

## СРАВНЕНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ПРОГРЕССИВНЫХ ГЕМАТОКСИЛИНОВ ПРИ ОКРАШИВАНИИ ЭЛЕМЕНТОВ СИСТЕМЫ КРОВООБРАЩЕНИЯ И ГЕПАТОЛИЕНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

Лев Александрович БОГДАНОВ, Дарья Кирилловна ШИШКОВА,  
Антон Геннадьевич КУТИХИН

*НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний  
650002, г. Кемерово, Сосновый б-р, 6*

Цель исследования – сравнить различные типы прогрессивных гематоксилинов и оптимизировать протоколы окрашивания гематоксилином и эозином для кровеносных сосудов, миокарда, печени и селезенки. **Материал и методы.** В качестве эталонных объектов исследования были выбраны сердце (желудочки), аорта (брюшной отдел), печень (правая доля) и селезенка (левая часть). После фиксации в 10%-м забуференном формалине производилась вырезка репрезентативных сегментов тканей с дальнейшим промыванием в проточной воде, обезвоживанием с использованием этанола возрастающей концентрации (70 %, 80 %, 95 %) и изопропанола, пропитыванием и заключением в парафин и серийной резкой (5 мкм) замороженных парафиновых блоков на микротоме. Далее проводилось окрашивание гематоксилинами Mayer, Gill или Carazzi в течение 2, 5 или 15 мин и 1%-м водно-спиртовым эозином в течение 2 мин (без использования дифференцирующего раствора), все остальные этапы протокола выполнялись стандартно. Результаты оценивались при помощи световой микроскопии тремя гистологами независимо друг от друга и в разное время. **Результаты.** Все три типа прогрессивных гематоксилинов имели свои особенности окрашивания. Гематоксалин Mayer позволял достичь наиболее интенсивной окраски ядер клеток, однако при 15-минутном окрашивании он в ряде случаев придавал цитоплазме и внеклеточному матриксу фиолетово-синеватый оттенок, затрудняющий надлежащее контрастирование ядер. Гематоксалин Gill, напротив, прокрашивал ядра слабее остальных и позволял достичь четкого сине-фиолетового оттенка лишь после 15 мин окрашивания. В свою очередь, гематоксалин Carazzi позволял добиться сбалансированного контрастирования ядер и цитоплазмы/внеклеточного матрикса, не меняя розовато-красный оттенок эозина, однако окрашивал ядра слабее, чем гематоксалин Mayer. Окрашивания всеми видами гематоксилинов всех изученных типов тканей в течение 2 мин было недостаточным для интенсивной окраски и качественного контрастирования ядер клеток. **Заключение.** Оптимальным способом окрашивания аорты гематоксилином в сочетании с 2-минутным окрашиванием эозином является использование гематоксилина Carazzi в течение 15 мин, для окрашивания печени рекомендуется применять гематоксалин Carazzi или Gill в течение 15 минут либо гематоксалин Mayer в течение 5 мин, окрашивание миокарда оптимально при использовании гематоксилина Carazzi или Gill в течение 15 мин, а для окрашивания селезенки следует использовать гематоксалин Carazzi в течение 5 мин.

**Ключевые слова:** гематоксалин, эозин, аорта, миокард, печень, селезенка.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Источник финансирования.** Работа выполнена при поддержке комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН в рамках фундаментальной темы НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний № 0546-2015-0011 «Патогенетическое обоснование разработки имплантатов для сердечно-сосудистой хирургии на основе биосовместимых материалов, с реализацией пациент-ориентированного подхода с использованием математического моделирования, тканевой инженерии и геномных предикторов».

**Автор для переписки:** Богданов Л.А., e-mail: bogdanovleone@gmail.com

**Для цитирования:** Богданов Л.А., Шишкова Д.К., Кутихин А.Г. Сравнение различных видов прогрессивных гематоксилинов при окрашивании элементов системы кровообращения и гепатолиенальной системы. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2019; 39 (6): 46–54. doi: 10.15372/SSMJ20190606

## DIFFERENT PROGRESSIVE HEMATOXYLIN STAINS FOR HISTOLOGICAL EXAMINATION OF MYOCARDIUM, BLOOD VESSELS, LIVER AND SPLEEN

Lev Aleksandrovich Bogdanov, Dariya Kirillovna Shishkova, Anton Gennadievich Kutikhin

*Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases  
650002, Kemerovo, Sosnovy blvd., 6*

Aim of the study was to compare the distinct types of progressive hematoxylin stains and to optimize the protocols of hematoxylin and eosin staining of blood vessels, heart, liver and spleen. **Material and methods.** Heart (ventricles), abdominal aorta, liver (right lobe) and spleen (left part) of the Wistar rats were excised, fixed in 10% neutral phosphate buffered formalin for 24 h, washed in tap water for 2 h, dehydrated in ascending ethanol series (70 %, 80 %, and 95 %) and isopropanol, embedded into paraffin and then sectioned (5  $\mu$ m) using rotary microtome. Staining was performed using Mayer's, Gill's, or Carazzi's hematoxylin during 2, 5, or 15 minutes and 1 % alcoholic/aqueous eosin for 2 minutes without differentiative solution. Results were assessed by three independent histologists. **Results.** All examined progressive hematoxylin stains had their distinctive features. Mayer's hematoxylin demonstrated the most intensive nuclear staining; however, staining for 15 minutes could lead to the bluing of cytoplasm and extracellular matrix. In contrast, Gill's hematoxylin was characterized by less intensive nuclear staining and achieved clear blue-violet shade only after 15 minutes of staining. Carazzi's hematoxylin showed balanced coloration of nuclei and cytoplasm/extracellular matrix and did not change the red/pink shades of eosin, yet the intensity of nuclear staining was less as compared to Mayer's hematoxylin. Short-term (2 minutes) staining was insufficient to reach intensive nuclear staining. **Conclusion.** The optimal hematoxylin and eosin staining protocol is to use eosin for 2 minutes following staining by Carazzi's hematoxylin for 15 minutes (for aorta), Carazzi's or Gill's hematoxylin for 15 minutes or Mayer's hematoxylin for 5 minutes (for liver), Carazzi's or Gill's hematoxylin for 15 minutes (for heart), and Carazzi's hematoxylin for 5 minutes (for spleen).

