
ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

УДК 616–091. 8

НОВІ ПРИНЦИПИ МІКРОТОМІЇ ТКАНИН ГІДРОБІОНТІВ: ШЛЯХИ ПОШУКУ І АЛЬТЕРНАТИВНІ РІШЕННЯ

М.С. Козій, І.М. Шерман

Херсонський державний аграрний університет

Наведені дані теоретичного обґрунтування альтернативного методу мікротомування тканин гідробіонтів. Показана доцільність комплексного використання кутового методу різання та аркового прийому гістологічних об'єктів. Порушено питання подальшого впровадження аркового мікротома в дослідницьку практику з метою вивчення особливостей гістологічної будови риб.

Традиційний принцип, який був покладений в основу дії більшості мікротомів, полягає в тому, що процес різання здійснюється рухом об'єкту на ніж, або навпаки, у напрямі лінії вістря із швидкістю 1–2 м/сек. Порівняно недавно для вирішення проблеми різання м'яких тканин в мікротомії почали використовувати нові принципи роботи: в даний час в практику мікроскопічних досліджень упроваджується ряд нових приладів і механічних пристосувань. Проте, на жаль, не існує серійного випуску нових моделей мікротомів, також недостатньо освітлено питання про пристрій перспективних моделей, принципи їх роботи і можливі сфери їх застосування. З метою вирішення існуючої проблеми, наприкінці 20-го сторіччя були застосовані нові методи різання тканин, які багаті водою і жовтком. Один з них полягає в тому, що для отримання зрізів був використаний надшвидкісний режим різання [4, 5], при якому на приладі виходили зрізи товщиною 12,0–15,0 мк. Проте такий спосіб пов'язаний з великим ударним навантаженням на об'єкт.

При аналогічному методі різання, запропоновано додатково ущільнювати об'єкт заливкою в 7%-й агар, виключаючи подальше заморожування на криостаті. Це дозволило отримати деяку рівномірність товщини зрізів, проте при цьому їх товщина залишалася досить високою — від 20,0 до 160,0 мк [6–8].

Особливий інтерес для мікротомії тканин гідробіонтів представляє використання принципу вібрації ножа в процесі різання уздовж лінії вістря [1]. Є також повідомлення про створення пізніше оригінальних конструкцій “Oxford Vibrotom” [6]. Товщина зрізів від 10,0 мк і вище, проте, рівномірність товщини незадовільна унаслідок недосконалості конструкції утримувача ножа і об'єкту різання. Вперше ці недоліки значною мірою були усунені при створенні вібраційного мікротома [3].

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

В основу роботи покладені результати експериментальних досліджень, проведених протягом 2005–2008 років на базі кафедри рибництва РЕФ ДВНЗ “Херсонський ДАУ”. У якості експериментального матеріалу для постановки досліджень було проведено аналіз ефективності роботи сучасних авторських і серійних моделей мікротомів, також виконано теоретичне обґрунтування і практичне застосування нового ефективного способу різання тканин гідробіонтів.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз результатів роботи вібраційного мікротома [3], також деяких сучасних моделей показує, що істотними недоліками цих моделей є громіздкість підвіски ножа, неможливість її коливального

руху по прямолінійній траєкторії, також повна відсутність якої-небудь фіксації об'єкту (блоку) за межами ножа. З метою усунення помилок і реалізації можливості зменшення тиску різання необхідно досягти його значення порядку декілька сотень одиниць. Кутове різання — перспективний спосіб, за якого виконуються роздільно два рухи уздовж лінії вістря ножа і впоперек нього, причому швидкість руху об'єкту уздовж вістря повинна у декілька сотень разів перевищувати поперечну [2].

Величина сили, з якою ніж тисне на об'єкт, що розрізає, залежить від багатьох чинників. До них відносяться, з одного боку, довжина зіткнення ножа і об'єкту; кут, що складається лінією вістря ножа і напрямленням руху при різанні, радіус закруглення ріжучої кромки і т. п.; з іншого боку — пружність і міцність самого об'єкту. Якщо прийняти умовно, що ми маємо справу з досить однорідним еластичним матеріалом, то тиск, при якому досягається межа міцності, є величиною постійною і є тиском різання P_p . У такому разі те, що зрізає об'єкт буде досягнуте лише тоді, коли у ньому створюється тиск різання. Причому із збільшенням питомої площі S_y , що доводиться на одиницю довжини вістря ножа, яка створює тиск P_p , зростає спільна сила F_p , що тисне на об'єкт і вимірюється таким чином:

$$F_p = S_y \cdot P_p \cdot 1; \quad (1)$$

де 1 — довжина проекції лінії вістря, що контактує з об'єктом на нормаль до напрямку різання.

