

СПОСІБ ЗАБАРВЛЮВАННЯ НЕРВОВИХ ВОЛОКОН

М. В. Лупир

Кафедра анатомії людини (зав. – к. мєнд. н., проф. Терещєнко А. О.), Харківський національний медичний університет. 61022, м. Харків, пр. Праєди, 12. E-mail: kolisnik.igor@mail.ru

A METHOD OF STAINING NERVE FIBERS

M. V. Lupyur

SUMMARY

Specimen preparation for demonstrational and research purposes, including the nervous system specimen, is highly important in the activities of medical research institutions. A new method of histological staining of the nervous system that allows differentiating the myelin and non-myelin fibers more accurately and specifying their structures has been worked out at the Human anatomy department of the Kharkiv National Medical University. The study was carried out using 28 specimen of peripheral nervous system fragments taken at different levels out of human corpses of different age groups. Based on the study, a useful-model patent has been received, according to which, the nerve fibers of histological specimens are stained by non-aluminous acetic haematoxylin with further differentiation by picrofuchsin. This method of histological staining of nerve fibers is the most efficient, potent and simple, not time-consuming, it does not require much financing.

СПОСОБ ОКРАШИВАНИЯ НЕРВНЫХ ВОЛОКОН

М. В. Лупырь

РЕЗЮМЕ

В работе медицинских научно-исследовательских учреждений существенное значение имеет изготовление препаратов для демонстрационных и научных целей, в том числе препаратов нервной системы. На кафедре анатомии человека Харьковского национального медицинского университета, был разработан новый метод гистологического окрашивания нервной системы, с помощью которого стало возможным, с большей точностью, дифференцировать миелиновые и безмиелиновые волокна и детализировать их структуры. Исследование проведено на 28 препаратах фрагментов периферической нервной системы, которые были взяты на разных уровнях от трупов людей разных возрастных групп. Задачу, которую поставлено в основу полезной модели, решают тем, что в известном способе окрашивания нервных волокон гистологических препаратов, который включает использование гематоксилинов, согласно с полезной моделью, нервные волокна гистологических препаратов окрашивают безгалуновым уксуснокислым гематоксилином с последующей дифференциацией пикрофуксином. Данный метод гистологического окрашивания волокон нервов является наиболее действенным, эффективным, простым и таким, который не требует больших затрат времени и финансирования.

Ключові слова: гістологічний екземпляр, метод забарвлення, нервові волокна, гематоксилін, мієлін, барвник.

У роботі медичних науково-дослідних установ суттєве значення має виготовлення препаратів для демонстраційних і наукових цілей, у тому числі препаратів нервової системи. У вивченні морфології структур нервової системи існує безліч методів дослідження [1, 2].

На кафедрі анатомії людини Харківського національного медичного університету, у продовження робіт фундаторів Харківської анатомічної школи, В. П. Воробьова, Р. Д. Синельникова, був розроблений новий метод гистологічного забарвлення нервової системи, за допомогою якого стало можливим, з більшою точністю, диференціювати мієлінові та безмієлінові волокна та деталізувати їх структури [1].

Для забарвлювання гистологічних препаратів використовують значний арсенал барвників, які розділяють на кислі барвники та барвники спеціального призначення.

Кислі барвники є кислотами або їх солями. Ці барвники забарвлюють, наприклад, цитоплазму

клітин. Клітинні структури, що сприймають ці барвники, називаються еозинофільними (eos- ранкова зоря) чи оксифільними, чи ацидофільними (acidum- кислота). Найбільш розповсюдженими кислими барвниками є еозин, пікринова кислота, кислий фуксин, індигокармін тощо.

Барвники спеціального призначення вибірково забарвлюють структурні компоненти клітин або речовини визначеної хімічної природи. Найбільш розповсюдженими барвниками спеціального призначення є судан III, осмієва кислота, що забарвлюють жири і жироподібні речовини; орсеїн, що забарвлює еластин та інші.

Після забарвлення гистологічні зрізи швидко зневоднюють у спиртах, просвітлюють у ксилолі чи толуолі, переносять на предметне скло, заливають тонким шаром канадського бальзаму чи полістиролу і накривають покривним склом. Бальзам, полістирол і скло мають однаковий показник переломлення світла, і промені світла мінімально розсіюються, проходячи через препарат.

Способи забарвлювання нервових волокон гістологічного препарату, як правило, використовують барвники спеціального призначення.

