. Шалаєвим .....	88
6.4.4. Фарбування препаратів на виявлення білкових гранул у цитоплазмі клітин. Модифікація методики за А. Л. Федоровцевим .....	88
6.5. Спеціальні методи фарбування .....	90
6.5.1. Фарбування препаратів за Папаніколау у модифікації Л. К. Куниці .....	90
6.5.2. Фарбування мазків секрету молочної залози за Паппенгеймом у модифікації К. І. Хижнякової .....	93
6.5.3. Виявлення фуксінофільних тілець при фарбуванні за Павловським .....	93
6.5.4. Фарбування кістково-мозкової суспензії для встановлення давності настання смерті .....	94
6.5.5. Дослідження життєздатності клітин за допомогою тесту з трипановим синім .....	95

6.5.6. Фарбування копрокультури на наявність жиру . . . . .	95
6.6. Способи фарбування мікробів . . . . .	96
6.6.1. Орієнтоване просте фарбування мікробів . . . . .	96
6.6.2. Диференційоване фарбування бактерій . . . . .	96
6.7. Послідовність фарбування цитологічних препаратів при виконанні судово-цитологічних досліджень та методи знебарвлення препаратів . . . . .	98
6.7.1. Визначення статевої та органно-тканинної належності мікрооб'єктів біологічного походження . . . . .	98
6.7.2. Виявлення клітин піхвового епітелію та диференціація їх з епітелієм слизової оболонки рота та прямої кишки . . . . .	99

## Розділ 7

### КОРОТКИЙ ОПИС СУДОВО-БІОЛОГІЧНИХ МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕННЯ, ЯКІ ВИКОРИСТОВУЮТЬСЯ ПРИ ПРОВЕДЕННІ СУДОВО-ЦИТОЛОГІЧНИХ ЕКСПЕРТИЗ . . . . . 100

7.1. Установлення наявності крові в слідах на речових доказах . . . . .	100
7.2. Визначення видової належності білка . . . . .	100
7.3. Визначення групи рідкої крові . . . . .	101
7.4. Визначення групової належності слідів біологічного походження за ізосерологічною системою АВО . . . . .	102
7.4.1. Визначення групової специфічності крові в слідах на речових доказах . . . . .	102
7.4.2. Визначення групової специфічності виділень у слідах на речових доказах . . . . .	102
7.4.3. Особливості дослідження слідів біологічного походження на речових доказах при впливі предмета-носія . . . . .	103
7.4.4. Деякі рекомендації щодо використання моноклональних реагентів . . . . .	105
7.5. Визначення групової належності клітин . . . . .	106
7.5.1. Методика проведення реакції “змішаної” аглютинації (РЗА) у модифікації, запропонованій А. Л. Федоровцевим . . . . .	107
7.5.2. Деякі технічні прийоми проведення реакції імунофлюoresценції . . . . .	108

## Розділ 8

ОСНОВНІ МЕТОДОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ПРОВЕДЕННЯ ЕКСПЕРТИЗ У ВІДДІЛЕННЯХ СУДОВО-МЕДИЧНОЇ ЦИТОЛОГІЇ .....	115
8.1. Питання, які вирішуються при виконанні судово- цитологічних досліджень .....	115
8.2. Діагностика статевої та регіональної належності крові і клітин у слідах на речових доказах.....	116
8.2.1. Схема дослідження слідів крові на речових доказах .....	116
8.2.2. Оцінка результатів при встановленні статевої належності слідів біологічного походження .....	117
8.2.3. Варіанти висновків судово-цитологічного дослідження слідів крові .....	120
8.3. Схема дослідження мікронакладень на знаряддях травми та в піднігтьовому вмісті .....	120
8.3.1. Оцінка результатів та варіанти висновків .....	122
8.4. Дослідження виділень .....	124
8.4.1. Схема судово-цитологічного дослідження слідів слини .....	124
8.4.2. Схема судово-цитологічного дослідження піхвових виділень у слідах на речових доказах .....	125
8.4.3. Судово-цитологічне дослідження змішаних слідів на речових доказах .....	126

## Розділ 9

ВИЗНАЧЕННЯ РЕГІОНАЛЬНОЇ І ОРГАННО-ТКАНИННОЇ НАЛЕЖНОСТІ КЛІТИН .....	136
9.1. Клітини піхвового епітелію.....	136
9.2. Клітини слизової оболонки порожнини рота .....	139
9.3. Клітини слизових оболонок верхніх дихальних шляхів та легень .....	140
9.4. Клітини слизової оболонки стравоходу .....	143
9.5. Клітини слизової оболонки шлунка та кишечника .....	144
9.6. Клітини слизової оболонки прямої кишки .....	146
9.7. Клітини печінки .....	147
9.8. Клітини мезотелію .....	149

9.9. Клітини ниркового епітелію . . . . .	149
9.10. Клітинні елементи селезінки . . . . .	151
9.11. Клітини нервової тканини . . . . .	152
9.12. Клітини м'язової тканини . . . . .	153
9.13. Клітини шкіри . . . . .	154
 Розділ 10	
КОЛЬПОЦИТОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ . . . . .	156
10.1. Мікроскопічна будова слизової оболонки піхви . . . . .	156
10.2. Цитологічні особливості мазків піхвового вмісту у різноманітні періоди життя жінки . . . . .	158
10.4. Цитологічні особливості мазків піхвового вмісту при вагітності . . . . .	164
10.5. Цитологічна картина піхвового секрету для діагностики давнини кримінального аборту . . . . .	165
10.6. Техніка проведення кольпоцитологічних досліджень . . . . .	165
 Розділ 11	
ВИЗНАЧЕННЯ РЕГІОНАЛЬНОГО ПОХОДЖЕННЯ КРОВІ, ЗОКРЕМА ЇЇ МЕНСТРУАЛЬНОГО ПОХОДЖЕННЯ . . . . .	167
 Розділ 12	
СУДОВО-ЦИТОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ СЕКРЕТУ МОЛОЧНИХ ЗАЛОЗ . . . . .	169
12.1. Морфологічний склад секрету молочної залози . . . . .	169
12.2. Секрет молочної залози при вагітності . . . . .	173
12.3. Ранні строки вагітності (4-11 тижнів) . . . . .	173
12.4. Строк вагітності 12-26 тижнів . . . . .	174
12.5. Строк вагітності 27-40 тижнів . . . . .	175
12.6. Динаміка морфологічних змін секрету молочних залоз під час вагітності . . . . .	177
12.7. Післяпологовий стан молочної залози . . . . .	177
12.8. Морфологічний склад секрету молочної залози жінки, що не годувала дитину груддю . . . . .	178
12.9. Секрет молочної залози протягом менструального циклу . . . . .	179

12.10. Секрет молочної залози новонароджених.....	179
<b>Розділ 13</b>	
ДИФЕРЕНЦІЮВАННЯ КРОВІ ПЛОДІВ ТА ДІТЕЙ РАНЬОГО ГРУДНОГО ВІКУ ВІД КРОВІ ДОРОСЛОЇ ЛЮДИНИ.....	180
<b>Розділ 14</b>	
ВСТАНОВЛЕННЯ НАЯВНОСТІ ІНШИХ БІОЛОГІЧНИХ ОБ'ЄКТИВ У СЛІДАХ НА РЕЧОВИХ ДОКАЗАХ ЗА ДОПОМОГОЮ МІКРОСКОПІЇ .....	182
14.1. Встановлення наявності копрокультури .....	182
14.2. Встановлення наявності меконію.....	184
14.3. Встановлення наявності післяпологових виділень (лохій)...	185
14.4. Встановлення наявності блівотних мас .....	185
<b>Розділ 15</b>	
ВИВЧЕННЯ КЛІТИННОГО СКЛАДУ ТРАНСПЛАНТАТУ.....	186
<i>Література</i> .....	188

## Вступ

---

Одним із завдань судово-медичної експертизи речових доказів є дослідження мікрослідів та мікрооб'єктів біологічного походження, ідентифікація яких за видовою, статевою, регіональною, органною або клітинною належністю може надати суттєву допомогу правосуддю при розслідуванні злочинів проти життя та здоров'я людини. Систематизоване вивчення клітин та мікрочастин тканин і органів, розпочате з 70-х років ХХ сторіччя, стало основою нового напрямку в дослідженні речових доказів — судово-медичної цитології.

Протягом останніх років було зібрано достатньо великий матеріал, присвячений дослідженню мікрочастин та ізольованих клітин тваринного походження, вивчено питання про особливості збереження мікронакладень на речових доказах залежно від факторів зовнішнього середовища, розроблено досконалі та раціональні методики судово-цитологічного дослідження. Слід зазначити, що особливо великий внесок в розробку цих досліджень зробили співробітники кафедри судової медицини Гор'ківського медичного інституту (нині — Нижньогородська державна медична академія) та Гор'ківського (Нижньогородського) обласного бюро судово-медичної експертизи під керівництвом проф. Загрядської А.П. та Еделева М.С.

За останні роки дослідження мікрослідів крові, ізольованих клітин, мікрочастин ушкоджених тканин та органів на знаряддях травми, у піднігтьовому вмісті та інших речових доказах активно впроваджуються в практику судово- медичних експертіз. Експерти-цитологи, використовуючи високочутливі методики, на клітинному рівні встановлюють біологічну природу мікрослідів, їх видову, статеву, групову та органно-тканинну належність. Доказова значущість цих досліджень при розслідуванні злочинів проти особи постійно визнається і наголошується співробітниками правоохоронних органів.

Для проведення судово-цитологічних досліджень, окрім знань загальної судової медицини, необхідно володіти певним обсягом знань із загальної біології, цитології, цитогенетики, імунології, гістології та інших дисциплін. На жаль, більшість навчально-методичного матеріалу із судово- медичної цитології в Україні обмежена окремими журнальними статтями або монографіями, які були видані невеликими тиражами ще за існування Радянського Союзу. Крім

того, до цього часу відсутній судово-цитологічний атлас тканин та органів людини.

Усе вищесказане і привело до необхідності видання цього посібника, що вперше видається в Україні, і в якому зібрано теоретичний та практичний матеріал, ілюстрований мікрофотографіями тканин та окремих клітин людини, набутими з власної практики.

Сподіваємось, що проведена нами робота слугуватиме допомогою судово- медичним експертам-цитологам при виконанні експертиз.

# Розділ 1

## ПОНЯТТЯ ПРО КЛІТИНИ ОРГАНІЗМУ ЛЮДИНИ

### 1.1. БУДОВА ТА ФУНКЦІЇ КЛІТИН

**Клітина** — це елементарна жива система, основа будови та життєдіяльності всіх тварин, рослин та бактерій. Клітини можуть існувати як у вигляді самостійних організмів (найпростіші, бактерії), так і входити до складу багатоклітинних організмів. Клітини таких організмів розподіляються на статеві клітини та різні за будовою та функціями клітини тіла (соматичні).

Кожна клітина організму тварини (у тому числі і людини) складається з оболонки, ядра та цитоплазми (рис. 1.1).

До складу клітинної **оболонки** (мембрани) входять два білкові шари, між якими знаходиться шар ліпідів.

**Цитоплазма** клітини складається з гіалоплазми (рідкої частини), органоїдів та цитоплазматичних включень.

**Органоїди** — це постійні структури клітини. До них належать пластичний комплекс, мітохондрії, центросома. Крім цього, під електронним мікроскопом можна побачити цитоплазматичну сітку з тільцями рибосомами та лізосомами. До органоїдів належать також спеціальні органели загального значення, які характерні для певних клітин. До таких органоїдів належать: міофібрили в клітинах м'язової тканини, тонофібрилли та десмосоми в клітинах епідермісу, нейрофібрили в клітинах нервової тканини та інші.

**Цитоплазматичні включення** — це непостійні компоненти клітин, які можуть накопичуватися в клітині або витрачатися при її життєдіяльності. Наприклад, глікоген у клітинах печінки, у клітинах піхвового епітелію, білкові, секреторні, пігментні гранули в інших клітинах.

Дуже важливою частиною клітини є **ядро**, яке регулює всі процеси в клітині та відповідає за спадковість. Воно складається з оболонки ядра, нуклеоплазми, ядерця та хроматину.

До складу **оболонки ядра** входять дві мембрани, між якими знаходиться перинуклеарний простір. Ця оболонка, на відміну від клітинної оболонки, не здатна до відновлення при її ушкодженні, а тому розрив оболонки ядра спричиняє загибел ядра та клітини в цілому.

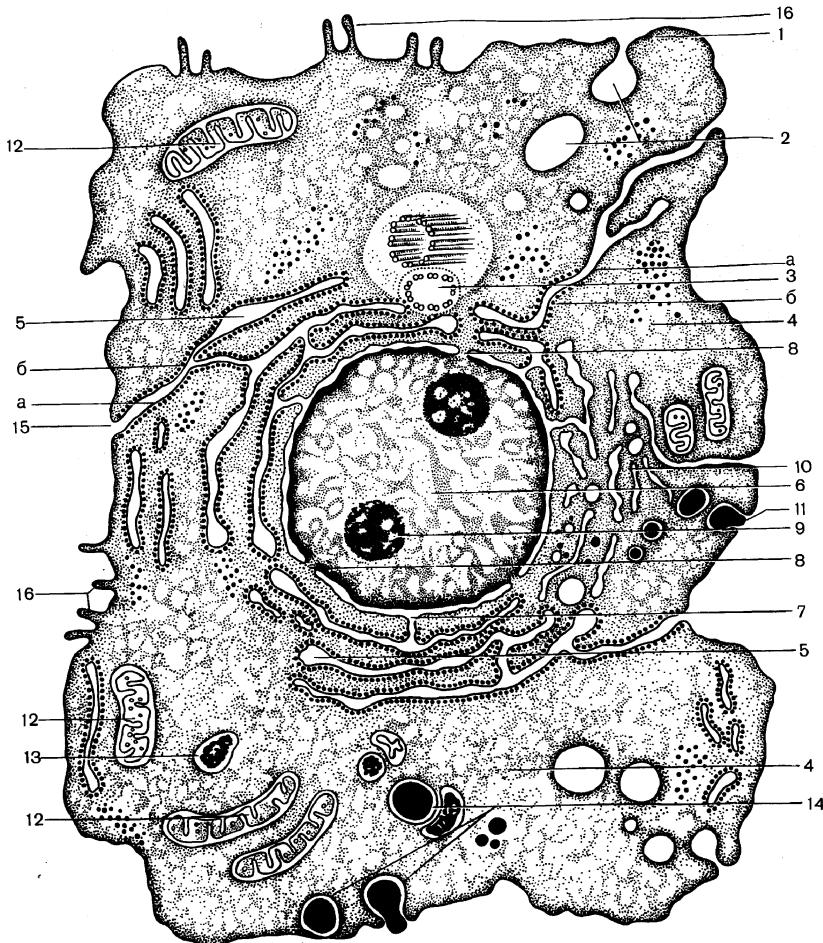


Рис. 1.1. Ультрамікроскопічна будова клітини. Схема

1 — оболонка клітини (цитолема); 2 — піноцитозні пухирці; 3 — центросома (клітинний центр); 4 — гіалоплазма; 5 — гранулярна ендоплазматична сітка: а — альфа-цитомембрана; б — рибосоми; 6 — ядро; 7 — зв'язок перинуклеарного простору з порожнинами, які утворені альфа-цитомембранами; 8 — ядерні пори; 9 — ядерце; 10 — внутріклітинний сітчатий апарат (комплекс Гольджи); 11 — секреторні вакуолі; 12 — мітохондрії; 13 — лізосоми; 14 — послідовні стадії фагоцитозу; 15 — зв'язок клітинної оболонки (цитолеми) з альфа-цитомембранами; 16 — мікроворсинки

**Нуклеоплазма** — рідка частина ядра, в якій містяться інші компоненти ядра.

**Ядерце** (одне або декілька) міститься в кожному ядрі, має сферичну форму, ущільнену консистенцію, складається з РНК, не має власної оболонки. ДНК в ньому відсутня.

Хроматин ядра розсіяний по всій нуклеоплазмі у вигляді сітки ниток і гранул та складається, в основному, з ДНК. Разом із ДНК в хроматині містяться основні білки (гістони). Хроматин в ядрі може перебувати у 2-х станах: у спіралізованому (гетерохроматин) та розкрученому (еухроматин). Функція хроматину в обох випадках єдина — вироблення, збереження та передача спадкової інформації. Різниця між вищевказаними станами хроматину полягає в їх активності, а саме, гетерохроматин є менш активним. Під час поділу клітини з хроматину формуються хромосоми — паличкоподібні тіла ущільненої консистенції, які фарбуються основними фарбниками. Сукупність усіх хромосом в ядрі клітини називається набором хромосом. Соматичні клітини мають диплойдний (подвійний) набір хромосом (2n). Число хромосом у цьому наборі є постійною величиною для кожного виду тварин та рослин. Для людини характерним є набір з 46 хромосом або 23 пари. Статеві клітини мають гаплойдний (одиничний) набір хромосом (2n).

## 1.2. ПОДІЛ КЛІТИН

Життя клітини триває від виникнення клітини під час поділу до власне поділу цієї клітини на інші клітини. Стан клітини між двома її поділами називається інтерфазою, і цей період складає 90-95% клітинного циклу. У клітинах, які швидко діляться, інтерфаза є короткою, а в тих клітинах, які втратили здатність до поділу, інтерфаза є основним періодом життєвого циклу.

В інтерфазі клітини виділяються три періоди: q1 (30-40%) — досинтетичний, S-період (30-50%) власне синтетичний та q2 — (10-20%) постсинтетичний. У першому періоді інтерфази відбувається накопичення нуклеотидів та синтез ферментів; у другому періоді — синтез молекул ДНК (кожна спіральна нитка добудовує собі подібну), синтез білків (гістонів) та утворення комплексу ДНП (дезоксирибонуклеопротеїд); і в останньому періоді інтерфази відбувається синтез РНК і АТФ. Після вищевказаної підготовки починається поділ клітини.

Розрізнюють такі види поділу клітин: непрямий поділ, або **мітоз**,

або каріокінез; прямий поділ, або **амітоz**; спеціалізована форма мітозу — **ендомітоz** та поділ статевих клітин — **мейоз**.

Найбільш поширеною формою поділу клітини є **мітоz** (рис. 1.2), який складається з таких стадій: профаза, метафаза, анафаза і телофаза. Результатом такого поділу є поява двох дочірніх клітин з таким же набором хромосом, що мала і материнська клітина (2п).

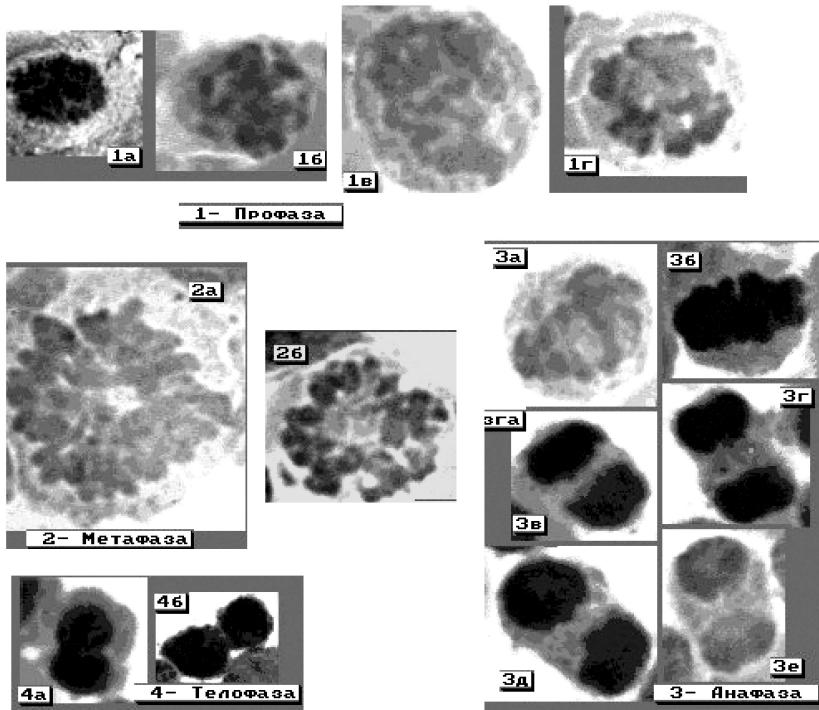


Рис. 1.2. Поділ клітин — мітоz  
Світлова мікроскопія. Фарбування азур-еозиновою сумішшю,  
об.40х, 90х

У стадії профази відбуваються такі зміни: ядро збільшується в розмірі, з'являються хромосоми у вигляді спіралізованих тонких ниток, які рівномірно заповнюють ядро, потім хромосоми спіралізуються ще більше, вони стають більш короткими та ущільненими, і в кінці стадії профази хромосоми розташовуються паралельно одна до одної і залишаються з'єднаними лише в ділянці цетромерів. Кінець

профази пов'язаний з розривом оболонки ядра, зникненням ядерця та появою міtotичного веретена з двома полюсами, яке формується з центросоми.

У метафазі в ядрі відбуваються такі перетворення: максимальнно укорочені хромосоми поступово рухаються до екватора веретена, де розташовуються в одній площині посередині між полюсами. Хромосоми зв'язані з нитками веретена за допомогою центромерів. У цей період число, розмір та форму хромосом легко визначити при огляді їх зі сторони полюсів клітини.

Для **анафази** характерним є одночасне подвоювання центромерів в усіх хромосомах, їх рух до протилежних полюсів та захоплення за собою сестринських хроматидів, що роз'єдналися. З цього моменту їх називають сестринськими хромосомами.

У **телофазі** (заключній стадії мітозу) — сестринські хромосоми досягають полюсів клітини, де починається їх зворотний розвиток. При цьому утворюються сестринські інтерфазні ядра, одночасно формується оболонка ядра та ядерце. Водночас відбувається розподіл цитоплазми — цитокінез, який починається з утворення перетяжки в екваторіальній зоні клітини. Ця перетяжка поглибується і нарешті сестринські клітини відділяються одна від одної.

Після поділу для кожної клітини починається стадія інтерфази, що характеризується зростанням маси ядра та цитоплазми, тобто відбувається зростання клітин. Але при цьому ядерно-цитоплазматичне співвідношення залишається порівняно постійним для кожного типу клітин. При досягненні максимального співвідношення клітина або знову ділиться, або припиняє ріст. У кожному конкретному випадку граничний розмір клітини залежить від її форми та інтенсивності обміну речовин.

**Мейоз** (редукційний поділ) характерний для поділу статевих клітин. У ході цього поділу одна диплоїдна клітина, тобто клітина, яка містить два набори хромосом, після послідовних ділень дає початок 4 гаплоїдним статевим клітинам, тобто клітинам, в яких міститься один набір хромосом. При злитті чоловічої та жіночої статевих клітин диплоїдний набір хромосом відновлюється.

У результаті мейозу з однієї вихідної клітини — сперматогонії у чоловіків або овогонії у жінок — виникає чотири гамети, які мають однакове гаплоїдне число хромосом, але відрізняються один від одного за генним складом. У чоловіків чотири гамети (сперматиди) перетворюються на спермії. У жінок у результаті мейозу цитоплазма між клітинами розподіляється нерівномірно, внаслідок чого утворюється

одна велика клітина — яйцеклітина та три маленькі клітини — полярні тільця, які дегенерують.

**Амітоз** — прямий поділ клітин шляхом перешнурування ядра, а потім і цитоплазми (рис. 1.3). Збільшене ядро, не змінюючи своєї структури, ділиться на дві або більше частин, при цьому ядерна оболонка та ядерце зберігаються. Здебільшого поділ цитоплазми не відбувається, і результатом цього є утворення двоядерних або багатоядерних клітин. При амітозі не відбувається правильного розподілу генетичного матеріалу, в силу чого клітини, які утворилися, здатні до подальшої життєдіяльності, диференціації, але не здатні до розмноження внаслідок порушень у хромосомному наборі.

Амітоз по формі може бути рівномірним, коли ядро ділиться на дві рівні частини, і нерівномірним, коли утворюється одне велике ядро та інше — маленьке. Іноді ядро ділиться на ряд дрібних ядер однакових або різних розмірів, т.з. фрагментація ядра. Амітоз найчастіше зустрічається у вже диференційованих структурах — фіброзитах, волокнах скелетних м'язів, невронах вегетативних гангліїв, хрящових клітинах, різних залозистих клітинах та ін. Амітоз дуже характерний для клітин деяких патологічних тканин — злюкісних пухлин.

**Ендомітоз** — спеціалізована форма мітоzu, при якому хромосоми проходять нормальний цикл подвоєння та спіралізації в межах ядра без руйнації ядерної оболонки. При цьому в цитоплазмі не відбувається виникнення міtotичного апарату і поділ клітини не відбувається. У результаті ендомітоzu утворюються великі поліплойдні ядра зі збільшеним в 3 рази і більше набором хромосом.

Крім розмноження та росту для клітин характерним є процес спеціалізації, у результаті якого в них з'являється комплекс ознак — біохімічних, функціональних та структурних, необхідних для виконання клітинами тієї чи іншої функції. Цей процес становлення та формування ознак, які характерні для клітин кожного морфофункционального типу, називається диференціацією. Унаслідок диференціації і виникає клітинна неоднорідність, яку можна виявити при морфологічному дослідженні клітин різних тканин та органів. Диференціація клітин проявляється в їх формі, будові поверхні, у наявності в цитоплазмі органел спеціального призначення та різних включень. Так, наприклад, за формуою відомі відростчасті нервові клітини, сперматозоїди, полігональні, округлі клітини плоского епітелію та інші (рис. 1.4). Різниця також виявляється й у формі ядер, у структурі хроматину, у кількості ядерець. Форма ядер має прямий зв'язок із фор-

мою самої клітини. Так у сферичних або қубічних клітинах ядро має сферичну форму, у циліндричних та призматичних — овійдну та призматичну. Форма може бути зумовлена й фізіологічною активністю клітин. Клітини, які здатні до високої фізіологічної активності, мають і складну будову ядра. Яскравим прикладом цього є клітини кро-ві — бобоподібні або сегментовані ядра нейтрофільних лейкоцитів.

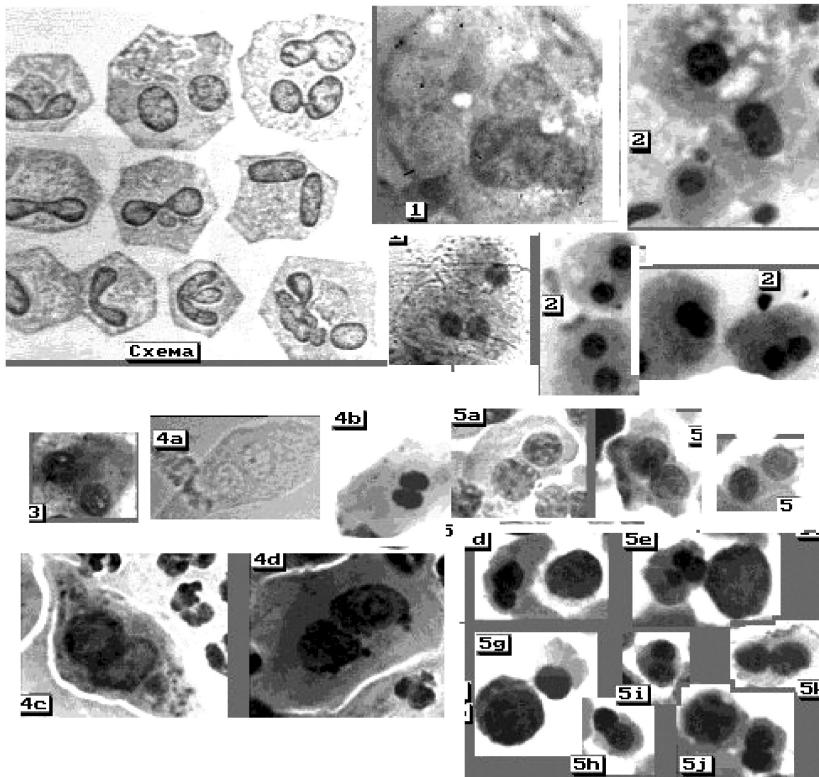


Рис. 1.3. Амітоз

Схема амітозу за І.В. Алмазовим, Л.С. Сутуловим [1]

1-5 — цитологічні препарати (світлова мікроскопія.

Фарбування азур-еозиновою сумішшю, об.20x, 90x)

1. Велика та середня епітеліальні клітини секрету молочної залози.
2. Гепатоцити.
3. Епітеліальні клітини ниркових каналців.
4. Переходний епітелій сечовивідних шляхів: 4а та 4b — N; 4c та 4d — при запаленні.
5. Клітини кісткового мозку (світлова мікроскопія, фарбування азур-еозиновою сумішшю, об.20x,90x)

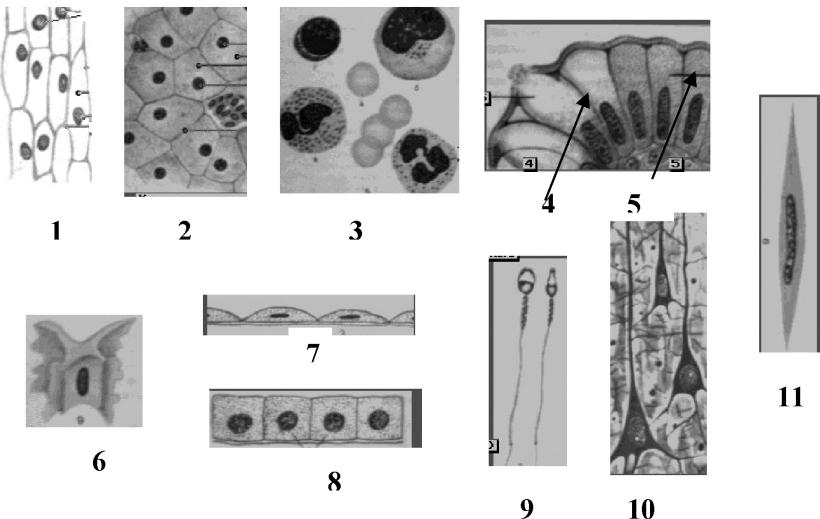


Рис. 1.4. Види клітин (схематичне зображення, наведено за І. В. Алмазовим та Л. С. Сутуловим [1])

1. Рослинні клітини.
2. Клітини печінки.
3. Клітини крові.
4. Циліндричні клітини.
5. Келихоподібна клітина.
6. Фіробласт або сухожильна крилатка клітина.
7. Плоскі клітини мезотелію.
8. Кубічні клітини.
9. Джгутикові клітини (сперматозоїди).
10. Відростчасті нервові клітини.
11. Веретеноподібна клітина (непосмугована м'язова тканина)

Клітини відрізняються не тільки характером диференціації, а й ступенем її виразності. Відомі високодиференційовані клітини, наприклад клітини нервової тканини, посмугованої м'язової тканини, клітини периферійної крові. Є порівняно малодиференційовані клітини, наприклад клітини базального шару багатошарового плоского епітелію, деякі види сполучної тканини. Малодиференційовані клітини енергійно розмножуються, в той час як високодиференційовані клітини, як правило, втрачають цю здібність (наприклад клітини периферійної крові, верхніх шарів епідермісу, нервові клітини). В організмі людини є і високодиференційовані клітини, здатні до поділу. До них належать клітини печінки, нирок, підшлункової залози.

Упродовж усього життя організму відбувається безперервна зміна клітин: одні відмирають, інші — розмножуються. Щоденно гине близько 2% клітин і стільки ж з'являється знову. Цей процес і називається фізіологічною регенерацією. Клітини, для яких типовою є фізіологічна

регенерація, мають різну тривалість життя. Одні клітини швидко гинуть та заміняються новими, в інших — цей період відбувається значно повільніше. До першої групи клітин належать: ентероцити тонкого кишечника, тривалість життя яких складає 1-2 доби, епідермоцити — 4-10 діб, гранулоцити — 3-7 діб, еритроцити — 3-4 місяці. До другої групи клітин належать клітини багатьох паренхіматозних органів.

Фізіологічна регенерація клітин супроводжується поділом клітин шляхом мітозу, ендомітозу, амітозу та різними клітинними змінами. Ці зміни можуть мати як прогресивний характер (дозрівання клітин молотка), так і регресивний (зроговіння епідермоцитів). Клітини в тканинах можуть переміщатися як пасивно (наприклад переміщення клітин із нижнього шару до верхнього шару епідермісу), так і активно (наприклад клітини крові). Процес фізіологічної регенерації може бути безперервним або періодичним. При безперервній регенерації в одній групі органів відбувається зміна клітин або структур, яка в результаті диференціювання приводить їх до загибелі, і ці клітини при своїй загибелі виконують певну функцію. Так зрговілі клітини епідерміса виконують захисну та теплорегулюючу функцію, клітини сальних залоз служать жировим змащенням та ін. У другій групі органів клітини в результаті диференціювання починають виконувати іншу функцію. Це стосується зрілих клітин периферійної крові, статевих клітин. У третьій групі органів відбувається зміна клітин або структур, які зношуються. До цієї групи належить оновлення клітинного складу мепокринних залоз (підшлункова, слізозна, слинні) та паренхіматозних органів (печінка, нирки, легені та ін.).

### 1.3. ЗМІНИ КЛІТИНИ ПРИ ЇЇ ЗАГИБЕЛІ

Об'єктом вивчення судово-медичної цитології є мертві клітини, яка має більш або менш виражені морфологічні зміни, що були зумовлені деструктивними процесами як у самому організмі, так і внаслідок дії на клітину зовнішнього середовища. Відомо, що клітини органів та тканин трупа, а також клітини, які гинуть поза організмом, зазнають аутолітичних змін, до яких, як правило, приєднуються процеси гниття.

До ранніх змін клітин при аутолізі належить збільшення розмірів ядра, розрив ядерної оболонки, подальше стиснення ядра, набухання його цитоплазми та наступне її стиснення. У момент різкого набухання цитоплазми можливий розрив цитоплазматичної мембрани. Другою ранньою ознакою аутолізу в ядрі є агрегація хроматину, тобто

поява компактних великих брилок хроматину, які в подальшому бліднішають, стають нечіткими, чіткість контурів ядра втрачається.

Існують такі ознаки деструкції ядер:

**хроматинолізис** — ядра бліднішають, контури збережені;

**препікноз** — стиснення ядра, його ущільненість, але структура хроматину ще помітна;

**каріопікноз** — стиснення ядра в безструктурну масу, що робить його структуру нерозпізнаною;

**каріорексис** — розпад ядра на фрагменти. Цьому явищу передує крайова агрегація хроматину;

**каріолізис** — зменшення хроматинової маси ядра аж до повного лізису хроматину в ядрі, контури ядра при цьому втрачаються.

Швидкість руйнації клітини під впливом аутолізу та гниття залежить від багатьох зовнішніх та внутрішніх факторів. До цих факторів належать коливання температури, вологість та концентрація кисню в зовнішньому середовищі, особливості будови тканини або органу, функціональний стан тканини в момент загибелі та ін. Існують також умови, які затримують розпад мертвих клітин. До таких умов належать: заморожування, швидке зневоднювання клітин, а також коагуляція білків клітин під впливом деяких речовин (формальдегід, спирт і інші). Тому вищезазначені речовини і використовуються в судовій медицині як фіксатори, які забезпечують збереження структури клітини, близької до прижиттєвої. Крім того, зміни клітин можуть бути викликані механічними ушкодженнями при траплянні їх у зовнішнє середовище або при приготуванні цитологічних препаратів.

#### 1.4. КРИТЕРІЇ ПРИДАТНОСТІ КЛІТИН ДЛЯ ЦИТОЛОГІЧНОГО ОБЛІКУ

Для вирішення питання щодо статевої належності клітин їх ядра повинні відповідати таким вимогам:

а) мати чіткі контури без зміни форми;

б) мати ніжну хроматинову сітку;

в) повинні бути відсутні накладання мікробів, сторонніх домішок або інших клітин.

У випадку встановлення регіональної належності клітин необхідним є збереження морфологічної структури клітини, збереження клітинної мембрани, форми самої клітини та ядра.

## Розділ 2

---

### ОСОБЛИВОСТІ ВИЗНАЧЕННЯ ГЕНЕТИЧНОЇ СТАТИ

#### **2.1. ПОНЯТТЯ ПРО ГЕНЕТИЧНУ СТАТЬ**

Одним із важливих питань дослідження слідів біологічного походження є встановлення їх статевої належності. Вирішення цього питання засновано на виявленні в інтерфазних ядрах клітин специфічних для статі структур — т.зв. статевого хроматину.

Статевий хроматин є морфологічним вираженням різниці в хромосомному наборі осіб чоловічої та жіночої генетичної статі і використовується як тест для визначення хромосомної (генетичної) статі індивідуума.

#### **2.2. ПОНЯТТЯ ПРО Х-ХРОМАТИН**

Установлення статевої належності об'єктів судово-медичної експертизи стало можливим після відкриття M. Barr і E. Bertram [86] у 1949 р. статевого диморфізму клітин головного мозку кішок. Авторами було встановлено, що в ядрах клітин головного мозку кішок жіночої статі є характерні інтенсивно пофарбовані хроматинові тільця, які були відсутні або траплялися в незначному числі випадків у самців. У 1950 р. M. Barr зі співробітниками [87] виявили такі утворення й у ядрах клітин мозку жінки. У подальшому проведені дослідження показали, що такі тільця є у всіх тканинах жіночого організму. Ці утворення були названі статевим хроматином або X-хроматином, або тільцями Барра. Ці тільця складаються з ДНК — про це свідчить їх спроможність фарбуватись по Фельгену та іншими основними барвниками.

Подальшими дослідженнями було встановлено, що X-хроматин в усіх вивчених тваринах і у людини з'являється в онтогенезі на 16-й день розвитку зародку, тобто значно раніше, ніж відбувається закладка гонад. Отже, X-хроматин є незалежним від статевих ознак і не є вторинною статевою ознакою. Він має хромосомне походження і пов'язаний із гетеропікнотичним станом однієї із X-хромосом. Ін-

шими словами можна сказати, що морфологічним субстратом X-хроматину є сильно спіралізована гетеропікнотична X-хромосома. При цьому в неактивному (гетеропікнотичному) стані може перебувати як материнська, так і батьківська X-хромосома.

У клітинах жіночого організму одна X-хромосома репродукується одночасно з аутосомами, друга — сильно запізнюються і під час інтеркінезу залишається в спіралізованому (гетеропікнотичному) стані. Лише на дуже короткий час ця хромосома переходить у деспіралізований стан. У стадії профази при поділі клітин X-хромосома дуже швидко стає знову гетеропікнотичною. Ця X-хромосома розташовується частіше на периферії ядра (біля оболонки), причому гетеропікнотичний стан X-хромосоми зберігається, очевидно, протягом багатьох клітинних поколінь.

Отже, X-хроматин являє собою гетерохроматинове утворення ядра, розташоване частіше біля ядерної оболонки, має розміри 1-1,5 мкм і гомогенне темне забарвлення. Крім того, деякі дослідники відзначають наявність зони просвітлення (німба) навколо брилки X-хроматину (рис. 2.1).

Цей німб за їхніми даними зустрічається у 80-90% випадків. Форма X-хроматину (тільця Барра) може бути різноманітною, найчастіше трапляються напівкругла, овальна, трикутна, плосковипукла форми (рис. 2.2). У тканинах жінок ядра клітин, що містять напівкруглу форму X-хроматину, складають від 1/2 до 3/4 усіх ядер із X-хроматином. Відхилення в розмірах X-хроматину свідчить про наявність аномалій у спіралізованій X-хромосомі.

Частота X-хроматину в жіночих клітинах коливається від 62 до 82%, причому у ядрах клітин трупа жінки його менше і складає він — 31-77%. X-хроматин у слизовій оболонці порожнини рота та внутрішніх органах жінки розподіляється нерівномірно. Так у зіскобі слизової оболонки порожнини рота в трупах жінок X-хроматин виявляється у кількості 48% (коливання — 20-79%), у клітинах епітелію слизової оболонки піхви — 43% (коливання 10-65%), у клітинах паренхіми внутрішніх органів і тканин — 39%.

У чоловіків наявна одна X-хромосома, яка завжди перебуває в активному стані, тому в чоловіків можлива лише імітація X-хроматину за рахунок аутосомних хромоцентрів, головним чином спіралізованих ділянок 1,16 і 9 хромосом. У клітинах bucalного епітелію чоловіків брилки, подібні X-хроматину, не перевищують 21%, а в ядрах клітин трупів чоловіків зустрічаються не більше, чим в 14% клітин. Ці утворення мають менші розміри й у них відсутня зона просвітлення.

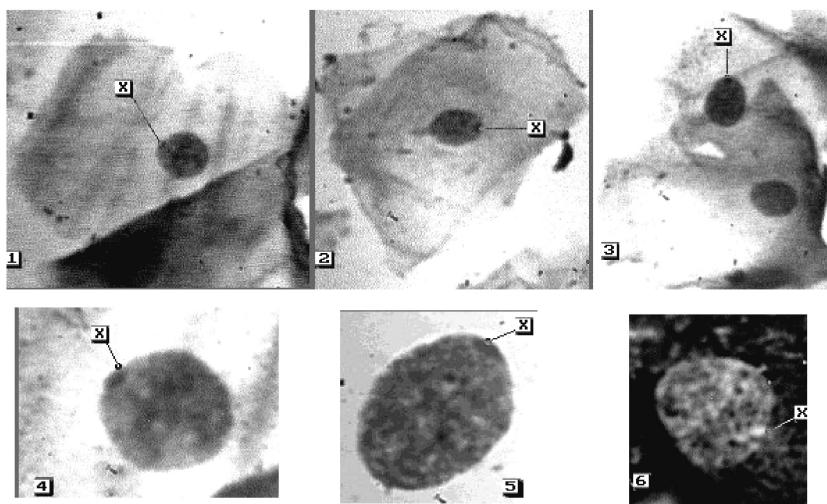


Рис. 2.1. X-хроматин у клітинах слизової оболонки порожнини рота  
1-5 — фарбування азур-еозиновою сумішшю (1-3 — світловий мікроскоп, об. 20х;  
4, 5 — об.100х); 6 — люмінесцентний мікроскоп (фарбування акридиновим  
оранжевим, об. 90х )

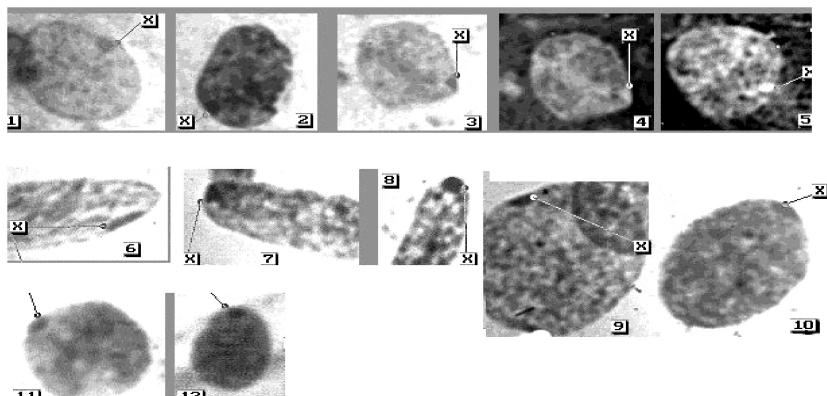


Рис. 2.2. Різні форми X-хроматину  
1, 2, 12 — напівкругла; 3, 4, 7 — трикутна; 9, 10, 11 — овальна (подовжена); 6 — плоска;  
5 — поперечна; 8 — кругла. 1-3, 6-12 — світлова мікроскопія, фарбування азур-  
еозиновою сумішшю, масляна імерсія, об.90х; 4, 5 — люмінесцентна мікроскопія,  
фарбування розчином квінакрилдихлориду, масляна імерсія, об. 90х

## 2.3. ПОНЯТТЯ ПРО СТАТЕВОСПЕЦІФІЧНІ ВИРОСТИ СЕГМЕНТОЯДЕРНИХ ЛЕЙКОЦІТІВ

У 1954 році Davidson i Smith [88], вивчаючи різноманітні вирости ядер сегментоядерних лейкоцитів, дійшли висновку, що деякі з виростів мають статевоспецифічні ознаки. До таких виростів належать вирости типу А (“барабанні палички”) і вирости типу В (“вузлики”). Вирости типу А являють собою хроматинові утворення округлої або краплеподібної форми, із чіткими контурами, гомогенно збарвлені, розміром 1,5-2 мкм, які прикріплюються до ядра сегментоядерного лейкоцита за допомогою довгої тонкої нитки. Вирости типу В — хроматинові утворення овальної або округлої форми з чіткими контурами, темнозбарвлені, розмірами, аналогічними типу А, але на відмінність від виростів типу А, вони або сполучені з ядром товстою хроматиновою перемичкою, або виступають із ядра та мають явно виражене звуження в місці прикріплення до ядра (рис. 2.3).

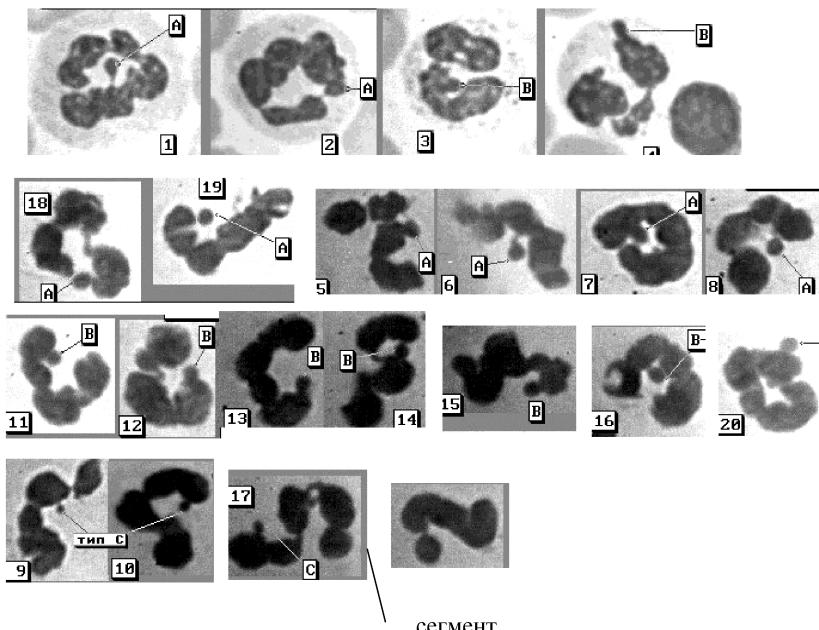


Рис. 2.3. Статевоспецифічні вирости в ядрах сегментоядерних лейкоцитів  
1-4 — мазки крові; 5-20 — витяжки з плям крові (світлова мікроскопія, фарбування азур-еозиновою сумішшю, масляна імерсія, об. 90x)

Залежносі від статі людини кількість вищевказаних статевоспецифічних ознак різна. Так у жіночій крові кількість виростів типу А коливається від 11,4 до 16,1, а виростів типу В — від 19,2 до 28,7 на 500 сегментоядерних лейкоцитів [39]. У крові чоловіків вирости типу А практично не зустрічаються (0,3-0,6 на 500 сегментоядерних лейкоцитів), при цьому багато авторів відзначають, що такі утворення у чоловіків більш дрібні за розмірами, їх форма сплющена, ніжка часто набуває булавоподібного потовщення. Виходячи з цього, більшість авторів вважає, що вирости типу А зустрічаються тільки в клітинах жіночої крові. Вирости типу В в крові чоловіків виявляються, у середньому, із частотою 2,2 на 500 сегментоядерних лейкоцитів.

Крім статевоспецифічних виростів в ядрах сегментоядерних лейкоцитів трапляються також і інші вирости, які не мають чіткої статевої специфічності. Серед них можна виділити такі відростки:

— тип “С” — різноманітні хроматинові утворення, розміром менше 1 мкм, у вигляді паличок, ниточок, гачків, вузликів, кийків. Вони зустрічаються як в жіночій, так і чоловічій крові, можна лише відмітити незначне їх збільшення в крові чоловіків;

— тип “Д”, або ракетки, — утворення, аналогічні за розмірами і формою типу “А”, але відрізняються від них наявністю просвітлення в центрі. До статевого диморфізму дане утворення не причетне і являє собою лише додатковий сегмент.

У 1954 році W. Davidson, D. Smith [87] було висловлене припущення, що вирости типу А і В є гетерохроматином X-хромосоми, проте прямого підтвердження це висловлення не одержало. Зв’язок X-хромосоми і виросту типу А доводиться лише непрямими даними. Так існує певна залежність між розміром виросту та аномалією будови X-хроматину.

Частота виявлення виростів типу А залежить від ступеня сегментування ядер лейкоцитів. Кількість статевоспецифічних виростів зростає при зсуви формули вправо. Ураховуючи це, була висловлена думка, що в процесі сегментації ядра відбувається виштовхування з нього брилки X-хроматину з утворенням виросту типу В, що поступово трансформується у вирост типу А.

## 2.4. ПОНЯТТЯ ПРО Y-ХРОМАТИН

Наприкінці 70-х років ХХ століття було розроблено новий люмінесцентно-мікроскопічний метод дослідження хромосом. Було відмічено, що при фарбуванні барвниками, що флюоресціють, спостерігається дуже яскраве світіння дистальних відділів довгих плечей Y-хромосоми.

У 1970 р. R. Pearson [89] у препаратах буккального епітелію чоловіків та в лейкоцитах їхньої крові при фарбуванні атебрином виявив тільца, що яскраво світилися. Таке світіння було відсутнє в ядрах жіночих клітин. Згодом такі тільца були названі Y-хроматином.

Визначення Y-хроматину в ядрах клітин проводять на люмінесцентному мікроскопі зі збудливим фільтром ФС1-2 або ФС 1-4 та замикаючими фільтрами ЖС-18 та ЖЗС-19 (зелена пластинка), окуляр 5x або 10x, об'єктив 90x (імерсія під олією) або 60x (водна імерсія).

Y-хроматин являє собою брилку розмірами від 0,6 до 0,8 мкм, яка розташована в ядрі та яскраво світиться (рис. 2.4). Розмір її індивідуальний, успадковується та не змінюється при різноманітних захворюваннях.