**Key words:** hematoxylin, eosin, aorta, heart, liver, spleen.

**Conflict of interest.** The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

**Source of funding.** This study was supported by the Complex Program of Basic Research of SB RAS within the Basic Research Topic of Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases № 0546-2015-0011 «Pathogenetic basis for the development of cardiovascular implants from biocompatible materials using patient-oriented approach, mathematical modeling, tissue engineering, and genomic predictors».

**Correspondence author:** L.A. Bogdanov, e-mail: bogdanovleone@gmail.com

**Citation:** Bogdanov L.A., Shishkova D.K., Kutikhin A.G. Different progressive hematoxylin stains for histological examination of myocardium, blood vessels, liver and spleen. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2019; 39 (6): 46–54. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20190606

Наиболее распространенным видом окрашивания на протяжении всего времени развития гистологии является сочетанное окрашивание тканей основным красителем гематоксилином и кислым красителем эозином [4, 6, 7]. Кроме того, гематоксалин также используется для контрастирования ядер при сочетании с другими красителями [4, 8, 9]. Гематоксалин получают из сердцевины кампешового дерева (семейство бобовые), произрастающего в Центральной и Южной Америке, Африке и Азии [4]. Сам по себе гематоксалин бесцветен, однако при окислении на воздухе в сочетании с протравой (как правило, алюминиевыми квасцами) он переходит в гематеин, имеющий красновато-коричневый цвет [4].

Все гематоксалины условно можно разделить на два типа: прогрессивные (постепенно окрашивающие ткань до определенного уровня) и регрессивные (преднамеренно переокрашивающие ткань с дальнейшим вымыванием излишнего окрашивания дифференцирующим раствором – как правило, 0,5%-м или 1%-м раствором соляной кислоты в 70%-м этаноле) [1–3, 10, 11]. Из регрессивных гематоксалинов наиболее широко применяется гематоксалин Harris, в то время как

из прогрессивных на российском рынке доступны гематоксалины Mayer, Gill и Carazzi. Время окрашивания гематоксалином, как правило, составляет от 5 до 15 мин, хотя некоторые источники указывают на возможность его уменьшения при использовании гематоксалина Carazzi [10].

Эозин (2,4,5,7-тетрабромфлуоресцеин) представляет собой синтетический краситель, окрашивающий цитоплазму и внеклеточные структуры ткани [1–3, 10, 11]. Выделяют спиртовой и водный растворы эозина, имеющие различный pH; достаточно часто применяется также их концентрированная смесь, доступная на российском рынке, которую в дальнейшем разбавляют бидистиллированной водой или 20–25%-м этанолом в зависимости от желаемого pH.

Результатом применения гематоксалина и эозина является окрашивание ядер в цвета от фиолетового до синего (оттенок зависит от вида гематоксалина и длительности окрашивания), цитоплазмы и внеклеточного матрикса – в цвета от розового до красного (оттенок зависит от pH эозина и также длительности окрашивания) [1–5, 7, 9–11]. Интенсивность окраски также может изменяться в зависимости от преобладания ба-

зофильных или ацидофильных структур в ткани [1–5, 7, 9–11]. Стоит отметить, что стандартные протоколы окрашивания гематоксилином и эозином предоставляются их производителями, однако они предназначены скорее для рутинной гистологической и патолого-анатомической работы, чем для научных публикаций, требующих окрашивания и микрофотографий максимального возможного качества. Данная проблема достаточно актуальна для практически всех видов тканей [4]; в последние годы предпринимаются попытки усовершенствовать протокол окрашивания гематоксилином и эозином для трехмерных тканей (без предварительной резки) [12], разработать алгоритмы для автоматизированного анализа воспалительных инфильтратов [13], а также оптимизировать окрашивание гематоксилином и эозином для цифрового анализа [14, 15]. Таким образом, проблема стандартизации получения высококачественных изображений при окрашивании гематоксилином и эозином представляется достаточно актуальной.

Ранее нами показано, что при сходном итоговом результате использование прогрессивных гематоксилинов позволяет добиться лучшего по сравнению с регрессивными гематоксилинами сохранения целостности ткани за счет отсутствия стадии дифференцировки кислотнo-спиртовым раствором и последующей отмывки в бидистиллированной воде, что также дает возможность сократить протокол окрашивания по времени. Цель данного исследования – сравнить различные типы прогрессивных гематоксилинов и оптимизировать протоколы окрашивания гематоксилином и эозином для кровеносных сосудов, миокарда, печени и селезенки.

