

**РЕСПУБЛИКАНСКОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ КАЗЕННОЕ
ПРЕДПРИЯТИЕ
«ЦЕНТР СУДЕБНЫХ ЭКСПЕРТИЗ
МИНИСТЕРСТВА ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН»**



МЕТОДИКА

**ОКРАСКИ ХРОМОТРОПОМ 2Б - ВОДНЫЙ ГОЛУБОЙ В
МОДИФИКАЦИИ СЛИНЧЕНКО АУТОЛИЗИРОВАННЫХ
МАТЕРИАЛОВ С СУДЕБНО-ГИСТОЛОГИЧЕСКОЙ
ВЕРИФИКАЦИЕЙ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ**

(шифр специальности – 24.1)

ПАСПОРТ МЕТОДИКИ

1. Наименование методики	Методика окраски хромотропом 2Б - водный голубой в модификации Слинченко аутолизированных материалов с судебно-гистологической верификацией патологических процессов
2. Шифр специальности методики	24.1(7)
3. Информация о разработчике методики	Составитель: Оспанова К.Е., судебно-медицинский эксперт-гистолог, к.м.н. Центр судебной медицины МЗ РК рецензент: Манекенова К.Б., заведующая кафедрой патологической анатомии МУА, профессор, д.м.н.
4. Сущность методики	Выявление микроскопических изменений в аутолизированном аутопсийном материале с судебно-гистологической верификацией патологических процессов. Данный метод можно применять как дополнительный при патологических процессах миокарда в случаях отравления алкоголем и его суррогатами, морфином и героином
4.1. Объекты исследования	Аутопсийный материал (фрагменты внутренних органов и частей трупа, забор которых производится во время вскрытия)
4.2. Методы исследования	Гистологический
4.3. Краткое поэтапное описание методики	Методика окраски. Депарафинизация, вода дистиллированная, гематоксилин Бемера — 10 минут, вода водопроводная — 10 минут, вода дистиллированная - 1 минута, раствор хромотропа 2Б - 1 минута, вода, дистиллированная 30 секунд, раствор 0.5% фосфорно-вольфрамовой кислоты- до минуты (лучший результат - 40 секунд). вода, дистиллированная ополоснуть, раствор водного голубого- 15 секунд, спирты, ксилолы, заключение. Результат: Коллагеновые волокна - ярко - красные, мышечная ткань - пурпурно-красная, фибрин от ярко-красного-бардового (по степени зрелости), гиалин — красного цвета, однородный, фиброзная ткань - ярко синяя, эритроциты — огненно красно- рыжие. Окраска (за исключением гематоксилина) не

	<p>выцветает, что позволяет успешно заменить ее окраской по Ван-Гизон. Высокая красящая способность в отношении тромбов (окрашиваются в вишнево-красный цвет), позволила не использовать гистохимическую окраску по Шуенинову с модификациями. Окрашивание в огненно-красный цвет как четких эритроцитов, так и их обломков позволяет избежать способа выявления продуктов разрушения эритроцитов методикой по Лепене с применением канцерогенного раствора бензидина. Поврежденные кардиомиоциты отмечаются во всех полях зрения за счет чередования гипертрофии и атрофии кардиомиоцитов с исчезновением поперечной исчерченности, изменения тинкториальных свойств саркоплазмы с участками миоцитолиза и глыбчатого распада миофибрилл. Кардиомиоциты имеют синий цвет с четкими миофибриллами темно-красного цвета. Градациями дистрофических изменений миокарда являются сегментарные контрактуры 1-2-3 степеней. Так при первой степени контрактур выявлены анизотропия дисков, без заметного укорочения изотропных дисков. При второй степени слияние анизотропных, при истончении изотропных дисков. При необратимой третьей степени - анизотропные диски обнаруживаются в едином конгломерате с исчезновением изотропных. В очагах сегментации и фрагментации мышечные волокна разобщены за счет строго перпендикулярных разрывов с очагами гиперсокращения миофибрилл до 5 в одном мышечном волокне</p>
5. Дата одобрения методики Ученым Советом Центра судебной медицины МЮ РК	Протокол №2 от 05.12.2016г.
6. Информация о составителях паспорта методики	Имамбаева Н.Е. - судебно-медицинский эксперт высшей квалификационной категории

