

ВЫЯВЛЕНИЕ СОЕДИНИТЕЛЬНОТКАННЫХ КЛЕТОК СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ СВИНЦОВЫМ МЕТОДОМ ЧИЛИНГАРЯНА

Дж. А. МАРТИРОСЯН

Ключевые слова: соединительнотканые клетки, закономерность концентрационного взаимоотношения.

При исследовании кровеносного русла скелетных мышц нами наблюдалась окраска [1] наряду с сосудами и клеточных структур. Однако получить полное представление об осаждении свинца в клеточных структурах возможно лишь в том случае, если исследование проводится с учетом установленной Чилингаряном [2] закономерности концентрационного взаимоотношения. Выяснению этого вопроса посвящено настоящее исследование.

Материал и методика. Объектом исследования служила икроножная мышца лягушки, крысы, кошки. После декапитации по возможности быстро кусочки икроножной мышцы толщиной 3—5 мм фиксировали в 5%-ном формалине, нейтрализованном уксуснокислым натрием. После кратковременной (2 ч) фиксации кусочки промывали в течение 15—30 мин в дистиллированной воде. Готовили замороженные срезы толщиной 90—150 мкм, которые после 10—20 мин промывки в дистиллированной воде переносили в буферные смеси согласно закономерности концентрационного взаимоотношения. Использовали следующие смеси: к 100 мл 0,02 М (0,8%) раствора уксуснокислого свинца, приготовленного на освобожденной от углекислоты дистиллированной воде, прибавляли 1 М ацетатный буфер рН 5,6 и 6,2 в разных количествах (от 5 до 25 мл с интервалом в 5 мл). В этих смесях срезы оставляли 2—5 дней в термостате при температуре 37°. Далее промывали в дистиллированной воде в течение 5—10 мин, затем погружали в свежеприготовленный 0,5—1%-ный раствор сернистого натрия на 5—10 мин, вновь промывали в нескольких сменах дистиллированной воды и заключали в глицерин-желатин.

Эксперименты ставили также на кусочках свежей диафрагмы крысы. Использовался 1,2%-ный раствор уксуснокислого свинца. К 100 мл этого раствора прибавляли 1 М ацетатный буфер с рН 4,1; 4,4; 4,7. При каждом значении рН кусочки диафрагмы инкубировали в смеси с буфером в количестве 3, 5, 10, 15, 20, 25 мл. Кусочки погружали в смесь на 24 ч, затем фиксировали в 10%-ном формалине 2 ч, готовили замороженные срезы толщиной 30—60 мкм, промывали несколько минут в дистиллированной воде, погружали в 0,5—1%-ный раствор сернистого натрия или аммония на 5 мин, повторно промывали в дистиллированной воде (10—15 мин) и заключали в глицерин-желатин.

Результаты и обсуждение. Морфологическое описание соединительных клеток при всех значениях буфера и во всех количествах здесь не приводится, поскольку они не дают положительных результатов.

Нашими исследованиями установлено, что в скелетных мышцах лягушек после кратковременной формалиновой фиксации при pH 6,2 с 5 мл буфера наряду с сосудисто-капиллярной сетью выявляются фибробласты, имеющие короткие и толстые отростки. Цитоплазма этих клеток окрашивается за счет мелкозернистого осадка в светло-коричневый цвет, тогда как ядра остаются бесцветными (рис. 1). В большинстве случаев они расположены отдельно и не соединены друг с другом в общий синцитий.



Рис. 1. Икроножная мышца лягушки. Показаны фибробласты 2-часовая формалиновая фиксация, pH 6,2 (5 мл буфера): ок. 6X, зб. 24X.

