

Министерство здравоохранения Республики Беларусь



**Способ сохранения прижизненного состояния морфологических структур, имеющих полостное строение.
(инструкция по применению)**

Учреждение-разработчик: Гомельский государственный медицинский институт.

Авторы: к.м.н., доцент кафедры патологической анатомии с курсом судебной медицины Гомельского государственного медицинского института Надыров Эльдар Аркадьевич.

Показания к применению: изучение особенностей строения полых и трубчатых органов не имеющих жесткой стенки, точное определение площади окклюзии кровеносных и лимфатических сосудов тромбом или эмболом.

Перечень необходимого оборудования, реактивов, лекарственных средств, медицинских иммунобиологических препаратов, изделий медицинского назначения и инструментария:

Пластмасса стоматологическая для изготовления оттисков зубов "Palgaflex" или любая другая;

Фиксатор: 10 % раствор формалина;

Реактивы для гистологической проводки материала: спирт этиловый (70 %, 80 %, 96 %, 100 %), спирт-хлороформ в соотношении 1:1, хлороформ-парафин в соотношении 1:1, парафин;

Оборудование для приготовления гистологических срезов: формы для парафиновых блоков, микротом, стекла предметные;

Реактивы для депарафинирования и окраски: ксилол, гематоксилин, эозин, спирт этиловый, вода аммиачная ;

Реактивы для получения готового препарата: ксилол, карбол-ксилол, полистирол, покровные стёкла;
Набор гистологической посуды.

Описание технологии используемого метода:

Предлагаемый способ сохранения прижизненного состояния морфологических структур имеющих полостное строение апробирован и используется для изучения особенностей строения полых органов не имеющих жесткой стенки, а также для точного определения площади окклюзии кровеносных и лимфатических сосудов тромбом или эмболом.

Этапы приготовления гистологических препаратов:

- **приготовление быстрозастывающей пластической массы:** порошок смешивается с водой до превращения его полужидкую массу. Пластмасса заливается в полый или трубчатый орган с помощью обычного шприца и, после застывания (10-12 мин) фиксируется по традиционной методике;
- **фиксация:** материал фиксируется в 10 % растворе формалина в течении 24-48 часов;
- **фиксированную ткань переносят в проточную воду на 10-12 часов, затем подвергают обезвоживанию;**
- **обезвоживание:** исследуемый материал последовательно проводят через ряд спиртов восходящей крепости: 80 % (4-8 часов), 96 % (10-12 часов), 100 % (4-6 часов);
- **пропитывание парафином и приготовление гистологического блока и срезов:** материал переносят в смесь спирт-хлороформ (2-4 часа), затем в смесь хлороформ-парафин (2-4 часа) при 37° С, далее пропитывают в двух порциях чистого парафина (2-4 часа) при 56° С, заливают в специально приготовленную форму и готовят на микротоме срезы толщиной 5-8 мкм;
- **окраска:** срезы проводят через две порции ксилола (по 2 мин.), отмывают в 2-х порциях спирта в концентрации 96 % и 70 % (по 1 мин), погружают в гематоксилин (1 - 2 мин), после чего отмывают их в 2-х порциях водопроводной воды и дифференцируют срезы в аммиачной воде до тех пор, пока они не станут синими, затем ополаскивают в воде. Далее срезы ополаскивают в воде и окрашивают в 0,1 % водном растворе эозина в течении 2 - 5 сек, избыток последнего сливают, стекло вокруг среза протирают марлей и

промывают в 3-х порциях абсолютного спирта 30 – 40 сек. и заключают в полистирол;

- заключение в полистирол: срезы обрабатывают в 3-х порциях карбол-ксилола в течении (1 мин), просветляют в ксилоле (1 мин) и заключают в полистирол.
- **Возможные ошибки и осложнения:**
- При несоблюдении точного времени, необходимого для затвердевания пластмассы (не менее 10-12 мин), материал в парафиновых блоках становится мягким, что приведёт к невозможности получения тонких гистологических срезов; при увеличении времени затвердевания, материал в полости органов становится слишком плотным, что приведёт к невозможности получения срезов, т.к. ткани при резке на микротоме будут крошиться.

Противопоказания:

Методика не может быть использована для изучения обызвествлённых полостных структур, т.к. их исследование требует декальцинации.

Автор: к.м.н., доцент кафедры патологической анатомии с курсом судебной медицины Э.А.Надыров