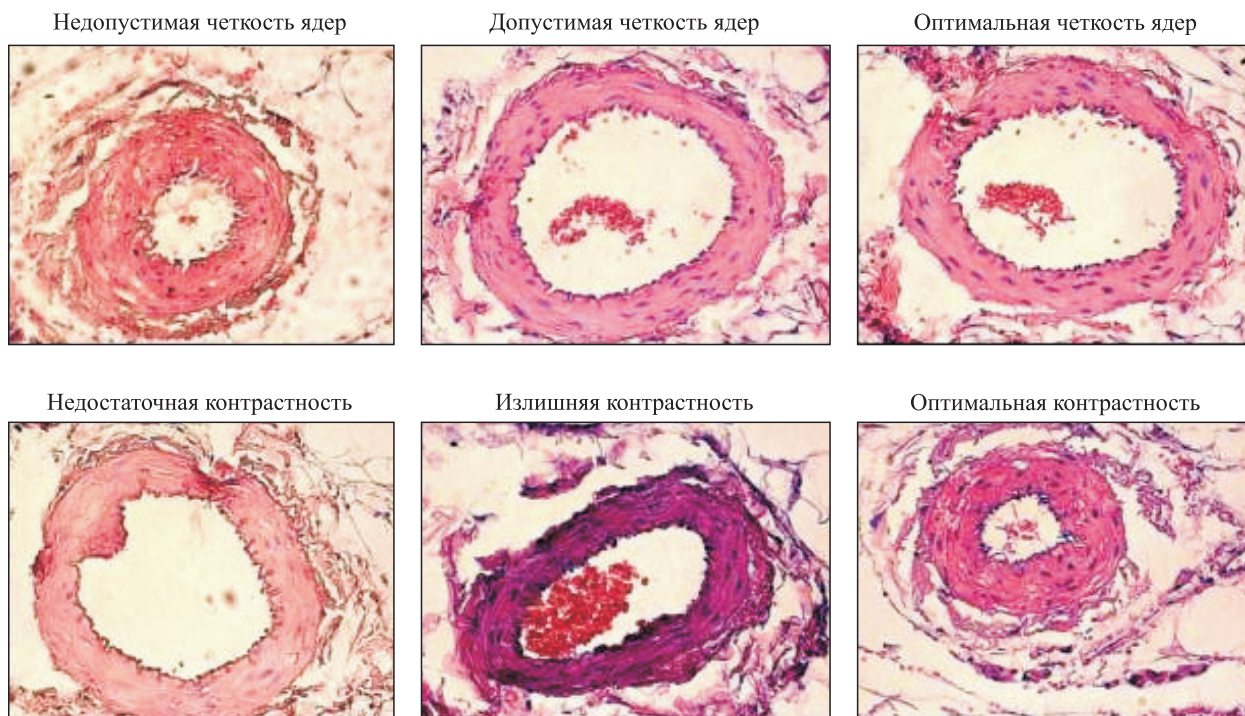
## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для эксперимента использовали биоптаты 6 самцов крыс линии Wistar (возраст 6 мес., масса тела 400–450 г): сердце (желудочки), аорта (брюшной отдел), печень (правая доля) и селезенка (левая часть). Крысы содержались в одной и той же устланной опилками полипропиленовой клетке при комнатной температуре, нормальной влажности воздуха и 12-часовом световом дне и имели неограниченный доступ к корму и воде. Мониторинг состояния животных проводился ежедневно. Из эксперимента крыс выводили, помещая в герметичную камеру с атмосферой, перенасыщенной углекислым газом. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБНУ «НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (протокол № 06235-ЛБ).

Органы фиксировали в 10%-м забуференном формалине («БиоВитрум», Россия) в течение 24 ч с одной сменой формалина через первые 4 ч. Далее вырезали необходимый сегмент образца, укладывали его в гистологические кассеты и промывали под проточной водой в течение 2 ч. Образцы затем обезживали в этаноле возрастающей концентрации (70 %, 80 %, 95 %) и 100%-м изопропанолем (1 ч на каждую смену), пропитывали (три смены по 1 ч) гранулированной парафиновой средой для гистологической проводки и заливки на основе высокоочищенного парафина и специально подобранных пластифицирующих добавок («Гистомикс Экстра», температура плавления 54–56 °С, «БиоВитрум») и далее заключали в другую гранулированную парафиновую среду для гистологической проводки и заливки на основе высокоочищенного парафина и специально подобранных пластифицирующих добавок («Мистер Вакс Экстра», температура плавления 56–58 °С, «БиоВитрум») на 1 ч при комнатной температуре. После этого образцы охлаждали при температуре +4 °С в течение ночи и далее при температуре –20 °С в течение суток для облегчения резки, которую производили на ротационном микротоме «Microm HM 325» США) равномерно по всей длине (аорта) или толщине (миокард, печень, селезенка) образца; толщина срезов составляла 5 мкм. Срезы расправляли на водяной бане при температуре +52 °С и переносили на предметные стекла с поли-L-лизинным покрытием («Thermo Fisher Scientific»). Было приготовлено три партии тканей (одна партия на крысу) по девять стекол (по три стекла на каждый вид гематоксилина, одно стекло на одно время окрашивания). На каждое стекло помещалось от 6 до 12 срезов в зависимости от размера органа (миокард – 6 срезов, печень и селезенка – по 10 срезов, аорта – 12 срезов). После сушки на нагревательной плитке при +50 °С образцы переносили в термостат для хранения при температуре +30 °С.

