



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **99053** (13) **U**
(51) МПК (2015.01)
G01N 33/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2014 14221	(72) Винахідник(и): Іванців Ольга Романівна (UA), Багрій Микола Миколайович (UA), Попадинець Оксана Григорівна (UA), Попович Юрій Іларіонович (UA)
(22) Дата подання заявки: 31.12.2014	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 12.05.2015	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 12.05.2015, Бюл.№ 9	(73) Власник(и): ІВАНО-ФРАНКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, вул. Галицька, 2, м. Івано-Франківськ, 76018 (UA)

(54) СПОСІБ ГІСТОЛОГІЧНОЇ ІДЕНТИФІКАЦІЇ ГЛАДКИХ МІОЦИТІВ СУДИННОЇ СТІНКИ ШЛЯХОМ МОДИФІКАЦІЇ ЗАБАРВЛЕННЯ ЗА МАЛЛОРИ

(57) Реферат:

Спосіб гістологічної ідентифікації гладких міоцитів судинної стінки шляхом модифікації забарвлення за Маллорі передбачає забарвлення гістологічних зрізів свіжоприготовленою сумішшю наступного складу: аніліновий синій (0,5 г) + оранж G (2,0 г) + щавлева кислота (2,0 г) + дистильована вода (100,0 мл). Попередньо зрізи забарвлюються у 0,5 % розчині кислого фуксину в розведенні дистильованою водою 1:5 протягом 3 хвилин.

UA 99053 U

Корисна модель належить до експериментальної медицини, а саме до гістоморфологічних методів досліджень і може бути використана для візуалізації кровоносних судин і ланок гемомікроциркуляторного русла (ГМЦР) різних органів.

Створення зазначеної моделі зумовлене тим, що на сьогоднішній день у сучасній морфології є мало методик, при використанні яких у достатній мірі можна було б вивчати гісто-
 5 та ангіоструктуру одночасно. При даному способі забарвлення гладкі міоцити судинної стінки чітко виявляються без попередньої протравки, що також є перевагою даної модифікації, оскільки скорочує час проведення забарвлення.

Відомим є класичний метод забарвлення гістологічних препаратів за Маллорі, при якому зрізи спочатку забарвлюють 0,1 % водним розчином кислого фуксину 2 хвилини [Меркулов Г.А. Курс патогистологической техники. Л.: Медгиз. - 1961, с. 148-149].

Недоліком даної методики є висока концентрація кислого фуксину, внаслідок чого усі елементи судинної стінки набувають червоного кольору

Найбільш близьким до корисної моделі то заявляється, є метод забарвлення гістологічних препаратів з модифікацією методу Маллорі за Бенслі, який передбачає забарвлення гістологічних зрізів свіжоприготовленою сумішшю наступного складу: аніліновий синій (0,5 г) +
 15 оранж G (2,0 г) + щавлева кислота (2,0 г) + дистильована вода (100,0 мл). При цьому забарвленням сумішшю анілін-кислотний фуксин за Альтманом здійснюють впродовж 10 хвилин [Р.Лиллн. Патогистологическая техника и практическая гистохимия - перевод с англ. под редакцией и с предисловием чл.-корр. АМН В.В.Португалова. - М.: Издательство "Мир", редакция биологической литературы, 1869, с. 276-277].,

Проте даний спосіб потребує попередньої протравки йодом і тіосульфатом натрію, а також необхідно тривалий час фарбування у суміші анілін - кислотний фуксин - 10 хвилин, внаслідок чого гладкі міоцити судинної стінки набувають червоного кольору, а колагенові волокна, які
 25 мали б забарвлюватися у синій колір, також частково малиново-червоні.

