

УДК 611.08:57.086.145:547.21

[https://doi.org/10.52058/2786-4952-2025-7\(53\)-2098-2104](https://doi.org/10.52058/2786-4952-2025-7(53)-2098-2104)

Рихлік Світлана Василівна кандидат медичних наук, доцент, Харківський національний медичний університет, м. Харків, тел.: (066) 062-54-18, [ehttps://orcid.org/0009-0007-7794-7680](https://orcid.org/0009-0007-7794-7680)

Панасенко В'ячеслав Олексійович старший викладач, Харківський національний медичний університет, м. Харків, тел.: (097) 679-40-49, <https://orcid.org/0000-0002-2803-7994>

ВПЛИВ ТЕМПЕРАТУРНИХ ПАРАМЕТРІВ ПАРАФІНОВОЇ ІНФІЛЬТРАЦІЇ НА МОРФОЛОГІЧНУ ЗБЕРЕЖЕНІСТЬ ЗАЛОЗИСТИХ ТКАНИН

Анотація. Останні роки характеризуються зростанням наукового інтересу до вивчення впливу різних фізико-хімічних факторів на зразки біологічного матеріалу під час виготовлення гістологічних препаратів.

Парафінове заливання (інфільтрація) є одним з важливих етапів у виготовленні гістологічних препаратів різних тканин, зокрема залозистого матеріалу. Залозисті тканини, в тому числі підшлункова й щитоподібна залози, мають специфічну мікроскопічну структуру і високу секреторну активність, що робить їх особливо чутливими до температурних коливань під час процесу парафінової інфільтрації.

У статті висвітлено вплив підвищених температур парафіну під час парафінової інфільтрації на морфологічну збереженість залозистих тканин, які відзначаються високою чутливістю до будь якого термічного впливу.

В цьому дослідженні були використані гістологічні препарати, які були взяті з архіву гістологічної лабораторії кафедри гістології, цитології та ембріології Харківського національного медичного університету. Гістологічні препарати були виготовлені із зразків підшлункової та щитоподібної залоз, отриманих від лабораторних тварин (щурів).

Метою дослідження було визначення оптимального температурного режиму заливання парафіном, що дозволяє зберегти клітинну архітектоніку, секреторні елементи та якість гістологічних препаратів.

Біологічний матеріал було поділено на три групи відповідно до температури парафіну, яка використовувалася під час парафінової інфільтрації в процесі виготовлення гістологічного препарату (56°C, 60°C, 65°C).

Результати проведеного морфологічного аналізу свідчать про те, що температура парафіну понад 58°C викликає значні артефакти: руйнування клітинних структур, зменшення кількості секреторних гранул, погіршення

забарвлення. Найбільш виражені ушкодження виявлені у підшлунковій залозі при температурі парафіну 65°C. Результати цього дослідження мають значення для вдосконалення стандартів виготовлення гістологічних препаратів та підвищення точності морфологічної діагностики.

Ключові слова: парафінова інфільтрація, залозиста тканина, гістологія, морфологічна збереженість, термічне пошкодження, підшлункова залоза, щитовидна залоза, температура заливання, якість діагностики.

Rykhlik Svitlana Vasylivna Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Kharkiv National Medical University, Kharkiv, tel.: (066) 062-54-18, <https://orcid.org/0009-0007-7794-7680>

Panasenko Viacheslav Oleksiiovych senior lecturer, Kharkiv National Medical University, Kharkiv, tel.: (097) 679-40-49, <https://orcid.org/0000-0002-2803-7994>

INFLUENCE OF TEMPERATURE PARAMETERS OF PARAFFIN INFILTRATION ON THE MORPHOLOGICAL PRESERVATION OF GLAND TISSUES

Abstract. Recent years show an increase in scientific interest in studying the effects of various physicochemical factors on biological material samples during the manufacture of histological preparations.