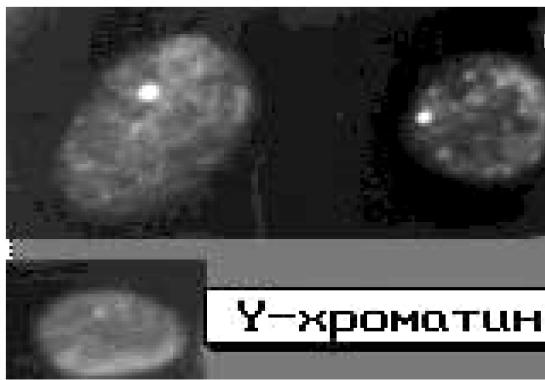


Рис. 2.4. Y-хроматин в ядрах епітеліальних клітин.  
Люмінесцентна мікроскопія, фарбування розчином квінакрилдихлориду,  
масляна імерсія, об.90x

Подальшими дослідженнями було доведено, що існує залежність між Y-хромосомою і Y-хроматином. Визначно індивідуальною ознакою Y-хромосоми є абсолютна довжина плеча і довжина ділянки, що

флюоресцією. Здебільшого випадків Y-хромосома має приблизно рівні за довжиною частини, одна з яких світиться яскраво, а інша має неяскраву флюоресценцію. При цьому 80% ядер клітин осіб чоловічої статі мають одну велику брилку Y-хроматину, 11% ядер чоловічого організму містять Y-хроматин у вигляді 2-х великих розташованих поруч брилок. В останньому випадку найчастіше має місце деконденсація довгої ділянки Y-хромосоми, що яскраво світиться. У частини людей трапляються випадки, коли довжина ділянки Y-хромосоми, яка світиться яскраво, збільшена, тоді Y-хроматин у ядрах клітин буде представлений великою та дрібною брилками. Кількість Y-хроматину в клітинах чоловічого організму складає 34-98%.

В інтерфазних ядрах клітин можуть бути виявлені також дрібні брилки, що світяться, розмірами від 0,1 до 0,4 мкм, т.зв.  $\Phi$ -хроматин, який не має статевої специфічності і є ділянками аутосом, які флюоресціюють.

У жіночих клітинах іноді трапляються ядра з одною маленькою брилкою  $\Phi$ -хроматину розмірами від 0,2 до 0,3 мкм. Цей хроматин частіше пов'язаний з ділянками 3-ї, 13-15-ї пар аутосом, які яскраво світяться, і можуть імітувати світіння Y-хроматину. Кількість  $\Phi$ -тілець, що імітують Y-хроматин, у клітинах жіночих тканин коливається від 0,4 до 5-7%.

Локалізація Y-хроматину в ядрах різноманітна і залежить від виду тканин. У лімфоцитах Y-хроматин частіше розташовується по периферії ядра у вигляді серпоподібної брилки біля внутрішньої поверхні ядерної мембрани або у вигляді вибухання з ядра. В ядрах клітин кори головного мозку найбільше характерним є розташування Y-хроматину біля ядерця. В ядрах м'язової тканини Y-хроматин в переважній частині випадків знаходитьться біля одного з полюсів ядра. У більшості інших клітин Y-хроматин виявляється в будь-якій частині ядра.

Дослідження Y-хромосоми серед різних тварин показало, що спроможність гетерохроматину Y-хромосоми мати постійну яскраву флюоресценцію притамана лише для людини і самців горил. Ця ознака є відсутньою в інших видах тварин. Виходячи з цього, можна вважати, що наявність світіння Y-хроматину в ядрах клітини свідчить про належність цих клітин людині.

## 2.5. ЗДАТНІСТЬ ДО ЗБЕРЕЖЕННЯ СТАТЕВОСПЕЦІФІЧНИХ ОЗНАК ЗАЛЕЖНО ВІД ВПЛИВУ ЗОВНІШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА

Відомо, що найбільш несприятливими умовами для збереження клітини є вологе середовище та коливання температури, що може викликати процеси гниття. При цьому зазначений процес діє на всю клітину, а не вибірково на її статеву мітку. Крім того, результати дослідження багато в чому залежать від типу тканини. Коли мікрочастинки тканин або сліди біологічного походження на речових доказах знаходяться в умовах, що не сприяють розвитку процесів гниття (сухе середовище, кімнатна температура), виявлення X-, Y-хроматину, статевоспеціфічних виростів лейкоцитів є можливим через значний проміжок часу — тижні, місяці, роки. Так відомо, що у трупів, які перебували при кімнатній температурі, X-хроматин у клітинах епідермісу виявляється на протязі 5-6 діб, в клітинах посмугованої м'язової тканини — протягом 10-12 діб, у клітинах хрящової тканини — 14 діб [32].

Добре зберігаються ядра клітин тканин, якщо вони знаходяться на повітрі при низьких температурах. Так експериментально встановлено, що в заморожених клітинах епідермісу і м'язової тканини X-хроматин може бути виявлений протягом 30 діб. При цьому, треба відзначити, що найбільш достовірним при зберіганні біоматеріалу при низьких температурах є визначення статевої належності за X-хроматином лише в перші 6 діб. Після цього строку кількість ядер зі статевим хроматином зменшується за рахунок неможливості визначення X-хроматину в ядрах із добре збереженою структурою. Тому при визначенні статевої належності об'єктів, які знаходились при низьких температурах, треба чітко знати строк їх перебування в холоді. У разі, якщо термін перебування об'єкта при низьких температурах не відомий, клітини, які належали особі жіночої генетичної статі, можуть бути помилково прийняті за чоловічі.

У вологому середовищі (вода, ґрунт) відбувається швидка руйнація клітин, унаслідок чого X- і Y-хроматин виявляється протягом тільки перших 3-х, рідше 5-6 діб. Можна також зауважити, що руйнація ядер клітин різних тканин проходить по-різному. Так у клітинах епідермісу цей процес проходить більш інтенсивно, ніж у клітинах хрящової тканини. Статеві відмінності клітин епідермісу втрачаються протягом 4-х днів перебування у воді, а в хрящовій тканині ці відмінності зберігаються протягом 17 днів і більше.

При дії високої температури на об'єкти дослідження майже в усіх випадках можна знайти ділянки тканин із добре збереженими ядрами, що дає можливість встановити в них наявність статевих міток.

Експериментальними дослідженнями було доказано, що при дії високих температур визначення Y-хроматину в клітинах внутрішніх органів людини є можливим до тих пір, поки не проходить їх руйнація, яка настає при температурі 160° С [49].

Згідно з літературними даними відомо, що у волоссях при підвищенні вологості і температурі +10-20° Х-хроматин можна визначити протягом 3 діб, при температурі + 4° — 20 діб, при низькій температурі (-10° С) — 25 діб, при збереженні волосся в умовах лабораторії — протягом декількох років. Такі ж строки збереження статевої мітки в клітинах зовнішньої кореневої піхви волосся характерні і при визнанні Y-хроматину [14].

Основною перешкодою при встановленні статевої належності крові в слідах на речових доказах є надмірне ущільнення ядер лейкоцитів. Якщо пляма крові знаходитьться на гігроскопічних матеріалах, лейкоцити, які залишаються на поверхні, швидко висихають і практично не руйнуються. Водночас, коли кров знаходитьться на матеріалах, що не вбирають рідину, плями висихають повільно і при цьому відбувається руйнація лейкоцитів. Ось чому кірочки крові є несприятливим об'єктом дослідження при встановленні статевої належності крові. Для слідів крові так само, як і для мікрочастинок тканин, найбільш несприятливим є вологе середовище. Температура, підвищена до + 120-130° С або знижена до -35° С, руйнуючого ефекту на лейкоцити не виявляє.

Порівняльні дослідження кількості статевоспецифічних виростів типу А и В в мазках крові, що була щойно взята, та в препаратах, приготовлених із плям крові, показують, що в останніх число виявленіх ядер зі статевоспецифічними виростами в порівнянні з мазками, знижується на 31-36% [24].

## 2.6. ОСОБЛИВОСТІ ГЕНЕТИЧНОЇ СТАТИ ПРИ ХРОМОСОМНИХ АНОМАЛІЯХ

У людини розрізняють статтю анатомічну, гонадну (залежить від будови статевих органів), психічну, або психосексуальну, генетичну, паспортну та гормональну. У нормі всі ці поняття збігаються.

Хромосомний набір людини складається з 22 пар аутосом і однієї пари статевих хромосом (каріотип жінки 46 XX, чоловіка 46 XY).

Розвиток хромосомних аномалій відбувається в гаметогенезі або на ранніх стадіях розвитку зиготи (рис. 2.5 та 2.6).

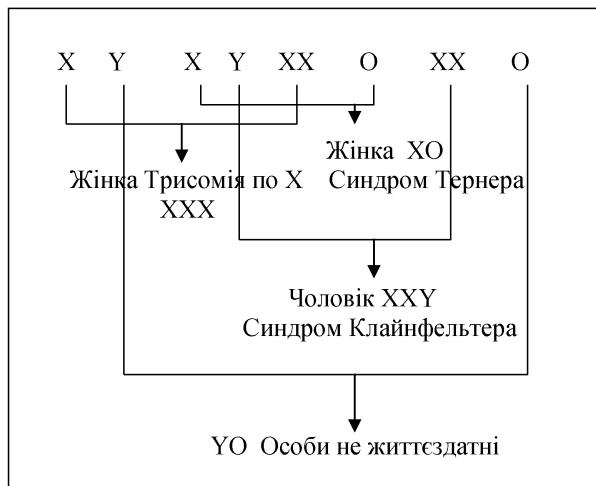


Рис. 2.5. Наслідки нерозходження статевих хромосом при утворенні яйцеклітин. У заплідненій яйцеклітині може бути будь-який із чотирьох можливих хромосомних наборів (Митвох, 1964)

Якщо в ядрі є дві X-хромосоми, то одна з них перебуває в спіралізованому стані і помітна в ядрі клітини у вигляді однієї брилки X-хроматину. При каріотипі 47XXX — 25-33% ядер клітин має 2 тільки X-хроматину. При каріотипі XO — тільки X-хроматину відсутнє в ядрах соматичних клітин, а вирост типу А відсутній в сегментоядерних лейкоцитах крові. При каріотипі 47 XXY в ядрах клітин відмічається брилка X-хроматину та світіння Y-хроматину. При фарбуванні похідними акрихінового ряду X и Y-хроматин можуть бути виявлені в ядрі однієї і тієї ж клітини.

Дуже рідко трапляються чоловіки із синдромом Y-дисомії — 47 XYY. При такому аномальному хромосомному наборі в ядрах клітин визначаються дві брилки Y-хроматину, які флюоресціють, і які знаходяться на відстані одна від однієї не менше, ніж на їх діаметру ядра [43].

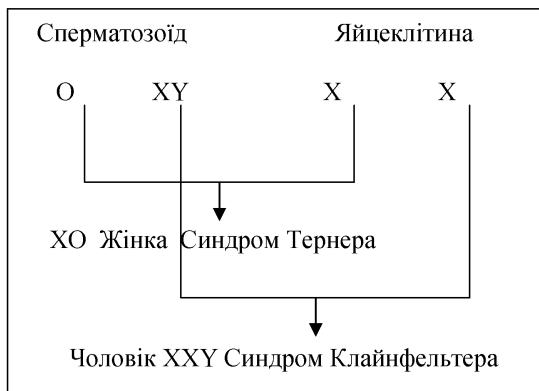


Рис. 2.6. Наслідки нерозходження статевих хромосом при утворенні сперматозоїдів. Запліднена яйцеклітина може одержати або XXY, або лише одну хромосому (Митвох, 1964)

Усі вищевказані хромосомні аномалії можна діагностувати за допомогою люмінесцентної і світлової мікроскопії. Виявлення нетипового хромосомного набору в ядрах клітин при дослідженні речових доказів може мати ідентифікуюче значення. Так відомо, що трисомія за X (47 XXX) трапляється, в основному, у жінок безплідних і недодумкуватих, хоча може бути й у нормальніх. Частота цієї ознаки становить 1:2458 [24]. Моносомія за X (45 X0) або синдром Шерешевського-Тернера зустрічається в 0,02-0,04% новонароджених дівчаток і проявляється малим зростом, недорозвиненними вторинними статевими ознаками у сполученні з рядом інших аномалій, таких як високе тверде піднебіння, деформація вушних раковин, достатньо велика кількість волосся на голові з низько розташованою лінією їхнього росту на шиї, інфантілізм, криловидна шкірна складка на шиї, нерідко — коарктация аорти, в окремих випадках — порушення кольорного зору, глухота. Зовнішні статеві органи сформовані за жіночим типом, грудна клітка — широка, щитоподібна, з широко розставленими сосками і недорозвиненими молочними залозами, матка недорозвинена, яичники представлені фіброзними тяжами.

Синдром Клайнфельтера (47 XXY) трапляється у 0,2% чоловіків, серед олігофренив цей показник складає 1,36%, серед злочинців зі зниженим інтелектом — 2%. Хворі із синдромом Клайнфельтера характеризуються високим зростом, довгими кінцівками, гіпогонадиз-

мом, склерозуючою дегенерацією сім'яних канальців, асперматогенезом, млявістю, інертністю, розумовою відсталістю або невисоким інтелектом, гінекомастією, підвищеним виділенням фолікулостимулюючого гормону і розвитком євнухоподібних ознак (недостатність вторинного оволосіння, недорозвинення зовнішніх статевих органів, вузькі плечі, широкий таз). Поширеність каріотипу 47 XYY вивчена недостатньо. Відомо лише, що цей каріотип у 20 разів частіше трапляється у високорослих і агресивних чоловіків, для яких характерне деяке зниження інтелекту і порушення відтворювальної здібності [24].

При уроджених аномаліях розвитку статі результати цитологічного визначення статі можуть бути прийняті до уваги лише в зіставленні з клінічним обстеженням людини.

## Розділ 3

---

### ХАРАКТЕРИСТИКА РІЗНОМАНІТНИХ ТКАНИН ЛЮДИНИ

#### **3.1. КЛАСИФІКАЦІЯ ТКАНИН**

Тканіна — філогенетично сформована система клітин і позаклітинних структур, що характеризується спільністю будови та спеціалізується на виконанні певної функції.

Згідно з класифікацією тканин, викладеною у підручнику “Гістологія людини” О.Д. Луцика, А.Й. Іванової, К.С. Кабака, Ю.Б. Чайковського (2003) [13], усі тканини можна розділити на групи.

**Епітеліальні тканини** (за морфофункціональною характеристикою):

- одношаровий однорядний епітелій;
- одношаровий багаторядний епітелій;
- багатошаровий плоский епітелій;
- перехідний епітелій;
- залозистий епітелій.

**Тканини внутрішнього середовища:**

- кров;
- лімфа;
- сполучна тканіна.

**Кісткова тканіна.**

**Хрящова тканіна.**

**Вистилка слизових оболонок людини.**

**Тканини спеціалізовані:**

- м'язова тканіна;
- нервова тканіна.

#### **3.2. ЕПІТЕЛІАЛЬНІ ТКАНИНИ**

Епітеліальна тканіна — це такий тип тканини, що складається з клітинних шарів, які утворюють зовнішній покрів тіла, а також вистилають внутрішні порожнини та трубчасті ходи організму, що сполучаються із зовнішнім середовищем або мали таке сполучення у філогенезі.

Функціями епітеліальної тканини є покривна, захисна, видільна, а також вона володіє і функціями всмоктування та сприйняття по-дразнення. Для епітеліальної тканини характерно є різниця (полярність) між поверхнею, що прилягає до сполучної тканини (базальна поверхня), і іншою, вільною (апікальною) поверхнею. З базальної поверхні йде тік живильних речовин і проявляється вплив внутрішнього середовища організму. Апікальна поверхня епітеліальної тканини пов'язана з функціями захисту, всмоктування та виділення. Саме тут виявляється вплив зовнішнього середовища. В епітеліальній тканині безупинно відбувається відторгнення клітин, що відмирають, та утворення нових, т.з. фізіологічна регенерація.

Епітеліальна тканина в залежності від місця розташування і функції ділиться на покривну та залозисту (рис. 3.1).

Покривні тканини покривають шкіру, слизові поверхні організму та оболонки внутрішніх органів (рис. 3.2).

Залозисті тканини входять до складу різноманітних залоз, беруть участь у виробленні та виділенні біологічно активних секретів.

Будь-який епітелій розташовується на базальній мембрани. За розташуванням клітин стосовно мембрани розрізняють епітелій одношаровий (усі клітини лежать на базальній мембрani) і багатошаровий (нижній ряд лежить на базальній мембрani, а верхній не стосується мембрани). Нижче наведено схему розподілу епітеліальної тканини.

Одношаровий епітелій буває однорядний (ізоморфний) і багаторядний (анізоморфний).

Одношаровий однорядний епітелій — це такий епітелій, коли всі клітини розташовуються на базальній мембрani, мають одинакові розміри, форму, ядра їх розташовані на одному рівні. Одношаровий однорядний епітелій залежно від форми клітин може бути плоским, кубічним, циліндричним (рис. 3.3).

Одношаровий багаторядний епітелій — це такий епітелій, коли всі клітини лежать на базальній мембрani, але клітини мають різні розміри і форми, а їх ядра розташовані на різному рівні. Одношаровий багаторядний епітелій залежно від форми клітин може бути циліндричним та кубічним.

Багатошаровий епітелій може бути багатошаровий плоский зрогогілій, багатошаровий плоский незроговілій та перехідний.

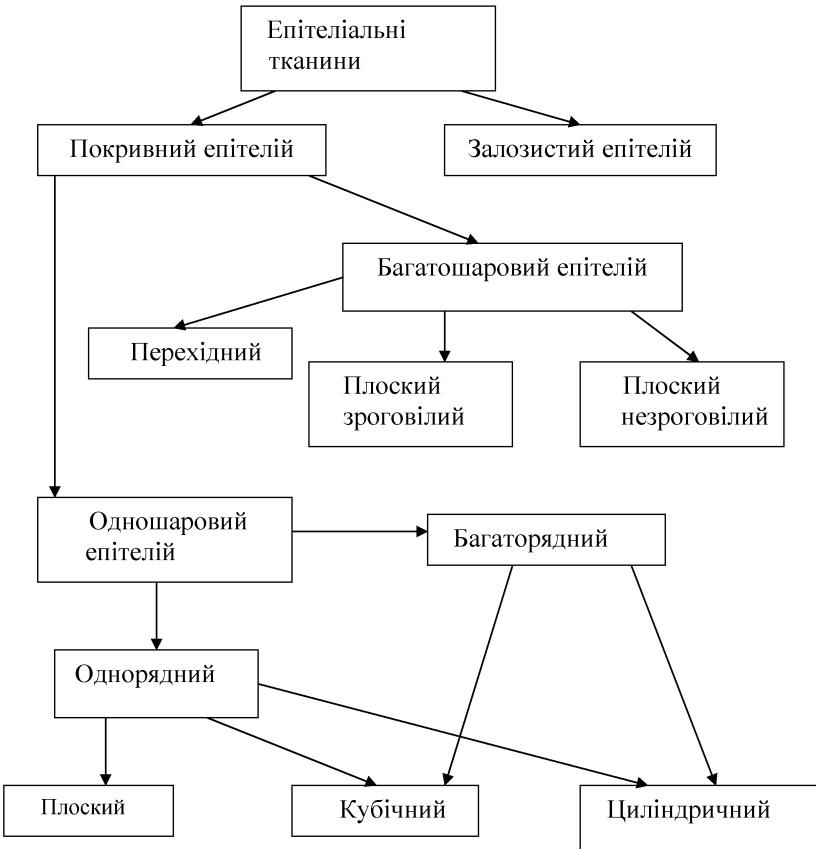


Рис. 3.1. Класифікація епітеліальних тканин

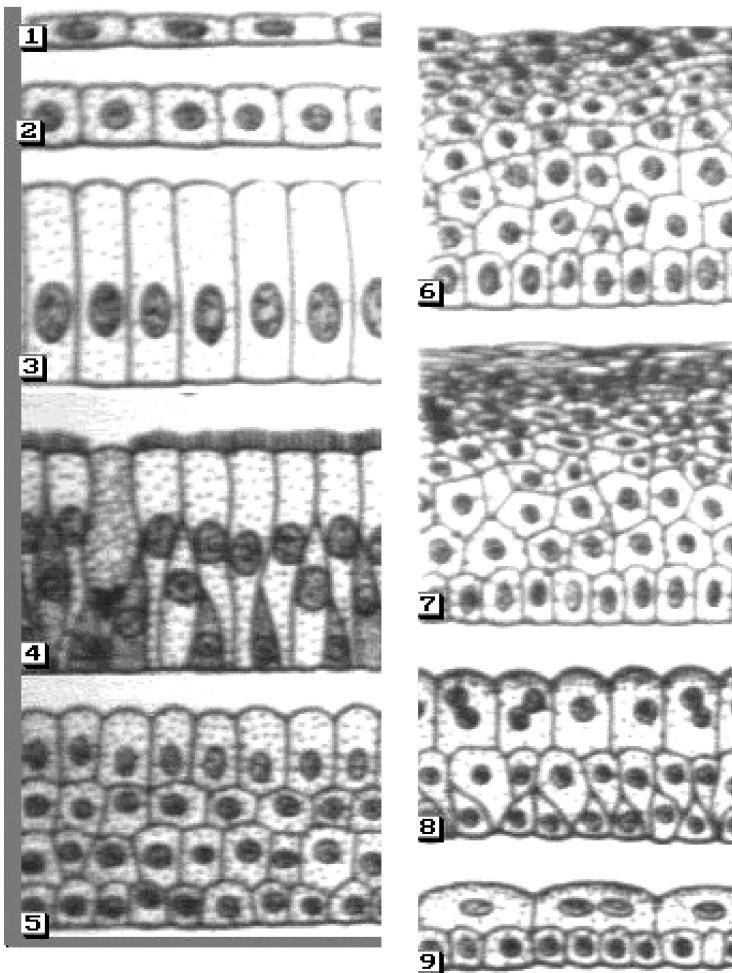


Рис. 3.2. Схематичне зображення видів покривного епітелію  
 (за підручником для вузів “Гистологія”, 2001 [13])

**Епітелій одношаровий однорядний:** 1 — плоский; 2 — кубічний; 3 — циліндричний (стовпчастий). **Епітелій одношаровий багаторядний:** 4 — циліндричний миготливий (війчастий); 5 — епітелій багатошаровий циліндричний (стовпчастий). **Епітелій багатошаровий плоский (зроговілий):** 6 — незроговілий; 7 — зроговілий. **Епітелій багатошаровий перехідний:** 8 — нерозтягнутий стан; 9 — розтягнутий стан

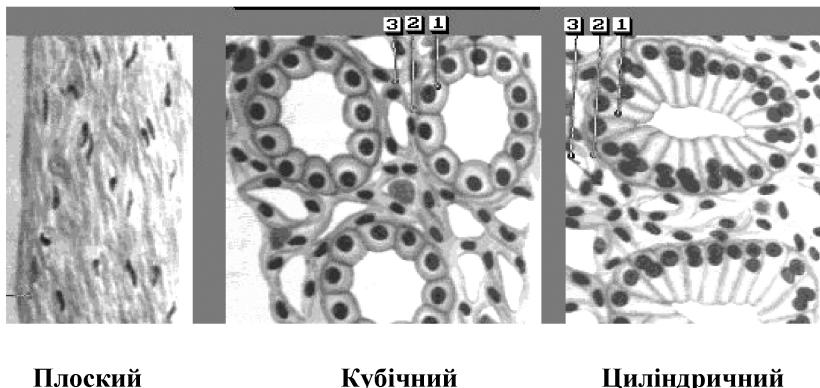


Рис. 3.3. Схематичне зображення одношарового епітелію (за І. В. Алмазовим та Л. С. Сундуковим [1])

1. Клітина. 2. Базальна мембрана. 3. Сполучна тканина

### *3.2.1. Одношаровий однорядний епітелій*

**Одношаровий однорядний плоский епітелій (мезотелій)** — вистилає внутрішні порожнини організму людини, а також ендокард. Мезотеліальні клітини мають полігональну форму, середні розміри (25–30 мкм) із широкою світлою цитоплазмою та з одним або двома ядрами, співвідношення ядра і цитоплазми 1:2-1:3, ядро розташоване центрально. У вільному стані клітина має округлу форму. Якщо мезотеліальні клітини знайдені в слідах на знаряддях травми, то можна зробити висновок, що поранення було проникаючим.

Одношаровий однорядний кубічний **епітелій** вистилає бронхіоли та легеневі альвеоли, канальці нирок, деякі ділянки внутріпечінкових та і жовчних протоків, молочних залоз, щитовидної, слинної та інших залоз. За розміром ці клітини є дещо більшими лейкоцитів (10-15 мкм).

Цитоплазма однорідна, ядро розташоване центрально, із рівними чіткими контурами. Епітелій діагностується, коли клітини розташовані в один шар. Ізольовані клітини круглі або овальні, не відрізняються від базальних.

Одношаровий однорядний циліндричний **епітелій** вистилає шлунок, кишечник, жовчний пухир, протоки підшлункової залози, жов-

чні протоки, бронхіоли, внутрішні поверхні фалопієвих труб і матки, а також деякі ділянки протоків слинної, щитовидної і молочної залоз (рис. 3.4).

Циліндричний епітелій має подовжену, дещо конічну форму. Ядро велике, овальної форми, із ніжною сіткою хроматину, слабко сприймає фарбу, розташоване ексцентрично. Цитоплазма відірваних клітин найчастіше дистрофічно змінена, має місце дрібнозернисте білкове переродження, вакуолізація, жирове переродження. Клітини циліндричного епітелію в препаратах можуть траплятись у різноманітній проекції: при погляді з боку полюсів клітини подібні глибоким шарам плоского епітелію, ядра розташовуються центрально, форма клітин шестикутна, нагадує стільники; при бічній проекції в групах клітини не цілком правильної чотирикутної форми зі злегка закругленими вуглами в основі та ексцентрично розташованим ядром — нагадують частокіл. Найвищий циліндричний епітелій вистилає дихальні шляхи і фалопієві труби, має війки і називається війчастим (рис. 3.5).

Циліндричний епітелій шлунка виробляє слиз і називається зализистоподібним. Часто широкий кінець цих клітин не має чіткого контуру (ослизнений).

Циліндричний епітелій кишечнику, жовчного пухиря, печінки, матки має мікроворсинки, які утворюють усмоктувальну кайомку, і називається такий епітелій каймовим. Апікальна частина деяких клітин циліндричного епітелію кишечника має замикаючі порожнини (пластинки), помітні при світловій мікроскопії.

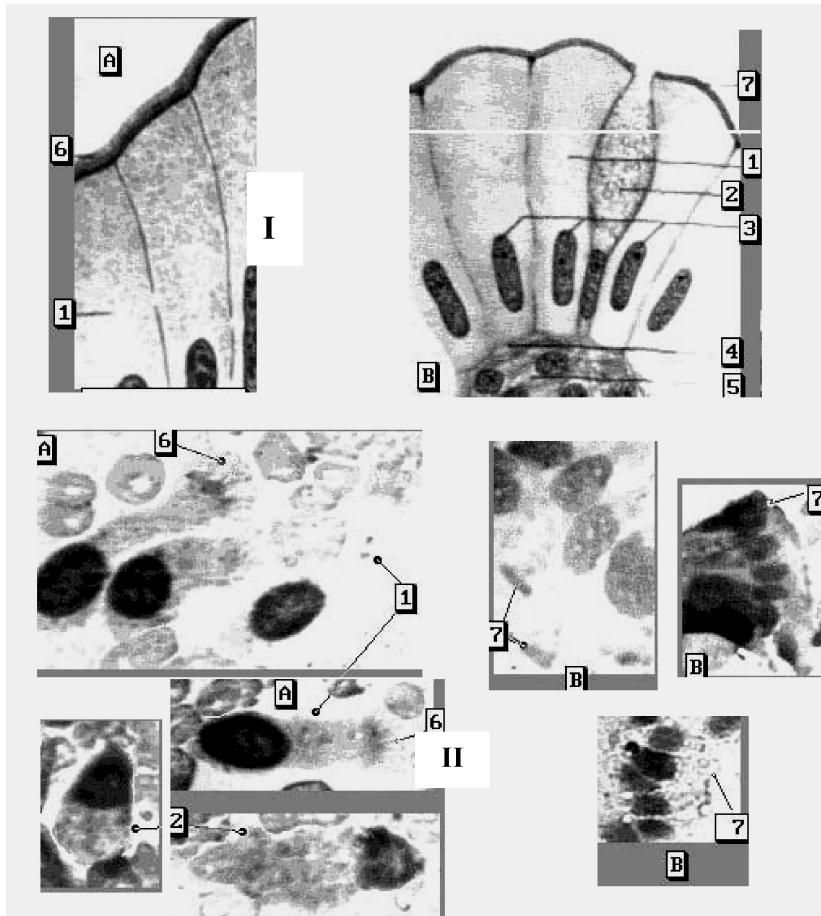
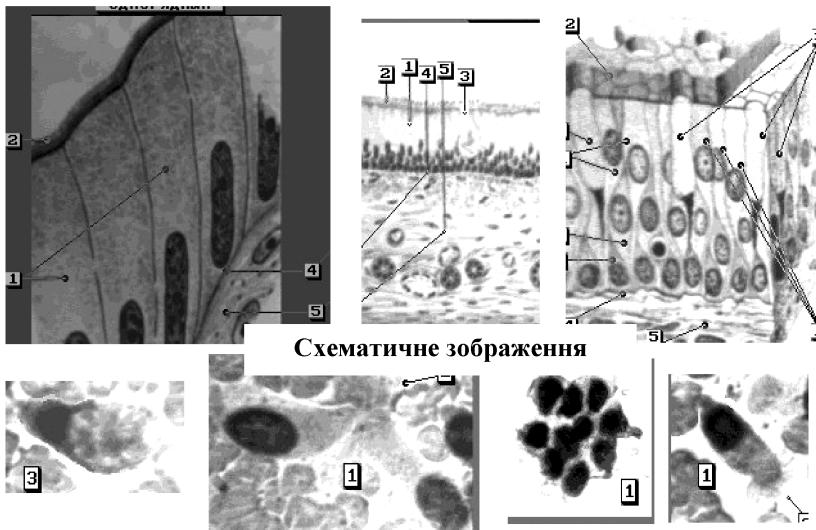


Рис. 3.4. Одношаровий циліндричний епітелій

I — схематичне зображення одношарового циліндричного епітелію (фарбування гематоксилін-еозином, об. 60х, наведено за атласом І. В. Алмазова та Л. С. Сутулова, 1978 [1]); А — війчастий (миготливий) епітелій (1 — циліндрична клітина; 6 — клітинні війки); В — каймовий (джгутиковий) епітелій (1 — циліндрична клітина; 2 — келихоподібна залозиста клітина; 3 — ядра клітин; 4 — базальна мембрана; 5 — сполучна тканина; 7 — всмоктувальна кайомка); II — цитологічні препарати одношарового циліндричного епітелію (світловий мікроскоп, фарбування азур-еозиновою сумішшю, об. 20х, 40х)



**Схематичне зображення**  
**Цитологічні препарати**

Рис. 3.5. Війчастий (миготливий) епітелій

**Схематичне зображення** за І.В.Алмазовим та Л.С. Сутуловим [1];

**Цитологічні препарати** — фарбування азур-еозиновою сумішшю,  
світловий мікроскоп, об. 20х, 40х:

1 — циліндричні клітини; 2 — клітинні війки; 3 — келихоподібні клітини; 4 — базальні мембрани; 5 — сполучна тканина

### 3.2.2. Одношаровий багаторядний циліндричний епітелій

Одношаровий багаторядний циліндричний епітелій вистилає по-вітроносні шляхи (трахею, великі і малі бронхи), чоловічу уретру, цервикальний канал, матку.

У трахеї і бронхах розрізняють 3 ряди клітин:

1) миготливі і келихоподібні клітини — розташовані від основи до поверхні епітелію. Миготливі клітини — високі, один кінець широкий і плоский, закінчується кутикулярним обідком, інший — тонкий у вигляді довгастого конуса, хвостоподібно звужений. Кутикулярний обідок являє собою лінійне стовщення клітинної оболонки, від якого відходять тонкі нитки війок. Кутикулярний обідок зберігається й

у клітинах, позбавлених війок. Ядро має овальну форму, чітко контурується, великі розміри, розташовано ближче до основи, займає всю ширину клітини, іноді викликає її здуття. Келихоподібні клітини трапляються рідше миготливих, за формою нагадують їх, але без війок і кутикулярного обідка. Периферійна частина здута, у ній розташовані малі і великі вакуолі, іноді пустоти. При скученні слизу ядро усунуте донизу;

**2)** замісні або проміжні клітини знаходяться між миготливими і не доходять до поверхні епітелію. Вони мають веретеноподібну форму зі слабко збарвленою цитоплазмою, яка легко руйнується. За розміром ці клітини менше миготливих. Ізольовано розташовану клітину важко диференціювати у зв'язку з її частою деструкцією.

**3)** базальні клітини — мають розмір лімфоциту, 4- і багатокутну форму, з базофільною цитоплазмою у вигляді обідка. Ядро кругле або овальне, займає велику частину клітини, інтенсивно збарвлене з рівномірно-зернистим хроматином. Ізольовані клітини мають круглу форму.

У малих бронахах епітелій — дворядний, складається з миготливих і парабазальних (паросткових) клітин. Келихоподібні клітини відсутні.

### *3.2.3. Багатошаровий плоский епітелій*

Зроговілий багатошаровий плоский епітелій (епідерміс) складається з 5-ти шарів: рогового, блискучого, зернистого, шиповатого та базального (рис. 3.6). Усі 5 шарів епітелію присутні на долонах, підошвах та пальцях. На інших ділянках шкіри відсутній блискучий шар.

Клітини базального шару мають невеликі розміри, циліндричну форму, ядра округлі або овальні, цитоплазма у вигляді вузького обідка.

Клітини шиповатого шару мають полігональну форму, мають пластинчасті відростки і називаються крилатими або шиповатими. Клітини базального і шиповатого шару складають паростковий шар.

Клітини зернистого шару — порівняно плоскі, ядра їх менше в порівнянні з клітинами шиповатого шару, у цитоплазмі помітні гранули кератогіаліну.

Клітини блискучого шару — плоскі, просочені елеїдином (попередник кератина), який добре переломлює світло. Ядра клітин не забарвлюються.

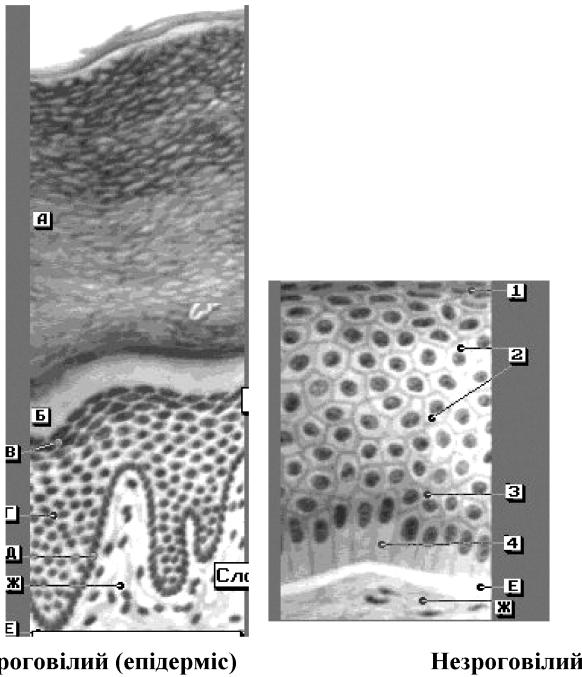


Рис. 3.6. Багатошаровий плоский епітелій (схема)  
 (фарбування гематоксилін-еозином, об. 20х, 40х, з атласу  
 І. В. Алмазова та Л. С. Сутулова, 1978 [1])

**Шари епідермісу:** А. Роговий; Б. Бліскучий; В. Зернистий; Г. Шипуватий;  
 Д. Базальний; Е. Базальна мембрана; Ж. Сполучна тканина

**Шари незроговілого епітелію:** 1. Поверхневий; 2. Проміжний; 3. Парабазальний;  
 4. Базальний

Клітини рогового шару представляють собою лусочки, без'ядерні епітеліальні клітини, які містять кератин і пухирці повітря.

**Епідерміс** — високоспеціалізована епітеліальна тканина, для якої характерні наявність рогового шару і значний розвиток тонофібріл. Під епідермісом знаходиться власне шкіра — дерма.

Незроговілий багатошаровий плоский епітелій вистилає роговицю ока, порожнину рота, передню частину носової порожнини, середню і нижню частину носоглотки, верхню частину надгортанника, голосові зв'язки, стравохід, частину прямої кишki, вагіну.

**Епітелій** складається з 4-х шарів: базального, парабазального, проміжного, поверхневого. У нормі без ознак ороговіння.

Клітини **базального шару** (паросткові) мають невеличкий розмір, округлу форму, цитоплазма у вигляді вузького обідка, збарвлене базофільно, ядро крупне, інтенсивно забарвлене. У нормі ці клітини не відторгаються.

Клітини парабазального шару — округлої або овальної форми, з базофільно збарвленою цитоплазмою. Ядро округле або овальне, розташовується в центрі клітини. Співвідношення ядра і цитоплазми приблизно 1:2.

Клітини проміжного шару мають діаметр 30-40 мкм і більше, овоїдної, трикутної, полігональної форми, ядра середні (округлі, овальні), з добре вираженою хроматиновою сіткою. Цитоплазма рясна, світлобазофільні тонів. Співвідношення ядра і цитоплазми 1:3 — 1:6.

Клітини поверхневого шару підрозділяються на клітини глибокого шару і власне поверхневі:

— поверхневі клітини глибокого шару — це великі клітини, розміром 60-80 мкм, полігональної форми, ядра малі, круглі, розташовуються частіше центрально, розмірами близько 7 мкм, співвідношення ядра і цитоплазми 1:8-1:10;

— власне поверхневі клітини мають той же розмір, форма полігональна, ядро дрібне точкове (6 мкм і менше), розташоване в центрі, хроматинова сітка не помітна (ядро пікнотичне), співвідношення ядра і цитоплазми 1:12-1:15 і більше. Дані клітини присутні в слизовій оболонці піхви та нижніх відділах слизової оболонки прямої кишki. У слизовій оболонці порожнини рота такі клітини відсутні.

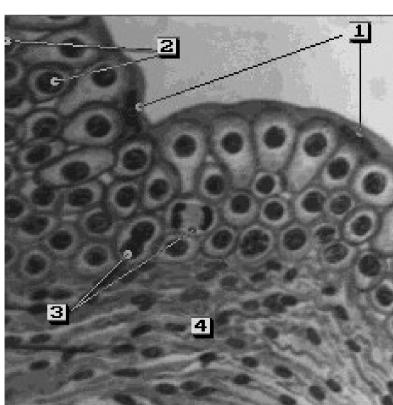
### **3.2.4. Перехідний епітелій**

Перехідний епітелій (рис. 3.7) вистилає ниркову миску, сечоводи, сечовий міхур (рис. 3.7 а), передміхурову частину сечівника людини. Клітини даного епітелію мають різноманітну форму і розмір залежно від наповнення органа. У цьому епітелії розрізняють два шари базальний і покривний. Базальний шар складається з дрібних темних клітин і значних світлих клітин грушоподібної форми між ними. Покривний шар складається з великих сплющених клітин. У нерозтягнутому стані слизової оболонки епітелій можна віднести до багатошарового та багаторядного (базальний шар має багаторядну будову). При розтягнутому стані — епітелій багатошаровий.

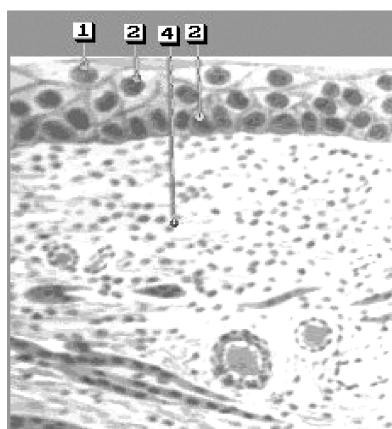
### 3.3. ВИСТИЛКА СЛИЗОВИХ ОБОЛОНОК ЛЮДИНИ

#### 3.3.1. Дихальні шляхи (рис. 3.8, 3.9, 3.10):

1. Ніс, передня частина носової порожнини — незроговілий багатошаровий плоский епітелій.
2. Слизова оболонка нюхової ділянки носової порожнини — багаторядний циліндричний епітелій.
3. Носоглотка — незроговілий багатошаровий плоский епітелій.
4. Трахея, бронхи — одношаровий багаторядний циліндричний епітелій.
5. Бронхіоли — одношаровий однорядний циліндричний епітелій, який переходить в однорядний кубічний.
6. Легеневі альвеоли вистелені без'ядерними пластинками (цитоплазматними відростками клітин вистілки альвеол), між якими розташовані тонкі полігональні клітини з ядрами, для яких характерні фагоцитарні властивості. У цитологічному препараті клітини вистилек альвеол схожі на кубічний епітелій.



При нерозтягнутій стінці



При розтягнутій стінці

Рис. 3.7. Перехідний епітелій сечового міхура (фарбування гематоксилін-еозином, об. 60х, наведено за І. В. Алмазовим та Л. С. Сутуловим [1])

1. Клітини покривного шару з кутикулою; 2. Клітини базального та проміжного шарів; 3. Клітини на стадії амітоzu та мітозу; 4. Волокниста сполучна тканина

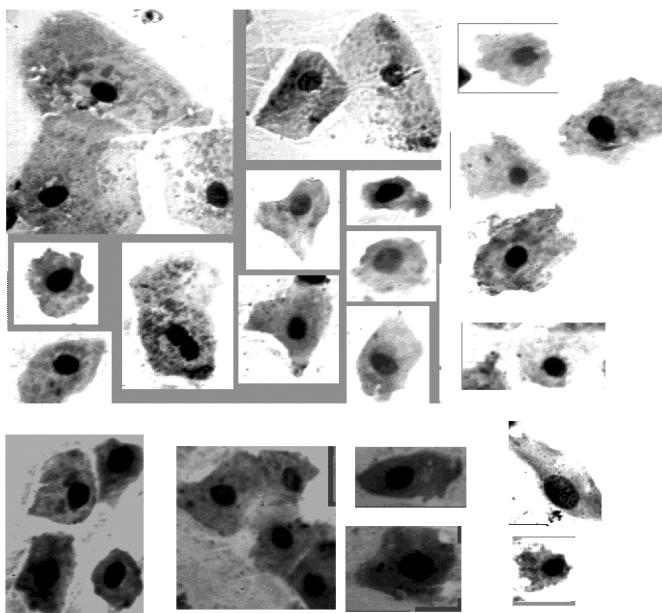


Рис. 3.7 а. Переходний епітелій слизової оболонки сечового міхура.  
Світлова мікроскопія, фарбування азур-еозиновою сумішшю, об.20x

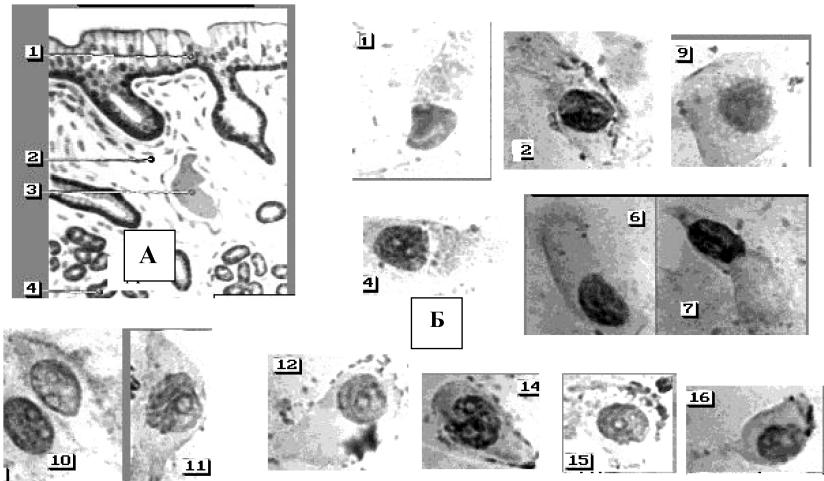


Рис. 3.8. Дихальна ділянка слизової оболонки носа

- A. Схематичне зображення слизової оболонки носа** (фарбування гематоксилін-еозином, об.60х, наведено за І. В. Алмазовим, Л. С. Сутуловим [1]);
1. Багатошаровий миготливий (війчастий) епітелій з келихоподібними клітинами;
  2. Власна пластинка слизової оболонки;
  3. Кровоносна судина;
  4. Кінцевий відділ залози;
- Б. Цитологічні препарати клітин слизової оболонки носа** (світлова мікроскопія, фарбування азур-еозиновою сумішшю, об.40х); 1-7 — клітини миготливого (війчастого) епітелію; 10-15 — вставні клітини; 16 — келихоподібна клітина

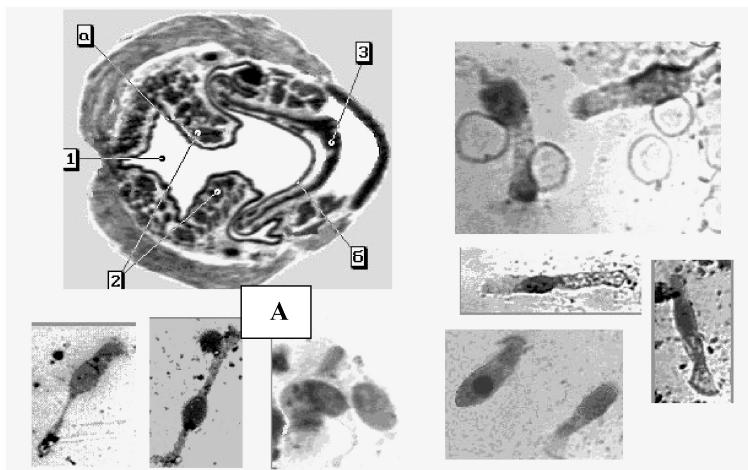


Рис. 3.9. Слизова оболонка гортані

А. схематичне зображення поперечного зрізу гортані наведено за І. В. Алмазовим та Л. С. Сутуловим [1]): 1. Голосова щілина; 2. Голосова складка; 3. Хрящ гортані; Вистилка: а) багатошаровий плоский епітелій; б) багаторядний миготливий (війчастий) епітелій

Цитологічні препарати клітин війчастого епітелію (світлова мікроскопія, об. 20x, фарбування азур-еозиновою сумішшю)

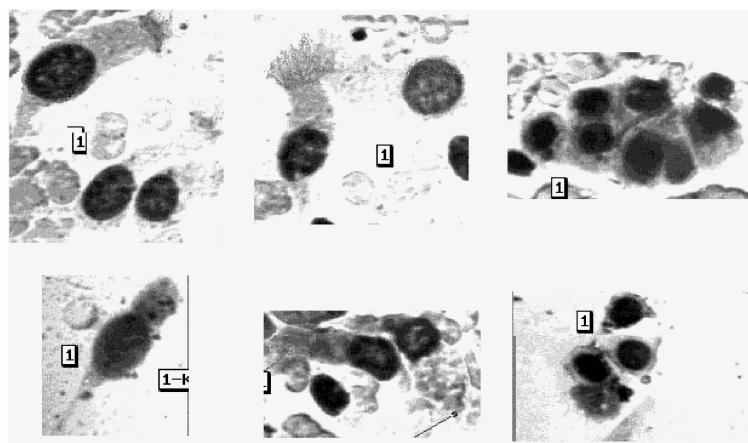


Рис. 3.10. Клітини циліндричного (війчастого) епітелію трахеї.  
Світлова мікроскопія, фарбування азур-еозиновою сумішшю, об. 20x, 40x

### ***3.3.2. Епітелій шлунково-кишкового тракту***

Шлунково-кишковий тракт покриває:

- 1) рот, носоглотку, стравохід —** незроговілий багатошаровий плоский епітелій;
- 2) шлунок, слизову оболонку тонкого та товстого кишечника, жовчний міхур, жовчні протоки, протоки підшлункової залози —** одношаровий однорядний циліндричний епітелій (відрізняється між собою лише кількістю келихоподібних клітин);
- 3) жовчні протоки печінки —** одношаровий однорядний кубічний епітелій;
- 4) пряму кишку —** одношаровий однорядний низький циліндричний (призматичний) епітелій з наявністю келихоподібних клітин, нижче аноректальної лінії — незроговілий багатошаровий плоский епітелій, який більше до зовнішнього отвору переходить у зроговілий багатошаровий плоский епітелій.

### ***3.3.3. Епітелій сечостатевої системи***

- 1. Нирки —** одношаровий однорядний кубічний епітелій.
- 2. Ниркова миска, сечоводи, сечовий міхур —** переходний епітелій.
- 3. Уретра жіноча —** незроговілий багатошаровий плоский епітелій, подібний до епітелію піхви.
- 4. Уретра чоловіча —** в частині pars prostatica — переходний епітелій, pars membranacea — одношаровий багаторядний циліндричний, pars cavernosa — одношаровий однорядний циліндричний, після впадання бульбуретральних залоз переходить знову в багаторядний циліндричний епітелій, а починаючи з fossa navicularis — незроговілий багатошаровий плоский епітелій.

Нирки — парний орган, який майже суцільно складається з епітеліальних елементів, серед яких розташовані тоненькі шари мезенхімної тканини. У нирках розрізняють епітеліальні клітини 3-х видів:

1) великі світлі канальцеві клітини, розміром 20-25 мкм, з гомогенною цитоплазмою, вакуолізація якої є ознакою дегенерації: вони мають прямокутну форму, нечіткі контури, ядра округлі, рідко — овальної форми. Дані клітини подібні до гепатоцитів і домінують у кількісному відношенні;

2) великі зернисті клітини, в їх цитоплазмі містяться включен-

ня — продукти, які підлягають видаленню з організму. Дані клітини вистилають канальцевий аппарат нирки;

3) канальцеві клітини — клітини малих розмірів (15-18 мкм), трапляються у вигляді скучень, цитоплазма в них базофільна у вигляді синтиціальних утворень, іноді містить включення.

### ***3.3.4. Жіночі статеві органи***

**1. Фалlopієві труби, матка, цервікальний канал** — одношаровий багаторядний циліндричний епітелій.

**2. Піхва** — незроговілий багатошаровий плоский епітелій.

## **3.4. ЗАЛОЗИСТИЙ ЕПІТЕЛІЙ**

Основною функцією залозистого епітелію є обмін речовин між організмом і зовнішнім середовищем. Якщо видільна функція клітин є основна, то такий епітелій належить до залозистого.

Залоза — орган, головними функціями якого є вироблення і виділення характерних для даної залози речовин. Залози діляться на залози внутрішньої та зовнішньої секреції.

До залоз внутрішньої секреції належать підшлункова, щитовидна, паращитовидна, надніркова залози та гіпофіз.

До залоз зовнішньої секреції належать нирки, потові, сальні, молочні залози та частково слінні залози травної системи, у тому числі і печінка.

Залози за своєю будовою та формою діляться на одноклітинні і багатоклітинні.

Найбільш поширеною формою одноклітинної залози є келихоподібна клітина. Келихоподібні клітини виділяють слизовий секрет, що містить муцин, і розташовані, головним чином, в епітелії слизових оболонок. Найбільш характерним місцем їх розташування є дихальні шляхи і кишечник. Келихоподібна клітина має форму келиха і складається з тіла, заповненого секретом, і ніжки, в якій є цитоплазма та ядро.

Одноклітинні залози, які зібрани в групи і знаходяться всередині епітеліального шару, утворюють залозисте поле (наприклад слизова оболонка шлунка, ендометрій).

