



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **135108** (13) **U**
(51) МПК

G01N 33/15 (2006.01)

G01N 33/53 (2006.01)

G01N 33/483 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

<p>(21) Номер заявки: u 2019 01025</p> <p>(22) Дата подання заявки: 31.01.2019</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.06.2019</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.06.2019, Бюл.№ 11</p>	<p>(72) Винахідник(и): Новак Віталій Петрович (UA), Бевз Ольга Сергіївна (UA), Мельниченко Антоніна Петрівна (UA), Мельниченко Юлія Олександрівна (UA), Харчишин Віктор Миколайович (UA)</p> <p>(73) Власник(и): БІЛОЦЕРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, площа Соборна, 8/1, м. Біла Церква, Київська обл., 09117 (UA)</p>
--	---

(54) СПОСІБ ІМПРЕГНАЦІЇ НІТРАТОМ СРІБЛА ЗАМОРОЖЕНИХ ГІСТОЗРІЗІВ ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ СТРУКТУР ПЕРИФЕРИЧНОЇ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ

(57) Реферат:

Спосіб імпрегнації нітратом срібла заморожених зрізів для виявлення структур периферичної нервової системи як у нормі, так і у стані уолерівської дегенерації включає просочення заморожених зрізів у 20 % розчині нітрату срібла, окиснення у розчинах 1 % кислого формаліну, проявлення у свіжоприготованому розчині 20 %-ого аміачного срібла, відновлення у 10 %-ому розчині нейтрального формаліну, зупинення реакції у розчині аміачної води, зневоднення зрізів у етилових спиртах, просвітлення у ксилолі та заведення зрізів у бальзам. Відновлення виконують у 10 %-ому розчині нейтрального формаліну.

UA 135108 U

Корисна модель належить до галузі ветеринарної медицини, зокрема гістологічної техніки, та може бути використана для виявлення структурної організації та міелоархітекτονіки структур периферичної нервової системи: нервових закінчень, стовбурів та сплетень у сполучнотканинних елементах локомоторного апарата ссавців як в нормі, так і у стані уолерівської дегенерації.

Імпрегнація - (франц. *imprégnation*, від лат. *impraegno, impraegnatum* - наповнювати) - в гістологічній техніці, полягає в тому, що об'єкти в шматках або зрізах просочуються розчином металевої солі, яка потім в певних місцях тканини піддається відновленню, завдяки чому ці місця видаються пофарбованими в чорний, бурий або інший колір в залежності від кількості та якості відновленого металу. У гістологічній техніці для імпрегнації використовують солі срібла - головним чином, азотнокисле срібло AgNO_3 , хлористе золото $\text{AuCl}_3+2\text{H}_2\text{O}$ і осмієву кислоту. Розчин солей металу можна застосовувати або - на свіжому, або на фіксованому об'єкті, або на приготовлені з нього зрізи. Відновлення солі є найбільш важливою фазою імпрегнації; воно може бути вироблено або самою тканиною без всякого іншого впливу, або цьому процесу сприяють, вводячи допоміжні фактори, за яких процеси відновлення відбуваються значно швидше та енергійніше (наприклад світло, підкислення, нагрівання) або вдаються до відновлюючих засобів (формальдегіду, пірогалової кислоти). Якщо за відповідної обробки імпрегновані тільки певні частини тканин, а решта тканинних елементів залишаються безбарвними, то це називається негативним зображенням. Коли всі елементи тканин імпрегнуються, то отримують позитивне зображення. Срібло відкладається в нервових клітинах (неврофібрилах), осьових циліндрах і за певної обробки і фіксації - в елементах макро-і мікроглії. Тому імпрегнація є незамінним способом і широко застосовується за вивчення нервової системи. Із методів найбільш популярними є: метод Гольджі і його модифікації, методи Більшовського та Кампоса в різних модифікаціях [2-4].

