UDK: 611.08

GISTOLOGIK DIAGNOSTIKADA BO‘YOQLARNING QO‘LLANILISHI: AN’ANAVIY VA ZAMONAVIY USULLARNI TAHLIL QILISH

Ahrorov Abdulaziz Azizjonovich – talaba
Rustamova Farangiz Otaxon qizi – talaba
Omonov Shoxrux Raximovich - assistent
Sobirova Dildora Ravshanovna – t.f.n., dotsent
Toshkent tibbiyot akademiyasi (Toshkent, O‘zbekiston)

Annotatsiya. *Ushbu maqola gistologik bo‘yoqlar va ularni o‘quv hamda ilmiy tadqiqotlarda qo‘llashga qaratilgan tarixiy istiqbollarni ta’kidlashga qaratilgan. Dastlabki gistologlar to‘qimalarni bo‘yash uchun alizarin, karmin va saffaron kabi mahalliy moddalardan foydalangan bo‘lsa, zamonaviy gistologlar hujayra organellalari va to‘qimalar ichidagi moddalarni o‘rganish usullaridan foydalanadilar. XX asrda yangi bo‘yash usullari paydo bo‘lishiga, eskilarini o‘zgartirishga va tabiiy bo‘yoqlardan foydalanishning kamayishiga qaramay, ba’zi o‘tmishda ishlatilgan bo‘yoqlar hali ham juda ko‘p qo‘llaniladi. Ushbu usullar to‘qimalarda turli xil moddalarni namoyish qilish va namoyish qilish uchun o‘qitish va tadqiqotlarda qo‘llaniladi. Bularga parazitlar va zamburug‘lar uchun Giemsa bo‘yoqlari, kollagen uchun trixromli bo‘yoq, lipidlar uchun yog‘li qizil O bo‘yoqlari, glikogen uchun Schiff davriy kislotasi, Nissl granulalari uchun kristalli binafsha rang, neyron hujayralari uchun Golji binoni, shuningdek, umumiy gistologiya uchun odatiy gematoksilin va eozin kiradi (H&E). Gistologik bo‘yoqlar: gistologiya, hujayra patologiyasi, mikrobiologiya va parazitologiyani o‘rganish uchun ishlatiladi. Ular kasallikning rivojlanish tezligini yoki kasallikni davolash jarayonini o‘rganish uchun ham ishlatilishi mumkin.*

Kalit so‘zlar: *eozin, gematoksilin, kristal binafsharang bo‘yoq, gimza bo‘yog‘i, trixromli bo‘yoq, Schiff davriy kislotasi.*

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КРАСИТЕЛЕЙ В ГИСТОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ: АНАЛИЗ ТРАДИЦИОННЫХ И СОВРЕМЕННЫХ МЕТОДОВ

Ахроров Абдулазиз Азизжонович – студент
Рустамова Фарангиз Отахон кизи – студент
Омонов Шохрух Рахимович - ассистент
Собирова Дилдора Равшановна – к.м.н., доцент
Ташкентская медицинская академия (Ташкент, Узбекистан)

Аннотация. *Целью данной статьи является освещение исторических перспектив гистологических красителей и их использования в обучении и исследованиях. В то время как ранние гистологи использовали для окрашивания тканей местные вещества, такие как ализарин, кармин и шафран, современные гистологи используют методы изучения клеточных органелл и веществ внутри тканей. Несмотря на появление новых методов окрашивания, модификацию старых и сокращение использования натуральных красителей в XX веке, некоторые красители, применявшиеся в прошлом, по-прежнему широко используются. Эти методы используются в обучении и исследованиях для демонстрации и демонстрации различных веществ в тканях. К ним относятся окраски Гимзы для паразитов и грибков, трихромная окраска для коллагена, масляный красный О для липидов, периодическая кислота Шиффа для гликогена, кристаллический фиолетовый для гранул Ниссля, окраска Гольджи для нейрональных клеток, а также, для общей гистологии, включает обычный гематоксилин. и эозином (H&E). Гистологические окраски: используются для изучения гистологии, клеточной патологии, микробиологии и паразитологии. Их также можно использовать для изучения скорости прогрессирования заболевания или процесса лечения заболевания.*

Ключевые слова: *эозин, гематоксилин, кристаллический фиолетовый, краситель Гимза, трихромная окраска, периодическая кислота Шиффа.*

