

УКРАЇНА



ПАТЕНТ

НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ № 112472

**СПОСІБ КОМПЛЕКСНОГО МОРФОЛОГІЧНОГО
ДОСЛІДЖЕННЯ ЧЕРВОПОДІБНИХ ВІДРОСТКІВ ЛЮДИНИ В
ЕПОКСИДНІЙ СМОЛІ "ЕПОН-812"**

Видано відповідно до Закону України "Про охорону прав на винаходи і корисні моделі".

Зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на корисні моделі 26.12.2016.

В.о. Голови Державної служби
інтелектуальної власності України

А.А.Малиш





УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **112472** (13) **U**
(51) МПК (2016.01)
A61B 1/00
H01L 33/56 (2010.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

<p>(21) Номер заявки: u 2015 12516</p> <p>(22) Дата подання заявки: 18.12.2015</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 26.12.2016</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 26.12.2016, Бюл.№ 24</p>	<p>(72) Винахідник(и): Гринь Володимир Григорович (UA), Шерстюк Олег Олексійович (UA), Старченко Іван Іванович (UA), Прилуцький Олексій Костянтинович (UA), Свінцицька Наталія Леонідівна (UA)</p> <p>(73) Власник(и): ВИЩИЙ ДЕРЖАВНИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД УКРАЇНИ "УКРАЇНЬСЬКА МЕДИЧНА СТОМАТОЛОГІЧНА АКАДЕМІЯ", вул. Шевченка, 23, м. Полтава, 36011 (UA)</p>
--	---

(54) СПОСІБ КОМПЛЕКСНОГО МОРФОЛОГІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ ЧЕРВОПОДІБНИХ ВІДРОСТКІВ ЛЮДИНИ В ЕПОКСИДНІЙ СМОЛІ "ЕПОН-812"

(57) Реферат:

Спосіб комплексного морфологічного дослідження червоподібних відростків людини в епоксидній смолі "Епон-812" передбачає дегідратацію тканин з наступною заливкою її епоксидною смолою і полімеризацією. Використано спирти зростаючої кріпості (50 %, 70 %, 80 %, 96 %), при заміні суміші ацетон-спирт додано додаткові порції (пропорції: 1:2 та 2:1 і в 1-й порції чистого ацетону) по 15 хвилин в кожній порції, проводиться додатковий етап промивка в епоксидній смолі шляхом змішування ацетону з сумішшю А+В "Епон-812" до чистої суміші (пропорції: 3:1, 1:1, 1:3) по 30 хвилин в кожній порції та 1 порція в суміші епоксидної смоли на 1 годину при температурі 35 °С.

UA 112472 U

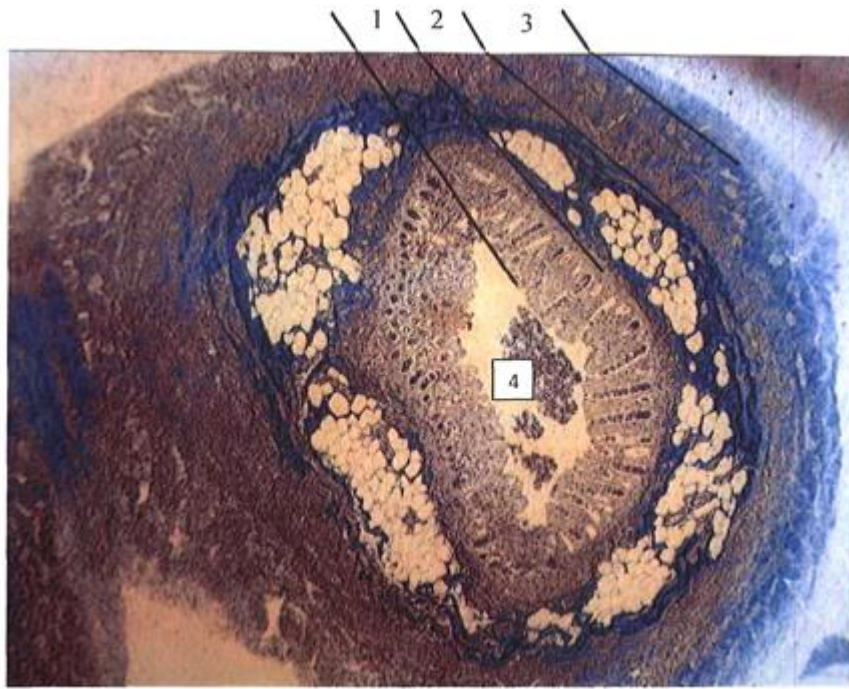


Fig. 1

Запропонований спосіб належить до галузі медицини, зокрема - до лабораторних методів дослідження в морфології.

