

ИЗГОТОВЛЕНИЕ ОКРАШЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ОТДЕЛЬНЫХ ТКАНЕЙ И ОРГАНОВ

Хохлова С.Н., кандидат биологических наук, доцент,
тел. 89374510180, hohlova_cveta@mail.ru

Богданова М.А., кандидат биологических наук, доцент,
Тел. 89297945165, bm2474@mail.ru

Захарова П.В., студентка 1 курса факультета
ветеринарной медицины и биотехнологии.
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

***Ключевые слова:** микроскопия, окраска, тотальный препарат, изготовление препаратов*

Эта работа посвящена созданию методики простого, дешевого и быстрого изготовления тотальных окрашенных препаратов с выявлением макро- и микроскопического строения органов с надежным сохранением их видения и применению её на практике.

Введение. Усовершенствование микроскопов, развитие микроскопической техники позволяют проникать в сокровенные отделы клеток и органов.

Ряд морфологов, исчерпав свои возможности в анатомии, увлекаются раскрывшимися перспективами микроскопии, вливаются в ряды в других исследователей тонкого строения органов. Однако возможности микроскопии не безграничны, они не могут заменить макроскопического изучения, восполнить пробелы в знаниях. В настоящее время изучение морфологических структур на границе макро-микровидения с помощью

увеличительных стекол, бинокулярных луп и стереомикроскопов являются трудоемким и изнурительным процессом, требует значительного навыка.

Вероятно при разволокнении и послойном препарировании зародилось изречение, что «анатом должен иметь руку художника, а терпение ангела». Послойное препарирование и разволокнение с начала и до конца выполняются самим исследователем, поглощают массу времени, много дают исследователю и мало для иллюстрации читателю. Ценность исследования часто поставлена в зависимость от возможности придать препарату долговечность [1 , 2] .

Материалы и методы исследований. В настоящей работе приведены сведения о методике простого, дешевого и быстрого изготовления тотальных препаратов с выявлением макро- и микроскопического строения органов с надежным сохранением их видения.

Наиболее подходящими для таких исследований являются серозные оболочки, фиброзные покровы, стенки сосудов и клапаны сердца. Оболочки мозга и перикард их фиксации являются прекрасным объектом для подобных макро- и микроскопических исследований. Стенка предсердий, кишечника, кожа и другие объекты толщиной от 10-13 микрон до 1,5-2 мм также пригодны для изучения такой методикой.

Принцип метода преследует три основные цели: 1 — просто, дешево и быстро готовить препараты, 2 — четко выявлять необходимые структуры для изучения, 3 — придать препарату способность длительно сохранять выявленное строение. Для получения тотального просветленного препарата толщиной до 2 мм и площадью 15...25 см² фактическая затрата времени составляет 20...30

минут [3 , 4] . Проводка через спирты, пропитывание и заливка исключены полностью. Окраска, просветление, заключение и заделка занимают всего несколько минут. Все операции по изготовлению препаратов может выполнить средней квалификации препаратор или лаборант.

Объект, предназначенный для изучения, фиксируется в 6...8 процентном растворе формалина. После фиксации нужный участок органа окрашивается одним из гистологических методов. Нами испытаны окраски на выявление мышечной ткани, коллагеновых, эластических волокон и жировой клетчатки (гематоксилин-эозиновая, пикрофуксиновая и орсеиновая окраски). Срок окраски зависит от избранного метода и исследуемого объекта. Контроль за окраской удобней вести с помощью стереомикроскопа типа МБС-10. При желании и необходимости можно вести разволокнение или послойное препарирование по В.П. Воробьеву.

Окрашенный препарат следует обезводить. Обезвоживание проводится обычным высушиванием препарата. При высушивании препарату следует придать естественное положение на плоскости. Объекты следует вырезать больше (шире и длинней) предполагаемой величины на 2-5 мм. Препарат до 2 мм толщиной высыхает за одни сутки. После обезвоживания лишние краевые участки от препарата следует удалить [4 , 5] .

Подготовленный для заключения в бальзам препарат на 3-5 минут надо поместить в ксилол для просветления и лучшего заключения. При заключении тотального препарата следует помнить, что поверхность его неровная и оставшиеся пузырьки воздуха сами не удаляются, их надо сразу извлекать иглой.

