



УКРАЇНА

(19) UA (11) 55427 (13) U
(51) МПК (2009)
G01N 1/30МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ЗАБАРВЛЮВАННЯ ПРЕПАРАТІВ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

1

2

(21) u201007778

(22) 21.06.2010

(24) 10.12.2010

(46) 10.12.2010, Бюл.№ 23, 2010 р.

(72) ШИЯН ДЕНИС МИКОЛАЙОВИЧ, КОРОБКОВА
ЛАРИСА КОСТЯНТИНІВНА, ЛУПИР ВІКТОР МИ-
ХАЙЛОВИЧ(73) ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ(57) Спосіб забарвлювання зрізів головного мозку,
що включає візуалізацію структур зрізу, який **від-
різняється** тим, що структури зрізу забарвлюють
гексацианфератом (III) калію при взаємодії з залі-
зним і мідним купоросом.

Корисна модель відноситься до медицини, а саме до створення препаратів для демонстраційних та навчальних цілей, і може бути використаною для забарвлювання препаратів головного мозку.

У роботі медичних навчальних і науково-дослідних установ істотне значення має виготовлення препаратів для демонстраційних і навчальних цілей, в тому числі препаратів головного мозку. Препарати головного мозку частіше виготовляють з окремих пластин, розрізаних в анатомічних площинах, виходячи з розуміння найбільшій демонстративності. Для збереження зовнішнього вигляду об'єктів першим етапом є їхня фіксація в різних фіксуючих сумішах, з яких найбільш простими є розчини формаліну різної концентрації. Фіксація має на меті закріплення тканинних структур у тому стані, у якому вони знаходилися в момент занурення об'єкта у фіксуєчу рідину, і запобігання їх від подальшого руйнування. Розчини формаліну глибоко проникають у тканини і тому можуть застосовуватися для фіксації досить великих об'єктів, однак, при тривалому збереженні в розчинах формаліну органи набувають велику щільність і приймають однотонне брудуватого-сіре забарвлення. Це особливо різко виявляється на препаратах головного мозку, тому для препаратів, що зберігаються роками, прибігають до їх забарвлювання, що дає достатню наочність визначених структур, таких як сочевицеподібне тіло, ядра головного мозку, корковий шар і інші.

Відомий спосіб забарвлювання зрізів мозку за Синельниковим Р.Д. (Синельников Р.Д. Спосіб виготовлення препаратів по топографії серого і білого вещества ЦНС // Тр. укр. психоневрологі-

ческого института. - 1943. - Т.13. - с.202-204), основними діючими компонентами якого є жовта кров'яна сіль $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$ (гексацианферат (II) калію) і хлорне залізо $FeCl_3$.

Даний спосіб забарвлювання препаратів головного мозку є найбільш близьким до того, що заявляється, за технічною суттю та результатом, який може бути досягнутим, тому його обрано за прототип.

Основним недоліком способу-прототипу є його недостатня ефективність, яка проявляється в незадовільній якості забарвлювання.

У зв'язку з вищевикладеним, в основу корисної моделі покладено задачу підвищення якості забарвлювання.

Задачу, яку покладено в основу корисної моделі вирішують тим, що у відомому способі забарвлювання зрізів головного мозку, що включає візуалізацію структур зрізу, згідно з корисною моделлю, структури зрізу забарвлюють гексацианфератом (III) калію при взаємодії з залізним і мідним купоросом.

Технічний ефект корисної моделі обумовлений тим, що гексацианферат (III) калію ($K_3[Fe(CN)_6]$), чи червона кров'яна сіль, при взаємодії із солями двовалентного заліза (які часто застосовуються як відновлювачі) окислюється, утворюючи при цьому з'єднання характерного яскраво-синього кольору, так називану турнбулеву синь, що забарвлює корковий шар, сочевицеподібне тіло і ядра головного мозку в синій колір з чітко визначеними границями кожної структури, біла субстанція мозку при цьому залишається незабарвленою. У якості солі двовалентного заліза частіше всього використовують кристалогідрат сульфату заліза $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, чи залізний купорос, що представляє собою кристали

(13) U

(11) 55427

(19) UA

ясно-зеленого кольору, добре розчинні у воді при кімнатній температурі. Червона кров'яна сіль $K_3[Fe(CN)_6]$ являє собою червоні безводні кристали, що легко розчиняються у воді при кімнатній температурі.

Спосіб виконують наступним чином

Пластину мозку товщиною 3-5мм зі знятою м'якою мозковою оболонкою фіксують у 10% розчині формаліну 1-2 дні. Готують 1% розчин червоної кров'яної солі $K_3[Fe(CN)_6]$, розчинення ведуть при кімнатній температурі. Готують 1% розчин залізного купоросу $FeSO_4 \times 7H_2O$, розчиняють при кімнатній температурі. Готують 0,5% розчин мідного купоросу $CuSO_4 \times 5H_2O$, підігріваять розчин на водяній лазні до 50-55°C, додають в нього 40мл фенолу, попередньо розплавленого на водяній лазні і 2-3 краплі концентрованої HCl . Усі розчини готують ex tempore, об'єми розчинів варіюють в залежності від площі пластини мозку, що офарблюється, так, щоб при зануренні в розчин пластини була покрита розчином цілком. Зріз мозку після фіксації промивають водопровідною водою і занурюють у теплий (50-55°C) розчин мідного купоросу на 1-2 хвилини. Змивають залишки розчину водопровідною водою і перекладають у розчин залізного купоросу на 2-3 хвилини. Промивають водопровідною водою і перекладають у розчин червоної кров'яної солі до одержання потрібного забарвлення (5-10 хвилин). Після забарвлення препарат промивають водопровідною водою і диференціюють 5 % розчином аміаку. Зберігають за загальними правилами збереження препаратів.