За характером вивідного протоку залози зовнішньої секреції розга-

лужуються на прості (трубчасті, альвеолярні) і складні, вивідний проток яких галузиться (наприклад молочна, слинна залози, печінка).

Печінка — найбільша залоза, яка бере участь в обміні білків, жирів та вуглеводів. Печінка покрита Глісоновою капсулою, що, проникаючи до середини печінки, поділяє її на часточки. Часточка — функціональна одиниця печінки, має шестигранну форму і складається з блоків (2-х рядів печінкових клітин), між якими є протока, куди і впадає жовч. Жовч виробляється печінковими клітинами — гепатоцитами.

Гепатоцити — клітини, в основному, однорідні, розмірами 20-30 мкм, неправильної багатокутної форми із чіткими контурами. Ядра округлі, 6-8 мкм, мають одне ядерце, часто ядра розташовані ексцентрично. 20% клітин — двоядерні. Цитоплазма клітин іноді вакуолізована, містить включення жиру, гемосидерину, білірубіну, при фарбуванні азуром здається гомогенною.

Клітини епітелію жовчних протоків і жовчний міхур покриті циліндричним однорядним одношаровим епітелієм. Клітини мають вигляд високих неправильно циліндричних або призматичних клітин. Ядра округлі, розташовані у базальних відділах клітини. Клітини по морфології нагадують келихоподібні.

### 3.5. ТКАНИНИ ВНУТРІШньОГО СЕРЕДОВИЩА

#### 3.5.1. Кров

Кров — вид тканини, що складається з рідкої плазми та суспензованих (завислих) у ній формених елементів.

Плазма являє собою досить в'язку рідину, що містить у розчині різноманітні речовини — білки (сироватковий альбумін, сироватковий глобулін, фібриноген), ферменти, вуглеводи, жири, амінокислоти, мінеральні солі. Осмотичний тиск крові людини відповідає 0,9% розчину повареної солі. До формених елементів крові належать еритроцити, лейкоцити, тромбоцити.

Еритроцити — без'ядерні клітини, що являють собою двогнутий диск правильної округлої форми розміром 7,2-7,5 мкм. До складу еритроцитів входить близько 60% води та 40% сухого залишку, який складається на 95% з гемоглобіну та 5% — інші речовини. Гемоглобін ( $Hb$ ), що міститься в еритроцитах, є дихальним пігментом, належить до білків групи хромопротеїдів і містить залізо.

Лейкоцити — це клітини крові округлої форми, що містять ядро, розмірами від 7 до 20 мкм і підрозділяються на дві великі групи — гранулоцити (зернисті) і агранулоцити (рис. 3.11). Клітини гранулоцитарного ряду (зернисті) залежно від особливостей зернистості діляться на нейтрофіли, еозинофіли, базофіли.

Нейтрофіли — клітини розміром 7-12 мкм із дрібною зернистістю в цитоплазмі, що однаково забарвлюється оксифільними і базофільними барвниками, зернистість рожева або рожево-фіолетова.

Еозинофіли — клітини із зернистістю сферичної форми, зерна мають одинаковий розмір (нагадують кетову ікру), розташовані в один ряд; зернистість забарвлюється кислими барвниками в червоно-жовтогарячий колір.

Базофіли — клітини, в цитоплазмі яких міститься зернистість різного розміру (від пиловидної до значної) і форми; розташовується ця зернистість і на ядрі, і на цитоплазмі, і може виходити за межі клітин. Зернистість базофільна, брудно-синього кольору.

Ядра гранулоцитів можуть мати різноманітну форму від вигнутої палочковидної до сегментованого, поділеного на декілька ділянок, з'єднаних перемичками. Зміна ядер є проявом диференціювання клітин периферійної крові. Чим більш сегментовано ядро, тим клітина старіше. Гранулоцити є спеціалізованими формами клітин і не спроможні до розмноження.

**Клітини агранулоцитарного ряду — лімфоцити, моноцити і плазмоцити.**

**Лімфоцити** — зрілі клітини периферійної крові з ядром круглої, овальної, бобовидної форми та з цитоплазмою базофільних тонів у вигляді обідка. У деяких лімфоцитах є зернистість у вигляді достатньо великих круглих гранул. Розрізняють лімфоцити: великі (у тому числі широкоплазмені, розміром до 14 мкм), середні і малі (розміром до 7-9 мкм).

**Моноцити** — малодиференційовані клітини крові з великою цитоплазмою блідно-блакитного кольору, великим ядром округлої або овальної форми, що розташоване ексцентрично. Розміри моноциту коливаються від 12 до 20 мкм. Моноцити належать до фагоцитуючих макрофагів, а тому в їх цитоплазмі можуть трапляються включення.

**Плазмоцити** — клітини овальної форми з ексцентрично розташованим ядром та цитоплазмою інтенсивно блакитних тонів. У плазмоцитах добре виражена перинуклеарна зона, мають місце вакуолі, які можуть бути як у цитоплазмі, так і в ядрі.

**Тромбоцити, або кров'яні пластинки,** (рис. 3.12) — клітини крові, що мають вигляд двоопуклої лінзи діаметром 1,5-3,5 мкм. Родоначальником цих клітин є гігантська клітина кісткового мозку.

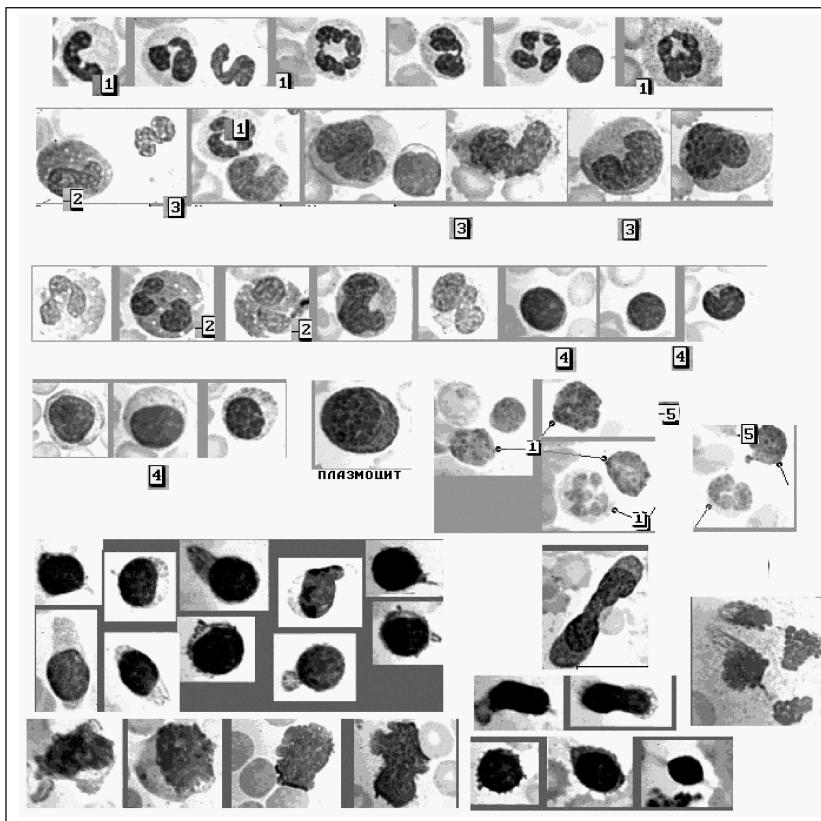


Рис. 3.11. Клітинні елементи периферійної крові  
(світлова мікроскопія. Фарбування азур-еозиновою сумішшю, об. 40х)  
1 — нейтрофіли; 2 — еозинофіли; 3 — моноцити; 4 — лімфоцити; 5 — базофіли.  
Останні три ряди — атипові форми лімфоцитів

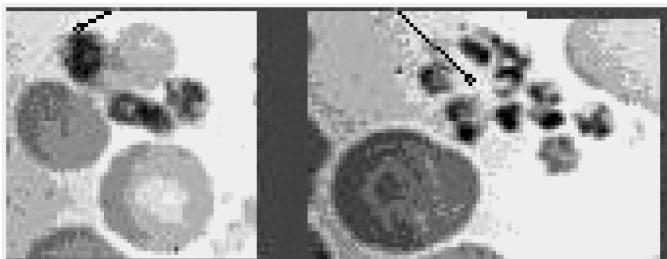


Рис. 3.12. Тромбоцити крові (світловий мікроскоп, об.90х)

### ***3.5.2. Лімфа***

**Лімфа** — вид тканини, що складається з плазми (близької за складом до плазми крові) і клітинних елементів, в основному клітин лейкоцитів агранулоцитарного ряду (великі та середні лімфоцити і моноцити).

## **3.6. СПОЛУЧНА ТКАНИНА**

Сполучна тканина складається з міжклітинної речовини і клітинних елементів: фібробластів, гістіоцитів, плазмоцитів, адвентиціальних, пігментних та жирових клітин. Міжклітинна речовина представлена колагеновими, еластичними, ретикуліновими волокнами та аморфною основною речовиною (рис. 3.13). Найбільш характерними клітинними елементами сполучної тканини є фібробласти — клітини овоїдно-відростчастої форми, відростки яких розташовані з обох або з однієї сторони ядра та мають нечіткі межі. Ядра їх мають овоїдну або овоїдно-подовжену форму, рівні чіткі контури, розташовані в цитоплазмі центрально (рис. 3.14).

Серед сполучної тканини особливе місце займає ендотелій судин — шар плоских витягнутих клітин, які утворюють кровоносні та лімфатичні капіляри (рис. 3.15).

При ушкодженні шкіри та нижче розташованих тканин у цитологічних препаратах можуть зустрічатися жирові клітини — клітини великих розмірів (до 120 мкм), мають вигляд шароподібних пухирців, наповнених жиром, ядра клітин відтиснуті до периферії. Якщо

знайдене скупчення жирових клітин у сполучній тканині, і воно має дольчату будову, то говорять про жирову тканину (рис. 3.16). В організмі людини жирова тканина відіграє резервну і механічну роль, створюючи м'які підстилки в деяких органах. У шкірі жирова тканина називається підшкірною жировою клітковиною.

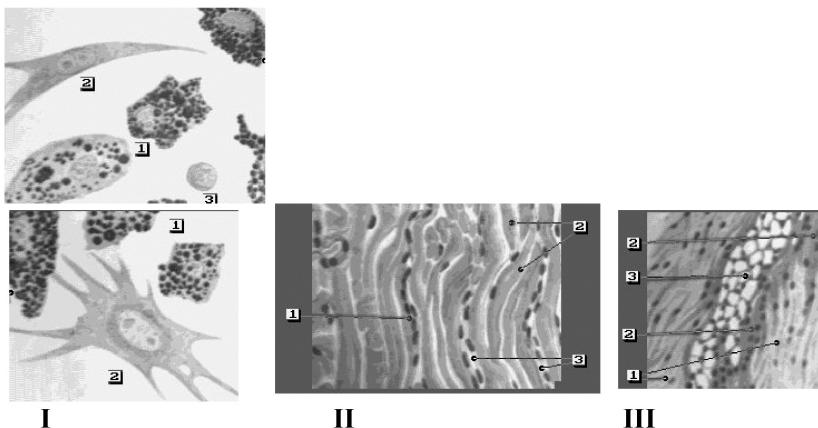


Рис. 3.13. Типи сполучної тканини  
(схематичне зображення за І. В. Алмазовим та Л. С. Сутуловим [1],  
фарбування гематоксилін-еозином, об. 20x, об. 60x)

**I — Клітини пухкої волокнистої сполучної тканини:** 1. Макрофаги; 2. Фібробласти; 3. Лімфоцит

**II — Неоформленена щільна волокниста сполучна тканина:** 1. Ядра фіброцитів; 2. Пучки колагенових волокон; 3. Пухка сполучна тканина

**III — Еластична сполучна тканина:** 1. Пучки еластичних волокон; 2. Прошарок пухкої сполучної тканини; 3. Жирова тканина

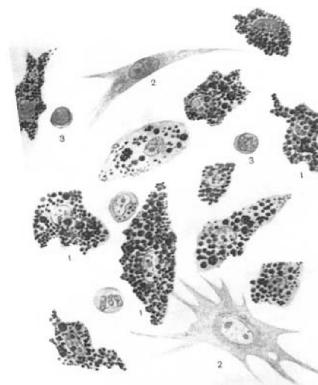


Рис. 3.14. Накопичення фарби (трипанової сині) в макрофагах пухкої волокнистої сполучної тканини. Світлова мікроскопія, об. 60х.

1 — макрофаги; 2 — фібробласти; 3 — лімфоцити

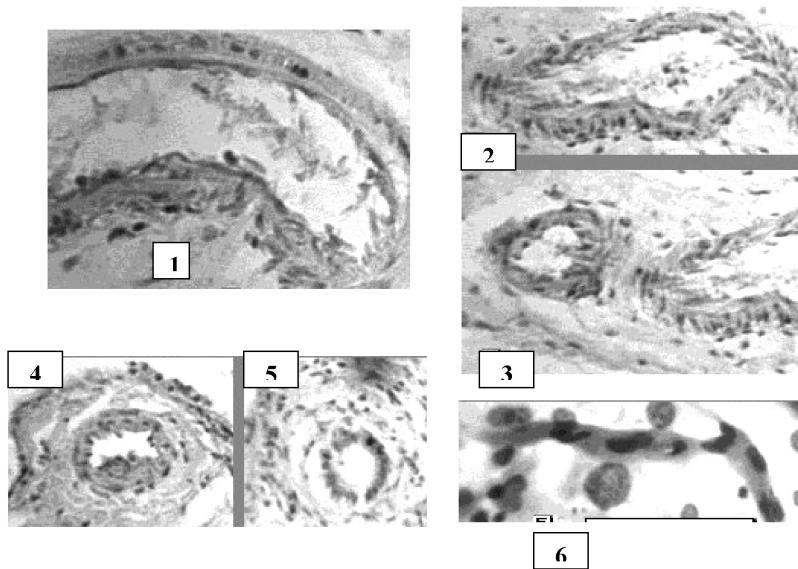


Рис. 3.15. Типи судин

1-5 — гістологічні препарати (фарбування гематоксилін-еозином, об. 20х, 40х, наведено за атласом І. В. Алмазова та Л. С. Сутулова [1]); 1-3 — вени; 4,5 — артерії; 6 — цитологічний препарат капіляра (фарбування азур-еозиновою сумішшю, світлова мікроскопія, об. 40х)

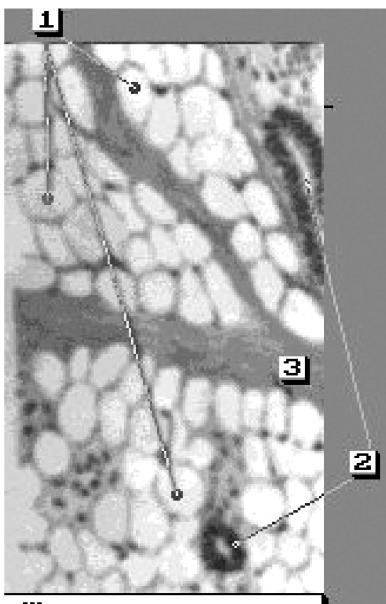


Рис. 3.16. Жирова тканина підшкірної клітковини (схема)  
1. Жирові клітини; 2. Вивідні протоки потової залози; 3. Сполучна тканина

### 3.7. КІСТКОВА ТКАНИНА

Кісткова тканина — особлива форма сполучної тканини, у міжклітинній речовині якої є порожнини, сполучені кістковими каналцями. У цих порожнинах лежать кісткові клітини — остеоцити (клітини відростчатої форми). До складу кісткової тканини також входять ос-теобласти та остеокласти (рис. 3.17).

**Остеобласти** — одноядерні клітини, що нагадують плазматичні, мають різну форму, є попередниками остеоцитів.

**Остеокласти** — багатоядерні клітини, розмірами 30–60 мкм, відростчатої форми, ядра круглі, овальні, компактні, містять ядерце. У цитоплазмі клітин помітна зернистість червоного кольору.

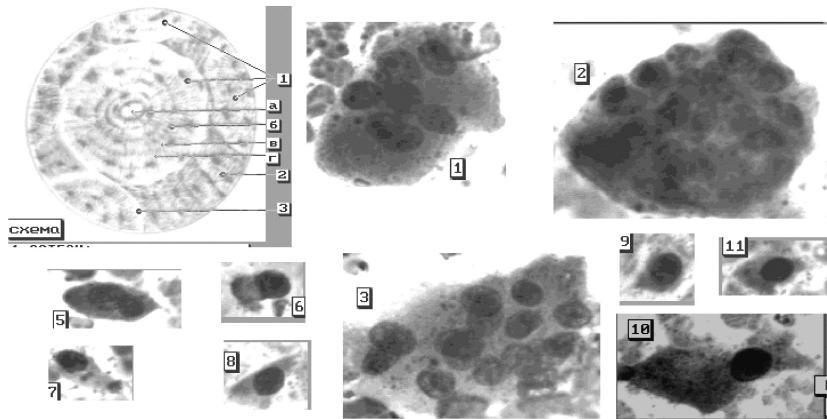


Рис. 3.17. Схема будови трубчастої кістки та цитологічні препарати

**Схема остеона:** 1 — остеон; а) гаверсів канал; б) пластинка остеону; в) кісткові порожнини; г) кісткові канальні;

**1-11 — цитологічні препарати:** 1-3 — остеокласти; 4-11 — остеобласти (світловий мікроскоп, об. 20х, 40х, фарбування азур-еозиновою сумішшю); 2 — Вставна система пластинок; 3 — Спайна лінія

### 3.8. ХРЯЩОВА ТКАНИНА

Хрящова тканина складається з великої кількості основної міжклітинної речовини, в якій в особливих порожнінах розташовуються хрящові клітини (поодинці або групами) (рис. 3.18). Клітини містять світле кругле ядро і мають округлу, овальну, трикутну, веретеноподібну форму. У цитоплазмі часто у вигляді включень є жир і глікоген. Дані клітини є диференційованими і часто не спроможні до мітотичного розподілу.

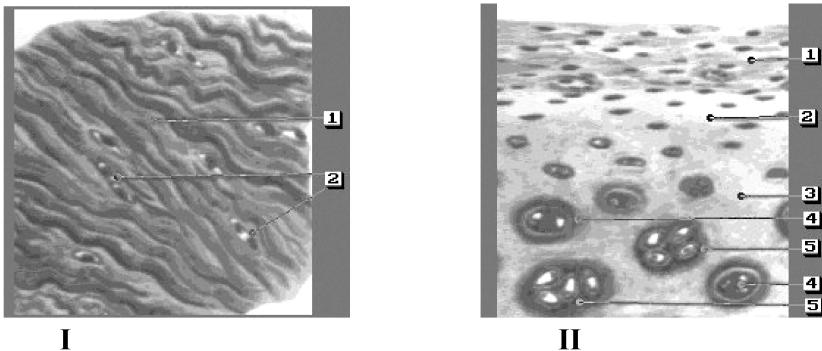


Рис. 3.18. Хрящова тканина (схематичне зображення хрящової тканини, фарбування гематоксилін-еозином, об.20х, наведено за І. В. Алмазовим та Л. С. Сутуловим [1])

I — **Волокнистий хрящ**; 1. Пучки колагенових волокон; 2. Хрящові клітини;  
 II — **Гіаліновий хрящ**: 1. Надхрящниця; 2. Зона хряща з молодими хрящовими клітинами; 3. Основна речовина; 4. Високодиференційовані хрящові клітини; 5. Ізогенні групи хрящових клітин

### 3.9. ТКАНИНИ СПЕЦІАЛІЗОВАНІ

#### *3.9.1. М'язова тканина ділиться на непосмуговану та посмуговану або скелетну (рис. 3.19).*

**Непосмугована м'язова тканина:** форма клітин — веретеноподібна, середні розміри клітин від 60 до 100 мкм, ядра розташовані центрально, мають подовжену форму, їх цитоплазма гомогенна. При фазово-контрастній мікроскопії у цитоплазмі м'язових клітин виявляються дрібні пиловидні гранули, які в ультрафіолетових променях мають жовтуватий колір. Непосмуговані м'язові волокна входять до складу всіх внутрішніх органів. На знаряддях травми при пошкодженні внутрішніх органів трапляється рідко.

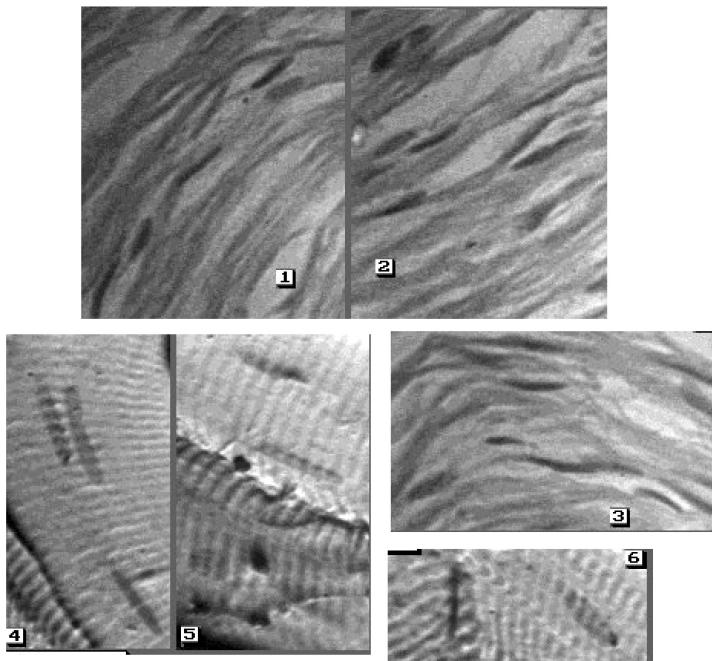


Рис. 3.19. М'язова тканина. Цитологічні проепарати.  
Світлова мікроскопія, фарбування азур-еозиновою сумішшю, об. 40х.  
1-3 — Непосмугована м'язова тканина; 4-6 — Посмугована м'язова тканина (скелетна)

**Посмугована** м'язова тканина являє собою симпласт у вигляді волокон циліндричної форми з поперечною посмугованістю. Ядра клітин мають овоїдну або подовжену форму, розташовані периферично — під оболонкою. Посмуговані м'язи утворюють скелетну мускулатуру. Посмуговані м'язові волокна трапляються на знарядях травми, але під дією зовнішнього середовища поперечна посмугованість може зникати.

**Посмугована сердечна м'язова тканина** (рис. 3.20) складається з кардіоміоцитів. Ці клітини мають вигляд циліндрів, які об'єднуються своїми кінцями і утворюють волокна. У місці з'єднання клітин є вставочні диски, які на препаратах мають вигляд темних смуг. У кожній клітині є два і більше ядер.

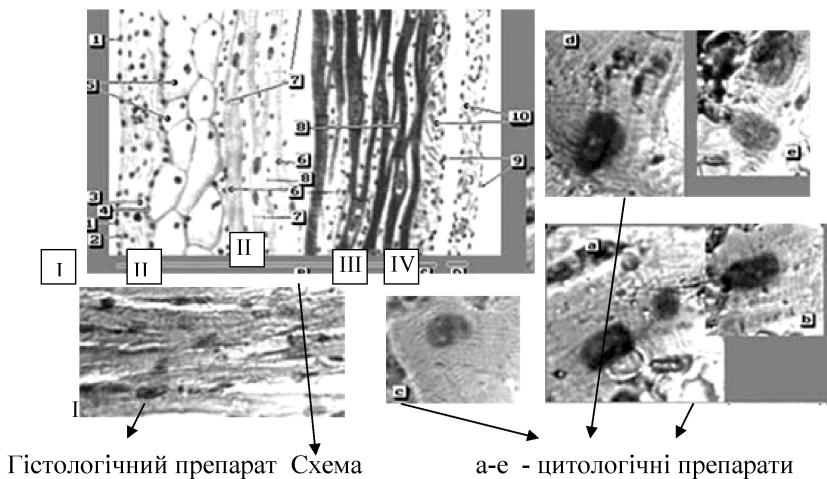


Рис. 3.20. М'язова тканина серця.

Схематичне зображення будови серця наведено за І. В. Алмазовим та Л. С. Сутуловим [1]. Цитологічні препарати. Фарбування гематоксилін-еозином, об. 40х.

Світлова мікроскопія. Фарбування азур-еозиновою сумішшю, об. 90х.

**I — Ендокард:** 1. Ендотелій; 2. Субендотеліальний шар; 3. М'язово-еластичний шар; 4. Зовнішній сполучнотканинний шар

**II — Міокард:** 5. Волокна Пуркін'є; 6. Типові міоцити; 7. Вставні диски; 8. Сполучна тканина.

**III — Епікард:** 9. Ендотелій; 10. Власна пластинка епікарда.

**IV — Перикард:** 9. Ендотелій; 10. Власна пластинка епікарда

### 3.9.2. Нервова тканина складається з нервових клітин і нейроглії

При ідентифікації клітин нервової тканини для цитолога найбільше значення мають нейрони.

Нейрони — нервові клітини відростчастої форми, розмірами до 130 мкм можуть мати багато відростків (мультиполлярні), два відростки (біполлярні) або один відросток (уніполлярні). Нейрони, як правило, містять одне велике ядро округлої форми, розташоване центрально. Структура ядра чітко помітна при фарбуванні флюорохромами акридинового ряду (акридиновим оранжевим). При цьому межа клітин не

контурується, цитоплазма — у вигляді грубих глибок червоного кольору, ядро “строкате”, з великим ядерцем округлої форми червоного кольору (рис. 3.21).

Нейроглія складається з великої кількості клітин, які виконують такі функції, як функція опори, розмежувальна, трофічна, секреторну.

У препараті клітини глії мають вид “голих” ядер округлої або овальної форми, дрібних та середніх розмірів, подібні лімфоцитам (рис. 9.12; 9.13).

До специфічних фарбувань нервової тканини належать фарбування нигрозіном, імпрегнація сріблом, фарбування за Ніслем.

## Розділ 4

---

# ОСНОВИ МІКРОСКОПІЧНОЇ ТЕХНІКИ.

## ВІДИ МІКРОСКОПІЙ

### **4.1. ВІДИ МІКРОСКОПІЙ ТА МІКРОСКОПІВ**

Мікроскоп (гр. mikros — малий, skopein — розглядати, спостерігати) — оптичний інструмент для вивчення малих предметів, недоступних вивченю неозброєним оком. Око дослідника може розрізнати одну дрібну частинку від іншої, якщо вони відстоють одна від одної на відстані  $>= 80$  мкм. Оптичний мікроскоп дає можливість роздивитися структуру, якщо відстань між елементами становить 0,25 мкм, електронний мікроскоп — при відстані порядку 0,01-0,1 нм.

Простий мікроскоп — це такий прилад, в якому оптика складається з лупи або об'єктива, який застосовується без окуляра. Зображення при цьому — пряме та уявне.

Складний мікроскоп (рис. 4.1) — це прилад, де спостереження об'єкта здійснюється за допомогою складної оптичної системи, яка складається з об'єктива та окуляра. Зображення — перевернуте, зворотне, уявне.

Оптична мікроскопія — це сукупність методів вивчення мікрооб'єктів за допомогою різноманітних оптичних приладів. Ці методи залежать від типу об'єктива мікроскопа, допоміжних пристосувань до нього, виду мікрооб'єкта та засобу підготовання його для вивчення. За характером освітлення об'єкта при дослідженні розрізняють світлову, люмінесцентну, фазово-контрастну, поляризаційну та електронну мікроскопію.

Із часу винаходу мікроскопа його конструкція зазнавала істотних змін. Крім мікроскопів спеціального призначення (поляризаційний, ультрафіолетовий, електронний і т.д.) існує багато типів мікроскопів для медичних і біологічних досліджень. Серед них — стереоскопічні мікроскопи для препарувальних робіт, наприклад “МБС-1”, “МБС-9”, або мікроскопи біологічні для робіт зі значним збільшенням, наприклад серії “БІОЛАМ” (Р-11, Р15, Р-17 та інші), або серії ЕС “БІМАМ” (Р-11, Р-13, Р-31 та інш.).

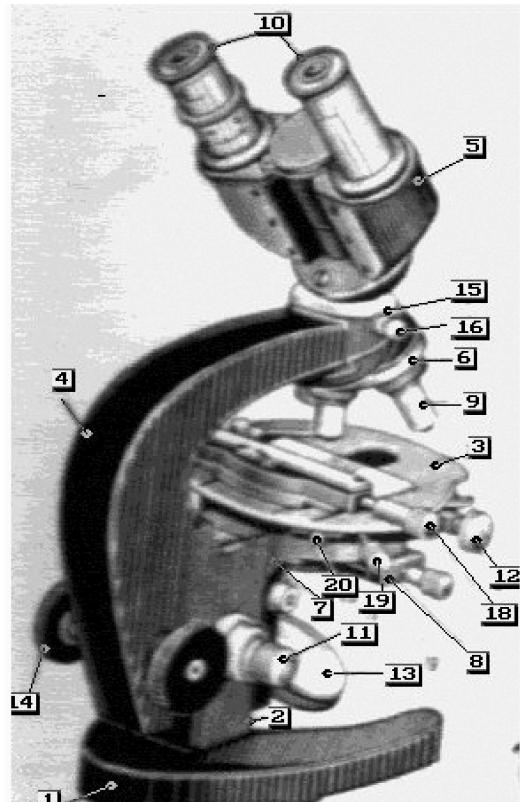


Рис. 4.1. Мікроскоп біологічний

1. Ніжка або башмак;
2. Коробка з механізмом;
3. Предметний столик;
4. Тубусотримач;
5. Бінокулярна насадка;
6. Револьвер на положках;
7. Кронштейн конденсора;
8. Апланатичний конденсор;
9. Об'єктив;
10. Окуляр;
11. Баранчик мікромеханізмів верхньої частини предметного;
- 12,18. Баранчики руху препараторного столика проводу;
13. Дзеркало;
14. Баранчик грубого руху тубуса;
15. Голівка для кріплення револьвера з посадочним гніздом для зміни тубуса;
16. Гвинт кріплення бінокулярної насадки;
19. Центрковуючі гвинти столика;
20. Голівка фіксуючого гвинта

Люмінесцентна (флюоресцентна) мікроскопія — це вид мікроскопії, який заснований на використанні власної (первинної) або наведеної (повторної) фотolumінесценції, що збуджується короткохвильовою (блакитно-фіолетовою) частиною видимого спектра або

ультрафіолетовими променями. Спроможні до люмінесценції ділянки препарату поглинають збудливе світло і випромінюють, як правило, світло з більшою довжиною хвилі. Довжина хвилі (колір люмінесценції) залежить від хімічної структури і фізико-хімічного стану тієї речовини, яка люмінесціює. Для люмінесцентної мікроскопії необхідні люмінесцентні мікроскопи, світофільтри і барвники, які викликають люмінесценцію.

Люмінесцентний мікроскоп — це звичайний біологічний мікроскоп, який обладнаний джерелом інтенсивного ультрафіолетового світла і світофільтрами, одні з яких поміщають перед джерелом світла для виділення ультрафіолетової і блакитно-фіолетової частини спектра (фільтри пропускні), а інші знаходяться в тубусі або окулярі для відсікання збудливого світла (замикаючі фільтри). Останні пропускають лише люмінесцентне світіння. Збудливе світло падає на поверхню препарату через об'єктив мікроскопа.

## 4.2. ОПТИЧНІ ЧАСТИНИ МІКРОСКОПА

Сучасний мікроскоп складається з оптичних вузлів.

**1. Освітлювальний апарат Аббе** — дзеркало, ірис-діафрагма, конденсор.

Дзеркало має дві посеребрені поверхні — плоску й увігнуту і може обертатися у двох взаємоперпендикулярних напрямках.

Конденсор складається з декількох лінз, вмонтованих у спеціальну оправу. Конденсор являє собою світлосильний короткофокусний об'єктив, у фокусі якого збираються промені світла, відбиті дзеркалом. Світлосила конденсора залежить від кількості лінз. Конденсори бувають таких типів — ОІ-14, ПК-1, конденсори темного поля та інші. ОІ-14 — апланатичний конденсор, в якому усунутий ряд оптичних аберрацій. ПК-1 — панкратичний конденсор із перемінною апертурою.

Ірис-діафрагма (апертурна) розташовується між дзеркалом і конденсором. Ступенем її розкриття регулюється апертура (світлосила) конденсора, яка завжди повинна бути трохи менше апертури об'єктива, який використовується. Ірис-діафрагма може зміщатися убік від оптичної осі, чим досягається ефект косого освітлення.

**2. Об'єктиви** — система взаємно центрованих лінз, властивості яких, їх взаємна відстань заздалегідь обчислені для кожного об'єкти-

ва. Зовнішня (передня) найменша лінза називається фронтальною. Зображення об'єкта, що подається цією лінзою, страждає рядом аберрацій, які усуваються корекційними лінзами, що розташовані вище. Об'єктиви для досліджень у світлі, що проходить, розраховані на застосування покривних стекол; об'єктиви для дослідження у світлі, що падає, — для препаратів без покривних стекол.

Об'єктиви можуть бути апохромати, ахромати, планахромати та дзеркальні.

Кожний об'єктив характеризується власним збільшенням, фокусною відстанню, чисельною апертурою і деякими іншими константами. Власне збільшення об'єктива залежить від передньої фокусної відстані, за якою об'єктиви діляться на сильні ( $f=1,5\text{--}3,0$  мм), середньої сили ( $f=3,5$  мм та  $f=5\text{--}12$  мм), слабкі ( $f=12\text{--}25$  мм) і дуже слабкі ( $f>25$  мм). Чисельна апертура об'єктивів і конденсорів визначається добутком синуса половини відкритого кута, під котрим об'єкт "бачить" вхідні зініці об'єктива і фронт лінзи конденсора, на показник переломлення середовища ( $n$ ), замкненого між цими двома оптичними системами ( $A=nsin(a/2)$ ). Якщо цим середовищем є шари повітря, то при силі показника переломлення повітря, рівного одиниці, чисельна апертура "сухих" систем практично не може бути вище 0,95. Для того, щоб її підвищити, об'єктив і конденсор занурюють у середовище (вода, гліцерин, імерсійна олія), показник переломлення якого більше повітря.

Об'єктиви апохромати використовуються разом зі спеціально розрахованими компенсаційними окулярами, які виправляють дефекти об'єктива, які не можна усунути. Сильні ахроматичні об'єктиви також застосовують у комбінації з компенсаційними окулярами. При роботі зі слабкими ахроматичними об'єктивами використовують окуляри Гойгенса.

**3. Окуляри** — збільшуюча оптична система, через яку розглядається дійсне зображення об'єкта, яке було побудоване об'єктивом. З різноманітних систем окулярів найбільше поширені окуляри Гойгенса і Рамсдена. Система лінз окуляра вмонтована в оправи, угвинчені в трубки, що входять в окулярний патрубок тубуса.

Окуляр Гойгенса — це негативний окуляр, що складається з двох плосковипуклих лінз, повернених опуклими сторонами до падаючих променів і розділених повітряним простором.

### 4.3. ХІД ПРОМЕНІВ СВІТЛА В МІКРОСКОПІ

Промені, що виходять із джерела світла та відбиваються дзеркалом, направляються до конденсора, що збирає їх у своєму фокусі. При цьому будується дійсне, сильно зменшене зображення джерела світла в площині об'єкта. Промені світла, зібрани конденсором, потрапляють на препарат у вигляді конуса, вершина якого звернена до об'єкта. Пройшовши через аналізований ділянку препаратору, промені знову розходяться у вигляді конуса, геометрично подібного першому, повертаному розтрубом до об'єктива. Об'єктив буде дійсне зображення джерела світла у своїй задній фокальній площині, яка звичайно збігається із задньою лінзою об'єктива, а дійсне зображення аналізованого об'єкта буде зберігатися на рівні діафрагми окуляра, яка розташована у передній фокальній площині його очної лінзи.

Відстань між задньою фокальною площинами об'єктива і передньою фокальною площинами окуляра називається оптичною довжиною тубуса. Окуляр перетворює збіжні промені на паралельні, що входять в око через зіницю.

**Поле зору** — освітлене коло, яке ми бачимо, коли дивимося в мікроскоп, звичайно опукле, тому не можна одночасно у фокусі побачити центр і периферію. Це явище може бути виправлене при фотографуванні за допомогою спеціальних негативних лінз-томалей. При візуальному спостереженні кривизна поля зору не суттєва, тому що корегується спостерігачем за допомогою мікрометричного гвинта. Компенсаційні окуляри дають більш криве поле, ніж інші окуляри. Об'єктиви планахромати дають плоске поле зору.

**Дозволяюча сила мікроскопа**, тобто його спроможність показати роздільно дві тісно розташовані точки, а також кількість світла, що збирається ним, залежить від т.зв. нумеричної (чисельної) апертури конденсора та об'єктива, і виводиться з їхньої кутової апертури і коефіцієнта переломлення середовища, через яке проходять світлові промені на шляху від конденсора до об'єктива. Теоретично дозволяюча сила світлового мікроскопа дорівнює 0,2 мкм.

#### **4.4. МІКРОСКОПІЧНА ТЕХНІКА І ПРАВИЛА РОБОТИ З МІКРОСКОПАМИ**

Мікроскоп необхідно оберігати від пилу, для чого потрібно його накривати ковпаком. Чищення окулярів і об'єктивів треба робити м'якою чистою ганчіркою (батист, бавовна). Бруд із поверхні очної лінзи окуляра видаляють чистим ватним тампоном, змоченим 96° спиртом, потім протирають сухим ватним тампоном (окуляри розгвинчувати не можна). При чищенні об'єктивів рекомендують користуватися гумовою грушою для видалення з поверхні лінз твердих часток. Бруд, що осів на задню зовнішню лінзу об'єктива видаляють м'якою щіточкою або сухим ватним тампоном. Розгвинчувати об'єктив не рекомендується. Бруд із фронтальної лінзи об'єктива, видаляють м'якою, зволоженою марлею. Олію з поверхні лінз імерсійних об'єктивів видаляють сухою м'якою ганчіркою, залишки олії на фланці і частинах оправи об'єктива — бензином або ксилолом.

Обережно! Бензин і ксилол є розчинниками клею, за допомогою якого утримується лінза в гнізді.

Чищення механічних частин мікроскопа варто обмежити загальним видаленням пилу. Забруднену поверхню столика можна промити спиртом або ксилолом.

При тривалій мікроскопії з великими збільшеннями варто користуватися штучним джерелом світла.

Бажано, щоб робоче місце розташовувалося на віддалі від вікна і яскравих ламп, краще в напівзатемненому приміщенні.

Не варто користуватися надто яскравою освітленістю поля (подразнюється сітківка ока, звужується зіниця).

При проведенні цитологічних досліджень потрібно використовувати бінокулярний тубус, що менше стомлює зір.

#### **4.5. ОСНОВНІ ПОМИЛКИ ПРИ РОБОТИ З МІКРОСКОПОМ**

1. Увігнутим дзеркалом можна користуватися тільки для освітлення значної ділянки препарату, попередньо видаливши конденсор. Працюючи з конденсором, варто постійно застосовувати тільки плоске дзеркало, незалежно від характеру джерела світла.

2. Яскравість поля повинна регулюватися або введенням в оп-

тичний шлях нейтрального фільтра, що послабляє силу світла джерела, або (що є більш практичним, але гіршим щодо змін колірної температури джерела) регулюванням ступеня накалу лампи реостатом. Не можна для зменшення яскравості поля довільно опускати конденсор або змінювати апертуру конденсора за допомогою ірисової діафрагми.

За допомогою ірисової діафрагми потрібно змінювати апертуру конденсора до 9/10 або 2/3 апертури об'єктива, що забезпечує усунення розсіяного світла і дає потрібну контрастність зображення.

3. Неприпустимо застосовувати при мікроскопії предметні стекла товщиною більше 1,1-1,4 мм. Загальновідомо, що застосування товстого предметного стекла не дає можливості досліджувати препарат за допомогою сильного короткофокусного імерсійного об'єктива, робоча відстань якого менше товщини покривного скла. Часто спроба зфокусувати об'єкт веде до руйнування об'єктива.

## 4.6. СЛОВНИК

**Апертура** — діючий отвір оптичного приладу, зумовлений розмірами лінз або діафрагмами.

**Апертурна діафрагма** — діафрагма, яка найбільше обмежує площу світлового пучка на виході із системи.

**Апохромат** — об'єктив, у якому усунута сферична аберрація, а хроматична — мала.

**Ахромат** — об'єктив, у якому усунута хроматична аберрація.

**Діафрагма (в оптиці)** — непрозора перепона, що обмежує світлові пучки в оптичних системах.

**Дзеркальний об'єктив** — дзеркально-лінзова система, у якій зображення створюється відбиваючими поверхнями (дзеркалами) і лінзами. У порівнянні з лінзовими оптичними системами таких же розмірів дає більше збільшення.

**Оптична аберрація** — викривлення зображення, яке викликане неідеальністю оптичної системи, зображення не цілком чітке, не цілком точно відповідає об'єкту або його кольору (при фарбуванні).

**Оптична сила** — величина, що характеризує заломлювану спроможність лінзи або системи лінз, вимірюється в діоптриях, обернена фокусній відстані в метрах.

**Планахромат** — об'єктив, що дає плоске поле зображення.

**Показник заломлення** — відношення синуса кута падіння променів до синуса кута заломлення.

**Заломлення світла** — зміна напрямку розповсюдження світла при проходженні через межу поділу двох прозорих середовищ.

**Світлосила** — відношення освітленості зображення, утворюваного оптичною системою до яскравості зображеного предмета, пропорційна квадрату відносного отвору оптичної системи.

**Фокус (в оптиці)** — точка, в якій збирається паралельний пучок світлових променів, які пройшли через оптичну систему. Якщо пучок паралельний оптичній осі системи, то фокус також лежить на осі і називається головним.

**Фокусна відстань** — відстань від головного фокуса лінзи або оптичного дзеркала до їх оптичного центру. Від фокусної відстані залежить збільшення системи, світлосила та ін.

## Розділ 5

# ТЕХНІКА ПРИГОТУВАННЯ ЦИТОЛОГІЧНИХ ПРЕПАРАТІВ

### **5.1. ПОШУК СЛІДІВ БІОЛОГІЧНОГО ПОХОДЖЕННЯ НА РЕЧОВИХ ДОКАЗАХ ТА ПІДГОТОВКА МАТЕРІАЛУ ДЛЯ ПРИГОТУВАННЯ ЦИТОЛОГІЧНИХ ПРЕПАРАТІВ**

Речові докази, доставлені на дослідження, спочатку оглядають візуально при сонячному свіtlі, відмічаючи ділянки зі слідами, підозрілими на кров, виділення та інші сліди біологічного походження. При дослідженні мікронакладень на знарядях травми, у піднігтівому вмісті рук проводять стереомікроскопію (мікроскоп типу МБС, збільшення 32x). При цьому, у випадку виявлення текстильних волокон, їх вилучають, поміщають на предметне скло під покривне в краплю суміші гліцерину та дистильованої води (1:1). Краї покривного скла обробляють парафіном, препарат маркують тушшю і передають слідчому. При огляді під стереомікроскопом можуть бути виявлені фрагменти волосся, які також передаються слідчому. Подальше їх дослідження може бути проведено у відділенні судово-медичної імунології.

Для виявлення слідів виділень (недопалки, одяг) пропонується огляд речових доказів здійснювати в затемненому приміщенні в ультрафіолетових променях за допомогою лампи типу КД-33Л. Під дією ультрафіолетових променів сліди виділень утворюють білувато-блакитну флюоресценцію, що допомагає вилучити ці сліди. Якщо виявлені сліди розташовані на предметах, що складаються з декількох прошарків текстильної тканини, для приготування цитологічних препаратів переважно використовують поверхневий шар тканини і, при можливості, із різних ділянок плями.

Для максимального витягу клітинних елементів зі слідів на речових доказах оптимальними є розчини оцтової кислоти різної концентрації від 0,5% до 25%. Можна також використовувати дистильовану воду. Концентрація розчину оцтової кислоти, яка використовується для витягу клітин, залежить від предмета дослідження і давнини утворення слідів.

Так для “свіжих” слідів виділень та крові (до 2-х місяців) застосовують 10% розчин оцтової кислоти, при більш старих плямах — 15%

розчин, для приготування препарату при встановленні статевої належності волосся і мікрочастинок тканини — 25% розчин оцтової кислоти. Екстрагування клітин проводять при кімнатній температурі, і час екстрагування вибирає експерт залежно від характеру об'єкта дослідження: “свіжі” плями крові і видіlenь — 1 доба; “старі” — 2-3 доби; волосся, мікрошматочки тканини — залежно від візуально помітного набрякання (30-40 хвилин і більше).

У зв'язку з тим, що в теперешній час дедалі частіше кінцевим етапом дослідження речових доказів є аналіз ДНК слідів біологічного походження, перед цитологами постає завдання зберігти біоматеріал для подальшого дослідження. З цією метою рекомендуються такі особливості вилучення біологічних об'єктів:

- а) при дослідженні мікронакладень на знаряддях травми обов'язково частина зіскобу або змиву з перенесеним об'єктом дослідження залишається та висушується;
- б) при дослідженні недопалків сигарет частина фільтра сигарети або папіросного паперу, на якому при огляді в ультрафіолетових променях відмічалось блакитне світіння, вирізається та залишається без дослідження;
- в) якщо на наявність піхвового епітелію досліджується одяг підозрюваного у згвалтуванні, то обов'язково залишається 1/3-1/4 частина плями, яка досліджується. Такий же підхід виконується при дослідженні змива зі статевого члена підозрюваного. Якщо ж об'єктом дослідження є мазки-відбитки зі статевого члена, то 1/3 марлі, на яку був зроблений змив із предметних стекол, відрізається, висушується та залишається без дослідження;

г) при дослідженні піdnітьового вмісту рук нігтів зрізи після їх огляду під стереомікроскопом поміщають до пробірки, заливають дистильованою водою та витримуються 18-24 години в холодильнику. Потім зрізи видаляють, а вміст пробірок центрифугують при 1500 об/хв. упродовж 5 хвилин. Надосадову рідину використовують для визначення наявності крові, виду білка та групи крові, а осад, який залишився в пробірках, збовтують у 2-4 краплях фізіологічного розчину, переносять на нитки стерильної марлі або у вигляді краплі на предметне скло, потім висушують, упаковують та опечатують. Саме цей матеріал і використовується для ДНК-аналізу. Осад, який залишився після вищезазначеної процедури, заливають оцтовою кислотою і використовують для подальшого цитологічного дослідження.

Матеріал, відібраний вищевказаними способами для подальшого

медико-генетичного дослідження, упаковують, опечатують, підписують і разом із “Висновком експерта” та речовими доказами передають слідчому, про що обов’язково повинна бути вказівка у супровідному документі і в журналі реєстрації. Слідчий при отриманні експертизи розписується в “Журналі реєстрації експертиз” про отримання “Висновку експерта”, речових доказів та біологічного матеріалу для можливих молекулярно-генетичних досліджень.

## 5.2. СПОСОБИ ПРИГОТУВАННЯ ЦИТОЛОГІЧНИХ ПРЕПАРАТІВ

### *5.2.1. Способи приготування цитологічних препаратів залежно від матеріалу предмета-носія:*

**а)** При розташуванні плям крові і видіlenь на тканинах та інших гігроскопічних предметах-носіях — шматочки предмета-носія зі слідами досліджуваного матеріалу (кров, виділення) переносять у центрифужну пробірку і заливають 10-15% розчином оцтової кислоти (залежно від давнини утворення слідів) в такій кількості, щоб розчин цілком покривав досліджуваний об’єкт, після чого пробірку закривають ватною пробкою і залишають на 18-24 години при кімнатній температурі. Після екстрагування предмет-носій витягають, вміст пробірки центрифугують при 1500 об/хв упродовж 5 хвилин. Надосадову рідину видаляють пастерівською піпеткою, залишаючи над осадом невеличкий прошарок рідини.

Якщо рідина при екстрагуванні слідів крові, забарвлена в коричневий колір, то в пробірку додають нову порцію розчину оцтової кислоти, осад збовтують і знову центрифугують. Цей прийом повторюють доти, поки прошарок рідини над осадом не стане безбарвним.

Якщо цитологічні препарати готують зі слідів видіlenь, осад ресуспензують 2-3 рази в нових порціях оцтової кислоти. Це необхідно для видалення білка, який може перешкоджати подальшому дослідженню препарату. Так при фарбуванні на Y-хроматин наявність білка створює яскраво світлий фон, а при виявленні антigenів ізосерологічної системи АВО за допомогою реакції “змішаної” аглютинації наявність білка може викликати прилипання еритроцитів до предметного скла, що ускладнює оцінку результатів реакції.

Збільшити вихід клітинних елементів із плям крові і видіlenь можна шляхом струшування вмісту пробірок з об’єктами вручну або за

допомогою магнітної мішалки. Після останнього центрифугування вмісту пробірки надосадову рідину видаляють, залишаючи невеличку її кількість, потім перемішують з осадом тонкою пастерівською піпеткою та поміщають на предметне скло у вигляді краплі діаметром не більш 1 см. Звичайно готують 2-3 цитологічні препарати. За наявності значного осаду, його розводять у більшій кількості надосадової рідини і готують більшу кількість препаратів, що допомагає зменшити ступінь їх забруднення. Препарати висушують при кімнатній температурі на віддалі від джерел тепла і прямого сонячного випромінювання.

При роботі із сильно забрудненими речовими доказами цитологічні препарати після підсихання оглядають під стереомікроскопом та вилучають препарувальною голкою сторонні домішки великих розмірів.

Маркування препарату проводять тушшю або спеціальними маркером по склу, а потім покривають полістиролом або липкою стрічкою із вказівкою номера експертизи, номера об'єкта, номера препарату та року виконання експертизи.

б) При розташуванні слідів крові і виділень на твердих поверхнях (метал, скло й ін.), тобто предметах-носіях, які не вбирають рідину, існує декілька способів приготування цитологічних препаратів:

- зіскоби за допомогою скальпеля;
- змиви нитками стерильної марлі, зволоженими оцтовою кислотою (частіше 10% її розчином) або дистильованою водою;
- змиви-зіскоби шляхом нанесення краплі оцтової кислоти визначененої концентрації на досліджувану пляму і наступного зіскоблювання кінцем пастерівської піпетки або скальпелем.

Зіскоби, змиви і змиви-зіскоби потім поміщають у центрифужну пробірку з розчином оцтової кислоти. Подальші етапи приготування цитологічного препарату аналогічні вищеписаному.

Примітка. Якщо досліджуваний об'єкт знаходиться на дерев'яній необробленій поверхні, то краще вирізувати частину дерева з плямою, а не робити зіскоб плями чи її змив.

### *5.2.2. Приготування цитологічних препаратів із волосся*

Для визначення статевої належності придатні життєздатні вирвані волосини, тобто волосини, які мають зовнішню кореневу піхву (рис. 5.1).

