

и раннем постнатальном периодах на фоне экспериментального гипотироза материнского организма. Кусочки кожи из области спины, потомства контрольных и гипотирозных самок крыс на 16 день эмбриогенеза и на 1-й день постнатального развития, фиксировали в 4%-ном нейтральном формалине и заливали в парафин. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, основным коричневым, проводили PAS-реакцию. Гликоконъюгаты кожи изучали методом лектин-пероксидазной техники с использованием набора лектинов: Con A, PNA, RCA, HPA, WGA, SNA, LABA и LTFA. На 1-й день постнатального развития кожа крысы приобретает definitivoное строение. На 16-й день эмбрионального развития в коже потомства контрольных и гипотирозных самок крыс существенной разницы не обнаружено. Лектин LTFA может выступать в роли маркера клеток Лангерганса. На фоне экспериментального гипотироза материнского организма самок крыс в коже потомства, на 1-й день постнатального развития, наблюдается модификация гликоконъюгатов  $\alpha$ NacDGal,  $\alpha$ NacDGlcNANA, Neu5Ac( $\alpha$ 2-6), Gal/NacGal, DGal $\beta$ 1>3D-GalNac и  $\alpha$ L-Fuc, которым принадлежит роль формирования адгезивных контактов, дифференциации и пролиферации в клетках эпидермиса, дермы и их производных.

**Ключевые слова:** кожа, крыса, гипотироз, лектины, гистохимия.  
Статья надійшла 10.04.2013 р.

postnatal periods on the background of maternal experimental hypothyroidism. Slices of skin, taken from the back of progeny of the control and hypothyroid rat females on the 16<sup>th</sup> day of embryogenesis and on the 1<sup>st</sup> day of postnatal development, were fixed in 4% neutral formalin, embedded in paraffin. Sections were stained by hematoxylin and eosin, basic brown, PAS reaction was carried out. Glycoconjugates of the skin were studied by the method of lectin peroxidase technique with the use of the set of the following lectins: ConA, PNA, RCA, HPA, WGA, SNA, LABA, and LTFA. Rat skin acquires the definite structure on the 1<sup>st</sup> day of postnatal development. There is no essential difference in progeny skin of control and hypothyroid rat females on the 16<sup>th</sup> day of embryonic development. LTFA lectin may be marker of Langerhans cells. Modification of  $\alpha$ NacDGal,  $\alpha$ NacDGlcNANA, Neu5Ac( $\alpha$ 2-6), Gal/NacGal, DGal $\beta$ 1>3D-GalNac and  $\alpha$ L-Fuc glycoconjugates is observed on the background of maternal experimental hypothyroidism of rat females in progeny skin on the 1<sup>st</sup> day of postnatal development. To those glycoconjugates belongs the role of adhesive contacts formation, differentiation and proliferation in cells of epidermis, dermis and their derivatives.

**Key words:** skin, rat, hypothyroidism, lectins, histochemistry.  
Рецензент Шаповалова О.Ю.

УДК 611.018

О.С. Якушки, В.І. Шенітько, І.А. Срошенко, Н.Ф. Срьоміна  
ВІЦЗ України „Українська медична стоматологічна академія” м. Полтава

### ПОЛІХРОМНИЙ СПОСІБ ЗАБАРВЛЕННЯ ГІСТОЛОГІЧНИХ ПРЕПАРАТІВ

У даній роботі представлений удосконалений спосіб забарвлення гістологічних препаратів, який дозволяє отримати поліхромно забарвлені зрізи, зменшити час виготовлення препаратів і кількість реактивів.

**Ключові слова:** забарвлення, поліхромний спосіб, напівтонкі зрізи.

*Робота є фрагментом НДР „Експериментально-морфологічне вивчення дії трансплантатів криоконсервованої плаценти на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів”, № державної реєстрації 0108U001572.*

На сучасному етапі розвитку медицини як науки значна увага приділяється розробці нових та вдосконаленню вже існуючих методик морфологічних досліджень. Відома важлива роль гістологічних методів дослідження для постановки правильного діагнозу, а також жодна науково-дослідна робота не обходиться без гістологічного підтвердження отриманих експериментальних даних.

