



МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **117929** (13) **U**
(51) МПК
G01N 1/28 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2017 01502	(72) Винахідник(и): Москаленко Роман Андрійович (UA), Кузенко Євген Вікторович (UA), Голободько Любов Вікторівна (UA), Романюк Анатолій Миколайович (UA)
(22) Дата подання заявки: 17.02.2017	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.07.2017	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.07.2017, Бюл.№ 13	(73) Власник(и): СУМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, вул. Римського-Корсакова, 2, м. Суми, 40007 (UA)

(54) СПОСІБ ПІДГОТОВКИ ЗРАЗКІВ БІОЛОГІЧНИХ ТКАНИН ДЛЯ СКАНУЮЧОЇ ЕЛЕКТРОННОЇ МІКРОСКОПІЇ ПРИ ПРОВЕДЕННІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТА КЛІНІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

(57) Реферат:

Спосіб підготовки зразків біологічних тканин для скануючої електронної мікроскопії при проведенні експериментальних та клінічних досліджень включає приготування гістологічних зрізів з парафінових блоків препаратів біологічних тканин, розміщення на предметних столиках, їх витримання у термостаті при температурі 60 °С, покриття тричі ксилолом, а потім тричі 96 % етанолом та споліскування дистильованою водою, і дослідження зразків біологічних тканин на скануючому мікроскопі з енергодисперсивним рентгенівським спектроскопом. Гістологічні зрізи готують товщиною 10-12 мкм. Покриття зрізів ксилолом здійснюють тричі по 3-4 хв., а 96 % етанолом тричі по 5-6 хв. Крім цього зразок додатково заземляють струмопровідним скотчем, який огортають навколо предметного столика, зробленого з спектрально чистого графіту.

UA 117929 U

Корисна модель належить до медицини та біології, а саме до патологічної анатомії, нормальної анатомії, гістології, та може бути використана для визначення мікроелементного аналізу біологічного матеріалу.

Відомий спосіб підготовки зразків для скануючої електронної мікроскопії при проведенні експериментальних та клінічних досліджень, який включає послідовно проведені стадії, а саме гістологічні зрізи з парафінових блоків препаратів біологічних тканин завтовшки 4 мкм розміщували на графітових предметних столиках. Зрізи витримували 30 хв. у термостаті при температурі 60 °С. Після цього парафінові зрізи тричі покривали ксилолом по 10 хв., потім тричі покривали 96 % етанолом по 10 хв., споліскували дистильованою водою приблизно 4-5 хв...
Виготовлені зразки досліджували на скануючому мікроскопі з енергодисперсивним рентгенівським спектроскопом (див. статтю Kuzenko Y.V. Method: chemical and morphological studying of paraffin sections. Morphologia. 2014; 8(2):89-92).

Вищезгаданий спосіб є найбільш близьким по суті та результатам, які досягаються, тому його вибрано за прототип.

Однак недоліком способу є висока частота заряджання поверхні зразка ("засвічування"), що виникає з-за відсутності заземлення, деформація зразка під час дослідження в пучку електронів, що виникає з-за тонкості зразка, значна кількість хімічних домішок при дослідженні мікроаналізу, які спричинюються впливом матеріалу предметного столика та ксилолу.

В основу корисної моделі поставлена задача удосконалення способу підготовки зразків біологічних тканин для скануючої електронної мікроскопії при проведенні експериментальних та клінічних досліджень, що дозволяє запобігти деформації та "засвічування" зразка, за рахунок чого значно покращується якість отриманих зображень, забезпечується підвищення точності хімічного аналізу.

Поставлена задача вирішується тим, що у відомому способі підготовки зразків біологічних тканин для скануючої електронної мікроскопії при проведенні експериментальних та клінічних досліджень, який включає приготування гістологічних зрізів з парафінових блоків препаратів біологічних тканин, розміщення на предметних столиках, їх витримання у термостаті при температурі 60 °С, покриття тричі ксилолом, а потім тричі 96 % етанолом та споліскування дистильованою водою, і дослідження підготовлених зразків біологічних тканин на скануючому мікроскопі з енергодисперсивним рентгенівським спектроскопом, згідно із корисною моделлю, гістологічні зрізи готують товщиною 10-12 мкм, при чому покриття зрізів ксилолом здійснюють тричі по 3-4 хв., а 96 % етанолом тричі по 5-6 хв., споліскують дистильованою водою, крім того зразок додатково заземляють струмопровідним скотчем, який огортають навколо предметного столика, зробленого з спектрально чистого графіту.

Використання заявленого способу з усіма суттєвими ознаками, включаючи відмінні, дозволяє значно знизити ризик деформації та заряджання ("засвічування") зразка за рахунок збільшення товщини зрізів біологічних тканин до 10-12 мкм та заземлення зразка, знизити контамінацію сторонніми хімічними елементами за рахунок заміни матеріалу предметного столика на спектрально чистий графіт та зменшення витримки у ксилолі, що значно покращує якість отримуваних зразків і підвищує точність хімічного аналізу.

Якщо товщина зрізів менша 10 мкм, то під впливом пучка електронів відбувається їх деформація. При товщині зрізів більше 12 мкм знижується якість отримуваних зображень зразків за рахунок нашарування різних структур біологічних тканин.

Запропонований спосіб є детальним та точним, дозволяє отримати якісні біологічні зразки для скануючої електронної мікроскопії.

Суть способу пояснюється кресленнями, де на фіг. 1 схематично зображено предметний столик 2 із спектрально чистого графіту, гістологічний зріз 1, струмопровідний скотч 3, скануючий електронний мікроскоп 4. Стрілками показано рух електронів; на фіг. 2 - сканограма папілярного раку щитоподібної залози з біомінералізацією (капсула пухлини (А) та рентгенівська дифрактограма мінералізованої тканини (Б)).

