

УДК 611.10

ГИСТОЛОГИЯ

А. М. Чилингарян

**Новый кальций-аденозинтрифосфатный метод для выявления внутри-
органного микроциркуляторного русла у кошек**

(Представлено академиком АН Армянской ССР В. В. Фанарджяном 14/V 1985)

Установление общих закономерностей преципитации фосфата металлов в клеточных структурах позволило впервые ввести программную и целенаправленную разработку новых микроскопических методов исследования, предназначенных для выявления нервных и сосудистых структур (¹⁻³). Одним из таких методов является кальций-АТФ-ный метод, который в большинстве органов и тканей кошки на толстых срезах фиксированного материала, выявляя различные звенья внутри-органного кровеносного микроциркуляторного русла (МЦР), позволяет одновременно дифференцировать артериальное, венозное и капиллярное русла (⁴). Однако у других видов животных и человека результаты оказались менее наглядными, что связано, по-видимому, с особенностями физико-химической организации стенок сосудов. Кроме того, использованный в этом методе глициновый буфер не обеспечивал постоянства pH инкубационных смесей, что крайне затрудняло целенаправленное исследование и анализ полученных данных. Хотя количество буферов, обеспечивающих pH в щелочной зоне 10—12, весьма ограничено, тем менее для дальнейших работ было необходимо найти другие способы, обеспечивающие постоянство pH инкубационных смесей.

В настоящем исследовании для решения этой задачи мы прибегли к использованию гидроокиси аммония или аммиака, а для оценки и сравнения полученных данных исследование было проведено на кошках.

Объектами исследования служили головной мозг, сердце, печень, почки, селезенка, слюнные и эндокринные железы, скелетные мышцы, кишечник, матка, яичники, брыжейка, капсула почки, перикард, твердая мозговая оболочка. Кусочки органов 24 и более часов фиксировали при 4° в 5%-ном формалине (для фиксации оболочек достаточно 10—15 мин). Далее в зависимости от особенностей строения МЦР органа готовятся замороженные срезы толщиной 60—200 мкм, которые собираются в физиологический раствор, где их можно оставлять при 4° на длительное время.

Последующая обработка срезов производится по нижеследующей схеме: 1) помещение в инкубационную смесь следующего состава: а) 2—4 мл 6N аммиака доливается водой до 6 мл; б) 0,5—1 мл 0,1 М раствора хлористого кальция; в) 1—2 мл раствора АТФ (5мг/мл). Объем доводится до 10 мл. Инкубация длится 1—5 ч; 2) промывка в несколь-

ких сменах воды 5—10 мин; 3) перенос срезов в замешающую свинцовую смесь (5 мл 1Н ацетатного буфера pH 6.2, вода до 90 и добавляется 10 мл 1Н раствора уксуснокислого аммония. В этой смеси растворяется 2 г химически чистого уксуснокислого свинца. Раствор можно использовать многократно и долгое время). Срезы в свинцовой смеси оставляются от 10 мин до нескольких часов; 4) промывка в нескольких сменах воды 10 мин; 5) обработка 20%-ным раствором уксуснокислого аммония от 1 мин до 1 ч в зависимости от сроков инкубации и толщины срезов и органов; 6) промывка в двух сменах воды 5—10 мин; 7) погружение в 5—10%-ный раствор сернистого натрия на 5 мин и более; 8) промывка в нескольких сменах воды 5—10 мин; 9) заключение в глицерин-желатин.

На обработанных таким путем срезах в большинстве органов наблюдается четкая и контрастная окраска сосудисто-капиллярной сети. Особенно наглядные результаты получены на различных пленках-оболочках (брыжейка, перикард, твердая мозговая оболочка и др.), которые можно окрасить тотально без нарушения целостности сосудисто-капиллярной сети. На таких препаратах легко прослеживаются ход и расположение сосудов и нетрудно установить, что при этом выявляются все звенья МЦР (рис. 1).

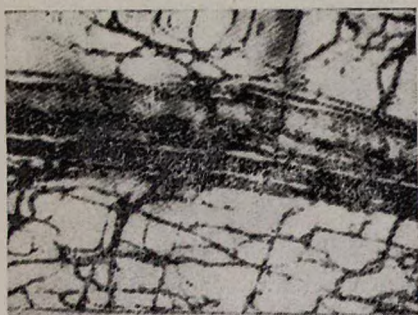


Рис. 1. Микроциркуляторное русло перикарда кошки. Сосудисто-капиллярная сеть. В центре—артериола с обеих сторон венулы и капиллярная сеть. Микрофото