Paraffin embedding (infiltration) is one of the most important stages in the preparation of histological slides of various tissues, including glandular material. Glandular tissues, involving the pancreas and thyroid gland, have a specific microscopic structure and high secretory activity, which makes them strongly sensitive to temperature fluctuations during the paraffin infiltration process.

The article highlights the effect of elevated paraffin temperatures during paraffin infiltration on the morphological preservation of glandular tissues, which are highly sensitive to any thermal effects.

In this study, we used histological slides taken from the archive of the histological laboratory of the Department of Histology, Cytology and Embryology of Kharkiv National Medical University. The histological slides were made from samples of the pancreas and thyroid glands obtained from laboratory animals (rats).

The aim of the study was to determine the optimal temperature regime for paraffin embedding, which allows preserving cellular architecture, secretory elements and the quality of histological specimens.

The biological material was divided into three groups according to the paraffin temperature used during paraffin infiltration in the process of histological preparation (56°C, 60°C, 65°C).

The results of the morphological analysis indicate that paraffin temperature above 58°C causes significant artefacts: destruction of cellular structures, reduction in

the number of secretory granules, and deterioration of colour. The most pronounced damage was found in the pancreas at a paraffin temperature of 65°C. The results of this study are important for improving the standards of manufacturing histological specimens and increasing the accuracy of morphological diagnosis.

Keywords: paraffin infiltration, glandular tissue, histology, morphological preservation, thermal damage, pancreas, thyroid gland, tissue processing, embedding temperature, diagnostic quality.

Постановка проблеми. Висока якість гістологічних препаратів визначається не лише чітким дотриманням стандартних методик виготовлення цих препаратів, але й оптимальним температурним впливом на зразки біологічного матеріалу, що дозволяє зберегти морфологічні особливості тканин, клітинну архітектоніку та внутрішньоклітинні структури.

Парафінове заливання є одним з важливих етапів у виготовленні гістологічних препаратів різних тканин, зокрема залозистого матеріалу.

Саме на цьому етапі вже формується кінцева якість гістологічного препарату, від якої залежить можливість якісного морфологічного аналізу. Залозисті тканини, зокрема підшлункова й щитоподібна залози, мають специфічну мікроскопічну структуру і високу секреторну активність, що робить їх особливо чутливими до температурних коливань під час процесу парафінової інфільтрації.

В клініко-лабораторній практиці часто використовується методика заливання в парафін підвищеної температури, до 65 °С. При цьому знижується в'язкість парафіну, що сприяє більш кращому його проникненню всередину зразка, тобто підвищується просочення тканинного матеріалу. Але надмірне нагрівання парафіну може призводити до денатурації білків, втрати секреторних гранул, порушення цілісності клітинних мембран і загального погіршення морфологічної збереженості матеріалу. Це, у свою чергу, значно ускладнює морфологічну діагностику, знижує точність визначення патологічних змін, а в деяких випадках робить морфологічний діагноз неможливим.

Температурний режим під час парафінової інфільтрації часто встановлюється без врахування особливостей того чи іншого виду тканини. Враховуючи, що залозисті тканини мають високу біохімічну активність, високу щільність васкуляризації та інтенсивну секреторну функцію, вони особливо вразливі до різних порушень температурного режиму їхньої обробки. Актуальність вивчення впливу підвищеної температури заливального парафіну під час парафінової інфільтрації залозистих тканин полягає у необхідності вдосконалення методичних підходів до обробки таких зразків з метою збереження їх діагностичної цінності.

З огляду на вищезазначене, оптимізація вибору температури парафіну на етапі парафінової інфільтрації повинна розглядатися як один із ключових напрямів підвищення якості виготовлення гістологічних препаратів. Зокрема, необхідно визначити межі температур парафіну, при яких зберігаються

морфологічні характеристики залозистих тканин без значної втрати клітинних елементів та субклітинних структур. Водночас, недостатнє прогрівання парафіну може призвести до неповної інфільтрації тканини, що також негативно позначиться на якості зрізів, ускладнить їх забарвлення та подальшу мікроскопію.

