



FEDERÁLNÍ ÚŘAD
PRO VYNÁLEZY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVEDČENIU

268 592

(11)

(13) B1

(51) Int. Cl.⁴
G 01 N 1/30

(21) PV 592-88.P

(22) Prihlášené 01 02 88

(40) Zverejnené 14 08 89

(45) Vydané 31 07 90

(75)

Autor vynálezu

TOTOVÁ KATARÍNA, GALANTA

(54)

Spôsob znázornenia hlienu v parafínových
rezoch

(57) Riešenie sa týka spôsobu znázorne-
nia hlienu v obore histologickej techní-
ky, ktorá rôznymi farbiacimi metódami
znázorňuje biologické štruktúry v živých
i neživých objektoch v rámci medicíny a
prírodných vied. Účelom riešenia je do-
kázať prítomnosť hlienu v biologickom
materiáli. Podstatou riešenia je ofarbe-
nie hlienu v parafínových rezoch v prvej
fáze pomocou kyslých farbív trifenyl-
methanovej skupiny, v druhej fáze farbí-
vom oranže G a kyseliny fosfowolfrámo-
vej, ktorá vyzráža hlien a v tretej fáze
sa farbí pomocou farbív xanthenových.
Spôsob znázornenia hlienu a hlienovitých
látok v parafínových rezoch uvedenou me-
tódou má možnosť použitia v biopтической
a nekroptickej praxi a pri histologickej
výučbe študentov medicíny.

Vynález rieši farebné znázornenie hlienu v parafinových rezoch.

Na dôkaz hlienu a hlienovitých látok sa v patológii doposiaľ používali jednak metódy empirické ako napr. farbenie mucikarmínom a mukhemateínom. Tieto metódy sa však pre svoju nešpecifickosť postupne nahradili nasledovnými histochemickými metódami. Polysacharidy sa dokazujú metódou PAS /Periodic Acid Schiff/, pri ktorej oxidáciou polysacharidov vznikajú dialdehydy, ktoré reagujú so Schiffovou regenciou za vzniku červeno-fialového sfarbenia. Ďalšia metóda využíva schopnosť kyslých skupín glykoproteínov elektrostaticky viazať koloidný roztok trojmocného železa. Takto viazané železo reaguje ďalej s roztokom ferrokyanidu draselného za vzniku nerozpustnej berlínskej modrej. K ďalším metódam patrí farbenie alcianovou modrou, ktorá je básičným farbivom ftalocyanínového typu s komplexne viazaným atómom meďi a tiež metóda metachromatickej reakcie s toluidínovou modrou. Okrem týchto najznámejších metód existujú ešte ďalšie ale väčšinou sú to modifikácie týchto už spomínaných histochemických metodík.

Podstatou vynálezu je znázornenie hlienu v parafinových rezoch na bázi postupného odparafinovania rezu obsahujúceho hlien v organických rozpúšťadlách klesajúcej koncentrácie s následným znázornením histologickými farbivami tým spôsobom, že odparafinovaný rez sa ponechá v destilovanej vode po dobu 3 až 5 min a za tým preparát zbavíme vody tým spôsobom, že ho necháme voľne vysušiť na vzduchu po dobu 24 hodín pri laboratórnej teplote. Vysušený rez sa potom farbí v troch za sebou nasledujúcich fázach. V prvej fázi sa farbí farbiacím roztokom obsahujúcim kyslé farbivá trifenylmethanovej skupiny a to 1,5 až 2,5 g Fast Green FCF, 50 g destilovanej vody, 50 g 96 % alkoholu a 3,5 až 4,5 g kyseliny fosfowolfrámovej po dobu 5 až 15 min. Po ofarbení sa rez opláchnie vo vodovodnej vode a v druhej fáze sa farbí roztokom skladajúcim sa z 3 až 5 g kyseliny fosfowolfrámovej a z 0,5 až 1 g oranže G rozpustenej v 100 g destilovanej vody, ktorým sa hlien zráža 2 až 3 s a po opláchnutí rezu vo vodovodnej vode sa v tretej fáze farbí farbiacím roztokom skladajúcim sa z 0,25 až 0,5 g xanthenových farbív rozpustených v 100 g destilovanej vody po dobu 1 až 2 s a za tým sa rez opláchnie vo vodovodnej vode, nechá voľne uschnúť na vzduchu a namočí sa do xylénu, kde sa ponechá po dobu 5 až 10 min. Za tým sa rez prevrství médium, napríklad kanadským balzámom rozpustným v xyléne.

