

2. Ревиншвили А.Ш. Клинические Рекомендации: «Диагностика и лечение фибрилляции предсердий». [Электронный ресурс] // Всероссийское научное общество специалистов по клинической аритмологии и кардиостимуляции URL :https://docviewer.yandex.ru/view/176910285/?page=2&*=U0Y3pCCpxA8R15NsGQjY8lG2A0B7InVybcI6InlhLW1haWw6Ly8xNzE2OTk3MzU3OTM1MDQzNjQvMS41IiwidGl0bGUiOiJhZi5wZGYiLCJub2lmcmFtZSI6ZmFsc2UsInVpZCI6IjE3NjkxMDI4NSIsInRzIjoxNTgzMzQ3ODkwMDY3LCJ5dSI6IjM4MjUwMDU3MzE1ODE4NTU5ODQifQ%3D%3D (дата обращения 20.02.2019).

УДК 615.076.9

**Перепелкина Д.О., Насибова С.С., Бахтин В.М., Изможерова Н.В.
ГИСТОЛОГИЧЕСКАЯ ТЕХНИКА ПОДГОТОВКИ ПРЕПАРАТОВ
СУСТАВНЫХ ХРЯЩЕЙ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ**

Кафедра фармакологии и клинической фармакологии
Уральский государственный медицинский университет
Екатеринбург, Российская Федерация

**Perepelkina D.O., Nasibova S.C., Bakhtin V. M., Izmozherova N. V.
HISTOLOGICAL TECHNIQUE FOR LABORATORY ANIMALS
ARTICULAR CARTILAGE PREPARATIONS**

Pharmacology and clinical pharmacology department
Ural state medical university
Yekaterinburg, Russian Federation

E-mail: saira.nasibova@list.ru

Аннотация. В статье рассмотрены различные гистологические техники подготовки препаратов суставных хрящей лабораторных животных.

Annotation. The article contains different techniques about preparing histological sections with articular cartilages of laboratory animals.

Ключевые слова: фиксация, декальцинация, методы окраски, хрящ.

Key words: fixation, decalcification, staining methods, cartilage.

Введение

Неправильная подготовка препарата может нарушить ход исследования и привести к некорректным выводам, поэтому важно изучить информацию о методах приготовления материала. Каждая ткань имеет свои особенности, не всегда можно следовать единому плану подготовки гистологического препарата. Особенностью суставного хряща является невозможность его отделения от подлежащей кости, что требует определённой гистологической техники подготовки препарата.

Цель исследования – проанализировать различные варианты подготовки гистологических препаратов суставных хрящей у лабораторных животных.

Материалы и методы исследования

По данной теме был произведён анализ научных статей и руководств.

Для проведения гистологического исследования любой препарат должен пройти определенные этапы, а именно, взятие материала, фиксация, промывка в воде, обезвоживание и уплотнение, заливка, приготовление срезов, окрашивание, заключение срезов. Некоторые этапы подготовки препарата суставного хряща имеют свои особенности, которые были рассмотрены в ходе литературного поиска.

Результаты исследования и их обсуждение

При исследованиях на лабораторных животных чаще всего костно-суставной препарат является посмертным, следовательно, используется аутопсийный забор материала [2].

Следующий этап подготовки гистологического препарата – фиксация. Цель этапа - закрепление тканевых структур, предохранение тканей от разложения. Фиксирующие среды классифицируются на простые и сложные. Данное деление зависит от того, какое количество веществ входит в состав фиксатора. Часто используемое фиксирующее средство – формалин 10-15%. Для изготовления используют 1 часть неразведенного формалина и 9 частей водопроводной воды, поскольку она предотвращает набухание тканей. Фиксация происходит в течение 24-48 часов. Существует несколько разновидностей фиксирующих смесей, содержащих формалин, например, смесь Пика, в состав которой входят формалин 50 мл, карлсбадская соль (искусственная) 50 г, вода 1000 мл, солевой раствор формалина по Кайзерлинга, в состав входят формалин 200 мл, азотнокислый калий (селитра) 15 г, уксуснокислый калий, вода 1000 мл, смесь Иореса. Плюсы данного фиксатора - простота изготовления, универсальность, хорошая проникающая способность, хранение кусочков после истечения срока фиксации. Минусы – снижение восприимчивости к окраске, выпадение осадков, кислая реакция неразведенного формалина [2,5,6].

На практике для подготовки препаратов суставных хрящей наиболее часто используется нейтральный 10 - 12% раствор формалина [1,4,7,10].

Декальцинация – это процесс извлечения извести из тканей. Выявление и оценка хрящевых структур невозможны без этого этапа. Декальцинация делится в зависимости от того, какие вещества используются, на кислотную и бескислотную. Кислотная подразделяется на минеральную, т.е подразумевает использование азотной и соляной кислот, и на органическую, где используются муравьиная и трихлоруксусная кислоты. Одним из важных моментов успешности данного этапа является то, что декальцинирующий раствор необходимо менять каждый 24-48 часов, а для предупреждения набухания тканей после декальцинации их переносят в 5% раствор калийных квасцов на 12-24 часа, после чего выполняется тщательная промывка для предотвращения некачественного окрашивания. Наиболее часто используются два

декальцинатора – 3, 5 и 10% азотная кислота и Трилон Б. Применяя азотную кислоту, нужно тщательно следить за ее крепостью, так как чем крепче раствор кислоты, тем быстрее идет реакция – это безусловный плюс, но и более значительно разрушение тканей. Трилон Б-содержащий декальцифицирующий раствор состоит из 250 г ЭДТА (этилендиаминтетраацетата динатрия), 50 мл 40 % раствора гидроксида натрия и 1000 мл дистиллированной воды. Декальцинирующий раствор Трилона Б является более предпочтительным в подготовке препаратов, так как не нарушает структуры тканей. Критерием успешной декальцинации является мягкость и эластичность ткани [2].

