



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **140131** (13) **U**  
(51) МПК

**A01N 1/02** (2006.01)

**G01N 1/28** (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ  
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА  
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

<p>(21) Номер заявки: <b>u 2019 06825</b></p> <p>(22) Дата подання заявки: <b>18.06.2019</b></p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>10.02.2020</b></p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>10.02.2020, Бюл.№ 3</b></p>	<p>(72) Винахідник(и): <b>Єрошенко Галина Анатоліївна (UA), Шевченко Костянтин Васильович (UA), Борута Наталія Володимирівна (UA), Ячміль Анастасія Ігорівна (UA), Лічман Діана Володимирівна (UA)</b></p> <p>(73) Власник(и): <b>УКРАЇНСЬКА МЕДИЧНА СТОМАТОЛОГІЧНА АКАДЕМІЯ, вул. Шевченка, 23, м. Полтава, 36011 (UA)</b></p>
---	---

**(54) СПОСІБ ВІДНОВЛЕННЯ АРХІВНИХ ГІСТОЛОГІЧНИХ ПРЕПАРАТІВ**

**(57) Реферат:**

Спосіб відновлення архівних гістологічних препаратів, при якому із попередньо фіксованих 10 % розчином формаліну тканин, вирізають шматочки 2×2×2 мм, промивають їх протягом 4 годин в 0,1 М фосфатному буфері з рН 1,2-1,4 з додаванням сахарози до кінцевої концентрації 4,5 % з подальшим вміщенням в скляну ємність по 3-5 шматочків тканини і заливанням їх 5-6 мл фосфатного буфера, який міняють 3-4 рази. Потім шматочки матеріалу фіксують в 0,5 % розчині OsO<sub>4</sub>, виготовленому на фосфатному буфері рН 7,2-7,4 з додаванням K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> до кінцевої концентрації 0,5 % і цукру до 4,5 %, тривалість фіксації від 3 годин до 3 діб.

UA 140131 U



Корисна модель належить до галузі медицини, а саме до експериментальної медицини, гістології, анатомії, патологічної анатомії, фізіології, і може бути застосована для визначення органної і тканинної належності пухлин і вивчення їх гістогенезу при електронно-мікроскопічному дослідженні.

5 Деякі види пухлин зустрічаються дуже рідко, тому виникає питання про можливість електронно-мікроскопічного дослідження матеріалу, який був фіксований формаліном і тривалий час знаходився в архіві.

10 По існуючих даних, формалінова фіксація і поміщення зрізів в парафін або целоїдин з подальшим видаленням твердіючих середовищ, призводять до того, що при електронній мікроскопії в таких тканинах не виявляється гладка ендоплазматична сітка, комплекс Гольджі, мітохондрії і мембранні структури, або ділянки цитоплазми з утворенням вакуолей / Zeitoun P, Lehy T. Utilization of paraffin-embedded material for electron microscopy. Study of an A2-cell type microadenoma of the endocrine pancreas. Lab Invest. 1970 Jul.; 23(1):52-57.

15 Також існує спосіб фіксації в 10 % розчину формаліну, який не викликає суттєвих змін в скелетних м'язах і в епідермісі людини: відмічається лише збільшення об'єму мітохондрій і розширення цистерн ендоплазматичної сітки в м'язах / Михайлов И.Н. Структура и функция эпидермиса. М.: Медицина, 1979.-239 с.; Хорошков Ю.А. Роль структурной организации в формировании механических свойств коллагенового волокна // Биомеханика. Рига, 1975. - С. 143-146.

20 Серед відомих методів, зокрема є спосіб виготовлення і зберігання анатомічних музейних вологих макропрепаратів, що включає промивання препарату водою з наступною фіксацією препарату шляхом повного занурення в ємність з розчином хімічного реагенту, з наступною заміною реагенту на свіжий, причому при приготуванні макропрепаратів фіксацію здійснюють шляхом його занурення в 10 % водний розчин гліюксалу за обсягом, що перевищує обсяг макропрепаратів не менше ніж в 10 разів, далі заміну реагенту виробляють тричі на 7, 14, 21 добу, кожен раз промиваючи макропрепарат після видалення реагенту проточною водою, для музейних експонатів, фіксація яких здійснювалася 10 % розчином формаліну, формалін зливають, а перезаливання на 14, 28 і 42 добу проводять 10 % водним розчином гліюксалу. Винахід дозволяє зберегти колір і органолептичні властивості м'яких тканин макропрепаратів, що зберігаються у фіксуючій рідині. Пат. на корисну модель 2 566 648 РФ, МПК А01N 1/02. СПОСОБ ИЗГОТОВЛЕНИЯ И ХРАНЕНИЯ МУЗЕЙНЫХ АНАТОМИЧЕСКИХ ВЛАЖНЫХ МАКРОПРЕПАРАТОВ / Алябьев Федор Валерьевич (RU), Дорошенко Александр Сергеевич (RU), Князев Андрей Сергеевич (RU). - № 2014145219/13; Заявл. 10.11.2014; Опубл. 27.10.2015 Бюл. № 30.

35 В основу корисної моделі поставлена задача відновлення фіксованого формаліном матеріалу, який тривалий час знаходився в архіві для подальшого електронно-мікроскопічного дослідження.

