

ИЗУЧЕНИЕ СКОРОСТИ ПРОПИТЫВАНИЯ СКЕЛЕТНОЙ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ АЗИДОМ НАТРИЯ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЕГО КОНЦЕНТРАЦИИ И ТЕМПЕРАТУРЫ

Джунковская В.А., Волобуев Д.К., Проскурина М.С., Анфилова М.Г.,
Востриков П.П.

Курский государственный медицинский университет, кафедра гистологии,
эмбриологии, цитологии
г. Курск

Ключевые слова: Азид натрия. Гистохимия. Гистологическое исследование. Пропитывание. Фиксация тканей.

Резюме: в следующей статье приведены актуальные результаты исследования по использованию азид натрия в качестве фиксатора гистологического материала на примере скелетной мышечной ткани. Азид натрия использовался в различных концентрациях при нескольких температурных режимах.

Resume: The following article presents the actual results of a study on the use of sodium azide as a fixative of a histological material on the example of skeletal muscle tissue. Sodium azide has been used in various concentrations at several temperatures.

Актуальность. За последние два десятилетия гистохимические и микроскопические методы получили широкое распространение как в исследовательской, так и в практической работе биологов и врачей. Позволяя выявлять локализацию веществ и ферментов в клетках и тканях, гистохимия обеспечивает связь между биохимией и морфологией [1].

Ввиду того что лишённые питания ткани организма очень быстро начинают претерпевать необратимые изменения (будь то смерть целого организма или искусственное удаление отдельных его частей), первыми и обязательными условиями микроскопической техники являются предупреждение и задержка посмертных изменений в тканях [4]. Это достигается путем фиксации взятого для исследования материала. Фиксация позволяет закрепить тканевые структуры в том состоянии, в каком они находились в момент погружения кусочков в фиксирующую жидкость, и предохранение их от дальнейшего разрушения. С помощью фиксации мы можем изучить строение ткани или органа, его функцию и сделать выводы и нарушениях. Высокое качество микроскопических препаратов является важнейшим условием постановки правильного гистологического диагноза [2, 5].

Очень часто фиксированная ткань сохраняет строение, близко напоминающее или даже идентичное строению ее в живом состоянии. Однако, при фиксации возможно и некоторое искажение истинной структуры ткани. Степень выраженности изменений зависит от рН фиксатора, его концентрации, температуры, продолжительности воздействия и других факторов. К сожалению, не существует такой фиксирующей жидкости, которая сохраняла бы одинаково хорошо все составные части клеток и тканей. Большинство фиксаторов оказывает уплотняющее действие на обрабатываемый материал [3,6].

Цель исследования: изучить зависимость скорости пропитывания скелетной мышечной ткани азидом натрия от его температуры и концентрации.

Задачи:

1. Изучить специальную литературу по изготовлению гистологических срезов;
2. Понять механизм действия азиды натрия на скелетную мышцу и влияющие на это факторы;
3. Проведение исследования и протоколирование результатов;
4. Анализ полученных результатов.

Материалы и методы: три термостата с температурами 58°C, 37°C и 4°C, растворы азиды натрия с концентрациями 0,3%, 0,5%, 1%, 9 стеклянных банок по 1,5л., скелетная мышечная ткань, порезанная на квадратные бруски, линейка, скальпель.

Работа началась с того, что мы подготовили 9 банок раствора азиды натрия с различной концентрацией. Для того, чтобы получить раствор концентрацией 0,3% мы растворяли в 1л воды 3 грамма азиды натрия, в остальных банках соответственно 5 и 10 грамм. После этого мы поместили банки в термостаты на сутки. На следующий день нарезали мышцу на одинаковые бруски и поместили их в банки с раствором, затем поставили банки в термостаты и оставили на сутки. В течение 4 суток каждые 24 часа производились срезы размером 1-1,5 см., измерение и фотографирование препаратов. В дальнейшем мы произвели анализ полученных данных, статистическую обработку и сделали выводы.

Результаты и их обсуждение. В течение первых суток наблюдалась наиболее лучшая фиксация мышечной ткани при температуре 37°C и концентрации азиды натрия 0,5%. Однако при температуре 58°C фиксация происходит лучше при 1%-ом растворе азиды натрия, чем при 0,5% и 0,3%. При 4°C наблюдается более или менее равноценная пропитка ткани фиксатором при всех используемых концентрациях (рис. 1 – рис. 3). Вышесказанные изменения отмечены на диаграммах (в них использованы следующие условные обозначения: «ср+ст.о» - средняя степень фиксации мышечной ткани в миллиметрах + стандартное отклонение; «ср-ст.о» - средняя степень фиксации мышечной ткани в миллиметрах - стандартное отклонение; «ср-дов.» - средняя степень фиксации мышечной ткани в миллиметрах - доверительные границы; «ср+дов.» - средняя степень фиксации мышечной ткани в миллиметрах + доверительные границы).