USE OF STAINS IN HISTOLOGICAL DIAGNOSTICS: ANALYSIS OF TRADITIONAL AND MODERN METHODS

Akhrorov Abdulaziz Azizjonovich – student
Rustamova Farangiz Otakhon kizi – student
Omonov Shokhrukh Rakhimovich - assistant
Sobirova Dildora Ravshanovna – C.M.Sc., associate professor
Tashkent Medical Academy (Tashkent, Uzbekistan)

Annotation. *This article is aimed at highlighting the historical perspectives on histological stains and their application in educational and scientific research. While early histologists used local substances such as alizarin, carmine, and saffron to stain tissues, modern histologists use methods to study cell organelles and substances within tissues. Despite the emergence of new staining methods in the 20th century, the modification of old ones, and the decrease in the use of natural dyes, some of the dyes used in the past are still widely used. These techniques are used in teaching and research to visualize and demonstrate various substances in tissues. These include Giemsa stains for parasites and fungi, trichrome stain for collagen, oil red O stains for lipids, periodic acid Schiff for glycogen, crystal violet for Nissl granules, Golgi stain for neuronal cells, and the usual hematoxylin and eosin (H&E) for general histology. Histological stains: are used to study histology, cellular pathology, microbiology, and parasitology. They can also be used to study the rate of disease progression or the course of disease treatment.*

Key words: *eosin, hematoxylin, crystal violet stain, Gimesa stain, trichrome stain, periodic acid Schiff*

Gistologiya to‘qimalarning mikroskopik tuzilishini ularning funksiyasini baholash uchun o‘rganishni o‘z ichiga oladi [32]. Yorug‘lik mikroskoplari shaffof shisha linzalar va ko‘rinadigan yorug‘likdan foydalanadi, elektron mikroskoplar esa kichik hujayrali tuzilmalardan olingan tasvirlarni kattalashtirish uchun elektronlar nurlari va elektron detektordan foydalanadilar [8,10]. Mikroskoplar tuzilmalarni ko‘rinadigan yorug‘lik to‘lqin uzunligi (390 va 700 nanometr) yoki elektron nurlar (ko‘rinadigan yorug‘likdan 100 000 marta kichik) tartibiga qarab ajrata oladi. Yorug‘lik mikroskoplari bir necha yuzlab nanometrlardan kichikroq narsalarni kuzatish uchun ishlatilmaydi, ammo elektron mikroskoplar qisqa to‘lqin uzunligi tufayli yuqori aniqlikka ega va kichikroq obyektlarning tuzilishini ochib, farqlay oladi [9]. Yorug‘lik mikroskoplari strukturalarni <100 nanometrdan kattalashtirishga qodir emasligiga qaramay, ular tasvirlarning to‘liq rangini saqlab qoladi va vakuumni talab qilmasdan nam namunalarni o‘rganish uchun ishlatilishi mumkin. Demak, yorug‘lik mikroskoplari hali ham gistologiyada keng qo‘llaniladigan uskuna bo‘lib qolmoqda [14]. To‘qimalarni bo‘yashdan oldin tayyorlash uchun odatiy gistologik usullarning bosqichlari quyidagilardan iborat: fiksatsiya, suvsizlanish, tozalash, joylashtirish, kesish va regidratatsiya [30]. Doimiy gematoksilin-eozin (H&E) bo‘yog‘i odatda gistologiyada qo‘llaniladi, maxsus hollarda esa to‘qimalarda kollagen tolalari, mis, temir va yog‘ tomchilari mavjudligini ko‘rsatish uchun maxsus bo‘yoqlardan foydalaniladi. Maxsus bo‘yoqlar orasida uglevodlar uchun Schiff davriy kislotasi (PAS), kollagen uchun Masson trixromi, yog‘ to‘qimalari uchun Sudan va moy qizil O bo‘yoq, temir uchun Perl bo‘yog‘i va mis uchun Rodanin bo‘yog‘i ishlatiladi [7,31]. Moy qizil O bo‘yash uchun to‘qimalarni tayyorlash jarayoni faqat muzlatish va kesishni o‘z ichiga oladi. Maxsus bo‘yoqlar to‘qimalar, hujayralar, organellalar, uglevodlar, yog‘lar, minerallar, fermentlar va boshqalarni ko‘rish, aniqlash va ajratish uchun ba’zi asosiy kimyoviy reaktsiyalarga bog‘liq [16]. Ushbu maxsus bo‘yoqlar to‘qimalarning kontrastini yaxshilaydi, hayotiy hujayra organellalarini namoyish etadi va kasalliklarni tashxislash va patogenlarni aniqlashda yordam beradi.