Výhoda vynálezu spočíva v značnej časovej úspore voči predchádzajúcim spôsobom farbenia, rýchla a nenáročná príprava farbiacich roztokov, dlhodobá trvanlivosť ofarbených preparátov, dobrý farebný kontrast a táto metóda prispieva k ďalšiemu objasňovaniu vlastností hlienu a hlienovitých látok.

Príklad prevedenia

Ako materiál obsahujúci hlien sa použije excízia z ľudskej slinnej žľazy glandula submandibuláris, ktorá sa fixuje 4 % formaldehydom. Z parafinového rezu sa odstráni parafín pomocou organických rozpúšťadiel klesajúcej koncentrácie a ponechá sa v destilovanej vode po dobu 2 až 3 min. Za tým zbavíme preparát vody tým spôsobom, že ho necháme voľne vysušiť na vzduchu po dobu 24 hodín pri laboratórnej teplote. Vysušený rez sa potom farbí v troch za sebou nasledujúcich fázach. V prvej fázi sa ponorí do sklenenej kyvety obsahujúcej farbiaci roztok skladajúci sa z 1,5 až 2,5 g Fast Green FCF, 50 g destilovanej vody, 50 g 96 % alkoholu a z 3,5 až 4,5 g kyseliny fosfowolfrámovej po dobu 5 až 15 min. Po ofarbení sa rez opláchnie vo vodovodnej vode a ponorí do ďalšej kyvety obsahujúcej farbiaci roztok pozostávajúci z 3 až 5 g kyseliny fosfowolfrámovej a z 0,5 až 1 g oranže G rozpustenej v 100 g destilovanej vody po dobu 2 až 3 sec. Po uvedenej dobe sa vykoná dôkladný, ale nie dlhý oplach vo vodovodnej vode a rez sa ponorí do ďalšej kyvety obsahujúcej farbiaci roztok, ktorý pozostáva z 0,5 g Pyronínu G rozpusteného v 100 g destilovanej vode, kde sa farbí po dobu 1 až 2 sec. Znova sa vykoná krátky oplach vo vodovodnej vode a nechá sa rez voľne usušiť na vzduchu. Po jeho

zaschnutí sa ponorí do kyvety obsahujúcej xylén, ponechá sa po dobu 5 až 10 min v nej a ďalej sa zakrýva do médií rozpustných v xyléne. Výsledok farbenia je nasledovný: hlienové mucinózne tubuly slinných žliaz sú výraznej ružovofialovej farby na zelenom pozadí. Dobré výsledky sú aj pri ofarbení tráviacej a dýchacej sústavy.

Spôsob znázornenia hlienu a hlienovitých látok v parafinových rezoch uvedenou metódou má možnosť použitia v biopтической a nekroptickej praxi na oddeleniach patológie a pri histologickej výučbe študentov medicíny.

P R E D M E T V Y N Á L E Z U

Spôsob znázornenia hlienu v parafinových rezoch na bázi postupného odparafinovania rezu obsahujúceho hlien v organických rozpúšťadlách klesajúcej koncentrácie a následným znázornením napríklad histologickými farbivami, vyznačujúci sa tým, že odparafinovaný rez sa ponechá v destilovanej vode po dobu 3 až 5 min, za tým sa preparát zbaví vody tým, že sa nechá voľne vysušiť na vzduchu po dobu 24 h pri laboratórnej teplote a za tým sa farbí v troch za sebou nasledujúcich fázach, pričom v prvej fázi sa farbí kyslými trifenylmetanovými farbivami a to 1,5 až 2,5 g Fast Green FCF, 50 g destilovanej vody, 50 g 96 % alkoholu a 3,5 až 4,5 g kyseliny fosfowolfrámovej po dobu 5 až 15 min, za tým po opláchnutí vodou farbí sa v druhej fázi roztokom skladajúcim sa z 3 až 5 g kyseliny fosfowolfrámovej a z 0,5 až 1 g oranže G rozpustenej v 100 g destilovanej vody, ktorým sa hlien zráža po dobu 2 až 3 s a po opláchnutí rezu vo vode sa v tretej fáze farbí farbivým roztokom skladajúcim sa z 0,25 až 0,5 g xanthenových farbív rozpustených v 100 g destilovanej vody, po 1 až 2 s farbenia sa rez opláchnie vodou, nechá voľne uschnúť na vzduchu, ponorí sa do xylénu na 5 až 10 min. za tým sa prevrství médiom napríklad kanadským balzámom rozpustným v xyléne.