Різнання здійснено, якщо пружність в шарі, що зрізається, за величиною більше, ніж величина спільної сили різання F_p , що надається ножем. Із зменшенням товщини шару, що зрізається, зменшується і зустрічна сила пружності, що виникає в даному шарі. Таким чином, єдино можливий шлях отримання тонких зрізів слабпружних об'єктів — зміна способу різання. Один з таких способів — лінія вістря ножа ставиться не впоперек напрямленню його руху, а під кутом.

Сила різання F_y , що доводиться на одиницю довжини вістря ножа, залежить від питомої площі її зіткнення S_y і тиску різання P_p :

$$F_y = S_y \cdot P_p; \quad (2)$$

Лише після досягнення питомої сили різання F_y може здійснитися процес відсікання об'єкту. У разі, коли лінія вістря стоїть перпендикулярно напрямленню руху, спільна сила F_p , з якою ніж тисне на об'єкт, дорівнює добутку сили різання F_y на довжину лінії зіткнення ріжучої кромки ножа із зразком шириною "А":

$$F_p = F_y \cdot 1 = F_y \cdot A; \quad (3)$$

У даному положенні довжини зіткнення вістря ножа з об'єктом довжини "А" і її проекцією на нормаль до напрямку руху рівні. При цьому F_p збігається з напрямленням руху і дорівнює по величині силі, перпендикулярній лінії вістря:

$$F_n = F_p; \quad (4)$$

У тому випадку, коли об'єкт рухається під кутом α до лінії вістря, виникає наступна картина (рис. 1).

Проекція довжини зіткнення "А" леза з об'єктом на нормаль до напрямку руху $1L$ складає величину:

$$1L = A \cdot \sin \alpha; \quad (5)$$

Звідси сила різання дорівнює:

$$F_p L = 1L \cdot F_y = A \cdot \sin \alpha \cdot F_y; \quad (6)$$

При розкладанні $F_p L$ на 2 складові, направлені впоперек лінії вістря і перпендикулярні до неї, остання знаходиться як:

$$F_n L = F_p L \cdot \sin \alpha = F_y \cdot A \cdot \sin \alpha \cdot \sin \alpha = F_y \cdot A \cdot \sin^2 \alpha; \quad (7)$$

Величина питомої сили, направленої паралельно до лінії вістря і кромки ножа,

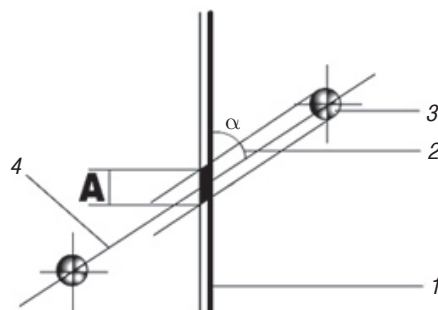


Рис. 1. Схема кутового різання: 1 — лінія вістря ножа; 2 — кут руху, α ; 3 — проекція довжини зіткнення об'єкту і ножа ("А"); 4 — направлення руху.

що доводиться на одиницю довжини, складає у такому разі:

$$F_{ny}L = (F_n L) : A = (F_y \cdot A \cdot \sin^2 \alpha \cdot \sin \alpha) : A = F_y \cdot \sin^2 \alpha; \quad (8)$$

Співвідношення спільної сили різання, співпадаючої з напрямком руху при прямій і похилій постановці лінії вістря, рівне:

$$K = F_p L : F_p L = (F_y \cdot A) : (F_y \cdot A \cdot \sin \alpha) = 1 : \sin \alpha \quad (9)$$

Цей метод успішно здійснюється за допомогою нового приладу, який був спроектований й сконструйований на кафедрі рибництва РЕФ ХДАУ на базі вже існуючого кутового мікротома [2] (рис. 2).

Нова модель мікротома має наступні переваги:

1. Наявність другої (що приймає) плоскопаралельної пластини дозволяє не лише жорстко фіксувати в позначеному майдані блок, що розрізається, але й підтримувати постійним значення сили пружності об'єкту і суттєво зменшувати товщину зрізу без видимих дефектів.