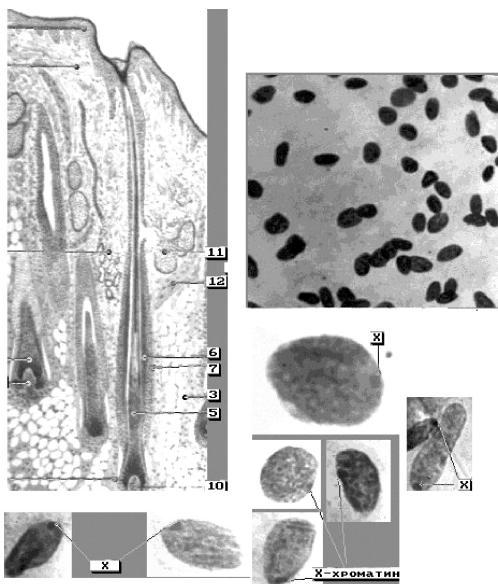


Рис. 5.1. Будова волосини.

Цитологічні препарати волосся (світловий мікроскоп, фарбування азур-еозиновою сумішшю, об.20х, 90х).

#### Шкіра волосяної частини голови (схема)

1. Епідерміс;
2. Дерма;
3. Підшкірна клітковина;
4. Потова залоза;
5. Корінь волосини;
6. Внутрішня коренева піхва;
7. Зовнішня коренева піхва;
8. Сумка волосини;
9. Фолікул волосини;
10. Верхівка волосини;
11. Сальна залоза;
12. М'яз-підйимач волосини

Для приготування препаратів кореневий кінець волосини поміщають на предметне скло в краплю 25% розчину оцтової кислоти і витримують у вологій камері, спостерігаючи за допомогою стереомікроскопа за набряканням зовнішньої кореневої піхви волосся. Подальше приготування препаратів можливе двома способами:

— волосину з набухлою зовнішньою кореневою піхвою протягують по предметному стеклу, одержуючи при цьому слід у вигляді дощинки;

— під контролем стереомікроскопа набухлу зовнішню кореневу піхву волосини відокремлюють препарувальними голками від волосини, яку після цього видаляють із препарату, а кореневу піхву подрібнюють на предметному склі.

### *5.2.3. Приготування цитологічних препаратів із висохлих часток тканин, виявлених на знаряддях травми*

Характерними ознаками мікрочасток тканин біологічного походження є їх колір (вони або безбарвні або пофарбовані в жовтуваті і бурі тони) і наявність сального блиску. Способи приготування цитологічних препаратів із таких частинок у значній мірі залежать від розмірів висохлих частинок.

При наявності частинок, видимих неозброєним оком (їх розміри перевищують  $0,2 \times 0,2$  см), з метою встановлення їх органо-тканинної належності досліджуваний матеріал ділиться на 2 частини, одну з яких використовують для приготування гістологічних препаратів, а другу — для приготування цитологічних препаратів. Останні можуть бути приготовлені за допомогою одного із нижче вказаних способів.

При наявності мікрочасток, які видимі під стереомікроскопом (розміром до 1 мм і менше), виявлені частки препарувальною голкою під контролем стереомікроскопа переносять на предметне скло в краплю 25% розчину оцтової кислоти. Препарат витримують у вологій камері, спостерігаючи за набряканням. Якщо набрякання мікрочасток значне і розміри їх достатні, готують цитологічні препарати у вигляді мазків-відбитків. Із цією метою набухлі частинки прикладають до знежирених предметних стекол, злегка притискаючи до скла. При цьому необхідно приготувати декілька препаратів, тому що кількість неушкоджених клітин у них може бути різною.

При достатньому набряканні мікрочасток в оцтовій кислоті з них можна приготувати клітинну суспензію. З цією метою мікрочастинки із невеличкою кількістю оцтової кислоти переносять у порцелянову ступку, де розтирають до одержання однорідної маси. До отриманої гомогенної суспензії додають 10-15% розчин оцтової кислоти, перемішують і у вигляді крапель наносять на предметні стекла. Якщо мікрочастинки дуже малі, клітинну суспензію готують безпосередньо на предметному склі, додавши декілька крапель оцтової кислоти.

Ще одним варіантом приготування цитологічних препаратів із мікрочастин біологічного походження є приготування давлених препаратів. Для цього набухлі в оцтовій кислоті мікрочастинки поміщають між двома предметними стеклами, притискають їх, немовби роздавлюючи клітини. Предметні стекла затискають скріпками та залишають на 1 добу при кімнатній температурі. Потім стекла роз'єднують і одержують 2 тонкі препарати.

Треба також пам'ятати, що при роботі з висохлими мікрочастинками біологічного походження рекомендують готовувати цитологічні препарати декількома можливими способами і в якомога більшій кількості.

У тих випадках, коли при стереомікроскопії знарядь травми мікронакладання не виявляються, робиться змив із травмуючої поверхні досліджуваного предмета. Для цього марлевим тампоном, злегка зволоженим дистильованою водою або 10% розчином оцтової кислоти обтирають зазначені поверхні. Тампон поміщають до пробірки з оцтової кислотою і лишають на 1 добу при кімнатній температурі, після чого видаляють предмет-носій та готовують цитологічні препарати одним із вищеперелічених способів. Особливості приготування цитологічних препаратів залежно від типу тканини наведено в таблиці №5.1.

Таблиця 5.1

**Особливості приготування цитологічних препаратів із висохлих частинок біологічного походження**

Ознаки, які виявляються після обробки оцтовою кислотою	Ознаки, які виявляються під час приготування препаратів	Припустимі типи та види тканин	Рекомендовані способи приготування цитологічних препаратів
пласт білий, матовий, з волосинами теж саме, крім волосся	м'який, непружний, легко віddіляється, розпадається на дрібні білі пластівці ті ж ознаки, тільки пластівці непрозорі	епітеліальна, епідерміс епітеліальна	клітинна суспензія клітинна суспензія, мазки-відбитки
набухлі тяжі, буруваті, напівпрозорі	еластичні, легко розділяються вздовж на більш тонкі волокна	м'язова	клітинна суспензія давлені препарати
білі матові частинки сильно набухлі	м'які непружні, легко подрібнюються	нервова	мазки-відбитки клітинна суспензія давлені препарати
набухлі тяжі, жовтуваті, прозорі	еластичні, розділяються з певним зусиллям	сполучна	клітинна суспензія давлені препарати

Ознаки, які виявляються після обробки оцтовою кислотою	Ознаки, які виявляються під час приготування препаратів	Припустимі типи та види тканин	Рекомендовані способи приготування цитологічних препаратів
частинки білі або жовтуваті, набухлі	пружні, ріжуться та подрібнюються з зусиллям	хрящова	клітинна сусpenзія давлені препарати
злегка набухлі частинки, бурі, жовті, непрозорі	тверді, ріжуться та подрібнюються з великим зусиллям	кісткова	клітинна сусpenзія давлені препарати

#### *5.2.4. Приготування цитологічних препаратів із частин розчленованого трупа*

Для приготування цитологічних препаратів із частин розчленованого трупа відбирають ділянки тканин, які розташовані більш глибоко і які, як правило, менше піддаються процесам гниття. У випадку обгорілого трупа об'єктами дослідження можуть бути м'язи опорно-рухового апарату та тканини різних внутрішніх органів. Препарати готовяться у вигляді мазків-відбитків, клітинної сусpenзії або давлених препаратів. Якщо частинки, що досліджуються, м'які і мають виражені слідоутворюючі особливості (епітеліальна тканина, паренхіматозні органи), то слід робити або мазки-відбитки, або клітинну сусpenзію; якщо це шкіра, м'язи або сполучна тканина, то слід робити давлені препарати або клітинну сусpenзію.

Є деякі особливості приготування цитологічних препаратів із кісток. Вони полягають у такому: фрагмент кістки поміщають на 15-20 хвилин (до розм'якшення) в декальцинуючу рідину, яка складається з 15 мл азотної кислоти, 85мл 5% водного формаліну та 5 г оцтового калію. Потім м'які шматочки промивають у проточній воді упродовж 1 години та готовують препарати у вигляді клітинної сусpenзії.

Варіанти приготування препаратів наведені на поданій схемі (рис. 5.2).

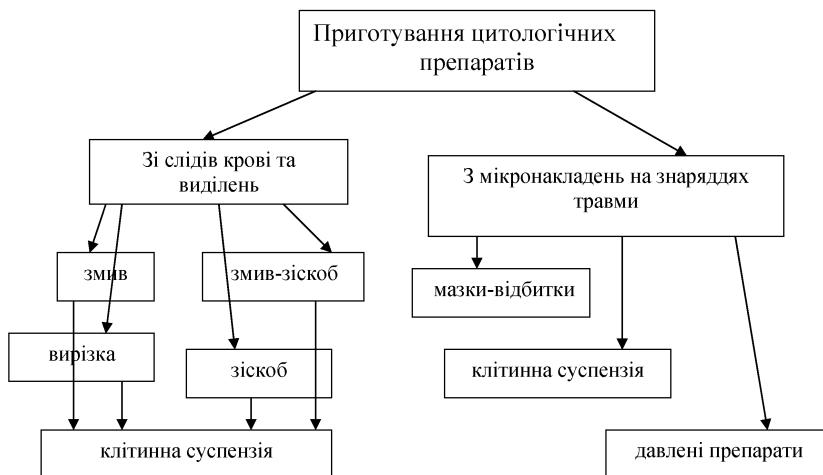


Рис. 5.2. Варіанти приготування цитологічних препаратів із біоматеріалу у слідах на речових доказах

### 5.3. ОБРОБКА ЛАБОРАТОРНОГО ПОСУДУ

Для приготування цитологічних препаратів використовують найбільш тонкі предметні стекла без подряпин, які спочатку витримують у розчині, 1 л якого складається з 240 мл 30% пергідролю, 755 мл води та 5 г прального порошку типу “Лотос” (можна використовувати розчин, приготовлений із гірчичного порошку). Потім предметні стекла промивають проточною водою, дистильованою водою, обробляють етиловим спиртом, витирають бавовняною тканиною насухо. Зберігають стекла, як предметні, так і покривні, у суміші Никифорова (суміш рівної кількості етанолу та ефіру).

У ряді лабораторій застосовують такий спосіб обробки предметних стекол: після видалення забруднень, стекла миють синтетичним миючим засобом, промивають проточною водою, завантажують у хромпік. До складу хромпіка входить двохромовокислий калій — 100 г, гаряча вода — 1000 мл, концентрована сірчана кислота — 100 мл. Спочатку двохромовокислий калій розчиняють у гарячій воді, охолоджують, потім обов’язково у витяжній шафі у розчин тонким струмочком

додають сірчану кислоту. Свіжоприготовлений розчин повинен мати червоно-коричневий колір. Якщо при використанні розчин набуває зеленуватого кольору — він не придатний для роботи. Після хром-піку стекла промивають спочатку проточною, потім дистильованою водою, висушують та зберігають у суміші Никифорова.

Предметні стекла з експертним матеріалом зберігають в архіві протягом 3-х років. Для цитологічних досліджень ці стекла повторно не використовують.

Інший скляний посуд (пробірки, піпетки, колби) замочують у вищевказаному розчині, миють за допомогою йоршка, промивають проточною, а потім дистильованою водою, обробляють спиртом та стерилізують у сушильній шафі.

## Розділ 6

# МЕТОДИ ФАРБУВАННЯ ПРЕПАРАТІВ ПРИ ПРОВЕДЕННІ СУДОВО-ЦИТОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

### 6.1. ЗАГАЛЬНІ ВИМОГИ ДО ФАРБУВАННЯ ПРЕПАРАТІВ

Одним із перших етапів фарбування цитологічних препаратів є їх фіксація, яка необхідна для закріплення і збереження структури клітини.

Вимоги до фіксуючих рідин:

- а) повинні швидко проникати в тканини і клітини;
- б) не викликати глибоких порушень структури клітин.

**До фіксуючих рідин належать:**

**Формалін.** Позитивними його якостями є високий ступінь дифузії, здатність до збереження форми клітин і їх структури, тривалість фіксуючої дії.

Недоліки — здатність до надмірної ущільненості об'єкта та утворення кристалічного осаду. У силу цих причин при фарбуванні цитологічних препаратів формалін не використовується.

**Етиловий спирт.** Діє шляхом відіbrання води і коагуляції білків. Викликає швидку фіксацію, зберігає глікоген, муцин і ін. Недоліком його дії є зморщення клітин за рахунок швидкого відіbrання води, розчинення жирів і гемоглобіну.

**Метиловий спирт.** Найкращий фіксатор для мазків і цитологічних препаратів.

**Ацетон.** Може бути замінником спирту. Найкращий фіксуючий ефект досягається при змішуванні ацетону і спирту у співвідношенні 1:1.

**Суміш Карнуа:** 60 мл етанолу, 10 мл крижаної оцтової кислоти і 30 мл хлороформу.

**Суміш Никифорова:** суміш ефіру і етилового спирту у співвідношенні 1:1.

Вимоги до барвників:

- барвник повинен бути прозорим, для чого його необхідно періодично фільтрувати;

- водяні розчини барвника готуються тільки на дистильованій воді;
- краще користуватися барвниками низької концентрації, які діють упродовж тривалого часу;
- кращим методом фарбування препаратів основними барвниками є регресивний, коли спочатку проводиться перефарбування препаратів, а потім відмивання його слабким розчином оцтової кислоти (1мл 1% розчину оцтової кислоти на 100 мл дистильованої води).

## **6.2. ФАРБУВАННЯ ПРЕПАРАТІВ ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ Y-ХРОМАТИНУ**

Фарбниками для виявлення Y-хроматину є флюорохроми акрихінового ряду — акрихін, атебрин, квінакриндихлорид, мепакрин, акрихиніприт, пропілакрихініприт (ПАІ).

### ***6.2.1. Фарбування препаратів за М. В. Одинцовим***

Метод фарбування препаратів за М.В. Одинцовим [50] набув най-більше поширення у практиці відділень судово-медичної цитології. Етапи фарбування за названим методом такі:

- фіксація препаратів сумішшю рівних кількостей ацетону і етилового спирту протягом 10 хвилин;
- фарбування препаратів шляхом занурення в розчин флюорохрому на час, який встановлюється дослідним шляхом для кожного барвника при використанні контрольних зразків bucalного епітелію і крові. Розчини барвників готуються на дистильованій воді або фосфатному буфері pH-6,0. Коливання концентрацій — від 0,5% (акрихін, атебрин, мепакрин) до 0,005% (квінакриндихлорид, пропілакрихініприт, акрихініприт);
- промивання препаратів у проточній воді протягом 5-10 секунд;
- заключення препаратів під покривні стекла в суміш (1:1) гліцерину і фосфатного буфера pH-6,0 (приготування фосфатного буфера див. в примітці<sup>a</sup>). Надлишки суміші видаляються фільтрувальним папером;
- мікроскопія препаратів упадаючих ультрафіолетових променях за допомогою люмінесцентного мікроскопа (сила струму 4,5A, максимум пропускання променів 400 нм, окуляри 4x або 5x, об'єктив 90x,

власне збільшення бінокулярної насадки 1,1х; імерсійне середовище — нефлюорисціюча олія).

**Примітка:** а) Приготування фосфатного буферу з pH=5,4-8,0 слід виконувати відповідно до таблиці 6.1.

Таблиця 6.1  
Умови приготування фосфатного буферу з pH=5,4-8,0

pH при +18°C	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	pH при +18°C	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>
5,4	96,9	3,1	6,8	50,0	50,0
5,6	95,0	5,0	7,0	39,0	61,0
5,8	92,0	8,0	7,2	28,0	72,0
6,0	88,0	12,0	7,4	19,0	80,8
6,2	81,0	18,0	7,6	13,0	87,0
6,4	73,8	26,0	7,8	8,5	91,5
6,6	64,0	36,0	8,0	5,5	94,5

б) Підбір часу фарбування препаратів проводиться на контрольних зразках, які готують зі слідів слизу і крові та фарбують з інтервалом: 30 секунд — 1 хвилина. Орієнтовний час фарбування препаратів такими барвниками, як атебрин, акрихін, мепакрин — для bukalного епітелію 10-15 хвилин, для крові — до 10 хвилин; барвниками ПАІ, квінакриндихлоридом, акрихініпритом — для bukalного епітелію — 2-3 хвилини, для крові — 1-2 хв.

в) При дослідженні експертного матеріалу рекомендується провести перевірку роботи мікроскопа і барвника за допомогою контролючого препарату, приготовленого з біологічного матеріалу, аналогічного досліджуваному.

### **6.2.2. Методика фарбування пропілакрихініпритом (надається по інструкції щодо реактиву ПАІ у рідкому стані)**

#### **Підготовка барвника.**

Вищезазначений барвник поставляється у розчиненому вигляді у запаяніх ампулах ємністю 15 мл. Для приготування робочого розчину барвника вміст ампули розчиняють у 100 мл цитратно-фосфатного буферу. Даний робочий розчин зберігається в склянці з темного скла з притертвою пробкою при температурі побутового холодильника.

#### **Етапи фарбування:**

— фіксація: 96% спиртом — 8 хв, 60% спиртом (53 мл спирту +37 мл

дистильованої води) — 2 хв. і 30% спиртом (32 мл спирту + 68мл дистильованої води) — 2 хв.;

- промивання дистильованою водою протягом 1 хвилини;
- занурення препаратів у цитратно-фосфатний буфер рН-6,8 (приготування буфера див. в примітці) на 15 хвилин;
- фарбування ПАІ — 8 хвилин (для свіжих мазків крові 1-3 хв.);
- промивання дистильваною водою протягом 30 с;
- нанесення на препарати цитратно-фосфатного буфера на 1-4 хв.;
- заключення препарату під покривне скло в буфер або суміш (1:1) фосфатного буфера та гліцерину. Надлишок рідини видаляється, краї покривного скла запаються рідким парафіном;
- мікроскопія впадаючих ультрафіолетових променях з об'єктивом 90х або без покривного скла з об'єктивом водяної імерсії 60х. До дослідження пофарбовані препарати можна зберігати в холодильнику.

**Примітка.** Приготування цитратно-фосфатного буфера: 1г  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  розчиняють в 100 мл дистильованої води і доводять під контролем рН-метра до pH 6,6-6,8 за допомогою 50% розчину лимонної кислоти.

## 6.3. ФАРБУВАННЯ ПРЕПАРАТІВ ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ Х-ХРОМАТИНУ

### 6.3.1. *Фарбування азур-еозиновою сумішшю*

#### **Етапи фарбування:**

- фіксація метиловим спиртом — 10 хвилин;
- гідроліз 5% розчином соляної кислоти — 20 хвилин (при дослідженні виділень та клітин різних тканин людини);
- фарбування азур-еозиновою сумішшю — 30 хвилин;
- промивання проточною водою і диференціація препаратів підкисленою водою — 2-3 с;
- ополаскування препаратів дистильованою водою pH-7,0 — 7,4;
- підсушування препаратів;
- мікроскопія у прохідному світлі (світловий мікроскоп, окуляри 8x, об'єктиви 10x, 20x, 90x, імерсійне середовище — імерсійна олія).

**Примітка.** Азур-еозинова суміш готується перед застосуванням з 2-х основних розчинів: до 1 частини еозину додають 3,5 частини дистильованої води pH-7,0-7,4, а потім 1,5 частини розчину азуру II. Інгредієнти обережно змішуються. Фарба повинна мати темно-фіолетовий колір.

Готування основних розчинів:

а) розчин азур II — 1,0 г азуру II розчиняють у 1 л окропу дистильованої води. Основний розчин азуру II до використання його для фарбування препаратів повинен бути витриманий протягом 2-х тижнів;

б) розчин еозину — 1 г еозину Na або K розчиняють у 1 л окропу дистильованої води. Розчини зберігаються окремо в посуді з темного скла. Барвники у вигляді основних розчинів мають необмежену стійкість;

в) барвник Романовського-Гімзи — це готова азур-еозинова суміш. Робочий розчин готується ех tempore шляхом розведення дистильованою водою у співвідношенні 1:10. Треба памятати, що ця суміш може утворювати осад при фарбуванні, особливо влітку;

г) підкислена вода — на 100 мл дистильованої води додають 1 мл 1% розчину оцтової кислоти;

д) 5% розчин соляної кислоти готується з відповідного фіксаналу;

ж) дистильвана вода з pH=7,0-7,4. Її готують, додаючи до 300 мл дистильованої води пастерівською піпеткою 2-3 краплі 10% розчину їдкого натру. Воду зберігають у холодильнику та застосовують протягом 1-2-х тижнів.

### ***6.3.2. Фарбування метиленовим синім***

На підсушений препарат наносять 1-2 краплі 1% водного розчину метиленового синього і накривають покривним склом. Через 1-2 хвилини препарат промивають дистильованою водою до знебарвлення. З цією метою на один край мазка наносять 1-2 краплі дистильованої води, а до іншого підносять фільтрувальний папір. Препарат підсушують та досліджують під мікроскопом.

## **6.4. ЦИТОХІМІЧНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ**

### ***6.4.1. Фарбування флюорохромом — акридиновим оранжевим (АО)***

Ця методика використовується при визначенні органо-тканинної належності клітин. АО — метахроматичний люмінесцентний барвник, який має можливість диференційовано фарбувати ДНК і РНК-структур кіттини. Диференційоване фарбування ДНК- і РНК-структур

визначається концентрацією барвника і pH середовища. Особливістю акридинового оранжевого є здатність його існування в мономірній та димірній формі, причому мономірна форма існує в сильно розведених розчинах (при концентрації менше 0,01%), має максимум люмінесценції 530 нм (зелена частина спектра) і утворює комплекс із двоспіральними нуклеїновими кислотами та білками. Димерна форма існує в концентрованих розчинах (0,1-0,05%), має максимум люмінесценції 640 нм (червона частина спектру) і утворює комплекси з односпіральними нуклеїновими кислотами і мукополісахаридами. Двоколірне фарбування РНК- і ДНК-структур спостерігається при значеннях pH= 3,0-6,0; причому чим більше значення pH до 6,0, тим менша кількість РНК може бути виявлена (табл. 6.2). Виходячи з вищевикладеного, при фарбуванні цитологічних препаратів необхідно чітко дотримуватись методики фарбування.

**Умови фарбування РНК- і ДНК-структур**

Таблиця 6.2

pH середовища 3,0 концентрація АО менше 0,01%	pH середовища 3,0 – 6,0 концентрація АО <+ 0,01% +>	pH середовища 6,5 концентрація АО 0,05-0,1%
зелений колір	двоколірне фарбування	червоний колір

Наводимо метод фарбування, який був розроблений і модифікований співробітниками Горьківського (Нижній Новгород) обласного бюро судово-медичної експертизи під керівництвом проф. Загрядської А.П. [24]:

- фіксація етанолом — 10 хвилин;
- фарбування протягом 2-х хвилин 0,01% розчином АО, який готовують на фосфатному буфері pH 6,0;
- промивання проточною водою — 30 сек;
- диференціювання 5% розчином хлориду кальцію ( $\text{CaCl}_2$ ) протягом 30 с — 1 хвилини:

  - промивання у проточній воді протягом 1 хвилини;
  - мікроскопія впадаючих ультрафіолетових променях за допомогою люмінесцентного мікроскопа (окуляри 4x, 5x, об'єктиви водяної іммерсії 40x, 60x, власне збільшення біноміяльної насадки 1,1x і 1,6x, іммерсійне середовище — фосфатний буфер pH- 6,0).

**Примітка.** Фосфатний буфер pH-6,0 готовують згідно з таблицею 6.1.

#### **6.4.2. Виявлення глікогену в цитоплазмі клітини**

##### **A. Фарбування парами йоду (за методом Мака)**

Найбільш доступним методом фарбування препаратів на наявність глікогену в цитоплазмі клітин є окурювання препарату парами йоду.

Фарбування проводять за такою схемою:

- препарати без фіксації поміщають на 20 хвилин у чашки Петрі, на дно яких наливають розчин Люголя або 5-10% розчин йоду;
- мікроскопію препаратів проводять на світловому мікроскопі з використанням об'єктивів 10x, 20x, 40x;
- кількість глікогену в цитоплазмі клітин визначається ступенем фарбування цитоплазми у коричневий колір: “+” — світло-коричневата цитоплазма, “++” — світло-коричнева; “+++” — коричнева та “++++” — темно-коричнева.

##### **Примітка.**

1. Розчин Люголя складається з 2 г йодистого калію, який розчиняють у невеликій кількості дистильованої води, додають 1г йоду, усі це змішують та доводять дистильованою водою до мітки 300 мл.

2. Розчин йоду готують таким чином: 5 г йоду розчиняють у 50 мл 96% етилового спирту; 2 г йодистого калію розчиняють в 50 мл дистильованої води. Потім обидва розчини об'єднують.

##### **B. Фарбування флюорохромом родаміном 6G.**

Методика, запропонована А.Л.Федоровцевим [78], проводиться за такою схемою:

– фарбування протягом 10 хвилин 0,01% розчином флюорохрому родаміну 6G, приготовленому на 0,05% розчині натрію тетраборно-кислого (бури) з pH 9,1;

- промивання проточною водою та висушування;
- мікроскопія на люмінесцентному мікроскопі з об'єктивами 20x,40x і з пропускаючими фільтрами СС-15 або ФС-1;

Треба пам'ятати, що у зв'язку з тим, що у водному середовищі спостерігається інтенсивне фонове жовто-зелене світіння, об'єктиви з водою імерсією не використовуються.

При фарбуванні флюорохромом родаміном 6G цитоплазма клітин, які не містять глікоген, люменісценцію неяскравим жовтогарячим кольором, а ядра — жовтогарячо-червоним. За наявності глікогену в цитоплазмі спостерігається зелене світіння, причому, чим більше глікогену, тим яскравіша зелена люмінесценція цитоплазми.

**Примітка.** Для приготування боратного буферного розчину спочатку готують вихідний розчин бури, який складається з 19,1 г  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  на 1000мл води. Для отримання розчину з pH 9,0 необхідно до 85,0 мл вихідного розчину бури додати 15,5 мл 0,1% розчину HCl, для розчину з pH 9,2 — до 96,3 мл вихідного розчину бури додати 3,7мл 0,1% розчину HCl.

#### **6.4.3. Метод одночасного фарбування ядра та цитоплазми за Н.Г. Шалаєвим**

Метод фарбування ядра та цитоплазми за Н.Г. Шалаєвим [84] використовується для визначення глікогену в цитоплазмі та X-хроматину в ядрах клітин.

##### **Етапи фарбування:**

- фіксація метанолом (етанолом) — 10-15 хв.;
- гідроліз 5% розчином соляної кислоти протягом 30 хвилин при кімнатній температурі;
- промивання у 3-х порціях дистильованої води;
- фарбування 1% розчином толуїдинового блакитного 1-2 хв.;
- промивання дистильованою водою;
- занурення в розчин Люголя на 5 хвилин;
- промивання дистильованою водою та висушування;
- мікроскопія через 2-3 години після фарбування.

Цей проміжок часу необхідний для випаровування неспецифічно абсорбованного йоду.

**Примітка.** Барвник толуїдиновий блакитний готується таким чином: 1 г барвника розчиняють у 100 мл 50% етанолу з додаванням 1-2 мл фосфатного буфера pH=5,6-5,8. Приготування фосфатного буфера див. таблицю 6.1.

2,5% розчин соляної кислоти готують з відповідного фіксаналу для виявлення білків.

#### **6.4.4. Фарбування препаратів на виявлення білкових гранул у цитоплазмі клітин.**

**Модифікація методики за А. Л. Федоровцевим [79]:**

1. Фарбування барвником амідо-чорним 10Б (фірма “Реанал”)
  - препарати не фіксують;
  - фарбують 10 хвилин 0,05% розчином амідо-чорного 10Б, при-

готовленому на суміші Карнua (приготування суміші Карнua див. у примітці);

- промивають проточною водою 3-5 с;
- мікроскопію проводять під світловим мікроскопом, об'єктиви 10x, 20x, 90x, імерсійне середовище — імерсійна олія.

**Примітка.** Приготування розчину амідо-чорного 10Б на суміші Карнua проводять таким чином: спочатку готують 1% маточний розчин на дистильованій воді, який зберігається тривалий час. Фарбник готують перед використанням — 1 частина маточного розчину + 19 частин суміші Карнua.

2. Фарбування барвником амідо-чорним 10Б (фірма “Peaxim”):

- фіксація сумішшю Карнua — 10 хвилин;
- промивання проточною водою 10-15 с та висушування;
- фарбування 10 хвилин 0,1% розчином амідо-чорного 10Б, приготовленого на 10% розчині оцтової кислоти;
- промивання проточною водою 20-30 с;
- мікроскопія за тих же умов, що вказані вище.

3. Фарбування нігрозином

- фіксація сумішшю Карнua — 10 хвилин;
- промивання проточною водою 10-15 сек.;
- фарбування 10 хвилин 0,05% розчином нігрозину, приготовленого на 10% розчині оцтової кислоти;
- промивання проточною водою 20-30 с;
- мікроскопія за тих же умов, що вказані вище.

4. Фарбування флюoresцеїном натрію:

- фіксація сумішшю Карнua — 10 хв.;
- фарбування 10 хвилин 0,005% розчином флюoresценту натрію, приготовленого на 10% оцтовій кислоті.
- промивання проточною водою 5-10 с;
- мікроскопія на люмінесцентному мікроскопі з об'єктивом 90x, імерсійне середовище — нефлюoresциюча імерсійна олія.

**Примітка.** 1. Суміш Карнua: 60 мл етанолу, 10 мл крижаної оцтової кислоти і 30 мл хлороформу.

2. Усі вищевказані барвники добре розчинні у воді, тому використання об'єктива водяної імерсії забороняється.

## **6.5. СПЕЦІАЛЬНІ МЕТОДИ ФАРБУВАННЯ**

### ***6.5.1. Фарбування препаратів за Папаніколау у модифікації Л.К. Куниці***

Перевагами фарбування препаратів за Папаніколау у модифікації Л.К. Куниці [83] є:

- 1) добре фарбування всіх клітинних матеріалів, розташованих у тяжах слизу;
- 2) добре фарбування деталей елементів, розташованих у групах;
- 3) чітке, контрастне виявлення ацидо- і базофілії цитоплазми;
- 4) чітке виявлення особливостей структур ядра клітин;
- 5) слабке фарбування мікробної флори.

Методика фарбування:

- фіксація препаратів у суміші Никифорова — 30 хв.;
- промивання спиртом протягом 1 хвилини (спирт наливають на скло, коливають його та зливають);
- промивання водою — 2-3 хвилини (препарати поміщають у першу склянку з водою);
- нанесення гематоксиліну Бемера на 3-8 хвилин (після фарбування фарбник зливають у той же флакон через лійку з фільтром);
- промивання у воді протягом 5 хвилин (препарати поміщають у другу склянку з водою), після чого проводять контроль фарбування ядер під мікроскопом;
- диференціювання препаратів 0,5% розчином соляної кислоти протягом 1 хвилини. З цією метою препарати коливають до почервоніння, а потім розчин зливають;
- старанне промивання водою, для чого препарати поміщають у третю склянку і залишають їх на 2-5 хвилин до набуття препарatom блакитного кольору. Контроль фарбування проводять під мікроскопом;
- опускання препаратів у слабкий розчин вуглекислого літію (3 краплі концентрованого р-ну на 100 мл дистильованої води);
- промивання після літію у проточній воді;
- старанне обезводнення спиртом, для чого на препарати наливають спирт на 2 хв., а потім зливають. Цей процес повторюють 2-3 рази;
- додання розчину оранж G на скло на 1-3 хвилини, похитуючи при цьому скло, а потім розчин зливають у флакон із цією ж фарбою;

- промивання спиртом — 2 хвилини. При цьому спирт наливають на скло до стікання чистих крапель. Проводять контроль під мікроскопом;
- нанесення проміжної фарби на 2-3 хв., похитуючи при цьому скло, а потім фарбу зливають;
- змивання фарби спиртом протягом 1-3 хв. Потім проводять контроль за фарбуванням цитоплазми за допомогою мікроскопа;
- нанесення на препарат діамантової зелені на 1-2 хв., похитуючи скло, а потім фарбу зливають;
- промивання спиртом протягом 1-3 хв. та промокання препаратів фільтрувальним папером;
- нанесення ксилолу на 2 хв., похитуючи при цьому препарати до просвітлення (дивитися на чорному тлі), та заключення в бальзам під покривне скло.

**Примітка.** 1. Виконання приведеної методики потребує 10 мл спирту ректифікату 96° на 1 препарат, не враховуючи приготування барвників.

2. Приготування гематоксиліну Бемера:

- а) розчиняють 1 г гематоксиліну Бемера в 10 мл спирту 96°;
- б) для приготування розчину калієвих квасців: 8 г розчиняють у 200 мл теплої дистильованої води (вливають трохи води, квасці збовтують, а потім додають решту води);
- в) приготовлені розчини витримують добу. Наступного дня розчин квасців фільтрують, потім змішують із розчином гематоксиліну та додають декілька кристалів тимолу. Розчин залишають дозрівати на світлі в колбі з білого скла на 3 тижні, при цьому неодноразово перемішуючи скляною паличкою. Дозрілий гематоксилін зберігають у банці з темного скла.

3. Приготування вуглекислого літію. 3 краплі насиченого розчину вуглекислого літію розчиняють у 100 мл дистильованої води.

4. Приготування розчину оранж G — 0,5 г фарби оранж G розчиняють в 100 мл спирту та додають 0,02-0,05 г фосфорномолібденової кислоти. Отриманий насичений розчин готовий до використання наступного дня. (Можна повторно готувати фарбу, додаючи до осаду 100 мл спирту та фосфорномолібденової кислоти).

5. Приготування проміжної фарби. Спочатку готують водні розчини таких фарб:

- а) еозин (жовтуватий або ін.) — 0,1 г на 1 мл дистильованої води;

б) основний коричневий (бісмарк-браун) — 0,1 г на 1 мл дистильованої води;

в) діамантовий зелений — 0,05 г на 1 мл дистильованої води + 1 мл 96° спирту.

Приготовлені розчини залишають на добу, щільно закривши їх. (Можна витримувати в термостаті при +37°C).

Потім із водних розчинів готують спиртові розчини:

а) еозин жовтуватий — 1 мл водяного розчину на 200 мл спирту або якщо еозин інший, то 1 мл водяного розчину на 260 мл спирту;

б) основний коричневий — 1 мл водяного розчину на 200 мл спирту.

Для приготування проміжної фарби беруть спиртові розчини, які перед змішуванням обов'язково фільтрують у зазначеному порядку:

— еозин жовтуватий або звичайний — 84 мл спиртового розчину;

— основний коричневий — 16 мл спиртового розчину;

— фосфорномолібденова кислота — 0,17-0,30 г;

— насичений розчин вуглекислого літію — 1-2 краплі.

6. Приготування діамантової зелені: 0,5 мл водно-спиртового розчину фарбника додають до 200 мл спирту. Фарба готова для використання.

При фарбуванні вищевказаною методикою отримують такий результат.

**Гематоксилін** фарбує ядра всіх клітин у блакитно-фіолетовий колір — від світлого до темного, майже чорного. Еталоном правильного фарбування є ядра лейкоцитів, у яких повинна бути помітна тонка сітка хроматину. Мікрофлора фарбується у світло-фіолетовий колір.

**Діамантова** зелень фарбує цитоплазму клітин, для яких характерна базофілія. Цитоплазма “молодих” клітин — базальних, парабазальних та середніх шарів плоского епітелію, метаплазованого епітелію, альвеолярних макрофагів, лейкоцитів фарбується в зелений колір — від світлого зеленувато-блакитного до інтенсивно бурштинового.

**Еозин жовтуватий або інший еозин**, також як і оранж G, фарбус в жовтий колір ацидофільну цитоплазму клітин — від світло-жовтого до інтенсивно помаранчового. Зазвичай, такий колір мають клітини поверхневих шарів плоского епітелію, частина клітин метаплазованого епітелію та альвеолярних макрофагів, цитоплазма частини елементів плоскоклітинного раку при вираженому зроговінні. У жовтий колір іноді фарбується цитоплазма циліндричного епітелію, що пов’язано з дегенерацією клітин. Еритроцити фарбуються у світло-жовтий колір.

**Основний коричневий** дофарбовує ядра клітин у коричневий колір,

особливо за наявності в них дегенеративних змін. Цим фарбником дофарбовується також цитоплазма епітеліальних клітин, а саме їх ацидофільні ділянки та зерна кератогіаліну.

### ***6.5.2. Фарбування мазків секрету молочної залози за Паппенгеймом у модифікації К.І. Хижнякової***

Фарбування мазків секрету молочної залози за Паппенгеймом у модифікації К.І. Хижнякової [80] слід виконувати таким чином:

- фіксація метанолом — 5-10 хв.;
- фарбування барвником Май-Грюнвальд — 10-15 с;
- додавання такої ж кількості дистильованої води у фарбу на препарат на 10-15 с;
- злиття суміші фарби з препарату;
- фарбування протягом 10 хвилин барвником Романовського-Гімзи;
- промивання водою, висушування;
- мікроскопія за допомогою світлового мікроскопа, об'єктиви 10x, 20x, 90x.

**Примітка.** Вищезазначені барвники готуються таким чином:

- а) барвник Май-Грюнвальда: 0,25% розчин фарби на метиловому спирті;
- б) фарба Романовского-Гімзи: 30 капель фарби на 10 мл дистильованої води.

### ***6.5.3. Виявлення фуксинофільних тілець при фарбуванні за Павловським***

Виявлення фуксинофільних тілець при фарбуванні за Павловським [59] використовується для виявлення фуксинофільних тілець у цитоплазмі епітеліальних клітин при діагностуванні грипу (паталого-анатомічний діагноз грипу). Фуксинофільні тільця можуть бути виявлені в клітинах з 3-го по 7-8 день хвороби. Об'єктами дослідження можуть бути зіскоби з поверхні епітеліального шару нижньої носової раковини, трахеї, бронхів, шматочків легень у прикореневих відділах і видимих осередках ураження. Шматочки тканини попередньо підсушують фільтрувальним папером від крові.

**Хід фарбування:**

- матеріал не фіксується;

- фарбування барвним розчином від 30 с до 5 хвилин під контролем мікроскопа;
- промивання проточною водою;
- висушування фільтрувальним папером;
- мікроскопія на світловому мікроскопі.

При правильному фарбуванні ядра клітин — блакитно-фіолетові, цитоплазма бузкова, фуксінофільні включення — малиново-червоні, мікроби — блакитного кольору.

**Примітка.** Барвний розчин готується ex tempore із розчинів А і В шляхом додавання до 10 мл дистильованої води 1-2 краплі розчину А і 3-4 краплі розчину В. Суміш повинна бути блакитного кольору з фіолетовим відтінком. При правильному приготування барвного розчину на фільтрувальному папері суміш дає пляму, оточену темним обідком із рожевими променями. Якщо на фільтрувальному папері зазначений колір не досягнуто, необхідно експериментальним шляхом додавати по краплях розчини А і В.

Розчини А і В готуються таким чином.

Розчин А: 2,0 г основного фуксину розчиняють у 50 мл метанолу.

Розчин В: 2,0 г метиленового блакитного розчиняють у 50 мл метанолу. Приготовлені розчини А і В дозрівають у темному місці не менше 2 тижнів.

#### *6.5.4. Фарбування кістково-мозкової сусpenзії для встановлення давності настання смерті*

За останні роки дедалі більшого значення набувають інструментальні та лабораторні методи дослідження поствітальних процесів у різних органах та тканинах трупа, які дозволяють із високим ступенем достовірності встановлювати терміни настання смерті. Динаміка посмертних змін у кістковому мозку дозволяє визначити давність настання смерті протягом першої доби з точністю плюс/мінус 1-2 години, другої доби — плюс/мінус 3-6 годин та третьої — плюс/мінус 6-12 годин. Для визначення морфофункціонального стану ядерних клітин кісткового мозку є експрес-метод суправітального фарбування еозином клітин кісткового мозку. Зазначений метод заснований на здатності “мертвих” клітин на відміну від “життєздатних” сприймати еозин у нетоксичних концентраціях, і тому “мертві” клітини забарвлюються еозином у “рожевий” колір, а “життєздатні” клітини залишаються світлозеленими. Зі збільшен-

ням часу, що пройшов після смерті, відсоток життєздатних мієлокаріоцитів знижується.

Методика фарбування полягає в такому [17].

Краплю кістково-мозкової рідини поміщають на предметне скло з рівною кількістю 1% розчину еозину, суміш покривають покривним склом і вивчають під світловим мікроскопом (окуляри 10x, об'єктив 40x). Мікроскопію треба проводити швидко протягом 3-5 хвилин із моменту фарбування. Підраховують три рази кількість "мертвих" і "життєздатних" клітин на 100 знайдених у різних полях препарату і виводять середнє значення відсотка "життєздатних" мієлокаріоцитів. Отримані показники порівнюють із даними таблиці показників життєздатності мієлокаріоцитів залежно від давності настання смерті.

#### *6.5.5. Дослідження життєздатності клітин за допомогою тесту з трипановим синім*

Безпосередньо перед дослідженням готується розчин трипанового синього, який складається з 400 мкл 0,2% розчину трипанового синього та 100 мкл 4,25% розчину натрію хлориду. Фарбування проводиться таким чином: клітинну суспензію у вигляді краплі поміщають на предметне скло, додають 4 краплі суміші, яку приготували перед дослідженням, та залишають на 1 хвилину при кімнатній температурі. Потім отриману суміш поміщають у камеру Горяєва та проводять підрахунок життєздатних і нежиттєздатних клітин під мікроскопом. Клітини, які фарбуються трипановим блакитним у блакитний колір, є нежиттєздатними; непофарбовані клітини — життєздатні. Потім підраховують відсоток життєздатних виявлених клітин.

#### *6.5.6. Фарбування копрокультури на наявність жиру*

Одним з елементів калу є нейтральний жир, наявність якого може бути встановлена при фарбуванні барвником суданом III. Даний барвник фарбує нейтральний жир і жирні кислоти в червоний колір.

Методика фарбування.

До нативного цитологічного препарату, приготовленого зі слідів, підозрілих на кал, додають декілька крапель розчину судану III, покривають покривним склом і вивчають під світловим мікроскопом.

**Примітка.** Розчин фарби судан III складається з 10 мл 96° етило-

вого спирту, 90 мл крижаної оцтової кислоти і 2 г фарби судану III. Реактив має яскраво-червоний колір.

## 6.6. СПОСОБИ ФАРБУВАННЯ МІКРОБІВ

Способи фарбування мікроорганізмів можна розділити на 2 групи:

- орієнтоване просте фарбування;
- диференційоване фарбування.

### 6.6.1. Орієнтоване просте фарбування мікробів

Ці методи виявляють тільки морфологію мікробів і здійснюються шляхом фарбування:

- а) розведенім (1:10) фуксином протягом 10-30 с;
- б) синькою Леффлера протягом 3-10 хвилин;
- в) спирто-водним розчином метиленової синьки протягом 3-5 хвилин;
- г) водним розчином метиленової синьки протягом 5-10 хвилин.

#### Примітка.

1. Лужна метиленова синька Леффлера — стійкий розчин, який складається з 100 мл дистильованої води, 2 крапель 10% розчину KOH, 30 мл насиченого (7%) розчину метиленової синьки (або 3 г метиленової синьки), 20 мл 96° спирту етилового та 1мл 1% розчину KOH.

2. Спирто-водяний розчин метиленової синьки складається з 1 г метиленової синьки, 10 мл 96° спирту етилового та дистильованої води до 100 мл.

3. Водний розчин метиленової синьки готується так: 1 г метиленової синьки на 100 мл дистильованої води.

### 6.6.2. Диференційоване фарбування бактерій

#### А. Фарбування за Грамом [64].

За допомогою цього фарбування виявляється здатність бактерій утримувати фарбу або знебарвлюватися в спирті. Дані властивості мікробів пов'язані з їх хімічною структурою.

Для виконання фарбування за Грамом треба приготувати такі розчини:

— карболовий розчин генціанвіолету або кристалвіолету, який складається з 1 г вказаної фарби, 10 мл 96° етилового спирту, 2 г кристалічної карболової кислоти та 100 мл дистильованої води. У ступці розтирають фарбу з карболовою кислотою до утворення кашки, невеличкими порціями додають спирт і кінцево розводять водою. Зливають у пляшку, лишають на добу, фільтрують;

— розчин Люголя складається з 2 г йодистого калію, 10 мл дистильованої води, 1 г йоду кристалічного. Дану суміш добре закупорюють, лишають на добу, а потім додають дистильованої води до 300 мл.

### **Б. Виконання методики фарбування:**

а) на фіксований мазок накладають шматочок фільтрувального паперу, на нього наливають на 0,5-2 хв. карболового розчину генціанвіолету, потім фарбу зливають, не змиваючи, та наливають розчин Люголя на 1 хвилину. Зливають розчин Люголя, прополоскують препарат у 96° спирті доки, поки не перестане відходити фарба. Промивають водою. Додатково фарбують розведеним фуксином 0,5-1 хв., потім фарбу зливають, промивають і висушують препарат;

б) зазделегідь заготовлюють смужки фільтрувального паперу, прощочені 1% спиртовим розчином кристалвіолету та висушують їх. На препарат накладають смужку такого паперу і наливають 2-3 краплі води. Фарбування проводять 2 хвилини. Знімають папірець пінцетом, наливають розчин Люголя на 1 хвилину. Знебарвлюють спиртом. Додатково фарбують розведеним фуксином.

При правильному фарбуванні грампозитивні мікроби фарбуються в блакитно-фіолетовий колір, грамнегативні (наприклад гонококки) — у рожевий і червоний.

### **В. Метод фарбування кислотостійких мікробів.**

Ця методика здійснюється за допомогою карболового фуксину Циля. Даний розчин готується таким чином: 1 г основного фуксину, 10 мл спирту 96°, 5 г кристалічної карболової кислоти, 100 мл дистильованої води. Фарба готується розтиранням у ступці так, як це вказано при приготуванні генціанвіолету. Для звичайного фарбування користуються розведеним фуксином, який готують розведенням 1 мл фуксину Циля в 9 мл дистильованої води. Розчин готується ex tempore. Фарбування проводиться протягом 0,5 — 1 хв.

### **Г. Фарбування за Циль-Нільсенем.**

Дана методика використовується найчастіше для фарбування туберкульозних паличок. Методика фарбування полягає в такому: на фіксований мазок кладуть шматочок фільтрувального паперу, який

не повинен перевищувати розміри предметного скла, наливають фуксин Циля, нагрівають на спиртівці до відходження парів, залишають фарбу доки, поки препарат не охолоне. Потім знімають папірець із фуксином та ополоскують водою. Далі опускають препарат у склянку із 5% розчином сірчаної кислоти (або в розчин, який складається з 10 частин спирту і 1 частини соляної кислоти) і прополоскують до знебарвлення. Старанно промивають водою. Дофарбовують метилевовою синькою протягом 3-5 хвилин.

Кислотостійкі палички мають червоний колір, усі інші мікроби — блакитний.

## 6.7. ПОСЛІДОВНІСТЬ ФАРБУВАННЯ ЦИТОЛОГІЧНИХ ПРЕПАРАТІВ ПРИ ВИКОНАННІ СУДОВО-ЦИТОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА МЕТОДИ ЗНЕБАРВЛЕННЯ ПРЕПАРАТІВ

### 6.7.1. Визначення статевої та органно-тканинної належності мікрооб'єктів біологічного походження

При визначенні статевої та органно-тканинної належності мікрооб'єктів біологічного походження пропонується така послідовність фарбування (рис. 6.1).

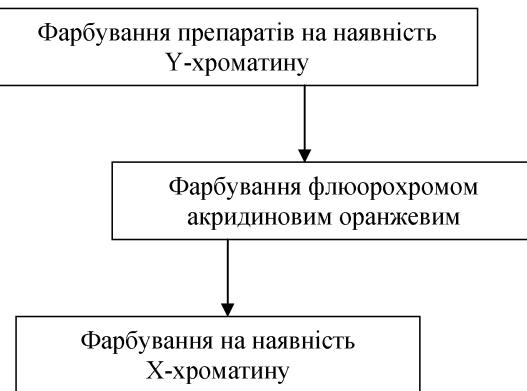


Рис. 6.1. Схема послідовності фарбування препаратів при визначенні статевої та органно-тканинної належності мікрооб'єктів біологічного походження

### **6.7.2. Виявлення клітин піхвового епітелію та диференціація їх з епітелієм слизової оболонки рота та прямої кишки**

Виявлення клітин піхвового епітелію та диференціація їх з епітелієм слизової оболонки рота та прямої кишки слід проводити за такою схемою (рис. 6.2).

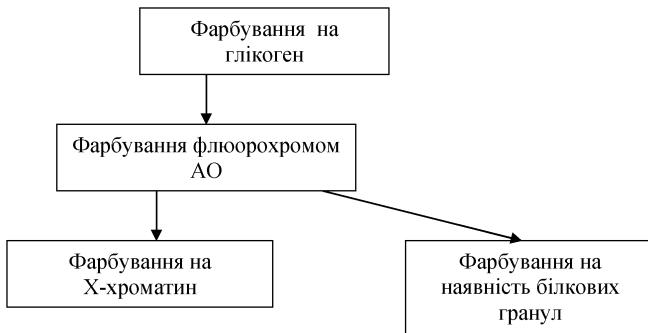


Рис. 6.2. Схема послідовності фарбування препаратів при визначенні наявності клітин піхвового епітелію та диференціація з клітинами слизової оболонки рота

#### **Методики знебарвлення препаратів:**

- препарати після дослідження на Y-хроматин відмивають пропальною водою і далі фіксують та фарбують акридиновим оранжевим або азур-еозиновою сумішшю;
- препарати, пофарбовані азур-еозиновою сумішшю, знебарвлюють таким чином: азур відмивають 10% розчином оцтової кислоти, декілька крапель якої наливають на скло. При погойдуванні препарата відходить хмарка фарби. Даний процес повторюють декілька разів. Еозин відмивають 10% водним розчином аміаку, погойдуючи препарат, потім сполоскують водою. Знебарвлений препарат фіксують і далі, якщо потрібно, фарбують флюорохромом;
- препарати, пофарбовані парами йоду, знебарвлюють 5% розчином оцтової кислоти. З цією метою предметні скельця поміщають у склянку із кислотою. Потім препарат промивають водою, висушують, фіксують і далі фарбують основними барвниками;
- препарати, пофарбовані акридиновим оранжевим, відмивають у водопровідній воді (можна у дистильованій воді у склянці), висушують, потім фіксують і піддають подальшому фарбуванню.

## Розділ 7

# КОРОТКИЙ ОПИС СУДОВО-БІОЛОГІЧНИХ МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕННЯ, ЯКІ ВИКОРИСТОВУЮТЬСЯ ПРИ ПРОВЕДЕННІ СУДОВО-ЦИТОЛОГІЧНИХ ЕКСПЕРТИЗ

При проведенні судово-цитологічних експертиз виникає необхідність у використанні ряду судово-біологічних методів дослідження. До них належать такі.

