

ЛИТЕРАТУРА

1. Аюлян Н. С., Бакаваджян О. Г., Карамян М. А. Физиолог. ж. СССР, 68, 5, 576—582, 1982.
2. Бакаваджян О. Г., Еганови В. С., Скабелев В. А., Художн Е. А., Никогосян Т. Г. Физиолог. ж. СССР, 70, 9, 1323—1331, 1984.
3. Буреш Я., Петрань М., Захар Н. Электрофизиологические методы исследования. 456, М., 1962.
4. Карамян А. И., Соллертинская Т. Н. Физиолог. ж. СССР, 68, 7, 868—884, 1982.
5. Майский В. И., Серков Ф. И., Гончар Ю. А. Физиолог. ж. СССР, 29, 2, 131—137, 1983.
6. Нерсисян И. Б., Саруханян Р. В. В кн.: Проблемы нейрогуморальной регуляции деятельности висцеральных систем, посвящ 80-летию со дня рожд. акад. В. И. Черниговского, 96—97. Л., 1987.
7. Олаин И. А. Журн. пат. физиол. и экзпер. терапии, 7, 76—85, 1959.
8. Сошников Е. А. Автореф. канд. дисс., М., 1971.
9. Чухичевск А. А., Ефимов В. Н. Канд. дисс., Ростов-Дон, 1970.
10. Bruce D. K. S., Underwood M. D., McNall C. L. Arch. Surg. Physiol., 11, 353—360, 1968.
11. Gloor P. Amygdala. Sect. 1. Neurobiol., 32, 1—16, 1967.
12. Hertz L., Schoupspe A. Rev. Neurobiol., 18, 141—211, 1975.
13. Hopkins D. A., Holstege G. J. Physiol. (London), 165, 160—173, 1961.
14. Hort T. Jap. J. Physiol., 13, 2, 436—449, 1963.
15. Schwobber J. S., Kapp B. S., Higginson G. A., Kapp P. J. Neurosci. Abstracts 6, 616—621, 1980.

Поступило 2.VII 1990 г.

Бюлог. журн. Армения, № 10—11 (43) 1990

УДК 611.676

ВЫЯВЛЕНИЕ ОРТОФОСФАТОВ В НЕЙРОНАХ ГОЛОВНОГО И СПИННОГО МОЗГА КОШЕК В УСЛОВИЯХ ПОНИЖЕННЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ СВИНЦА

И. Б. МЕЛИКСЕТАН, Д. А. МАРТИРОСЯН

Институт физиологии им. Л. А. Орбели АН Армении, Ереван

В различных отделах головного и спинного мозга кошек выявлены клеточные ортофосфаты в условиях пониженных концентраций свинца. Показано, что при этом увеличивается количество реагируемых структур и обеспечивается избирательное выявление нерикарионов и отростков нервных клеток разных цитоархитектонических формаций мозга. Отмечены также некоторые отличия преципитационных пиков осаждения ортофосфатов и скорости преципитации продуктов реакции в нейронах различных типов, что, по всей вероятности, связано с их функциональным состоянием.

Նաստի դիտողելի և ուղեւորելի տարրեր Չատմանների հարվածների հրա կատարված օսումնախորոշումները ցույց տվեցին, որ կապարի դածը կոնցենտրացիայի զուցում ներքային օրթոֆոսֆատները ընտրողաբար հարմարեցվում են օւղեղի դրին յուր ցիտարխիտեկտոնիկ գոյացումիւն ներկարելուների տերիտորիանում և նյւտաններում:

Փարմի արդյունքները ցույց տվեցին նաև, որ օրթոֆոսֆատների նստեցման արդերը, ինչպես նաև սեակցիայի արագությունը օւղեղի տարրեր տիպի նյարդային բջջներում տարբերվում են, որը Չափանարար կապված է երանց ֆունկցիոնալ վիճակի հետ:

On the cut places on different parts of brain and spinal cortex of cat's cells orthophosphates in condition of low concentration plumbum have been applied.

The results show that quantity of this structure is increasing. Insuring the voting application of pericarions and neuronal processes of citoarchitectonic formation brain.

The difference of precipitation spades and speed precipitation of reaction product in different types of neuronal cells is also shown, which is connected with their functional condition.

Головной и спинной мозг—нейроны—свинец—ортофосфаты.

