

ПЕРСПЕКТИВИ ВПРОВАДЖЕННЯ МЕТОДИКИ ДІОКСАНОВОГО ЗНЕВОДНЕННЯ У ПРОЦЕСІ ВИКЛАДАННЯ ГІСТОЛОГІЇ

М.С.Козій, кандидат сільськогосподарських наук
Херсонський державний аграрний університет

У статті висвітлюються методичні аспекти використання інноваційних методів гістологічної техніки у процесі викладання навчальних дисциплін за напрямками підготовки «Водні біоресурси і аквакультура» і «Екологія та охорона навколишнього середовища» для викладачів вищих аграрних закладів.

Постановка проблеми. Однією із важливих запорок успішності формування студентів як майбутніх фахівців є підвищення якості їх практичної підготовки, у тому числі і використання у навчальному процесі новітніх технологій [1-4]. Такий підхід надає змогу отримувати кваліфікованих фахівців, здатних не тільки професійно вирішувати наявні проблеми, але й знаходити сучасні методи їх попередження.

Стан вивчення проблеми. У викладанні цілого ряду навчальних дисциплін за напрямками підготовки “Водні біоресурси та аквакультура” і “Екологія та охорона навколишнього середовища” використовуються стандартні гістологічні препарати, методика виготовлення яких певною мірою застаріла [5]. Треба також відмітити, що якість гістологічних препаратів дуже потерпає від часу – виготовлені наприкінці 70-х років ХХ сторіччя, вони поступово знебарвлюються, що робить дуже складними їх спостереження. Крім цього, перелік навчальних препаратів дуже обмежений, що значно ускладнює формування уявлень про різноманітність гістологічної будови сільськогосподарських тварин, зокрема гідробіонтів.

Завдання і методика досліджень. З метою усунення недоліків і підвищення якості гістологічних зрізів нами було удосконалено методику зневоднення тканин гідробіонтів і ембріонального матеріалу сільськогосподарських тварин за допомогою діетилендіоксиду (діоксану) із наступним заливан-

ням тканин в парафін [4] на базі вже існуючого способу ацетонового зневоднювання [2]. У порівнянні з прототипом, запропонований спосіб має схожість у тому, що товщина шматочку гістологічного об'єкта також зменшена в 4-7 разів (до 1,0-1,5 мм). Це значно підвищує подальше просочення тканин парафіновою сумішшю, що дозволяє більш докладно простежити структурні елементи окремих органів та тканин у процесі виготовлення мікроскопічного препарату. Треба зазначити, що запропонована методика дозволяє виключити додаткове промивання гістологічного матеріалу безпосередньо перед зануренням у парафінову суміш. Такий підхід скорочує процес гістологічної обробки тканин і дозволяє забезпечити досліджуваному матеріалу найкраще збереження.

Керуючись викладеним, запропоновану методику виготовлення гістологічних препаратів представлено в таблиці.

Таблиця

Результати заливки в парафін гістологічних об'єктів

Технологічна операція	Тривалість режиму, хв.			Характеристика пошкоджень гістооб'єкту у досліджуваних режимах		
	1	2	3	1	2	3
1	2	3	4	5	6	7
Товщина гістологічного об'єкту менше 0,5 мм						
Перше зневоднення діоксаном	20	30	40	Структури тканин зморщуються	Структури тканин зморщуються	Структури тканин зморщуються
Друге зневоднення діоксаном	10	20	30	Структури тканин зморщуються	Структури тканин зморщуються	Структури тканин зморщуються
Перше занурення в парафін	20	30	40	Структури тканин зморщуються	Структури тканин зморщуються	Структури тканин зморщуються
Друге занурення в парафін	20	30	40	Структури тканин зморщуються	Структури тканин зморщуються	Структури тканин зморщуються
Товщина гістологічного об'єкту 1,0-1,5 мм						
Перше зневоднення діоксаном	20	30	40	Менша ступінь зневоднення	Пошкоджень не спостерігається	Структури тканин зморщуються

