

ИЗГОТОВЛЕНИЯ МУЗЕЙНЫХ ПРЕПАРАТОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Шиян Д.Н., Коробова Л.К., Шиян В.В., Чистяк Ю.Н.

Харьковский национальный медицинский университет

Харьков, Украина

Юлия Николаевна

MUSEUM OF MANUFACTURING PREPARATIONS OF BRAIN

Shiyan D.N., Korobova L.K., Shiyan V.V., Chistyak Yu.N.

Харьковский национальный медицинский университет

Харьков, Украина

Общие принципы изготовления музейных препаратов головного мозга.

В работе медицинских учебных и научно-исследовательских учреждений существенное значение имеет изготовление музейных препаратов для демонстрационных и учебных целей. Музейные препараты головного мозга чаще готовят из отдельных пластин, разрезанных в анатомических плоскостях, исходя из соображений наибольшей демонстративности. Для сохранения внешнего вида объектов первым этапом является их фиксация в различных фиксирующих смесях, из которых наиболее простыми являются растворы формалина различной концентрации. Фиксация имеет целью закрепление тканевых структур в том состоянии, в каком они находились в момент погружения объекта в фиксирующую жидкость, и предохранение их от дальнейшего разрушения. Растворы формалина глубоко проникают в ткани и поэтому могут применяться для фиксации довольно крупных объектов, однако, при длительном хранении в растворах формалина (для музейных препаратов – годами) органы приобретают большую плотность и принимают однотонную грязновато-серую окраску. Это особенно резко проявляется на препаратах головного мозга, поэтому для музейных препаратов, которые хранятся годами, прибегают к их окрашиванию, что дает достаточную наглядность строения определенных структур, таких как чечевидное тело, ядра головного мозга, корковый слой и другие.

Актуальность цели окрашивания пластин головного мозга заключается и в том, что помимо анатомических музейных препаратов, срезы головного мозга используются также в качестве учебно-прикладного материала. И, будучи выцветшими, однотонными и недемонстративными, как правило, не представляют интереса как музейные препараты, а также не могут быть использованы и в качестве учебно-прикладного материала.

В методах окрашивания срезов мозга для музейных препаратов по Синельникову Р.Д., «Способ изготовления препаратов по топографии серого и белого вещества ЦНС», Тр. Укр.

Психоневрологического института, 1943 г., т. 13, стр. 202-204; Масловский С.Ю. Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук, «Макромикроскопическая анатомия промежуточного мозга детей и подростков», стр. 25, Харьков, 1984 г., УДК 611.814.7, основными действующими компонентами являются: желтая кровяная соль $K_4[Fe(CN)_6] \times 3H_2O$ (гексацианоферрат (II) калия) и хлорное железо $FeCl_3$, что, по замечаниям тех же авторов, не всегда приводит к хорошим результатам.

Желтая кровяная соль $K_4[Fe(CN)_6] \times 3H_2O$ представляет собой кристаллы в виде больших светло-желтых призм, она растворима в воде и является чувствительным реактивом на ионы трехвалентного железа, т.е. хлорного железа $FeCl_3$, на чем и основано окрашивание пластин мозговой ткани у вышеуказанных авторов.

Хлорное железо $FeCl_3$ в чистом виде представляет собой темно-коричневые кристаллы с зеленоватым отливом, которые настолько сильно гигроскопичны, что, поглощая влагу из воздуха, превращаются в кристаллогидраты, содержащие различное количество воды и расплывающиеся на воздухе. В таком виде хлорное железо $FeCl_3$ представляет собой тяжелое полужидкое вещество бурого цвета, практически не дающее возможности приготовления раствора конкретной, четко определенной концентрации. В водных растворах $FeCl_3$ гидролизует до гидроксида железа $Fe(OH)_3$, частично выпадая в осадок красноватого цвета. Все эти факторы и являются причиной неудовлетворительных результатов окрашивания.

Характеристика предлагаемого метода окрашивания срезов головного мозга для музейных препаратов.

Авторами разработан оригинальный и технически достаточно простой метод окраски пластин головного мозга для музейных препаратов не использующий хлорное железо и желтую кровяную соль, но при этом дающий всегда хороший результат.