Фундаментальная медицина

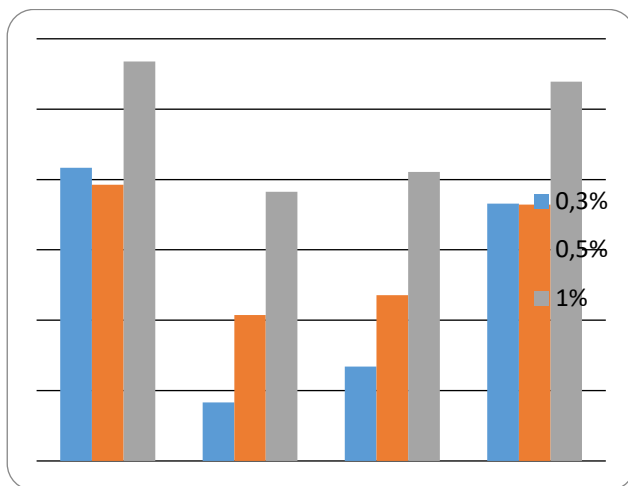


Рис.1 – Результаты 1 дня при 58°C

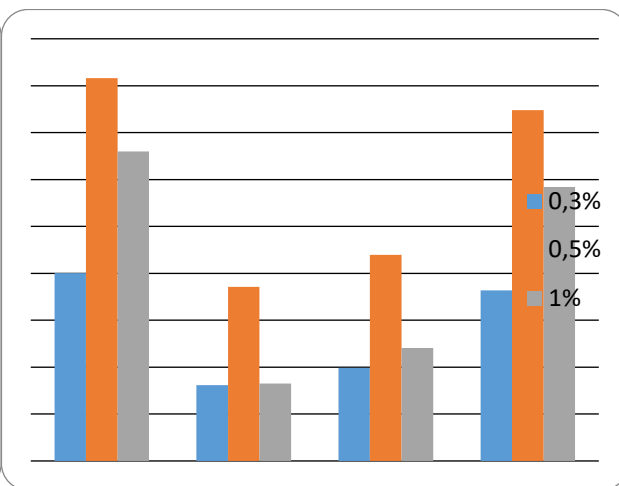


Рис.2 – Результаты 1 дня при 37°C

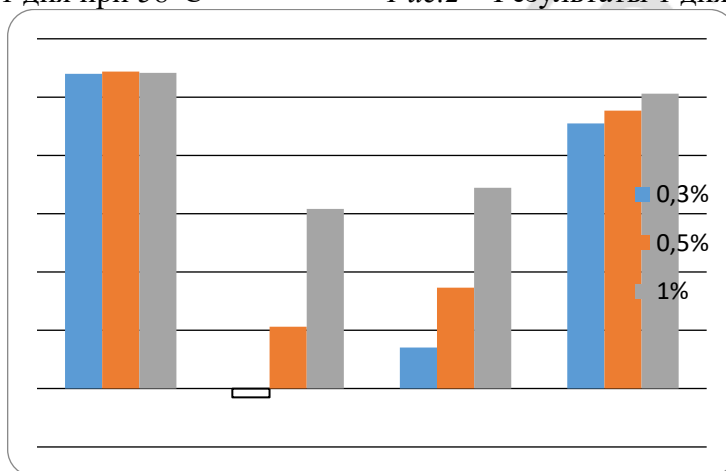


Рис.3 – Результаты 1 дня при 4°C

На вторые сутки данного исследования степень пропитки мышцы при разных температурных режимах и разной концентрации существенно не изменилась (рис. 4 – рис. 6).