Для окрашивания использовали гематоксилины Carazzi, Mayer и Gill («БиоВитрум») и водно-спиртовой концентрированный эозин, разбавленный в 25%-м этиловом спирте («БиоВитрум»). Согласно информации производителя, состав гематоксилинов был следующим. Carazzi: алюмокалиевые квасцы – 1–6 %, гематоксалин – 0,1–0,3, калий йодноватистый – 0,01–0,03, глицерин – 30–32, тимол – 0,01–0,03, вода – 61–69 %; Mayer: алюмокалиевые квасцы – 1–6 %, гематоксалин – 0,1–0,3, калий йодноватистый – 0,01–0,03, глицерин – 14–16, тимол – 0,01–0,05, вода – 77–85 %; Gill: алюмокалиевые квасцы – 1–6 %, гематоксалин – 0,2–0,3, калий йодноватистый – 0,01–0,03, уксусная кислота – 2,0–3,0, этиленгликоль – 27,0–29,0, вода – 61–70 %.





**Рис. 1.** Критерии контрастирования ядер клеток при окрашивании прогрессивными гематоксилинами (Mayer, Gill и Carazzi). Увеличение  $\times 400$

**Fig. 1.** Criteria of nuclear counterstaining using progressive hematoxylin (Mayer, Gill, and Carazzi). Magnification  $\times 400$

Окрашивание производили по следующему протоколу:

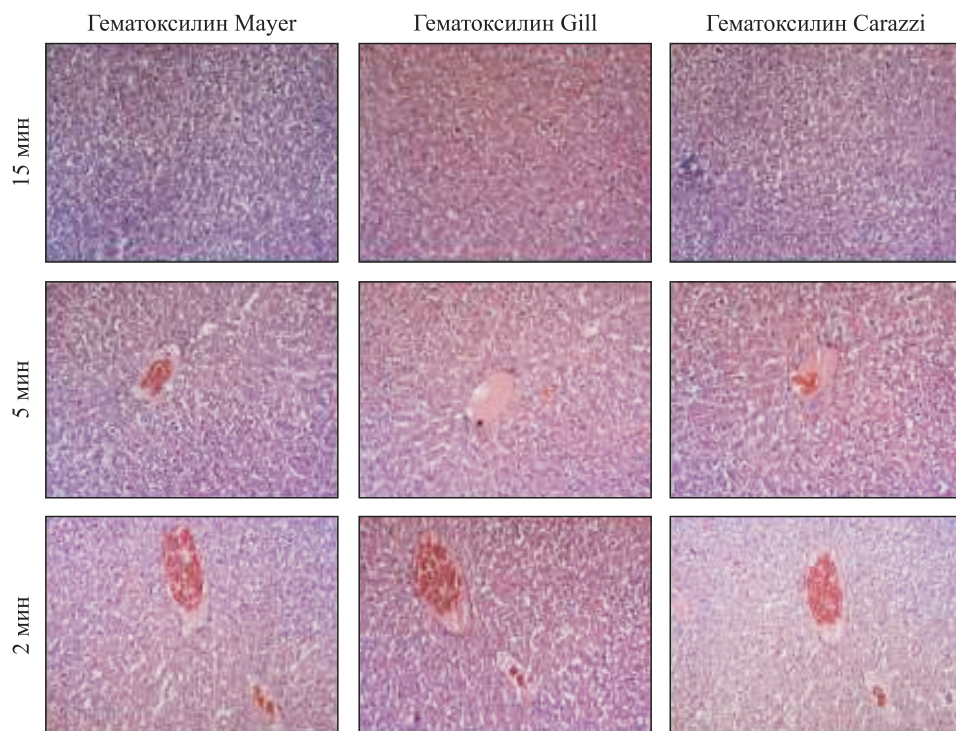
1. Депарафинизация в ксилоле, 3 раза по 5 мин.
2. Отмывка в 95%-м этаноле, 3 раза по 5 мин.
3. Быстрая промывка в бидистиллированной воде.
4. Окрашивание гематоксилинами Carazzi, Mayer или Gill (2, 5 или 15 мин).
5. Быстрая промывка в бидистиллированной воде.
6. Подсинение в водопроводной воде в течение 5 мин.
7. Быстрая промывка в бидистиллированной воде.
8. Окрашивание 1%-м водно-спиртовым эозином, 2 мин.
9. Быстрая промывка в бидистиллированной воде.
10. Обезвоживание в этаноле (70 %, 95 %, 95 %) по 10 с.
11. Просветление в ксилоле, 3 мин.
12. Заключение в монтирующую среду («Витрогель», «БиоВитрум») под покровное стекло («БиоВитрум»).

Готовые микропрепараты анализировали при помощи светового микроскопа «Axio Imager A1» («Carl Zeiss», Германия) и объектива «EC Plan-Neofluar 20x/0.50 M27» («Carl Zeiss») на увеличе-

нии  $\times 200$ . Результаты оценивали трое гистологов независимо друг от друга и в разное время. Критериями контрастирования ядер клеток являлись их различимость в сравнении с окружающей тканью и четкость (очерченность) контура. Оптимальным результатом окрашивания гематоксилином считалось сочетание очерченности и высокой контрастности ядер при отсутствии фонового окрашивания окружающей ткани. Примеры неоптимального, субоптимального и оптимального контрастирования ядер приведены на рис. 1.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Каждый из изученных видов тканей характеризовался различным паттерном окрашивания гематоксилином и эозином. Так, вследствие упорядоченного расположения гепатоцитов, кардиомиоцитов и сосудистых гладкомышечных клеток, особенностью печени, миокарда и аорты являлась необходимость максимальной степени окрашивания находящихся на определенном расстоянии друг от друга ядер клеток гематоксилином для надлежащего контрастирования с эозином. Селезенка, напротив, характеризовалась скоплениями большого количества ядер иммунных клеток с меньшей выраженностью цитоплазмы и внеклеточного матрикса в фолликулах и поэтому



**Рис. 2.** Окрашивание печени крысы прогрессивными гематоксилинами (Mayer, Gill и Carazzi) в течение 5, 15 и 2 мин для общей оценки особенностей различных гематоксилинов. Увеличение  $\times 200$

**Fig. 2.** Staining of the rat liver using progressive hematoxylin (Mayer, Gill, and Carazzi) during 2, 5, and 15 minutes for the comparison of their staining pattern. Magnification  $\times 200$

требовала умеренного прокрашивания ядер для предотвращения эффекта их слияния.