У відомих методах імпрегнації Грос-Більшовського-Лаврентьєва та модифікації методу Грос-Більшовського-Кампоса інші способи фіксації, терміни проведення зрізів крізь розчини та відновлення зрізів лише у розчині 1 %-ого кислого формаліну [1].

Недоліком цих методів є відсутність виявлення якісних елементів периферичної нервової системи як у нормі, так і у стані уолерівської дегенерації та їх диференціювання від сполучнотканинних структур.

В основу корисної моделі поставлена задача створити більш доступний та універсальний спосіб виявлення нервових компонентів у сполучній тканині в нормі та за, уолерівської дегенерації шляхом об'єднання маніпуляції вище названих методів та заміни проведення зрізів через 1 % розчин кислого формаліну за Кампосом на 10 % розчин нейтрального формаліну для відновлення.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб імпрегнації нітратом срібла заморожених зрізів для виявлення структур периферичної нервової системи як у нормі, так і у стані уолерівської дегенерації включає просочення заморожених зрізів у 20 % розчині нітрату срібла, окиснення у розчинах 1 % кислого формаліну, проявлення у свіжоприготованому розчині 20 %-ого аміачного срібла, відновлення у 10 %-ому розчині нейтрального формаліну, зупинення реакції у розчині аміачної води, зневоднення зрізів у етилових спиртах, просвітлення у ксилолі та заведення зрізів у бальзам. Відновлення виконують у 10 %-ому розчині нейтрального формаліну.

Приклад здійснення імпрегнації: Матеріал для імпрегнації повинен бути дуже свіжим, відібраним та зафіксованим впродовж максимум 7 годин. Фіксація в 10 % розчині нейтрального формаліну, промивання впродовж доби у проточній воді. Виготовлення зрізів на заморожувальному мікромомі товщиною 15 мкм. Лабораторний посуд повинен бути скляним та дуже чистим - витриманим у хромпіку у витяжній шафі, ретельно промитий у проточній та дистильованій воді та прожарений у сушильній шафі. Подальша послідовність імпрегнації наступна

1. Промити зрізи у проточній воді, потім у дистильованій.
2. Зрізи покласти в 20 % розчин нітрату срібла на 17-19 годин у темряві.
3. Провести зрізи через 3 стаканчики 1 % кислого формаліну, поки не вийде біла хмара.
4. Промокнути зрізи фільтрувальним папером.

5. Розмістити зрізи у свіжоприготованому розчині 20 %-ого аміачного срібла на годинниковому склі (до 20 %-ого розчину нітрату срібла додають 25 %-ий розчин аміаку по краплині до повного розчинення осаду) протягом 1,5-2 хвилин.

6. Провести зрізи у 10 %-ому розчині нейтрального формаліну, де вони миттєво змінюють колір на жовтий і коричневий.

7. Швидко перекласти зрізи в аміачну воду, щоб зупинити імпрегнацію.

8. Промити дистильованою водою.

9. Змонтувати препарати.

Зневоднення зрізів у 70°, 90° та 100° етилових спиртах - по 2 хв.

Просвітлення зрізів у ксилолі - 3 хв.

5 Заведення зрізів у бальзам.

20 % розчин нітрату срібла готують додаванням до 20 г нітрату срібла (AgNO_3) 80 мл дистильованої води. Для приготування 1 %-ого розчину кислого формаліну до 1 мл кислого формальдегіду додають 99 мл водопровідної води. Свіжоприготований розчин 20 %-ого аміачного срібла на годинниковому склі готують додаванням до 20 %-ого розчину нітрату срібла 25 %-ого розчину аміаку по краплині до повного розчинення осаду. Для приготування 10 %-ого розчину нейтрального формаліну до 10 мл нейтрального формальдегіду додають 90 мл водопровідної води. Розчин аміачної води готують - до 25 % розчину аміаку додають дистильовану воду порівну апа 50:50.

