

Е. Н. ПАРАВЯН

ГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ АКТИВНОСТИ КИСЛОЙ ФОСФАТАЗЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА РАЗНЫХ ВИДОВ ЖИВОТНЫХ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ЗНАЧЕНИЯХ рН

Гистохимическое определение активности кислой фосфатазы в клеточных структурах центральной нервной системы показало локализацию фермента в перикарионе и отростках большинства нервных клеток, нервных волокнах и ядрах глии [1—3].

Идентичная активность ферментов отмечалась в экстра и интрамуральных ганглиях [4—8].

Некоторые авторы высказали сомнения в отношении специфичности метода Гомори, считая полученные картины артефактами, обусловленными неспецифическим отложением свинца [9, 10]. Ньюман, Кабат и Вольф [11], проверяя специфичность метода Гомори, изучили активность кислой фосфатазы кроликов, мышей и морских свинок при различных значениях рН среды. Они указывали на общую реакцию мозгового вещества. Однако подробные исследования кислой фосфатазы всех отделов мозга у различных видов животных при различных значениях рН отсутствуют. Наши исследования по применению соединений свинца при изучении мозгового вещества показали существенное отличие в реакции капилляров мозга у разных видов животных [12]. Полученные факты побудили нас в настоящем исследовании проводить определение активности кислой фосфатазы при различных значениях рН с целью установления изменений активности энзима и характера локализации осадка в разных клеточных структурах.

Методика. Материалом для исследования служили различные отделы головного мозга 20 кошек, 8 собак, 17 кур и 32 лягушек. Животные умерщвлялись декапитацией, извлекался головной мозг, разрезался на кусочки толщиной 3—5 мм, фиксировался в 10% нейтральном формалине на холоде в течение 18—20 час., готовились замороженные срезы по 25—30 μ , промывались в дистиллированной воде; определение активности кислой фосфатазы производилось по методу Гомори в прописи Вольфа, Кабата и Ньюмана [1] при следующих значениях рН субстрата: 3,3, 3,8, 4,1, 4,4, 4, 7, 5,0, 5,3, 5,6, 5,9 и 6,2. Срезы инкубировались в течение 8—24 час. при 37°, после чего переносились в сернистый натрий или аммоний и заключались в глицерин-желатин.

Полученные результаты. На препаратах полушарий головного мозга кошек при низких значениях рН 3,3—3,8 выявлялись умеренно окрашенные, достигающие значительной длины, толстые и тонкие нервные волокна. В белом и сером веществах диффузно окрашивались ядра нейро-