Існує певна послідовність підготовки гістологічних препаратів для мікроскопічного дослідження [1, 2, 8]. Коли перед дослідником постає питання вивчення на світлооптичному та електронно-мікроскопічному рівні тканин та їх структур, на першому етапі виготовляються напівтонкі зрізи. З метою чіткого виявлення структур тканин та клітин використовують забарвлення. Застосовуючи методики поліхромного забарвлення, можна досягти вибірковості у забарвленні окремих компонентів тканин та клітин.

**Метою** роботи було удосконалення поліхромного способу забарвлення напівтонких зрізів.

**Матеріал та методи дослідження.** Матеріалом дослідження були піднижньощелепні лімфатичні вузли, слизова оболонка язика, піднижньощелепні слинні залози, зорові нерви шурів, ушита кетгуттом різана рана нирок собак, задня стінка лобової пазухи людини, слизова оболонка ясен людини. Матеріал фіксували в 2,5 % розчині глютарового альдегіду на фосфатному буфері протягом доби при температурі +4°C, після відмивання у фосфатному буфері обробляли згідно правил, прийнятих в електронній мікроскопії, та заключали в ЕПОН-812 [2]. Напівтонкі зрізи товщиною 1-2 мкм виготовляли на ультрамікротомі УМТП-7 і забарвлювали поліхромним методом [4]. Мікрофотографування вибраних напівтонких зрізів проводилося на мікроскопі BIOREX 3 “KONUS” та “Olympus” С 3040-ADU з адаптованими для даних досліджень програмами.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Дослідження показали, що використання методів гістологічного забарвлення напівтонких зрізів обмежується наявністю осмію в тканині. Також слід враховувати те, що для заливки використовували смоли, а отже, забарвлення відбувається важче та потребує більше часу.

Існуючі способи [5, 6] поліхромного забарвлення напівтонких зрізів мають ряд істотних недоліків – тривалий час забарвлення (до 30 хвилин), трудомісткість, складність виконання, необхідність великої кількості реактивів. Розроблений нами спосіб дозволяє отримати якісні поліхромно забарвлені напівтонкі зрізи та усунути недоліки існуючих методів.

Даний спосіб включає послідовну обробку гістологічних зрізів розчинами барвників. Спочатку зрізи забарвлюються 3-5 хвилин при нагріванні до t 70°C розведеним у 10 разів розчином 1, до складу якого входить розчин А (50 мл 1% розчину метиленового синього на 1% розчині бури) змішаний з розчином Б (50 мл 1% розчину азура ІІ на дистильованій воді), а потім після промивання і висушування на зрізи наноситься розчин 2, компонентами якого є 0,15 г основного фуксина, 10 мл 50° етанолу, 90 мл дистильованої води та під мікроскопом під контролем зору досягається необхідне забарвлення (звичайно 5-10 хвилин). Стекла промиваються, висушуються, заключаються в полістерол.



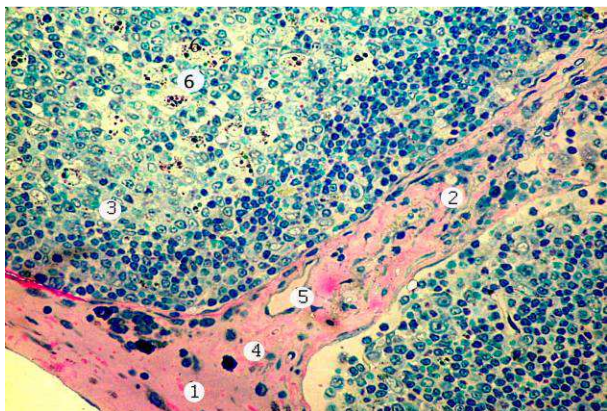


Рис. 1. Капсула і трабекула піднижньощелепного лімфатичного вузла щура. Напівтонкий зріз. Заб.: поліхромним барвником. Зб.: ок. x10, об. x40: 1 – капсула; 2 – трабекула; 3 – лімфатичний вузлик; 4 – тканинний базофіл; 5 – вена; 6 – фагоцитуюча клітина.