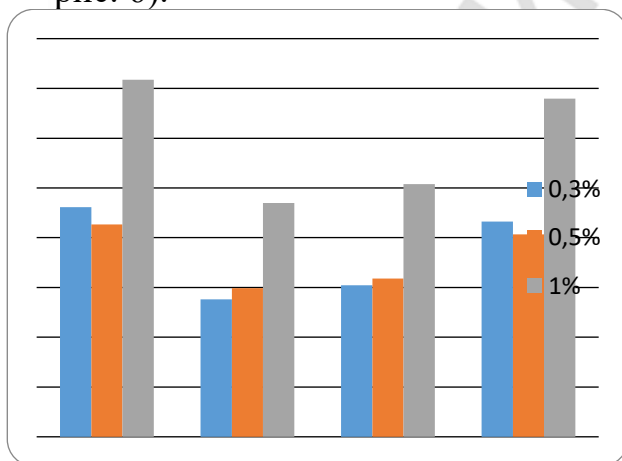


Рис.4 – Результаты 2 дня при 58°C

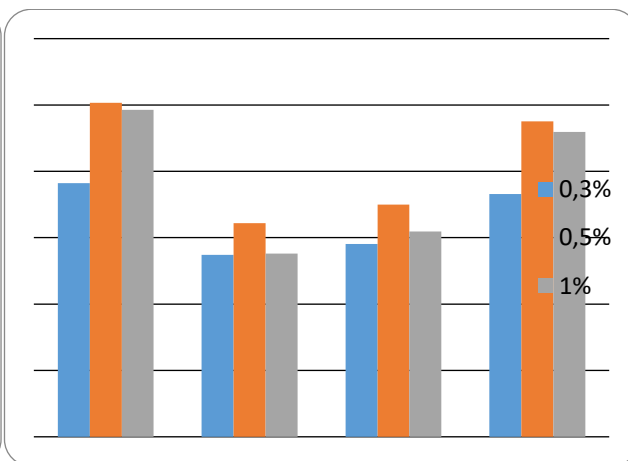


Рис.5 – Результаты 2 дня при 37°C

Фундаментальная медицина

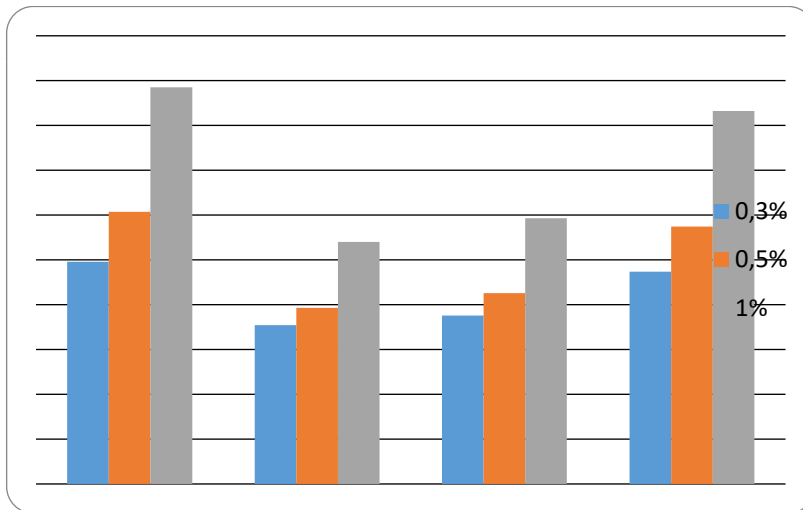


Рис.6 – Результаты 2 дня при 4°C

На 3 день пропитка ткани при 58°C и 37°C продолжалась аналогичным образом. При 4°C четкой динамики не наблюдалось (рис. 7 – рис. 9).