При изучении литературы по данной теме было установлено, что наиболее часто используются азотная кислота и Трилон Б [4, 7, 10].

После фиксации, промывки и декальцинации проводят обезвоживание – проводку по спиртам восходящей концентрации. Данный этап является очень важным, поскольку происходит еще большее уплотнение ткани. Далее выполняется заливка в целлоидиновый или парафиновый блок, из которого в дальнейшем на микротоме изготавливаются гистологические срезы хряща вместе с подлежащей декальцинированной костью [2].

Окрашивание – один из важнейших этапов, так как позволяет выделить именно те структуры, которые необходимы для исследования. Самыми популярными окрасками являются гематоксилин и эозин, окраска по способу Ван Гизона. При окраске гематоксилином и эозином используют квасцовый гематоксилин (Бёмера, Делафильда, Эрлиха) или гематеин Майера и спиртовой или водный раствор эозина. Для окраски по Ван Гизону используют железный гематоксилин Вейгерта и пикрофуксин. Для выявления различных структур хрящевых тканей используются специальные окраски. Для окраски коллагеновых волокон основным компонентом является анилиновая синь – фенилрозанилин, растворимая в спирте краска синего цвета. К данной окраске относится способ Маллори, способ Массона. По способу Маллори коллагеновые волокна окрашиваются в темно синий цвет, протоплазма клеток - в красновато – фиолетовый, эритроциты - в красный, гиалин и слизь - в синий цвет. По способу Массона ядра окрашиваются в черный цвет, протоплазма клеток – в розовый или красный цвет, коллагеновые и ретикулярный волокна – в темно синий цвет. Окраска по ШИК – реакции необходима для определения мукополисахаридов. [2,10]

Стандартной окраской является смесь гематоксилина и эозина. Но для выявления различных структур, например, коллагеновых волокон, необходимы специальные методы окраски, которые широко распространены и активно используются в процессе подготовки гистологических препаратов [1, 2, 8].

Выводы:

1. Для подготовки препаратов хрящевых суставов необходима обязательная декальцинация, преимущественно используется Трилон Б.

2. Выбор окраски зависит от того, какие существенные элементы необходимо выявить.

Список литературы:

1. Богатов В.Б. Влияние холодно-плазменной абляции на хрящ коленного сустава человека и экспериментального животного / В.Б. Богатов, О.В. Матвеева, А.Б. Петров // Травматология и ортопедия России. – 2011. – Т.1. - №59. - С. – 61 – 66.
2. Меркулов Г.А. Курс патологогистологической техники // Ленинград. : МЕДГИЗ, 1956. – С. 1 – 2247.
3. Морфогенез гиалинового хряща коленного сустава на фоне внутрисуставного введения обогащенной тромбоцитами аутологичной плазмы и/или препарата гиалуроновой кислоты у крыс с экспериментальным остеоартрозом / С.А.Демкин, Д.А.Маланин, Л.Н.Рогова [и др.] // Травматология и ортопедия России. – 2016. Т.22. - №4. – С. 76-87.
4. Морфологическое и морфометрическое результаты бесконтактного воздействия холодной плазмы на суставной хрящ в эксперименте/ А.Л.Жуликов, Д.А.Маланин, В.В.Новочадов [и др.] // Бюллетень Волгоградского научного центра РАМН
5. Морфология суставного хряща при последовательном distractionно-компрессионном остеосинтезе голени / А.В. Попков, Т.А. Ступина, С.А. Ерофеев, Е.В. Осипова, Д.А. Попков // Гений ортопедии. – 2000. - №3. – С. 25-29.
6. Морфофункциональная характеристика суставного хряща наружного мыщелка бедра при удлинении голени собак / В.И. Шевцов, Т.А. Ступина, М.М. Щудло [и др.] // Гений ортопедии. – 2004. - №1. – С. 39-44.
7. Попова О.А. Формирование структурной асимметрии суставного хряща дистального эпифиза бедренной кости в процессе старения // Международный научно-исследовательский журнал. – 2013. - № 6-1(13). – С. 32 – 33.
8. Признаки мозаичного строения гиалинового хряща: количественное морфологическое исследование локтевого сустава кролика / В.В. Новочадов, А.Ю. Алексеенко, П.А. Крылов [и др.] // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. – 2014. - №3. – С. 33 – 39.
9. Ступина Т.А. Ерофеев С.А. Патоморфологическая и морфометрическая характеристика суставного хряща при удлинении голени в разное время суток // Гений ортопедии. – 2003. - №2. – С. 10-14.
10. Ташпулатов А.Г. Морфологическая оценка репаративной регенерации тканей в зоне ложных суставов и дефектов длинных костей в условиях гнойной инфекции/ А.Г. Ташпулатов, Р. Исроилов, К.Х. Яхшимуратовт // Гений ортопедии. – 2010. - №4. С. 51-54.

УДК 61:615.12

**Пономарев Г.А., Андрианова Г.Н.
ФАКТОРЫ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ ДОСТУПНОСТЬ
ЛЕКАРСТВЕННОЙ ПОМОЩИ НАСЕЛЕНИЮ**