ОГЛАВЛЕНИЕ

**Методика окраски хромотропом 2Б-водный голубой в модификации
Слинченко аутолизированных материалов с судебно-гистологической
верификацией патологических процессов**

1. Общие положения.....	6
2. Перечень использованных источников.....	8

МЕТОДИКА ОКРАСКИ ХРОМОТРОПОМ 2Б-ВОДНЫЙ ГОЛУБОЙ В МОДИФИКАЦИИ СЛИНЧЕНКО АУТОЛИЗИРОВАННЫХ МАТЕРИАЛОВ С СУДЕБНО-ГИСТОЛОГИЧЕСКОЙ ВЕРИФИКАЦИЕЙ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

Данный метод можно применять как дополнительный при патологических процессах миокарда в случаях отравления алкоголем и его суррогатами, морфином и героином. Гистохимическая окраска по Слинченко, столь часто применяемая для дифференциальной диагностики лейомиосарком и фибросарком заимствована из практики патологоанатомов. Для контроля необходимо применять окраску гематоксилином и эозином.

Как известно, аутолизированный материал сводит к минимуму гистологическое исследование. Применение 10-20 % раствора формалина в виду высокой коагулирующей способности чаще всего необоснованно. В случае использования гистохимической окраски по Слинченко необходимо применять 5% раствор продажного формалина, а в случае сильного загрязнения его кровью добавлять для ее осаждения насыщенный раствор пикриновой кислоты – 1 мл на 200 мл разведенного формалина. Данная смесь позволяет улучшить фиксацию, не требует дифференцировки срезов в спирте, как при обычных методах с применением пикриновой кислоты. Фиксированный 3 суток материал обрабатывается по обычной гистологической проводке с применением хлороформа. Замена его ксилолом несколько не ухудшает качество гистологических срезов, но и оказывается вполне приемлемой для изучения лимфатических узлов. Использование раствора водного голубого во многих гистологических отделениях затруднительно и связано с тем, что в продажу водного голубого поступает незначительное количество. Следует отметить наиболее распространенные его синонимы, такие как анилиновый голубой водорастворимый, Anilin blue, Methyl blue, Reinblau.

Приготовление красителей.

Приготовление растворов на 100 мл.

Раствор I (Хромотроп 2Б – 0,2 г, ледяной уксусной кислоты - 30 мл, воды дистиллированной - 70 мл). Приготовленный раствор темно-красный, прозрачный. Раствор II (Водный голубой – 0,2 г, вода дистиллированная - 100 мл, ледяной уксусной кислоты - 6 мл). Приготовленный раствор темно-синего цвета, прозрачный. Раствор III – 0,5% фосфорно-вольфрамовая кислота. 0,5% - на 100 мл дистиллированной воды 0,5 г кислоты.

Результат: мышечная ткань, фибрин, фибриноид- темно-красного цвета, эритроциты- огненно- красные, соединительная ткань- голубого и синего цветов.

Методика окраски. Депарафинизация, вода дистиллированная, гематоксилин Бемера – 10 минут, вода водопроводная – 10 минут, вода дистиллированная – 1 минута, раствор хромотропа 2Б - 1 минута, вода дистиллированная 30 секунд, раствор 0.5% фосфорно-вольфрамовой

кислоты - до минуты (лучший результат - 40 секунд), вода дистиллированная ополоснуть, раствор водного голубого - 15 секунд, спирты, ксилолы, заключение.

Результат: Коллагеновые волокна - ярко - красные, мышечная ткань - пурпурно-красная, фибрин от ярко-красного- бардового (по степени зрелости), гиалин - красного цвета, однородный, фиброзная ткань - ярко синяя, эритроциты - огненно красно- рыжие. Окраска (за исключением гематоксилина) не выцветает, что позволяет успешно заменить ее окраской по Ван-Гизон. Высокая красящая способность в отношении тромбов (окрашиваются в вишнево-красный цвет), позволила не использовать гистохимическую окраску по Шуенинову с модификациями. Окрашивание в огненно-красный цвет как четких эритроцитов, так и их обломков позволяет избежать способа выявления продуктов разрушения эритроцитов методикой по Лепене с применением канцерогенного раствора бензидина. Поврежденные кардиомиоциты отмечаются во всех полях зрения за счет чередования гипертрофии и атрофии кардиомиоцитов с исчезновением поперечной исчерченности, изменения тинкториальных свойств саркоплазмы с участками миоцитолита и глыбчатого распада миофибрилл. Кардиомиоциты имеют синий цвет с четкими миофибриллами темно-красного цвета. Градациями дистрофических изменений миокарда являются сегментарные контрактуры 1-2-3 степеней.