Таким чином, пошук оптимального балансу між температурною ефективністю парафінової інфільтрації та збереженням морфологічної цілісності залозистих тканин набуває практичного значення. Це передбачає як вдосконалення існуючих протоколів виготовлення гістологічних препаратів, так і розробку нових алгоритмів термічної обробки з урахуванням типу тканини, її функціонального стану та патологічних змін. Результати таких досліджень можуть стати основою для перегляду температурних режимів парафінового заливання гістологічного матеріалу у клініко-діагностичних та у дослідницьких лабораторіях, що сприятиме підвищенню достовірності морфологічних висновків і якості діагностики в цілому.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Останні роки характеризуються зростанням наукового інтересу до вивчення впливу різних фізико-хімічних факторів на зразки біологічного матеріалу під час виготовлення гістологічних препаратів. Значну увагу дослідники приділяють саме температурним параметрам парафінової інфільтрації, зокрема в аспекті їх впливу на чутливі тканини, до яких належать залозисті структури.

Наприклад, автори одного дослідження [1] зазначають, що наявність додаткового водного середовища під час зберігання зразків біологічного матеріалу призводить до часткової втрати антигенних властивостей структурних білків. Наявність додаткової води в зразку може бути наслідком неправильного проведення біологічного матеріалу, зокрема неправильного вибору температурного режиму парафіну під час парафінової інфільтрації.

В іншому дослідженні [2] науковці зазначають, що надмірна температура парафіну під час парафінової інфільтрації біологічного матеріалу призводить до підвищеного ущільнення тканинного об'єкта. В подальшому це призводить до руйнування зрізів, появи тріщин, тощо.

Автори ще одного дослідження [3] зазначають, що використання парафінових компонентів з точкою плавлення біля 45°C в протилежність до парафінів з точкою плавлення 56-60°C супроводжується змінами в якості наступного забарвлення, особливо трикольоровими методами.

В науковому дослідженні, яке було опубліковано у 2019 році [4], особлива увага приділяється саме температурі парафіну під час проведення біологічного матеріалу. Вказано, що навіть незначне перевищення рекомендованих температур негативно позначається на гістологічній якості залозистих тканин і призводить до спотворення морфології.

Автори наступної статті [5] зазначають, що збереженість антигенних детермінант в біологічному матеріалі, який фіксований формаліном с подальшою заливкою в парафін, краще визначається в зразках, де температура парафіну не перевищувала 56°C.

Незважаючи на наявність низки наукових досліджень, узагальнена оцінка впливу саме підвищених температур парафіну на парафінову інфільтрацію залозистого матеріалу досі відсутня. Це створює необхідність у поглибленому дослідженні даного аспекту з метою покращення якості гістологічних препаратів.

Мета статті. Метою статті було дослідити та узагальнити вплив підвищених температур парафіну під час парафінової інфільтрації на морфологічну збереженість залозистих тканин. Визначити оптимальний температурний режим під час парафінової заливки залозистого матеріалу з метою мінімізації артефактів, підвищення точності морфологічного аналізу та забезпечення достовірності діагностичних висновків.

Виклад основного матеріалу. Для досягнення поставленої мети було проведено дослідження із залученням зразків залозистих тканин лабораторних щурів, включаючи щитоподібну залозу, підшлункову залозу. Всі гістологічні препарати, які були виготовлені з цих зразків, взяті з архіву гістологічної лабораторії кафедри гістології, цитології та ембріології Харківського національного медичного університету.

Біологічний матеріал було поділено на три групи відповідно до температури парафіну, яка використовувалася під час парафінової інфільтрації в процесі виготовлення гістологічного препарату. В першу групу увійшли зразки, в процесі проведення яких використовувався заливальний парафін температурою 56°C. Другу групу склали зразки, де використовувався заливальний парафін температурою 60°C. В третю групу увійшли зразки, де використовувався заливальний парафін температурою 65°C. При цьому інші умови (тривалість обробки, тип парафіну, фіксація) були ідентичними для всіх груп.