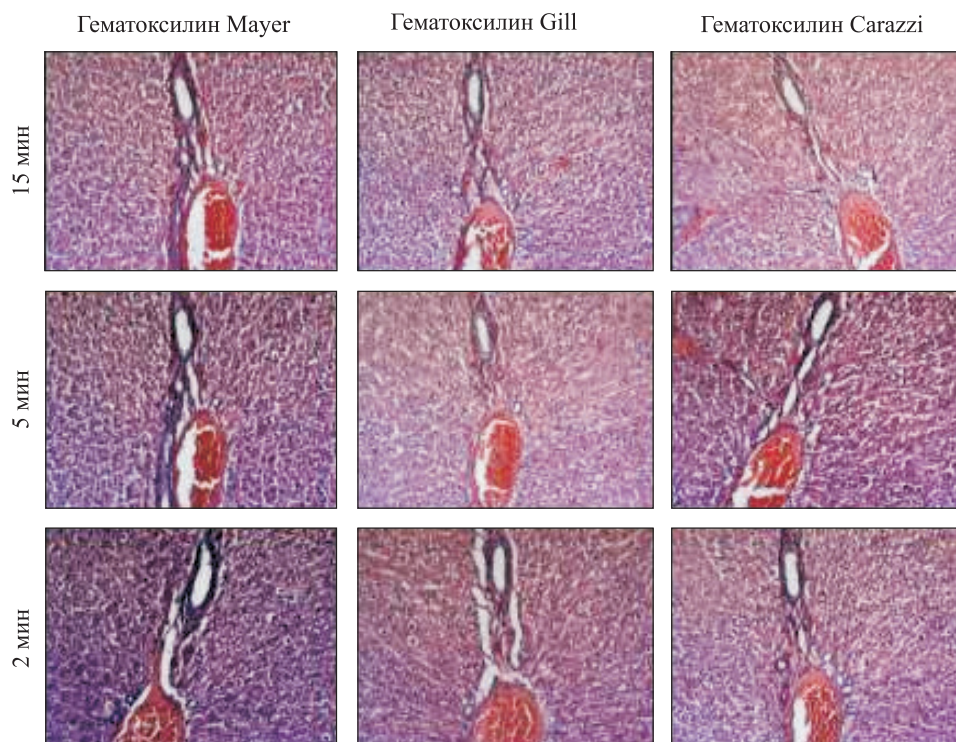
Все три типа прогрессивных гематоксилинов имели определенные особенности. Гематоксилин Mayer более выраженно окрашивал ядра в сравнении с другими, однако также придавал цитоплазме и внеклеточному матриксу фиолетово-синеватый оттенок при окрашивании в течение 15 мин. Гематоксилин Gill, напротив, прокрашивал ядра слабее остальных и позволял достичь четкого сине-фиолетового оттенка лишь после 15 мин окрашивания. В свою очередь, гематоксилин Carazzi позволял добиться сбалансированного контрастирования ядер и цитоплазмы/внеклеточного матрикса, не меняя розовато-красный оттенок эозина, однако окрашивал ядра слабее, чем гематоксилин Mayer. Несмотря на определенные литературные предпосылки [9], окрашивания всеми видами гематоксилинов всех типов тканей в течение 2 мин было недостаточным для качественного контрастирования ядер клеток (рис. 2).

Максимальное контрастирование ядер клеток аорты достигалось при продолжительном окрашивании (15 мин), существенных различий при использовании различных прогрессивных гема-

токсилинов не выявлено. Стоит отметить, что, в отличие от паренхиматозных тканей, целостность аорты не зависит от применения прогрессивного или регрессивного гематоксилина; таким образом, любой из доступных на российском рынке гематоксилинов (Harris, Mayer, Gill, Carazzi) равнозначно подходит для окрашивания аорты. Для максимального исключения связанных с изменением оттенка эозина артефактов и ускорения протокола окрашивания авторы рекомендуют использовать гематоксилин Carazzi (15 мин) в сочетании с окрашиванием эозином в течение 2 мин (рис. 3).

В случае с окрашиванием печени максимальное контрастирование ядер достигалось при применении гематоксилинов Carazzi и Gill в течение 15 мин, а гематоксилина Mayer – в течение 5 мин. Окрашивание гематоксилином Mayer в течение 15 мин приводило к потере контрастирования ядер за счет придания цитоплазме и внеклеточному матриксу гематоксилинового оттенка. Окрашивание же гематоксилинами Carazzi и Gill в течение 5 мин сопровождалось некоторой потерей контрастирования ядер за счет недостаточного их прокрашивания; данная проблема была более