Ранее нами на головном и спинном мозге была показана возможность выявления ортофосфатов на срезах формалин-фиксированного материала [1]. Эти данные представляют определенный интерес не только в гистохимическом, но и морфологическом аспекте, поскольку выявление фосфора одновременно сопровождается сильным морфологическим эффектом. Осаждение фосфора в нервных структурах происходило в соответствии с закономерностью концентрационного взаимоотношения с использованием таких инкубационных смесей, где при постоянной концентрации ионов металла менялась концентрация использованного буфера [2]. Однако при выявлении фосфора не исключается, что в условиях умеренных концентраций свинца (0,01 М) может происходить ингибция реакции в отдельных структурах. По этой причине в настоящей работе исследованы особенности выявления ортофосфатов в условиях пониженных концентраций свинца.

Материал и методика. Исследования выполнены на головном и спинном мозге 25 половозрелых кошек. После легкого пербуталового наркоза животных декантировали, извлеченный головной и спинной мозг разрезали острым лезвием на кусочки толщиной 2—5 мм и помещали в формалин-кальциевый фиксатор (90 мл 5%-ного раствора нейтрального формалина и 10 мл 10%-ного раствора хлористого кальция) сроком 24—48 ч при 4°. Затем из кусочков готовили замороженные срезы толщиной 50—100 мкм. Полученные срезы помещали в 3%-ный раствор хлористого кальция, повторно промывали в течение 10 мин тем же раствором и помещали в 70° ацетон на 30 минут. Далее производили двукратную промывку в 3%-ном растворе хлористого кальция в течение 30 минут. Из кальциевого раствора срезы переносили в инкубационные смеси следующего состава: 1—20 мл 0,38%-ного раствора уксуснокислого свинца (2 мМ); 2—1 М ацетатный буфер (рН 5,5), от 1 до 30 мл в различных инкубационных смесях интервалом 2—5 мл; 3 смесь доводили дистиллированной водой до 100 мл.

Срезы в этих смесях инкубировали при 37° в термостате от 1 до 10 дней. После инкубации срезы промывали в физиологическом растворе, обрабатывали и закаливали согласно ранее описанной схеме [1].

Результаты и обсуждение. Анализ полученных данных показывает, что в зависимости от концентрации буфера преципитация фосфата металла в различных клеточных структурах происходит по-разному. В инкубационных смесях, где количество буфера составляет 1—2 мл, образование осадка происходит на стенках капилляров и единичных сосудов среднего калибра. С 5 мл буфера в смеси осадок отмечается частично и в ядрах глиальных клеток. В смесях с 8—10 мл буфера в основном реагируют ядра глиальных клеток. При этом образование осадка носит довольно избирательный характер, так как в других структурах он не

наблюдается. В смесях с увеличенным количеством буфера преципитация в ядрах ослабевает, становится крайне неравномерной, и осадок образуется в аксонах нервных волокон. При наличии 15—16 мл буфера окраска волокон становится умеренной, и местами наблюдается слабая окраска перикарионов единичных нервных клеток без отростков. При инкубации срезов с 18—20 мл буфера в смеси реагируют местами единичные аксоны, а преципитация фосфата металла в основном происходит в нервных клетках. Последние выявляются за счет мелкозернистого осадка, откладывающегося в перикарионах и отростках. В ядрах большинства нейронов образование осадка не наблюдается. В смесях с 25 мл буфера нейроклеточная реакция ослабевает, а при наличии 30 мл буфера образование осадка в клеточных структурах не происходит.

Если в предыдущем сообщении оптимальный преципитационный индекс осаждения ортофосфатов в нервных клетках в среднем имел место в условиях с 45—50 мл буфера в смеси, то при пониженных концентрациях свинца необходимо соответствующее снижение концентрации буфера. Следовательно, вследствие уменьшения концентрации свинца резко изменяется концентрационное взаимоотношение буфера с ионами металла. Кроме того, анализ полученных данных показывает, что в этих условиях начинает реагировать ряд структур, в которых не наблюдалось образование осадка при использовании умеренных концентраций свинца.

В коре больших полушарий в условиях настоящего подхода преципитация продукта реакции наблюдается в нейронах всех слоев коры (рис. 1). После однодневной инкубации на срезах начинают выступать



Рис. 1 Кора полушарий головного мозга кошки. Показана реакция нейронов различных слоев коры. Ок. \times , об. 10 \times .