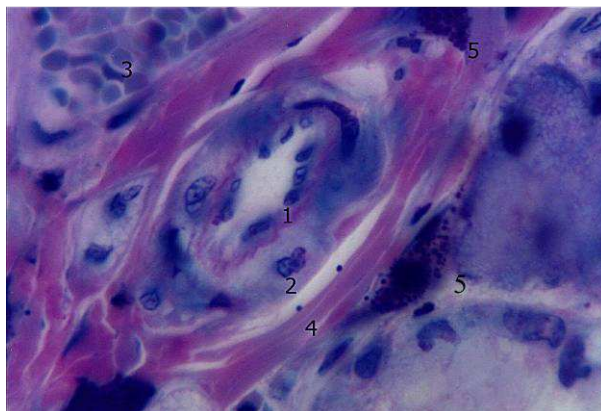


Рис. 2. Гемомікросудини піднижньощелепних слинних залоз щура. Напівтонкий зріз. Заб.: поліхромним барвником. Зб.: ок. x10, об. x100: 1 – ендотеліоцит артеріоли; 2 – ядро м'яцита артеріоли; 3 – вена; 4 – колагенові волокна; 5 – мастоцит.

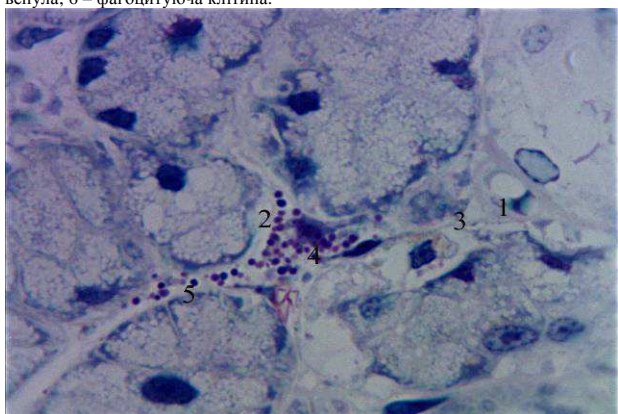


Рис. 3. Мастоцит в інтерстиції слинних залоз щурів. Напівтонкий зріз. Заб.: поліхромним барвником. Зб.: ок. x10, об. x100: 1 – капіляр; 2 – «вузловий» інтерстиційний відсік; 3 – плазмоцит; 4 – мастоцит; 5 – гранули в інтерстиції.



Рис. 4. Мастоцити у власній пластинці задньої стінки лобової пазухи людини. Напівтонкий зріз. Заб.: поліхромним барвником. Зб.: ок. x10, об. x40: 1 – кісткова тканина; 2 – сполучна тканина; 3 – мастоцит; 4 – гемомікросудина; 5 – фібробласт.

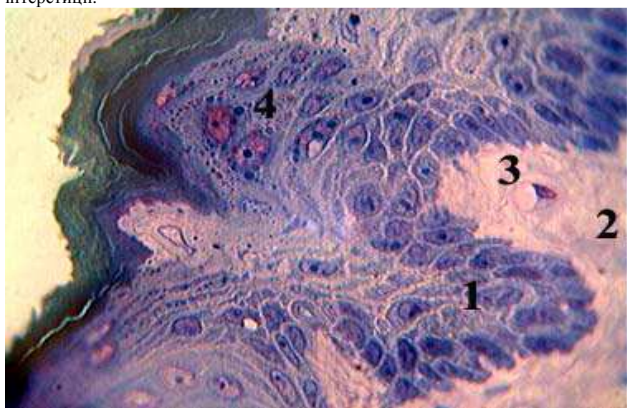


Рис. 5. Слизова оболонка язика щурів. Напівтонкий зріз. Заб.: поліхромним барвником. Зб.: ок. x10, об. x40.

