

А. М. Чилингарян

**Новая методика выявления миелиновых оболочек
 нервных волокон**

Сообщение I

(Представлено академиком АН Армянской ССР С. К. Карапетяном 18. IV 1960)

Микроскопическое исследование миелиновых оболочек нервных волокон является чрезвычайно важным при изучении миелоархитектоники, формировании и образовании проводящих путей, изменении нервных волокон в эксперименте и в патологии, процессах де- и регенерации. Однако основные методы его выявления (Вейгерт с многочисленными модификациями, Шпильмейер и др.) далеко несовершенны. Этот вопрос подробно излагается в руководстве по микроскопической технике ⁽¹⁾. Укажем, что наиболее серьезными недостатками являются, с одной стороны, трудоемкость многих методов которая препятствует их широкому применению в повседневной исследовательской работе, и с другой, дифференцировка окраски, неизбежная во всех методах, часто затрудняющая интерпретацию полученных фактов. Это побудило нас заняться разработкой нового методического приема с целью устранения отмеченных недостатков и, по возможности, стандартизации звеньев обработки, что крайне важно с гистохимической точки зрения. В решении этой задачи мы исходили из выдвигаемого нами принципа дробного блокирования металлоорганических комплексов. В основе нового приема положен установленный нами факт избирательной реакции ионов трехвалентного железа с миелином посредством аммиачной обработки исследуемого материала. Сущность метода в общих чертах сводится к следующему:

1) кусочки различных отделов нервной ткани фиксируются в 12% нейтральном формалине от нескольких дней до 6 месяцев. Для морфологических и патологоанатомических работ можно использовать материал, пролежавший в формалине более длительные сроки, однако в целях стандартизации метода предпочтительны указанные сроки;

2) после легкого споласкивания в дистиллированной воде готовятся замороженные срезы в 10–30 м;

3) срезы на 15 минут и более переносятся в 2—5% раствор хлорного железа (желательно свежеприготовленный);

4) промывка в нескольких сменах дистиллированной воды в течение 10 минут;

5) погружение на 20 минут в свежеприготовленную водноаммиачную или спиртаммиачную смесь следующей пропорции: 10 объемов дистиллированной воды или 60° спирта на 1 объем аммиака (нами был использован 10,7% аммиак);

6) тщательная промывка в нескольких сменах дистиллированной воды в течение 15—20 минут до полного удаления аммиака (проверка фенолфталеином);

7) срезы для окраски переносятся в раствор гематоксилина (1% спиртовой раствор гематоксилина 1 см³, вода дистиллированная 20 см³) на время от 15 минут до 1 часа (можно и дольше).

8) промывка в дистиллированной воде в течение 2—3 мин;

9) повторное погружение в аммиачную смесь на 10—20 минут до прекращения отдачи окраски и приобретения срезами синеватого цвета (за это время срезы несколько раз пошевеливаются);

10) длительная промывка в дистиллированной воде (можно оставить на ночь);

11) заключение в глицерин-желатину или обычным путем в бальзам.

В результате миэлиновые оболочки окрашиваются в интенсивный цвет. Перикарион нейронов или бесцветен, или окрашивается в слабо-фиолетовый цвет. В ядрах крупных нейронов часто выделяется ядрышко интенсивно синей окраски. Кариоплазма нервных клеток и ядра других тканей не окрашиваются.

Остановившись на природе настоящей реакции следует отметить, что ионы трехвалентного железа образуют комплексы с разнообразными группировками белковой молекулы (²), об этом свидетельствует окраска разнообразных структур по Гейденгейну (цитоплазма, ядра, осевые цилиндры и т. д.). Известно, что щелочная среда легко разрушает железоцистеиновый комплекс (³). Поэтому можно предположить, что и другие возможные железопротеиновые комплексы под действием аммиачной обработки или блокируются или подвергаются разрушению, в результате чего вышеуказанные структуры остаются неокрашенными. Следует отметить, что полученные результаты относятся в основном к формалин-фиксированному материалу.

Важным преимуществом аммиачной обработки является то обстоятельство, что она не действует на комплекс железо-миэлинового типа. Этот комплекс, по-видимому, образуется с такими молекулярными группировками, которые входят в состав только миэлина. Это подтверждается предварительными нашими наблюдениями на других органах. Печень и почки, а также эритроциты, которые интенсивно окрашиваются при определении фосфолипидов, в нашем случае показывают почти отрицательную реакцию. Эти факты указывают, что предлага-

емая методика в гистохимическом отношении значительно специфична, однако для установления точной природы реакции в дальнейшем, нужны контрольные эксперименты. Поэтому мы считали целесообразным отнести методику к миэлину (а не его компонентам), который имеет сложный химический состав и является гистологическим понятием.

Возможность избирательного блокирования отдельных металлоорганических комплексов, показанная в настоящем исследовании, указывает, помимо известных, и другие пути в создании новых гистохимических методов исследования, столь важных для понимания и изучения клеточного обмена.

Быстрота и простота предлагаемого метода, стандартизация звеньев обработки говорят о его бесспорных преимуществах по сравнению с существующими методами выявления миэлиновых оболочек.

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

Հ. Մ. ԶԻԼԻՆԳԱՐՅԱՆ

Ներգաղթելի միելինային թաղանթների հայտնաբերման նոր մեթոդ Հասկարգում I

Միելինային թաղանթների հայտնաբերման գոյություն ունեցող մեթոդներն ունեն մի շարք թերություններ: Որոնք արգելակում են նրա արագ և բազմակողմանի ուսումնասիրությունը: Այս հանդամանքը առիթ հանդիսացավ փնտրելու և մշակելու նոր մեթոդ, որը դերժ լիներ կիրառվող մեթոդներում եղած թերություններից: Նոր մեթոդի նիւթում ընկած է նեյրոնների կողմից ստաջարկվող մետաղա-օրգանական միացությունների մասնակի բլոկադայի սկզբունքը: Առաջարկվող մեթոդում օդտագործված է եռարժեք երկաթի կոմպլեքսապոչացությունը միելինի հետ ամիակի մշակման օդնությամբ և այդ կոմպլեքսի հետագա հայտնաբերումը հեմատոքսիլինի միջոցով: Ինտեգրիայի արդյունքը լինում է այն, որ բոլոր բջջային գոյացություններից միայն միելինային թաղանթն է ներկվում մուգ կապույտ գույնով:

Նախնական փորձերը այլ օրգանների վրա ցույց տվեցին, որ հիշյալ ռեակցիան յուրահատուկ է այնպիսի մոլեկուլյար խմբերին, որոնք մտնում են միայն միելինի բաղադրության մեջ: Քանի որ ռեակցիայի բնության վերջնական պարզաբանումը պահանջում է կոնսուրվ փորձեր, այդ պատճառով մեթոդը ներկա մոմենտում վերագրվում է միելինին և ոչ թե նրա բաղկացուցիչ մասերին:

Մշակման օղակների ստանդարտիզացիան, պարզությունը և արագությունը վկայում են առաջարկվող մեթոդի մի շարք առավելությունները գոյություն ունեցող մեթոդների նկատմամբ:

ЛИТЕРАТУРА — ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

¹ Б. Ромейс, Микроскопическая техника, 1953. ² А. Лилли, Histopathologie, Technique and practical Histochemistry, 1954. ³ Ф. Гурд и Ф. Вилкос, Advances in protein chemistry, 1956, v. XI.