



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **98541** (13) **U**
(51) МПК (2015.01)
A61D 7/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

<p>(21) Номер заявки: u 2014 13381</p> <p>(22) Дата подання заявки: 12.12.2014</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 27.04.2015</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 27.04.2015, Бюл.№ 8</p>	<p>(72) Винахідник(и): Білаш Сергій Михайлович (UA), Шепітько Володимир Іванович (UA), Іваночко Василь Михайлович (UA), Єрошенко Галина Анатоліївна (UA), Білаш Валентина Павлівна (UA)</p> <p>(73) Власник(и): ВИЩИЙ ДЕРЖАВНИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД УКРАЇНИ "УКРАЇНСЬКА МЕДИЧНА СТОМАТОЛОГІЧНА АКАДЕМІЯ", вул. Шевченка, 23, м. Полтава, 36024 (UA)</p>
---	---

(54) СПОСІБ ДОСЛІДЖЕННЯ МОРФОЛОГІЇ МОЗОЧКА НА ЕПОКСИДНИХ ШЛІФАХ

(57) Реферат:

Спосіб дослідження морфології мозочка на епоксидних шліфах включає виготовлення горизонтальних слайсів з тканин мозочка, зневоднення, ущільнення в ЕПОН-812. При цьому для дослідження застосовується фосфатний буфер та збільшено час просочення епоксидною смолою до 3-х годин.

UA 98541 U

Корисна модель належить до галузі медицини, а саме до експериментальної медицини, і може бути застосована для проведення морфологічних досліджень, кількісного і якісного аналізу та визначення гістотопографії структурних компонентів мозочка на епоксидних шліфах з використанням загальноприйнятих методик імпрегнації нервових утворень.

5 Відомі гістологічні методи дослідження морфології органів нервової системи полягають в ущільненні органу, що вивчається, в парафін, целоїдин, желатин (для отримання гістологічних зрізів завтовшки 5 мкм) і в епоксидну смолу (для електронномікроскопічних досліджень, виготовлення ультратонких зрізів і напівтонких зрізів завтовшки 1-2 мкм). Біоптати для даних методів ущільнення біологічних об'єктів при парафіновому ущільненні становлять 0,8×0,8×0,8, а в епоксидну смолу для виготовлення напівтонких зрізів та ультратонких зрізів 0,2×0,2×0,2
10 [Меркулов А. Б. Курс патогистологической техники / А. Б. Меркулов/ Л.: Медицина, 1969. - 237 с.]. Недоліком цього методу дослідження є те, що парафінові та напівтонкі зрізи мають вкрай малу площу поверхні і не дають змоги отримати цілісну характеристику органу, що вивчається. Також цей підхід не можливий для відбору зразків при подальшому виготовленні напівтонких і ультратонких зрізів для проведення електронномікроскопічних досліджень. Отримані таким
15 чином гістологічні препарати, як правило, не придатні для вивчення при великих збільшеннях світлового мікроскопа через деформацію структур і значної товщини гістологічних зрізів.

Найбільш близьким до способу, що з'являється, є спосіб дослідження на напівтонких зрізах [Метод изготовления гистологических препаратов, равноценных полутонким срезам с большой обзорной поверхности, для многоцелевых морфологических исследований / Ю. П. Костиленко, И. В. Бойко, И. И. Старченко [и др.] // Морфология.-2007. - № 5. - С. 94-96]. Після попереднього дослідження на макро-мікроскопічному рівні і при малому збільшенні світлового мікроскопа гістотопографічних зрізів, за допомогою бінокулярної лупи на них вибираються декілька ділянок розміром 3 × 4 мм для подальшого вивчення під великими збільшеннями світлового мікроскопа.

25 Однак недоліком даного способу є те, що описана методика була використана при вивченні будови окремих ділянок язика та трійчастого вузла. Апробація даної методики на органах нервової системи не проводилась. Методика довготривала за часом її проведення, а також в ході її проведення використовуються канцерогенні речовини.