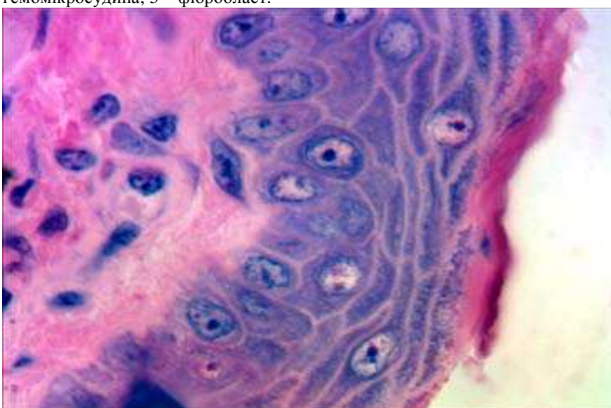


Рис. 6. Слизова оболонка ясен людини. Напівтонкий зріз. Заб.: поліхромним барвником. Зб.: ок. x10, об. x40.

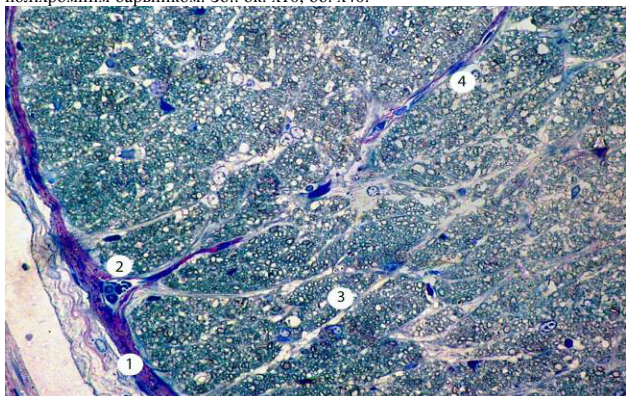


Рис. 7. Зоровий нерв щурів. Напівтонкий зріз. Заб.: поліхромним барвником. Зб.: ок. 10, об. 40. 1 – м'яка мозкова оболонка; 2 – прекапіляр; 3 – сполучнотканинні перетинки; 4 – капіляр

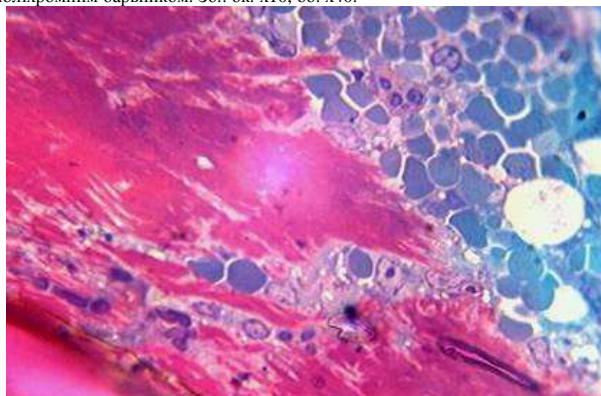


Рис. 8. Руйнування стандартного кетгуту (із барячої сировини) в параваскулярних тканинах нирки на 3 добу спостереження. Напівтонкий зріз. Заб.: поліхромним барвником. Зб.: ок. x10, об. x100 .



Гістологічне дослідження різних тканин практично підтвердило доцільність та ефективність нового способу забарвлення. В результаті даного забарвлення ядра клітин фарбуються у світло-синій, синій колір, цитоплазма – у світло-бузковий, колагенові волокна – у рожевий, еластичні волокна – у темно-фіолетовий, мієлінові волокна – у темно-голубий.