Так при первой степени контрактур выявлены анизотропия дисков, без заметного укорочения изотропных дисков. При второй степени слияние анизотропных, при истончении изотропных дисков. При необратимой третьей степени - анизотропные диски обнаруживаются в едином конгломерате с исчезновением изотропных. В очагах сегментации и фрагментации мышечные волокна разобщены за счет строго перпендикулярных разрывов с очагами гиперсокращения миофибрилл до 5 в одном мышечном волокне.

В 71% исследований выявлены мелковолновые деформации пучков миофибрилл в субэндокардиальных зонах миокарда.

В 17% крупноволновые деформации кардиомиоцитов выявлены на всей толщине миокарда. Наличие крупноволновых и мелковолновых очагов деформации кардиомиоцитов, сегментарные контрактуры миокарда с преобладанием контрактурных изменений 3 степени трактуются как аритмогенные зоны миокарда. Межуточный отек миокарда не окрашивается, что позволяет в перивазальном пространстве спазмированных в виде артериол со звездчатым и щелевидным просветом с вертикально расположенными ядрами эндотелиоцитов обнаружить от 2 до 6 макрофагов. В 20% выявлены разрывы и надрывы капилляров с выходом четких и разрушенных эритроцитов в интерстициальную ткань. В 100% выявлено венозное полнокровие ткани.

При аутолизированной почке склеротически измененные почечные тельца, как и вся соединительная ткань имеют синий цвет, а

фиброзированная ткань окрашивается в темно-синий цвет. Капилляры как и ядра нефрона, окрашиваются в светло серый цвет. Цитоплазма эпителия канальцев розово-серая с четкими апикальными краями. В 7% выявлены субнуклеарные и супрануклеарные вакуоли, окрашенные суданом III- интенсивно желтый цвет, что позволило, обнаружить жировой нефроз с очагами базальной инкрустации нефроэпителия.

Таким образом, применение методики окраски гистологических срезов по Слинченко с докраской гематоксилином Бемера применима для аутолизированного материала, и позволяет на субмикроскопическом уровне выявить многие из патологических процессов, наблюдаемых под сборным термином «кардиомиопатии».

Перечень использованных источников:

1. «Инструкция по организации и производству судебно-медицинской экспертизы» (Приказ МЗ РК от 20 мая 2010г. № 368) – Астана, 2010.
2. Г.А.Меркулов. Курс патологистологической техники. — 1967.
3. Микроскопическая техника: Руководство / Под редакцией Д.С.Саркисова и Ю.Л.Перова. — М.: Медицина, 1996. ISBN 5-225-02-820-9).
4. Новоселов В.П., Савченко С.В., Романова Е.А. Циммерман В.Г. Патоморфология миокарда при ушибах сердца // Новосибирск: Наука 2002.- с.98- 137
5. Васильев Ю.В., Большаков М.А. Судебно-гистологическая верификация патологических процессов в аутолизированном материале с применением метода хромотроп 2Б-водный голубой в модификации по Слинченко // материалы Всероссийской Научно-практической конференции, посвященной 75-летию РЦСМЭ. Москва: 2006. – с.269-270
6. Дзяк В.Н., Микунис Р.И., Скупник А.М. Алкогольная кардиомиопатия // Киев: Здоровье 1980. - с. 177-199
7. Пермяков А.В., Витер В.И. Судебно-медицинская гистология (руководство для врачей) //Ижевск: 1988. - с.116-129, 161-171
8. Шакуль В.А. Пигментный нефроз при отравлении алкоголем// материалы I расширенной областной научно-практической конференции судебных медиков и криминалистов. Курган: 1972 - с.28-29.
9. Пальцев М.А. Аничков Н.М. Патологическая анатомия том 2 часть 1 // М.:Медицина 2001.- с.105-111