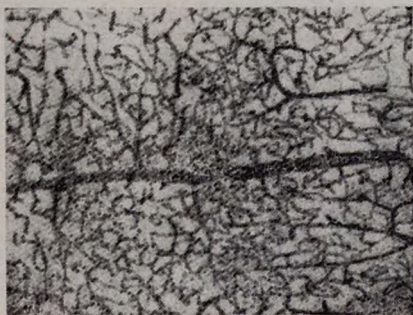


Рис. 2. Микроциркуляторное русло коры полушария головного мозга кошки. Виден крупный венозный ствол, рядом интенсивно окрашенные мелкие артериолы и капиллярная сеть. Микрофото

Сосудисто-капиллярная сеть выявляется за счет отложения черного осадка сернистого свинца на стенке эндотелия сосудов и капилляров. В артериальных сосудах, кроме того, окрашиваются и элементы гладкомышечных клеток. Благодаря этому создается возможность дифференцирования различных звеньев МЦР, что имеет исключительно важное значение для ангиологии. Необходимо отметить, что отложение осадка в гладкомышечных клетках только стенок артериол с цитохимической и физиологической точек зрения представляет большой интерес. Хотя такие клетки имеются и в других органах (матка, кишечник, аорта, крупные вены и др.), их реакционноспособность не проявляется.

В большинстве изученных органов и тканей можно выявлять все звенья микроциркуляторного русла (рис. 2). Однако в печени и селе-

зеньке венозные сосуды окрашиваются слабо или вообще не реагируют.

Хотя инкубационные смеси с аммиаком не обладают буферными свойствами, тем не менее поставленные многочисленные эксперименты позволили установить, что осаждение фосфата кальция в клеточных структурах происходит согласно закономерности концентрационного взаимоотношения. Иными словами, это означает, что осадок продукта реакции на одной и той же структуре можно получать с помощью разнообразных инкубационных смесей, если при этом правильно выбрана программа. Используемая в настоящем сообщении инкубационная смесь с этой точки зрения является весьма условной: в данном случае во избежание снижения падения рН были использованы высокие концентрации аммиака.

В морфологическом отношении полученная картина весьма сходна с описанной при использовании предыдущего метода, однако в методическом и техническом отношении настоящий метод более надежен и отвечает тем требованиям, которые предъявляются к гистоангиологическим методам.

Проведенные за последние годы исследования и их анализ позволяют утверждать, что использование разработанных гистоангиологических методов представляет значительный интерес не только в морфологическом плане, но и при решении вопросов, связанных с неврологией, онкологией, фармакологией и другими областями медицины ⁽³⁻⁶⁾.

Институт физиологии им. Л. А. Орбели
Академии наук Армянской ССР

2. Մ. ԶԻԼԻՆՍԿԱՆ

Կալցիում Աէֆ-ի նոր եղանակ կատուների նեոբոգանային միկրոցիրկուլատոր հունի հայտնաբերման համար

Աէֆ-ի օգտագործման հիման վրա մշակված է նոր եղանակ կատունների նեոբոգանային միկրոցիրկուլատոր հունի հայտնաբերման համար: Ուղեղի, սրտի, երիկամի, փայծաղի, սեռական օրգանների, գեղձերի, կմախքային մկանների ուսումնասիրությունը ներկա եղանակով ցույց տվեց, որ այդ օրգաններում կարելի է ընտրողաբար և ցայտուն ձևով հայտնաբերել միկրոցիրկուլատոր հունը: Զարկերակների պատում գտնվող հարթ մկանային բջիջների ներկման շնորհիվ, բավականին դյուրին կերպով, կարելի է տարբերել երակային, զարկերակային անոթները և մազանոթները միմյանցից: Մշակված եղանակը հուսալի է և ապահովում է վերարտադրող տվյալների ստացումը:

ЛИТЕРАТУРА — ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

- ¹ А. М. Чилингарян, ДАН АрмССР, т. 40, № 2 (1965). ² А. М. Чилингарян, Микроскопическое изучение кровеносных сосудов и нервной ткани, основанное на применении соединений свинца, докт. дис., Л., 1968. ³ А. М. Чилингарян, в кн.: Центральные и периферические механизмы вегетативной нервной системы, Ереван, Изд-во АН АрмССР, 1980. ⁴ А. М. Чилингарян, Журн. exper. медицины, т. 17, № 5 (1977). ⁵ Е. М. Габриэлян, Р. Ш. Матевосян, Бюлл. exper. биологии и медицины, т. 48, № 9, (1980). ⁶ Э. А. Амроян, Вазоактивные простагландины и мозговое кровообращение, докт. дис., Ереван, 1981.