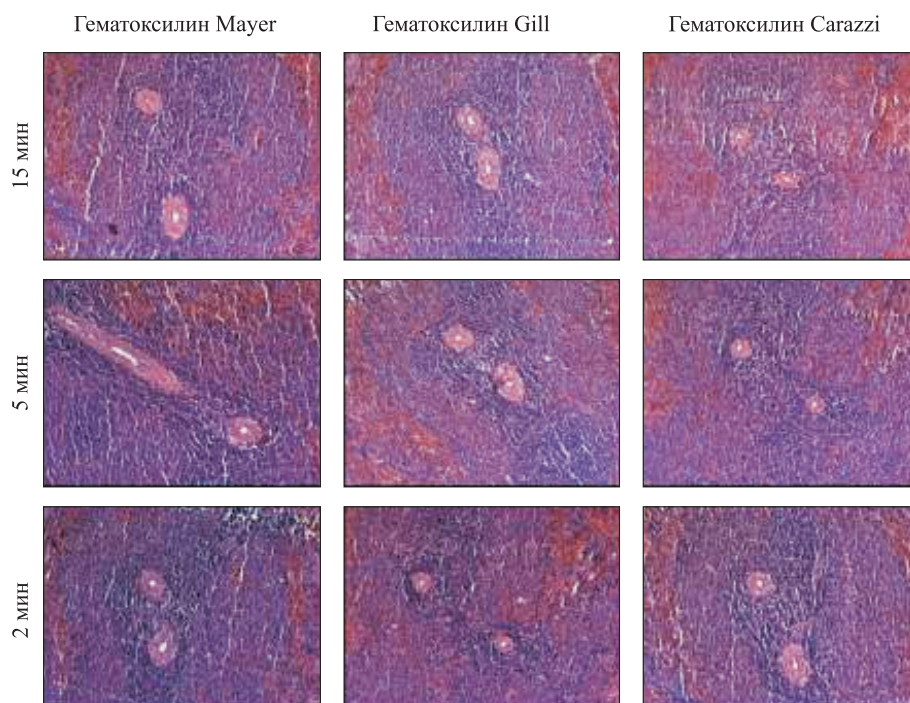
**Рис. 3.** Сравнительное окрашивание печени крысы прогрессивными гематоксилинами (Mayer, Gill и Carazzi) в течение 2, 5 и 15 мин для оптимизации протокола окрашивания. Увеличение  $\times 200$

**Fig. 3.** Staining of the rat liver using progressive hematoxylin (Mayer, Gill, and Carazzi) during 2, 5, and 15 minutes for the optimisation of the staining protocol. Magnification  $\times 200$

характерна для гематоксилина Gill. Регрессивное применение гематоксилина может отрицательно влиять на целостность печени за счет воздействия дифференцирующего раствора. Таким образом, для окрашивания печени оптимальным является воздействие гематоксилином Carazzi или Gill в течение 15 мин либо гематоксилином Mayer в течение 5 мин с последующим окрашиванием эозином в течение 2 мин (рис. 4).

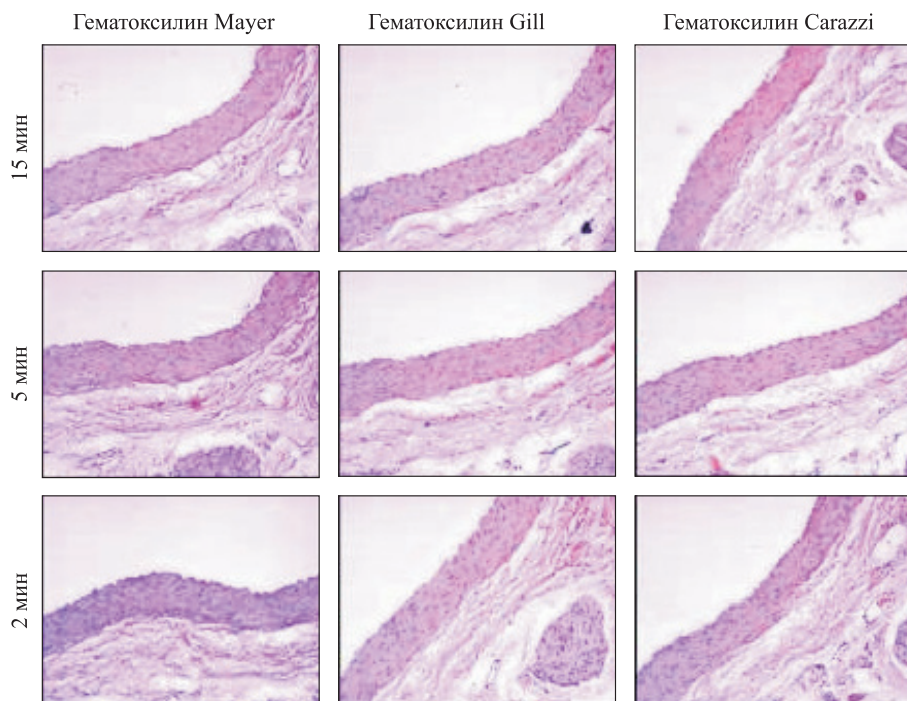
Окрашивание миокарда различными видами гематоксилинов в целом было сходно с окрашиванием печени, однако при применении всех трех гематоксилинов (Mayer, Carazzi и Gill) максимальное контрастирование наблюдалось через 15 мин. При этом гематоксилин Mayer также несколько менял оттенок цитоплазмы и внеклеточного матрикса. Использование гематоксилина по регрессивному протоколу отчасти снижало целостность ткани, что в сочетании с высокой сложностью получения целостных срезов миокарда затрудняет получение высококачественных изображений. Поэтому для окрашивания миокарда авторы рекомендуют использовать гематоксилин Carazzi или Gill в течение 15 мин в сочетании с окрашиванием эозином в течение 2 мин (рис. 5).