Gemotoksilin va eosin (H&E).

Gematoksilin tabiiy ravishda paydo bo‘lgan asosiy bo‘yoq bo‘lib, odatda gistologiyada yadrolarni ko‘k rangga bo‘yash uchun ishlatiladi. Eozin kislotali bo‘yoq bo‘lib, asosan oqsillar bilan bog‘lanadi va sitoplazmani pushti rangga ega bo‘yaydi [3,6]. Gematoksilin gematingacha oksidlanmaguncha bo‘yalmaydi. Oksidlanish gematoksilinni atmosfera kislorodiga ta’sir qilish orqali sekin va o‘z-o‘zidan bo‘lishi mumkin yoki oksidlovchi moddalar, masalan, natriy yodat (Gill) yoki simob oksidi (Harris) qo‘shilishi bilan tez sodir bo‘lishi mumkin. H & E - gistologiyada eng keng tarqalgan bo‘yash usuli. U to‘qimalarning umumiy tuzilishini ko‘rsatadi, bu normal, degeneratsiyalangan yoki yallig‘langan hujayralarni aniqlash uchun tuzilmalarni farqlashga imkon beradi [2]. H&E parafin va muzlatilgan bo‘laklarni, shuningdek, siydik, vaginal smear va balg‘am kabi klinik va sitologik namunalarni bo‘yash uchun ishlatilishi mumkin. H & E bo‘yoqlari to‘qimalarning umumiy tuzilishini ko‘rsatishi mumkin, bu mikroskopik anatomiyani o‘rgatishda va tadqiqot maqsadlarida ishlatiladigan eng keng tarqalgan bo‘yoqdir. To‘qimalarni H & E bilan bo‘yaganda, yadrolar va xromatin to‘q ko‘k rangga ega bo‘lib, sitoplazma eozin Y bilan qizil-to‘q sariq rangda va ikkala eozin B va eritrozin B bilan qizil, kollagen, elastin va eritrotsitlar esa eozin Y bilan sariq-to‘q sariq rangda, eozin B va eritrozin B1 bilan qizil-to‘q sariq rangga bo‘yaladi.

Gimza bo‘yog‘i.

Gimza bo‘yog‘i gematopoetik to‘qimalarda mavjud bo‘lgan hujayralarni farqlash, shuningdek, parazitlar va qo‘ziqorinlarni aniqlash imkonini beradi. Uni 1904-yilda nemis bakteriologi Gustav Giemsa kashf etgan [18]. Giemsa bo‘yog‘i qon surtmalarida bezgak parazitlarini aniqlashning oltin standarti hisoblanadi [28]. Bo‘yoq klinik mikrobiologiyada juda keng qo‘llaniladi, chunki u infektsiyalangan eritrotsitlardagi Plasmodium turlarining morfologik farqlarini aniqlashga qodir [18]. Giemsa bo‘yog‘i sitomegalovirus infektsiyasida inklyuziya jismlarini (boyqush ko‘zining ko‘rinishi) ajratib ko‘rsatish va Parvovirus B19 infektsiyasini diagnostikalash uchun ulkan proeritroblastlarni ko‘rsatish uchun ishlatilishi mumkin. Bundan tashqari, Filaria, Pneumocystis, Tripanosoma, Histoplasma va Leishmania kabi mikroorganizmlarni bo‘yash uchun ham ishlatiladi [13,20]. Ushbu bo‘yoq mikroorganizmlarni aniqlashda qo‘llanilganligi sababli, u turli yuqumli agentlarni tashxislash, shuningdek, mikrobiologiya, parazitologiya, virusologiya va ilmiy tadqiqotlarda keng qo‘llaniladi [20]. Qon surtmalarida Plasmodium turlari bilan zararlangan eritrosit-

lar qizil rangga bo‘yaladi [28]. To‘qimalar bo‘limlarida yadrolar ko‘k rangda, sitoplazmasi och ko‘k rangda, eritrotsitlar esa sarg‘ish-pushti rangda bo‘yaladi [4].

Trixromli bo‘yoq.