пирамидные нейроны со своими боковыми и верхушечными дендритами, а также клетки верхних слоев коры. В перикарионах и отростках круп-

ных пирамидных нейронов наблюдается мелкозернистый осадок. После трехдневной инкубации происходит усиление окраски клеток верхних слоев коры и крупных пирамидных клеток. Одновременно начинают выявляться клетки средних слоев коры. Следует отметить, что по скорости образования осадка и интенсивности окрашивания нервные клетки существенно различаются в разных слоях коры независимо от их величины. Особенно четкие результаты наблюдаются при четырех-пятидневной инкубации, при которой дендриты пирамидных нейронов можно проследить на далеком от тела расстоянии. При дальнейшем удлинении срока инкубации (до 10 дней) интенсивность окраски нейронов повышается и у части их происходит окрашивание ядер, что, по-видимому, связано с некоторой диффузией осадка. Однако это относится не ко всем нейронам. К примеру, в нейронах средних слоев коры диффузия продукта реакции в ядрах нервных клеток не происходит даже после десятидневной инкубации срезов. В пирамидных же нейронах и местами в нейронах верхних слоев коры в поздние сроки инкубации имеет место диффузное окрашивание ядер. Как показывает общий анализ материала, избирательный преципитационный пик для нейронов коры полушарий соответствует 23 мл буфера в смеси.

Для нейронов мозжечка характерны другие преципитационные пики. Так, например, дендритное дерево клеток Пуркинье выявляется в смеси с 16 мл буфера (рис. 2). При увеличении количества буфера ре-



Рис. 2. Кора мозжечка. Показана реакция перикарионов, основного дендритного дерева клеток Пуркинье. Ок. 8X, об. 24X.

акция дендритного дерева становится неравномерной и в смеси с 18—20 мл буфера реагируют только тела клеток Пуркинье с основным дендритом. В этих условиях выявляются также клетки-зерна, единичные клетки Гольджи, а в белом веществе—клетки собственных ядер мозжечка. Клетки-зерна при малом увеличении оставляют впечатление ядерной окраски, однако при больших увеличениях трудно заметить, что

ядра не окрашены и реагирует только узкая каемка протоплазмы. В зернистом слое интенсивно окрашиваются клетки Гольджи со своими длинными отростками. Звездчатые и корзинчатые клетки выявляются изредка. Нейроны собственных ядер мозжечка отличаются довольно четкой реакцией, осадок наблюдается в перикарионах и отростках и по своим преципитационным пикам они более сходны с нейронами ядер ствола мозга.

В среднем мозге в условиях пониженных концентраций свинца наблюдается значительное увеличение количества реагируемых структур, отличающихся как сроками инкубации, так и интенсивностью окрашивания. В этом отделе уже на второй день инкубации реагируют нейроны ядра глазодвигательного нерва с короткими отростками и крупные нейроны красного ядра. На третий день инкубации степень интенсивности окрашивания нейронов ядра глазодвигательного нерва различна, однако при более поздних сроках инкубации это различие стирается и все нейроны выглядят одинаково интенсивно окрашенными, хотя при этом отростки клеток удлиняются. В эти сроки выявляются также некоторые мелкие нервные клетки верхних слоев двухолмий. Более крупные клетки глубоких слоев двухолмий начинают реагировать на 4—5 день инкубации. С повышением интенсивности окрашивания нейронов увеличивается их количество. Таким образом, анализ реакции нейронов среднего мозга показывает, что типы нейронов различаются не только своими преципитационными пиками, но и сроками образования осадка.

На срезах продолговатого мозга и варолиева моста уже на 2—3 день инкубации видна реакция основной массы нервных клеток, интенсивность окрашивания которых существенно отличается, причем она не зависит от величины нейронов. Наиболее четкой реакцией отличаются нейроны ядер Дейтерса с хорошо выраженной реакцией перикарионов и отростков. Окраска последних, как правило, постоянна, однако для этих нейронов характерно наличие зернистого преципитата в ядрах клеток. Постоянной и четкой реакцией отличаются также нейроны ретикулярной формации, где осадок выявляется в перикарионах и довольно длинных отростках (рис. 3). Реагируют также нейроны многих ядерных групп — блуждающего, подъязычного, лицевого и слухового нервов, и следует отметить, что по степени интенсивности окрашивания нейроны одной и той же ядерной группы существенно различаются. Клетки периней и нижней оливы окрашиваются равномерно, осадок фосфата свинца откладывается в узком перикарионе (рис. 4).

Четкие результаты получены и на срезах спинного мозга. В отличие от картины, полученной при применении умеренных концентраций свинца, когда в основном выявлялись двигательные нейроны переднего рога, в условиях пониженных концентраций свинца преципитат образовывался в перикарионах и отростках нейронов как переднего, так и заднего и бокового рогов. Интересно, что даже при длительных сроках инкубации преципитация продукта реакции в ядрах основной массы клеток не имела места.