В основу корисної моделі поставлена задача модифікувати методику Ю. П. Костиленка з вилученням етапу роботи з пікриною, оцтовою кислотою та формальдегідом. Позитивним є заміна ацетатного буфера на фосфатний, який є більш доступним. Скорочення часу проведення методики дає змогу швидше визначити ділянки препарату для подальшого електронномікроскопічного дослідження.

30 Поставлена задача вирішується застосуванням способу дослідження морфології мозочка на епоксидних шліфах, що включає в себе виготовлення горизонтальних слайсів з тканин мозочка, зневоднення, ущільнення в ЕПОН-812 і відрізняється тим, що застосовується фосфатний буфер та збільшено час просочення епоксидною смолою до 3-х годин.

Запропонований спосіб здійснюється наступним чином:

40 - за допомогою гострого леза мозочок розрізали на поздовжні сегменти завтовшки 1-1,5 мм;
- потім фіксували їх у 2,5 % розчині глютарового альдегіду впродовж 4 діб при температурі 4° С;

45 - після відмивки в чотирьох порціях 0,1 М фосфатного буфера протягом 2 годин шматочки занурювали в розчин чотириокису осмію на 0,1 М фосфатному буфері з рН 7,4: 6,71 % NaH_2PO_4 -6,3 мл, 2,52 % NaOH -3,8 мл, 5,4 % глюкоза - 2,5 мл, 2 % розчин осмієвої кислоти - 12,3 мл, 1 % CaCl_2 -0,05 мл. на 2 години при температурі + 4 С;

- після постфіксації шматочки тканини відмивали від фіксатора в 0,1 М фосфатному буфері рН 7,3 упродовж 1 години (4 порції по 15 хвилин у кожній);

50 - після фіксації фрагменти слайси з тканин мозочка відмивали від фіксатора 0,1 М фосфатним буфером з наступним зневодненням в етилових спиртах зростаючої міцності (50°, 60°, 70°, 80°, 90° і 96° спирті) по 30 хвилин з триразовою зміною в кожній із порцій;

- ущільнення продовжували в сумішах спирт-ацетон (3:1, 1:1, 1:3) і тричі в чистому ацетоні по 15 хвилин; далі ущільнювали матеріал шляхом занурення в суміші ацетону з епоксидними смолами у співвідношенні 3:1; 1:1, 1:3 по 30 хвилин і 3 години матеріал просочували в чистій смолі при температурі 35° С в термостаті;

55 - потім слайси з тканин мозочка розміщували горизонтально в підготовлені форми і заливали смолою з наступною полімеризацією впродовж 3-х діб при температурах 35°, 45°, 60° С відповідно;

- після полімеризації слайси ущільнені в епоксидну смолу шліфували на абразивному папері різної зернистості до товщини шліфу 1,0-1,2 мм;

- заключну шліфовку та корекцію епоксидних шліфів від мікроподряпин проводили на замшевій тканині з використанням пасти Гойя;

- отримані епоксидні шліфи імпрегнували солями срібла за загальноприйнятими методиками і вивчали у світловому мікроскопі.

- 5 Таким чином, запропонований метод пластинації слайсів з тканин мозочка і виготовлення епоксидних шліфів для мікроскопічного дослідження дає можливість вивчати структурні компоненти мозочка з великою оглядовою поверхнею, майже на тотальному препараті, при великих збільшеннях світлового мікроскопа, вилучити етапи роботи з пікриною, оцтовою кислотою та формальдегідом, замінити ацетатний буфер на фосфатний, який є більш доступним та скоротити час на проведення методики і швидше визначити ділянки препарату
- 10 для подальшого електронікроскопічного дослідження.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- 15 Спосіб дослідження морфології мозочка на епоксидних шліфах, що включає виготовлення горизонтальних слайсів з тканин мозочка, зневоднення, ущільнення в ЕПОН-812, який **відрізняється** тим, що застосовується фосфатний буфер та збільшено час просочення епоксидною смолою до 3-х годин.

Комп'ютерна верстка Л. Бурлак

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

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