Предлагаемый метод окраски основан на том, что гексацианоферрат (III) калия ($K_3[Fe(CN)_6]$), или красная кровяная соль, при взаимодействии с солями двухвалентного железа (которые часто применяются как восстановители) окисляется, образуя при этом соединение характерного ярко-синего цвета, так называемую турбулеву синь, которая окрашивает корковый слой, чечевидное тело и ядра головного мозга в синий цвет с четко определяющимися границами каждой структуры, белая субстанция мозга при этом остается неокрашенной. В качестве соли двухвалентного железа авторами использован кристаллогидрат сульфата железа $FeSO_4 \times 7H_2O$, или железный купорос, представляющий собой кристаллы светло-зеленого цвета, хорошо растворимые в воде при комнатной температуре и имеющие широкое применение во многих отраслях народного хозяйства.

Красная кровяная кровь $K_3[Fe(CN)_6]$ представляет собой красные безводные кристаллы, также легко растворяющиеся в воде при комнатной температуре.

III. Метод окраски срезов мозга для музейных препаратов

1. Пластины мозга толщиной 3 - 5 мм, со снятой мягкой мозговой оболочкой, фиксируют в 10 % растворе формалина 1 - 2 дня.
2. Готовят 1 % раствор красной кровяной соли $K_3[Fe(CN)_6]$, растворение ведут при комнатной температуре.
3. Готовят 1 % раствор железного купороса $FeSO_4 \times 7H_2O$, растворяют при комнатной температуре.
4. Готовят 0,5 % раствор медного купороса $CuSO_4 \times 5H_2O$, подогревают раствор на водяной бане до $50^\circ C - 55^\circ C$, добавляют в него 40 мл фенола, предварительно расплавленного на водяной бане и 2 - 3 капли концентрированной HCl .

Все растворы готовят ex tempore, объемы растворов варьируются в зависимости от площади окрашиваемой пластины мозга, так, чтобы при погружении в раствор, пластина была покрыта раствором полностью

5. Срез мозга после фиксации промывают водопроводной водой и погружают в теплый ($50^\circ C - 55^\circ C$) раствор медного купороса на 1 - 2 минуты.
6. Смывают остатки раствора водопроводной водой и перекладывают в раствор железного купороса на 2 - 3 минуты.
7. Промывают водопроводной водой и перекладывают в раствор красной кровяной соли до получения нужной окраски (5 - 10 минут).
8. После окраски препарат промывают водопроводной водой и дифференцируют 5 % раствором аммиака.

Результат: Коровый слой и чечевидное тело окрашивается в синевато-голубой или голубой цвет в зависимости от времени дифференцировки, ядра головного мозга приобретают серовато-голубой цвет с четко определяющимися границами более темного цвета. Белая субстанция мозга остается неокрашенной.

Хранение: Сохраняют по общим правилам хранения музейных препаратов.

Макромикроскопические особенности методов окраски головного мозга.

Разрез головного мозга в горизонтальной плоскости:

Метод окраски №1 (по Р.Д. Синельникову). Результат: кора головного мозга ярко оранжевого цвета (должна быть синего), белое вещество головного мозга желтовато-оранжевого цвета. Граница коры и белого вещества головного мозга слабо дифференцирована и не резко выражена. Кора головного мозга окрашена не равномерно, при, даже, не значительной дифференцировке (просветлении) теряет цвет. На данном срезе определяются базальные ядра головного мозга, ярко оранжевого цвета (должны быть синего), соответственно коре головного мозга. Граница ядер и белого вещества головного мозга не отчетлива, расплывчата, что затрудняет их дифференцировку, также не достаточно точно определяется форма и размеры данных ядер. Образования чечевицеобразного ядра не различимы и не дифференцируются друг с другом. Через две недели после хранения данного препарата в 10% формалине окраска потускнела, кора головного мозга, как и базальные ядра, стали практически одного цвета с веществом головного мозга, на дне сосуда выпал желтоватый осадок, раствор формалина стал менее прозрачным.