В свою очередь паттерн окрашивания селезенки существенно отличался от такового для других видов тканей. Для сохранения баланса между окрашиванием обильно присутствующих в фолликулах ядер клеток и относительно небольшого количества цитоплазмы и внеклеточного матрикса (в сравнении с другими изученными тканями) оптимальным было применение гематоксилинов Carazzi и Mayer в течение 5 мин либо гематоксилина Gill в течение 15 мин. Увеличение времени воздействия гематоксилинами Carazzi и Mayer до 15 мин в ряде случаев вело к эффекту слияния ядер клеток за счет излишнего их окрашивания, а гематоксилин Gill при использовании в течение 5 мин не позволял достичь достаточной степени контрастирования ядер. Применение регрессивного протокола окрашивания гематоксилином несколько снижало целостность селезенки за счет использования дифференцирующего раствора. С целью максимального предотвращения различных артефактов в отношении изменения эозинового оттенка или слияния ядер клеток авторы рекомендуют использовать для окрашивания селезенки гематоксилин Carazzi в течение 5 мин в сочетании с окрашиванием эозином в течение 2 мин.



**Рис. 4.** Сравнительное окрашивание селезенки крысы прогрессивными гематоксилинами (Mayer, Gill и Carazzi) в течение 2, 5 и 15 мин для оптимизации протокола окрашивания. Увеличение  $\times 200$

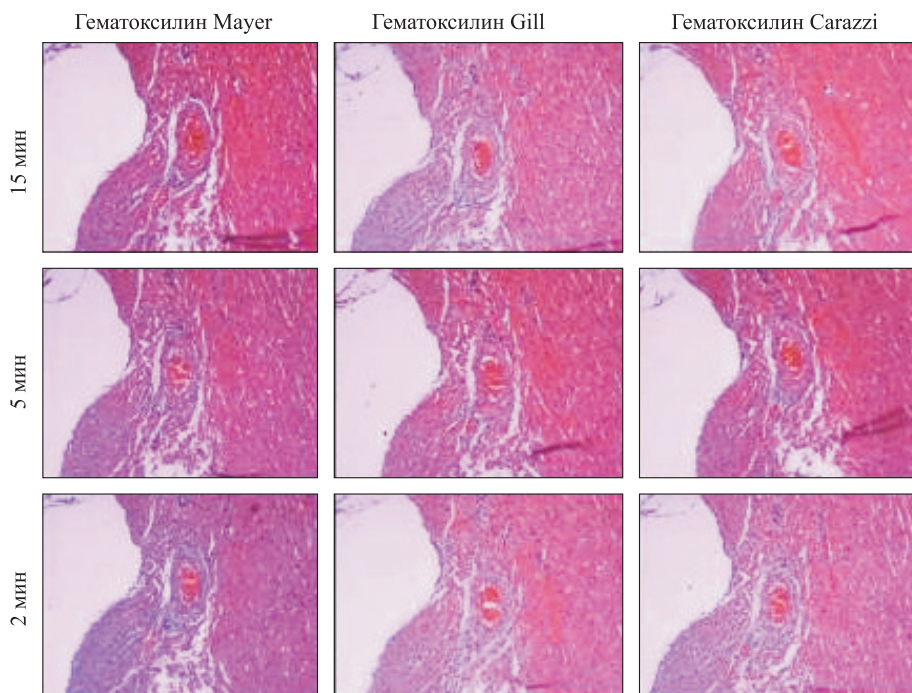
**Fig. 4.** Staining of the rat spleen using progressive hematoxylin (Mayer, Gill, and Carazzi) during 2, 5, and 15 minutes for the optimisation of the staining protocol. Magnification  $\times 200$



**Рис. 5.** Сравнительное окрашивание аорты крысы прогрессивными гематоксилинами (Mayer, Gill и Carazzi) в течение 2, 5 и 15 мин для оптимизации протокола окрашивания. Увеличение  $\times 200$

**Fig. 5.** Staining of the rat aorta using progressive hematoxylin (Mayer, Gill, and Carazzi) during 2, 5, and 15 minutes for the optimisation of the staining protocol. Magnification  $\times 200$





**Рис. 6.** Сравнительное окрашивание миокарда крысы прогрессивными гематоксилинами (Mayer, Gill и Carazzi) в течение 2, 5 и 15 мин для оптимизации протокола окрашивания. Увеличение  $\times 200$

**Fig. 6.** Staining of the rat myocardium using progressive hematoxylin (Mayer, Gill, and Carazzi) during 2, 5, and 15 minutes for the optimisation of the staining protocol. Magnification  $\times 200$

ние 2 мин (рис. 6). Важно отметить, что именно в отношении окрашивания селезенки принципиально именно 2-минутное (а не 1-минутное) воздействие эозина для максимального окрашивания слабовыраженных относительно других тканей цитоплазмы и внеклеточного матрикса (для аорты, печени и миокарда это менее актуально, хотя и позволяет максимально исключить артефакты, по мнению авторов).