В основу корисної моделі, що заявляється, поставлено задачу створити спосіб гістологічної ідентифікації гладких міоцитів судинної стінки шляхом попереднього знебарвлення зрізів у розчині кислого фуксину в розведенні дистильованою водою, забезпечити візуалізацію структурних елементів судинної стінки як внутрішньо, так і екстраорганичних судин.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб гістологічної ідентифікації гладких міоцитів судинної стінки шляхом модифікації забарвлення за Маллорі, який передбачає забарвлення гістологічних зрізів свіжоприготовленою сумішшю наступного складу: аніліновий синій (0,5 г) +
 30 оранж G (2,0 г) + щавлева кислота (2,0 г) + дистильована вода (100,0 мл), згідно з корисною моделлю, попередньо зрізи забарвлюють у 0,5 % розчині кислого фуксину в розведенні дистильованою водою 1:5 протягом 3 хвилин.

Отож, за рахунок виконання поставленої задачі, гладкі міоцити судинної стінки чітко виявляються без попередньої протравки, що дозволяє одночасно вивчати структурні особливості ангіоархітектоніки органів і тканин в нормі, при різних патологічних станах та на
 40 фоні медикаментозної корекції.

Спосіб гістологічної ідентифікації гладких міоцитів судинної стінки шляхом модифікації забарвлення за Маллорі здійснюють наступним чином.

Евтаназію піддослідної тварини проводять під тіопенталовим наркозом. Для цього 1 грам сухої речовини тіопенталу натрію розчиняють в 10 мл 0,9 % натрій хлориду і вводять в/м 0,1 мл на 100 г маси тіла тварини. Для гістологічного дослідження матеріал фіксують у забуференому
 45 нейтральному 10 % формаліні впродовж 10 діб. Шматочки тканини промивають проточною водою впродовж 24 годин, обезводнюють у батареї спиртів, поміщають у хлороформ, суміш хлороформ-парафін (t 37 °C), дві порції парафіну (t 57 °C), виготовляють парафінові блоки. На санному мікротомі виготовляють гістологічні зрізи товщиною 4-5 мкм, наносять на предметні скельця. Для депарафінізації використовують дві порції ксилолу і низхідну батарею спиртів.

Після регідратації фіксовані на предметних скельцях гістологічні зрізи промивають у
 50 дистильованій воді і забарвлюють у 0,5 % розчині кислого фуксину в розведенні дистильованою водою 1:5 впродовж 3-х хвилин. Швидко споліскують у воді; переносять у 1 % водний розчин фосфорномолібденової кислоти впродовж 5 хвилин для кращої фіксації фуксину. Знову швидко ополіскують у воді і забарвлюють зрізи у попередньо свіжовиготовленій суміші, яку нагрівають
 55 до кип'ятіння, охолоджують і двічі фільтрують: аніліновий синій (0,5 г) + оранж G (2,0 г) + щавлева кислота (2,0 г) + дистильована вода (100,0 мл) впродовж 2 хвилин. Промивають двічі у воді впродовж 1 хвилини, диференціюють у спирті, просвітляють у ксилолах і заключають у бальзам, накривають покривними скельцями.

При цьому, гладкі міоцити судинної стінки, еритроцити на гістологічних зрізах набувають
 60 червоного, оранжево-червоного кольору, колагенові волокна - синього, у червоний колір

забарвлюється і цитоплазма інших структурних елементів (ендотеліоцитів тощо). При даному способі забарвлення гладкі міоцити судинної стінки чітко виявляються без попередньої протравки, що теж є перевагою даного методу.

- 5 Корисна модель забезпечує візуалізацію структурних елементів судинної стінки як внутрішньо-, так і екстраорганичних судин.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 10 Спосіб гістологічної ідентифікації гладких міоцитів судинної стінки шляхом модифікації забарвлення за Маллорі, який передбачає забарвлення гістологічних зрізів свіжоприготовленою сумішшю наступного складу: аніліновий синій (0,5 г) + оранж G (2,0 г) + щавлева кислота (2,0 г) + дистильована вода (100,0 мл), який **відрізняється** тим, що попередньо зрізи забарвлюються у 0,5 % розчині кислого фуксину в розведенні дистильованою водою 1:5 протягом 3 хвилин.

Комп'ютерна верстка Г. Паяльніков

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601