### 7.1. УСТАНОВЛЕННЯ НАЯВНОСТІ КРОВІ В СЛІДАХ НА РЕЧОВИХ ДОКАЗАХ МОЖЕ ПРОВОДИТИСЬ:

**7.1.1. Методом, заснованим на виявленні морфологічних елементів крові.** Наприклад, по наявності еритроцитів у мазках-відбитках зі статевих органів осіб, які підоозрюються в учиненні статевих злочинів.

**7.1.2. Спектральним методом** — за виявленням спектрів поглинання гемохромогену або гематопорфіру, спектру флюoresценції.

**7.1.3. Хроматографічним методом.** У судово-цитологічній практиці, у зв'язку з тим, що експерт-цитолог має справу з мікрооб'єктами, комплексне дослідження яких повинно бути проведено з мінімальними витратами матеріалу, для визначення наявності крові використовують метод тонкошарової горизонтальної (вертикальної) хроматографії (ТГХ). Данна методика є високочутливою і для її виконання необхідна лише крапля витяжки. Методика проводиться за загальновідомими правилами із застосуванням платівок “silufol” [85].

### 7.2. ВИЗНАЧЕННЯ ВИДОВОЇ НАЛЕЖНОСТІ БІЛКА

В основі визначення видової належності білка лежить реакція антigen-антитіло, в якій беруть участь два імунологічні компоненти: витяжка з плями (антиген) і сироватка (антитіло). У результаті реакції відбувається утворення специфічного комплексу антиген-антитіло

з утворенням преципітату — видимого осаду. Існують три різновиди реакції преципітації:

— у рідкому середовищі — реакція кільцепреципітації або реакція Чистовича-Уленгута (РКП);

— реакція преципітації в агарі (РПА);

— реакція електропреципітації (РЕП);

З усіх вищенаведених реакцій у судово-цитологічній практиці при визначенні видової належності білка найкраще використовувати реакцію преципітації в агарі (РПА), яка за наявності однієї краплинни витяжки може бути проведена з усім набором преципітуючих сироваток.

Нами пропонується використання РПА в такій модифікації: на дно чашки Петрі наливають 1% агаровий гель (1 г агару на 100 мл дистильованої води) висотою 2-3 мм. Після застигання гелю ділять поверхню агару на 3 сектори, в кожному з яких за трафаретом пробійниками виконуються отвори. Лунки розташовують у вигляді розетки, при цьому в центральну лунку вносять витяжку з плями, у периферійні лунки — набір стандартних преципітуючих сироваток. Аналогічно маніпулюють із витяжкою з контрольної ділянки предмета-носія. Чашки Петрі витримують у холодильнику протягом 3-х діб, періодично спостерігаючи за появою смуг преципітації між витяжкою з плями та відповідною сироваткою.

Треба пам'ятати, що визначенню видової належності білка перешкоджає обробка матеріала 10% розчином формаліну, сумішшю Ка-рнуа, 10-25% розчином оцтової кислоти, нагрівання над полум'ям спиртівки. Після обробки 1-5% розчином оцтової кислоти протягом не більш, ніж 3 години, вид білка може бути встановлений.

### 7.3. ВИЗНАЧЕННЯ ГРУПИ РІДКОЇ КРОВІ

Визначення групи зразків рідкої крові за ізосерологічною системою АВО проводять за допомогою реакції гемаглютинації за загальноприйнятою методикою із застосуванням центрифугування, при цьому визначають як антигени, так і аглютиніни.

## **7.4. ВИЗНАЧЕННЯ ГРУПОВОЇ НАЛЕЖНОСТІ СЛІДІВ БІОЛОГІЧНОГО ПОХОДЖЕННЯ ЗА ІЗОСЕРОЛОГІЧНОЮ СИСТЕМОЮ АВО**

### ***7.4.1. Визначення групової специфічності крові в слідах на речових доказах***

Визначення групової специфічності крові у плямах за системою АВО проводиться за 2-ма ознаками — виявленням антигенів і аглютинінів.

Аглютиніни (АТ) у плямах крові встановлюють за допомогою методу покривного скла по Ляттесу.

Антигени (АГ) в плямах крові виявляють двома методами:

- реакцією абсорбції аглютининів у кількісній модифікації (КРА), при малих розмірах плями — КРА в 3-х краплях;
- реакцією абсорбції-елюції (РАЕ).

### ***7.4.2. Визначення групової специфічності виділень у слідах на речових доказах***

Виявлення антигенів ізосерологічної системи АВО слід проводити таким чином:

- реакцією абсорбції аглютининів у кількісній модифікації (КРА), при малих розмірах плями — КРА в 3-х краплях;
- реакцією абсорбції — елюції (РАЕ);
- експрес-методом для виявлення антигенів сильних видільників.

Експрес-метод для виявлення антигенів сильних видільників у слідах виділень на речових доказах слід проводити за такою схемою: вирізки з досліджуваного об'єкта розмірами 0,3x0,3 — 0,5x0,5 см, поміщають на предметне скло та заливають ізосироватками анти-А і анти-В в титрі 1:64. Етап абсорбції відбувається протягом 10 хв. при кімнатній температурі. Потім вирізки виймають із сироватки, висушують на фільтрувальному папері, поміщають на предметне скло під покривне скельце в 0,1% суміш відповідних тест-еритроцитів. Мікроскопію проводять під світловим мікроскопом через 5-10 хв. Відсутність аглютинації свідчить про наявність антигену.

Облік результатів дослідження при проведенні експрес-методу проводять за табл. 7.1.

Таблиця 7.1

**Облік результатів дослідження при проведенні експрес-методу**

Об'єкт дослідження	І з о с и р о в а т к и		Виявлений антиген
	анти-А	анти-В	
пляма №1	-	+	A
пляма №2	+	-	B
пляма №3	-	-	A,B
пляма №4	+	+	або невидільник, або O(H)

**7.4.3. Особливості дослідження слідів біологічного походження на речових доказах при впливі предмета-носія**

При визначенні антигенів ізосерологічної системи АВО в слідах крові та виділень (особливо в змішаних слідах) дуже складними є сліди, в яких присутні гнильні зміни, і тоді серологічними реагентами нерідко виявляються антигени не тільки досліджуваного матеріалу, а й антигени мікроорганізмів. Аналогічні труднощі виникають і при дослідженні виділень із відкритих порожнин тіла людини — ротової, vagінальної, анальної. Це зумовлено тим, що в такому матеріалі завжди в значній кількості присутня мікрофлора.

У зв'язку з вищевикладенним, в тих випадках, коли можливе бактеріальне забруднення досліджуваного матеріалу, необхідно дотримуватись певної тактики дослідження. Правильна підготовка матеріалу для дослідження є найважливішим етапом експертизи. Із цією метою можуть бути використані такі прийоми:

- прогрівання в термостаті при +120°C протягом 1 години;
- кип'ятіння в дистильованій воді протягом 30 хвилин;
- промивання у фізіологічному розчині при +4°C протягом 18 годин;
- центрифугування витяжок із досліджуваного матеріалу при 12000 об/хв. протягом 5 хвилин та дослідження надосадової рідини за допомогою РАЕ. Для центрифугування можна використовувати мікронцентрифугу типу “Eppendorf”;
- ферментна обробка матеріалу. Із цією метою до ниток зі слідами крові та виділень додають 0,1% розчин трипсіну з pH 7,2, витримують у термостаті при температурі 37°C протягом 30 хвилин, потім видаляють розчин трипсіну, дворазово промивають нитки фізіологіч-

ним розчином та висушують їх на фільтровальному папері. Висушені нитки вводять у відповідні реакції.

Необхідно зауважити, що способи центрифугування витяжок та ферментна обробка матеріалу дозволяють повністю звільнитися від впливу мікроорганізмів, а спосіб промивання у фізіологічному розчині можна використовувати після проведення прогрівання або кип'ятіння в дистильованій воді.

Крім підготовки матеріалу при дослідженні гнильно змінених слідів крові та виділень дуже важливими є й інші методичні аспекти дослідження. До них належить правильний підбір титру діагностичних реагентів, у зв'язку з неоднаковим авідитетом використання різних сироваток (ізо- і гетеросироватки, моноклональні антитіла), різна тривалість етапу абсорбції, використання методів із різною чутливістю (КРА та РАЕ), використання РІФ.

Одним із важливих питань при визначенні антигенів системи АВО в плямах з домішками калу є усунення неспецифічного впливу вмісту прямої кишкі на сироваткові реагенти.

За останніми дослідженнями у вмісті прямої кишкі людини наявність власних антигенів не встановлена. Проведеними експериментами доказано, що неспецифічний вплив вмісту прямої кишкі на титр ізосироваток може бути усунений за допомогою термічної обробки зразків при температурі 110–120°C протягом 40 хвилин.

Виходячи з вищевказаного, за наявності сперми в тампоні з вмістом прямої кишкі або в слідах з домішками калу, можна визначати антигени біологічного субстрату після проведення термічної обробки [9].

При виявленні на речових доказах слідів крові людини з домішками крові тварин експертиза, як правило, закінчується констатацією цього факту. Це пов'язано з відсутністю способів антигенної диференціації крові людини в таких плямах. Ale на сьогодні проведеними експериментальними дослідженнями [10] доказано, що в змішаних плямах крові людини та великої рогатої худоби домішки крові даної тварини не перешкоджають виявленню антигенів крові людини груп А і Н, якщо ці сліди досліджуються за допомогою КРА або РАЕ з елюцією у фізіологічний розчин. При дослідженні змішаних плям крові людини та дрібної рогатої худоби можливе виявлення антигенів крові людини груп В і Н, якщо дані сліди досліджуються за допомогою КРА або РАЕ з елюцією у фізіологічний розчин.

При виявленні групових антигенів системи АВО в пото-жирових виділеннях шкіри рук необхідно мати на увазі, що визначення гру-

пової належності поту не можна вважати обґрутованим без попереднього встановлення його наявності. Крім того, при визначенні групових антигенів системи АВО в пото-жирових відбитках пальців рук треба враховувати, що косметичні креми для догляду за шкірою рук та обличчя впливають на реагенти, які використовуються для визначення антигенів пото-жирових виділень. Такий вплив може бути після контакту рук із харчовими продуктами та різними предметами. У цих випадках можна визначити антигени (особливо це стосується антигену В), які не властиві особі, відбитки якої вивчаються. На основі цих досліджень ряд авторів доходить висновку, що відсутність істинних контролів та можливість отримання неспецифічних помилково позитивних результатів ставить під сумнів доцільність визначення групової специфічності пото-жирових відбитків. Ці дані треба враховувати при проведенні вказаних досліджень [69].

#### ***7.4.4. Деякі рекомендації щодо використання моноклональних реагентів***

За останні роки в судово-медичній практиці широкого використання набули цоліклони СМ, які не поступаються ізо- та гетероімунним сироваткам за титром, специфічністю та авидністю. До панелі цоліклонів СМ входять такі реагенти: цоліклони анти-А, анти-В, анти-М, анти-N та різновиди цоліклонів анти-Н — анти- $H_{ab}$ , анти- $H_{n/ab}$  та анти- $H_{kpa}$ . Цоліклони СМ анти-А і анти-В використовуються для визначення антигенів A і B системи АВО в реакції гемаглютинації для рідкої крові, абсорбції-елюції при дослідженні плям крові, слизи, сперми та інших виділень та при імунофлюоресцентному аналізі. Цоліклони СМ анти-М і анти-N використовуються для визначення антигенів M та N системи MNSS в рідкій крові реакцією гемаглютинації та в реакції абсорбції-елюції при дослідженні плям крові. Цоліклон СМ анти- $H_{ab}$  використовують для дослідження рідкої крові в реакції гемаглютинації, для дослідження плям крові, слизи, сперми та інших виділень в РАЕ та при імунофлюоресцентному аналізі. Цей реагент однаково добре виявляє антиген H як основний в групі O(I), так і супутній в групах крові A(II) та B(III), гірше — в групі AB(IV). За допомогою цього цоліклону не можна виявити H-антиген у невидільників у надосадовій частині слизи. Цоліклон СМ анти- $H_{n/ab}$  використовують для визначення антигену H в рідкій крові та в плямах крові реакцією абсорбції-елюції. Цоліклон цього різновиду не придатний для

дослідження плям слизи та інших виділень. Цоліклон СМ анти-Н<sub>кра</sub> використовують для дослідження рідкої крові в реакції гемаглютинації, для дослідження плям крові, слизи, сперми та інших виділень за допомогою кількісної реакції-абсорбції, реакції абсорбції — елюції та при імунофлюоресцентному аналізі. Добре виявляє основний антиген Н в групі О(І) як видільників, так і невидільників у надосадовій частині слизи, і не виявляє супутній антиген Н в інших групах крові системи АВО.

Методика проведення дослідження слідів крові та виділень представлена в рекомендаціях із використання моноклональних реагентів діагностичних рідких для судово- медичних цілей, розроблених у лабораторії Гематологічного наукового центру РАМН (м. Москва), та викладені в інформаційному листку “Выявление антигенов А, В и Н в следах крови реакцией абсорбции-элюции с применением моно克лональных антител” [12].

В Україні в останні роки розроблено методику отримання чистих ізогемаглютинів альфа і бета з плазми крові людини, на основі яких виготовлено реагенти анти-А і анти-В з титром 1:512 (НВК “Лектинотест”, м. Львів). Випускаються ці реагенти у вигляді сухого порошку, який можна зберігати при кімнатній температурі протягом багатьох років без втрати активності. Крім того, розроблено методику отримання лектинів (бузини трав’янистої та тетрагонолобусу) для виявлення антигену Н системи АВО. Із тетрагонолобусу отримано специфічний реагент анти-Н з титром 1:128 (у вигляді ліофільно висушеного порошку), який придатний для виявлення антигену Н в слідах крові та рідкій крові. Лектин бузини трав’янистої випускається у формі готового до вживання розчину з дещо покрашеною специфічністю і строком зберігання до півроку, він придатний для виявлення антигену Н в слідах слизу.

## 7.5. ВИЗНАЧЕННЯ ГРУПОВОЇ НАЛЕЖНОСТІ КЛІТИН

Групова належність клітин може бути визначена за допомогою реакції “змішаної аглютинації” та реакції імунофлюоресценції.

### **7.5.1. Методика проведення реакції “змішаної” аглютинації (РЗА) у модифікації, запропонованій А. Л. Федоровцевим [78]**

**Реакція складається з таких етапів:**

- фіксація цитологічних препаратів сумішшю ацетону і етанолу (1:1) протягом 10 хвилин;
- абсорбція з ізоциркуляторами анти-А та анти-В в титрі 1:128 у вологій камері протягом 18 годин в умовах холодильника;
- відмивання неабсорбованих антитіл у великій кількості охоложеного фізіологічного розчину протягом 20 хвилин, змінюючи цей розчин через 10 хвилин;
- фарбування їх протягом 2-х хвилин 0,01% розчином акридиново-оранжевого, приготовленого на фосфатному буфері Ph=6,0;
- промивання проточною водою, підсушування препаратів;
- нанесення на препарати 0,2% суспензії відповідних тест-еритроцитів, витримування препаратів у вологій камері протягом 30 хвилин;
- покриття препаратів покривними скельцями та мікроскопія їх протягом 2 годин на люмінесцентному мікроскопі в падаючих ультрафіолетових і прохідних світлових променях (окуляри 5x, об'єктив водної імерсії 40x,60x, імерсійне середовище — фосфатний буфер Ph=6,0);
- за необхідності визначення антигену Н — препарати відмивають у дистильованій воді, знову фіксують сумішшю ацетону з етанолом і заливають цоліклоном анти-Н або лектином анти-Н у титрі 1:64-1:128. Подальший хід реакції аналогічний вищеписаному.

При оцінці результатів реакції “змішаної аглютинації” за позитивний результат приймається рухоме приєднання еритроцитів до клітинних елементів як по краю клітини у вигляді “розетки”, так і на поверхні. На поодинокі нерухомі еритроцити, що відмічені на поверхні клітини, а також рухомі еритроцити, не зв’язані з клітиною, і окремі плаваючі аглютинати, які іноді спостерігаються в препаратах, зважати не слід. Якщо еритроцити зв’язані з клітинами, які вільно плавають у препараті, то такий результат також не може вважатися позитивним (рис. 7.1).

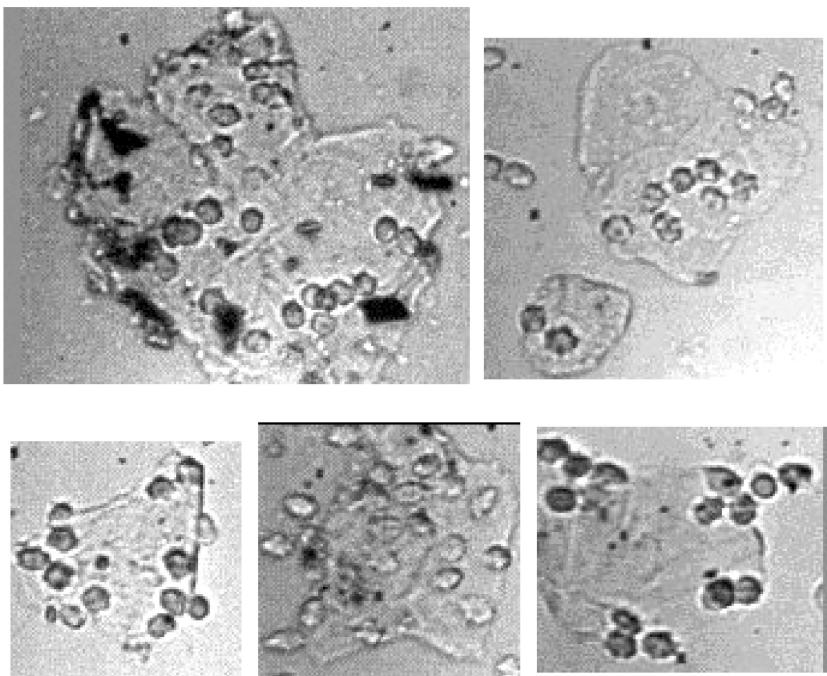


Рис. 7.1. Реакція “змішаної” аглютинації  
(позитивний результат, світлова мікроскопія, об. 20x)

### *7.5.2. Деякі технічні прийоми проведення реакції імунофлюоресценції*

Для визначення групової належності клітин використовується непряма реакція імунофлюоресценції (РІФ). Сутність цієї реакції полягає в такому: на першому етапі відбувається інкубація досліджуваних об’єктів із відповідними гетероімунними гемаглутинуючими сироватками — анти-А, анти-В і анти-Н. При відповідності наявних в об’єкті антигенів і антитіл у сироватці утворюється комплекс антиген-антитіло. Після видалення антитіл, які не зв’язалися, відбувається другий етап реакції, коли до об’єктів додають флюоресценціючі сироватки. Отриманий на першому етапі комплекс антиген-антитіло виступає білковим антигеном стосовно флюоресценціючих сировата-

ток, які містять антитіла проти тих видів тварин, імунізацією яких були отримані гетероімунні сироватки. До об'єктів, інкубованих сироваткою анти-А, додають флюоресціючу сироватку на глобулін кролика. До об'єктів, інкубованих сироватками анти-В і анти-Н, — флюоресціючу сироватку на глобулін барана. При позитивному результаті реакції утворюється люмінесціючий комплекс антigen-антитіло, який спостерігається у вигляді яскравого зеленого обідка по контуру епітеліальної клітини або голівки, шийки і хвостика сперматозоїда [46].

Непряма реакції імунофлюорисценції проводиться таким чином.

#### **А. Методика готування препаратів.**

При визначенні групової належності видіень (сперми, клітин піхвового епітелію тощо) вирізки з досліджуваних плям розмірами  $0,5 \times 0,5\text{ см}$ - $1,0 \times 1,0\text{ см}$  поміщають у пробірки, заливають дистильованою водою або 10% розчином оцтової кислоти і екстрагують залежно від кількості матеріалу від 2-х годин до доби. Потім вміст пробірок центрифугують при 1000 об./хв. протягом 10 хвилин. За необхідності осад після видалення надосадової рідини промивають 1-2 рази дистильованою водою або оцтовою кислотою. Осад наносять у вигляді невеличких крапель на предметні стекла та висушують при кімнатній температурі. Наявність клітин в отриманих препаратах перевіряють або мікроскопією нативних препаратів при опущеному конденсорі мікроскопа, або мікросопією одного з препаратів, пофарбованих акридиновим оранжевим чи азур-еозиновою сумішшю.

Для визначення групової належності клітин за допомогою РІФ можна застосовувати цитологічні препарати, які приготовлені за вищенаведеними методиками і вже досліжені на предмет статевої, органно-тканинної належності клітин.

#### **Б. Добір відповідних реагентів та контроль за якістю сироваток**

Перевірка люмінесціючих сироваток на вільний флюорохром.

Для мітки люмінесціючих сироваток звичайно застосовують флюорохром — флюоресцеїнізотіоціонат (ФІТЦ), що має смарагдо-во-зелений колір люмінесценції. Дані сироватки виготовляються у висушенному вигляді. Для роботи їх необхідно розвести в 0,5 мл дистильованої води та відцентрифугувати при 3000 об./хв. протягом 10-30 хвилин. Такі розведені сироватки можна зберігати протягом півроку. Частина люмінесціючих сироваток, які випускаються вітчизняною промисловістю, має надлишок вільного флюорохрому. Застосування таких сироваток у РІФ небажане, а тому їх необхідно виявити і відбра-

кувати. З цією метою використовують висхідну хроматографію на папері. Для цього вирізають окремі смужки паперу довжиною 20-30 см і ширину 1,5-2 см і на відстані 2-3 см від кінця смужки наносять краплі люмінесціючих сироваток. Потім, не чекаючи їх висихання, смужки паперу поміщають у камеру з розчинником такого складу: 55 мл етилового спирту і 45 мл 0,01% фосфатного буфера  $\text{pH}=7,2-7,4$ . Час розгонки — 2-3 години. При проведенні хроматографії спирт фіксує білки сироватки і пов'язаний з нею флюорохром залишається на місці нанесення сироватки. Незв'язаний флюорохром буде підніматися нагору по хроматографічному паперу. З метою його визначення смужки паперу після закінчення розгонки висушують на повітрі і досліджують в ультрафіолетових променях за допомогою ультрафіолетової лампи. Ті сироватки, що мають вільний флюорохром, будуть мати помітні жовтуваті смужки по ходу розгонки сироватки. Серії сироваток, що мають такий “шлейф”, відбраковуються.

**Примітка.** Приготування фосфатного буферу:

розвчин А — 17,8 г натрію фосфорнокислого двохзаміщеного на 1 л дистильованої води;

розвчин В — 13,6 г калію фосфорнокислого однозаміщеного на 1 л дистильованої води.

Буферний розвчин готують таким чином: 7 частин розвчину А з'єднують з 3 частинами розвчину В і одержують 0,1% буферний розвчин із  $\text{pH}=7,2-7,4$ . Для отримання 0,01% розвчину отриманий буферний розвчин розводять в 10 разів, тобто до 1 частини буфера додають 9 частин дистильованої води.

### **В. Перевірка специфічності люмінесціючих сироваток.**

Перевірка специфічності кожної серії сироваток проводиться за допомогою реакції преципітації в 1% агаровому гелі при їх надходженні до лабораторії. Агар товщиною 1,0-1,5 мм заливають у чашки Петрі, охолоджують і роблять у ньому отвори діаметром 2,0-2,5 мм, які розташовують у вигляді розетки. У центральній лунці поміщають досліджувані нерозведені люмінесціючі сироватки, а в периферійні лунки — відповідні антигени людини і тварин. Як антиген кролика використовують гетероімунну сироватку анти-А, антиген барана — гетероімунну сироватку анти-В, антиген кози — гетероімунну сироватку анти-Н, антиген людини — ізосироватки альфа або бета.

Облік результатів реакції проводять наступного дня. Люмінесціюча сироватка проти глобулінів кролика найчастіше дає смугу пре-

ципітації лише із сироваткою анти-А. Такий результат свідчить про те, що дана сироватка специфічна і може бути використана в РІФ. Більшість люмінесціюючих сироваток проти глобуліну людини і барана неспецифічні і утворюють смуги преципітації як із гомологичними антигенами, так і з гетерологічними антигенами. Наприклад, люмінесціюча сироватка проти глобулінів людини може дати смуги преципітації як із сироваткою альфа, так і з гетероімунними сироватками анти-В і анти-Н. У таких випадках необхідно провести очищення сироваток.

З цією метою сироватку, із якої було отримано неспецифічний результат (тобто позитивний результат був отриманий з гетероімунними сироватками анти-В, анти-Н та ізосироватками альфа або бета), виливають на один прошарок марлі, висушують при кімнатній температурі та фіксують 20 хвилин етанолом. Приготовлені таким чином зразки антигенів застосовують для очищення сироваток. Для цього висушені шматочки марлі розміром 0,5x0,5 см з тими антигенами, антитіла яких треба видалити із люмінесціюючою сироватки, поміщають у відповідну сироватку і витримують 20-30 хвилин при кімнатній температурі. Наприклад, люмінесціюча сироватка проти глобулінів людини давала смуги преципітації з ізосироваткою альфа та гетероімунними сироватками анти-В і анти-Н. Для очищення даної сироватки до неї додають шматочки марлі з висушеними сироватками анти-В і анти-Н. При цьому, люмінесціюча сироватка мутніє, вміст ампули переносять у пробірку і центрифугують при 3000 об./хв. протягом 15 хвилин. Потім надосадову рідину переносять в іншу пробірку і вже очищенню сироватку знову перевіряють на специфічність реакцію преципітації в агарі за вищеописаною методикою. Облік результатів реакції проводять через добу. Процес очищення повторюють доти, поки люмінесціюча сироватка буде давати смуги преципітації лише з гомологічним антигеном. Очищені сироватки зберігаються в холодильнику.

### **Г. Перевірка специфічності гетероімунних сироваток.**

Для проведення реакції імунофлюоресценції застосовують сироватки анти-А та анти-В із вихідним титром не нижче 1:64 або 1:128 і анти-Н із титром 1:32. Ці сироватки попередньо перевіряють у реакції гемаглютинації на специфічність із 1% суспензією іногрупних тест-еритроцитів. Для цього 1 краплю сироватки анти-А (анти-В) змішують з 2 краплями 1% суспензії еритроцитів групи В (групи А), центрифугують суміш при 1500 об./хв. протягом 4-х хвилин. Результат

тат реакції враховують під мікроскопом. Якщо сироватка специфічна, результат повинен бути негативним.

#### **Д. Підбір робочого розведення люмінесціюючих сироваток.**

Даний етап реакції проводять на тих об'єктах, що досліджуються, тобто окремо підбирається сироватка для визначення антигенів сперми, і окремо — для епітеліальних клітин\*. З очищених нерозведеніх люмінесціюючих сироваток готують ех tempore три робочі розведення на забуференому фізіологічному розчині\*\* в титрах, який зазначено на ампулі, удвічі більше та удвічі менше. Наприклад, титр на ампулі — 1:32, при цьому готують розведення 1:16, 1:32, 1:64. Роблять це таким чином: титр 1:16 — 1 крапля люмінесціюючої сироватки + 15 крапель забуференого фізіологічного розчину; титр 1:32 — 8 крапель сироватки в титрі 1:16 + 8 крапель забуференого фізіологічного розчину; титр 1:64 — 8 крапель сироватки в титрі 1:32 + 8 крапель забуференого фізіологічного розчину.

**Примітка.** \*Для добору реагентів та повної перевірки сироваток необхідно заздалегідь приготувати препарати зразків сперми і синії груп А, В, АВ і О, висушити їх при кімнатній температурі, зафіксувати метанолом протягом 10 хвилин та використовувати в міру потреби.

\*\*Забуферений фізіологічний розчин готують так: 15 мл розчину А, 5 мл розчину Б та 180 мл фізіологічного розчину хлориду натрію ( $\text{pH}=7,4$ ). Склад розчинів А і В див. в розділі “Перевірка люмінесціюючих сироваток на вільний флюорохром”.

З метою гасіння власної люмінесценції зафіковані препарати обробляють бичачим альбуміном, міченим родаміном (БАМР)\* протягом 20 хвилин. Потім розчин зливають, препарати промивають забуференим фізіологічним розчином, для чого поміщають їх у кювети двічі на 10 хвилин. Потім препарати підсушують, наносять гетероімунні сироватки відповідної специфічності, поміщають у вологі камери, витримують у термостаті при температурі  $+37^{\circ}\text{C}$  30 хвилин. Після абсорбції проводять відмивання неабсорбованих антитіл великою кількістю охолодженого забуференого фізіологічного розчину, змінюючи розчин 4 рази кожні 10 хвилин. На підсушенні препарати наносять люмінесціюючі сироватки в тих розведеннях, що зазначені вище. Предметні стекла витримують у вологих камерах у термостаті при температурі  $+37^{\circ}\text{C}$  протягом 30 хвилин. Препарати двічі відмивають великими порціями забуференого фізіологічного розчину, змінюючи його через 10 хвилин. Потім препарати ополоскують дистильованою водою, підсушують і досліджують на люмінесцентному мікроскопі.

з об'єктивом водяної імерсії 60х або 70х. Імерсійне середовище — фосфатний буфер з pH=8,0 (вихідний буферний розчин А). При мікроскопії вибирають ті розведення люмінесціючої сироватки, яка на загальному темному фоні препарату дає яскраве світіння об'єкта по його периферійній частині (по контуру клітини або контуру голівки, шийки і хвостика сперматозоїда). Це барвний титр сироватки. Як робоче розведення беруть розведення сироватки на одне менше від її барвного титру.

**Примітка:** \*Сухий БАМР розводять в ампулі забуференим фізіологічним розчином та підбирають заздалегідь його робоче розведення на цитологічних препаратах фіксованих клітин. На препарат наносять декілька крапель БАМР в різних розведеннях та витримують 15-20 хвилин при кімнатній температурі. Потім промивають 2-3 рази забуференим фізіологічним розчином та досліджують під мікроскопом. Вибирають таке розведення БАМР, при якому всі клітинні структури мають коричневий колір і чітко видимі (зеленого кольору не повинно бути зовсім).

#### **Ж. Підбір робочого розведення імунних сироваток**

Відібрані серії специфічних гетероімунних сироваток розводять у краплях до концентрації 1+4. Попередньо заготовлені фіксовані препарати сперми (епітеліальних клітин) відповідної групи інкубують з відповідними розведеннями сироваток — (1+1)(1+2)(1+3)(1+4). Далі проводять реакцію імунофлюоресценції за схемою, яка описана нижче, використовуючи люмінесціючу сироватку в робочому розведенні. При мікроскопічному обліку результатів вибирають те розведення імунної сироватки, яке дає яскраве чітке світіння контурів гомологічних епітеліальних клітин або сперматозоїдів. Робоче розведення імунної сироватки слід перевірити на специфічність у реакції імунофлюорисценції з клітинами, що містять гетерологічний антиген.

Таким чином проведення основного досліду складається з етапів:

- приготування препаратів із досліджуваних слідів — по 4 з кожного;
- фіксація препаратів метанолом протягом 10 хвилин;
- обробка препаратів бичачим альбуміном, міченим родаміном, (БАМР) протягом 20 хвилин при кімнатній температурі, промивання проточною водою і підсушування;
- абсорбція з гетероімунними сироватками анти-А, анти-В і анти-Н в робочих розведеннях у вологих камерах при температурі +37°C протягом 30 хвилин;

- відмивання великою кількістю охолодженого забуференого фізіологічного розчину, змінюючи розчин 4 рази кожні 10 хвилин;
- інкубація із люмінесціючими сироватками в робочому розведенні при температурі +37°C протягом 20-30 хвилин у вологих камерах;
- відмивання двічі по 10 хвилин охолодженим забуференим фізіологічним розчином;
- ополоскування дистильованою водою, підсушування;
- мікроскопія препаратів за допомогою об'єктивів водяної імерсії на люмінесцентному мікроскопі.

Висновки про групову належність клітин слід проводити за наведеною нижче таблицею (табл. 7.2).

**Примітка:**

знак “+” позначає позитивний результат реакції імунофлюоресценції без урахування інтенсивності світіння;

знак “-” позначає негативний результат.

Таблиця 7.2

#### Висновки про групову належність клітин

Результати реакції імунофлюоресценції (світіння клітин) із сироватками			Виявлені антигени	Група сперми або клітин
анти-А	анти-В	анти-Н		
+	-	-	A	група А
+	-	+	A, H	А з супутнім антигеном Н або суміш сперми (клітин) груп А і О
-	+	-	B	група В
-	+	+	B, H	В з супутнім антигеном Н або суміш сперми (клітин) груп В і О
+	+	-	A, B	AB або суміш сперми (клітин) груп А та В, груп А, В, AB
-	-	+	H	група О
+	+	+	A, B, H	AB з супутнім антигеном Н або суміш сперми (клітин) груп А, В і О, або суміш сперми (клітин) груп А і В, які містять у крові супутній антиген Н

## Розділ 8

# ОСНОВНІ МЕТОДОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ПРОВЕДЕННЯ ЕКСПЕРТИЗ У ВІДДІЛЕННЯХ СУДОВО-МЕДИЧНОЇ ЦИТОЛОГІЇ

## 8.1. ПИТАННЯ, ЯКІ ВИРІШУЮТЬСЯ ПРИ ВИКОНАННІ СУДОВО-ЦИТОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Об'єктами судово-цитологічного дослідження є мікросліди крові та виділень у слідах на речових доказах, мікронакладення біологічного походження на знаряддях травми та в піднігтьовому вмісті рук осіб, що проходять по справі, волосся, сліди слизи на недопалках сигарет, марках, клапанах конвертів та частини розчленованого трупа.

При проведенні судово- медичних експертиз у відділеннях судово- медичної цитології вирішуються такі питання.

1. Встановлення статевої належності:

1.1. Крові та виділень.

1.2. Волосся (при наявності зовнішньої кореневої піхви).

1.3. Мікрочастинок органів та тканин людини.

2. Визначення наявності в слідах на тілі та одязі підозрюваних у статевих злочинах:

2.1. Піхвових клітин;

2.2. Клітин слизової оболонки рота;

2.3. Клітин слизової оболонки прямої кишки.

3. При експертизах клітинних накладень на знаряддях травми, при дослідженні піднігтьового вмісту — встановлення наявності крові та мікрочастинок тканин людини, їх видова, групова, статева, органно- тканинна характеристика.

4. Дослідження слідів крові з метою встановлення регіонального походження.

5. Дослідження слідів слизи на недопалках сигарет, конвертах, марках з метою встановлення їх групової та статевої належності.

6. Вивчення клітинного складу секрету молочних залоз із метою встановлення строку вагітності або факту пологів, які відбулися.

7. Кольпоцитологічні дослідження при встановленні статевої зрілості.

8. Диференціювання крові плоду та дітей раннього грудного віку (до 5 тижнів) від крові дорослої людини.

Порядок призначення, проведення й оформлення експертиз у відділенні судово-медичної цитології загальноприйнятий. На адресу відповідного судово- медичного закладу надсилається постанова слідчого і матеріал для дослідження.

Правила вилучення та надсилення матеріалу для дослідження в повному обсязі представлена в таких методичних матеріалах:

– методичні рекомендації “Использование цитологических методов исследования при экспертизе вещественных доказательств” [31];

– інформаційний лист “Судово-цитологічні дослідження мікро-накладень на знаряддях травми та в піднігтьовому вмісті” [72];

– методичні рекомендації “Визначення регіонального походження клітин при судово- медичній експертизі підозрюваних у статевих злочинах” [11].

## **8.2. ДІАГНОСТИКА СТАТЕВОЇ ТА РЕГІОНАЛЬНОЇ НАЛЕЖНОСТІ КРОВІ І КЛІТИН У СЛІДАХ НА РЕЧОВИХ ДОКАЗАХ**

### ***8.2.1. Схема дослідження слідів крові на речових доказах***

Діагностика статевої та регіональної належності крові та клітин у слідах на речових доказах слід проводити за такою схемою (рис. 8.1).



Рис. 8.1. Схема дослідження мікрослідів крові на речових доказах

### **8.2.2. Оцінка результатів при встановленні статевої належності слідів біологічного походження**

Для оцінки результатів при встановленні статевої належності крові та інших слідів біологічного походження застосовується метод послідовного аналізу Вальда. В основі цього методу лежить розрахована із заданою величиною помилки можливість належності клітин особі жіночої або чоловічої генетичної статі залежно від числа вивчених ядер і наявності в них статевої мітки. Даний метод може застосовуватись як у графічному варіанті (при виявленні статевоспецифічних виростів у сегментоядерних лейкоцитах у слідах крові), так і у вигляді таблиць (для виявлення X та Y-хроматину в слідах крові, виділень, волосся, тканин людини).

Використовуючи метод математичної статистики — послідовного аналізу Вальда з 99% надійністю, були проведені розрахунки, які базувались на таких даних про частоту Y-хроматину — мінімальна частота Y-хроматин-позитивних клітин у чоловіків складає 22%, а максимальна кількість Y-хроматиноподібних утворень у жінок — 3%.

Для Х-хроматину враховували сумарні дані про частоту Х-хроматину в клітинах слизових оболонок рота та волосинах, коли мінімальна частота Х-хроматин-позитивних клітин у жінок складала 20%, а максимальна у чоловіків — 7%.

Отримані розрахунки були представлені у таблиці 8.1.

Таблиця 8.1

**Розрахунки частоту Y- та X-хроматину і хроматиноподібних утворень у чоловіків і жінок**

Кількість клітин зі статевим хроматином (не менше)	Кількість клітин, які підлягають дослідженню (не більше)	Кількість клітин зі статевим хроматином (не більше)	Кількість клітин, які підлягають дослідженню (не менше)
Жіноча стать (при дослідженні X-хроматину)		Чоловічя стать (при дослідженні X-хроматину)	
Чоловічя стать (при дослідженні Y-хроматину)		Жіноча стать (при дослідженні Y-хроматину)	
3	4	0	25
4	14	1	35
5	24	2	45
6	34	3	55
7	44	4	65

Застосування методу послідовного аналізу Ваальда в графічній формі викладена у повному обсязі у методичному листі “Диагностика полової принадлежності крові в слідах на вещественных доказательствах” [16].

Математичну обробку проводять після кожного спостереження, причому в результаті цієї обробки з'ясовують, чи можна прийняти одну з гіпотез або необхідно продовжувати далі.

За наявності в препараті поодиноких клітин, придатних для вивчення ядер, не завжди вдається діагностувати стать за допомогою методу Вальда. З цієї причини проф. Загрядською А.П. зі співробітниками [24] було апробовано метод імітаційного моделювання для діагностики статевої належності крові по Y-хроматину. Отримані дані з високим ступенем надійності можна використовувати і для діагностики статевої належності клітин внутрішніх органів, тому що вміст Y-хроматину в лімфоцитах є нижчим, ніж у внутрішніх органах. При порівнянні даного методу з методом послідовного аналізу Вальда встановлено, що метод імітаційного моделювання не поступається йому в точності діагностики. Застосування методу імітаційного

моделювання в усіх випадках дозволяє зазначити конкретну (а не задану) ймовірність належності клітин особі чоловічої або жіночої генетичної статі.

Нижче наведена таблиця 8.2 згідно з монографією Загрядської А. П., Федоровцева А.Л., Королевої Е.И. “Судебно-медицинское исследование клеток и тканей” [24]. Наведені в таблиці розрахунки показують, що діагностика чоловічої генетичної статі можлива (з імовірністю=1) вже за наявності в препараті 2-х клітин, якщо в кожній із них є Y-хроматин. Діагностика жіночої генетичної статі (із тією ж ймовірністю) можлива при виявленні 6 клітин, в ядрах яких Y-хроматин відсутній. Але треба пам'ятати, що метод послідовного аналізу Вальда і метод імітаційного моделювання не можуть бути використані для діагностики статі при змішуванні клітин чоловіка і жінки, а також за наявності аномальних наборів статевих хромосом (синдромах Клейнфельтера, Шерешевского-Тернера й ін.).

Таблиця 8.2  
Діагностична ймовірність установлення чоловічої і жіночої статі за Y-хроматином (у чоловіків) або Y-хроматиноподібними утвореннями (у жінок)

Кількість досліджених клітин	Кількість клітинних ядер, які містять Y-хроматин (у чоловіків) або Y-хроматиноподібних утворень (у жінок)	Імовірність	
		чоловіча статі	жіноча статі
2	0	0,075∠0,111∠0,160	0,839∠0,889∠0,924
	1	0,940∠0,991∠0,999	0,001∠0,009∠0,060
	2	1	0
3	0	0,018∠0,038∠0,075	0,924∠0,962∠0,098
	1	0,916∠0,993∠0,999	0,001∠0,007∠0,083
	2-3	1	0
4	0	0,004∠0,015∠0,044	0,955∠0,985∠0,995
	1	0,725∠0,930∠0,985	0,014∠0,070∠0,274
	2-4	1	0
5	0	0,001∠0,004∠0,044	0,972∠0,996∠0,999
	1	0,559∠0,857∠0,966	0,034∠0,143∠0,537
	2-5	1	0
6	0	0	1
	1	0,388∠0,727∠0,917	0,049∠0,273∠0,611
	2-6	1	0

### **8.2.3. Варіанти висновків судово-цитологічного дослідження слідів крові**

Висновок у формі ствердження:

“У слідах на сорочці підозрюваного ... виявлено кров, яка належить особі чоловічої (жіночої) генетичної статі”.

Цей висновок можливий за умови, якщо співвідношення Y-хроматин-позитивних клітин до загальної кількості клітин, придатних для цитологічного обліку, відповідає даним, які подані у вищезазначених таблицях. Враховуючи те, що вирости типу А практично в слідах чоловічої крові не трапляються, то в разі, якщо в дослідженіх плямах крові світіння Y-хроматину не відмічене в 25 лейкоцитах і знайдений хоча б один вирост типу “A”, висновок про статеву належність крові в даних об’єктах має також форму ствердження.

Висновок у формі припущення:

“Результати цитологічного дослідження слідів крові ... дозволяють припустити, що кров у даних об’єктах могла походити від особи жіночої генетичної статі”.

Цей висновок може бути зроблений в тих випадках, коли Y-хроматин не виявлений в 25 і більше лейкоцитів, статевоспецифічні вирости в сегментоядерних лейкоцитах не знайдені або знайдені лише вирости типу В в кількості, недостатній для категоричного твердження.

Висновок у формі заперечення:

“Статеву належність крові в слідах ....встановити не було можливоїсті у зв’язку (далі вказується причина, з якої було отримано негативний результат): з відсутністю клітинних елементів крові; з недостатньою кількістю клітин крові, придатних для даного виду дослідження; зі значним бактеріальним забрудненням цитологічних препаратів; із забрудненням препаратів сторонніми домішками”.

## **8.3. СХЕМА ДОСЛІДЖЕННЯ МІКРОНАКЛАДЕНЬ НА ЗНАРЯДДЯХ ТРАВМИ ТА В ПІДНІГТЬОВОМУ ВМІСТІ**

Дослідження мікронакладень на знаряддях травми та в піднігтьовому вмісті слід проводити за такою схемою (рис. 8.2).



Рис. 8.2. Схема судово-цитологічного дослідження мікронакладань на зааряддях травми та в піднігтьовому вмісті рук людини

**Примітка.** З метою збереження піднігтьового вмісту для його наступного дослідження методом геномної дактилоскопії нами була розроблена методика вилучення клітинних елементів не оцтовою кислотою, а фізіологічним розчином або дистильованою водою, що не перешкоджає подальшому дослідженю цих об'єктів у лабораторіях ДНК-аналізу.

Може бути рекомендована ще така схема приготування цитологічних препаратів. Нігтіві зрізи поміщають у пробірки, заливають фізіологічним розчином та залишають на добу в умовах холодильника. Потім рідину переносять в іншу пробірку, центрифугують при 1500 об./хв. протягом 5 хвилин. Далі надосадову рідину використовують для дослідження наявності крові, виду білка та групової належ-

ності крові (РАЕ — на нитках із перенесеними витяжками, Ляттес — на витяжках на предметних стеклах). Залишок осаду переносять у пробірку зі зрізами нігтів, знову заливають фізіологічним розчином та витримують у холодильнику протягом 18-20 годин. Потім зрізи виймають із пробірки на чашки Петрі та висушують. Нігтьові зрізи після цього передають слідчим, і вони можуть бути досліджені методом ДНК-аналізу. Вміст пробірок, який залишився, відмивають декілька разів 10% розчином оцтової кислоти, центрифугують і з осаду готують препарати.

### ***8.3.1. Оцінка результатів та варіанти висновків***

Висновок у формі ствердження.

Якщо в результаті проведеного дослідження отримано позитивні результати, тобто встановлено статеву та органно-тканинну належність крові та клітин, висновок експерта буде достовірним і має форму ствердження.

“У слідах на знаряддях травми, піднігтьовому вмісті рук знайдені кров та клітини епітеліальної (м’язової, сполучної, нервової) тканини особи чоловічої (жіночої) генетичної статі та виявлений відповідний антиген системи АВО”. Порівняння отриманих результатів із групою крові осіб, що проходять по справі, дає можливість припустити походження крові та клітинних елементів від тієї чи іншої особи.

У тих випадках, коли в препаратах піднігтьового вмісту рук присутня значна кількість клітин з ядрами, які розташовані пластами, групами, експерт має можливість стверджувати, що ці клітини не належать до власного нігтьового ложе і могли виникнути при травматизації шкірних покровів людини тієї чи іншої статевої та групової належності (рис. 8.3, 8.4).

Якщо при дослідженні піднігтьового вмісту рук знайдено лише рогові лусочки, то подальше дослідження цього об’єкта вважається недоцільним і висновок звучить так: “У піднігтьовому вмісті рук гр-на ... знайдено рогові лусочки (без’ядерні епітеліальні клітини), походження яких за рахунок власного нігтьового ложе вважається найбільш імовірним”.

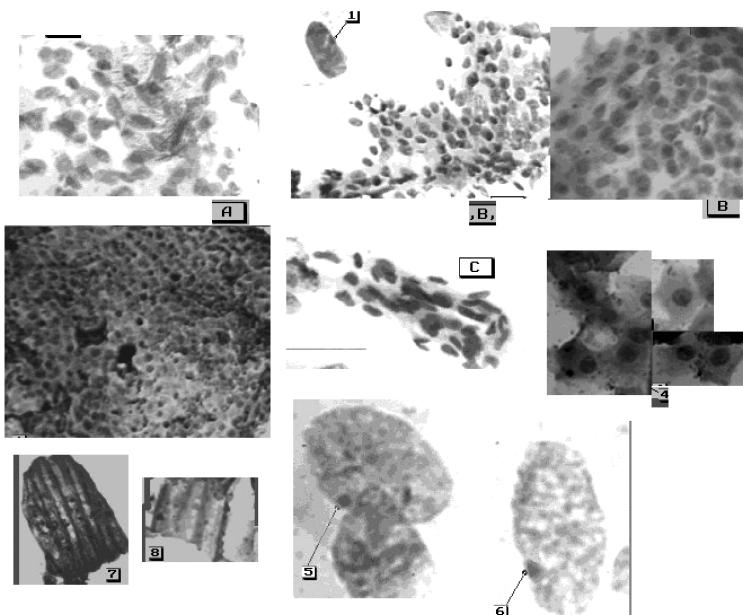


Рис. 8.3. Дослідження піdnігтьового вмісту (експертний матеріал)  
(світлова мікроскопія, фарбування азур-еозиновою сумішшю)

A, B, C — мікрофрагменти епітеліальної тканини (епідермісу) – об. 20х

1, 5, 6 — X-хроматин в епітеліальних клітинах (об. 90х)

4 — ізольовано розташовані епітеліальні клітини (об. 40х)

7, 8 — елементи копрокультури — рослинна клітковина (об. 20х)

#### Висновок у формі припущення.

Якщо в препаратах знайдено клітинні елементи, визначити достовірно статеву належність клітин і їх регіональне походження не було можливості. Висновок експерта може мати таку форму: “При дослідженні слідів на знарядді травми або в піdnігтьовому вмісті знайдено кров, клітинні елементи епітеліальної (м’язової, сполучної і інш.) тканини людини, статеву і органну належність яких визначити не було можливості з огляду на ....” і далі повинна бути вказана причина, яка не дозволяє отримати позитивний результат.

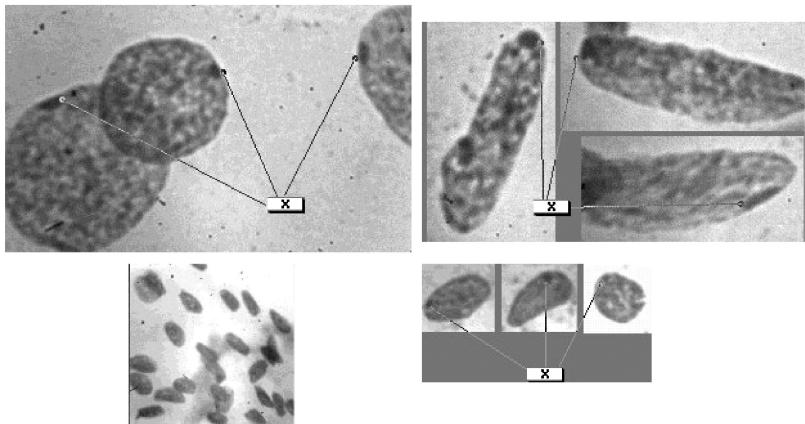


Рис. 8.4. Дослідження піднігтьового вмісту (експертний матеріал) (світлова мікроскопія, фарбування азур-еозиновою сумішшю, об. 20х; об. 90х).  
Клітини зовнішньої кореневої піхви волосся в піднігтьовому вмісті рук  
підозрюваного у згалтуванні  
Х — Х-хроматин в ядрах клітин

## 8.4. ДОСЛІДЖЕННЯ ВИДЛЕНЬ

### 8.4.1. Схема судово-цитологічного дослідження слідів слизу

Судово-цитологічне дослідження слідів слизу слід проводити за такою схемою (рис. 8.5).

**Примітка.** При приготуванні препаратів зі слідів слизу на жувальних гумках рекомендується проводити попереднє прогрівання жувальних гумок у терmostаті при температурі  $+35^{\circ}$  —  $+36^{\circ}$  С протягом 3-5 хвилин. Потім робити змиви із зовнішньої поверхні гумок та з її внутрішніх поверхонь шляхом багатократного розтягування гумки за допомогою пінцету. Змив можна проводити як 10% розчином оцтової кислоти, так і фізіологічним розчином [67]. В останньому випадку матеріал може бути використаний для подальшого проведення ДНК.



Рис. 8.5. Схема судово-цитологічного дослідження слідів слизи на речових доказах

#### *8.4.2. Схема судово-цитологічного дослідження піхвових виділень у слідах на речових доказах*

Судово-цитологічне дослідження піхвових виділень у слідах на речових доказах можливе за такою схемою (рис. 8.6).