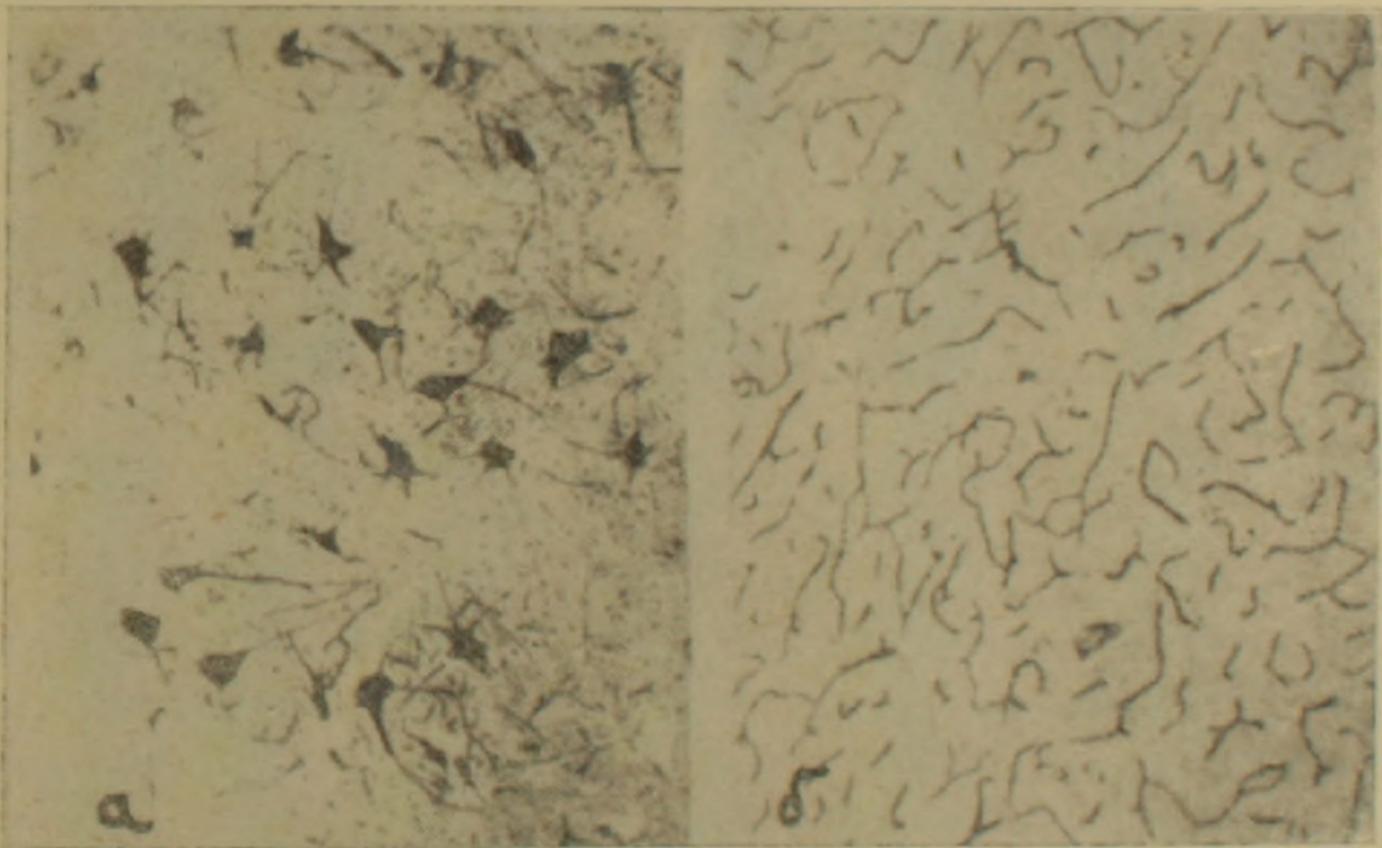
глии. На отдельных участках препарата окрашивались малые пирамидные клетки с интенсивно окрашенным ядром, а перикарион и отростки выявлялись слабее. Вторичные и конечные разветвления дендритов негативны. При рН субстрата 4,1—4,4—4,7 начинали реагировать нервные клетки всех слоев коры полушарий головного мозга кроме молекулярного. Отростки клеток прослеживались на значительном расстоянии, местами верхушечные дендриты достигали молекулярного слоя. Интенсивность окраски ядер и нервных волокон варьировала. В единичных кровеносных сосудах реагировали ядра клеток сосудистой стенки. При рН 5,3—5,6 ослабевала реакция ядер и нервных волокон, в основном окрашивались перикарион и короткие отростки нервных клеток, выявляющиеся за счет мелкозернистого осадка. Как в сером, так и в белом веществах окрашивалась стенка кровеносных сосудов и капилляров, которые выявлялись более равномерно и умеренно по всей поверхности препарата при рН 5,9—6,2, а ядра клеток и нервные волокна в этих условиях не окрашивались.

В мозжечке кошек при рН 3,8—4,1 интенсивно реагировали ядра глии и нервные волокна серого и белого вещества. Особенно четко выявлялись горизонтальные волокна в нижней половине молекулярного слоя. На некоторых участках препарата слабо окрашивался перикарион клеток Пуркинье, оплетающие их отростки корзинчатых клеток реагировали интенсивнее, основные дендриты клеток Пуркинье прослеживались на значительном расстоянии. При рН 4,4—4,7 увеличивалось количество окрашенных нервных клеток ядер мозжечка, а при более высоких значениях рН 5,6—5,9 реагировали клетки Гольджи зернистого слоя, с умеренно окрашенным перикарионом, отростки их не выявлялись. Нервные клетки ядер мозжечка и клетки Пуркинье окрашивались гранулярно. Активность фермента в ядрах и нервных волокнах отсутствовала. Выявлялась также капиллярная стенка, реакция которой при рН 6,2 становилась более четкой, на чистом фоне окрашивались только капилляры.