15 Широке застосування запропонованого способу очевидне, адже запропонований спосіб імпрегнації нітратом срібла дозволяє побачити якісно диференційовані нервові структури у сполучній тканині (Фіг. 1-4) та є менш тривалим.

Джерела інформації:

20 1. Горальський Л. П. Основи гістологічної техніки і морфо-функціональні методи досліджень у нормі та при патології: навч. посіб. / Горальський Л.П., Хомич В.Т., Кононський О.І. - Житомир: Полісся, 2005. - 288 с

2. Малая медицинская энциклопедия. - М.: Медицинская энциклопедия.- 1991-96 гг.

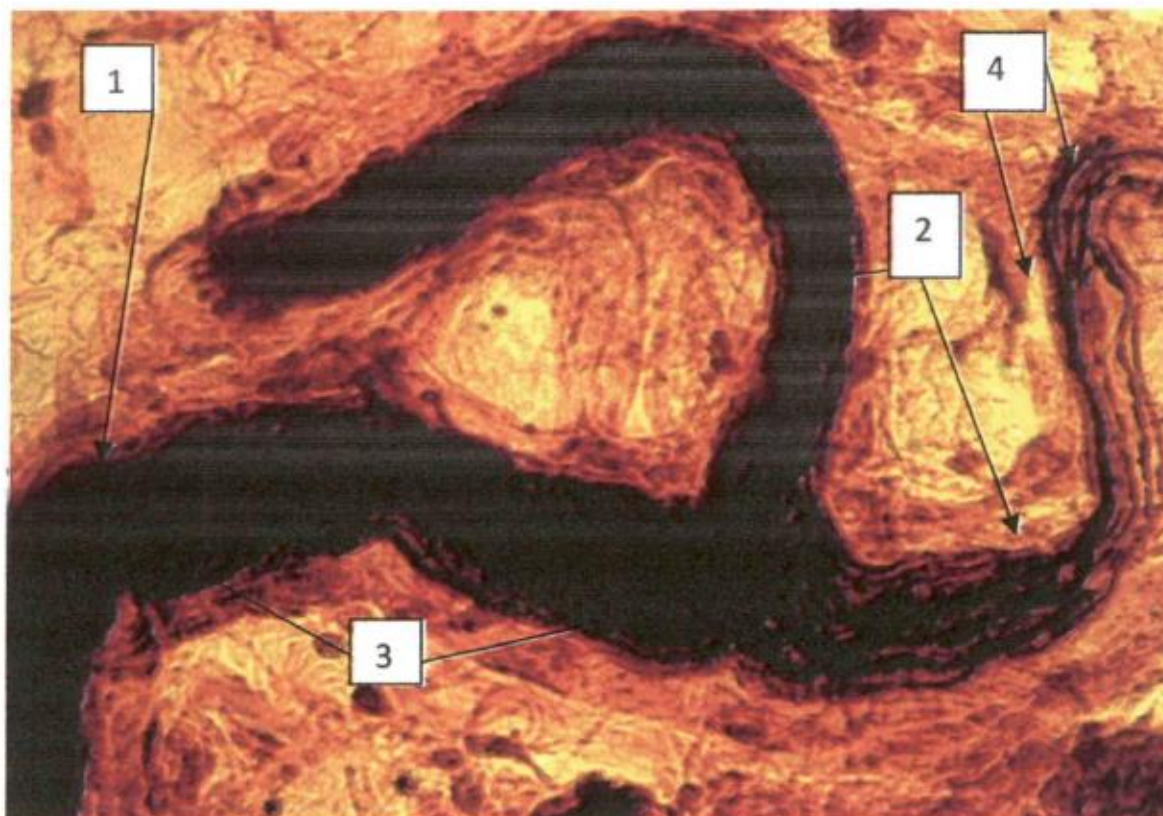
3. Первая медицинская помощь. - М.: Большая Российская Энциклопедия. - 1994 г.