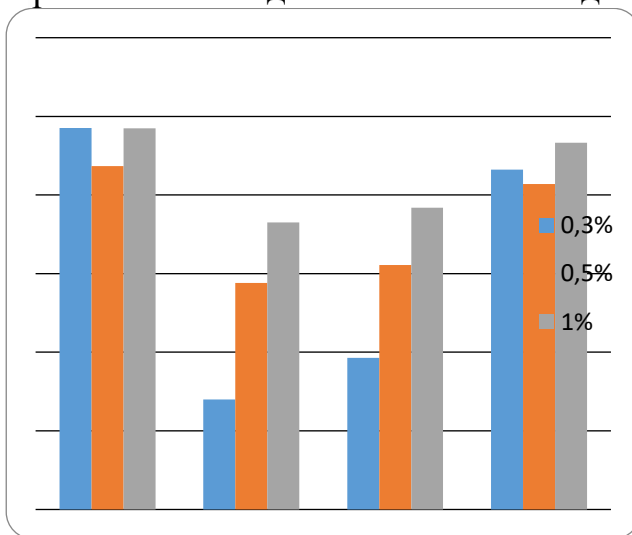


Рис.7 – Результаты 3 дня при 58°C

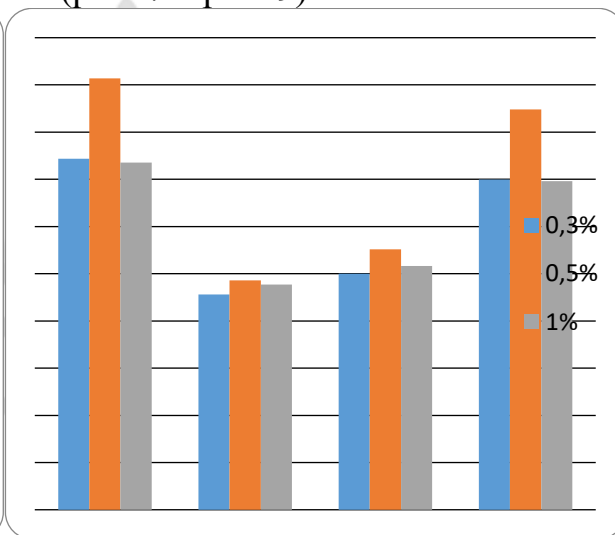


Рис.8 – Результаты 3 дня при 37°C

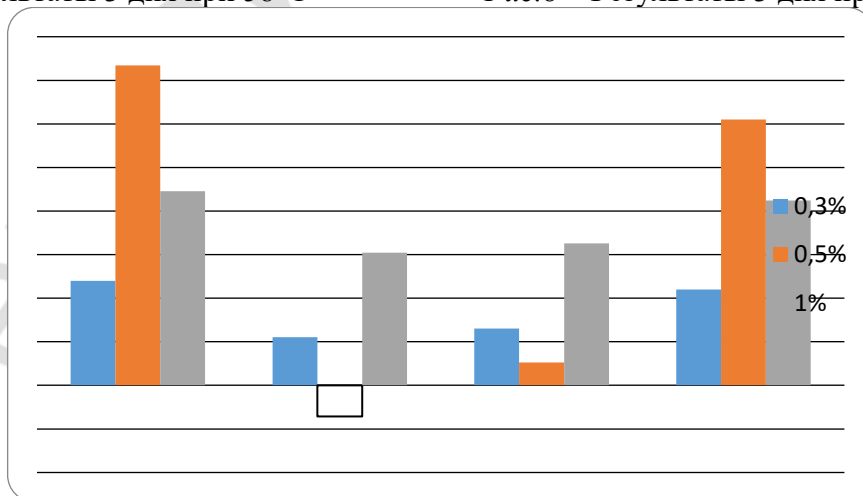


Рис.9 – Результаты 3 дня при 4°C

И, наконец, на 4 день были весьма интересные показатели. Так, при 58°C и концентрации 0,3% произошло «рассыпание» мяса, оно попросту сварилось. Скелетная мышца подверглась мощному высаливанию и термической обработке. При

Фундаментальная медицина

37°C и только при концентрации азидата натрия в 1% произошла полная фиксация препарата. При 4°C, как и в предыдущий день, четкой динамики не прослеживается (рис. 10 – рис. 12).

