

Методи дослідження

УДК 616.43-018.1-007.41-076

С.М. Білаш, В.І. Шепітько, Г.А. Єрошенко

СПОСІБ ВИЯВЛЕННЯ КЛІТИН ДИФУЗНОЇ ЕНДОКРИННОЇ СИСТЕМИ НА НАПІВТОНКИХ ЗРІЗАХ

ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава, Україна

Резюме. Спосіб виявлення клітин дифузної ендокринної системи на напівтонких зрізах включає в себе методику Грімеліуса і відрізняється тим, що для ущільнення біологічного матеріалу використовується ЕПОН-812 і хімічні речовини, які є менш шкідливими для

здоров'я та зменшують час проведення імпрегнації тканин для ідентифікації, визначення гістотопографії, кількісного та якісного складу апудоцитів.

Ключові слова: дифузна ендокринна система, напівтонкі зрізи, ідентифікація.

Вступ. Найбільш поширеним гістохімічним способом виявлення клітин дифузної ендокринної системи є імпрегнація зрізів сріблом за методом Грімеліуса. Встановлено, що позитивну аргірофільну реакцію дає більшість ендокринних клітин АПУД – системи [2]. Завдяки простому виконанню та гарній відтворюваності результатів на парафінових зрізах метод Грімеліуса став загальноприйнятим. Недоліком цього методу є те, що виконання цієї гістохімічної реакції проводиться на парафінових зрізах, які за своєю товщиною не можуть бути використані для чіткої ідентифікації структурних елементів при збільшенні світлового мікроскопа в 1000 разів. Також цей підхід не дає можливості відбору зразків для подальшого виготовлення ультратонких зрізів при проведенні електронної мікроскопії, а також не дає можливості вивчення розподілу секреторних гранул у цитоплазмі ендокринних клітин.

Найбільш близьким є модифікований метод Грімеліуса, який виконується на напівтонких зрізах [1]. Слід відмітити, що можливості світлової мікроскопії для точної морфологічної ідентифікації типу апудоцитів обмежені. У результаті проведення даної імпрегнації секреторні гранули аргірофільних клітин закритого і відкритого типу, які розташовувались у криптах дванадцятипалої кишки, забарвлювались в інтенсивний чорно-коричневий колір, гранули клітин Панета – у коричневий колір, а оточуюча тканина – у світло-жовтий. Методика довготривала за часом проведення, а також у ході її використовуються шкідливі для здоров'я речовини.

Мета дослідження. Удосконалити гістохімічний метод виявлення елементів дифузної ендокринної системи на напівтонких зрізах.

Матеріал і методи. Робота є фрагментом науково-дослідної роботи ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія» МОЗ України "Експериментально-морфологічне вивчення дії трансплантатів кріоконсервованої плаценти на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів", № державної реєстрації 0108U001572.

В основу дослідження поставлене завдання модифікувати методику Грімеліуса, а саме - біологічний матеріал (стінку шлунка, нирки, слинні залози) ущільнювали в ЕПОН-812, з метою виготовлення напівтонких серійних зрізів, і використовували хімічні речовини, які є менш шкідливими для здоров'я та зменшують час проведення забарвлення оболонок шлунка для ідентифікації, визначення гістотопографії, кількісного та якісного складу апудоцитів, також скорочувався час проведення методики. Вилучені етапи роботи з пікриновою, оцтовою кислотою та формальдегідом, які використовуються у виготовленні розчину Буена. Позитивним є заміна ацетатного буфера на фосфатний, який є більш доступним.