В результате освоения надежной заделки тотальных препаратов появилось убеждение, что замазка должна отвечать пяти основным требованиям: 1-создать герметичность, 2-быть прочной на растяжение и разрыв, 3- не вступать в соединение с ксилолом и бальзамом, 4- быть температуроустойчивой, 5-не обладать гигроскопичностью.

Прекрасные качества в этом отношении оказались у эпоксидной смолы. Она широко применяется в технике для покрытий, склеивания дерева, металлов и других материалов. Цвет разных марок смолы варьирует от цвета канадского бальзама до цвета янтаря. Коэффициент ее преломления близок к канадскому бальзаму (1,53), поэтому она хорошо вписывается во внешний вид готового препарата.

Способ и состав приготовления замазки из эпоксидной смолы может быть разным, но наиболее рациональный следующий: смола подогревается до 35—45°, после чего в нее вносится 10-20% затвердителя. Раствор перемешивается и снимается с водяной бани термостата. Обмазка делается шпателем после того, как периферическая часть бальзама затвердела. Приготовленная перед употреблением замазка пригодна к работе 3-4 часа. При необходимости работать долго смолу можно не разогревать, но довести до сметанообразной консистенции добавлением в нее дихлорэтана или ацетона. В этом случае пропорции смолы и затвердителя удобно брать в капельном соотношении (на 10 капель смолы 2 капли затвердителя). Однако следует помнить, что ацетон и дихлорэтан растворяют бальзамом и их надо добавлять к смоле минимальные количества. Кроме этого, процесс затвердевания замазки растягивается на 20-24 часа.

Готовый препарат может противостоять воде, кислотам, щелочам и температуре от - 40 до +50°. В таком состоянии он удобен для дальнейшего изучения, перевозки и дальнейшего хранения. Его прозрачность не уступает гистологическим препаратам [1 , 2] .

Значительное упрощение в изготовлении тотальных препаратов, удобство их изучения и хранения должны оказать исследователю помощь в этой трудоемкой области исследования.

Библиографический список:

1. Любин, Н.А. Организация самостоятельной работы студентов / Н.А. Любин, С.Н. Хохлова, Н.Г. Симанова // В сборнике: Инновационные технологии в высшем профессиональном образовании. Материалы Научно-методической конференции профессорско-преподавательского состава академии. Редколлегия: А.В. Дозоров главный редактор ректор, М.В. Постнова, Т.В. Костина, В.А. Асмус. – Ульяновск: Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия. - 2010. - С. 146-155.

2. Симанова, Н.Г. Возрастные изменения ганглиев автономной нервной системы у собак / Н.Г. Симанова, С.Н. Хохлова, Т.Г. Скрипник, А.Н. Фасахутдинова, Е.Н. Исаева // В сборнике: Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения. Материалы III Международной научно-практической конференции. – Ульяновск: Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия. - 2011. - С. 168-172.

3. Фасахутдинова, А.Н. Аспекты преподавания дисциплины «цитология, гистология и эмбриология» / А.Н. Фасахутдинова, С.Н. Хохлова, М.А. Богданова // В сборнике: Инновационные технологии в высшем образовании.

Материалы Национальной научно-методической конференции профессорско-преподавательского состава. В 2-х частях. –Ульяновск: Ульяновский государственный аграрный университет. - 2018. - С. 71-75.

4. Хохлова, С.Н. Контроль и организация самостоятельной работы студентов/ С.Н. Хохлова, Н.Г. Симанова, А.Н. Фасахутдинова // В сборнике: Инновационные технологии в высшем образовании. Материалы Научно-методической конференции. - Ульяновск: Ульяновская государственная сельскохозяйственная академия. -- 2011. - С. 168-171.

5. Хохлова, С.Н. Возрастная морфология периферических нейронов у животных (обзор) / С.Н. Хохлова, М.А. Богданова, А.Д. Шишова, Г.А. Юдич // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. - 2019.- № 4 (78).- С. 181-184.

ON THE METHOD OF MANUFACTURING TOTAL COLORED PREPARATIONS OF INDIVIDUAL TISSUES AND ORGANS OF ANIMALS

Khokhlova S.N., Bogdanova M.A., Zakharova P.V.

Keywords: *microscopy, coloration, total preparation, preparation manufacturing*

The study is devoted to the creation of a method of simple, cheap and fast production of total colored preparations with the identification of the macro - and microscopic structure of organs with reliable preservation of their vision and its application in practice