Trixromli bo‘oq yadrolarni, sitoplazmani va kollagenni turlicha bo‘yaydigan uchta bo‘yoqdan iborat [23]. Uchta keng tarqalgan trixromli bo‘yoqlar: Masson trixromi, Van Geison bo‘yog‘i va Gomori trixromi hisoblanadi. Masson trixromi yadrolarni qora, sitoplazma va miotsitlarni qizil va mos ravishda kollagenni ko‘k yoki yashil rangga bo‘yash uchun temir gematoksilin, Biebrich qizil va anilin ko‘k yoki och yashil ranglar bilan ketma-ket bo‘yashdan iborat. Matritsa va osteoid chegarasi qizil, biriktiruvchi to‘qima pushti, sintetik suyak o‘rnini bosuvchi moddalar yorqin yashil ko‘rinadi. Gomori trixromida barcha bo‘yoqlar muzli sirka va fosfotungstik kislotalar bilan birga bitta eritmada mavjud. Bu yerda qizil rang 2R xromotopi tomonidan beriladi. Ushbu usulda kerosinli ko‘milgan va muzlatilgan bo‘laklardagi to‘qimalarning tarkibiy qismlarining ko‘rinishi farqlanadi. Kerosin singdirilgan to‘qimalar, kollagen va musin yashil rangda, mushak tolalari, sitoplazma va keratin qizil, yadrolar esa ko‘k yoki qora rangda ko‘rinadi [21]. Muzlatilgan bo‘limlarda mushak tolalari yashil, oraliq biriktiruvchi to‘qima och yashil rangda, mitoxondriyalar qizil, miyelinli nerv tolalari qizil, yadrolari esa ko‘k rangda ko‘rinadi. Van Geison bo‘yog‘ining mexanizmi to‘liq aniqlanmagan. Biroq, u to‘qima komponentlarini boshqacha bo‘yaydi [5]. Bu yerda kollagen qizil, yadro esa qora rangda ko‘rinadi. Trixromli bo‘yoqlar to‘qimalarda fibrozni baholash uchun ishlatiladi. U kollagenlar va atrofdagi biriktiruvchi to‘qima va hujayralar o‘rtasidagi aniq kontrastni ta’minlash orqali kasallikning bosqichi haqida muhim ma’lumot beradi [5]. U dori va terapevtik vositalarning ta’sirini o‘rganish uchun ishlatilishi mumkin. Shuningdek, kollagen tolalari va oshqozon osti bezi β-hujayralarini bo‘yash uchun eksperimental hayvonlarda qandli diabet turlarini farqlash uchun ham ishlatiladi. Shunday qilib, u hujayra patologiyasi, endokrinologiya va eksperimental toksikologiya sohalarida keng qo‘llaniladi [1,11].

Kristal binafsha bo‘yoq.

Kristal binafsha bo‘yoq katyonik to‘qimachilik va biologik bo‘yoq hisoblanadi. U kanserogen bo‘lib, shuning uchun uni oqava suvdan olib tashlash yoki atrof-muhitga salbiy ta’sir qilishning oldini olish kerak [26]. Adsorbsiya, koagulyatsiya, cho‘ktirish va membranani filtrlash kabi turli usullar suvli tizimlardan bo‘yoqlarni olib tashlash uchun ishlatilgan. Kristal binafsha bo‘yoqning past biologik parchalanadigan tabiati va oqava suvdagi yuqori barqarorligi tufayli biologik tozalash orqali bo‘yoqlarni olib tashlash unchalik samarali emasligi isbotlangan [12]. Kristal binafsha bo‘yog‘i Nissl tanachalarini bo‘yash uchun ishlatiladi. Nissl tanachalari ma’lum patologik sharoitlarda erishi va yo‘qolishi mumkinligi sababli, ularning miya to‘qimalarida mavjudligi yoki yo‘qligi neyrodegenerativ kasalliklar diagnostikasida juda ahamiyatlidir [12]. Kristal binafsha kislotali organellalarda, masalan, Nissl tanachalari to‘q ko‘kdan binafsha ranggacha bo‘lgan lizosomalarda to‘plangan atsidotropik birikmadir [27].

Schiff davriy kislotasi.