На срезах среднего мозга интенсивно и диффузно окрашивались ядра нервных и глиальных клеток и нервные волокна при рН 3,3—3,8. Вокруг сильвиева водопровода интенсивно реагировали ядра эпендимальных клеток, вентральнее сильвиева водопровода, близ заднепродольного пучка выявлялись нервные клетки различной величины с диффузным перикарионом и короткими отростками. С повышением значений рН начинали реагировать нервные клетки ретикулярной формации, собственных ядер моста, межножкового узла, ядер двухолмия, черной субстанции. Перикарион их диффузно окрашен, отростки имели различную длину. При рН 5,0—5,3 вовлекались в реакцию нервные клетки всех ядер среднего мозга, отростки их прослеживались на значительном расстоянии, ослабевала реакция нервных волокон и ядер глии, местами окрашивалась стенка единичных сосудов и капилляров. Дальнейшее повышение значений рН субстрата улучшало реакцию сосудистой стенки и нервных клеток, перикарион которых окрашивался гранулярно. Осевые цилиндры не реагировали. При рН 5,9 перикарион и короткие отростки

нервных клеток выявлялись за счет мелкозернистого осадка, при рН 6,2 умеренно и равномерно окрашивалась только стенка капилляров.

На срезах продолговатого мозга при рН субстрата 3,8—4,1 интенсивно реагировали ядра и нервные волокна, особенно корешковые волокна подъязычного нерва. Диффузно окрашивались нервные клетки гигантского клеточного ядра ретикулярной формации, четко вырисовывалось двигательное ядро блуждающего нерва. При рН 5,3 выявлялись нервные клетки всех ядер продолговатого мозга, отростки их, в основном, короткие, одни клетки окрашены диффузно, другие гранулярно. Активность фермента в нервных волокнах и ядрах нейроглии ослабевала (микрофото 1а). При увеличении значений рН окрашивалась и сосудистая стенка, причем в оливах капиллярная сеть гуще, чем в других ядрах продолговатого мозга. Окраска клеток носила мелкозернистый характер, ядра их не реагировали. Нервные волокна и ядра глиальных клеток не окрашивались. При рН 6,2 очень слабо выявлялись единичные нервные клетки, а стенка капилляров окрашивалась интенсивно и четко (микрофото 1б).