Метод окраски № 2 (Д.Н. Шиян, Л.К. Коробова, В.М. Лупырь). Результат: кора головного мозга окрашена в иссиня черный цвет, базальные ядра насыщенного темно-синего цвета, вещество головного мозга не окрашивается и остается беловатым. Граница коры головного мозга с белым веществом отчетлива. Возможно более точно установить толщину коры головного мозга. При дифференцировке (просветлении) определяется исчерченность коры головного мозга и подкорковых структур, что способствует более точной детализации образований коры и подкорковых структур. Сами базальные ядра также отчетливо контурируют с белым веществом головного мозга. Их образования отчетливо дифференцируются друг от друга. Образования чечевицеобразного ядра имеют разный оттенок цвета, четкие границы с белым веществом головного мозга, благодаря чему представляется возможным наиболее точная и вероятная детализация их формы и размеров. Скорлупа чечевицеобразного ядра имеет более темную окраску, бледный шар и ограда – более светлую, что подтверждается их макромикроскопическим строением и характерно для свежего, не фиксированного и не окрашенного среза головного мозга. Таким образом, сохраняется естественная дифференцировка как базальных ядер, так и их структур. Данный препарат хранился в 10% формалине более 1 месяца. Ни каких недостатков данного метода окраски, будь то помутнение раствора, выпадение осадка, неустойчивость окраски, нарушение анатомических структур мы не наблюдали.

Серия разрезов головного мозга во фронтальной плоскости.

Метод окраски №1 (по Р.Д. Синельникову). Результат: кора головного мозга светло синеватого цвета, белое вещество головного мозга светло бирюзового цвета. Граница коры и белого вещества головного мозга слабо дифференцирована и не резко выражена. Кора головного мозга окрашена не равномерно, при дифференцировке (просветлении) местами теряет цвет окраски. На данных срезах определяются базальные ядра, сосцевидные тела, хвостатое ядро, таламус и т.д. светло синего цвета, соответственно коре головного мозга. Граница подкорковых (субкортикальных) образований и белого вещества головного мозга не отчетлива, расплывчата, что затрудняет их дифференцировку, также не достаточно точно определяется их форма и размеры. Частично структура некоторых субкортикальных образований дифференцируется, однако, наиболее близ лежащие друг к другу не различимы и не дифференцируются, представляют собой единое целое, что не соответствует их анатомическому строению. Через 1 месяц после хранения данных препаратов в 10% формалине окраска стала еще менее насыщенной, местами потускнела, местами исчезла вовсе, кора головного мозга, как и некоторые ядра, приобрели не характерную им исчерченность, в некоторых местах кора утратила характерную ей слоистость и топографоанатомическую структурность, вплоть до расслаивания (на наш взгляд из-за обработки срезов головного мозга на водяной бане). В сосудах и на препаратах осадка не обнаруживалось, однако в некоторых емкостях раствор формалина стал менее прозрачным.

Метод окраски № 2 (Д.Н. Шиян, Л.К. Коробова, В.М. Лупырь). Результат: кора головного мозга окрашена в иссиня черный или темно синий цвет, все подкорковые образования, располагающиеся в белом веществе головного мозга, насыщенного темно-синего цвета, вещество головного мозга не окрашивается и остается беловатым или серовато-белесым. Граница коры головного мозга с белым веществом отчетлива, что делает возможным более точно установить толщину коры головного мозга. При дифференцировке (просветлении) определяется исчерченность и характерная анатомическая слоистость коры головного мозга и подкорковых структур, что способствует более точной детализации образований коры и подкорковых структур. Сами ядра также отчетливо контурируют с белым веществом головного мозга. Их образования и структуры отчетливо дифференцируются друг от друга. Структуры ядер и других подкорковых образований имеют разный оттенок синего цвета, благодаря чему становится возможным наиболее точная детализация их формы и размеров. Сохраняется естественная дифференцировка и структурность коры головного мозга, всех ядер, их частей и образований. На ряде срезов определялись окрашенные в светло синеватый цвет волокна некоторых проводящих путей головного мозга, имеющие связь с ядрами и подкорковыми структурами головного мозга. Причем ряд таких волокон, входя в ядра головного мозга принимали более светлую окраску, что делает их дифференцировку более

успешной. Данные препараты хранились в 10% формалине более 1 месяца. Недостатков в данном методе мы не наблюдали (будь то помутнение раствора, выпадение осадка, неустойчивость окраски, нарушение анатомических структур).