Schiff davriy kislota (PAS) bo‘yog‘i McManus [25], Hotchkiss [17] va Lillie [22] tomonidan kashf qilingan. PAS reaksiyasining kimyoviy asosi davriy kislotaning glikollarni aldegidning ikki molekulasiga oksidlash qobiliyatiga bog‘liqdir [24]. Schiff reaktivi bilan reaksiyaga kirishgandan so‘ng ajralib chiqadigan pararosanilin qo‘shimchasi barcha glikol o‘z ichiga olgan hujayra komponentlarini bo‘yaydi [17]. PAS bo‘yog‘i to‘qima bo‘limlarida mukopolisaxaridlar va zamburug‘larni ko‘rsatish uchun ishlatiladi [19]. Diastaza (α-amilaza) hazm qilish bilan birgalikda glikogenni saqlash kasalligini tashxislash uchun ishlatiladi [29]. PAS glikolipidlar, glikogen, kollagen tolalari, neytral shilliq moddalar, fosfolipidlar va bazal membranalarni pushti, qizil yoki binafsha rangda, yadrolari esa ko‘k rangga bo‘yaydi. Agar α-amilaza yoki diastaza salbiy nazorat sifatida ishlatilsa, glikogen chiqariladi va plazma membranasi pushti rangga kiradi [15].

Xulosa. Gistologik bo‘yoqlar mikroskopik anatomiyada to‘qimalarning umumiy arxitekturasini o‘rganish va to‘qimalar bo‘limlarida uglevodlar, yog‘lar, kollagen va retikulyar tolalar kabi turli moddalarni ko‘rsatish va ularning funksional xususiyatlariga baho berish uchun ishlatiladi. Turli bo‘yoq usullari (masalan, H&E, Masson trixromi, Sudan qora va boshqalar) diagnostika jarayonida to‘qimalarning patologik holatlarini farqlash imkonini beradi. Bundan tashqari, gistologik bo‘yoqlar gistologiya, hujayra patologiyasi, virusologiya, mikrobiologiya va parazitologiyada ham keng qo‘llaniladi.

ADABIYOTLAR

1. Agarwal N, Sharma AK. Trichrome staining for detecting ofintestinal protozoa, a better screening method. The Journalof Communicable Diseases. 2006; 38:17913212.

2. Allison RT. Haematoxylin from the wood. Journal of Clinical Pathology. 1999; 52(7): 527–8. PMID: 10605407. Availablefrom: 10.1136/jcp.52.7. 527.

3. Baker JR. Experiments onthe action of mordants 2 aluminiumhematein. The Quarterly Journal of Microscopical Science.1962;103:493–517.

4. Buesa RJ. Giemsa Staining of Tissue Section: A NewTwist on an Old Techniques. Journal of Histotechnology.2001;4(4):251–3. Available from: 10.1179/his.2001.24.4.251.

5. Chen J, Lee SK, Abd-Elgaliel WR, Liang L, Galende EY, Hajjar RJ.Assessment of cardiovascular fibrosis using novel fluorescentprobes. PLoS One. 2011;6(4):e19097. PMID: 21533060. Available from: 10.1371/journal.pone.0019097.

6. Cook HC. Origins of ... tinctorial methods in histology. Journal of Clinical Pathology. 1997; 50(9):

716–20. PMID: 9389971. Available from: 10.1136/jcp.50.9.716.

7. Dibal NI, Garba SH, Jacks TW. Morphological Assessment ofEpididymal Sperm in Wistar Rats Using Different HistologicalStains. Acta Vet Eurasia. 2020;46(3):132–6. Available from: 10.5152/actavet.2020.20018.

8. Egerton RF. Physical Principles of Electron Microscopy. Boston (MA): Springer; 2005. Available from: 10.1007/0-387-26016-1_1.

9. Egerton RF. Physical Principles of Electron Microscopy. Boston (MA): Springer; 2005. Available from: 10.1007/0-387-26016-1_1.

10. Elliot AD. Confocal Microscopy: principles and modern practice. Current Protocols in Cytometry. 2020;92(1):e68. Available from: 10.1002/cpcy.68.

11. Gaytan F, Morales C, Reymundo C, Tena-Sempere M. Anovel RGB-trichrome staining method for routine histological analysis of musculoskeletal tissues. Scientific Reports.2020;10(1):16659. PMID: 33028938. Available from: 10.1038/s41598-020-74031-x.

12. Garg VK, Gupta R, Yadav AB, Kumar R. Dye removal from aqueous solution by adsorption on treated sawdust. Bioresource Technology. 2003; 89(2): 121–4. PMID: 12699929. Availablefrom: 10.1016/S0960-8524(03)00058-0.

13. Gupta E, Bhalla P, Khurana N, Singh T. Histopathology for thediagnosis of infectious diseases. Indian Journal of MedicalMicrobiology. 2009; 27(2): 100–6. PMID: 19384030. Availablefrom: 10.4103/0255-0857.49423.