Так, наприклад, відомий спосіб виявлення оболонок нервових волокон за Хеквістом, Авциним, Шпільмейером, Шпільмейера в модифікації Соколянського. Останній спосіб забарвлювання нервових волокон є найбільш близьким до того, що заявляється, за технічною суттю та результатом, який може бути досягнутим, тому його вибрано за прототип.

За мету дослідження поставлено розробити найбільш новий та найбільш прийнятний у сучасній нейроморфології метод забарвлення і виготовлення гістологічних препаратів нервової системи.

В основу корисної моделі поставлено задачу розширення арсеналу способів забарвлювання нервових волокон гістологічних препаратів.

Задачу, яку поставлено в основу корисної моделі, вирішують тим, що у відомому способі забарвлювання нервових волокон гістологічних препаратів, який включає використання гематоксилінів, згідно з корисною моделлю, нервові волокна гістологічного препарату забарвлюють без галуновим оцтовокислим гематоксиліном з наступною диференціацією пікрофуксином.

Об'єкт та методи дослідження: дослідження проведено на 28 препаратах фрагментів периферичної нервової системи, які були взяті на різних рівнях від трупів людей різної вікової групи. В данній роботі були використані макромікроскопічні, морфометричні, гістологічні методи дослідження, методи статистичного аналізу.

Результати дослідження та їх обговорення: Гістологічний препарат забарвлюють безгалуновим оцтовокислим гематоксиліном 1,5–2 години в термостаті при температурі 56°C.

Безгалуновий оцтовокислий гематоксилін включає: 10% спиртовий розчин гематоксиліну – 10 мл, воду дистильовану – 90 мл, оцтову кислоту (крижану) – 2 мл.

Відмивають у 2-х чи 3-х порціях водопровідної води 20–30 хвилин; диференціюють пікрофуксином 30–40 хвилин у термостаті при температурі 56°C.

Склад пікрофуксину: 1% водяний розчин кислото фуксину – 10 мл, насичений водяний розчин пікринової кислоти – 100 мл.

Промивають у водопровідній воді 3–5 хвилин; швидко проводять по спиртах, підфарбованих пікриновою кислотою; просвітлюють у карболксилолі, промивають ксилолом, укладають у розчин полістиролу в ксилолі і накривають покривним склом.

Мієлінові оболонки нервових волокон забарвлюються в синювато-чорний колір, м'язова тканина насиченого червоно-коричневого кольору, сполучна тканина – від рожевого до яскраво-червоного. Оболонки кровоносних і лімфатичних судин від *intima* до *externa* чітко диференціюються за кольором, еритроцити приймають коричневе забарвлення. Епінервій, перинервій і едонервій периферичних нервів чітко диференційовані. Безмієлінові нервові волокна вегетативної іннервації чітко оконтуровані як у судинно-нервових пучках, так і серед навколишньої тканини.

ВИСНОВКИ

На підставі даних досліджень отриманий «Патент на корисну модель» № 65245 «Спосіб забарвлювання нервових волокон гістологічного препарату».

Представлений метод гістологічного забарвлення волокон нервів використовується у ряді наукових праць Харківського національного медичного університету.

Розроблений метод гістологічного забарвлення волокон нервів широко використовується, відноснолюбих структур нервової системи.

Даний метод гістологічного забарвлення волокон нервів є найбільш дієвим, ефективним, простим і тим, який не вимагає великих затрат часу та фінансування.

ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Результати, які отримані у ході виконання даного методу забарвлення волокон нервової системи будуть використані при виконанні ряду наукових робіт Харківського національного медичного університету.

Дослідження виконано у відповідності до тематичних планів наукових досліджень Харківського національного медичного університету МОЗ України у рамках науково-дослідної теми кафедри анатомії людини «Морфологічні особливості ендокринної системи, нервової та судинної систем в нормі та під впливом деяких чинників» (номер гос. реєстрації 0108U007050).

За даним методом дослідження був отриманий патент на корисну модель № 65245. Корисна модель належить до медицини, а саме до анатомії людини, гістології, патоморфології, і може бути використаною для забарвлення нервових волокон на гістологічних препаратах.

ЛІТЕРАТУРА

1. Б. Ромейс; [пер. с немец. В. Александрова]. – М.: Издательство иностранной литературы, 1953.- 718 с;
2. Меркулов Г. А. Курс патолого-гистологической техники/Г. А. Меркулов. – Л.: Медицина, 1969. – 423 с).