40 Задача вирішується створенням способу відновлення архівних гістологічних препаратів, при якому із попередньо фіксованих 10 % розчином формаліну тканин, вирізають шматочки 2\*2\*2 мм, промивають їх протягом 4 годин в 0,1 М фосфатному буфері з рН 7,2-7,4 з додаванням сахарози до кінцевої концентрації 4,5 % з подальшим вміщенням в скляну ємність по 3-5 шматочків тканини і заливанням їх 5-6 мл фосфатного буфера, який міняють 3-4 рази, потім шматочки матеріалу фіксують в 0,5 % розчині OsO<sub>4</sub>, виготовленому на фосфатному буфері рН 7,2-7,4 з додаванням K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> до кінцевої концентрації 0,5 % і цукру до 4,5 %, тривалість фіксації від 3 годин до 3 діб.

45 Спосіб здійснюється наступним чином: із тканин, фіксованих 10 % розчином формаліну, вирізають шматочки 2\*2\*2 мм, промивають їх протягом 4 годин в 0,1 М фосфатному буфері з рН 7,2-7,4 з додаванням сахарози до кінцевої концентрації 4,5 %. В скляну ємність поміщають по 3-5 шматочків тканини і заливають їх 5-6 мл фосфатного буфера, який міняють 3-4 рази, потім шматочки матеріалу фіксують в 0,5 % розчині OsO<sub>4</sub>, виготовленому на фосфатному буфері рН 7,2-7,4 з додаванням K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> до кінцевої концентрації 0,5 % і цукру до 4,5 %. Подальші дії здійснюються за загальноприйнятою методикою, згідно з якою, готується розчин осмію, а саме: 1 % розчин OsO<sub>4</sub> з додаванням K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> до 1 % концентрації. Цей розчин в колбі з притертою кришечкою витримують місяцями при звичайній температурі. Перед використанням до необхідного об'єму розчину додають кількість фосфатного буфера до рН 7,2-7,4 з цукром в концентрації 9 %. Тривалість фіксації від 3 годин до 3 діб. Після 3-4 промивання по 15-20 хвилин (загальна тривалість близько 1 години) в фосфатному буфері рН 7,2-7,4 з цукром в концентрації 4,5 % матеріал проводять через спирти; 70° спирт два рази по 1 годині; 70° спирт з додаванням уранілацетату до 1 % концентрації на ніч; 96° спирт три рази по 15 хвилин. Фрагменти матеріалу проводять в 3 порціях зневодненого ацетону і поміщують в Епон (Епон-812-16 мл,

DDSA-10 мл, MNA-9 мл, DMP-30 0,7-1 мл) в такій послідовності: суміш епону+ацетон у співвідношенні 1:2 і 1:1 по 1 частині, суміш Епону на ніч при кімнатній температурі, заливка матеріалу в капсули і полімеризація при температурі 37° - 1 доба, 45° - 1 доба, 60° - 1 доба. Відмиваємо желатинову капсулу за допомогою пилки з дрібною насічкою, видаляємо смолу над

5

матеріалом. На ультрамікротомі отримуємо зрізи в 1-2 мкм, зрізи забарвлюємо протягом 1-2 хвилин поліхромним синім Унна, який при забарвленні не вимагає підігрівання, промиваємо дистильованою водою впродовж декількох секунд, проводимо по спиртах (70° - 1-5 хвилин, 96° - 1-5 хвилин) і заключають в гліцерин-желатину. Препарати можна тривалий час зберігати.

10

Додавання  $K_2Cr_2O_7$  до  $OsO_4$  обумовлено тим, що він попереджає відновлення  $OsO_4$  і розчин тривалий час зберігається.

Дана методика придатна для електронномікроскопічного дослідження аутопсійного матеріалу, а також інших тканин. Свіжі тканини фіксують в 0,25-0,5 % розчину глутаральдегіду, який виготовлений на фосфатному буфері з рН 7,2-7,4 з цукром в концентрації 4,5 %.

15

Таким чином, запропонований спосіб дає можливість проводити електронно-мікроскопічне дослідження біопсійного і експериментального матеріалу, що попередньо, тривалий час був фіксований формаліном та знаходився в архіві.

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

20

Спосіб відновлення архівних гістологічних препаратів, при якому із попередньо фіксованих 10 % розчином формаліну тканин, вирізають шматочки 2×2×2 мм, промивають їх протягом 4 годин в 0,1 М фосфатному буфері з рН 1,2-1,4 з додаванням сахарози до кінцевої концентрації 4,5 % з подальшим вміщенням в скляну ємність по 3-5 шматочків тканини і заливанням їх 5-6 мл фосфатного буфера, який міняють 3-4 рази, потім шматочки матеріалу фіксують в 0,5 % розчині

25

$OsO_4$ , виготовленому на фосфатному буфері рН 7,2-7,4 з додаванням  $K_2Cr_2O_7$  до кінцевої концентрації 0,5 % і цукру до 4,5 %, тривалість фіксації від 3 годин до 3 діб.

---

Комп'ютерна верстка О. Гергіль

---

Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України,  
вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

---

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