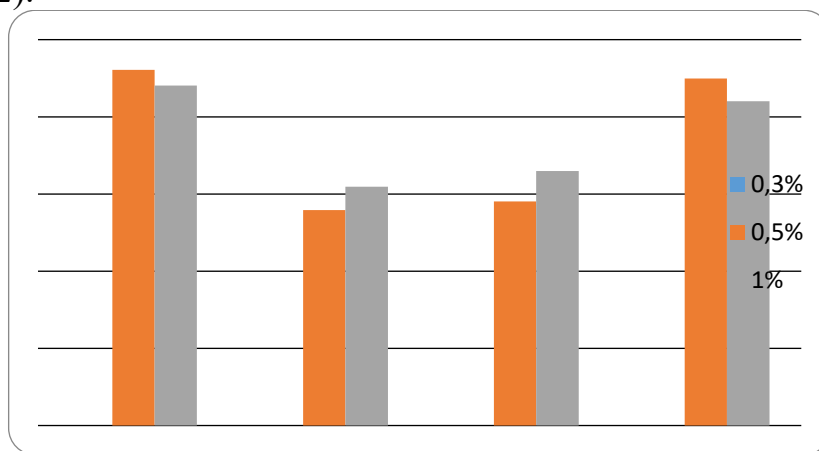


Рис.10 – Результаты 4 дня при 58°C

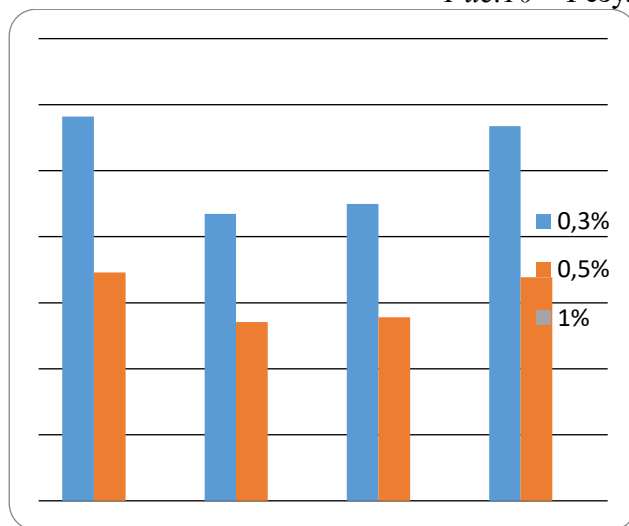


Рис.11 – Результаты 4 дня при 37°C

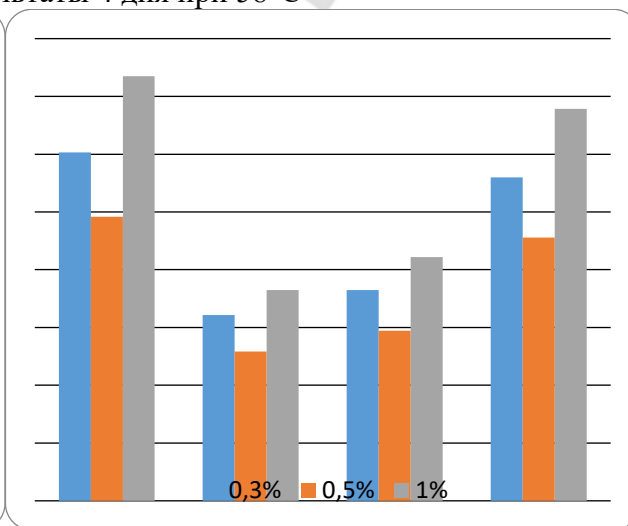


Рис.12 – Результаты 4 дня при 4°C

Заключение. В ходе работы было выявлено, что зависимость между концентрацией раствора и скоростью проникновения его в ткани прямая. Быстрее скелетная мышечная ткань пропиталась в 1% растворе азидата натрия. Также, на скорость проникновения раствора влияла температура в которой находился раствор. Быстрее произошла фиксация при температуре 37°C, а при 58°C произошло разрушение тканей. При 4°C скорость проникновения была незначительна.

Сравнивая 0.3%, 0.5% и 1 % растворы азидата натрия можно сделать вывод что 0.5% и 1% растворы намного эффективнее. Кроме того, 0,5% и 1% растворы азидата натрия с течением времени не выпадают в осадки, не изменяют естественную окраску органов и тканей, не образуют черных артефактов в гистологических препаратах.

На основании всего вышесказанного можно сделать следующие **выводы**:

1. Была изучена специальная литература по изготовлению гистологических срезов;
2. В ходе выполнения исследования стал понятен механизм действия азидата натрия на скелетную мышечную ткань и влияющие на это факторы;

Фундаментальная медицина

3. Проведены исследования и протоколирование результатов;
4. Анализ полученных результатов.

Литература

1. Азид натрия как новый консервант биологического материала / научная электронная библиотека. - <https://www.monographies.ru/ru/book/section?id=4951>
2. Пауков, В.С. Патологическая анатомия: учебник / Под ред. В.С. Паукова - 6-е изд., перераб. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2013.
3. Пиголкин, Ю.И. Судебная медицина / Под ред. Ю.И. Пиголкина - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2012.
4. Струков, А.И. Патологическая анатомия : учебник / А. И. Струков, В. В. Серов; под ред. В. С. Паукова. - 6-е изд., перераб. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015.
5. Фиксация в гистохимии / лаборатория экспериментальной патоморфологии . - <http://histopathology.narod.ru/documents/fixation.html>
6. Фиксация гистологического и биопсийного материала / Судебно-медицинская библиотека. - <http://www.forens-med.ru/book.php?id=513>