

АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ ТЕОРЕТИЧНОЇ МЕДИЦИНИ

СЕКЦІЯ МОРФОЛОГІЇ

МЕТОД КОНТРАСТУВАННЯ УЛЬТРАТОНКИХ ЗРІЗІВ ПЕРМАНГНАТОМ КАЛІЮ ТА УРАНІАЦЕТАТОМ З ЦИТРАТОМ СВИНЦЮ

Бончев С.Д., лікар-інтерн

Науковий керівник – доц. М.В. Погорєлов

СумДУ, кафедра анатомії людини

Просвічуюча електронна мікроскопія (ПЕМ) отримала широке поширення в біологічних дослідженнях для дослідження ультраструктурної патології при діагностиці багатьох захворювань та патологічних станів. Але, на жаль, отримати електроннограми з чіткою роздільною здатністю та добрим контрастом дуже важко, особливо початківцю, що займається підготовкою препаратів для дослідження в електронному мікроскопі. На даний час існує безліч методик та протоколів отримання негативного контрасту, але найбільшого поширення отримало подвійне контрастування цитратом свинцю та ураніацетатом за Рейнольдсом. Використовуючи цей метод ми виявили певні недоліки: недостатній при використанні епоксидної смоли контраст; залежність від температури середовища та часу контрастування; вплив на реактиви вуглекислого газу атмосферного повітря при тривалому контрастуванні (випадіння в осад мікрокристалів).

Майже всіх цих недоліків позбавлена методика описана в Journal of Microscopy, Vol. 201, Pt 1, January 2001, pp. 77-83. Вона представляє собою метод Рейнольдса з додатковим контрастуванням перманганатом калію. Але проводячи огляд літератури за останні 50 років ми так і не знайшли чіткого пропису чи протоколу використання вищезгаданого методу при контрастуванні препаратів для електронної мікроскопії. Тому, експериментуючи над контрастом при підготовці біологічних тканин для дослідження на ПЕМ нами був складений протокол для отримання чітких та добре контрастованих електроннограм. Пропис протоколу наведений нижче:

1. Обробка сіточок з ультратонкими зрізами в 1 % водному розчині $KMnO_4$ протягом 15 хвилин при кімнатній температурі.
2. Подвійне промивання сіток в бідистильованій воді по 30 секунд.
3. Контрастування 2 % водним розчином ураніацетату протягом 10-15 хвилин кімнатній температурі в темряві.
4. Одноразове промивання сіток в бідистильованій воді.
5. Контрастування в цитраті свинцю протягом 15-20 хвилин при кімнатній температурі в емності, з якої відкачане повітря або покладено на дно кристалічний гідроксид натрію.
6. Одноразове промивання сіток в бідистильованій воді.
7. Викладання сіток на фільтрувальний папір з наступним депонуванням у кейсі для сіточок.

Використовуючи дану методику нам вдалося отримати електроннограми різних біологічних тканин з дуже чіткою візуалізацією ультраструктур майже без залежності від виду тканини та впливу атмосферних чинників.

Таким чином, можна зробити висновок, що використання перманганату калію із загальноприйнятими ураніацетатом та цитратом свинцю дозволяє отримувати електроннограми з більш чіткою візуалізацією біліпідних мембран ядра і клітини, ендоплазматичного ретикулуму, секреторних гранул, мітохондрій та інших структур; значно зменшити час контрастування; зменшити вплив атмосферного повітря.