Результати дослідження та їх обговорення. Забарвлення напівтонких зрізів здійснюється наступним чином:

1. Шматочки тканин стінки шлунка, нирок, слинних залоз щурів об'ємом близько 30 мм³ фіксували у 2,5 % розчині глутарового альдегіду і ущільнювали в ЕПОН – 812 за загальноприйнятою методикою для електронно-мікроскопічних досліджень;
2. Напівтонкі зрізи товщиною 1 мкм звільняли від епоксидної смоли зануренням на 10 хвилин у насичений розчин гідроокису натрію в абсолютному етанолі, після чого ретельно відмивали абсолютним етанолом і проводили через спирти понижуючої концентрації до дистильованої води;
3. Протягом 5 хвилин зрізи занурювали в розчин фосфатного буфера з рН 5,6;
4. Потім зрізи витримували протягом 4 годин у свіжо виготовленому 0,3% розчині азотнокислого срібла на фосфатному буфері (рН 5,6) під ковпаком на прямому сонячному світлі;
5. Надалі зрізи проявляли протягом 3 хвилин 1 % розчином гідроксиду на 5% розчині сульфату натрію у термостаті при 45°C;
6. Препарати промивали дистильованою водою протягом 10 хвилин, висушували в термостаті при температурі 37°C і закривали в поліестерол під покривні скельця.

Гранули ендокриноцитів шлункових залоз забарвлювались у темно-коричневий колір, інші структури – у жовтий колір, що дало змогу ідентифікувати, визначити гістотопографію, кількісний та якісний склад клітин дифузної ендокринної системи вивчених органів.

Висновок

Запропонований спосіб дозволяє скоротити час проведення методики. Вилучені етапи роботи зі шкідливими для здоров'я речовинами, а саме: пікриною, оцтовою кислотою та формальдегідом, які використовуються у виготовленні розчину Буена. Позитивним є заміна ацетатного буфера на фосфатний, який є більш доступним. Скорочення часу проведення методики дає змогу швидше визначити ділянки препарату для подальшого електронно-мікроскопічного дослідження.

Перспективи подальших досліджень. Запропонований спосіб дозволить більш якісно ідентифікувати та більш детально вивчати елементи АПУД-системи.

Література

1. Улитина Е.Д. Модификация метода Гримелиуса для идентификации апудоцитов на полутонких срезах / Е.Д. Улитина, В.В. Южаков // Арх. патол. – М.: Медицина, 1990. – Т. 52. – С. 63-64.
2. Grimelius L. Enterochromaffine cells in the gut's wall / L. Grimelius, E. Wilander // Invest. Cell Path. – 1980. – Vol. 3. – P. 3-12.

СПОСОБ ВЫЯВЛЕНИЯ КЛЕТОК ДИФFUЗНОЙ ЭНДОКРИННОЙ СИСТЕМЫ НА ПОЛУТОНКИХ СРЕЗАХ

С.М. Білаш, В.І. Шепітько, Г.А. Єрошенко

Резюме. Способ выявления клеток диффузной эндокринной системы на полутонких срезах включает в себя методику Гримелиуса и отличается тем, что для заключения и окрашивания биологического материала используется ЕПОН-812 и химические вещества, которые являются менее вредными для здоровья, уменьшают время проведения окраски тканей для идентификации, определения гистотопографии, количественного и качественного состава апудоцитов.

Ключевые слова: диффузная эндокринная система, полутонкие срезы, идентификация.

A METHOD OF DETECTING OF DIFFUSE ENDOCRINE SYSTEM CELLS ON SEMITHIN SECTIONS

S.M. Bilash, V.I. Shepitko, H.A. Yeroshenko

Abstract. A method of detecting cells of the diffuse endocrine system on semithin sections includes the method of the Grimelius technique and differs by the fact that EPON-812 chemical substances are used to consolidate the biological material that are less harmful for the health and diminish the time of carrying out an impregnation of tissues in order to identify, determine histotopography, the quantitative and qualitative composition of apudocytes.

Key words: diffuse endocrine system, semithin sections, identification.

HSEI of Ukraine “Ukrainian Medical Stomatological Academy (Poltava, Ukraine)

Рецензент – проф. І.С. Давиденко

Buk. Med. Herald. – 2012. – Vol. 16, № 4 (64). – P. 228-229

Надійшла до редакції 15.08.2012 року