Вивчення напівтонких зрізів піднижньощелепних вузлів щурів визначило, що зовні вони вкриті капсулою, яка містить велику кількість колагенових волокон, що фарбуються оксифільно. Серед клітинних елементів визначаються фібробласти, поодинокі адипоцити і гладенькі міоцити. Трабекулярний апарат починається від капсули і продовжується вглиб органу. Трабекули утворені пучками колагенових волокон між якими визначаються фібробласти. Лімфатичні вузлики утворені ретикулярною стромою і скупченнями клітинних елементів лімфоїдного ряду – малих, середніх і великих лімфоцитів, макрофагів, плазмоцитів на різних етапах диференціювання (рис. 1).

При дослідженні судин гемомікроциркуляторного русла піднижньощелепних слинних залоз щурів при гострому експериментальному сіаладеніті встановлено, що через 24 години спостереження з боку резистивної ланки визначався спазм – ядра ендотеліоцитів довгою віссю були орієнтовані перпендикулярно базальній мембрані. Внутрішня еластична мембрана забарвлювалась оксифільно і мала нерівний хід. Ядра гладких міоцитів мали неправильну форму і містили переважно деконденсований хроматин. Просвіт венул був щільно заповнений форменими елементами крові (еритроцити забарвлювались у світло-синій колір). Колагенові волокна проявляли оксифілію (рис. 2).

Даний спосіб забарвлення добре підходить для виявлення мастоцитів у сполучній тканині. Через 24 години спостереження при введенні кріоконсервованої плаценти на тлі експериментального сіаладеніту в інтерстиції піднижньощелепних слинних залоз щурів спостерігались метакроматично забарвлені (сині і фіолетові) секреторні гранули мастоцитів (рис. 3).

Локалізація мастоцитів в слизовій оболонці задньої стінки лобової пазухи людини була характерною в безпосередній близькості від окістя. В цитоплазмі визначалась велика кількість базофільних секреторних гранул. Ядро виявлялось в центрі клітин, що свідчить про секрецію гістаміну в оточуючу основну речовину пухкої сполучної тканини (рис. 4).

При даному способі забарвлення слизової оболонки язика щурів ядра клітин епітеліального шару фарбувались у світло-синій колір, їх цитоплазма – бузкова. У клітинах зернистого шару було добре видно зерна кератогіаліну темно-синього кольору, колагенові волокна – рожевого кольору (рис. 5). Подібне забарвлення спостерігалось при дослідженні компонентів слизової оболонки ясен людини (рис. 6).

Дослідження м'якої мозкової оболонки зорового нерва щурів виявило, що вона складалась з пухкої сполучної тканини, що фарбувалась у рожево-бузковий колір, містила значну кількість фібробластів, колагенових та еластичних волокон. Зовні вона була вкрита шаром мезотеліальних клітин, а її внутрішня поверхня, що безпосередньо межувала з зоровим нервом – клітинами глії. Від м'якої мозкової оболонки всередину нерва відходили чисельні сполучнотканинні перетинки, які також добре забарвлювались рожево-бузковий колір. Вони поділяли нервові волокна на пучки. У товщі м'якої оболонки розміщувалися судини гемомікроциркуляторного русла, які по прошарках сполучної тканини проникали вглиб нерва. Нервові волокна були округлої або овальної форми, з добре вираженою мієліновою оболонкою, забарвленою осміевою кислотою у чорний колір та блідо-блакитною аксоплазмою (рис. 7).

При дослідженні ушитої кетгуттом різаної рани нирок собак через 72 години виявлялося порушення цілісності кетгуту і формування вузьких тріщин по його периферії за рахунок ферментів, що синтезувались у вогнищі запалення на місці ранового дефекту. В новоутворені простори мігрували клітинні елементи – макрофаги і фібробласти, які ініціювали формування молодої рубцевої тканини. Еритроцити були забарвлені у світло-синій колір, ядра макрофагів і фібробластів – світло-синього кольору, цитоплазма – бузкового, молода рубцева тканина – світло-рожевого, кетгут – темно-рожевого кольору (рис. 8).