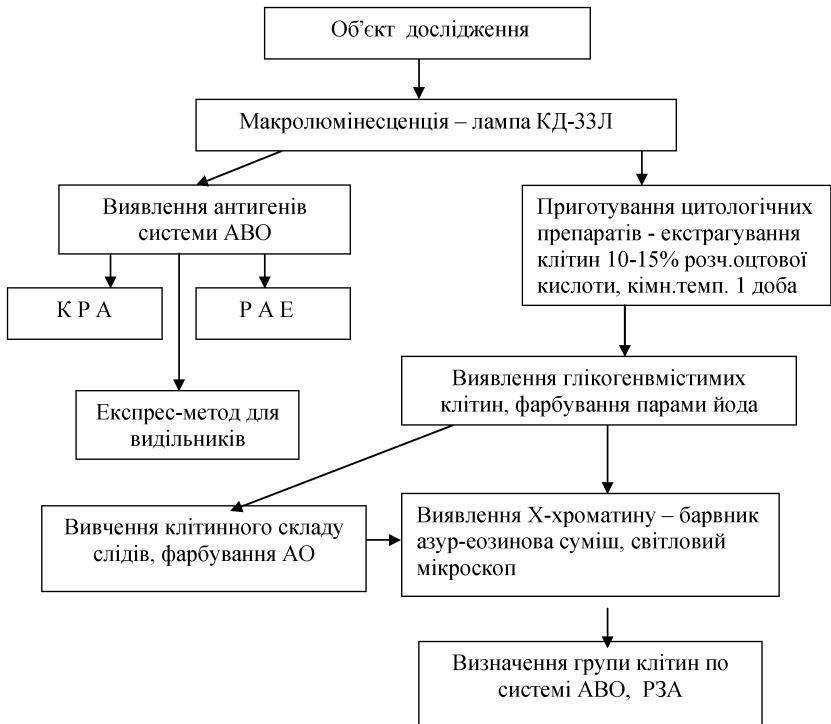


Рис. 8.6. Схема судово-цитологічного дослідження піхвових виділень у слідах на речових доказах

#### ***8.4.3. Судово-цитологічне дослідження змішаних слідів на речових доказах***

Судово-цитологічне дослідження змішаних слідів на речових доказах слід проводити за такою схемою (рис. 8.7).



Рис. 8.7. Схема судово-цитологічного дослідження змішаних слідів на речових доказах

Примітка.

1. При описуванні морфологічної картини препаратів необхідно звернути увагу на таке:

– наявність епітеліальних клітин з ядрами, їх розташування (розрізено або ізольовано, окремими скupченнями, пластами), їх розміри, форми, типи клітин та їх спiввiдношення мiж собою, властивостi цитоплазми (iнтенсивнiсть фарбування, наявнiсть включень, складок), особливостi ядер (форма, розмiри, чiткiсть контурiв, стан хроматинu), спiввiдношення ядра та цитоплазми, наявнiсть ядер без цитоплазми, тобто т.з. “голих” ядер, наявнiсть рогових лусочек;

– наявність мiкрофлори та її морфологiя – кiлькiсть, розмiри,

форма, розташування. Особливу увагу приділяти наявності паличок Дедерлейна, які характерні для піхвового вмісту, а також — гонококів, трихомонад тощо (рис. 8.8; 8.9; 8.10);

— наявність сперматозоїдів (рис. 8.11) — цілі або голівки, чіткість фарбування, наявність атипових форм.

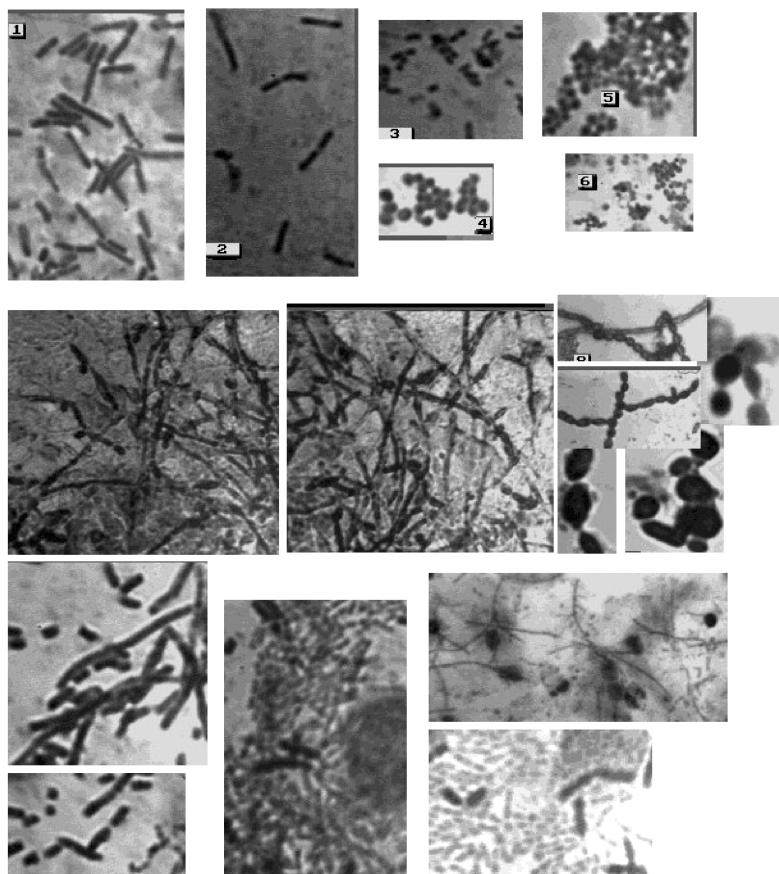


Рис. 8.8. Різні види мікроорганізмів  
(світлова мікроскопія, фарбування азур-еозиновою сумішшю, об. 20x)  
1-6 — мікрофлора піхви; 2 — палички Дедерлейна; 3 — диплобацили дрібні палички;  
4-6 — коки; 2-й ряд — дріжджеподібні грибки; 3-й ряд — бацилярна мікрофлора  
сечовивідних шляхів

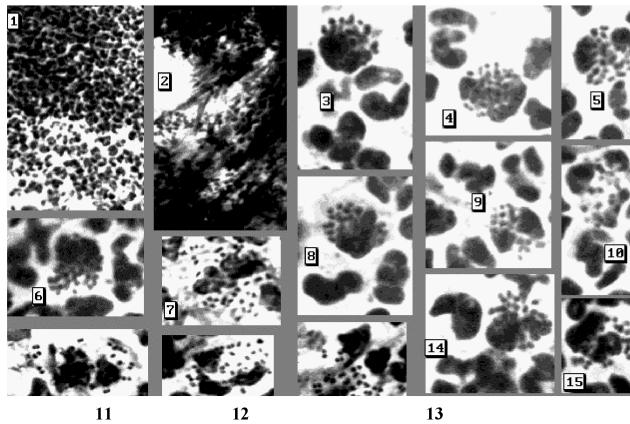


Рис. 8.9. Клітинний склад піхвового вмісту при гонореї  
(фарбування азур-еозиновою сумішшю,  
фото 1, 2 — об. 20x; фото 3-15 — об. 100x)

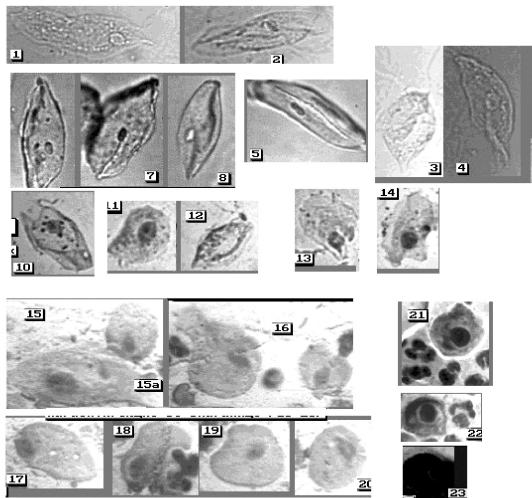


Рис. 8.10. Трихомонади

1-14 — у сечовивідних шляхах жінки; 15-20 — у піхві жінки; 15а — клітина глибокого поверхневого шару багатошарового незроговілого плоского епітелію; 21-23 — у сечовивідних шляхах чоловіка; фото 1-8 — нативні препарати; фото 9-23 — препарати, пофарбовані азур-еозиновою сумішшю (світлова мікроскопія, об.20x)

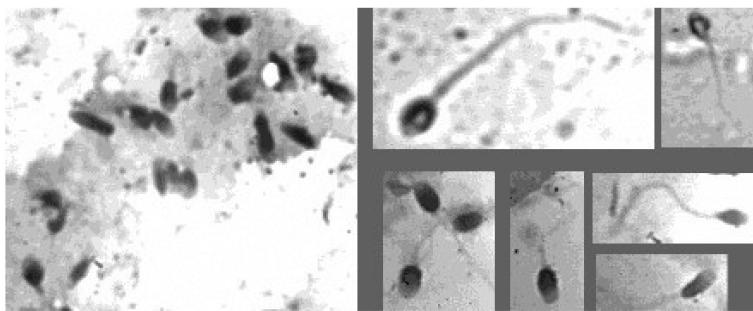


Рис. 8.11. Сперматозоїди — з хвостиком та окремі голівки (світлова мікроскопія, фарбування азур-еозиновою сумішшю, об. 20х, 90х)

Наявність сперматозоїдів у слідах можна визначити при фарбуванні азур-еозиновою сумішшю та АО. Для сперматозоїдів людини характерна наявність у передній зоні голівки акросомального чохлика, який фарбується в більш світлі тони у порівнянні з іншими частинами тіла сперматозоїда. Цю ознаку і використовують при діагностичі змішаних плям;

— інші морфологічні форми — лейкоцити, елементи копрокультури, слинні тільця, слиз тощо;

— необхідно окрім виділити зміни в ядрах клітин із точки зору їх придатності для обліку Х-хроматину. Показники деструкції ядер подані в розділі 1.3 посібника;

— при вивченні контрольних зразків мазків піхвового вмісту потерпілої необхідно дати повний опис морфологічної картини препарата та звернути увагу на клітинні елементи, які свідчать про наявність патологічних процесів в організмі жінки. Виявлення подібних клітин у слідах на тілі й одязі підозрюваного може допомогти в ідентифікації слідів. Як приклади патологічних станів жінки можна навести такі: гострий запальний процес, хронічний запальний процес (туберкульоз, трихомонадний кольпіт) та препухлини стани (дисплазія, ерозія та ін.).

**2. Порівняльно-цитологічне дослідження мікроскопічної картини слідів** на статевому члені підозрюваного або на його одязі з мазком піхвового вмісту потерпілої може бути використане лише за наявності в дослідженіх препаратах достатньої кількості клітин. За таких умов за морфологічним складом препаратів слідів на статевому члені пі-

дозрюваного можна встановити рівень естрогенної насиченості організму жінки, з якою у підозрюваного був статевий контакт, фазу її менструального циклу і порівняти з результатами дослідження мазка піхвового вмісту потерпілої.

**3. При диференціації** клітин піхви та клітин слизової оболонки порожнини рота треба пам'ятати, ці слизові оболонки вкриті незроговілим багатошаровим плоским епітелієм. До складу bucalного епітелію, в основному, входять клітини поверхневого та проміжного шарів, які за морфологічними ознаками важко відрізнити від піхвового епітелію. Існують лише деякі особливості, які можуть допомогти визначити регіональне походження цих клітин (табл. 8.3; рис. 8.12; 8.13).

Згідно з дослідженням А.Л. Федоровцева [79]: якщо в дослідженному матеріалі знайдені три клітини, які мають у цитоплазмі грубі паралельні складки і великі білкові гранули, то з вірогідністю 0,1% ці клітини можно віднести до bucalного епітелію. Щоб діагностувати піхвовий епітелій з 0,1% вірогідністю, то необхідно знайти 12 гліоконглюкозмістичних клітин, які належать особі жіночої генетичної статі і цитоплазма яких має грубозернистий характер.

**4. При діагностиці** походження клітин зі слизової оболонки прямої кишки найбільше значення має виявлення клітин кубічного (призматичного) епітелію, який є для неї характерним. Ці клітини можуть бути розташовані ізольовано та невеликими групами, мають полігональну форму (4-6-кутники), ядро овальної форми, розташоване центрально, ядерно-цитоплазматичне співвідношення 1:2 – 1:3.

Таблиця 8.3

**Ознаки відмінності клітин піхвового епітелію та епітелію  
слизової оболонки порожнини рота**

Bukalnyj epitelij	Pikhvoviy epitelij
Середні розміри клітин	
83-88 мкм	63-67 мкм
Середні розміри ядер	
11-14 мкм	7-11 мкм
Наявність складок цитоплазми	
біля 50% мають грубі паралельні складки	складок не має
Наявність включень у цитоплазмі	
цитоплазма близько 97% клітин містить білкові гранули	білкові гранули відсутні

Закінчення табл. 8.3

<b>Букальний епітелій</b>	<b>Піхвовий епітелій</b>
Наявність глікогену в цитоплазмі клітин	
дуже рідко, в кількості на “+”	завжди присутній в кількості від “+” до “++++”
Наявність навколо ядра просвітлення просвітлення відсутнє	блізько 30% має просвітлення
Характер цитоплазми	
пошарована, зафарбована рівномірно, неінтенсивно	грубозерниста, фарбування нерівномірне
Наявність деформованих клітин	
бувають дуже рідко	трапляються нерідко, клітини часто мають підвернуті краї цитоплазми
Наявність слинних тілець	
можуть бути присутні	не бувають
Мікробна flora	
поліморфна	моноформна, часто присутні палички Дедерлейна
Характер епітеліальних клітин	
клітини, в основному, однотипні	часто трапляються клітини різних шарів епітелію
Вигляд клітин при люмінесцентній мікроскопії (фарбування АО)	
цитоплазма неяскрава, молочно-зеленувата	цитоплазма яскравого зеленого кольору

При фарбуванні амідо-чорним ядро фарбується в інтенсивно фіолетовий колір, хроматинова сітка якого не визначається. Цитоплазма — блакитно-фіолетова, навколо ядра відмічається дрібна нечисленна базофільна зернистість із нечіткими контурами. Для діагностики наявності клітин прямої кишкі з 0,1% вирогідністю в дослідженному матеріалі необхідно знайти принаймні 7 клітин із вищезазначеними ознаками [79].

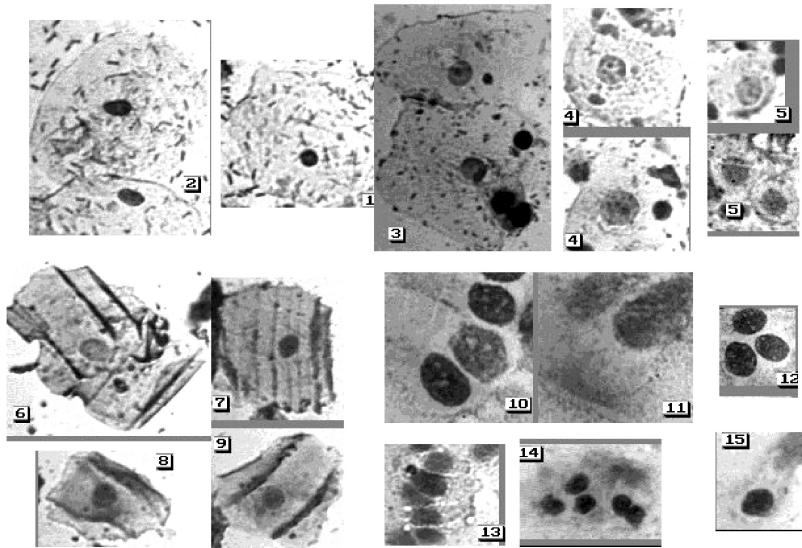


Рис. 8.12. Диференціація клітин епітелію піхви, слизової оболонки порожнини рота та слизової оболонки прямої кишки:

1-5 — клітини епітелію піхви; 1-3 — клітини поверхневого шару; 4 — клітини проміжного шару; 5 — парабазальні клітини; 6-9 — клітини слизової оболонки порожнини рота; 10-15 — клітини слизової оболонки прямої кишки (фарбування азур-еозиновою сумішшю, об.20х)

Отже, при встановленні регіонального походження клітин, знайдених на статевих органах підозрюваного у згвалтуванні, треба звертати увагу на такі моменти:

- морфологія епітеліальних клітин;
- цитохімічні особливості клітин:

- 1) наявність глікогену в цитоплазмі клітин при походженні клітин зі слизової оболонки піхви;
- 2) наявність білкових гранул у цитоплазмі клітин при походженні клітин зі слизової оболонки ротової порожнини;
  - визначення належності клітин особі жіночої генетичної статі;
  - мікробна flora, її кількість, характер, наявність паличок Дедерлейна, порівняння з цитологічною картиною піхвового вмісту потерпілої;
  - наявність характерних домішок: слинні тільця, елементи копрокультури та ін. (рис. 8.14).

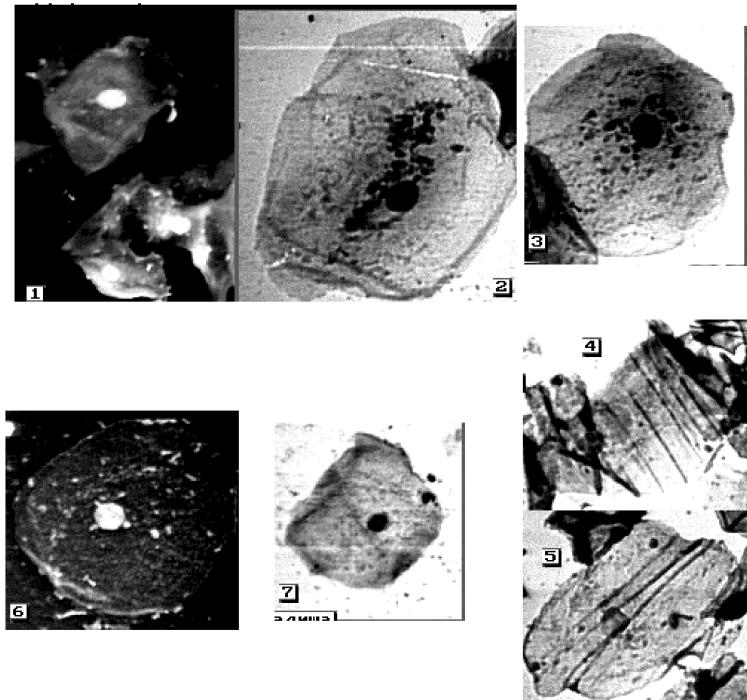


Рис. 8.13. Диференціювання клітин слизової оболонки порожнини рота та піхви:

1-5 — клітини слизової оболонки порожнини рота; 6, 7 — клітини слизової оболонки піхви; 1, 6 — фарбування акридиновим оранжевим (мікроскоп люмінесцентний, об. 20x); 2, 3, 7 — фарбування амідо-чорним (світловий мікроскоп, об. 20x); 4, 5 — фарбування азур-еозиновою сумішшю (світловий мікроскоп, об. 20x)

5. Оцінка результатів дослідження та варіанти висновків експерта у повній мірі подані в методичних рекомендаціях “Визначення регіонального походження клітин при судово- медичній експертізі підозрюваних у статевих злочинах” [11].

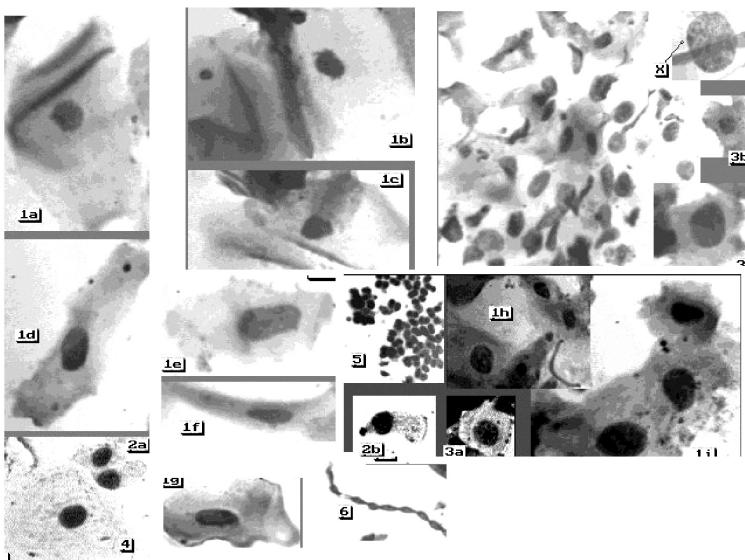


Рис. 8.14. Змив зі статевих органів чоловіка (експертний матеріал):  
 1а—1i — клітини слизової оболонки порожнини рота; 2а, 2b, 3а, 3b — клітини слизової оболонки прямої кишki; 4 — клітина піхвового епітелію; 5 — зерна крохмалю; 6 — дріжджові грибки (світлова мікроскопія, фарбування азур-еозиновою сумішшю, об. 20x, 40x, 90x)

## Розділ 9

### ВИЗНАЧЕННЯ РЕГІОНАЛЬНОЇ І ОРГАННО-ТКАНИННОЇ НАЛЕЖНОСТІ КЛІТИН

Встановлення органної належності клітин, розташованих у препараті пластами, можливе за умови збереження структурних особливостей органа, із якого вони походять. При дослідженні ізольованих клітин, як правило, можливе встановлення їх тканинної, рідше — регіональної і дуже рідко — органної належності. Це пов’язано з тим, що до складу будь-якого органа входить декілька типів тканин, причому тільки одна з них є специфічною. Клітини цієї тканини, виконуючи основну функцію органа, стають морфологічно спеціалізованими. Проте рядом авторів відзначається, що навіть ці спеціалізовані клітини, які належать до одного і того ж типу тканини (наприклад епітеліальної), мають значну подібність між собою, хоча і походять з різних органів. Тому дігностування органного походження клітин базується як на морфологічних ознаках, так і на використанні цитохімічних методів дослідження. Зокрема, широке застосування в практиці набув метод фарбування препаратів флюорохромом-акридиновим оранжевим (АО), який належить до метахроматичних люмінесцентних барвників та диференційовано фарбує ДНК і РНК-структурі, і при цьому в клітинах чітко зберігаються морфологічні особливості.

Розглянемо морфологічні особливості клітин різних органів та їх вигляд при фарбуванні клітин акридиновим оранжевим.

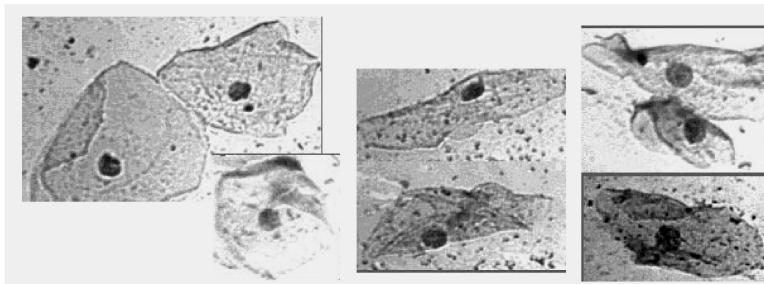
#### 9.1. КЛІТИНИ ПІХВОВОГО ЕПІТЕЛІЮ

Цитоморфологічні властивості клітин різноманітних шарів епітелію піхви при фарбуванні акридиновим оранжевим мають такі особливості:

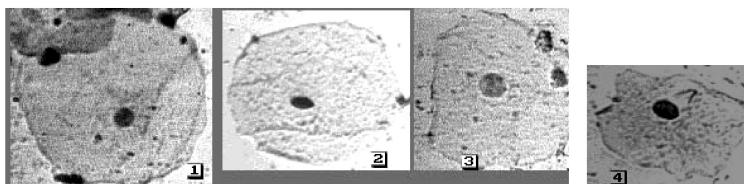
а) клітини поверхневого шару залежно від фази менструального циклу можуть виглядати таким чином:

— фолікулінова фаза — ядро і цитоплазма мають зелений колір, розташуються клітини частіше окремо, підгорнутість країв слабко виражена;

— лютейнова фаза — ядро зелене, цитоплазма — червонясто-коричнева, розташовуються клітини групами і пластами, підгорнутість країв значно виражена (рис. 9.1);



Лютейнова фаза



Фолікульнова фаза

Рис 9.1. Клітини незроговілого багатошарового плоского епітелію піхви  
1, 2 — клітини власне поверхневого шару; 3, 4 — клітини глибокого поверхневого  
шару. Фарбування азур-еозиновою сумішшю (об. 20x)

б) клітини проміжного шару — ядро пофарбоване в зелений колір, цитоплазма у фолікульній фазі зелена, у лютейновій фазі циклу і при вагітності — кольору “сушеного листя тютюну”, клітини трапляються поодинці і групами, нерідко спостерігається підгорнутість країв, особливо при вагітності, коли клітини набувають човноподібну форму;

в) клітини парабазального шару — ядра ясно-зелені з 1-2 дрібними яскраво-зеленими ядерцями, цитоплазма — цегляно-червона, дуже рідко — зеленувата, клітини лежать частіше окремо, можуть зустрічатися й у групах із 1-2-х клітинних шарів. У менопаузі парабазальні клітини мають різні розміри, але зберігають описані ознаки;

г) клітини базального шару — ядра зелені або жовті, іноді з 1-2 зе-

леними невеличкими ядерцями, цитоплазма — червона. У менопаузі клітини з'єднані в значні комплекси у вигляді пластів, що складаються нібіто тільки з ядер. В нормі клітини базального шару в мазку не трапляються. При менструації — лише поодинокі.

Відмічено, що при ушкодженні і відмиранні клітин колір цитоплазми та ядра змінюється в червону сторону.

Як уже було відмічено раніше, для встановлення піхвової природи епітеліальних клітин використовують ще один цитохімічний тест — визначають вміст глікогену в цитоплазмі епітеліальних клітин проміжного і поверхневого шару. Для цього препарати обробляють парами йоду за методом Мака і досліджують їх у прохідних видимих променях, використовуючи об'єктиви 10x, 20x, 40x (рис. 9.2). Клітини, які містять глікоген, являють собою епітеліальні клітини, цитоплазма яких забарвлена у коричневий колір, а ядро — безбарвне у вигляді кульки. При мікроскопії препаратів звертають увагу на вміст глікогену в цитоплазмі, на його морфологічні особливості (у вигляді пилу, зерен, рівномірний або нерівномірний розподіл). Вміст глікогену виражається символами: (+) — вміст малий, лише окремі включення світло-коричневого кольору; (++) — середній вміст, цитоплазма дифузно коричнювата; (+++) — великий вміст, цитоплазма коричнева; (++++) — дуже великий вміст глікогену, цитоплазма темно-коричнева. Наявність у клітинах глікогену в невеликій кількості ще не є абсолютною ознакою їх вагінального походження, тому що і в глибоких шарах клітин поверхневого шару слизовові оболонки пірожнини рота й у клітинах уретри здорових статевозрілих чоловіків може міститись невелика кількість глікогену.

Звідси і випливає необхідність порівняльного дослідження контролючих препаратів вмісту човноподібної ямки чоловіка. Відсутність при дослідженні слідів у поверхневих клітинах глікогену не виключає їх вагінальної природи, тому що під впливом зовнішніх чинників глікоген може розчинитися або зазнати ферментативного розщеплення.

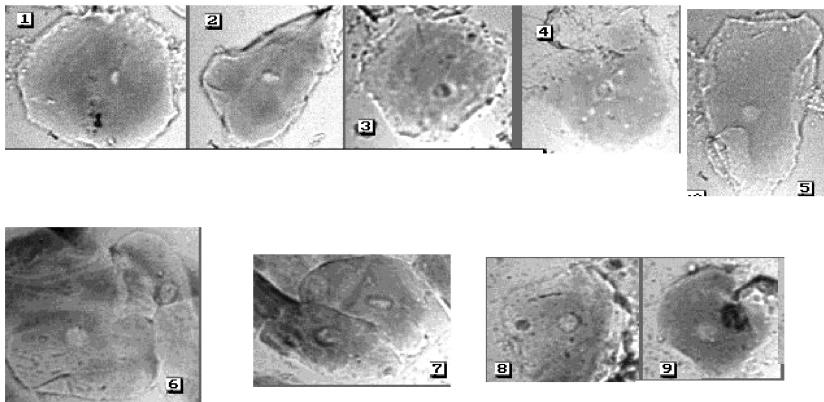


Рис 9.2. Глікогенвмістимі клітини піхви

1-3 — вміст глікогену на ++; 4, 5 — вміст глікогену на +; 6, 8 — вміст глікогену на +++; 7, 9 — вміст глікогену на +++++ (фарбування парами йоду, світловий мікроскоп, об. 20x)

## 9.2. КЛІТИНИ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ПОРОЖНИНИ РОТА

Слизова оболонка порожнини рота складається з 4-х шарів незроподібного багатошарового плоского епітелію — паросткового (базального), парабазального, проміжного та поверхневого. У нормі не виявляє ознак ороговіння. Звичайно відторгуються клітини поверхневого і проміжного шарів, клітини парабазального шару можуть відторгнутися лише при травмі.

Клітини поверхневого і проміжного шарів слизової оболонки порожнини рота представлені великими клітинами полігональної форми. Цитоплазма клітин пишна, легко збирається в складки. Ця складчастість цитоплазми є характерною ознакою епітеліальних клітин слизової оболонки порожнини рота. Ядра — частіше овальні, рідше — округлої форми, розташовуються, в основному, ексцентрично. При фарбуванні АО цитоплазма клітин мутно-зелена, ядра — рожеві або жовтувато-зелені. 97% клітин букального епітелію містять у цитоплазмі включення білка у вигляді численних, інтенсивно забарвлених гранул неправильної форми, які розташовуються навколо ядра (50%

клітин) або в різноманітних ділянках цитоплазми. Дані включення виявляються в клітинах при фарбуванні барвником амідо-чорним 10Б (див. рис. 8.13; 8.14).

### **9.3. КЛІТИНИ СЛИЗОВИХ ОБОЛОНОК ВЕРХНІХ ДИХАЛЬНИХ ШЛЯХІВ ТА ЛЕГЕНЬ**

Трахея і великі бронхи вистелені багаторядним циліндричним епітелієм. По мірі зменшення діаметру бронхів циліндричний миготливий (війчастий) епітелій стає дворядним, потім однорядним, а в дрібних бронах — кубічним. Серед клітин миготливого (війчастого) епітелію у незначній кількості трапляються келихоподібні клітини. Клітини війчастого епітелію бронхів мають видовжену форму, один кінець широкий та плоский, закінчується кутикулярним обідком, від цього обідка відходять війки світло-зеленого кольору. Другій кінець подовжений, у вигляді конуса. При фарбуванні АО цитоплазма світиться зеленим кольором і має ніжну пилкоподібну зернистість червоного кольору. Ядро велике, овальної форми, розташоване ексцентрично, займає увесь поперечник клітини, фарбується в жовто-зелений колір. Келихоподібні клітини за формуєю нагадують келих, не мають кутикулярного обідка і війочок. Периферійна частина їх часто вакуолізована (рис. 9.3). У бронхіолах кубічний епітелій уже не має миготливого апарату. Дані клітини невеликих розмірів, трохи більші за лейкоцити. Цитоплазма однорідна, ядра розташовані по центру, чітко контуровані. Ізольовані клітини круглі або овальні, схожі на базальні клітини.

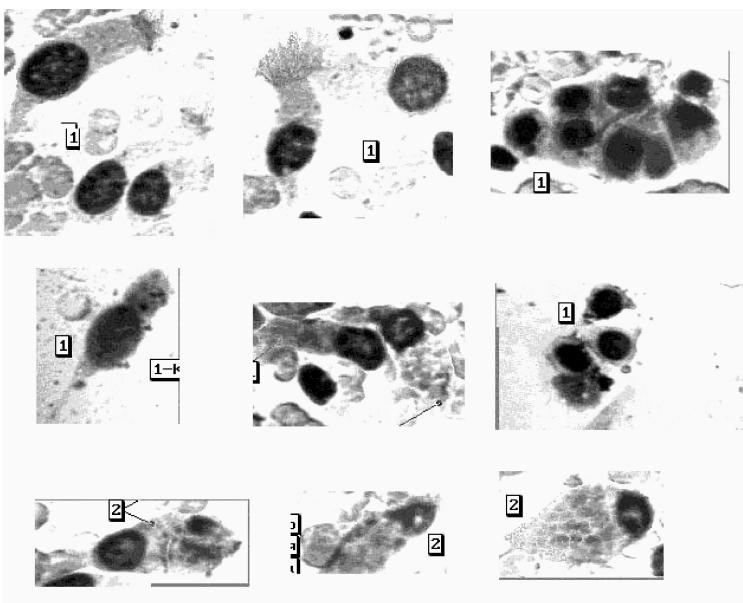


Рис. 9.3. Епітелій бронхів

1. Клітини циліндричного (в'ячастого) епітелію; 2. Келихоподібні клітини. Світлова мікроскопія, фарбування азур-еозиновою сумішшю, об.20х, 40х

Стінки альвеол легень покриті епітеліальним покривом, який має своєрідні риси. Клітини не утворюють суцільного клітинного вистилання внутрішнього простору альвеоли, а розташовуються невеликими острівцями, залишаючи значні за розміром вільні ділянки. Клітини, які знаходяться в просвіті альвеол та наповнені пиловими та клітинними включеннями, більшістю цитологів включаються в групу гістіоцитарних елементів і об'єднуються за назвою “альвеолярні макрофаги”. Дані клітини добре розпізнаються за вмістом в їх цитоплазмі різноманітних включень (вугільний пил, пігмент, залишки клітин). Ці клітини мають достатньо великі розміри, округлу або овальну форму, при невеликій кількості пігменту цитоплазма виявляється ніжнопінистою. Ядра клітин розташовуються ексцентрично, бувають округлими, овальними, рідше — бобоподібними. Альвеолярні макрофаги часто мають два або більше ядер різноманітного або однакового розміру, які люмінесціють зеленим кольором, ядерець не містить. Цитоплазма має неяскраву сірувато-зелену люмінісценцію,

на тлі якої добре проглядається дрібна зерністість оранжевого кольору. Можна побачити включення чорного кольору. Малі альвеолярні клітини мають схожість із клітинами кубічного епітелію — вони в середньому менше макрофагів, пінявість цитоплазми слабко виражена. Збарвлення її більш інтенсивне. Контури клітин розпливчасті, але форма їх усе ж визначається як близька до округлої. Трапляються в препаратах також плоскі альвеолярні клітини, які мають округлу або полігональну форму, великі розміри, ядро розташоване центрально або дещо ексцентрично, має округлу або овальну форму.

Антонова С.Н. і співавтори [4] вважають, що за наявності в препаратах клітин циліндричного епітелію, альвеолярних макрофагів, малих альвеолярних клітин та плоских епітеліальних клітин, можна стверджувати, що знайдена легенева тканина (рис. 9.4).

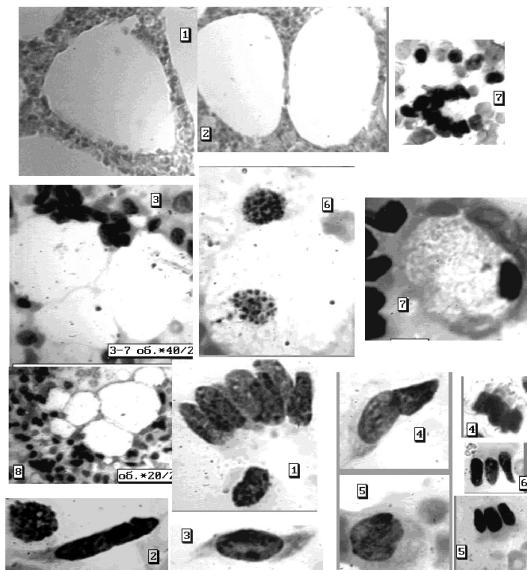


Рис. 9.4. Легенева тканина

1, 2 — гістологічні препарати (світлова мікроскопія, фарбування гемотоксиліном, об. 20х); 1-8 — цитологічні препарати (світлова мікроскопія, фарбування азур-еозиновою сумішшю, об. 20х, 40х); 1-5 — клітини циліндричного епітелію; 6, 7 — альвеолярні макрофаги (світлова мікроскопія, фарбування азур-еозином)

#### 9.4. КЛІТИНИ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ СТРАВОХОДУ

Слизова оболонка стравоходу вистелена плоским незроговілим епітелієм, а тому в цитологічних препаратах, в основному, виявляються клітини плоского епітелію, які за морфологічними ознаками подібні до клітин проміжного шару епітелію слизової оболонки піхви і трапляються в препаратах у вигляді пластів, скучень або ізольовано. Дуже рідко в таких препаратах можуть бути знайдені поодинокі клітини кубічного, циліндричного або залозистого епітелію. Ніяких специфічних клітин у препаратах слизової оболонки стравоходу не відмічається (рис. 9.5).

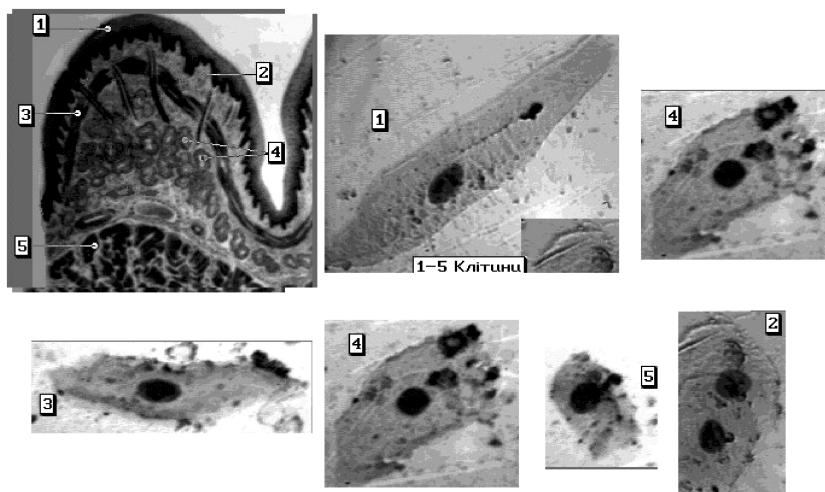


Рис.9.5. Слизова оболонка стравоходу.

Схема слизової оболонки стравоходу:

1 — слизова оболонка; 2 — власна пластинка слизистої; 3 — м'язова пластинка слизистої; 4 — залози стравоходу; 5 — м'язова оболонка стравоходу. **Фото 1-5** — цитологічні препарати стравоходу — клітини багатошарового плоского незроговіленого епітелію (світлова мікроскопія, фарбування азур-еозиновою сумішшю, об. 40х)

## **9.5. КЛІТИНИ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА ТА КІШЕЧНИКА**

Слизова оболонка шлунка та кишечника вистелена однорядним циліндричним епітелієм, який продукує мукоїдний секрет. Більш широкі кінці клітин, звернені до просвіти шлунка, ослизнені, що пов'язано з великою кількістю мукоїду, який в них міститься. Дуже часто ці клітини не мають добре окресленого контуру на її широкому кінці. Наявні добре збережені злущені клітини слизової оболонки, що мають подовжену дещо конічну форму і подібні до циліндричного миготливого (війчастого) епітелію бронхів. Залежно від активності секреторної діяльності клітини відбувається ослизнення її апікальної частини. Це веде до зниження стійкості клітини до зовнішніх впливів, а тому апікальний кінець клітини часто виглядає розкуювдженим або обірваним. Ядро в даних клітинах овальне, ніжко окреслене, з ніжкою сіткою хроматину, який слабко сприймає фарбування. Процеси некрозу та протеолізу, ушкоджуючи клітини епітелію, які відірвалися, нерідко змінюють їх розміри і форму. Клітини виглядають більш короткими і широкими. Клітини циліндричного епітелію можуть траплятись в препаратах у різноманітній проекції — при погляді з боку полюсів вони подібні до клітин плоского епітелію глибоких шарів, мають шестикутну форму, ядро здається розташованим центрально — нагадує стільники. При вивченні у бічній проекції, клітини мають не цілком правильну чотирикутну форму зі злегка закругленими кутами, ядро велике, займає майже весь поперечник клітини, розташоване ексцентрично, нагадує частокіл (рис. 9.6; 9.7). При фарбуванні АО ядро ізольовано розташованих клітин має жовто-зелений колір, цитоплазма — буро-зелена чи світло-червона.

При диференціюванні слідів, які виникли при травмуванні шлунка або кишечника, у слідах на знаряддях травми можуть бути знайдені характерні клітини слизових оболонок шлунково-кишкового тракту — клітини (циліндричного) призматичного епітелію, які за морфологічними ознаками один від одного дуже мало відрізняються. З метою їх диференціації А.Л.Федоровцевим [79] було запропоновано дослідження ферментів. На основі проведених ним експериментів було доведено, якщо в слідах-накладаннях знайдені клітини призматичного епітелію, виявлені амілаза та пепсин, то сліди утворились при травмуванні шлунка; якщо виявлені протеази, активні при pH 8,0, то сліди походять із кишечнику, якщо ж виявлені жовчні кислоти, то дані сліди утворилися при травмуванні тонкої кишки.

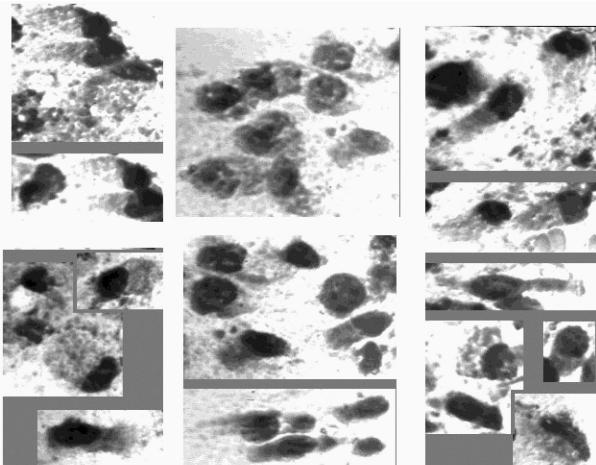


Рис. 9.6. Клітини слизової оболонки шлунка  
Однорядний циліндричний епітелій (світлова мікроскопія, фарбування азур-еозиновою сумішшю, об. 20х, 40х)

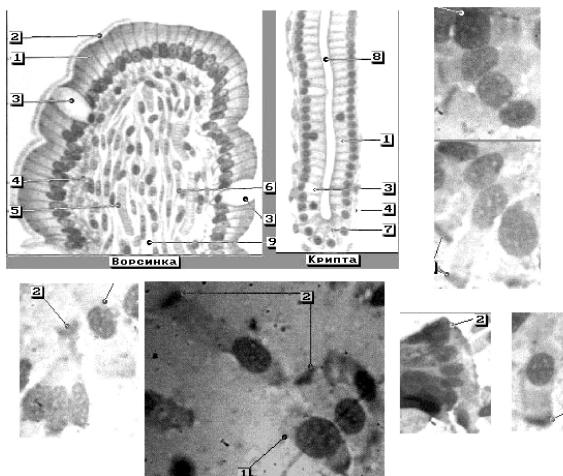


Рис. 9.7. Слизова оболонка тонкої кишки

1 — клітини циліндричного епітелію; 2 — висмоктувальна кайомка; 3 — келихоподібна клітина; 4 — власна пластинка слизової оболонки; 5 — кровоносна судина; 6 — клітини непосмугованої м'язової тканини; 7 — ацидофільні клітини; 8 — просвіт крипти; 9 — лімфатична судина

## 9.6. КЛІТИНИ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ПРЯМОЇ КИШКИ

Пряма кишка (рис. 9.8) вистелена одношаровим низьким циліндричним (призматичним) епітелієм, нижче аноректальної лінії — не-зроговілим багатошаровим плоским епітелієм, який по мірі наближення до зовнішнього отвору, переходить у зроговілий багатошаровий плоский епітелій.

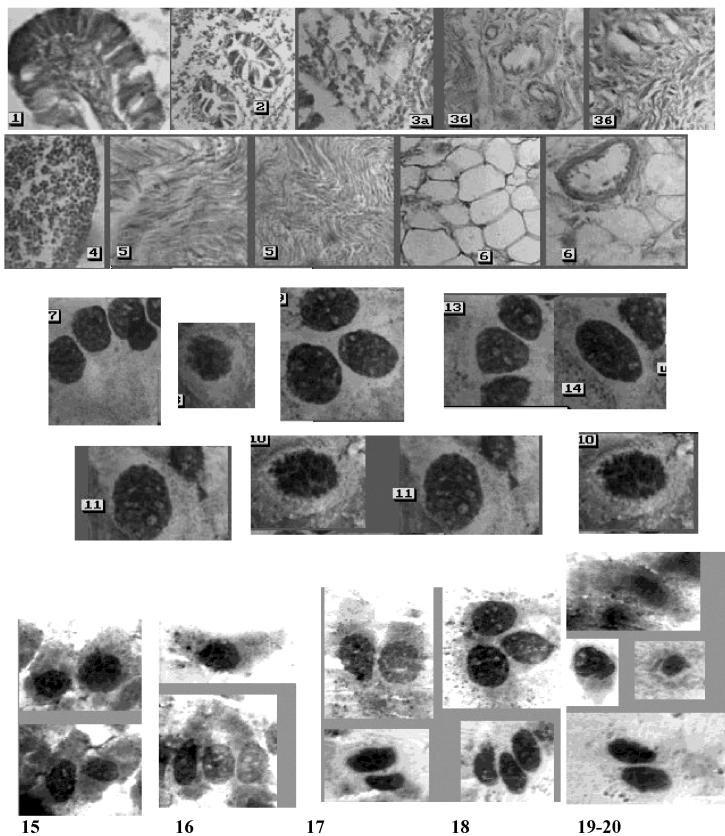


Рис. 9.8. Слизова оболонка товстої та прямої кишки

1-6 — гістологічні препарати; 1 — ворсинка; 2 — крипти; 3а — власна пластинка слизової оболонки; 3б — м'язова пластинка слизової оболонки; 4 — лімфатичний вузлик; 5 — м'язовий шар; 6 — жирова тканина; 7-20 — цитологічні препарати; 7-14 — клітини товстої кишки; 15-20 — клітини прямої кишки

Специфічні клітини ректального епітелію — невисокі і вузькі, на апікальному полюсі мають щіткові кайомки та замикаючі пластинки. У глибині крипт клітини більш низькі, без кайомки, зрідка містять аргірофільну зернистість. Призматичний епітелій у мазках виявляється як у вигляді невеликих пластів, так і ізольовано. Клітини однорідні, із чітко окресленими округлими або овальними ядрами з рівномірно розподіленим у них хроматином. Зрідка в слизовій оболонці прямої кишки трапляються келихоподібні клітини, які виробляють слиз. Це округлі клітини з невеличкими гіперхромними ядрами і вузьким обидком цитоплазми, в іншій, розширеній частині клітин при фарбуванні муцикарміном виявляється слиз.

Клітини багатошарового плоского епітелію мають виражену полігональну форму, ядро — овальне, розташоване центрально, ядерно-цитоплазматичне співвідношення — 1:3. При фарбуванні акридиновим оранжевим ядра мають жовто-зелений колір, цитоплазма — буро-зелена чи світло-червона.

## 9.7. КЛІТИНИ ПЕЧІНКИ

Характерними клітинами печінки є печінкові клітини (гепатоцити) та клітини покривного епітелію жовчних протоків (рис. 9.9). Гепатоцити — клітини полігональної або округлої форми з чіткими контурами, середніх розмірів. Ядра клітин невеликі, округлої форми, часто ексцентрично розташовані, містять 1 ядерце. У 20% випадків трапляються клітини з 2-ма ядрами. Цитоплазма гепатоцитів іноді вакуолізована, при фарбуванні азур-еозиновою сумішшю здається гомогенною, при фарбуванні АО має червоне світіння із жовтогарячим або цегельним відтінком, часто у вигляді великих брилок червоного кольору, які зливаються між собою.

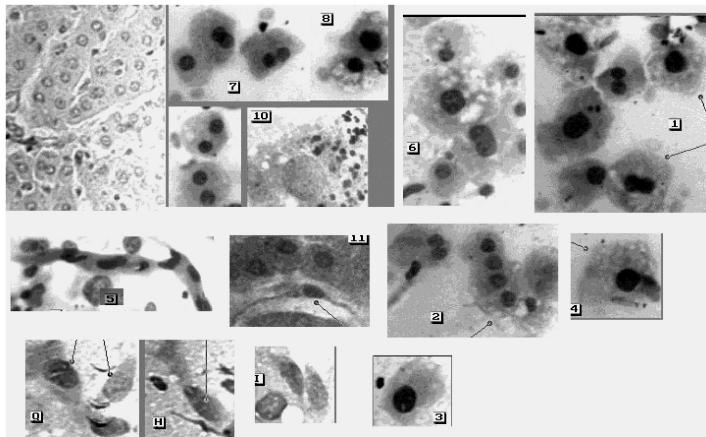


Рис. 9.9. Клітини печінки.

Гістологічний препарат та цитологічні препарати (фото 1-11, Q, H, I)

1-3, 4,6-9 — гепатоцити; 5 — капіляр; 10 — гранули гемосидерину; 11 — зірчастий ретикулоендоціїт. Q, H, I — циліндричний епітелій. Світлова мікроскопія, фарбув. азур-еозиновою сумішшю, об.20х, 40х

У цитоплазмі, переважно навколо ядра, трапляються включення чорного кольору. Ядра при фарбуванні АО — зелені або жовтувато-зелені, ядерце — жовтогаряче. Гепатоцити за морфологією подібні до клітин мезотелію, але останні при фарбуванні АО не мають у цитоплазмі великих брилок червоного кольору. Клітини покривного епітелію жовчних протоків представлені високими неправильно циліндричними або неправильно призматичними клітинами, округлі ядра яких розташовуються в базальних відділах, а в апікальних відділах клітини міститься зернистість. Іноді в препаратах трапляються т.зв. купферівські клітини, які за розмірами менші за гепатоцити, мають округлу або витягнуту форму, ядро збільшене у порівнянні з печінковими клітинами і цитоплазма має включення у вигляді дрібної рожевої зернистості при фарбуванні АО.

## **9.8. КЛІТИНИ МЕЗОТЕЛІЮ**

Внутрішні порожнини організму людини (плевральна, черевна, спинномозкова), а також ендокард вистилає мезотелій. Клітини мезотелію округлі, полігональної форми або у формі неправильних трикутників і ромбів із центрально, а нерідко і ексцентрично розташованим ядром (одним або декількома). Ядро кругле або овальне з пухкою хроматиновою сіткою. При фарбуванні за Паппенгеймом: ядро має червонувато-фіолетовий колір, цитоплазма — синього кольору. При фарбуванні АО: ядро — зелене, цитоплазма — червоного кольору, гомогенна. Клітини, які відокремлюються, поступово дегенерують, тобто набухають, відбувається жирове (крапля жиру) або гідропічне (вакуоля наповнена прозорою рідиною) переродження цитоплазми. Якщо в препаратах знайдені мезотеліальні клітини, то це підтверджує той факт, що поранення було проникаючим.