2. Робочий діапазон приладу: 5,0–30,0 мк.

Необхідно відзначити, що за допомогою цієї моделі існує можливість отримання найбільш тонких зрізів: додаткова перевага вдосконаленого варіанту полягає в тому, що за рахунок особливого положення ріжучої кромки ножа, внутрішнього (аркового) заточування приймаючої пластини приладу товщину зрізу практично можна довести до 0,5 мк: один і той же зріз може бути використа-

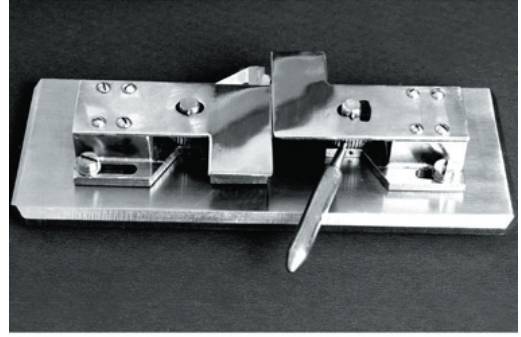


Рис. 2. Арковий мікротом

ний одночасно як для оглядових цілей, так і для точних гістологічних досліджень.

ВИСНОВКИ

Аркове різання тканин гідробіонтів, залитих в середу ущільнювачів, дозволяє максимально оберігти їх від розривів і нерівномірної товщини зрізів. Механізм цього типа різання заснований на створенні високого локального тиску вістря ножа на матеріал, що зрізається.

Нова модель мікротома дозволяє отримати тонкі і неушкоджені зрізи тканин гідробіонтів за рахунок особливого положення ріжучої кромки ножа внутрішнього (аркового) заточування приймаючої пластини приладу, також особливої конструкції механізму мікроподачі.

Мікротом досить простий і надійний в експлуатації, унаслідок чого може бути рекомендований щодо використання в умовах польової практики.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гусельников Е.П. Вибрационный микротом. Описание изобретения к авторскому свидетельству № 134895. М.: 1961.
2. Козій М.С. Мікротом. Патент на винахід № 50266А від 15.10.2002р. (бюл. № 10).
3. Скупченко В.Б. Вибрационный микротом для резки мягкой ткани. Описание изобретения к авторскому свидетельству № 459686 G 01 n 1/06. — М.: 1975.
4. Mc Ilwain H., Budd H.L. Techniques in tissue metabolism. A mechanical chapter // "Biochem J.", 1953. — № 53. — P. 412–420.
5. Sterba G.G. Überlebende histologische Gevebeschnitte // "Experimentia", 1957. — V. 13. — P. 335–337.
6. Smith R.E. Comparative evaluation of the instruments and procedures to cut nonfrozen sections // "I. Of Histochemistry and Cytochemistry", 1970. — V. 18. — № 8. — P. 590–591.
7. Smith R.E., Farguhar M.G. Preparation of thick section for cytochemistry and electron microscopy by a nonfreezing technique // "Nature", 1963. — V. 200. — P. 691–694.
8. Frank W. Möglichkeiten der Herstellung von Gevebeschnitten ohne Frierprozess und Einbettung des Gevebes. "Microscopie", 1971. — bd. 27. — P. 80–84.

**НОВЫЕ ПРИНЦИПЫ МИКРОТОМИИ ТКАНЕЙ ГИДРОБИОНТОВ:
ПУТИ ПОИСКА И АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ РЕШЕНИЯ**

М.С. Козий, И.М. Шерман

Приведены данные теоретического обоснования альтернативного метода микромирования тканей гидробionтов. Показана целесообразность комплексного использования углового метода резания и арочного приёма гистологических объектов. Поднят вопрос дальнейшего внедрения арочного микротома в исследовательскую практику с целью изучения особенностей гистологического строения рыб.

**NEW PRINCIPLES OF MICROTOME OF TISSUES HYDROBIONTS:
WAYS OF SEARCH AND ALTERNATIVE DECISIONS**

M. Koziy, I. Sherman

The resulted is given theoretical ground of alternative method of of microtome of tissues of hydrobionts. Shown expedience of the complex use of angular method of cutting and arched reception of histological objects. The question of subsequent introduction of arched microtome is affected in research practice with the purpose of study of features of histological structure of fishes.