#### **Насумок**

Встановлено, що запропонований спосіб забарвлення дає змогу отримати якісні поліхромні зрізи, при цьому використовується менша кількість хімічних реактивів, що полегшує приготування хімічних розчинів та скорочується час дослідження.

*Перспективи подальших досліджень у даному напрямку. Даний метод гістологічного забарвлення є перспективним для застосування в роботі морфологічних лабораторій, особливо при виконанні наукових робіт.*

#### **Література**

1. Боголепов Н.Н. Методы электронно-микроскопического исследования мозга / Н.Н. Боголепов. – М. : Издание Института мозга АМН СССР, 1976. – 72 с.
2. Карупу В. Я. Электронная микроскопия / В. Я. Карупу. – К. : Вища школа, 1984. – 208 с.
3. Микроскопическая техника : руководство / под. ред. Д. С. Саркисова, Ю. Л. Перова. – М : Медицина, 1996. – 544 с.
4. Пат. 75669 України, МПК G01N 1/30. Спосіб забарвлення напівтонких зрізів / Шепітько В.І., Єрошенко Г.А., Якушко О.С. [та ін.] ; № u 2 0 1 2 06261 ; Заявл. 24.05.2012 , Опубл. 10.12.2012 , Бюл. № 23.
5. Aparicios S. R. A rapid methylene blue-basic fuchsin stain for semi-thin sections of peripheral nerve and other tissues / S. R. Aparicios, P. Marsden // Microscopy. – 1968. – Vol. 89. – P. 139–141.
6. Humphrey C. D. A simple methylene blue-azure II-basic fuchsin stain for epoxy-embedded tissue sections / C. D. Humphrey, F. E. Pittman // Stain Technol. – 1974. – Vol. 49 (1). – P. 9–14.

Реферати

**ПОЛИХРОМНЫЙ СПОСОБ ОКРАСКИ  
ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ**

Якушко Е.С., Шепит'ко В.И., Ерошенко Г.А., Еремина Н.Ф.

В данной работе представлен усовершенствованный способ окраски гистологических препаратов, который позволяет получить полихромно окрашенные срезы, уменьшить время изготовления препаратов и количество реактивов.

**Ключевые слова:** окраска, полихромный способ, полутонкие срезы.

Стаття надійшла 23.04.2013 р.

**POLYCHROME STAINING METHOD OF HISTOLOGICAL  
PREPARATIONS**

Yakushko O.S., Shepit'ko V.I., Yeroshenko G.A., Yeromina N.F.

An improved method of staining of histological preparations is presented in this paper. This method allows you to get a polychrome stained sections, to reduce the time of manufacture of preparations and amounts of reagents.

**Key words:** staining, polychrome method, semithin sections.

Рецензент Костиленко Ю.П.

УДК: 591.413+591.437+616-092.9

В.А. Миськів

ІВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет», м. Івано-Франківськ

**ОСОБЛИВОСТІ БУДОВИ ГЕМОМІКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА ПАНКРЕАТИЧНИХ ОСТРІВЦІВ  
У ЩУРІВ РІЗНИХ ВІКОВИХ ГРУП**

Зміни в будові гемомікроциркуляторного русла панкреатичних острівців у щурів різного віку характеризуються збільшенням кількості гемокапілярів на площі 0.1 мм<sup>2</sup> панкреатичного острівця і є максимальним у тварин 12 місячного віку (6,6±0,29), проте діаметр артеріол, прекапілярів, капілярів та посткапілярів є максимальним у 3-місячних щурів і поступово з віком зменшується (p<0,05).

Капіляри вісцерального типу вистеляються фенестрованими ендотеліоцитами, які лежать на нерівномірній товщини базальній мембрані, а їх ломенальна поверхня з віком формує досить великі пальцеподібні вип'ячування в просвіт судин.