4. Энциклопедический словарь медицинских терминов. - М.: Советская энциклопедия. - 1982-1984 гг.

25

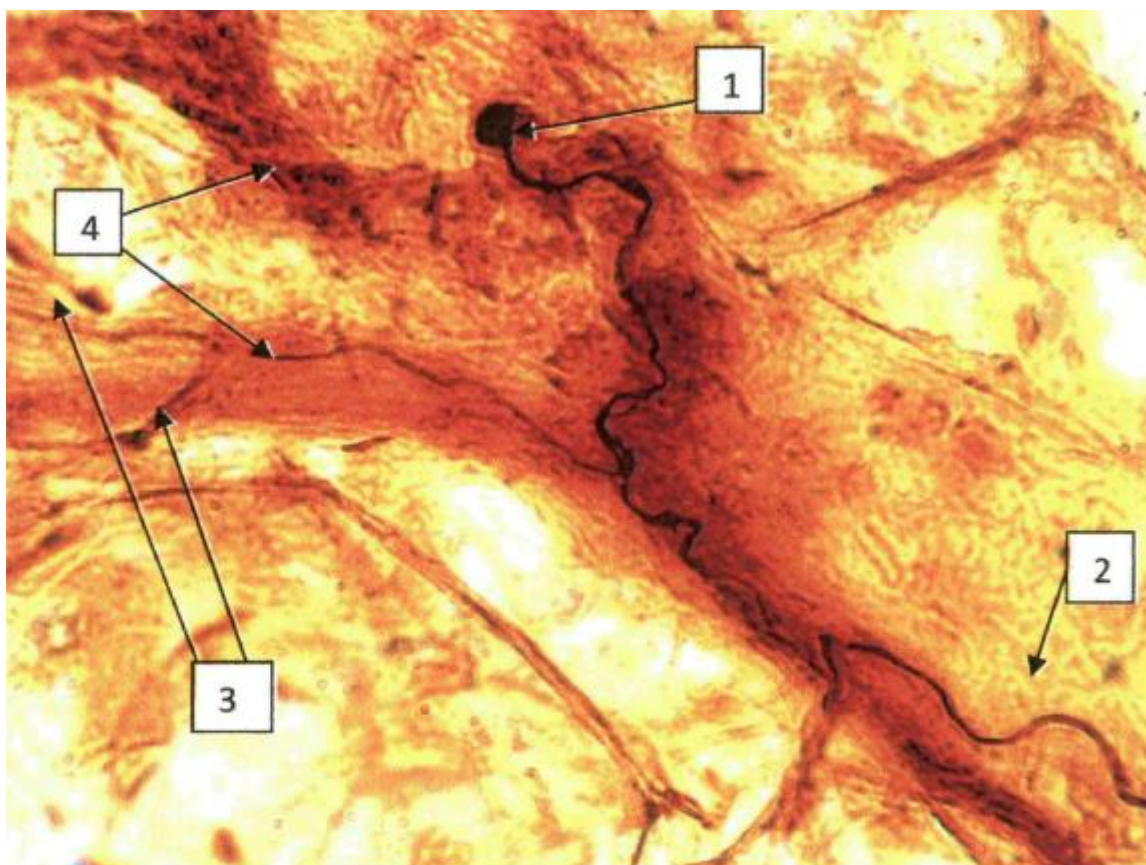
ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

30 Спосіб імпрегнації нітратом срібла заморожених зрізів для виявлення структур периферичної нервової системи як у нормі, так і у стані уолерівської дегенерації, який включає просочення заморожених зрізів у 20 % розчині нітрату срібла, окиснення у розчинах 1 % кислого формаліну, проявлення у свіжоприготованому розчині 20 %-ого аміачного срібла, відновлення у 10 %-ому розчині нейтрального формаліну, зупинення реакції у розчині аміачної води, зневоднення зрізів у етилових спиртах, просвітлення у ксилолі та заведення зрізів у бальзам, який **відрізняється** тим, що відновлення виконують у 10 %-ому розчині нейтрального формаліну.