Далі проводилася морфологічна оцінка отриманих гістологічних зрізів цих зразків, які були забарвлені за стандартною методикою гематоксилином та еозином. Ця оцінка включала визначення збереження цитолем, стану секреторних елементів, хроматину, міжклітинного матриксу та наявності артефактів.

За результатами дослідження, у зразках групи з температурою парафіну 56°C зберігались чіткі контури клітин, добре диференціювались хроматин ядра та цитоплазматичні елементи. Секреторні гранули були присутні у значній кількості. При температурі парафіну 60°C відзначалось легке стирання цитолем, зниження кількості секреторних гранул, деяке злиття клітинного матриксу. Найгірші результати були у групі з температурою парафіну 65°C: руйнування хроматину та нуклеолем, втрата секреторних структур, виражене злиття клітинних меж.

Особливої уваги заслуговує аналіз тканин підшлункової залози. Саме ця тканина виявилась найбільш чутливою до високих температур. При температурі парафіну 65°C спостерігалось повне руйнування ацинарних структур, виражена вакуолізація цитоплазми та руйнування кровоносних судин. Щитоподібна залоза виявилась дещо більш стійкою, однак також показала зміни в ядрах

(гетерохроматин ущільнюється, розпадається на частини) та втрату фолікулярної структури при температурі парафіну 65°C.

Аналіз результатів показав чіткий взаємозв'язок між підвищенням температури парафіну та якістю гістологічного препарату. За температури вище рекомендованих меж спостерігалися ознаки термічної деструкції клітин: зморщування цитоплазми, руйнування ядра, втрата міжклітинних меж і поява вакуолізації.

Можна зазначити, що ми рекомендуємо дотримуватися температури парафіну не вище 58 °C для тканин з високою секреторною активністю, а також впроваджувати додаткові етапи поступового нагрівання та контролю часу перебування зразків у розплавленому парафіні.

Такі заходи дозволяють мінімізувати ризик термічних артефактів та підвищити якість морфологічного, імуногістохімічного та імунологічного аналізу.

Таким чином, результати дослідження мають практичне значення для патоморфологічної лабораторної практики та можуть бути використані як основа для вдосконалення стандартів обробки біопсійного матеріалу, зокрема при роботі з чутливими залозистими тканинами. Це, у свою чергу, сприятиме підвищенню якості діагностики і забезпеченню високої достовірності морфологічних висновків.

Висновки. Отримані результати свідчать, що підвищена температури парафіну під час парафінової інфільтрації залозистого матеріалу значно погіршує кінцеву якість гістологічних препаратів. Перевищення температури парафіну понад 58°C призводить до значної втрати морфологічної цілісності тканин, що особливо критично при діагностиці пухлинних процесів в залозах. Виявлено, що різні типи залозистих тканин мають різну чутливість до перегріву, зокрема тканини підшлункової залози є найвразливішими.

Ми рекомендуємо підтримувати температурний режим парафінової інфільтрації на рівні 56–58°C для збереження максимальної діагностичної цінності зразків. Подальші дослідження мають бути спрямовані на вивчення впливу тривалості експозиції при різних температурах, використання модифікованих парафінів та розробку алгоритмів оптимізації процесу для різних типів тканин.

Проведений аналіз засвідчив, що температурний режим парафінової інфільтрації має суттєвий вплив на морфологічну збереженість залозистого матеріалу. Підвищені температури парафіну, особливо понад 60–62°C, сприяють розвитку низки морфологічних артефактів, зокрема денатурації білків, порушенню цілісності клітинних структур, втраті секреторних гранул та зниженню контрастності гістологічних препаратів. Це негативно впливає на точність морфологічної та імуногістохімічної діагностики.