Аналогами корисної моделі, найбільш близькими за технічною суттю до корисної моделі, є: спосіб заливки тканин в парафін, спосіб заливки тканин в целоїдин, спосіб заливки тканин в желатин (Г.А. Меркулов. Курс патогистологической техники. МЕДГИЗ, Ленинградское отделение. - 1961). Найбільш близькими за технічною суттю до запропонованого способу є два способи заливки тканин в епонові смоли для подальшого виготовлення напівтонких зрізів. Перший з них впроваджений Костиленко Ю.П. та Ковальовим Є.В. (Костиленко Ю.П., Ковалёв Е.В. Методы работы с полутонкими эпоксидными срезами в гистологической практике.// Архив анатомии, гистологии, эмбриологии. - 1978, - Т. 75, В. 12 - С. 68-72.), що полягає в наступному: після узяття шматочки матеріалу розміром до 0,5×0,4×0,3 см промиваються у фізіологічному розчині при температурі 37 °С, а потім поміщається в 4 % розчин глютарового альдегіду на фосфатному буфері (рН - 7,4). Через добу після перебування в холодильній камері, препарати поміщують в свіжий розчин глютарового альдегіду. Після фіксації матеріал відмивається від надлишку фіксатора у фосфатному буфері. У разі вивчення твердих тканин матеріал піддають декальцинації в розчині Трилона Б. Після відмивання у фосфатному буфері препарати занурюються на 2 години в 1 % розчин осмію по Millonig. Позбавивши препарати від фіксатора шляхом промивки в 0,1М фосфатному буфері протягом 1 години, переходять до процедури їх дегідратації в спиртах зростаючої міцності, а потім в суміші спирт-ацетон і в 3-х свіжих порціях ацетону по 15 хвилин в кожній. Як заливальне середовище слугує "Епон-812". Проте, в такий спосіб неможливо заливати шматочки матеріалу, які за розмірами перевищують 0,5×0,4×0,3 см; при цьому спосіб включає етап постфіксації в розчині осмію, який порушує оптичні властивості матеріалу; матеріал, який містить тверді тканини (кістку, тверді тканини зубу), необхідно попередньо піддавати декальцинації, яка деформує тканини, що вивчається.

Другий спосіб запропонований Костиленком Ю.П., Старченком І.І., Прилуцьким О.К., Бойком І.В. (Пат. UA 72603, МПК А61К G01N 1/00. Спосіб укладання біологічних тканин в епоксидну смолу для макро-мікроскопічних досліджень/ Костиленко Ю.П., Старченко І.І., Прилуцький О.К., Бойко І.В. - заявл. у 2012 01052; опубл. 27.08.2012 Бюл. № 16), що полягає в наступному: отримані і фіксовані звичайним способом тканини (розміром приблизно 20×10×10 мм) надалі піддають відмиванню, переходять до процедури їх дегідратації в спиртах, а потім поміщується в суміші спирт-ацетон (пропорції: 1 до 3, 1 до 1 та 3 до 1) і в 3-х свіжих порціях ацетону по 30 хвилин в кожній (тобто кожен етап подовжений вдвічі). Просочений препарат поміщається в чисту суміш епоксидної смоли в кюветі, який відповідає розміру препарату. У даному способі використовують об'єкти, які за розмірами значно перевищують загальноприйняті (0,5×0,4×0,3 см) - 2×1×1 см; а також виключається етап постфіксації в розчині осмію та відкидає необхідність в процедурі декальцинації при вивченні твердих тканин.