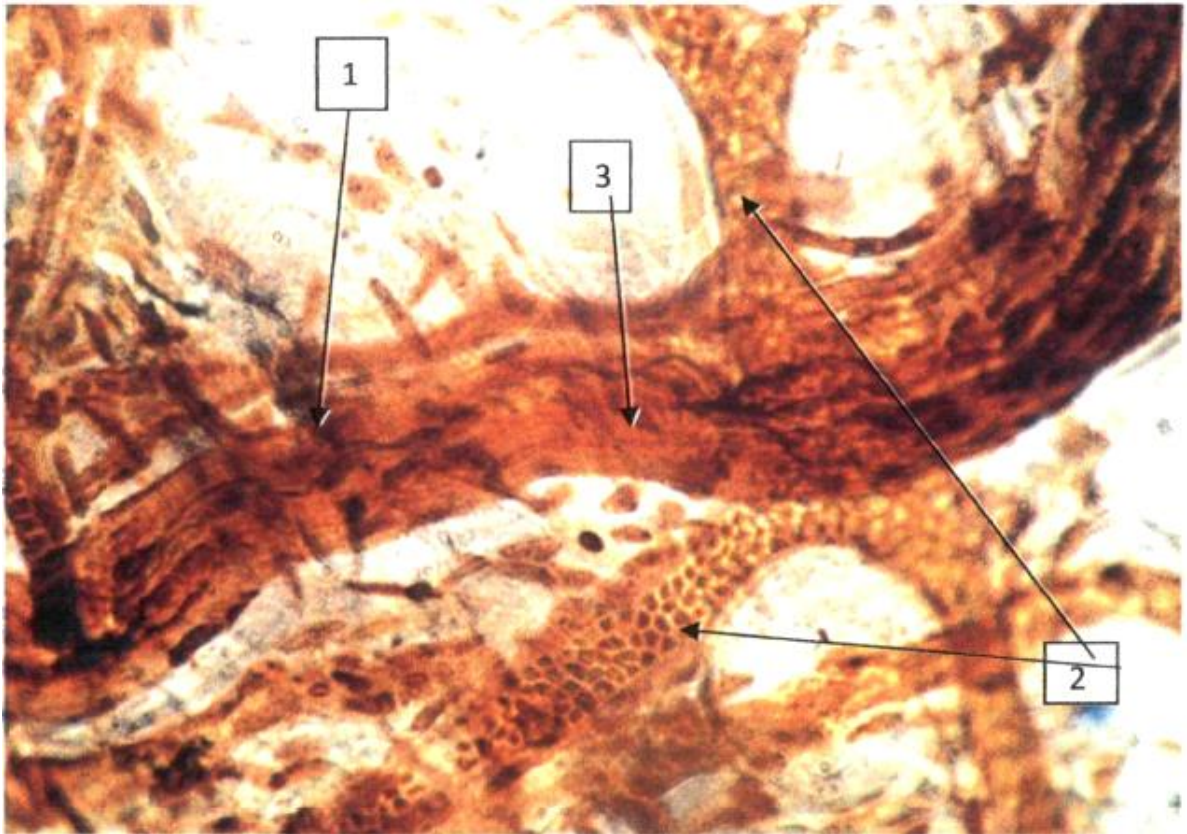
Розгалуження нервового стовбура латеральної частини капсули колінного суглоба великої рогатої худоби (у нормі):
1 - нервовий стовбур; 2 - його розгалуження; 3 - периневральна піхва;
4 - мієлінові і безмієлінові нервові волокна. Імпрегнація сріблом. 36.10x100.

