



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 54701

(13) A

(51) 7 A61B10/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДВИДАЄТЬСЯ ПІД
ВІДПОВІДАЛЬНІСТЬ
ВЛАСНИКА
ПАТЕНТУ

(54) СПОСІБ ПІДГОТОВКИ БІОЛОГІЧНОГО ЗРАЗКА ДО МОРФОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

1

2

(21) 2002010410

(22) 16 01 2002

(24) 17 03 2003

(46) 17 03 2003, Бюл. №3, 2003 р.

(72) Гольєва Наталя Володимирівна, Яковцова
Антоніна Федорівна, Марковський Володимир
Дмитрович, Васюта Володимир Семенович(73) ХАРКІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ(57) Спосіб підготовки біологічного зразка до мор-
фологічних досліджень, що включає фіксацію цьо-
го зразка, його промивання, проведення через
спирт, формалін, обробку розчином азотнокислого
срібла в дистильованій воді, аміачним сріблом,
аміачною водою, обезводнення та поміщення,
який відрізняється тим, що м'язові тканини ос-
новних відділів серця плодів та новонародженихдодатково поміщують в целоїдин та обробляють
хлороформом і парафіном, при цьому фіксують
зразок в 10% нейтральному формаліні протягом
12-24 годин при кімнатній температурі, проводять
його через 70°, 80°, 96° спирти і спирт-ефір, в це-
лоїдин поміщують на 24 години, після чого
споліскують в спирт-ефірі, обробляють хлоро-
формом в перебігу 12-18 годин, хлороформом -
парафіном при $t = 37^{\circ}\text{C}$ в перебігу 2-3 години, па-
рафіном I при $t 56^{\circ}\text{C}$ - 1-2 годин, парафіном II в тих
же умовах, заливають зразок в парафін,
поміщують на блок, роблять поперечні зрізи по
15-25 мкм, наклеюють зрізи на скло, поміщують їх
в термостат при $t = 37^{\circ}\text{C}$ на 2 години, депа-
рафінують зрізи до води і виконують обробку роз-
чином азотнокислого срібла та інші етапи як зви-
чайно

Винахід відноситься до медицини, а саме до
морфології і може бути використаним для підгото-
вки біологічного зразку до морфологічних дослі-
джень, наприклад, візуалізації мікроциркуляторно-
го русла міокарда серця плодів і новонароджених

Для існування живого організму необхідна по-
стійно діюча система - система циркуляції рідини.
Циркуляція - необхідна умова для обміну речовин.
Основним шляхом циркуляції рідин в організмі
являються кровоносні і лімфатичні судини і капі-
ляри.

З 1954 року (США) введено термін мікроцир-
куляторне русло (МЦР) і в сучасному уявленні
система МЦР - це сполучення взаємодіючих ком-
понентів: артерій, прекапілярів, капілярів, після-
капілярів і венул, впорядкованих по своєму розта-
шуванню у просторі.

Всі вони приймають участь в транспортуванні
крові і обміні речовин - органне кровоносне русло.

Стає очевидним, що МЦР відіграє важливу
роль в життєдіяльності і функціональних відправ-
леннях органів: безперервний рух по судинам,
зовні судин, поміж клітинами і навіть в цитоплазмі
самих клітин. Зупинка такого руху означає смерть,
а загальне порушення цього руху - захворювання.

Тому оцінка особливостей мікроциркуляторно-

го русла органів і тканин людського організму на-
буває великого значення і особливе місце в цьому
процесі посідають морфологічні дослідження, як
найбільш точні та ті, що дають вичерпну інформа-
цію для клініцистів.

Особливої ваги набуває етап візуалізації МЦР
міокарда серця, як етап, точність і інформатив-
ність якого обумовлюють результативність і ефек-
тивність наступних етапів морфологічних дослі-
джень.

Успіх в одержанні якісних препаратів залежить
від дотримання ряду технологічних умов: фіксації,
обробки і підготовки біологічного матеріалу. Одна
із таких методик виділення та обробки біологічного
об'єкту для вивчення судин була запропонована
Є. І. Рассказовою (В. В. Купріянов, Пути мікроцир-
куляції - Кишинев: Карта Молдовеняск, 1969 -
258с).