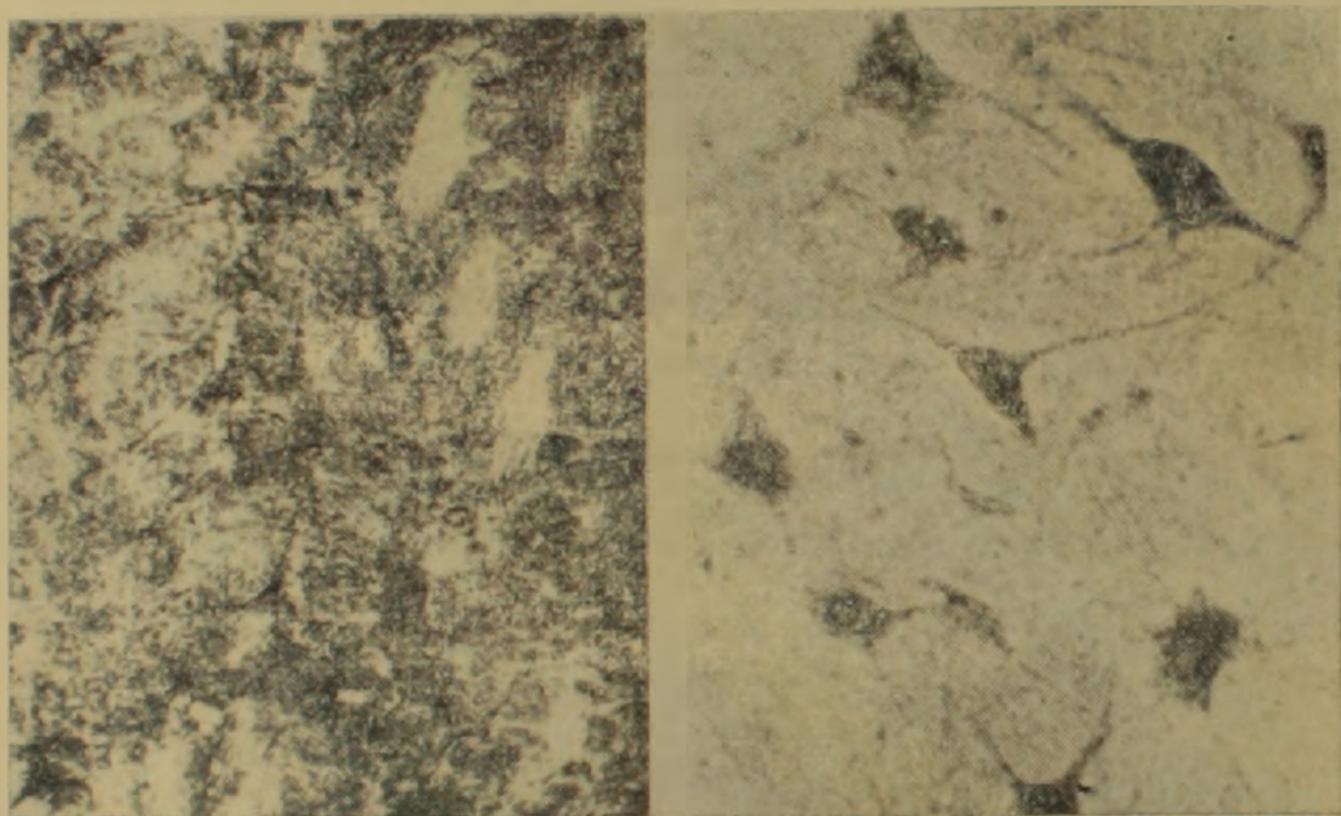
Микрофото 1. Продолговатый мозг кошки, кислая фосфатаза, об. 6, ок. 6.
а) рН 4,7; б) рН 6,2.

У собак в различных отделах головного мозга при всех значениях рН субстрата отмечалась идентичная кошкам картина.

У кроликов реакция нервных клеток, волокон и ядер на срезах полушарий головного мозга при всех значениях рН сходна с картиной, описанной у кошек и собак, в то время как в реакции сосудистой стенки отмечались существенные расхождения. Если у кошек и собак капиллярная стенка выявлялась только при высоких значениях рН, то у кроликов при всех значениях рН, кроме 5,9—6,2, выявлялись рыхло расположенные мелкие сосуды и капилляры, которые окрашивались то за счет стенки, то—ядер клеток стенки. Перикарион и короткие отростки нервных клеток выявлялись гранулярно.

В отличие от кошек и собак на срезах мозжечка у кроликов при рН 5,9 наряду с клетками Гольджи выявлялось большое количество клеток молекулярного слоя, с мелкозернистым перикарионом и длинными отростками. Слабо окрашивались единичные мелкие сосуды и капилляры.

В продолговатом и среднем мозге при рН субстрата от 3,3 до 6,2 результаты реакций нервных клеток, волокон и ядер глии не отличались от картины, описанной у кошек и собак, однако отмечались расхождения в реакции капилляров и сосудов. Если у кошек и собак при высоких значениях рН четко выявлялась капиллярная сеть, то у кроликов окрашивались лишь единичные сосуды и капилляры (микрофото 2а и б).