Спосіб здійснюється таким чином.

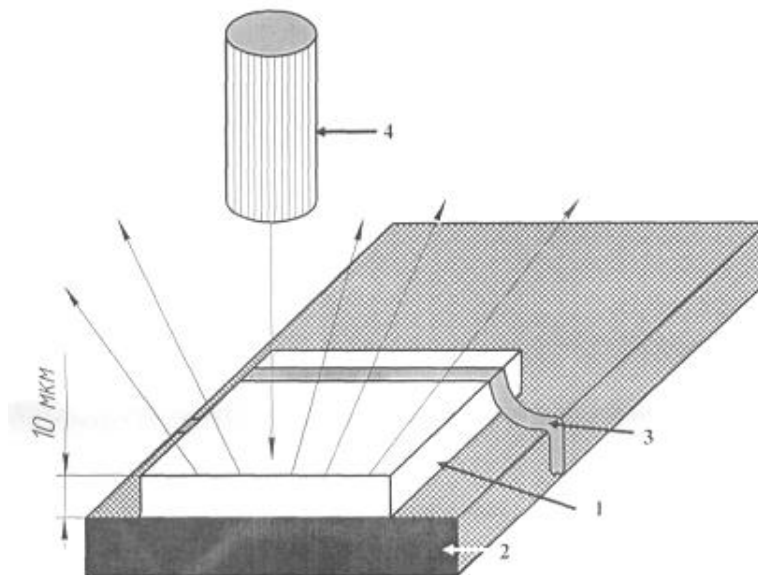
Біологічну тканину фіксують у 10 % буферному формаліні, заливають у парафіновий блок. Потім з парафінового блока тканини виготовляють гістологічні зрізи (1) товщиною 10-12 мкм, які розміщують на предметному столику (2) з спектрально чистого графіту. З метою максимального прикріплення зразка до предметного столика та розплавлення парафіну, їх витримують в термостаті при температурі 60 °С впродовж 30 хв... Для видалення парафіну зразок покривають ксилолом тричі по 3-4 хв., а потім 96 % етанолом тричі по 5-6 хв. та споліскують дистильованою водою. Після цього зразок біологічної тканини додатково заземляють струмопровідним скотчем (3), який огортають навколо предметного столика (2). Виготовлені препарати досліджували на скануючому мікроскопі (4) з енергодисперсивним рентгенівським спектроскопом.

Приклад. Біологічну тканину папілярного раку щитоподібної залози людини фіксують у 10 % буферному формаліні, заливають у парафіновий блок. Потім з парафінового блока тканини виготовляють гістологічні зрізи товщиною 10-12 мкм (1), які розміщують на предметному столику з спектрально чистого графіту (2). З метою максимального прикріплення зразка до предметного столика та розплавлення парафіну, їх витримують в термостаті при температурі 60 °С впродовж 30 хв... Для видалення парафіну зразок покривають ксилолом тричі по 3-4 хв., а потім 96 % етанолом тричі по 5-6 хв. та споліскують дистильованою водою. Після цього зразок препарату додатково заземляють струмопровідним скотчем (3), який огортають навколо предметного столика. Виготовлені препарати досліджували на скануючому мікроскопі (4) РЕММА 100У з енергодисперсивним рентгенівським спектроскопом (Selmi, Україна). На зрізі папілярного раку щитоподібної залози у ділянці капсули (А) помітно відкладення біомінеральної речовини, яка за енергодисперсивним рентгенівським аналізом відповідає гідроксіапатиту фіг. 2 (Б).

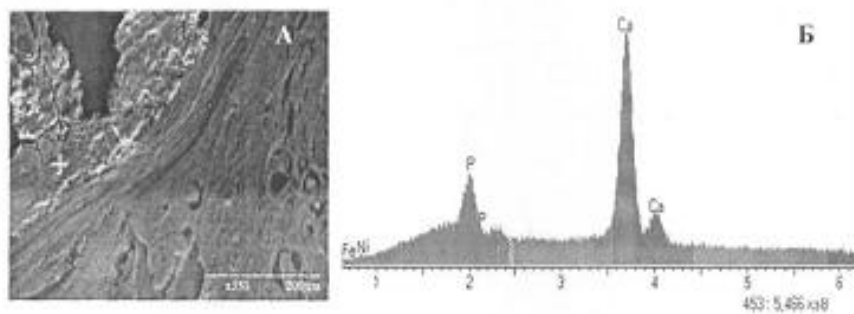
За допомогою запропонованого способу проведено 200 досліджень біологічних зразків тканин щитоподібної, молочної та слинної залози, тканин серцево-судинної системи людини та сім'яників лабораторних тварин, отримані високоякісні препарати і покращено якість хімічного мікроаналізу.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб підготовки зразків біологічних тканин для скануючої електронної мікроскопії при проведенні експериментальних та клінічних досліджень, який включає приготування гістологічних зрізів з парафінових блоків препаратів біологічних тканин, розміщення на предметних столиках, їх витримування у термостаті при температурі 60 °С, покриття тричі ксилолом, а потім тричі 96 % етанолом та споліскування дистильованою водою, і дослідження зразків біологічних тканин на скануючому мікроскопі з енергодисперсивним рентгенівським спектроскопом, який **відрізняється** тим, що гістологічні зрізи готують товщиною 10-12 мкм, причому покриття зрізів ксилолом здійснюють тричі по 3-4 хв., а 96 % етанолом тричі по 5-6 хв., крім того зразок додатково заземляють струмопровідним скотчем, який огортають навколо предметного столика, зробленого з спектрально чистого графіту.



Фіг. 1



Фиг. 2

Комп'ютерна верстка Л. Бурлак

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601