В скелетных мышцах у крыс в аналогичных условиях наряду с сосудисто-капиллярной сетью, выявляемой на отдельных участках препарата, обнаруживаются тела светлоокрашенных тучных клеток, в которых трудно определить ядро и ядрышко. В цитоплазме таких клеток заметна нежная зернистость. Наряду с ними, выявляются очень слабоокрашенные фиброциты и коллагеновые волокна, рассеянные по всему препарату. В скелетных мышцах лягушек и крыс с увеличением количества буфера (20—25 мл) клетки рыхлой соединительной ткани окрашиваются значительно хуже.

Изучение скелетных мышц кошек показало, что после кратковременной фиксации в формалине при pH 5,6 с малыми количествами буфера выявляются мелкие отростчатые фиброциты, имеющие овальную и треугольную форму. Они рассеяны по всему препарату, их можно видеть как по ходу мышечных волокон, так и на капиллярах. Отростки этих клеток, анастомозируя между собой, образуют синцитий (рис. 2). При

увеличения количества буфера реакция соединительнотканых клеток ухудшается.

Описанные тучные клетки у крыс более интенсивно окрашиваются на кусочках свежей ткани, чем на фиксированном материале. Они располагаются по ходу сосудов и капилляров, чаще всего в области бифуркации. В цитоплазме этих клеток черный мелкозернистый осадок обычно равномерно распределен, но встречаются и такие, у которых гранулы



Рис. 2. Икрожелная масса гоши. Видны отростчатые клетки. 24-часовая формалиновая фиксация, рН 5,6 (5 мл буфера); ок. 8X об. 24X.



Рис. 3. Диафрагма крысы. Показаны тучные клетки, средине кусочка, рН 4,1 (5 мл буфера); ок. 8X об. 24X.

расположены очень плотно и концентрируются в полюсах, либо в одной из них. Нередко удается проследить короткие, широкие отростки этих клеток, которые выявляются как группами, так и поодиночке. Изредка обнаруживаются их сдвоенные формы. В светлоокрашенной карноплазме четко выделяется темное ядрышко. Выявляются и двудрышковые клетки. Длина их у крыс варьирует в пределах 21—30 мк. Они лучше окрашиваются при рН 4,1 с 5 мл буфера. Несколько таких клеток показано на рис. 3. С увеличением количества буфера окраска тучных клеток ухудшается и количество их уменьшается.

Таким образом, если кратковременная формалиновая фиксация оказывается наиболее подходящей для выявления фибробластов у лягушек и фиброцитов у кошек, то у крыс тучные клетки с характерной зернистостью отчетливо окрашиваются только на кусочках свежей ткани.

Реакция указанных элементов не строго избирательна, и они выявляются наряду с сосудами, что можно считать скорее положительным явлением, поскольку это позволяет одновременно судить о морфологии и цитохимии указанных элементов и их взаимоотношении.

Институт физиологии им. Л. А. Орбели
АН Армянской ССР

Поступило 27.IV 1981 г.

ԿՄԱԽՔԱՅԻՆ ՄԿԱՆՆԵՐՈՒՄ ՇԱՐԱԿՑԱՀՅՈՒՍՎԱԾՔԱՅԻՆ ԲՋԻՋՆԵՐԻ ՀԱՅՏՆԱԲԵՐՈՒՄԸ ԶԻԼԻՆԳԱՐՅԱՆԻ ՄԵԹՈԴՈՎ

Ջ. Ջ. ՄԱՐՏԻՐՈՍՅԱՆ

Ստացված տվյալները ցույց են տալիս, որ Զիլինգարյանի կապարային մեթոդի օգնությամբ կմախքային մկաններում հնարավոր է ստանալ շարակցահյուսվածքային բջիջների ցայտուն ռեակցիա՝ գորտերի ու կատուների մոտ՝ կարճատև ֆորմալինային ֆիքսացիայից հետո, իսկ առնետների մոտ՝ դիաֆրագմայի թարմ կտորների վրա:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Мартиросян Дж. А. Канд. дисс. Ереван, 1974.
2. Чилингарян А. М. Докт. дисс. Ереван, 1968.