В основу корисної моделі поставлена задача удосконалення способу епоксидної пластинації для гістологічних досліджень м'яких тканин, з метою подальшого виготовлення препаратів без деформації тканин червоподібного відростку, а також мікроскопічного вивчення препаратів апендиксів у поздовжньому та поперечному перерізі з великою оглядовою поверхнею. Для характеристики червоподібного відростка використовували такі ознаки і метричні показники: форму зігнутості; товщину в основі, середній і апікальній частинах відростка; будову стінки: 1 - слизова оболонка; 2 - підслизова сполучнотканинна основа; 3 - м'язова оболонка; 4 - внутрішній просвіт апендикса та його вміст (Фіг. 1).

Поставлена задача вирішується шляхом створення способу комплексного морфологічного дослідження червоподібних відростків людини в епоксидній смолі "Епон-812" (Епон 812, Fluka Chemie, Switzerland), який передбачає дегідратацію тканин з наступною заливкою її епоксидною смолою і полімеризацією та відрізняється тим, що використано спирти зростаючої міцності (50 %, 70 %, 80 %, 96 %), при заміні суміші ацетон-спирт додано додаткові порції (пропорції: 1:2 та 2:1 і в 1-й порції чистого ацетону) по 15 хвилин в кожній порції, проводиться додатковий етап промивка в епоксидній смолі шляхом змішування ацетону з сумішшю А+В "Епон-812" до чистої суміші (пропорції: 3:1, 1:1, 1:3) по 30 хвилин в кожній порції та 1 порція в суміші епоксидної смоли на 1 годину при температурі 35° С.

Спосіб пластинації червоподібних відростків в суміші епоксидної смоли для мікроскопічних досліджень виконується наступним чином: препарати червоподібних відростків фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну, надалі піддавали відмиванню, переходили до процедури їх дегідратації в спиртах зростаючої кріпості (50 %, 70 %, 80 %, 96 %), а потім проводили заміну суміші ацетон-спирт (пропорції: 1:3, 1:2, 1:1, 2:1, 3:1 та в 1-й порції чистого ацетону) по 15 хвилин в кожній. Далі проводили промивку в епоксидній смолі шляхом заміни ацетону на суміш А+В "Епон-812" (пропорції: 3:1, 1:1, 1:3) по 30 хвилин в кожній порції та 1 порція в суміші

епоксидної смоли на 1 годину при температурі 35° С. Для приготування суміші А потрібно: епон-812-6,2 мл та епон-DDSA-10 мл; суміші В: епон-812-10 мл, епон-MNA-8,9 мл, ДМП-30-0,8 мл. Всі складові спочатку окремо, а потім в одній посудині перемішати протягом 40 хвилин. До початку змішування смоли, останню поставити у термостат при температурі 30° С на 1 годину.

5 Просочені апендикси поміщаються в чисту суміш епоксидної смоли в прозорі пластикові пробірки із внутрішнім діаметром 14 мм для утворення епоксидних блоків (Фіг. 2), що дозволило в окремих випадках випрямити вигнуті препарати без істотної деформації тканин, що відповідали розмірам препаратів. Вимірювання внутрішнього діаметра пробірок проводили за допомогою повіреної метрологом гнучкої вузької лінійки ГОСТ 427-75. Наступним етапом проводили полімеризацію: 1-а доба - 35 °С, 2-а доба - 45 С, 3-4-а доба - 56 °С. Після полімеризації необхідний для дослідження епоксидний блок із укладеним тканинним об'єктом (апендикс) розрізали сепарувальним диском у потрібній площині розтину: червоподібний відросток - у поздовжньому і поперечному розрізах. Потім торцеві поверхні з оголеними тканинами препаратів піддавали щадному шліфуванню до одержання гладкої площини без

10 проводили полімеризацію: 1-а доба - 35 °С, 2-а доба - 45 С, 3-4-а доба - 56 °С. Після полімеризації необхідний для дослідження епоксидний блок із укладеним тканинним об'єктом (апендикс) розрізали сепарувальним диском у потрібній площині розтину: червоподібний відросток - у поздовжньому і поперечному розрізах. Потім торцеві поверхні з оголеними