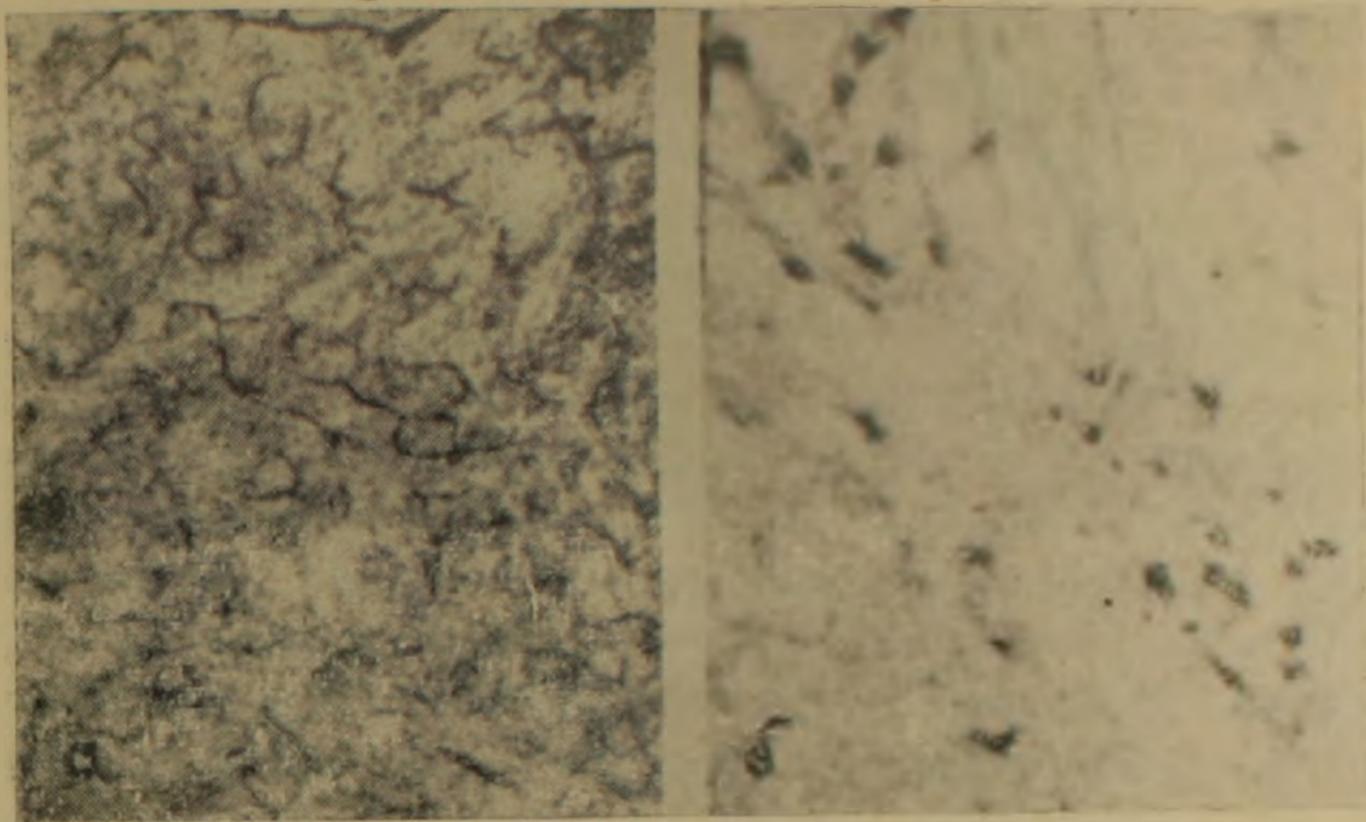
Микрофото 2. Продолговатый мозг кролика, кислая фосфатаза, об. 24, ок. б. а) рН 4,1; б) рН 6,2.

Идентично кошкам и собакам у кур реагировали нервные волокна и ядра глии, а нервные клетки всех слоев коры полушарий головного мозга выявлялись только при высоких значениях рН 5,6—5,9, при низких же значениях рН реагировали единичные клетки. Реакция сосудов и капилляров кур отличалась от картины, описанной у кошек, кроликов и собак. Стенка сосудов и капилляров у них равномерно и интенсивно окрашивалась при низких значениях рН 3,8—4,7, при рН 5,3—5,6 выявлялись ядра клеток сосудистой стенки, а при более высоких значениях отмечалась негативная реакция.