Спосіб ілюструють наступні приклади

Приклад 1

Спосіб забарвлення розрізу головного мозку в горизонтальній площині (за Р.Д. Синельниковим).

Результат: кора головного мозку яскраво жовтогарячого кольору (повинна бути синього), біла речовина головного мозку жовтуватожовтогарячого кольору. Границя кори і білої речовини головного мозку слабо диференційована і не різко виражена. Кора головного мозку пофарбована нерівномірно, при навіть незначному диференціюванні (просвітлінні) втрачає колір. На даному зрізі визначаються базальні ядра головного мозку, яскраво жовтогарячого кольору (повинні бути синього), відповідно корі головного мозку. Границя ядер і білої речовини головного мозку не виразна, розпливчаста, що утрудняє їх диференціювання, також не точно визначаються форма і розміри даних ядер. Утворення сочевицеподібного ядра не помітні і не диференціюються один від одним. Через два тижні після збереження даного препарату в 10% формаліні забарвлення потьмяніло, кора головного мозку, як і базальні ядра, стали практично одного кольору з речовиною головного мозку, на дні посуду випав жовтуватий осад, розчин формаліну став менш прозорим.

Приклад 2

Спосіб забарвлення розрізу головного мозку в горизонтальній площині (за способом, що заявляється).

Результат: кора головного мозку забарвлена в синьо-чорний колір, базальні ядра насиченого те-

мно-синього кольору, речовина головного мозку не забарвлюється і залишається білуватою. Границя кори головного мозку з білою речовиною виразна. Можливо більш точно установити товщину кори головного мозку. При диференціюванні (просвітлінні) визначається викреслюваність кори головного мозку і підкіркових структур, що сприяє більш точній деталізації утворень кори і підкіркових структур. Самі базальні ядра також чітко контурують з білою речовиною головного мозку. Їхні утворення чітко диференціюються один від одного. Утворення сочевицеподібного ядра мають різний відтінок кольору, чіткі границі з білою речовиною головного мозку, завдяки чому є можливість найбільш точної і ймовірної деталізації їхньої форми і розмірів. Шкарлупа сочевицеподібного ядра має більш темне забарвлення, бліда куля й огорожа - більш світле, що підтверджується їх макромікроскопічною будовою і характерно для свіжого, не фіксованого і не забарвленого зрізу головного мозку. Таким чином, зберігається природне диференціювання як базальних ядер, так і їхніх структур. Даний препарат зберігався в 10% формаліні більш 1 місяця. Ніяких недоліків даного способу забарвлення, будь то помутніння розчину, випадання осаду, нестійкість забарвлення, порушення анатомічних структур не спостерігалось.

Приклад 3

Спосіб забарвлення розрізу головного мозку у фронтальній площині (за Р.Д. Синельниковим).

Результат: кора головного мозку світло синюватого кольору, біла речовина головного мозку світло бірюзового кольору. Границя кори і білої речовини головного мозку слабо диференційована і не різко виражена. Кора головного мозку забарвлена нерівномірно, при диференціюванні (просвітлінні) місцями втрачає колір забарвлення. На даних зрізах визначаються базальні ядра, соскоподібні тіла, хвостате ядро, таламус світло синього кольору, відповідно корі головного мозку. Границя підкіркових (субкортикальних) утворень і білої речовини головного мозку не виразна, розпливчаста, що утрудняє їх диференціювання, також не точно визначається їхня форма і розміри. Частково структура деяких субкортикальних утворень диференціюється, однак, близько лежачі один від одного не помітні і не диференціюються, являють собою єдине ціле, що не відповідає їх анатомічній будові. Через 1 місяць після збереження даних препаратів у 10% формаліні забарвлення стало ще менш насиченим, місцями потьмяніло, місцями зникло зовсім, кора головного мозку, як і деякі ядра, придбали не характерну їм викреслюваність, у деяких місцях кора втратила характерну їй шаруватість і топографоанатомічну структурність, аж до розшаровування. У посуді і на препаратах осаду не виявлялося, однак у деяких ємностях розчин формаліну став менш прозорим.

Приклад 4

Спосіб забарвлення розрізу головного мозку у фронтальній площині (за способом, що заявляється).

Результат: кора головного мозку забарвлена в синьо-чорний, усі підкіркові утворення, що розта-

шовуються в білій речовині головного мозку, насиченого темно-синього кольору, речовина головного мозку не забарвлюється і залишається білуватою чи сірувато-білястою. Границя кори головного мозку з білою речовиною виразна, що уможливає більш точно установити товщину кори головного мозку. При диференціюванні (просвітлінні) визначається викреслюваність і характерна анатомічна шаруватість кори головного мозку і підкіркових структур, що сприяє більш точної деталізації утворень кори і підкіркових структур. Самі ядра чітко контурують з білою речовиною головного мозку. Їхні утворення і структури чітко диференціюються друг від друга. Структури ядер і інших підкіркових утворень мають різний відтінок синього кольору, завдяки чому стає можливою найбільш

точна деталізація їхньої форми і розмірів. Зберігається природне диференціювання і структурність кори головного мозку, усіх ядер, їхніх частин і утворень. На ряді зрізів визначалися пофарбовані у світло синюватий колір волокна деяких провідних шляхів головного мозку, що мають зв'язок з ядрами і підкірковими структурами головного мозку. Причому ряд таких волокон, входячи в ядра головного мозку, приймали більш світле забарвлення, що робить їхнє диференціювання більш успішним. Дані препарати зберігалися з 10% формаліні більш 1 місяця. Недоліків даного способу не спостерігалось (помутніння розчину, випадання осаду, нестійкість забарвлення, порушення анатомічних структур).