14. Gunning PA. Morris VJ, Groves K, editors. Light Microscopy: Principles and applications to food microstructures. Woodhead Publishing; 2013. Available from: 10.1533/9780857098894.1.62.

15. Hauber HP, Zabel P. PAS staining of bronchoalveolar lavagecells for differential diagnosis of interstitial lung disease. Diagnostic Pathology. 2009; 4(1):13. PMID: 19389250. Availablefrom: 10.1186/1746-1596-4-13.

16. Hafer L, Cheles M, Couture R, et al. Guide to Special Stains. andothers, editor. California, USA: Carpinteria; 2004.

17. Hotchkiss RD. A microchemical reaction resulting in thestaining of polysaccharide structures in fixed tissue preparations. Archives of Biochemistry. 1948;16(1):131–41. PMID:18921848.

18. Jager MM, Murk JL, Piqué RD, Hekker TA, VandenbrouckeGrauls CM. Five-minute Giemsa stain for rapid detectionof malaria parasites in blood smears. Tropical Doctor.2011; 41(1): 33–5. PMID: 21088023. Available from: 10.1258/td.2010.100218.

19. Kligman AM, Mescon H. The periodic acid-Schiff stain for thedemonstration of fungi in animal tissue. Journal of Bacteriology. 1950; 60(4): 415–21. PMID: 14784469. Available from:10.1128/jb.60.4.415-421.1950.

20. Koduri PR. Novel cytomorphology of the giant proerythroblasts of parvovirus B19 infection. American Journal ofHematology. 1998;58(2):95–9. PMID: 9625574. Availablefrom: 10.1002/(SICI)1096-8652(199806)58:2<95::AID-AJH1>3.0.CO;2-V.

21. Kumar GL, Kiernan JA. Special Stains and H & E. California,USA: Dako North America; 2010.

22. Lillie RD. Simplication of the manufacture of Schiff reagentfor use in histochemical procedures. Stain Technology. 1951; 26(3): 163–5. PMID: 14855166. Available from: 10.3109/10520295109113200.

23. Masson P. Trichrome staining and their preliminary technique.J Tech Meth. 1929;12:75–90.

24. Malaprade L. Action of polyalcohol on periodic acid analytical application. Bulletin de la Societe Chimique de France.1928;43:683–96.

25. McMANUS JF. Histological demonstration of mucin after periodic acid. Nature. 1946; 158 (4006): 202. PMID: 20995486. Available from: 10.1038/158202a0.

26. Muthukumarana M, Sivakumar VM, Thirumarimurugan M. Adsorption isotherms and kinetic studies of crystal violet dye removal from aqueous solution using surfactant modified magnetic nanoadsorbent. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers. 2016; 63:354–62. Available from: 10.1016/j.jtice. 2016.03.034.

27. Ostrowski PP, Fairn GD, Grinstein S, Johnson DE. Cresyl violet:a superior fluorescent lysosomal marker. Traffic (Copenhagen,Denmark). 2016; 17(12): 1313–21. PMID: 27621028. Availablefrom: 10.1111/tra.12447.

28. Sathpathi S, Mohanty AK, Satpathi P, Mishra SK, Behera PK, Patel G. Comparing Leishman and Giemsa staining for the assessment of peripheral blood smear preparations in a malariaendemic region in India. Malaria Journal.2014;13(1):512. PMID: 25551376. Available from: 10.1186/1475-2875-13-512.

29. Sheehan DC, Hrapchak BB. Theory and practice in histotechnology. Missouri, USA: CV Mosby Inc; 1980.

30. Titford M. Progress in the development of microscopical techniques for diagnostic pathology. Journal of Histotechnology.2009;32(1):9–19. Available from: 10.1179/his.2009.32.1.9.

31. Wang J, Zhang H, Ji J, Wang L, Lv W, He Y. A histologicalstudy of atherosclerotic characteristics in age-related macular degeneration. Heliyon. 2022;8(3):e08973. PMID: 35252605.Available from: 10.1016/j.heliyon.2022.e08973.

32. Widbiller M, Rothmaier C, Saliter D, Wölflick M, Rosendahl A,Buchalla W. Histology of human teeth: standard and specific staining methods revisited. Archives of Oral Biology.2021; 127: 105136. PMID: 34044318. Available from: 10.1016/j.archoralbio.2021.105136.