Так, наприклад, В. В. Купріянов і Б. З. Перлін
(1958) вперше використали обробку тонких сполу-
ченотканинних оболонок аміачним розчином азо-
тнокислого срібла для дослідження кровоносних і
лімфатичних судин на фрагментах оболонок, тов-
щина яких не перевищує 100 мкм (В. В. Купріянов,
Б. З. Перлін: Обработка соединительнотканых
оболочек аммиачным раствором азотнокислого

(19) UA (11) 54701 (13) A

серебра для исследования кровеносных лимфатических сосудов //Тезисы Докл 16-й науч конференции кишиневского мединститута, Кишинев-1958-С 37-39)

Це дало змогу імпрегнувати кровоносні судини і капіляри, а також лімфатичні судини, легко диференціювати артеріоли, венули, прекапіляри, капіляри, лімфатичні судини з їх клапанами

В основі розробленого В В Купріяновим модифікованого способу підготовки тотальних препаратів лежить їх обробка аміачним сріблом (В В Купріянов Пути микроциркуляции - Кишинев Картия Молдовеняскэ, 1969 -258с)

Технологічна схема згаданого способу включає такі основні етапи її виконання

1 Фіксація матеріалу в 12% нейтральному формаліні. При цьому як додаткові фіксатори використовують мурашкову кислоту, або лимонну, або квасцеву кислоту, які додають до фіксуючого формалінового розчину, тривалість фіксації від 5 днів до 2 місяців,

2 Промивання в проточній воді до 24 годин. Термін промивання прямо пропорційно залежить від терміну фіксації,

3 Утримання біологічного зразка в 70% спирті в перебігу 30 хвилин,

4 Споліскування шматочків в дистильованій воді,

5 Занурення в 20% розчин азотнокислого срібла в дистильованій воді до 80 хвилин, краще в темряві,

6 Споліскування водою,

7 Проводка через 2% розчин формаліну в 4 - 5 стаканчиках,

8 Проводка через дистильовану воду (швидко),

9 Занурення в аміачне срібло, в якому препарати тримають до пожовтіння,

10 Занурення препаратів в 0,5% розчин формаліну до появи коричневого відтінку,

11 Обробка аміачною водою, обезжовування, просвітлення і закінчення препаратів як звичайно.

Даний спосіб є найбільш близьким до того, що заявляється по технічній суті та результату, який може бути одержаним, тому його обрано в якості прототипу

Добрі результати при використанні цього способу одержують при обробці зразків різних оболонок тверда та м'яка оболонки головного та спинного мозку, черевика, перикарду, епікарду, фасцій, апоневрозів, синовіальних оболонок та інших оболонок внутрішніх органів. Можуть бути використані і зразки органів, але при цьому не вдається одержати узагальнюючої уяви, наприклад, про констру-

кцію капілярів. Виключення представляють зрізи головного мозку та стінки кишки, та й при цьому технологія підготовки таких зразків має свої особливості. Обов'язковою умовою є свіжість матеріалу

Тому в основу винаходу покладено задачу покращення якості підготовки біологічного зрізку серця плодів та новонароджених для одержання цілісної уяви про МЦР міокарда цього органу

Задача, яку покладено в основу винаходу, вирішується тим, що у відомому способі підготовки біологічного зразка до морфологічних досліджень, що включає фіксацію цього зразка, його промивання, проводку через спирт, формалін, обробку розчином азотнокислого срібла в дистильованій воді, аміачним сріблом, аміачною водою, обезжовування та закінчення, згідно з винаходом, м'язові тканини основних відділів серця та його провідної системи плодів та новонароджених додатково помішують в целлоїдин та обробляють хлороформом і парафіном, при цьому фіксують зразок в 10% нейтральному формаліні протягом 12 - 24 годин при кімнатній температурі, проводять його через 70°, 80°, 96° спирти і спирт-ефір, в целлоїдин помішують на 24 години, після чого споліскують в спирт-ефірі, обробляють хлороформом в перебігу 12 - 18 годин, хлороформом - парафіном при $t = 37^{\circ}\text{C}$ в перебігу 2 - 3 години, парафіном I при $t 56^{\circ}\text{C}$ - 1 - 2 годин, парафіном II в тих же умовах, заливають зразок в парафін, помішують на блок, роблять гістологічні зрізи по 15 - 25мкм, наклеюють зрізи на скло, помішують їх в термостат при $t = 37^{\circ}\text{C}$ на 2 години, депарафінують зрізи до води і виконують обробку розчином азотнокислого срібла та інші етапи як звичайно

Спосіб підготовки зразків міокарда серця плодів та новонароджених для наступних морфологічних досліджень МЦР міокарда, що заявляється, дозволяє використовувати звичайні гістологічні зрізи м'язової тканини. Такі зрізи можуть бути товщиною 15 - 25мкм і більше, що особливо важливо при вивченні МЦР поперечносмугастих м'язів. Товстий гістологічний зріз дозволяє одержати не тільки поперечний або подовжний зріз судини, а практично більшу частину елементів МЦР за рахунок збільшення об'єму об'єкта. Таким чином в міокарді можливо вивчення не тільки артеріол і венул, а і прекапілярів, капілярів і післякапілярів. Спосіб, що заявляється, дозволяє одержати достатню інформацію про мікросудини, які розташовані в пери- і -ендомізії, особливо про капіляри, які, як правило, у вигляді спіралі оточують практично кожне м'язове волокно (кардіоміоцит)