Фіг. 1



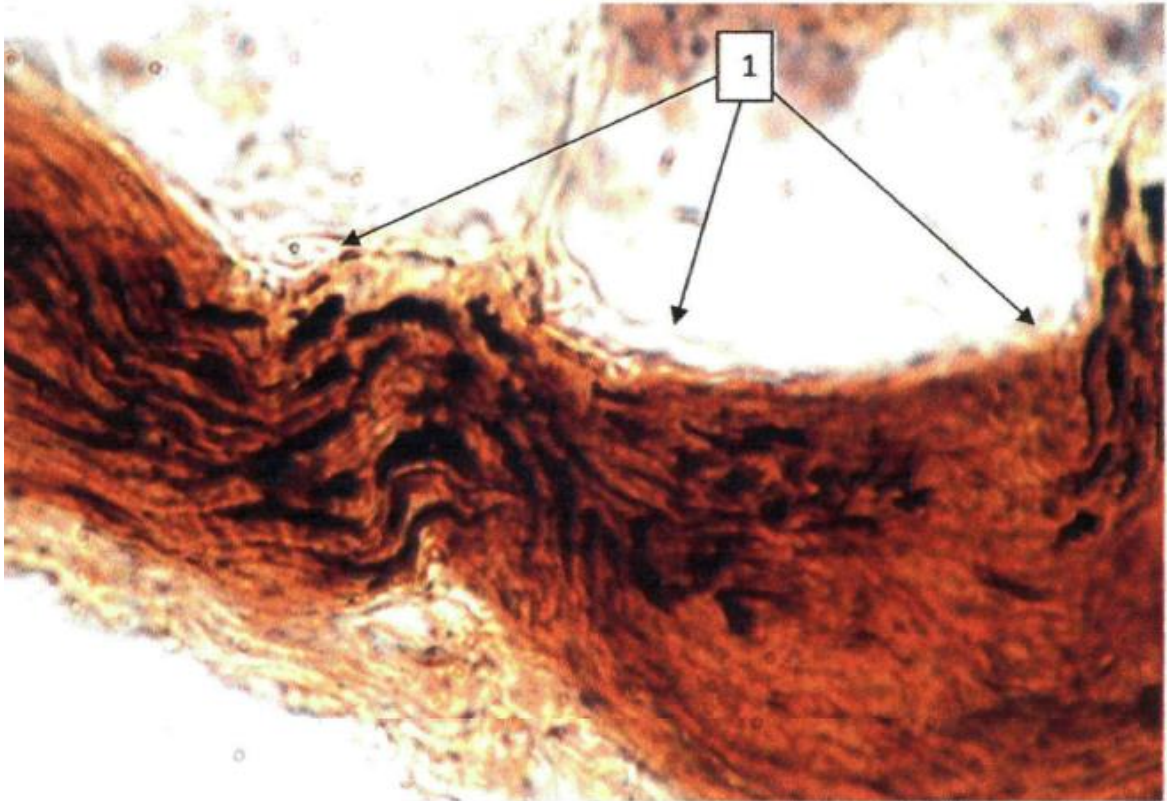
Полівалентний вільний рецептор плантарної частини капсули колінного суглоба великої рогатої худоби (у нормі):
1 - гілка із гудзикоподібним закінченням; 2 - нервово-тканинний рецептор;
3 - гілка, що розгалужується; 4 - капілярна сітка. Імпрегнація сріблом. 3б. 10x100

Фіг. 2



Нерво-судинний комплекс у плантарній частині капсули колінного суглоба кішки (у стані уоллеровської дегенерації): 1 - нервовий стовбур; 2 - капілярна сітка; 3 - зернистий розпад осьових циліндрів за уоллеровською дегенерацією. Імпрегнація сріблом. Зб. 10x100

Фіг. 3



Зернистий розпад осьових циліндрів плантарної частини капсули колінного суглоба кішки (у стані уоллеровської дегенерації): 1 - осьові циліндри. Імпрегнація сріблом. Зб. 10х100.

Фіг. 4