В мозжечке, продолговатом и среднем мозге реакция нервных клеток, нервных волокон и ядер глии по сравнению с реакцией, описанной у кошек, не претерпевала существенных изменений (микрофото 3б). Стенка сосудов и капилляров интенсивно окрашивалась при низких значениях рН, а при рН 5,6—5,9—6,2—не реагировала (микрофото 3а).

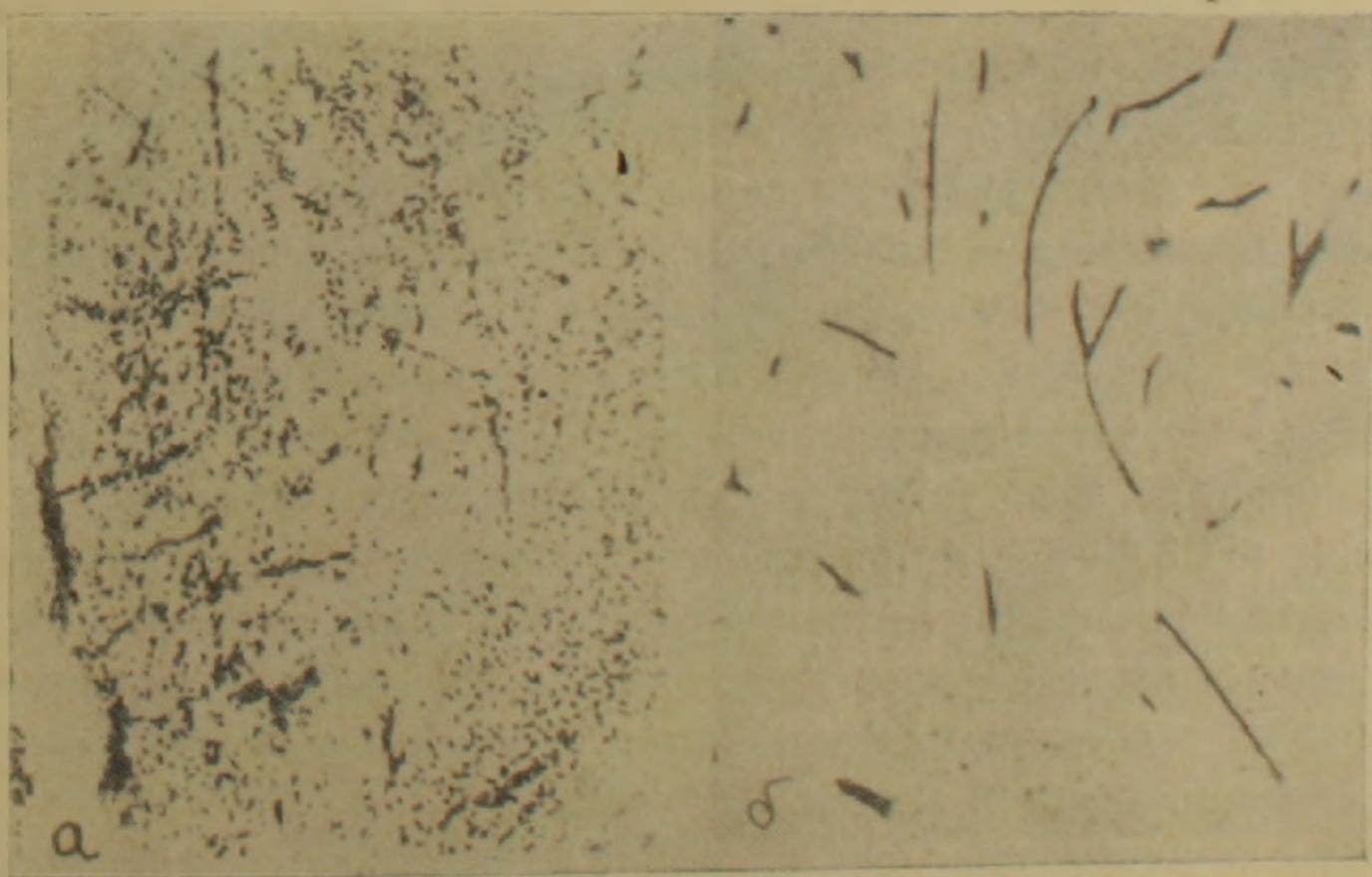
У лягушек так же, как и у всех описанных животных, при рН от 3,3 до 5,0 реагировали либо диффузно, либо гранулярно ядра нервных, глиальных и эндотелиальных клеток (микрофото 4а). При рН 5,3 ядерная реакция ослабевала, а при высоких значениях рН исчезала. Нервные