## **9.9. КЛІТИНИ НИРКОВОГО ЕПІТЕЛІЮ**

У препаратах нирок людини трапляються клітини кубічного, плоского та циліндричного епітелію. Мономорфні клітини кубічного епітелію мають неправильно прямокутну форму, ядра частіше округлої форми, розташовані ексцентрично (рис. 9.10; 9.10 а). При фарбуванні АО дані клітини фарбуються таким чином: цитоплазма клітин сірувато-зелена, іноді в ній помітна пиловидна зернистість червонуватого кольору, ядра — жовтувато-зелені. Клітини плоского епітелію мають полігонально витягнуту форму, ядро овальне, трапляються клітини з двома ядрами. Цитоплазма клітин зерниста, містить дрібні та великі вакуолі. Клітини циліндричного епітелію трапляються дуже рідко.

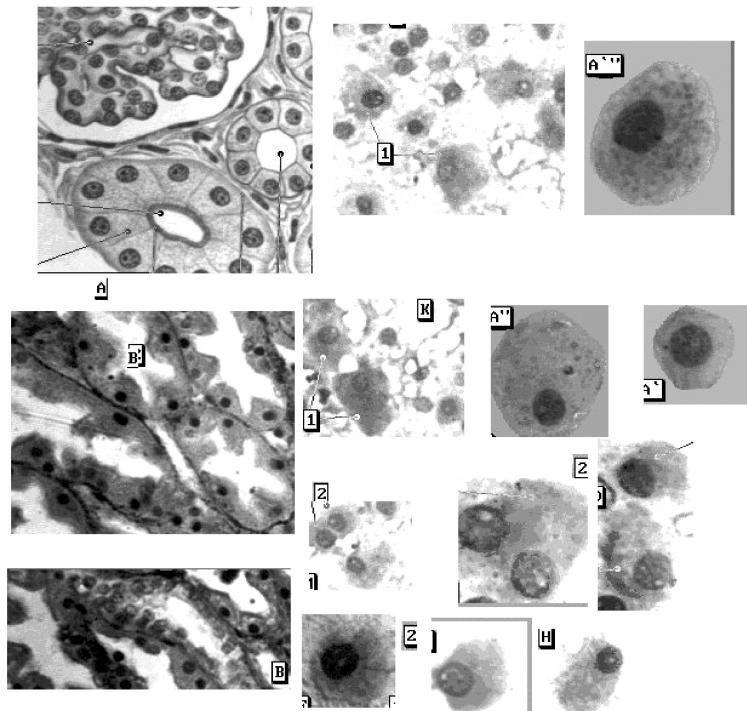


Рис. 9.10. Клітні епітелію нирки

А — схема нефрони; В — гістологічні препарати; 1,2, А'', З, Н — цитологічні препарати (об. 20х, 40х); 1 — великі канальцеві клітини; 2 — канальцеві клітини малої генерації; А'' — кубічний епітелій нирок

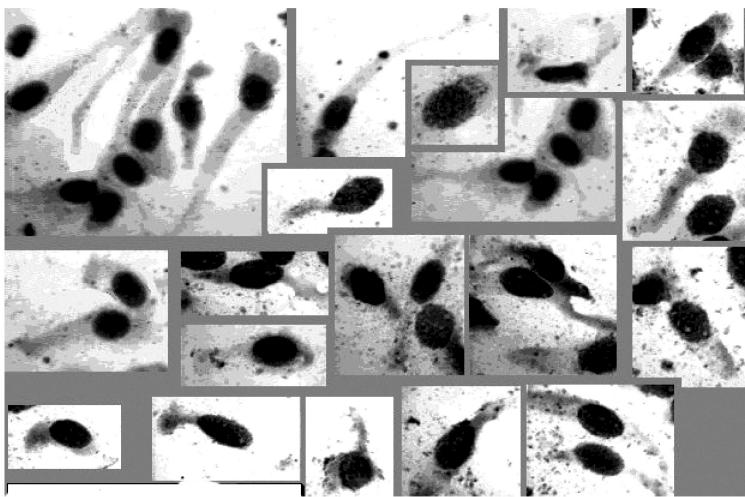


Рис. 9.10а. Цитологічні препарати епітелію слизової оболонки  
ниркової миски  
(світлова мікроскопія, фарбування азур-еозиновою сумішшю, об. 40х)

## 9.10. КЛІТИННІ ЕЛЕМЕНТИ СЕЛЕЗІНКИ

Основну масу клітин у препаратах селезінки (рис. 9.11), так само як і лімфатичних вузлів, складають клітини лімфатичного ряду (60-85 %) і клітини ретикуло-ендотеліального походження (2-5%). Постійними для селезінки є зрілі лейкоцити. Особливостей при фарбуванні клітин селезінки АО не виявлено.

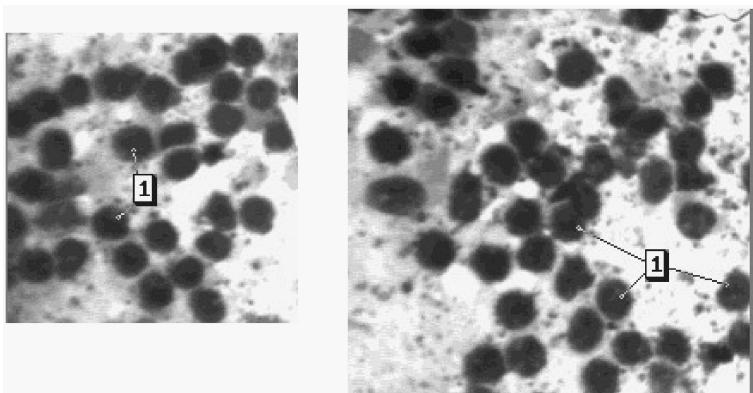


Рис. 9.11. Цитологічні препарати селезінки

1 — лімфоцити (фарбування азур-еозиновою сумішшю, світлова мікроскопія, об. 90x)

## 9.11. КЛІТИНИ НЕРВОВОЇ ТКАНИНИ

Нервова тканина представлена нейронами та клітинами нейроглії. Специфічними для нервової тканини є нейрони кори великих півкуль головного мозку (рис. 9.12). Це відросчасті багатокутні клітини великих розмірів із великим ядром. При фарбуванні АО нейрони чітко виділяються своїм яскраво-червоним світінням на зеленому тлі препарату. Цитоплазма має великі відростки (аксони) та складається з дрібних червоних брилок, які зливаються (субстанція Нісселя). Ядра клітин округлі, брилчасті, жовтувато-померанчеві, немовби “строкаті”, містять померанчево-червоне велике ядерце. Клітини нейроглії представлені окрім розташованими ядрами зеленого кольору різної форми та розмірів. При дослідженні мікронакладень виявляються клітинний склад нервової тканини (рис. 9.13).

## 9.12. КЛІТИНИ М'ЯЗОВОЇ ТКАНИНИ

У м'язовій тканині виділяють посмуговану (скелетну) м'язову тканину, непосмуговану та серцеву посмуговану м'язову тканину (див. рис. 3.19; 3.20). Клітини скелетної м'язової тканини мають видовжену форму значної довжини, ядра у вигляді подовженого овалу або паличок, розташовані близько полюсів, у цитоплазмі клітини добре помітна поперечна смугастість.

Найкраще її можна побачити при фарбуванні азур-еозиновою сумішшю. Треба пам'ятати, що на знаряддях травми під дією зовнішнього середовища дана смугастість швидко може бути втрачена. Експерт-цитолог частіше при вивченні препаратів бачить м'язову тканину у вигляді симпластів без поперечної смугастості.

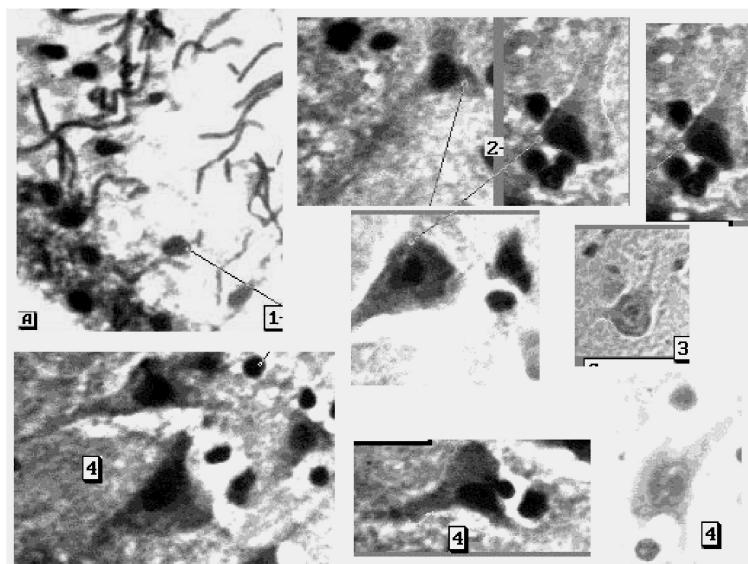


Рис. 9.12. Кора головного мозку

А — гістологічний препарат — молекулярний шар із клітинами глії та кінцевими відділами верхівкових відростків піраміdalних клітин; 1-4 — цитологічні препарати (фарбування азур-еозиновою сумішшю, світлова мікроскопія, об. 40x); 1 — клітини глії; 2 — піраміdalні клітини; 3 — астроцити; 4 — нейроцити

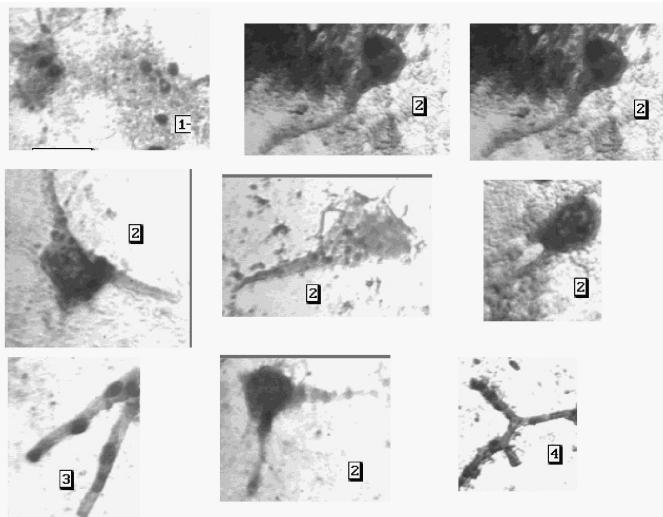


Рис. 9.13. Клітинний склад мікронакладення (експертний матеріал) (фарбування азур-еозиновою сумішшю, світлова мікроскопія, об. 40х)

1 — гля; 2 — нейрони; 3 — нервові волокна; 4 — капіляри

Кардіоміоцити (клітини посмугованої серцевої м'язової тканини) мають вигляд циліндрів довжиною 50-120 мкм, ширину 15-20 мкм з двома або більше ядрами. Клітини між собою об'єднуються вільними кінцями, у місці їх з'єднання є вставні диски, які містять гранули пігменту ліпофусцину. При люмінесцентній мікроскопії гранули світяться зеленим кольором.

Клітини непосмугованої м'язової тканини мають дуже витягнуту веретеноподібну форму, довжиною частіше від 60 до 100 мкм, ширину до 5 мкм, ядра мають паличикоподібну форму, розташовані ексцентрично у розширеній частині клітини. Ці клітини можуть бути знайдені на знарядді травми при травмуванні внутрішніх органів.

### 9.13. КЛІТИНИ ШКІРИ

Шкіра складається з багатошарового плоского зроговілого епітелію (епідермісу) та дерми. У цитологічних препаратах вона може бути представлена роговими лусочками та клітинами шипуватого, базаль-

ного та зернистого шарів епітелію. Найчастіше дані клітини знаходяться в пластиах та групах (рис. 9.14).

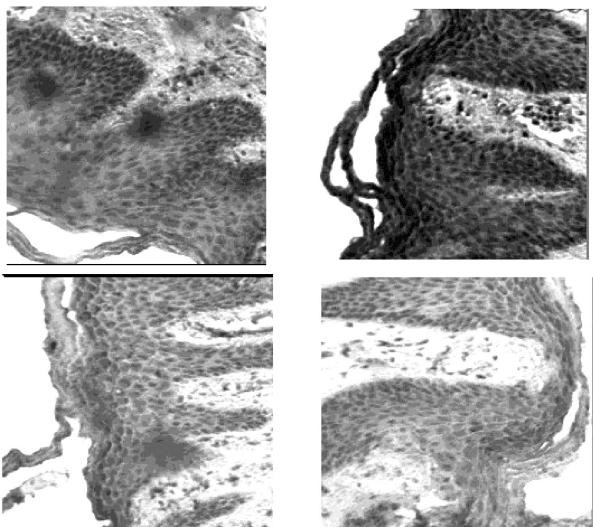


Рис. 9.14. Травматичне відшарування поверхневих шарів епідермісу (світлова мікроскопія, фарб. азур-еозиновою сумішшю, об.20х)

Окремо розташовані клітини шипуватого шару мають крило-подібну форму з одним або двома відростками, ядро округле або неправильно овальне. Клітини базального шару мають конусоподібну форму, тобто один кінець клітини широкий, інший — вузький, ядро велике, овальне. Клітини зернистого шару мають полігональну форму, ядро розташоване на периферії клітини, цитоплазма — зернисто-сітчаста. При фарбуванні АО цитоплазма клітин, в основному, має насичений зелений колір, ядра — жовто-зелені.

У препаратах клітини епідермісу найчастіше трапляються у вигляді скучень та пластів, в яких клітини розташовані одна на одній.

## Розділ 10

# КОЛЬПОЦИТОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Проведення кольпоцитологічних досліджень дає об'ективну інформацію про рівень гормональної активності організму і є одним із критеріїв оцінки статевої зріlosti особи, яка обстежується.

### 10.1. МІКРОСКОПІЧНА БУДОВА СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ПІХВИ

Слизова оболонка піхви вистелена багатошаровим плоским незроговілим епітелієм і складається з таких шарів: базального, парабазального, проміжного і поверхневого (рис. 9.1; 9.2).

Клітини базального шару мають малі розміри (близькі до розміру лімфоциту), округлу форму, інтенсивно забарвлена цитоплазму. Ядро невелике, розташоване ексцентрично. У нормі ці клітини не відтрагаються і в мазок не потрапляють. Вони можуть з'явитися в мазку піхвового вмісту лише при травмуванні слизової оболонки піхви або при запальних захворюваннях.

Клітини нижнього парабазального шару схожі на базальні, мають велике ядро, яке займає майже всю цитоплазму. Клітини верхнього парабазального шару у 2-3 рази більше тих, що лежать нижче, мають великі ядра круглої форми з ніжною хроматиновою сіткою, які розташовуються центрально. Цитоплазма даних клітин фарбується базофільно, діаметр клітин коливається від 15 до 25 мкм. Чим молодша клітина, тим ядро більше. Ядерно-цитоплазматичне співвідношення зміщене на користь ядра. Співвідношення ядра і цитоплазми — 1:1-1:2 (рис. 10.1).

Клітини проміжного шару мають розміри 25-30 мкм, овоїдну або трикутну форму, цитоплазма прозора, базофільних тонів, але меншої інтенсивності, ніж у парабазальних клітин. Ядро відносно невелике, округлої або овальної форми з більш грубою структурою хроматину, розташоване центрально. Співвідношення ядра і цитоплазми — 1:3-1:6.

Клітини поверхневого шару — великі за розміром, мають полігональну форму, розміри — 35-60 мкм, цитоплазма значна сіро-голубих

тонів, прозора. Ядро — невелике, кругле, із грубою структурою хроматину, розташовується центрально. Залежно від розміру, ядра поверхневих клітин діляться: на максимально зрілі з пікнотичним ядром (діаметр 6 мкм і менше, деяко менші від розміру еритроциту) та клітини власне поверхневого шару — менш зрілі, із препікнотичним ядром (діаметр більш 6 мкм). Співвідношення ядра і цитоплазми — 1:10-1:20.

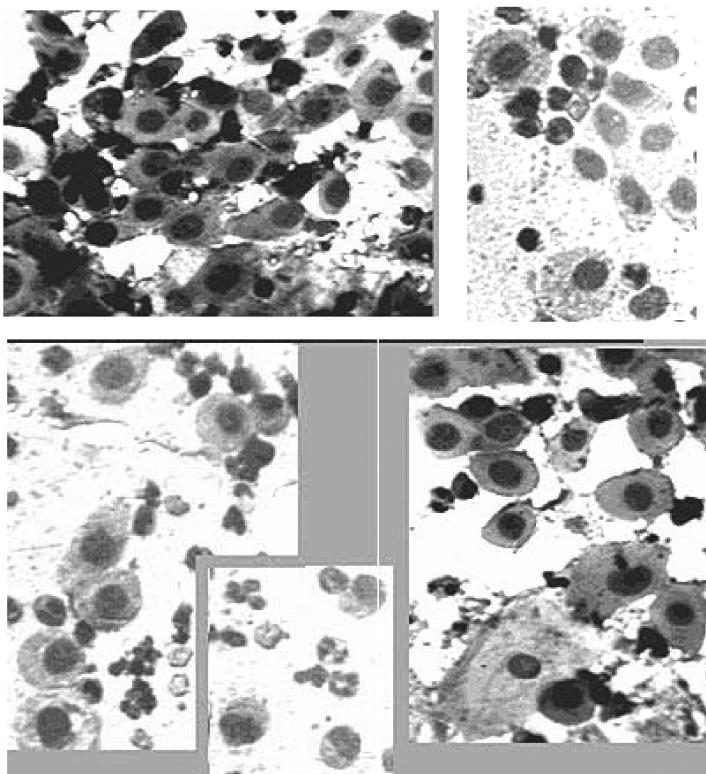


Рис. 10.1. Клітини парабазального шару піхвового епітелію (світлова мікроскопія, фарбування азур-еозиновою сумішшю, об. 20х)

Дозрівання клітин піхвового епітелію (від парабазальних до поверхневих) відбувається під впливом естрогенів. Чим вище їх рівень, тим більше поверхневих клітин у мазку. Чим більше в мазку парабазальних клітин, особливо нижніх рядів парабазального шару, тим ни-

жче естрогенна насиченість організму, тим більший ступінь атрофії слизової оболонки піхви.

## 10.2. ЦИТОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ МАЗКІВ ПІХВОВОГО ВМІСТУ У РІЗНОМАНІТНІ ПЕРІОДИ ЖИТТЯ ЖІНКИ

Мазки новонародженої дівчинки складаються переважно з клітин поверхневого шару, багатих на глікоген, що є результатом впливу естрогенів матері. Через 2-3 тижні в мазках новонародженої починають переважати проміжні і парабазальні клітини. Цитоплазма клітин слабко базофільна, флора змішана, реакція середовища — лужна. Палички Дедерлейна відсутні, а кількість лейкоцитів невелика (рис. 10.2).

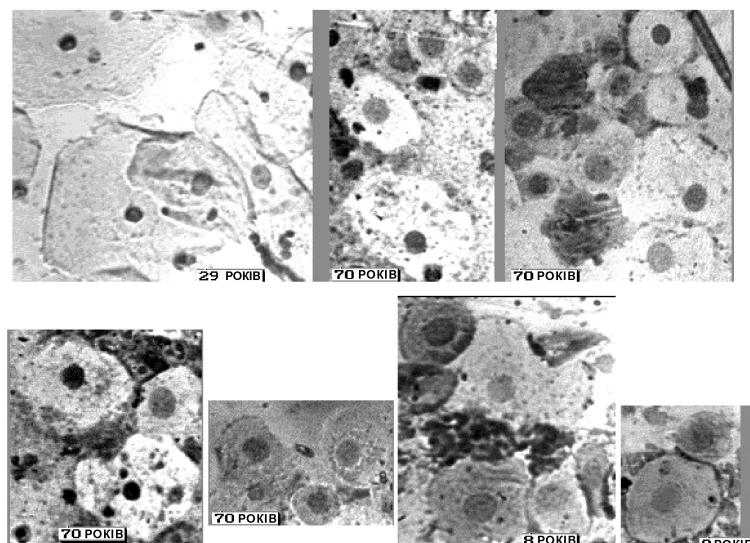


Рис. 10.2. Вікові особливості клітинного складу піхвового епітелію (світлова мікроскопія, фарбування азур-еозиновою сумішшю, об. 20x)

Статеве дозрівання починається у дівчат із 8 років. У 10-14 років з'являються поверхневі клітини, зменшується кількість парабазальних клітин. Ядра поверхневих клітин залишаються великими, цитоплазма еозинофільна, реакція мазку стає кислою, флора — бациальні.

У 15-18 років у мазку піхвового вмісту дівчини клітини поверхневого шару переважають, вони мають значні розміри, добре окреслену цитоплазму, препікнотичне ядро. Збільшується кількість глікогену в цитоплазмі клітин. При досягненні статової зрілості глікогеновий індекс складає 50% і вище. Величини глікогенового індексу в дівчат подані в таблиці 10.1.

Таблиця 10.1

**Величина глікогенового індексу в осіб жіночої статі різноманітних вікових груп**

Вік (роки)	Величина глікогенового індексу (ГІ)					
	11 років	12 років	13 років	14 років	15 років	16 років
M+-m	1,4+-1,5	3,6+-2,3	13,3+-4,4	27,0+-0,8	45,0+-4,9	53+2,4
p	>0,5	>0,2	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

У репродуктивний період життя жінки починається циклічна діяльність яєчника, яка викликає і циклічні зміни в морфологічному складі мазка піхвового вмісту. Під впливом естрогенів гормонів відбувається потовщення функціонального шару слизової оболонки матки, клітини збагачуються глікогеном — настає проліферативна (фолікулінова) фаза менструального циклу. Після овуляції і виникнення жовтого тіла епітелій залоз матки перестає розмножуватися і починає виділяти секрет, кількість глікогену в клітинах зменшується — настає секреторна (лютеїнова) фаза циклу. Після інволюції жовтого тіла функціональний шар ендометрію розпадається, відторгується і виділяється назовні разом із секретом залоз та кров'ю. Залишається базальний шар — джерело регенерації нового шару функціонуючого ендометрію. Ця фаза десквамації і регенерації відповідає менструації (рис. 10.3).

При 28-денному циклі фаза менструації складає 3-5 днів, фаза проліферації (фолікулінова фаза) — 10-11 днів і фаза секреції (лютеїнова фаза) — 13-14 днів.

Зміна клітинного складу піхвових мазків протягом менструально-го циклу подана в таблиці 10.2 [5].

Коливання вмісту глікогену в клітинах піхвового епітелію протягом менструального циклу жінки подані на графіку, де на осі абсцис зазначені дні циклу, на осі ординат — концентрація глікогену в цитоплазмі клітин (рис. 10.4).

Таблиця 10.2

**Показники середніх величин клітинного складу піхвових мазків  
протягом нормального 28-денноого менструального циклу**

Фаза циклу	День циклу	Клітинний склад мазка піхви %		
		Поверхневі	Проміжні	Парабазальні
Менструація	1	17,2	73,6	9,2
	2	14,5	72,7	12,8
	3	12,5	76,2	11,3
Рання фолікулінова фаза	4	27,2	70,5	2,3
	5	43,9	54,3	0,8
	6	60,0	39,7	0,3
Середня фолікулінова фаза	7	74,4	25,6	0
	8	81,2	18,8	0
	9	83,7	16,3	0
Пізня фолі- кулінова фаза	10	86,0	14,0	0
	11	88,5	11,5	0
	12	92,0	8,0	0
	13	94,6	5,4	0
	14	96,5	3,5	0
Рання лютеї- нова фаза	15	90,9	9,1	0
	16	79,4	20,6	0
	17	67,8	32,2	0
	18	62,2	37,8	0
Середня лютеїнова фаза	19	56,7	43,3	0
	20	43,0	57,0	0
	21	33,8	66,2	0
	22	16,2	83,8	0
	23	9,7	90,3	0
	24	18,7	81,3	0
Пізня лютеїнова фаза	25	12,6	87,4	0
	26	6,0	94,0	0
	27	4,4	95,5	0,1
	28	3,9	94,7	1,4

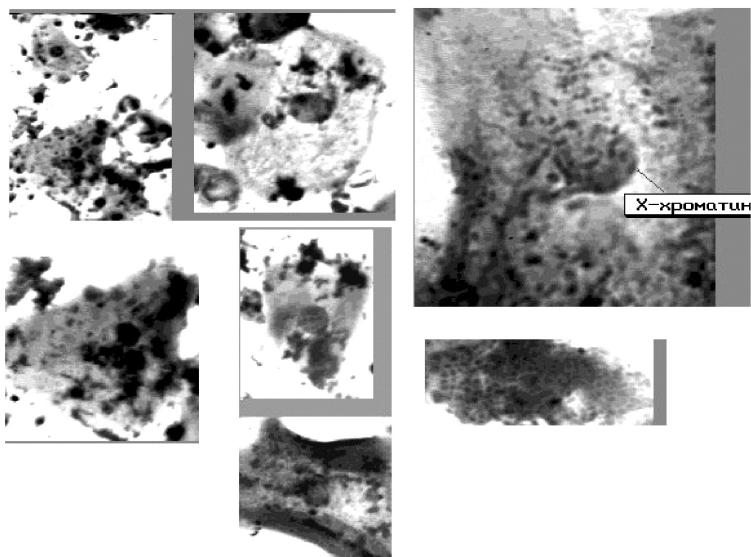


Рис. 10.3. Мазок піхвового вмісту при менструації

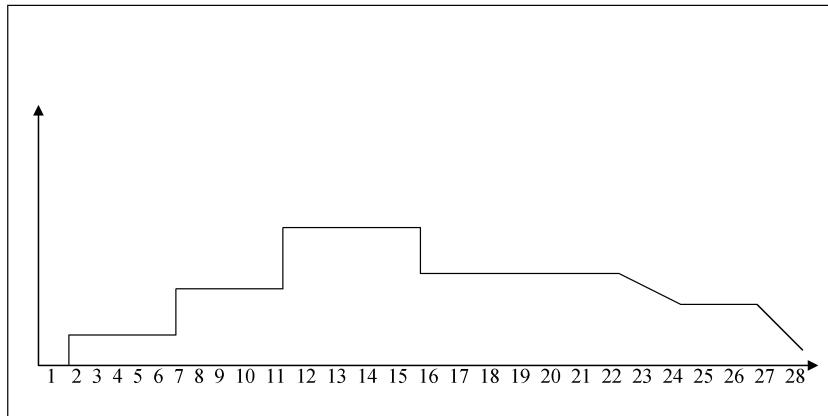


Рис. 10.4. Вікові особливості мазків піхвового епітелію при клімаксі

У клімактеричний період жінки відбувається складна перебудова всіх функцій організму, порушується циклічна діяльність яєчників. Перебудова діяльності яєчників — процес індивідуальний і встано-

вити загальні особливості мазків важко. У зв'язку з цим у клімактеричному періоді жінки виділено 6 типів мазків піхвового вмісту, які розрізняються як фізіологічна норма (рис. 10.5).

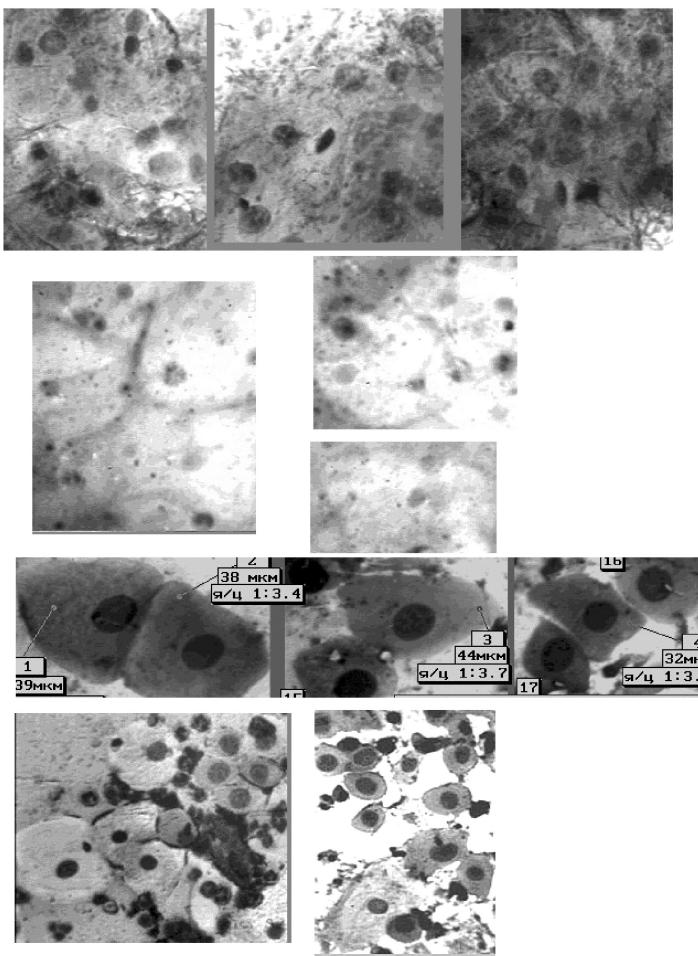
Мазок проліферативного типу: переважають клітини поверхневого типу піхвового епітелію, які розташовуються групами і ізольовано. Каріопікнотичний індекс (КІ) та еозинофільний індекс (ЕІ) високі. Лейкоцитів немає або трапляються дуже рідко. Є палички Дедерлейна. Це мазки естрогенного типу, вони свідчать про високий рівень естрогенів в організмі жінки і трапляються у 25 % жінок.

Мазок проміжного типу: переважають клітини проміжного шару з великими округлими або овальними ядрами. Клітини розташовуються групами або пластами. Трапляються поодинокі клітини поверхневого типу, частіше з круглими ядрами. КІ — від 5 до 15 %. Іноді проміжні клітини стають овальними, ядра збільшуються, набувають інтенсивного забарвлення. У мазках майже завжди є лейкоцити.

Мазок атрофічного типу: переважають клітини парабазального шару піхвового епітелію. Чим більше виражена атрофія, тим менше розмір клітин і ядра займають майже всю цитоплазму. Іноді трапляються проміжні клітини. Клітини поверхневого типу ніколи не буває.

Мазок андрогенного типу: схожий на мазок атрофічного типу, але фон мазка — світлий. До складу мазка входять проміжні клітини з великими ядрами і в невеликій кількості парабазальні клітини. Цитоплазма клітин забарвлена в ніжні базофільні тони. Лейкоцитів немає. Подібні мазки часто супроводжуються підвищеним вмістом 17-кетостероїдів у сечі і трапляються при гіперандрогенії в жінок різного віку.

Мазки змішаного типу: трапляються клітини всіх типів: парабазальні, проміжні, невелика кількість поверхневих із великими ядрами, незначна кількість лейкоцитів. Скоріше даний тип мазка характеризує слабку естрогенну стимуляцію при участі андрогенів, які виробляються корою надниркової залози.



10.5. Види клітинного складу піхви в клімактеричному періоді  
(світлова мікроскопія, фарбування азур-еозиновою сумішшю, об.20х)

1 ряд — мазок цитолітичного типу; 2 ряд — мазок проліферативного типу; 3 ряд — мазок проміжного типу; 4 ряд — мазок атрофічного типу

Мазок цитолітичного типу: на фоні дейтриту трапляються залишки лізованих клітин. Така картина мазка може мати місце і в репродуктивний період життя жінки за наявності значної кількості паличок Дедерлейна, які розплавляють верхні шари слизової оболонки піхви.

Цитоплазма клітин гине, залишаються тільки ядра. Лізису зазнають тільки верхні проміжні і нижні клітини поверхневого шару. Верхній поверхневий шар клітин стійкий до руйнівного впливу паличок Дедерлейна. Трапляється даний тип мазка при нормальному або дещо зниженному естрогеновому або навіть естрогенно-андрогеновому впливі в ранній менопаузі. У більш пізні строки палички в мазку відсутні.

#### **10.4. ЦИТОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ МАЗКІВ ПІХВОВОГО ВМІСТУ ПРИ ВАГІТНОСТІ**

У початкові строки вагітності в мазках піхвового вмісту переважно присутні великі епітеліальні клітини поверхневого шару з пікнотичними ядрами та ацидофільною цитоплазмою. Починаючи з 5-6 тижня вагітності, у мазках піхвового вмісту починають переважати клітини проміжного шару, а з 14-15 тижня стає абсолютном, причому в мазках відмічається наявність значної кількості пластів. Треба також зауважити, що серед проміжних клітин найбільшу кількість складають навікулярні (човноподібні) клітини з ексцентрично розташованим ядром. Отже, на пізніх строках вагітності переважають човноподібні та проміжні клітини у співвідношенні 3:1, і знаходяться вони, в основному, у скрученнях. При такому типі піхвового мазка пологи настають не раніше, ніж через 10 днів. За 8-4 діб до пологів і при зриві вагітності змінюється співвідношення істинно проміжних і навікулярних клітин до 1:1 та збільшується кількість поверхневих клітин. Частина клітин розташована ізольовано, лейкоцити та слиз відсутні. За 2-1 день і в день пологів у мазках піхвового вмісту переважають поверхневі клітини (40-80%), навікулярних клітин уже немає, у невеликій кількості трапляються власно проміжні клітини, зростає кількість лейкоцитів та слизу.

У 15% вагітних жінок виявляється цитолітичний тип мазка, який характеризується, як указано вище, відсутністю морфологічного субстрату, тобто трапляються лише фрагменти ядер, клітинний детрит, лейкоцити і дуже багато паличок Дедерлейна.

## **10.5. ЦИТОЛОГІЧНА КАРТИНА ПІХВОВОГО СЕКРЕТУ ДЛЯ ДІАГНОСТИКИ ДАВНИНИ КРИМІНАЛЬНОГО АБОРТУ**

Дослідження, проведені Зайцевою Є.І. [26], свідчать, що при аборти після внутрішньоматочного введення розчинів риванолу та йоду відмічається зменшення естрогенної насыщеності жінки. Так при введенні риванолу реакція мазка піхвового вмісту знижується до III-II та змішаної реакції, і такі показники зберігаються протягом 4-5 тижнів після аборту, а при введенні йоду — цитологічні показники зменшуються до II, II-III, III-II та змішаної реакції та зберігаються вони протягом 11-15 тижнів. На ступінь зниження цитологічної реакції у жінок після аборту, крім хімічного агенту, впливає також і запальний процес, який нерідко супроводжує аборт.

## **10.6. ТЕХНІКА ПРОВЕДЕННЯ КОЛЬПОЦИТОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ**

Для встановлення естрогенної насыщеності організму жінки необхідно дослідити мазок вмісту піхви, визначивши при цьому індекс дозрівання та глікогеновий індекс [70].

Індекс дозрівання — це відсоткове співвідношення клітин різноманітних шарів піхвового епітелію в мазках піхвового вмісту. З метою проведення даного дослідження препарати фарбують азур-еозиновою сумішшю, мікроскопію проводять під світловим мікроскопом (об'єктиви 20x, 40x) і підраховують 100 клітин у декількох полях зору, розрізнюючи їх за морфологічною будовою. Результат оформляють таким чином: зліва записують кількість парабазальних (атрофічних клітин), у центрі — проміжних, справа — поверхневих клітин. Наприклад: індекс дозрівання 0/30/70 означає, що зі 100 клітин піхвового вмісту — 30 клітин проміжного шару, 70 клітин поверхневих, парабазальні клітини відсутні.

Глікогеновий індекс — це відсоток глікогенвмістимих клітин до загальної кількості клітин піхвового епітелію в 3-х полях зору. Препарати фарбують парами йоду за Маком. Мікроскопія під світловим мікроскопом з об'єктивами 10x, 20x, окулярами 8x, 10x.

Індекс дозрівання та глікогеновий індекс зіставляють із даними, наведеними у таблиці 10.3, і експерт робить висновок про активність естрогенних гормонів.

Таблиця 10.3

**Значення індексу дозрівання та глікогенового індексу при проведенні  
колоноцитологічних досліджень**

Реакція мазка	Клітини піхвового епітелію (на 100 в різних п/з)			Результат
	атрофічні	проміжні	поверхневі	
<b>I</b>	100	0	0	Різка естрогенна недостатність
<b>I-II</b>	75	25	0	Помірна естрогенна недостатність
<b>II</b>	50	50	0	- “ -
<b>II-III</b>	25	75	0	Помірна активність естроген.гормонів
<b>III</b>	0	75	25	- “ -
<b>III-IV</b>	0	75-50	25-50	Достатня естрогенна насыщеність
<b>IV</b>	0	50-25	50-75	- “ -

## Розділ 11

---

### ВИЗНАЧЕННЯ РЕГІОНАЛЬНОГО ПОХОДЖЕННЯ КРОВІ, ЗОКРЕМА ЇЇ МЕНСТРУАЛЬНОГО ПОХОДЖЕННЯ

Встановлення регіональної належності крові можливе за наявності в препаратах клітин, специфічних для тої чи іншою ділянки людського тіла. Так кровотечу з бронхів можна діагностувати по наявності клітин циліндричного миготливого (війчастого) епітелію, ректальну кровотечу — по наявності клітин призматичного епітелію прямої кишки. Але, на жаль, практика судово- медичних досліджень показує, що вказані клітини в таких плямах крові трапляються рідко. Основним компонентом таких плям є клітини багатошарового плоского епітелію.

При кровотечі з периферійних судин у цитологічних препаратах, в основному, виявляються без'ядерні епітеліальні клітини і клітинні елементи крові, зрідка — клітини багатошарового плоского епітелію, клітини мезотелію судин.

Усе вищесказане свідчить про ускладнення, які виникають в експертів-цитологів при вирішенні питання про регіональне походження крові в слідах на речових доказах.

Найбільше вивченим є питання походження крові зі статевих шляхів жінки і, зокрема, менструального походження крові.

Висновок про походження крові в плямі на речових доказах зі статевих шляхів жінки базується на таких ознаках:

а) наявності в препаратах клітин піхвового епітелію, що встановлюється:

- на підставі значної кількості глікогену в цитоплазмі клітин,
- Х-хроматину в ядрах епітеліальних клітин,
- за морфологічною структурою клітин;

б) встановленні походження крові від особи жіночої генетичної статі, що визначається за статевоспецифічними виростами сегментоядерних лейкоцитів;

в) наявності паличок Дедерлейна.

Висновок про менструальне походження крові в слідах на речових доказах базується [28]:

- на наявності значного осаду висотою від 2 до 20 мм, який спо-

стерігається в центрифужних пробірках після центрифугування при приготуванні цитологічного препарату. Наявність такого осаду в сполученні з виявленням глікогену в клітинах може бути використане як попередня проба на менструальну кров;

–на цитологічній картині препаратів, яка характеризується великою кількістю клітин піхвового епітелію (поверхневих, проміжних, рідше парабазальних або базальних). Можуть також траплятися клітини ендометрію, ядра лейкоцитів, палички Дедерлейна;

–на встановленні походження крові від особи жіночої генетичної статі.

Клітини ендометрію подібні до клітин призматичного епітелію. Даний епітелій частіше розташований в один чи два ряди. Ядро розташоване ексцентрично, має овальну або округлу форму, іноді витягнене, цитоплазми дуже мало, вона помітна у вигляді маленького обідка або зовсім відсутня. У клітинних пластиах ядра майже стикаються один з одним.

На думку деяких дослідників, лише наявність у препаратах клітин ендометрію дає змогу категорично стверджувати походження плям крові за рахунок менструальної. Хоча в багатьох випадках, у заздалегідь відомих плямах менструальної крові клітини ендометрію відсутні.

Судово-цитологічне дослідження плям крові з метою встановлення її менструального походження проводиться шляхом відбору матеріалу для дослідження і приготування цитологічних препаратів.

Треба пам'ятати, що максимальний вміст клітинних елементів є в найбільш насиченій центральній частині верхнього шару предмета-носія. Для приготування цитологічних препаратів вирізку розмірами 1,5x1,5см екстрагують 25% розчином оцтової кислоти протягом 24-48 годин. З метою збільшення кількості клітинних елементів, які можна витягнути з плямами, рекомендується також проводити вібрацію пробірок із витяжками з плямами протягом 5-10 хвилин;

– вимір висоти осаду після центрифугування витяжок;  
– встановлення наявності глікогенмістимих клітин — фарбування по Маку ;

– дослідження клітинного складу препаратів при фарбуванні акридиновим оранжевим. При цьому треба пам'ятати, що при даному фарбуванні ядра клітин — яскраво зелені, цитоплазма — червонувата за рахунок включені РНК;

– фарбування азур-еозиновою сумішшю з метою виявлення Х-хроматину в ядрах клітин і статевоспецифічних виростів у ядрах сегментоядерних лейкоцитів.

## Розділ 12

### СУДОВО-ЦИТОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ СЕКРЕТУ МОЛОЧНИХ ЗАЛОЗ

Вивчення морфологічного складу секрету молочних залоз проводиться судово-медичним експертом-цитологом із метою встановлення строку вагітності і факту колишніх пологів. Дане питання найбільш повно представлено в монографії К. І. Хижнякової “Цитология секрета молочной железы в норме и при некоторых заболеваниях” [80].

#### 12.1. МОРФОЛОГІЧНИЙ СКЛАД СЕКРЕТУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

До складу секрету молочної залози входять:

а) Жирові кульки, які є постійним елементом секрету і кількість їх та переважання того чи іншого розміру залежить від функціональних особливостей молочної залози. Найбільша кількість жирових кульок буває під час лактації.

За розмірами жирові кульки поділяються на пиловидні (до 1 мкм), дрібні (1-3 мкм), середні (4-6 мкм) та великі (7-10 мкм). У грудному молоці більшу частину складають кульки середніх розмірів, а дрібних кульок буває в 3 рази більше, ніж великих. Розташовуються кульки окремо, групами, скученнями.

б) Епітеліальні клітини, які різняться між собою за розмірами, формі, кольором цитоплазми, включеннями в ній. При аналізі препаратів необхідно враховувати особливості цитоплазми клітин, а саме однорідність, базофільність, наявність вакуолей, однакового чи різного вони розміру.

— Малі епітеліальні клітини — мають круглу, овальну форму, діаметр 10-20 мкм. Ядра круглі або овальні, займають більшу частину клітин. Цитоплазма може бути гомогенною без вакуолей (при вагітності строком 2-3 місяці) та з вакуолями (з 5-6 місяців вагітності і до пологів), цитоплазма клітин забарвлена в базофільні тони різноманітної інтенсивності. На відміну від лімфоцитів, цитоплазма даних клітин не містить оксифільної зернистості. Комплекси малих епітеліальних клітин з'являються при вагітності 6-8 місяців. Дані клітини розташовуються частіше групами.

— Середні епітеліальні клітини (їх ще називають: клітини типу мозивних тілесь, пінисті клітини, макрофаги-ліпофаги) — постійні клітинні елементи секрету. Кількість їх збільшується зі строком вагітності. Розмір клітин коливається від 21 до 50 мкм (переважає 30-40 мкм). Цитоплазма блідо-блакитна, дрібнопіниста, вакуолі мають одинаковий розмір при строку вагітності 3-4 місяці або нерівномірно піниста та нерівномірно вакуолізована після 4 місяців вагітності. При великих строках вагітності трапляються клітини з базофільною цитоплазмою із невеликою кількістю вакуолей. Ядра клітин мають діаметр 6-9 мкм, рівні контури, розташовані ексцентрично. Клітини в препараті розташовуються, в основному, ізольовано та невеликими скupченнями. Комплексів не утворюють.

Кількісні співвідношення малих і середніх епітеліальних клітин має такий вигляд: до 3-х місяців вагітності переважають середні епітеліальні клітини, після 4-х місяців починає збільшуватися кількість малих епітеліальних клітин.

— Великі епітеліальні клітини — це багатоядерні епітеліальні клітини розміром 51-120 мкм (частіше 60-70 мкм), містять від 2 до 40 ядер, розташованих у центрі. Форма клітин — овальна, округла, контури їх к 6-7 місяців вагітності стають звивистими. Клітини мають вид симпласти. Цитоплазма частіше гомогенна, базофільна, зрідка — із вакуолями. Дані клітини виявляються в мазку в останні місяці вагітності в кількості 1-2 в мазку.

У препаратах секрету молочних залоз завжди можна виявити як клітини з чіткими контурами, так і клітини, які перебувають у стані розпаду. При цьому ядро стає світлішим, з'являються вакуолі в цитоплазмі, оболонка клітини руйнується, ядро опиняється в секреті.

— Міоепітеліальні клітини в нормі не виявляються, але можуть з'явитися після аборту, при токсикозі ранніх строків вагітності. Форма даних клітин — веретеноподібна, подовжена, з відростками, довжина клітини 12-18 мкм, ядро — 4-6 мкм, овальне, розташоване в центрі. Цитоплазма клітин зрідка має поодинокі включення жиру. У секреті молочної залози ці клітини з'являються при десквамації епітелію молочної залози.

— Нейтрофільні лейкоцити — з'являються звичайно в більш пізні строки вагітності (4-5 місяців). Поступово кількість лейкоцитів зростає і особливо багато їх перед пологами, під час перейм, після перейм та в перші години після пологів. Лейкоцити розташовуються роздільно та окремими скupченнями. При захворюваннях молочних залоз

(мастит, тріщини сосків) кількість їх різко збільшується і при гнійних процесах лейкоцити займають майже все поле зору.

— Перенеподібні клітини — мають розміри 15-18 мкм, округлу форму, цитоплазма представляє собою краплю жиру, ядро подовжене, відтиснуте до периферії. Ці клітини є зміненими фагоцитами і походять від нейтрофілів. У нормі перенеподібні клітини в секреті молочної залози з'являються при великих строках вагітності, тоді ж, коли і лейкоцити (після 4-5 місяців), особливо багато їх при запаленнях, що пов'язано зі збільшенням кількості лейкоцитів (рис. 12.1).

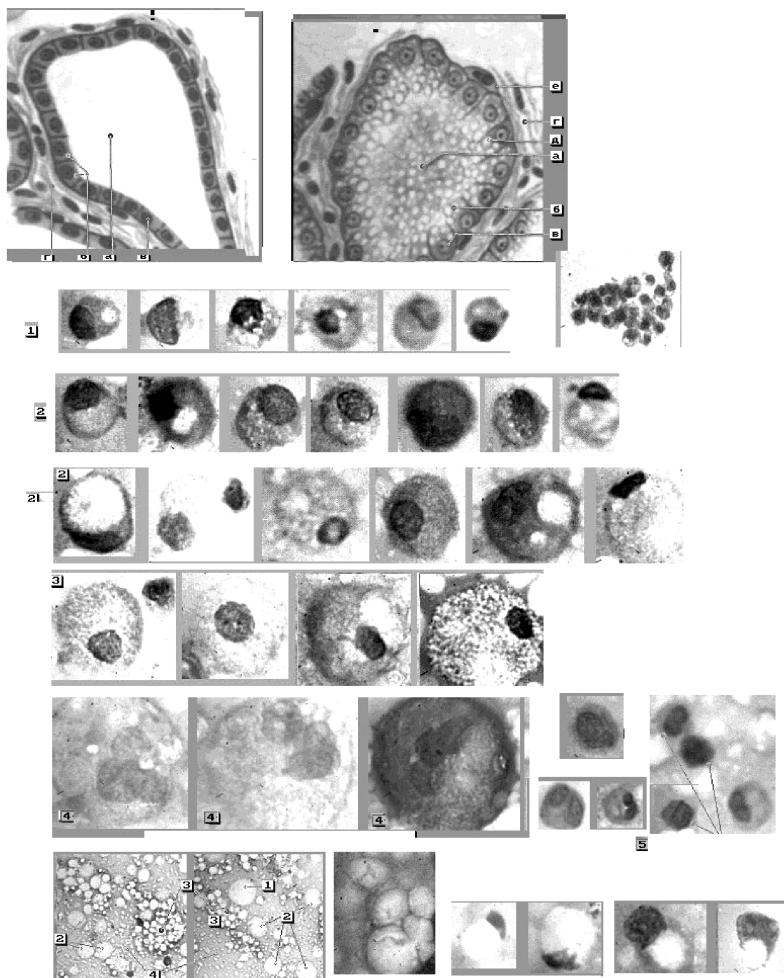
— Лімфоцити трапляються дуже рідко, у невеликій кількості (не в усіх полях зору). При хронічних захворюваннях (мастит) — по 1-2 клітині в полі зору.

— Моноцити — поодинокі, з'являються перед пологами. При захисному виявляються частіше.

— Макрофаги (походять зі сполучної тканини) — поодинокі. Помітні до середніх епітеліальних клітин. Відрізняються від них специфічними включеннями в цитоплазмі клітин, які помітні в нативному мазку і представляють собою включення живутуватого або буруватого кольору. Включені жиру міститься менше, ніж у середніх епітеліальних клітинах. Трапляються при захворюваннях молочної залози (мас-титах), іноді при вагітності останніх строків, перед пологами.

— Клітини плоского епітелію діагностичного значення не мають.

— Кристали жирних кислот — пошаровані утворення або у вигляді променів у жирових кульках, або знаходяться в плазмі секрету. Ці кристали утворюються при тривалій затримці секрету в молочній залозі.



Жирові кульки  
1- великі; 2 – середні;  
3 – дрібні; 4 – пиловидні

Кульки з  
"шапочкою"  
Перспективні  
клітини

Рис.12.1. Схема альвеоли молочної залози та морфологічний склад секрету молочної залози

1. Малі епітеліальні клітини; 2. Переходні форми епітеліальних клітин; 3. Середні епітеліальні клітини; 4. Великі епітеліальні клітини; 5. Елементи крові – сегментоядерні лейкоцити та лімфоцити

## **12.2. СЕКРЕТ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ ПРИ ВАГІТНОСТІ**

У зв'язку з вагітністю, в організмі жінки відбуваються значні анатомічні та функціональні зміни. Молочна залоза розвивається, збільшується молочні ходи та просвіт альвеол, починається секреція.

У клітинах, які вистилають альвеоли і молочні ходи, збільшується кількість мітозів.

Вагітні жінки за кількістю виділеного секрету упродовж строку вагітності поділяються на три групи:

- 1) вагітні, у яких до кінця вагітності відбувається багате виділення секрету;
- 2) вагітні, у яких упродовж вагітності виділяється мало секрету;
- 3) вагітні, у котрих зовсім не виділяється молозиво, лише наприкінці вагітності видавлюється декілька крапель.

## **12.3. РАННІ СТРОКИ ВАГІТНОСТІ (4-11 ТИЖНІВ)**

Жирові кульки (в основному, пиловидні і малі; середніх — менше, великих розмірів — рідко) розташовуються окремо. Середні епітеліальні клітини з однорідною дрібнопінистою цитоплазмою (3-10 у полі зору) однотипні, розташовуються на тлі плазми фіолетово-рожевого кольору. Трапляються також зруйновані клітини: ядра, їх фрагменти, частини цитоплазми.

У випадку тиксикозу (при бліюті) жирових кульок небагато; середні епітеліальні клітини мають 2 ядра; трапляються поодинокі нейтрофільні лейкоцити, малі і середні лімфоцити, моноцити, міоепітеліальні клітини.

Якщо секрету виділяється мало і вдається одержати лише невеликий відбиток, визначити наявність або відсутність вагітності не можна внаслідок недостатньої секреторної активності залози.