Окремі типи залозистих тканин, такі як підшлункова та щитоподібна залози, є особливо чутливими до термічних змін. Відповідно, для збереження

діагностичної цінності гістологічних зрізів необхідне індивідуальне регулювання температурного режиму під час парафінізації, орієнтоване на морфофункціональні особливості об'єкта дослідження.

У перспективі доцільно розробити уніфіковані методичні рекомендації щодо температурного контролю при інфільтрації парафіном різних типів тканин, з особливим акцентом на делікатні структури, як-от залозисті тканини.

Таким чином, температурний фактор слід розглядати не лише як технічний параметр, а як критичний компонент методології, що визначає якість, достовірність та діагностичну цінність гістологічного дослідження. Подальші дослідження мають бути спрямовані на емпіричну перевірку оптимальних температур для різних типів залозистої тканини з урахуванням специфіки клінічних завдань.

Література:

1. Factors influencing the degradation of archival formalin-fixed paraffin-embedded tissue sections / R. Xie, J.Y. Chung, K. Ylaya, R.L. Williams, N. Guerrero, N. Nakatsuka et al. // J. of Histochemistry and Cytochemistry. – 2011. – Vol. 59, No. 4. – P. 356–365. doi: 10.1369/0022155411398488.
2. A review of artifacts in histopathology / Syed Ahmed Taqi, Syed Abdus Sami, Lateef Begum Sami, Syed Ahmed Zaki // J. Oral. Maxillofac. Patholjgy. – 2018. – Vol. 22, No. 2. – P. 279. doi: 10.4103/jomfp.JOMFP_125_15.
3. Effects of processing at 45 C on staining / R.T. Allison, D. Bryant // J. Biotech Histochem. – 1998. – Vol. 73, No. 3. – P. 128-136. doi:10.3109/10520299809140518.
4. Making Formalin-Fixed, Paraffin Embedded Blocks / A. Sadeghipour, P. Babaheidarian // J. Methods Mol Biol. – 2019. – Vol. 1897. – P. 253-268. doi:10.1007/978-1-4939-8935-5_22.
5. Antigen retrieval immunohistochemistry: past, present, and future / S.R. Shi, R.J. Cote, C.R. Taylor // J. of Histochemistry and Cytochemistry. – 1991. – Vol. 45, No. 3. – P. 327–343. doi: 10.1177/002215549704500301.

References:

1. Factors influencing the degradation of archival formalin-fixed paraffin-embedded tissue sections / R. Xie, J.Y. Chung, K. Ylaya, R.L. Williams, N. Guerrero, N. Nakatsuka et al. // J. of Histochemistry and Cytochemistry. – 2011. – Vol. 59, No. 4. – P. 356–365. doi: 10.1369/0022155411398488.
2. A review of artifacts in histopathology / Syed Ahmed Taqi, Syed Abdus Sami, Lateef Begum Sami, Syed Ahmed Zaki // J. Oral. Maxillofac. Patholjgy. – 2018. – Vol. 22, No. 2. – P. 279. doi: 10.4103/jomfp.JOMFP_125_15.
3. Effects of processing at 45 C on staining / R.T. Allison, D. Bryant // J. Biotech Histochem. – 1998. – Vol. 73, No. 3. – P. 128-136. doi:10.3109/10520299809140518.
4. Making Formalin-Fixed, Paraffin Embedded Blocks / A. Sadeghipour, P. Babaheidarian // J. Methods Mol Biol. – 2019. – Vol. 1897. – P. 253-268. doi:10.1007/978-1-4939-8935-5_22.
5. Antigen retrieval immunohistochemistry: past, present, and future / S.R. Shi, R.J. Cote, C.R. Taylor // J. of Histochemistry and Cytochemistry. – 1991. – Vol. 45, No. 3. – P. 327–343. doi: 10.1177/002215549704500301.