**Ключові слова:** підшлункова залоза, гемомікроциркуляторне русло, панкреатичний острівцев.

Панкреатичні острівці (ПО), як важлива інкреторна частина підшлункової залози (ПЗ), гормон яких бере участь у метаболізмі вуглеводів, завжди привертала увагу дослідників в плані вивчення їх будови і кровопостачання [1, 2]. Тим не менше, поза увагою вчених залишається дослідження вікових особливості гемомікроциркуляторного русла (ГМЦР) ПО. З огляду на те, що порушення кровопостачання ПО є важливим патогенетичним механізмом ушкодження ПЗ і виникнення їх функціональної недостатності із розвитком цукрового діабету [3], перебіг якого носить яскраво виражені вікові особливості, ми задалися цілком вивчити вікові зміни ГМЦР ПО у лабораторних щурів різного віку.

Захворювання на ЦД завдає великої соціально-економічної шкоди, що визначається витратами на медичне обслуговування і соціальне забезпечення (у зв'язку з втратою працездатності, інвалідністю, передчасною смертю хворих). За новітніми даними Міжнародної федерації діабету (IDF; <http://www.idf.org>) кількість хворих на цукровий діабет (ЦД) у 2010 р. становила 284,8 млн населення земної кулі і до 2030 року очікується збільшення їх до 438,7 млн. осіб. Вивчення проблем мікроциркуляторного русла важливе не тільки актуальністю цукрового діабету загалом, а й тим, що особливості будови гемомікросудин у віковому аспекті на даному етапі ще чітко не з'ясовані, хаотичні а подекуди навіть суперечливі [4, 6]. За офіційними даними, синдром діабетичної стопи є однією із провідних причин інвалідності та смертності хворих на цукровий діабет, із яких 5-10% мають виразкові ушкодження кінцівок. Частота ампутацій з приводу цього ускладнення у хворих на діабет складає 1%, що у 15 разів перевершує таку в загальній популяції [5].

**Метою** роботи було встановити морфофункціональні зміни гемомікроциркуляторного русла острівцевого апарату підшлункової залози щурів різних вікових груп.

**Матеріал та методи дослідження.** Робота виконана на 45 білих щурах самцях лінії Wistar масою 50-350г трьох вікових груп: 3-, 12- і 24- місячних, що утримувались в стандартних умовах віварію з дотриманням всіх прийнятих правил. Матеріалом для дослідження були препарати підшлункової залози (ПЗ).

Ультраструктурні особливості панкреатичних острівців (ПО) вивчали під електронним мікроскопом ПЭМ-125 К з прискорюючою напругою 75 кВ. Мікрофотографування препаратів здійснювали на тринокулярному мікроскопі МС 300 (ТХР) з підключеною Digital camera for microscope DCM 900 за допомогою програмного забезпечення Score Photo.

Морфометрію здійснювали на мікропрепаратах за допомогою програми "Bio Vision 4" в автоматичному або ручному режимі із врахуванням збільшень об'єктів. Структурні зміни на кожному етапі дослідження аналізували в 50 полях зору і визначали діаметр просвіту ланок ГМЦР, кількість судин на площі 0,1 мм<sup>2</sup> ПО. Отримані дані оцінювали за параметричними та непараметричними статистичними методами.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Вивчення напівтонких зрізів ПЗ щурів 3-місячного віку показало, що кровопостачання ПО підшлункової залози щурів здійснюється із спільних з екзокринною частиною джерел. У 3- місячних щурів артеріоли з середнім значенням діаметру (27,2±0,34) мкм беруть початок від артерій і розташовуються в прошарках сполучної тканини навколо острівців (рис. 1). Розгалужуючись, вони формують прекапіляри. Вивчаючи серійні напівтонкі зрізи панкреатичних острівців підшлункової залози щурів 3-місячного віку, ми відмітили, що судини, за морфологічними ознаками віднесені нами до прекапілярів, формують відкриті і закриті петлі, які оточують острівці і дають початок капілярам, які лежать між ендокриноцитами, анастомозують між собою і утворюють капілярну сітку.