Еще одним важным моментом в оптимизации протокола окрашивания тканей гематоксилином и эозином является модель камеры для микрофото съемки. Некоторые из них увеличивают контраст при слабовыраженном окрашивании, однако это приводит к избыточному контрастированию (нарушению цветовой гаммы и возникновению эффекта «слияния ядер») при изначально качественном окрашивании, и видимые исследователем в микроскоп и на экране монитора гистологические картины существенно различаются. Это также необходимо учитывать при оптимизации протокола окрашивания в каждой конкретной лаборатории. Кроме того, оценка качества окрашивания гематоксилином и эозином (в особенности при сравнении различных видов прогрессивных гематоксилинов) сугубо качественная и поэтому в значительной степени зависит от цветовосприятия гистолога.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Оптимальным способом окрашивания аорты гематоксилином в сочетании с 2-минутным окрашиванием эозином является использование гематоксилина Carazzi в течение 15 мин, для окрашивания печени рекомендуется применять гематоксилин Carazzi или Gill в течение 15 мин либо гематоксилин Mayer в течение 5 мин, окрашивание миокарда оптимально при использовании гематоксилина Carazzi или Gill в течение 15 мин, а для окрашивания селезенки следует использовать гематоксилин Carazzi в течение 5 мин.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Меркулов Г.А. Курс патологистологической техники. 5-е изд., испр. и доп. Л.: Медицина, 1969. 423 с.  
Merkulov G.A. A Textbook of pathohistological techniques. 5<sup>th</sup> ed. Leningrad: Meditsina, 1969. 423 p. [In Russian].
2. Коржевский Д.Э. Применение гематоксилина в гистологической технике. *Морфология*. 2007; 132 (6): 77–81.  
Korzhevskiy D.E. Application of hematoxylin in histological technique. *Morfologiya = Morphology*. 2007; 132 (6): 77–81. [In Russian].



3. Коржевский Д.Э., Гилерович Е.Г., Кирик О.В., Сухорукова Е.Г., Григорьев И.П. Морфологическая диагностика: подготовка материала для морфологического исследования и электронной микроскопии. СПб.: СпецЛит, 2013. С. 47–58.

Korzhevskiy D.E., Gilerovich E.G., Kirik O.V., Sukhorukova E.G., Grigoriev I.P. Morphological diagnostics: preparation of material for morphological research and electron microscopy. Saint-Petersburg: SpetsLit, 2013. 47–58. [In Russian].

4. Прокопьев Ю.А., Фоменко Д.В., Кизиченко Н.В., Кудрявцева Ю.А., Борисов В.В., Попова А.П., Михайлова Н.Н. Методические подходы к изучению антракосиликоза как фактора риска морфологических нарушений сосудов. *Комплекс. пробл. серд.-сосуд. заболеваний*. 2015; 4 (3): 23–27.

Prokopyev Yu.A., Fomenko D.V., Kizichenko N.V., Kudryavtseva Yu.A., Borisov V.V., Popova A.P., Mikhaylova N.N. Methodical approaches to study of the anthracosilicosis as a factor of risk to morphological diseases of blood vessels. *Kompleksnyye problemy serdechno-sosudistykh zabolevaniy = Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2015; 4 (3): 23–27. [In Russian].

5. Avwioro G. Histochemical uses of haematoxylin. *JPCS*. 2011; 1 (5): 24–34.

6. Bancroft J.D., Layton C. The hematoxylin and eosin. In: *Bancroft's theory and practice of histological techniques, 8<sup>th</sup> ed.* Eds. K. Suvarna, C. Layton, J. Bancroft. Elsevier, 2019: 126–139.

7. Chan J.K. The wonderful colors of the hematoxylin-eosin stain in diagnostic surgical pathology. *Int. J. Surg. Pathol.* 2014; 22 (1): 12–32. doi: 10.1177/1066896913517939

8. Feldman A.T., Wolfe D. Tissue processing and hematoxylin and eosin staining. *Methods Mol. Biol.* 2014; 1180: 31–43. doi: 10.1007/978-1-4939-1050-2\_3

9. Fischer A.H., Jacobson K.A., Rose J., Zeller R. Hematoxylin and eosin staining of tissue and cell sections. *CSH Protoc.* 2008; 2008: pdb.prot4986. doi: 10.1101/pdb.prot4986

10. Li Y., Li N., Yu X., Huang K., Zheng T., Cheng X., Zeng S., Li X. Hematoxylin and eosin staining of intact tissues via delipidation and ultrasound. *Sci. Rep.* 2018; 8 (1): 12259. doi: 10.1038/s41598-018-30755-5

11. Martina J.D., Simmons C., Jukic D.M. High-definition hematoxylin and eosin staining in a transition to digital pathology. *J. Pathol. Inform.* 2011; 2: 45. doi: 10.4103/2153-3539.86284

12. Senturk G.E., Canillioğlu Y.E. Which histochemical staining technique should I choose for biological specimens. In: *Microscopy: advances in scientific research and education*. Ed. A. Mendez-Vilas. Formatex Research Center, 2014: 769–775.

13. Titford M. The long history of hematoxylin. *Biotech. Histochem.* 2005; 80 (2): 73–78. doi: 10.1080/10520290500138372

14. Turkki R., Linder N., Kovanen P., Pellinen T., Lundin J. Identification of immune cell infiltration in hematoxylin-eosin stained breast cancer samples: texture-based classification of tissue morphologies. *Proc. SPIE*. 2016; 9791: 979110. doi: 10.1117/12.2217040

15. Zarella M.D., Yeoh C., Breen D.E., Garcia F.U. An alternative reference space for H&E color normalization. *PLoS One*. 2017; 12 (3): e0174489. doi: 10.1371/journal.pone.0174489

#### Сведения об авторах:

Богданов Л.А., ORCID: 0000-0003-4124-2316, e-mail: bogdanovleone@gmail.com

Шишкова Д.К., ORCID: 0000-0002-1518-3888, e-mail: shishkovadk@gmail.com

Кутихин А.Г., к.м.н., ORCID: 0000-0001-8679-4857, e-mail: antonkutikhin@gmail.com

#### Information about authors:

Bogdanov L.A., ORCID: 0000-0003-4124-2316, e-mail: bogdanovleone@gmail.com

Shishkova D.K., ORCID: 0000-0002-1518-3888, e-mail: shishkovadk@gmail.com

Kutikhin A.G., candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0001-8679-4857, e-mail: antonkutikhin@gmail.com