Якщо жінка припинила грудне вигодовування дитини за 2-6 місяців до нової вагітності, морфологічна картина секрету буде свідчити про активну функцію молочної залози. У цьому випадку, самого секрету та формених його елементів більше, а саме, крім збільшеної кількості жирових кульок і середніх епітеліальних клітин виявляються і малі епітеліальні клітини (базофільні, деякі з дрібними вакуолями). Співвідношення середніх і малих епітеліальних клітин становить 50/50, або середні клітини незначно переважають. Деякі середні епі-

теліальні клітини мають два ядра. Трапляється також багато зруйнованих клітин.

#### **12.4. СТРОК ВАГІТНОСТІ 12-26 ТИЖНІВ**

Кількість жирових кульок збільшується, переважають кульки середніх розмірів. Епітеліальні клітини є в помірній кількості. Основна відмітна ознака секрету цього строку — присутність малих (протокових) епітеліальних клітин і їх зміни. Цитоплазма даних клітин базофільна, до 20 тижня вагітності в деяких клітинах з'являються дрібні включення жиру, потім кількість клітин із вакуолями збільшується і вакуолі становять більшими. До 20 тижня з'являються також комплекси малих епітеліальних клітин. Кількість середніх епітеліальних клітин зменшується, цитоплазма їх нерівномірно піниста, трапляються окремі клітини з базофільною цитоплазмою і декількома (2-3) ядрами. Лейкоцити з'являються з 16-19 тижня вагітності (1-10 у полі зору). З 20-26 тижня в лейкоцитах спостерігається вакуолізація цитоплазми. В окремих випадках з 16-19 тижня вагітності з'являються великі епітеліальні клітини (60-70 мкм у діаметрі).

При тиксикозі відмічається багато різноманітних епітеліальних клітин із базофільною цитоплазмою. Переважають малі епітеліальні клітини та є невелика кількість середніх епітеліальних клітин, трапляються міоепітеліальні клітини.

Згідно з К.І. Хижняковою [80], строк вагітності 12-26 тижнів за складом секрету молочної залози можна розбити ще на такі періоди:

а) 12-15 тижнів — кількість малих і середніх епітеліальних клітин майже рівна (1:1). Малі епітеліальні клітини мають базофільну цитоплазму, середні — дрібнопінисту цитоплазму;

б) 16-19 тижнів — загальна кількість клітин збільшується. Переважають малі епітеліальні клітини із базофільною цитоплазмою, зрідка з дрібними вакуолями (їх удвічі більше, ніж середніх). Трапляються скупчення малих епітеліальних клітин, які іноді розташовуються шарами. Середні епітеліальні клітини мають нерівномірно пінисту цитоплазму, у деяких з них — декілька ядер (2-3). Рідко трапляються перенеподібні і міоепітеліальні клітини;

в) 20-23 тижні. Переважають малі епітеліальні клітини (їх в 3 рази більше, ніж середніх), 50% їх мають базофільну цитоплазму, 50% — вакуолізований з дрібними вакуолями. Трапляються комплекси малих

епітеліальних клітин. Середні епітеліальні клітини мають цитоплазму неоднорідну, іноді базофільну, з окремими включеннями жиру. Трапляються також великі епітеліальні клітини;

г) 24-26 тижнів. Основна маса клітин — малі епітеліальні, які розташовуються скученнями, цитоплазма майже всіх малих епітеліальних клітин має вакуолі (піниста). Середні епітеліальні клітини трапляються в малій кількості, цитоплазма їх нерівномірно піниста, базофільна. Виявляються також поодинокі великі епітеліальні клітини. У деяких вагітних з'являються перснеподібні клітини.

## 12.5. СТРОК ВАГІТНОСТІ 27-40 ТИЖНІВ

Загальна характеристика секрету молочної залози у вищевказані терміни така.

Клітин багато. Основну масу їх складають малі епітеліальні клітини у вигляді великих скучень. Їх цитоплазма нерівномірно піниста, базофільна. Середніх епітеліальних клітин мало, цитоплазма їх базофільна з вакуолями різноманітного розміру. Трапляються поодинокі і великі багатоядерні клітини, нейтрофільні лейкоцити з нерівномірно пінистою і базофільною цитоплазмою. У мазках секрету молочної залози виявляються також перснеподібні клітини і клітини, які руйнуються. Для цього строку вагітності характерна базофілія всіх клітин.

**При вагітності 27-31 тиждень** можна відмітити такі особливості:

Жирові кульки у вигляді невеликих скучень. Переважають малі епітеліальні клітини, цитоплазма їх і середніх епітеліальних клітин базофільна, піниста, у цитоплазмі включення жиру різноманітних розмірів, ядра клітин гіперхромні. У секреті деяких жінок виявлені синтиціальні утворення, які складаються з малих епітеліальних клітин і повторюють форму молочних ходів. Середніх епітеліальних клітин мало (1-3 у полі зору). Вони, як правило, світлі, пінисті, іноді базофільні. У секреті молочних залоз 1/3 жінок трапляються великі багатоядерні епітеліальні клітини діаметром 70-80 мкм зі значною кількістю ядер у них. Ці клітини частіше трапляються одночасно із синтиціальними утвореннями з малих епітеліальних клітин. Крім вищезгаданих клітин виявляються також лейкоцити з вакуолізованою цитоплазмою, перснеподібні клітини та клітини, що руйнуються.

**При строку вагітності 32-35 тижнів** кількість жирових кульок по-мірна та велика. Розташовуються вони роздільно і невеличкими скуп-

ченнями. З епітеліальних клітин переважають малі, які розташовані по всьому мазку й особливо по його краях, часто великими скупченнями. Дані клітини мають пінисту або базофільну цитоплазму. Синтиціальні утворення з малих епітеліальних клітин трапляються у 25% випадків. Середніх епітеліальних клітин мало (1-4 у полі зору), цитоплазма їх базофільна, нерівномірно піниста, часто клітини мають два ядра. Великі багатоядерні епітеліальні клітини трапляються у 20% випадків (рідше ніж при вагітності 28-30 тижнів), цитоплазма їх базофільна нерівномірно піниста. У цей строк вагітності всі клітини секрету відрізняються базофілією. Нейтрофіли з дрібними вакуолями виявлені майже в усіх жінок. Розташовуються лейкоцити роздільно, іноді скупченнями. Рідко трапляються міоепітеліальні клітини, а також кристали жирних кислот у жирових кульках. У деяких жінок виявлено помірну кількість вільних ядер та перенеподібних клітин (у 50% випадків).

У секреті молочних залоз **при строку вагітності 36-40 тижнів** можна зауважити, що жирові кульки середніх і малих розмірів трапляються в помірній або великий кількості. Розташовуються вони роздільно і невеликими скупченнями. У деяких кульках знаходять кристали жирних кислот. Із клітин основну масу складають малі епітеліальні клітини, що розташовуються роздільно, частіше — комплексами, у яких вони набувають різноманітну форму (округлу, овальну, неправильну). Середніх епітеліальних клітин мало, цитоплазма їх базофільна і нерівномірно піниста, у деяких клітинах по 2-3 ядра. Великі багатоядерні епітеліальні клітини знайдені в 1/4 досліджуваних, цитоплазма цих клітин різко базофільна, з включеннями жиру різного розміру. Нейтрофіли трапляються в різноманітній кількості, цитоплазма їх піниста базофільна. У 50% жінок трапляються перенеподібні клітини. Клітини, що руйнуються, виявляються у вигляді залишків ядер і цитоплазми. Клітинний склад у ці строки вагітності подібний до складу секрету молочної залози в строки 32-35 тижнів вагітності, але кількість клітин збільшується, зокрема збільшується кількість великих багатоядерних клітин (30%). Іноді виявляються поодинокі міоепітеліальні клітини, гістіоцити, лімфоцити.

## **12.6. ДИНАМІКА МОРФОЛОГІЧНИХ ЗМІН СЕКРЕТУ МОЛОЧНИХ ЗАЛОЗ ПІД ЧАС ВАГІТНОСТІ**

При збільшенні строку вагітності відбуваються такі зміни:

- 1) кількість жирових кульок збільшується, особливо кульок середніх розмірів, з'являються їх скучення;
- 2) кількість середніх епітеліальних клітин зменшуються — від основної структурної одиниці до поодиноких. Цитоплазма цих клітин змінюється — від дрібнопінистої до нерівномірнопінистої і різко базофільної. З'являються 2-3-ядерні клітини;
- 3) кількість малих епітеліальних клітин збільшуються — від одичників до переважної структурної форми, часто у вигляді скучень. Цитоплазма видозмінюється — від гомогенної, дрібнопінистої до нерівномірно пінистої;
- 4) великі епітеліальні клітини з'являються в строк вагітності в 27-28 тижнів в 1/3 вагітних, перед пологами (39-40 тижнів) — у 50% жінок;
- 5) нейтрофільні лейкоцити з'являються в 16-19 тижнів вагітності. Зі строку вагітності в 20-27 тижнів у цитоплазмі нейтрофілів присутні вакуолі. Перед пологами і під час перейм лейкоцитів дуже багато;
- 6) перснеподібні клітини з'являються в 26-27 тижнів вагітності і кількість їх протягом вагітності збільшується;
- 7) кількість клітин, що руйнуються збільшується після строку вагітності в 27 тижнів.

Вищезазначені зміни в секреті молочної залози пояснюються змінами гормонального балансу організму. Спочатку діють гормони жовтого тіла яєчників, після 12 тижнів вагітності — гормони плаценти. Перед пологами плацента старіє і її вплив слабшає.

## **12.7. ПІСЛЯПОЛОГОВИЙ СТАН МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ**

З 2-го дня після пологів виділення молочної залози називаються молозивом, на 2-3 день — молозивне молоко, з 4-5 дня — перехідне молоко, з 7-14 дня — зріле молоко.

Молозиво — рідина жовтуватого кольору, більш густа, ніж зріле молоко, клейка. Реакція нейтральна. Питома вага — 1050-1060. При мікроскопії визначається велика кількість жирових кульок, розташованих роздільно, групами, скученнями. Трохи молозивних тілець,

лейкоцитів, “голих” ядер, жирових кульок із “шапками”. Після кесаревого розтину молозиво відрізняється значно більшою кількістю лейкоцитів.

На 3-7 день після пологів кількість жирових кульок збільшується, а кількість клітин зменшується — трапляються лише невелика кількість малих та середніх епітеліальних клітин, лейкоцити та поруїновані клітини.

На 7-8 день кількість клітин невелика, зменшується кількість жирових кульок із “шапками”.

На 9-12 день у складі секрету переважають жирові кульки середніх розмірів і окремі дрібні залишки ядер клітин — це і є т.зв. “зріле молоко”. У подальшому протягом 8-10 місяців годування дитини груддю в секреті молочної залози присутні лише жирові кульки. Наприкінці годування дитини (10-12 місяців), коли кількість годувань зменшується, відбувається інволюція молочної залози і в її секреті з’являються середні епітеліальні клітини з дрібнопінистою цитоплазмою.

## **12.8. МОРФОЛОГІЧНИЙ СКЛАД СЕКРЕТУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ ЖІНКИ, ЩО НЕ ГОДУВАЛА ДИТИНУ ГРУДДЮ**

Перші три доби після пологів у жінки, яка не годувала дитину груддю, у секреті молочної залози лейкоцитів відзначається більше, ніж у тієї жінки, яка годує дитину. Крім того характерним є помірна кількість малих епітеліальних клітин із пінистою і різко базофільною цитоплазмою, трохи середніх епітеліальних клітин із пінистою цитоплазмою, ядра яких часто з вакуолями, залишки ядер і цитоплазми, жирові кульки в помірній кількості.

На 4-6 добу після пологів склад секрету молочної залози у таких жінок біdnіший — поступово зникають лейкоцити, зменшується кількість малих епітеліальних клітин, переважають середні епітеліальні клітини з дрібнопінистою цитоплазмою.

Через 2-4 місяці після пологів у секреті молочної залози трапляються лише поодинокі середні епітеліальні клітини з нечіткою структурою, і секреція в таких жінок може тривати 3-8 місяців після пологів.

## **12.9. СЕКРЕТ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ ПРОТЯГОМ МЕНСТРУАЛЬНОГО ЦИКЛУ**

Для першого тижня після менструації характерна велика кількість жирових кульок, в основному скучень, багато середніх епітеліальних клітин із нечіткими контурами, ядра яких мають неправильну форму з вакуолями, без чітких контурів. Цитоплазма клітин піниста неоднорідна. У деяких епітеліальних клітин цитоплазма базофільна, нерідко з ледь помітними ядрами.

Під час овуляції кількість епітеліальних клітин дещо збільшується, вони стають більш базофільними.

При менструації клітини стають світлішими та збільшується кількість клітин, які руйнуються.

## **12.10. СЕКРЕТ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ НОВОНАРОДЖЕНИХ**

На 3-4 день після народження в новонароджених, незалежно від статі, спостерігається набрякання молочних залоз, із соска видавлюється секрет, схожий на молозиво жінки. Кількість секрету збільшується до 8-10 дня, а потім відбувається інволюція залози. Ця секреція звичайно припиняється до 4 місяця життя. Даний фізіологічний стан розвивається під впливом гормонів матері. При мікроскопії в секреті з молочної залози у новонароджених відмічаються жирові кульки середніх розмірів; молочні кульки з “шапками” (жирова крапля з ядром у вигляді напівлуння по периферії); малі епітеліальні клітини (1-7 у полі зору); лейкоцити; голі ядра; фрагменти клітин; молозивні тільця.

## Розділ 13

### ДИФЕРЕНЦІЮВАННЯ КРОВІ ПЛОДІВ ТА ДІТЕЙ РАНЬОГО ГРУДНОГО ВІКУ ВІД КРОВІ ДОРОСЛОЇ ЛЮДИНИ

Принциповою основою цитологічного методу диференціювання крові плоду і дітей грудного віку від крові дорослої людини є той факт, що фетальний гемоглобін (Hb F), властивий крові плоду і новонародженого, більш стійкий до впливу соляної кислоти (пепсину) в порівнянні з гемоглобіном дорослого (Hb A).

Беліхіною Н.В. [7] було запропоновано модифікацію даного методу, яка базується на дії на кров цитратно-фосфатного буфера з  $\text{pH}=3,3-3,4$ .

У зв'язку з тим, що фетальний гемоглобін у порівнянні з Hb дорослої людини менше розчиняється в зазначеному буфері, еритроцити, які містять фетальний Hb, набувають інтенсивного збарвлення, а Hb з еритроцитів дорослої людини елює у розчин.

Існують дві модифікації цитологічного методу дослідження — якісна і кількісна.

При проведенні якісної модифікації цитологічного методу треба звернути увагу на таке:

- попередньо в слідах на речових доказах встановлюється наявність крові та її видова належність;

- для дослідження на фетальний гемоглобін відбирають найбільш насичені ділянки плями крові людини і час екстрагування визначають за розчинністю плями, а тому цей час може бути скорочений до декількох годин або хвилин;

- витяжка після екстрагування повинна мати колір від світло-коричневого до червоно-коричневого. Слабо насичені витяжки (жовтого кольору) для дослідження не придатні. Це пояснюється тим, що з таких витяжок можна отримати лише дуже тонкий мазок, візуальна оцінка якого утруднена;

- правильно приготовлений мазок являє собою коричнювате поле з більш вираженою за кольором кайомкою підсохлої речовини крові;

- обов'язково готують аналогічні препарати з витяжок із заздалегідь відомих плям крові дорослих людей і новонароджених дітей (плодів).

При можливості в реакцію вводять також зразки крові тих дітей або дорослих, присутність крові котрих можлива на даних речових доказах.

Якщо після обробки цитратно-фосфатним буфером мазок залишається на предметному склі, то це свідчить про присутність у даній витяжці крові фетального гемоглобіну (позитивний результат). Якщо мазок цілком елює у буферний розчин, то в цьому зразку фетальний гемоглобін відсутній (негативний результат).

Отримані результати оцінюються таким чином:

– при виявленні в плямі Hb F робиться висновок про наявність у даних слідах крові плоду або дитини раннього грудного віку (до 5 тижнів). Треба пам'ятати, що до моменту народження у здорових доношених дітей кількість фетального гемоглобіну складає 65-95%, наприкінці 1 місяця життя — в середньому 50%, а потім починає різко зменшуватись;

– при невиявленні Hb F у плямі можливі такі варіанти:

- а) це може бути кров дорослої людини або дитини старше 5 тижнів;
- б) це може бути змішана кров (дорослого та новонародженого), у якій домішки крові новонародженого складають менше трьох чвертей.

Якщо за допомогою інших методів дослідження (встановлення групової та статевої належності крові) змішаний характер слідів виключений, то можна зробити категоричний висновок про те, що кров належить дорослій людині.

Ураховуючи простоту виконання якісної модифікації цитологічного методу, саме вона знайша широке використання в судово- медичній практиці.

Кількісна модифікація цитологічного методу заснована на тому, що Hb A, який елює із плями в цитратно-фосфатний буфер, по-різному забарвлює цей розчин. Інтенсивність цього збарвлення відповідає кількості HbA в крові і встановлюється на ФЕКу (фотоелектро- колориметрі).

Застосування кількісної модифікації цитологічного методу необхідне лише в тих випадках, якщо з плям крові отримані каламутні витяжки або отримані нечіткі результати в якісній модифікації.

## Розділ 14

# ВСТАНОВЛЕННЯ НАЯВНОСТІ ІНШИХ БІОЛОГІЧНИХ ОБ'ЄКТІВ У СЛІДАХ НА РЕЧОВИХ ДОКАЗАХ ЗА ДОПОМОГОЮ МІКРОСКОПІЇ

### 14.1. ВСТАНОВЛЕННЯ НАЯВНОСТІ КОПРОКУЛЬГУРИ

Присутність калових мас установлюють по наявності трьох основних елементів перетравленої їжі — білків (залишків м'язових волокон), жирів (нейтрального жиру) та вуглеводів (крохмалю).

Із цією метою досліджують:

- нативні препарати. Вирізки слідів, підозрілих на кал, заливають дистильованою водою, залишають на кілька годин, потім предмет-носій видаляють, а вміст пробірок центрифігують, надосадову рідину видаляють, а осад у вигляді краплі наносять на предметне скло, покривають покривним скельцем та досліджують під мікроскопом;
- фарбують препарат розчином Люголя — для виявлення зерен крохмалю;
- фарбувають препарат розчином судану III — для виявлення нейтрального жиру.

При мікроскопії нативних препаратів слідів калових мас можна виявити:

**a) м'язові волокна**, які можуть бути неперетравлені та перетравлені. Неперетравлені або частково перетравлені м'язові волокна мають циліндричну або овальну форму, подовжені, більш-менш інтенсивно пофарбовані в жовтувато-коричневий колір із збереженою поперечною або подовженою посмугованістю. Перетравлені м'язові волокна являють собою невеликі овальні утворення, гомогенні, янтарно-жовтого кольору, розташовані ізольовано;

**б) залишки рослинної їжі**: рослинна клітковина різноманітних злаків і овочів: великі круглясті клітини картоплі з губчастою структурою; судини і волоски рослин — у вигляді спіралей і булавоподібних утворень; залишки бобових рослин — скупчення вузьких довгих, паралельно розташованих клітин; кам'янисті клітини груш і деяких інших плодів і овочів — невеличкі круглясті або полігональні клітини з раді-

альною покресленістю, пофарбовані найчастіше в коричневий колір, надзвичайно тверді (рис. 14.1).

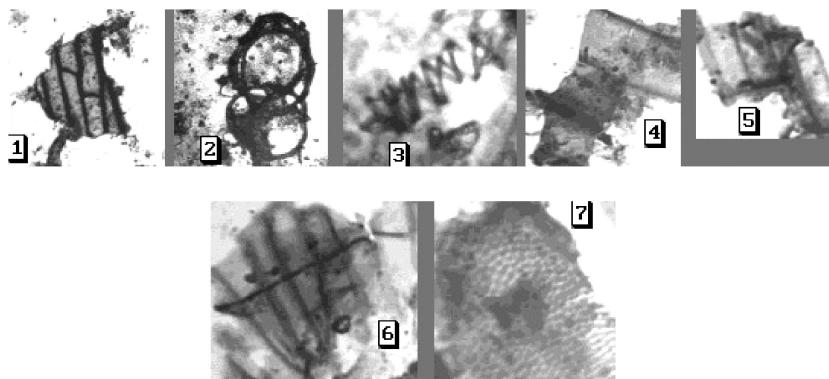


Рис. 14.1. Елементи копрокультури  
(світлова мікроскопія, фарбування азур-еозиновою сумішшю, об. 20х)  
1, 4–7 — різні види рослинної клітковини; 2, 3 — спіралі рослин

При фарбуванні препаратів розчином Люголя можуть бути виявлені ізольовано розташовані зерна крохмалю, або ці зерна знаходяться в рослинних клітинах картоплі, бобів і інших овочів. Крохмальні зерна при цьому фарбуванні мають синій колір, якщо незмінені, або фіолетовий чи червоний, якщо крохмаль частково перетравлений.

Жир трапляється у вигляді нейтрального жиру, жирових кислот і мил. Нейтральний жир у нефарбованих препаратах має вигляд безбарвних круглих крапель і глибок різного розміру. При фарбуванні суданом III забарвлюється у червоний колір. Кристали жирних кислот мають вигляд довгих загострених голок, які розташовані ізольовано, окремими скученнями, перехрещуються між собою. Мила подібні до кристалів жирних кислот, але мають значно менші розміри.

До морфологічних елементів кишкової стінки належать клітини циліндричного (кубічного) епітелію та клітини багатошарового плоского епітелію. Незмінені клітини циліндричного епітелію мають середні та малі розміри, циліндичну або овальну форму, ядро овальне або кругле, яке розташоване близче до базального краю. Трапляються також клітини зміненої форми різноманітного розміру і з деструктурно зміненими в різному ступені ядрами.

## 14.2. ВСТАНОВЛЕННЯ НАЯВНОСТІ МЕКОНІЮ

Меконій утворюється в кишечнику плода з п'ятого місяця внутрішньоутробного життя та зберігається в дитині в перші дні після народження. На різних предметах він являє собою плями зеленуватого кольору або темні, майже чорні кірочки. Колір меконію на речових доказах залежить від давнини його утворення. Наявність меконію встановлюється за допомогою мікроскопічного дослідження цих плям.

Дане дослідження проводять таким чином: кірочки або волокна зі специфічними слідами роздрібнюють на предметному склі та розмочують у дистильованій воді або у фізіологічному розчині протягом кількох хвилин або годин залежно від давнини сліду. Старі плями розмочують у 2% розчині аміаку, 33% розчині їдкого калію або гліцерину. Потім подрібнений об'єкт наносять на предметне скло в краплю дистильованої води, покривають покривним скельцем та досліджують під світловим мікроскопом при об'єктивах 10x, 20x.

До складу меконію входять такі морфологічні елементи:

а) меконієві тільця — без'ядерні утворення округлої або овальної форми, з рівними краями, які сильно заломлюють світ, розмірами від 2-3 до 40 мкм, мають колір жовто-зелений, зеленуватий, коричневий;

б) складові частини навколоплідної рідини, яка заковтується плодом — пушкові волосини, клітини епідермісу, жирові брилки;

в) клітини епітелію кишечнику, кристали холестерину, жирові краплі, жовчні пігменти.

Основним при встановленні наявності меконію є наявність меконієвих тілець. Склад меконію в певній мірі може свідчити про вік плода або про харчування дитини. Наприклад, наявність у слідах меконію пушкових волосин та епідермісу вказує на те, що вік плода — не менш 8 місяців внутрішньоутробного життя. Наявність жовчних пігментів та кристалів холестерину при відсутності пушкових волосин та епідермісу вказує на те, що вік плода відповідає 5-8 місяців внутрішньоутробного життя. Якщо в плямах є значна кількість жирових крапель, то з великим ступенем вірогідності можна казати, що дитину вже годували молоком.

### **14.3. ВСТАНОВЛЕННЯ НАЯВНОСТІ ПІСЛЯПОЛОГОВИХ ВІДЛЕНЬ (ЛОХІЙ)**

Дані виділення складаються з крові, слизу та перероджених органічних елементів, що розпадаються. У перші 2-3 дні виділення мають кров'яний характер, із 3-4 дня по 7 — колір слідів змінюється — від темно-червоного з темно-коричневим відтінком до жовтувато-білого за рахунок домішків лейкоцитів, а з 10 дня дані виділення мають серозно-слизуватий характер. Мазок піхвового вмісту при цьому брудний, містить багато еритроцитів і лейкоцитів, у клітинному складі переважають змінені парабазальні клітини (постпартні). Ці клітини округлої або овальної форми з ексцентрично розташованими ядрами. Цитоплазма по краю клітин блідоцілідно стовщенна, іноді може мати пінистий характер. Еритроцити і лейкоцити зникають у перші тижні після родів, а постпартні клітини перетворюються на звичайні парабазальні, які трапляються у великій кількості в період лактації.

### **14.4. ВСТАНОВЛЕННЯ НАЯВНОСТІ БЛЮВОТНИХ МАС**

При вирішенні питання про наявність блювотних мас у слідах на речових доказах вирізки з підозрілих слідів заливають дистильованою водою в невеликому надлишку та залишають у холодильнику на добу. Потім центрифігують, у надосадовій рідині перевіряють pH (при наявності блювотних мас реакція найчастіше кисла) та наявність слини, а з осаду готують нативний препарат, який заключають під покривне скельце та досліджують на мікроскопі.

При мікроскопії осаду присутні такі елементи:

- а) м'язові волокна з характерною поперечною посмугованістю;
- б) крохмальні зерна у вигляді кульок різної форми та розмірів, які під дією розчину Люголя набувають блакитного кольору;
- в) рослинні клітини;
- г) епітеліальні клітини плоского епітелію порожнини рота, циліндричний епітелій зі слизової оболонки шлунка та елементи залозистого епітелію.

## Розділ 15

### ВИВЧЕННЯ КЛІТИННОГО СКЛАДУ ТРАНСПЛАНТАТУ

У практичній роботі відділень судово-медичної цитології в останні роки з'явився новий вид дослідження, який має велике значення при розслідуванні злочинів, пов'язаних із незаконною трансплантацією органів, тканин та клітин людини. Це стосується питання встановлення складу клітинної сусpenзії, яка призначена для введення в організм людини.

При цьому слідчого цікавлять такі питання:

- чи є в поданому матеріалі кров та клітинні елементи;
- яка їх видова належність;
- плоду, новонародженному чи дорослій людині належать ці біологічні об'єкти;
- до якої тканини або органу вони належать;
- чи є знайдені клітини життєздатними.

Для відповіді на вищезазначені питання, матеріал повинен бути доставлений в рідкому азоті, тобто в стані глибокої заморозки. Якщо цього не зроблено, відповісти на питання наявності життєздатних клітин неможливо.

Дослідження експертного матеріалу рекомендовано проводити за такою схемою.

А. Спочатку вирішують питання про наявність життєздатних клітин. Матеріал в епендорфах або поліетиленових пакетах вилучають з дюару і розморожують на водяній бані при температурі 35–40°C протягом 1 хвилини. Далі матеріал наносять у вигляді каплі на предметне скло в 1% розчин еозину та проводять підрахунок життєздатних клітин на 100 проглянутих [17]. Можна також використовувати тест із трипановим синім (див. 6.5.8).

Треба пам'ятати, що весь процес розмороження, фарбування та мікроскопії матерілу, що досліджується, повинен не перевищувати 5 хвилин. Наступну ємність не вилучають із дюару до тих пір, поки не закінчили з попередньою.

Б. У поданій на дослідження речовині визначають наявність крові методом хроматографії [85] та видову належність білка за допомогою реакції преципітації в агарі або електропреципітації [82].

В. При наявності крові проводять визначення походження цієї крові від плода чи дорослої людини за допомогою цитологічного методу диференціювання крові плода та дітей раннього грудного віку від крові дорослої людини [7].

Г. Далі готують цитологічні препарати, фарбують їх азур-еозиновою сумішшю та визначають морфологічний склад представленої клітинної суспензії. Залежно від виду тканин, готують препарати у вигляді клітинної суспензії або т зв. “давленні препарати”.

При наявності великих фрагментів тканин частину матеріалу передають гістологам для приготування гістологічних зрізів та визначення тканинної та органної характеристики.

Питання, яке часто ставлять на вирішення експерта слідчі органи про те, чи є ця речовина трансплантом, до якого виду транспланта та вона належить, не входять до компетенції судово- медичних експертів-цитологів. Ці питання можуть бути вирішенні лише спеціалістами-трансплантологами.

---

\*Автори висловлюють ширу подяку співробітникам відділення судово- медичної цитології Головного бюро судово- медичної експертизи МОЗ України — судово- медичному експерту Рибалко Г.І. та лаборанту Дорошенко Н.В. за значну допомогу, надану при підготовці навчально- методичного посібника.

## Література

---

1. Алмазов И.В., Сутулов А.С. Атлас по гистологии и эмбриологии. — М.: Медицина, 1978. — 544 с.
2. Антонова С.Н., Митяева Н.А. Морфологическое изучение изолированных клеток (К определению органно-тканевой принадлежности наложений на орудиях травмы) // Судебно-медицинская экспертиза. — 1972. — №1. — С. 15-19.
3. Антонова С.Н., Митяева Н.А., Греков В.В., Кремер Е.А. и др. К вопросу определения органно-тканевой принадлежности клеток на предмете-носителе // Судебно-медицинская экспертиза. — 1972. — №2. — С. 13-18.
4. Антонова С.Н., Митяева Н.А., Науменко В.Г. К оценке результатов цитологического исследования кленточных элементов на орудиях травмы // Судебно-медицинская экспертиза. — 1972. — №3. — С. 4-8.
5. Арсеньева М.Г. Коллоцитологические исследования в диагностике и терапии эндокринных гинекологических заболеваний. — Л.: Медицина, 1973. — 189 с.
6. Барсегянц Л.О., Левченков Б.Д. Судебно-медицинская экспертиза выделений человека. — М.: Медицина, 1978. — 143 с.
7. Белихина Н.В. Дифференцирование крови плодов и детей раннего грудного возраста от крови взрослых людей в следах на вещественных доказательствах модификациями цитологического метода: Автореферат дис... канд. мед. наук. — 14.00.24. — М., 1984, 32 с.
8. Бетхе М., Бронникова М., Кисин М. и др. Группо-специфическая антигенная дифференциация микрообъектов судебно-биологической экспертизы. — М., 1977. — 138 с.
9. Брескун Н.Б., Михеева З.Е., Бураго Ю.И. О возможности устранения неспецифического влияния содержимого прямой кишки на сывороточные реагенты // Судебно-медицинская экспертиза. — 1987. — №1. — С.35-36.
10. Бураго Ю.И. , Черно Г.Н. Изоантителенная дифференциация по системе АВО смешанных пятен крови человека и рогатого скота // Судебно-медицинская экспертиза. — 1986. — №3. — С.36-37.
11. Визначення регіонального походження клітин при судово-медичній експертизі підозрюваних у статевих злочинах. Методичні рекомендації

- ндації. — К., 2006. — 23с. (Бурчинський В.Г., Старовойтова Р. О., Хохолева Т.В., Ліщенко О.П.).
12. **Выявление антигенов А.В и Н в следах крови** реакцией абсорбции-элюции с применением моноклональных антител. Информационный листок. — М., 1989. — 7 с. (Перепечина И.О.).
13. **Гістологія: Підручник.** /О.Д. Луцик, А.Й. Іванова, К.С. Кабак, Ю.Б. Чайковський . — К.: АТЗТ “Книга плюс”, 2003. — 592 с.
14. **Глизер С.Э.** Определение цитологического пола вырванных волос по половому хроматину ядер их корневой части // Труды Горьковского государственного медицинского института им. С.М. Кирова — Горький, 1968. — Вып. 27. — С. 189-193
15. **Гуртова С.В., Первушина Е.А., Первушин Ю.В.** Определение наличия крови в следах на вещественных доказательствах при помощи диагностического теста “Гемофан” фирмы “Лахема” // Судебно-медицинская экспертиза. — 1996. — №3. — С.29-30.
16. **Диагностика половой принадлежности** крови в следах на вещественных доказательствах. Методическое письмо. — М., 1969. — 14 с. (Любинская С.И.).
17. **Диагностика давности смерти по динамике посмертных изменений в костном мозге:** Информационное письмо. — М., 1987. — 12 с. (Громов А.П.).
18. **Друзь А.Ф., Хоменок Т.О.** Под ногтевое содержимое как объект судебно-медицинской экспертизы вещественных доказательств // Судебно-медицинская экспертиза. — 1988. — №3. — С. 32-33.
19. **Дунаева А.М., Шрайбер Т.Г., Виткина И.М., Бурого Ю.И.** Влияние влагалищных выделений на сывороточные реагенты при некоторых заболеваниях женской половой сферы // Судебно-медицинская экспертиза. — 1990. — №2. — С. 33-34.
20. **Елисеев В.Г., Афанасьев Ю.И., Котовский Е.Ф.** Атлас микроскопического и ультрамикроскопического строения тканей и органов человека. — М.: Медгиз, 1961. — 199 с.
21. **Еранов Н.В.** Материалы к судебно-медицинскому исследованию некоторых вещественных следов механической травмы на предлагающем орудии: Автореферат дис... канд. мед. наук, 14.00.24 / Горький, 1971. — 17 с.
22. **Ермолова Т.П., Липова В.А., Котов В.А.** Методики окраски цитологических препаратов. — СПб.: Изд-во СПбМАПО, 1994. — 20 с.
23. **Загрядская А.П., Федоровцева Л.С.** О сохранности ядерного полового хроматина в тканях трупа при замерзании // Труды Горьков-

- ского государственного медицинского института им. С.М.Кирова. — Горький, 1968. — Вып.27. — С. 181-184.
24. **Загрядская А.П., Федоровцев А.Л., Королева Е.И.** Судебно-медицинское исследование клеток и тканей. — М.: 1984. — 104 с.
25. **Загрядская А.П., Федоровцев А.Л., Королева Е.И.** О возможности комплексного исследования наложений непосредственно на поверхности некоторых предметов-носителей с целью обнаружения клеток животного происхождения //Вопросы судебно-медицинской экспертизы и криминалистики. — Горький, 1981. — С. 33-34.
26. **Зайцева Е.И.** Значение цитологической картины влагалищного отделяемого при диагностике давности криминального аборта // Судебно-медицинская экспертиза. — 1964. — №4. — С. 25-27.
27. **Зайцева Л.И.** Цитологическая характеристика менструального происхождения крови в высохших пятнах //Лабораторные исследования объектов судебно-медицинской экспертизы. — Горький, 1985. — С. 68-73.
28. **Зайцева Л.И.** Диагностика менструального происхождения крови в пятнах цитологическим методом и путем электрофореза на ацетат-целлюлозных мембранах: Автореферат дис... канд.мед.наук: 14.00.24 / 2-ой Московский ордена Ленина государственный институт имени Н.И.Пирогова. — М., 1987. — 25 с.
29. **Изъятие и направление материала** для производства судебно-медицинских экспертиз. Информационное письмо. — К., 1983. — 4 с. (Старовойтова Р.А.).
30. **Інструкція про проведення судово- медичної експертизи:** Наказ МОЗ України від 17.01.95 р. № 6. — Зареєстровано Міністерством юстиції України 26.06.95 р. за № 248/784.
31. **Использование цитологических методов исследования** при экспертизе вещественных доказательств: Методические рекомендации. — К., 1989. — 12 с. (Старовойтова Р.А., Рибалко Т.И., Шуплик Ю.П.)
32. **Капустин А.В.** Судебно-медицинская диагностика пола по половым различиям в клетках. — М.: Медицина, 1969. — 158 с.
33. **Капустин А.В.** Встречаемость барабанных палочек в ядрах нейтрофилов у взрослых женщин как постоянный признак // Судебно-медицинская экспертиза. — 1974. — №1. — С.25-27.
34. **Кисин М.В.** Судебно-медицинское исследование микроколичественных объектов экспертизы вещественных доказательств: Автореферат дис... докт. мед. наук. — М., 1974. — 36 с.

35. **К объективизации проведения** судебно-медицинской экспертизы половой зрелости: Методическое пособие. — К., 1990. — 5 с. (Соколова И.Ф.).
36. **Комплексная методика** исследования клеток в следах-наложених на вещественных доказательствах: Методические рекомендации. — М., 1988. — 11 с. (Загрядская А.П., Ольховик В.П., Королева Е.И., Федоровцев А.Л.).
37. **Королева Е.И., Тишина А.А., Ящешина О.Н.** К вопросу об определении половой принадлежности крови в смешанных пятнах // Вопросы судебно-медицинской экспертизы и криминалистики. — Чебоксары-Горький, 1980. — С. 65-66.
38. **Королева Е.И.** Цитологическое исследование некоторых объектов судебно-медицинской экспертизы методом люминесцентной микроскопии: Автореферат дис. ... канд.мед. наук: 14.00.24 / 2-й Московский ордена Ленина государственный институт имени Н.И.Пирогова. — М., 1983. — 27 с.
39. **Лакиза Б.С.** Установление пола по крови и ее пятнам в судебно-медицинской практике: Автореферат дис. ... канд.мед. наук: 774 / Калининский государственный медицинский институт. — Калинин, 1969. — 18 с.
40. **Любинская С.Н., Антонова С.Н.** Исследование Y-хроматина в следах крови // Судебно-медицинская экспертиза. — 1975. — №3. — С. 17-19.
41. **Магнушевская Э.Л.** О распределении клеточных элементов поврежденных органов и тканей тела на колюще-режущих орудиях // Вопросы судебно-медицинской экспертизы и криминалистики. — Горький, 1975. — С. 199-200.
42. **Малоярославцева В.В., Гудь В.И., Зайцева Л.А.** и др. Об определении групповой принадлежности волос по клеткам сохранных луковиц // Судебно-медицинская экспертиза. — 2003. — №2. — С. 30-32.
43. **Науменко В.Г., Митяева Н.А., Антонова С.Н.** Гистологический и цитологический методы исследования в судебной медицине / М.. — Медицина. — 1980. — 396с.
44. **Об использовании метода флюоресценции** для установления видовой принадлежности крови и изолированных клеток в следах на вещественных доказательствах: Методические рекомендации. — М., 1983. — 15 с. (Загрядская А.П., Ольховик В.П., Королева Е.И., Федоровцев А.Л., Алексеев Ю.Д.)

45. **Обнаружение антигенов системы АВО в сперматозоидах методом иммунофлюоресценции:** Методическое письмо №63. — М., 1984. — 11 с. (Стегнова Т.В.).
46. **Об использовании метода иммунофлюоресценции для установления групповой принадлежности (по системе АВО) крови и изолированных клеток в следах на вещественных доказательствах.** Методические рекомендации. — М., 1986. — 14 с. (Ольховик В. П., Загрядская А.П., Федоровцев А.Л., Королева Е.И. и др.).
47. **Об определении групп изосерологической системы АВО в следах слюны и спермы реакцией абсорбции-елюции с изосыворотками альфа и бетта.** Методические рекомендации. — М., 1975. — 7 с. (Масис Т.М., Ольховик В.П., Юдина Г.С.).
48. **О выявлении на орудиях** механической травмы клеточных элементов животного происхождения с установлением видовой, групповой и половой принадлежности клеток. Методические указания. — М., 1982. — 30 с. (Загрядская А.П., Ревнитская Л.А., Кольш М.Ш., Федоровцев А.Л.).
49. **Одинцов Н.В.** О содержании ядерного Y-хроматина в клетках некоторых органов и влияние на его выявление фактора времени и условий содержания объектов // Вопросы судебно-медицинской экспертизы и криминалистики. — Горький, 1977. — № 6. — С. 50-53.
50. **Одинцов Н.В., Федоровцев А.Л.** Сравнительная оценка различных способов окраски клеточных ядер при определении в них Y-хроматина // Вопросы судебно-медицинской экспертизы и криминалистики. — Горький, 1978. — № 7. — С. 74-76.
51. **Одинцов Н.В.** Материалы к определению половой принадлежности некоторых объектов судебно-медицинской экспертизы по Y-хроматину: Автореферат дис. ... канд. мед. наук: 14.00.24 / Алтайский государственный медицинский институт. — Барнаул, 1979. — 18 с.
52. **Одинцов, Шинкарев Н.В.** О воянии высокой температуры и процессов гниения на выявление Y-хроматина в тканях человека // Труды Горьковского государственного медицинского института им. С.М.Кирова. — Горький, 1978. — Вып. 7. — С. 77-81.
53. **Одинцов Н.В., Федоровцев А.Л.** Методика фиксации и окрашивания мазков крови и мазков-отпечатков органов с целью изучения ядерного Y-хроматина // Вопросы судебно-медицинской экспертизы и криминалистики. — Горький, 1976. — № 6. — С. 48-50.
54. **Описание одежды,** повреждений и других следов на ней в судебно-

- медицинском отношении: Методические рекомендации. — К., 1982. — 15 с. (Дерий С.В., Станиславский Л.В., Прибылева С.П.).
55. **Определение групп изосерологической системы АВО в пятнах крови малой величины методом абсорбции-элюции при помощи изосывороток альфа и бэтта: Методическое письмо.** — М., 1970. — 12 с. (Туманов А.К., Масис Т.М., Ольховик В.П. и др.).
56. **Определение региональной принадлежности клеток при судебно-медицинской экспертизе подозреваемых в половых преступлениях: Информационное письмо.** — К., 1983. — 3 с. (Старовойтова Р.А.).
57. **Определение региональной принадлежности клеток при судебно-медицинской экспертизе подозреваемых в половых преступлениях: Информационное письмо.** — К., 1983. — 3 с. (Старовойтова Р.А.).
58. **О судебно-цитологической диагностике половой принадлежности крови, слюны и волос по Y-хроматину: Методические указания.** — М., 1977. — 12 с. (Антонова С.Н., Любинская С.И.).
59. **Патологоанатомическая диагностика гриппа: Методические рекомендации.** — Л., 1974. — 18 с.
60. **Перепечина И.О., Сахаров Р.С.** Исследование пятен крови и выделений реакцией абсорбции-элюции с помощью моноклональных антител анти-Н // Судебно-медицинская экспертиза. — 1990. — №4. — С. 16-19.
61. **Пирс Э.** Гистохимия (теоретическая и прикладная). — М.: Иностранная литература, 1962. — 962 с.
62. **Портнова Г.Н.** Содержание ядерного полового хроматина в клетках наружного волосяного влагалища при некоторых патологических состояниях организма женщины // Вопросы судебно-медицинской экспертизы и криминалистики. — Горький, 1975. — Вып. 5. — С. 175-179.
63. **Правила проведення судово- медичних експертіз (досліджень) у відділеннях судово- медичної цитології бюро судово- медичної експертізи:** Наказ МОЗ України від 17.01.95 р. № 6. — Зареєстровано Міністерством юстиції України 26.06.95 р. за № 248/784;
64. **Предтеченский В.Е., Боровская В.М., Марголина Л.Т.** Лабораторные методы исследования. — М.: Медгиз, 1950. — 805 с.
65. **Применение люминесцентной микроскопии при судебно-медицинском исследовании крови, спермы, клеток влагалищного эпителия, волос: Методические рекомендации.** — Горький, 1982. — 17 с. (Загряжская А.П., Володин С.А., Асадчих И.П., Ольховик В. П. и др.).

66. **Принципы гормональной** кольпоцитодиагностики: Методические рекомендации. — К., 1984. — 20 с. (Базарнова М.А. Травянко Н.Д., Заика И.Н. и др.)
67. **Ракітянська О.В.** Судово-медицине значення накладень клітинслизової оболонки порожнини рота на поверхнях жувальних гумок: Автореферат дис. ... канд. мед. наук. 14.01.25 / К., 2004. — 23 с.
68. **Сидоров В.Л., Заславская Г.И., Маяцкая М.В., Попов В.П.** Цитологические и люминесцентные методы при судебно-медицинском исследовании вещественных доказательств. — СПб, 2003. — 88 с.
69. **Сметанина Н.И., Исакова И.В., Гальцева Е.Е.** и др. Об исследовании групповой специфичности потожировых выделений кожи рук // Судебно-медицинская экспертиза. — 1996. — №3. — С.35-36.
70. **Соколова И.Ф.** Судебно-медицинская экспертиза половой зрелости: Автореферат дис. ... канд. мед. наук: 14.00.24 / Ордена Трудового красного знамени Научно-исследовательский институт судебной медицины. — М., 1983. — 17 с.
71. **Судебно-цитологическая** диагностика половой принадлежности слюны и волос по Х-хроматину: Методические указания. — М., 1975. — 16 с. (Антонова С.Н., Любинская С.И.)
72. **Судово-цитологічне** дослідження мікронакладень на знаряддях травми та в піднігтьовому вмісті: Інформаційний лист. — К., 2004. — 13 с. (Старовойтова Р.О., Дручинина І.М.).
73. **Судово-медицине дослідження** одягу: Методичні рекомендації. — Х., 2004. — 20 с. (Гуров О.М., Куценко С.В.).
74. **Туманов А.К.** Основы судебно-медицинской экспертизы вещественных доказательств. — М.: Медицина, 1975. — 407 с.
75. Установление видовой принадлежности крови и некоторых других биологических объектов методом встречного иммуноэлектрофореза (электропреципитации). Методические рекомендации. — М., 1976. — 15 с. (Туманов А.К., Бровина С.Г.).
76. **Федоровцева Л.С., Загрядская Л.П.** О содержании ядерного полового хроматина в вагинальных клетках в зависимости от некоторых заболеваний // Вопросы судебно-медицинской экспертизы и криминалистики. — Горький, 1975. — №5. — С. 172-175.
77. **Федоровцев А.Л., Одинцов Н.В., Королева Е.И., Тишинова Л.А.** Некоторые методические аспекты выявления Y-хроматина в ядрах клеток // Совершенствование организации и методик лабораторных исследований в судебной медицине. — Ярославль, 1982. — С. 21-25.

78. **Федоровцев А.Л.** Диагностическое и идентификационное значение следов-наложений на орудиях травмы и некоторых других вещественных доказательствах: Автореферат дис. ... докт. мед. наук. 14.00.24. — М., 2003. — 32 с.
79. **Федоровцев А.Л., Эделев Н.С., Ревнитская Л.А., Королева Е.И.** Современные возможности исследования следов-наложений на вещественных доказательствах // Судебно-медицинская экспертиза. — 2005. — №1. — С 39-44.
80. **Хижнякова К.И.** Цитология секрета молочной железы в норме и при некоторых заболеваниях. — М.: Медицина, 1969. — 263 с.
81. **Хижнякова К.И.** Значение микроскопического исследования секрета молочной железы при определении бывших родов // Материалы I Всероссийского съезда судебных медиков. — М., 1981. — С. 144-146.
82. **Чарный В.Н.** Установление видовой специфичности белков крови. — М.: Медицина, 1976. — 121 с.
83. **Шабалова И.П.** Цитологический атлас. — М.: ООО “Губернская медицина, 2001. — 115 с.
84. **Шалаев Н.Г.** Судебно-медицинская экспертиза подозреваемых в половых преступлениях: Автореферат дис. ... д-ра мед. наук. — Горький, 1966. — 31 с.
85. Экспрессный метод хроматографического исследования некоторых объектов судебно-биологической экспертизы. Методическое письмо №45. — М., 1981. — 19 с. (Кисин М.В., Паршиков Ю.И., Егоров Н.В.).
86. **Barr M.L., Bertram E.G.** // Nature. — 1949. — 163. — 4148. — С.676-679.
87. **Barr M.L., Bertram E.G., Lindsay H.A.** // Anat. Record. — 1950. — 107. — №3. — P. — 3-285.
88. **Davidson W.M., Smith D.R.** // Brit. Med. J. — 1954. — 2. — 4878. — С.6-9.
89. **Pearson P., Bobrov M., Vosa C.** Techique for identifying Y-chromosomes in human interfase nuclei // Nature. — 1970. — v.226. — p.78-80.

*Навчальне видання*

**СТАРОВОЙТОВА Рита Олексіївна  
МІШАЛОВ Володимир Дем'янович  
КРИВДА Григорій Федорович**

**СУДОВО-МЕДИЧНА  
ЦИТОЛОГІЯ**

*Навчально-методичний посібник*

Зав. редакцією *Т. М. Забанова*  
Дизайнер обкладинки *В. І. Костецький*  
Технічні редактори *Р. М. Кучинська, М. М. Бушин*  
Коректор *М. М. Ісаєнко*

---

---

Здано у виробництво 07.05.2007. Підписано до друку 04.06.2007.  
Формат 60x84/16. Папір офсетний. Гарнітура «Newton». Друк офсетний.  
Ум. друк. арк. 11,63. Тираж 300 прим. Зам. № 168.

Видавництво і друкарня «Астропринт»  
(Свідоцтво ДК № 1373 від 28.05.2003 р.)  
65082, м. Одеса, вул. Преображенська, 24.  
Тел.: (048) 726-98-82, 726-96-82, (0482) 37-14-25.  
[www.photoalbum-odessa.com](http://www.photoalbum-odessa.com)

**Старовойтова Р. О., Мішалов В. Д., Кривда Г. Ф.**

**C 773** Судово-медична цитологія: Навч.-метод. посібник. — Оде-  
са: Астропrint, 2007. — 200 с.  
**ISBN 966–318–684–4.**

Судово-медичні експертизи з кожним роком набувають більшої повноти й об'єктивності при комплексному вивченні макро- і мікроскопічних змін організму людини після заподіяння їй ушкоджень. Суттєвим при розкритті злочину є використання результатів судово-цитологічних досліджень, питома вага яких в експертній оцінці тілесних ушкоджень щороку зростає. З огляду на останнє, рівень підготовки судово- медичних цитологів також має бути високим. Однак в Україні сьогодні відсутня нова навчально- методична література, хоча за останні роки і був нагромаджений значний практичний матеріал, запропоновано нові методи фарбування та дослідження. Усе це й стало передумовою для створення навчально- методичного посібника із судово- медичної цитології, який би включав нові сучасні дані. Матеріал, поданий в ньому, систематизований, охоплює майже всі теоретичні та практичні питання, що виникають при виконанні судово- цитологічних експертиз. У ньому наведено мікрофотографії тканин та окремих клітин людини, набутих із власної практики, що слугуватиме критеріями при встановленні органної або тканинної належності мікрослідів біологічного походження.

Посібник дозволить підвищити якість судово- цитологічних експертиз, об'єктивність судово- медичного дослідження, значно підвищити ефективність розкриття тяжких кримінальних злочинів.

Навчально- методичний посібник розраховано на судово- медичних експертів- цитологів, курсантів кафедр судової медицини з післядипломною підготовкою, судово- медичних імунологів, викладачів усіх кафедр морфологічного напрямлення медичних університетів, кафедр юридичних університетів, працівників судово- слідчих органів.

**C 4109020000–081** Без оголош.  
**318–2007**

**ББК 58.1:28.05я73  
УДК 61:340.67(075.8)**

**ДЛЯ НОТАТОК**

**ДЛЯ НОТАТОК**