Таким образом, полученные в настоящем сообщении данные показывают, что в условиях сниженных концентраций свинца в инкубационных смесях создаются более благоприятные условия, вследствие чего ортофосфаты нейронов различных формаций мозга становятся более реак-

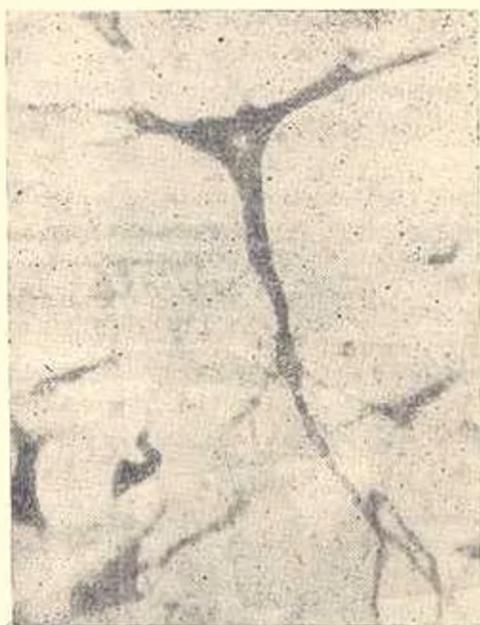


Рис. 3. Продолговатый мозг кошки. Показана крупная клетка ретикулярной формации. Ок. 8X, об. 24X.



Рис. 4. Продолговатый мозг кошки. Показана реакция нейронов оливы ок. 8X, об. 6X.

ционноспособными, что приводит к значительному повышению количества реагируемых структур. По всей вероятности, умеренные концентрации свинца вызывают некоторую ингибцию реакции ортофосфатов, чем и можно объяснить сравнительно слабый морфологический эффект

Для выявления ортофосфатов в условиях пониженных концентраций свинца целесообразна двух-четырёхдневная инкубация срезов, при которой при соответствующих пиках реакции наблюдается избирательная преципитация продукта реакции в перикарионах и отростках нейронов с отсутствием их в ядрах клеток.

Интересны значительные различия в преципитационных пиках реакции нейронов различных формаций мозга. Как показывает анализ полученных данных, для нейронов ствола мозга и большинства нейронов мозжечка нейроклеточный преципитационный пик соответствует 18—20 мл буфера в смеси, в то время как для нейронов коры больших полушарий—23 мл.

Не менее интересен факт значительной разницы в скорости образования преципитата и степени интенсивности окрашивания нейронов, что, по всей вероятности, обуславливается различиями в функциональном состоянии нервных клеток.

Нельзя не обратить внимание также и на технические преимущества использования пониженных концентраций свинца, при котором уменьшается количество используемого буфера.

Обобщая полученные данные, мы можем отметить, что выявление ортофосфатов, имея гистохимическое значение, действительно приобретает и определенный интерес в морфологическом отношении, так как при этом получается своеобразная картина, напоминающая метод Ниссли и импрегнации серебром.

ЛИТЕРАТУРА

1. Чилингарян А. М. Докт. дисс., Л., 1968.
2. Чилингарян А. М., Мартиросян Дж. А., Меликсетян И. Б. ДАН АН АрмССР, 85, 2, 83—86, 1987.

Поступило 2.VII 1990 г.

Биолог. журн. Армении, № 10—11, (43) 1990

УДК 612.821.6

О РОЛИ СИМПАТО АДРЕНАЛОВОЙ СИСТЕМЫ В ФОРМИРОВАНИИ ПОЛОЖИТЕЛЬНОЙ ЭМОЦИОНАЛЬНОЙ РЕАКЦИИ САМОРАЗДРАЖЕНИЯ ГИПОТАЛАМУСА

О. Г. БАКЛАВАДЖЯН, А. Г. ДАРБИНЯН, И. Х. ТАТУРЯН, А. В. ХАЧАТРЯН

Институт физиологии им. Л. А. Орбели АН Армении, Ереван

В опытах на крысах показано, что малые дозы медиатора симпатической нервной системы норадrenalина вызывают облегчение положительной эмоциональной реакции самораздражения гипоталамуса. Химическая десимпатизация, вызванная многократным введением изобарина новорожденных крысам, оказывает депримирующее влияние на гипоталамические механизмы «вознаграждения». Обсуждается роль симпатической нервной системы в формировании реакции самораздражения гипоталамуса.

Сокращения: СР—реакция самораздражения, ПН—норадrenalин, АД—артериальное давление.