Продовження таблиці						
1	2	3	4	5	6	7
Друге зневоднення діоксаном	10	20	30	Зневоднення незадовільне	Пошкоджень не спостерігається	Структури тканин зморщуються
Перше занурення в парафін	20	30	40	Парафін незадовільно заміщує діоксан	Пошкоджень не спостерігається	Структури тканин зморщуються
Друге занурення в парафін	20	30	40	Парафін незадовільно заміщує діоксан	Пошкоджень не спостерігається	Структури тканин зморщуються
Товщина гістологічного об'єкту - 2,0 і більше мм						
Перше зневоднення діоксаном	20	30	40	Менший ступінь зневоднення	Менший ступінь зневоднення	Менший ступінь зневоднення
Друге зневоднення діоксаном	10	20	30	Зневоднення незадовільне	Зневоднення незадовільне	Зневоднення незадовільне
Перше занурення в парафін	20	30	40	Парафін незадовільно заміщує діоксан	Зневоднення незадовільне	Зневоднення незадовільне
Друге занурення в парафін	20	30	40	Парафін незадовільно заміщує діоксан	Парафін незадовільно заміщує діоксан	Парафін незадовільно заміщує діоксан

Примітка: У даному випадку немає необхідності у використанні інтер-медиатора (проміжної ланки між парафіном і діоксаном), тому що діоксан сам є розчинником парафіну.

Як свідчать дані таблиці, у випадку зміни експозиції витримки об'єкта в діоксані (режим №1) він менше зневоднюється і стає непридатним для подальшого проникнення парафіном. Обробляти гістологічні об'єкти товщиною більше 2 мм вищевказаним способом також недоцільно: за малий проміжок часу проведення через діоксан у ньому не відбувається достатнього зневоднення і наступного заміщення парафіном. Обробляти гістологічні об'єкти товщиною менше 0,5 мм немає сенсу, тому що проведення через діоксан і занурення в парафін

занадто тонких фрагментів викликає швидке зморщування тканини. Таким чином, найбільш доцільно обробляти гістологічні об'єкти товщиною **1,0-1,5** мм відповідно до режиму №2.

Поряд з перевагами спосіб має певні недоліки, які стримують використання методики у навчальному процесі. Він практично не може бути використаний для обробки гістологічних об'єктів, багатих щільною сполучною тканиною (кістки, сухожилля, зв'язки). Усунути цей недолік (хоча і частково) можливо зміною ступеня пластичності парафіну. Це значною мірою сприяє збереженню тканин при їх різанні на кутовому мікротомі [1].

Висновки. При порівнянні з прототипом [2, 3, 5] пропонуваній спосіб має наступні переваги:

- тривалість операцій зменшилася в **14** разів;
- витрати реактивів зменшуються в **16** разів;
- значно спрощується процес гістологічної обробки.

Найбільш істотною перевагою даного способу є його придатність у відношенні клітин і тканин, багатих жовтком: проникнення жовточних гранул парафіном дає цілком задовільний результат.

ЛІТЕРАТУРА

1. Пат. на винахід № 50266 А. Мікротом. / Козій М.С.; заявник та патентоволодар Херсонського держ. агр. унів-ту. — опубл. 15.10.2002, Бюл. №10.
2. Пат. на винахід № 64288 А. Спосіб заключення в парафін гістологічних об'єктів з фіксованою товщиною. / Козій М.С.; заявник та патентоволодар Херсонського держ. агр. унів-ту. — опубл. 16.02.2004, Бюл. №2.
3. Пат. на корисну модель №15588. Спосіб комбінованного залиття тканин гідробіонтів. / Козій М.С., Шерман І.М., Корнієнко В.О. та ін.; заявники та патентоволодарі Херсонського держ. агр. унів-ту. — опубл. 17.07. 2006, Бюл. №7.
4. Пат. на корисну модель №26010 Спосіб одержання заливного парафіну. / Козій М.С., Ляшенко Є.В.; заявники та патентоволодарі Херсонського держ. агр. унів-ту. — опубл. 27.08.2007, Бюл. №8.
5. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия / Лилли Р. — М.: Мир, 1969. — С. 15—180.