клетки выявлялись очень слабо только при рН 5,9 за счет зернистости перикариона, отростки их не окрашивались. В условиях нашего эксперимента нервные волокна лягушек не проявляли энзиматической актив-



Микрофото 3. Продолговатый мозг курицы, кислая фосфатаза, об. 6, ок. 6. а) рН 4,1; б) рН 5,9.

ности. Мелкие сосуды и капилляры реагировали при всех значениях рН, только при низких значениях они выявлялись за счет ядер эндотелиальных клеток, а при рН 5,6—5,9—6,2 равномерно и умеренно окрашивалась стенка капилляров и сосудов (микрофото 4б).



Микрофото 4. Продолговатый мозг лягушки, кислая фосфатаза, об. 6, ок. 6. а) рН 4,4; б) рН 6,2.

Исходя из изложенного можно заключить, что оптимальный рН действия энзима для различных структур нервной ткани неодинаков. При низких значениях рН у всех видов животных отмечалась ядерная

реакция (рН 3,3—5,0). При этих же значениях рН у кошек, собак, кроликов и кур активность фермента проявлялась в нервных волокнах различной длины и толщины, а у лягушек нервные волокна не проявляли энзиматической активности. При повышении рН ослабевала реакция нервных волокон и ядер глии, которые при рН 5,9—6,2 вовсе не окрашивались. В нервных клетках коры полушарий головного мозга кошек, собак, кроликов и кур отмечалось идентичное распределение фермента, при рН 3,3—4,1 энзимоактивны ядра мелких клеток, а в пирамидных клетках активность фермента проявлялась в цитоплазме и отростках. Повышение значений рН от 4,4 до 5,6 вовлекало в реакцию нервные клетки всех слоев коры полушарий кошек, собак и кроликов, а у кур они реагировали при рН 5,6—5,9, при низких же значениях у них выявлялись единичные нервные клетки. У лягушек очень слабо реагировали нервные клетки при рН 5,9. В мозжечке кошек и собак повышение рН субстрата сопровождалось появлением реакций клеток Гольджи зернистого слоя, а у кроликов реагировали также и клетки молекулярного слоя.

Как видно из приведенных микрофото, в реакции нервных клеток продолговатого и среднего мозга кошек, собак, кроликов и кур существенного отличия не наблюдается. При рН субстрата от 5,3 до 5,9 активность фермента проявляется в нервных клетках всех ядер продолговатого и среднего мозга. Эта реакция с успехом может быть использована при изучении морфологии нервных клеток ядер продолговатого и среднего мозга. У кошек и собак при рН 5,6—5,9 настолько отчетливо выявляются нервные клетки и сосудистая стенка, что этот вариант можно применять при решении вопросов, связанных с изучением нервно-сосудистых взаимоотношений.

Кровеносные сосуды и капилляры в условиях нашего эксперимента у разных видов животных выявлялись по-разному: у кошек и собак они реагировали равномерно и умеренно при рН выше 5,6 во всех отделах головного мозга, а при низких значениях рН сосуды и капилляры не окрашивались; у кроликов в полушариях головного мозга при рН от 3,8 до 5,6 выявлялись рыхло расположенные мелкие сосуды и капилляры, а в стволовой же части реагировали лишь единичные сосуды. В противовес кошкам и собакам у кур сосудистая стенка выявлялась при низких значениях рН 3,8—4,4, а при высоких значениях рН реакция сосудов и капилляров негативная. Активность сосудов и капилляров мозга у лягушек при рН выше 5,6 идентична картине, описанной у кошек и собак, в отличие от последних при низких значениях рН у лягушек реагируют ядра клеток сосудистой стенки.