15 тканинами препаратів піддавали щадному шліфуванню до одержання гладкої площини без поперемінно закріплювали в тримачі свердлильної установки. Крім того, спеціально для вивчення препаратів у світловому мікроскопі при більших збільшеннях виготовляли пластинчасті шліфи за допомогою пристрою (Патент України № 99704. МПК: G01N 19/02, А61В 17/00. Пристрій для виготовлення стандартизованих за товщиною пластинчастих епоксидних шліфів/ Білаш С.М., Рябушко М.М., Гринь В.Г., Шерстюк О.О., Бобирьов В.М., Костиленко Ю.П. -

20 у заявки 2014 07001; дата подання заявки 23.06.14; дата публікації 25.06.2015) із двостороннім поліруванням, товщина яких не перевищувала 0,5 мм. На цьому етапі препарати придатні для фарбування відповідними барвниками, найдоступнішим із яких, простим і ефективним є 1 % розчин метиленового синього на 1 % розчині бури. Вивчення препаратів і одержання необхідних мікрофотографій здійснювали за допомогою бінокулярної лупи і світлового мікроскопа, оснащених цифровою фотоприставкою.

Позитивний ефект запропонованого способу дослідження червоподібних відростків полягає в тому, що за допомогою нього проводиться підготовка препаратів, їх морфометричне та гістологічне вивчення саме м'яких тканин (апендикс) з великою оглядовою поверхнею.

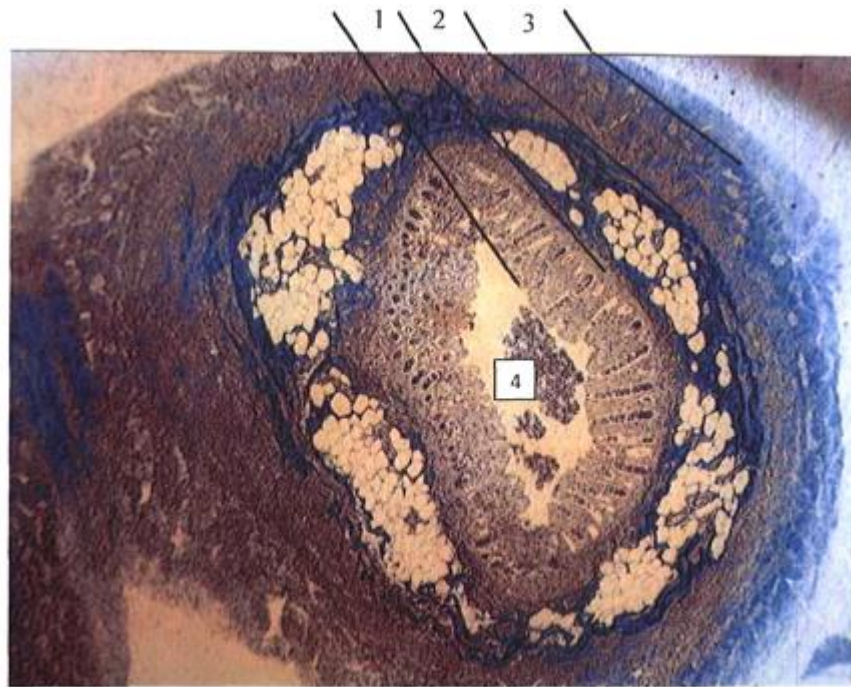
30

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб комплексного морфологічного дослідження червоподібних відростків людини в епоксидній смолі "Епон-812", який передбачає дегідратацію тканин з наступною заливкою її епоксидною смолою і полімеризацією, який **відрізняється** тим, що використовують спирти зростаючої міцності (50 %, 70 %, 80 %, 96 %), при заміні суміші ацетон-спирт додано додаткові порції (пропорції: 1:2 та 2:1 і в 1-й порції чистого ацетону) по 15 хвилин в кожній порції, проводять додатковий етап промивки в епоксидній смолі шляхом змішування ацетону з сумішшю А+В "Епон-812" до чистої суміші (пропорції: 3:1, 1:1, 1:3) по 30 хвилин в кожній порції

35 та 1 порція в суміші епоксидної смоли на 1 годину при температурі 35 °С.

40



Фиг. 1



Фиг. 2

Комп'ютерна верстка Л. Ціхановська

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

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