Таким образом наши исследования показывают, что активность кислой фосфатазы нервных элементов головного мозга при различных значениях рН среды у разных видов животных, исключая лягушек, примерно одинаковая, в то время как в реакции сосудистой стенки и капилляров отмечаются существенные расхождения у разных видов животных. Реакция эта в известной степени напоминает картину, полученную нами

с соединениями свинца, однако в последнем случае она носит более избирательный характер.

Институт физиологии
им. Л. А. Орбели АН АрмССР

Поступило 9.IV 1964 г.

Ե. Ն. ՊԱՐԱՎՅԱՆ

ՏԱՐՔԵՐ ԿԵՆԴԱՆԻՆԵՐԻ ԹԹՎԱՅԻՆ ՖՈՍՖԱՏԱԶԱՅԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ
ՀԻՍՏՈՔԻՄԻԱԿԱՆ ՀԵՏԱԶՈՏՈՒՄԸ ԶԱՆԱԶԱՆ pH-ԲՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Ուսումնասիրված է թթվային ֆոսֆատազայի ակտիվությունը կատունների, շների, ճագարների, հավերի և գորտերի գլխուղեղում տարբեր pH-երի դեպքում: Ցածր pH-երի դեպքում վերոհիշյալ կենդանիների մոտ ֆերմենտի ակտիվությունը նկատվում է բջիջների կորիզներում: Բացառությամբ գորտի գլխուղեղի, նույն pH-ում նկատվում է ներվաթելերի և ներվային բջիջների ֆերմենտատիվ ակտիվություն: Բջջի մարմնի և ելուստների ակտիվությունը ավելի որոշակի է միջավայրի pH-ի բարձրացման դեպքում: Ֆերմենտի ակտիվության փոփոխությունը ամենից բնորոշ ձևով նկատվում է անոթների և մազանոթների պատի մեջ:

Կատունների և շների մոտ այս ուսումնասիրության որոշակի ձևով արտահայտված է միջավայրի pH-ի բարձրացման ժամանակ (pH 5,6—6,2):

Հավերի մոտ ֆերմենտի ակտիվությունը անոթային պատում նկատվում է ցածր pH-երի դեպքում, իսկ գորտերի մոտ անոթային պատի ուսումնասիրության նմանվում է կատունների և շների մոտ նկատված ուսումնասիրության: Ի տարբերություն այս կենդանիների, ճագարների մոտ գլխուղեղի անոթային ուսումնասիրության արտահայտված է թույլ ու անորոշ ձևով՝ ցածր pH-երի դեպքում, և լրիվ բացակայում է բարձր pH-երի ժամանակ:

Այսպիսով, մեր կատարած հետազոտությունը ցույց է տալիս ֆերմենտի ակտիվության զգալի տարբերություն տարբեր կենդանիների գլխուղեղի անոթի պատում:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Wolf A., Kabat E. A., Newman W. American J. Path., 19, 423, 1943.
2. Macdonald F. The Quater. J. Microscop. Sci., 91, Part 3, 315—330, 1950.
3. Colmant Hans-Hoachim. Arch. Psychiat., Neurol., 199, 60—70, 1959.
4. Iionã de Sibiric M. D., Desmond S., O'Doherty M. D., Washington D. C. J. Neurology, 2, 5, 1960.
5. Чилингарян А. М. Канд. диссертация, М., 1954.
6. Евсеева Л. И. Автореферат канд. диссертации, М., 1955.
7. Эльберт М. Э. Труды МВА, т. 18, 1956.
8. Сушков Ф. В. Тезисы докладов 6 Всесоюзного съезда АГЭ, 1958.
9. Lassek A. M. Stain Tech., 22, 133, 1947.
10. Bartelmez G. W., Bensley S. H. Science, 106, 639, 1947.
11. Newman W., Kabat E. A., Wolf A. Amer. J. Path., 26, 489, 1950.
12. Паравян Е. Н. Материалы научно-методической конференции АГЭ с/х вузов. Вып. II, 67, 1963.