ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՍՍՀ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԿԱԴԵՄԻԱՅԻ ԶԵԿՈՒՅՑՆԵՐ
ДОКЛАДЫ АКАДЕМИИ НАУК АРМЯНСКОЙ ССР

LXXXV 1987 2

УДК 611.576

МОРФОЛОГИЯ

А. М. Чилингарян, Дж. А. Мартиросян, И. Б. Меликсетян

Гистохимическое изучение клеточных ортофосфатов в нейронах мозга кошки на срезах из формалинфиксированного материала

(Представлено академиком АН Армянской ССР В. В. Фанарджяном 2/IV 1987)

Выявление клеточного неорганического фосфора (ортофосфатов) со свинцом на кусочках свежей ткани позволило установить, что преципитация свинца происходит в различных клеточных структурах: на стенках сосудов, глиальных и нервных клеток. При этом весьма четко выявлялись перикарионы, дендриты и шипики нервных клеток, и результат в определенной степени напоминал картину, полученную по общеизвестному методу Гольджи ([1]). На основании этих исследований можно было заключить, что выявление фосфора представляет особый интерес не только в гистохимическом, но и морфологическом аспекте. Однако на кусочках преципитация происходила лишь на поверхностных участках, на небольшой глубине, поэтому применять эти методические приемы в экспериментальных исследованиях было крайне трудно. Целесообразнее было бы проводить выявление фосфора на срезах, где легче стандартизировать все этапы обработки материала. На срезах удалось получить преципитацию на стенках сосудов мозга и некоторых других органов, в нейронах вегетативной нервной системы; для изучения этих структур разработаны соответствующие элективные морфогистохимические методы исследования ([2,3]).

Однако в отличие от вышеуказанных структур преципитация свинца в нейронах мозга на срезах или не происходила, или носила крайне непостоянный характер. Выяснению этого вопроса и посвящается настоящее сообщение.

Для исследования было использовано 60 половозрелых кошек. После легкого нембуталового наркоза животных декапитировали, удаляли головной и спинной мозг. Кусочки фиксировали 24—48 ч в 5%-ном формалине при 4°С . Из коры полушарий, промежуточного, среднего, продолговатого, спинного мозга и мозжечка готовили замороженные срезы, толщиной 60 мкм. Срезы из мозжечка готовили с таким расчетом, чтобы охватить и кору и центральные ядра. Далее срезы переносили в инкубационные свинцовые смеси с учетом закономерности концентрационного взаимоотношения в количественном буферном ряду ([1]). В настоящем исследовании из множества возможных вариантов были использованы свинцовые смеси следующих составов: к 100 мл 0,01 М раствора уксуснокислого свинца добавлялся 1 М ацетатный буфер с pH 5,6 от 5 до 65 мл с интервалом 5 мл. Срезы в этих смесях

инкубировали от 3 до 20 дней, после чего выявляли сернистым натрием и заключали по ранее описанным методам ([2, 3]).

В зависимости от количества буфера в смеси наблюдаются качественные изменения в локализации образованного осадка. На срезах, инкубированных в смесях с 5 мл буфера, преципитация происходит на стенках сосудов и капилляров. С 10—15 мл буфера осадок образуется в ядрах глиальных клеток. Иногда преципитат можно наблюдать в ядрах с 20—30 мл буфера. В этих условиях преципитация часто наблюдается в осевых цилиндрах нервных волокон с незначительным количеством нервных клеток с зернистым перикарионом. Однако просмотр срезов, инкубированных в смесях, где количество буфера повышается до 40 мл и более, показывает, что основной преципитационный пик нервных клеток соответствует этим и большим количествам буфера. Причем если эти пики для нейронов коры полушарий соответствуют 55—60 мл буфера, то для нейронов спинного и продолговатого мозга оптимальная преципитация происходит с 40—45 мл буфера в смеси.

Результат в морфологическом отношении является весьма своеобразным и существенно отличается от данных, полученных общеизвестными морфологическими и гистохимическими методами исследования.

В итоге настоящей реакции на полученных препаратах основной реагирующей структурой являются перикарионы и отростки нервных клеток. Последние выявляются за счет мелкозернистого осадка, откладывающегося в перикарионе и дендритах различного порядка. Кроме того на препаратах наблюдается наличие черного мелкозернистого осадка, обусловленного следовой реакцией осевых цилиндров нервных волокон.

Хотя проведенные исследования позволили установить преципитационные пики нервных клеток различных отделов мозга, тем не менее нельзя не отметить значительное отличие в равномерности окраски нейронов различных формаций.

В коре полушарий реакция нервных клеток крайне неравномерная, осадок в основном выявляется в перикарионах нейронов верхних слоев. В коре мозжечка выявляются перикарионы клеток Пуркинье и единичные клетки Гольджи. В противоположность коре нейроны центральных ядер мозжечка реагируют четко и осадок можно наблюдать как в перикарионах, так и в отростках. В среднем мозге осадок образуется в нейронах глазодвигательного нерва и частично в перикарионах и отростках нейронов красного ядра. В изученных отделах наиболее четкой и равномерной реакцией отличаются нервные клетки продолговатого мозга. Особенно хорошо выявляются нейроны ретикулярной формации, среди которых по скорости образования осадка, а также по четкости выявления отличаются крупные нервные клетки и их отростки, которые прослеживаются на значительном расстоянии (рис. 1). Сходная реакция наблюдается также в нейронах ядер лицевого, подъязычного, блуждающего нервов. Нейроны оливы выявляются равномерно, однако осадок в них образуется только в перикарионах. Важным следует считать то обстоятельство, что в метамерных ядрах характер образованного осадка и окраска нейронов весьма идентичны.

Реакция мотонейронов спинного мозга постоянная и равномерная (рис. 2), чего нельзя сказать в отношении других нейронов серого вещества спинного мозга.

Говоря о скорости образования осадка, необходимо отметить, что реакция идет медленно и, как это имеет место при других свинцовых

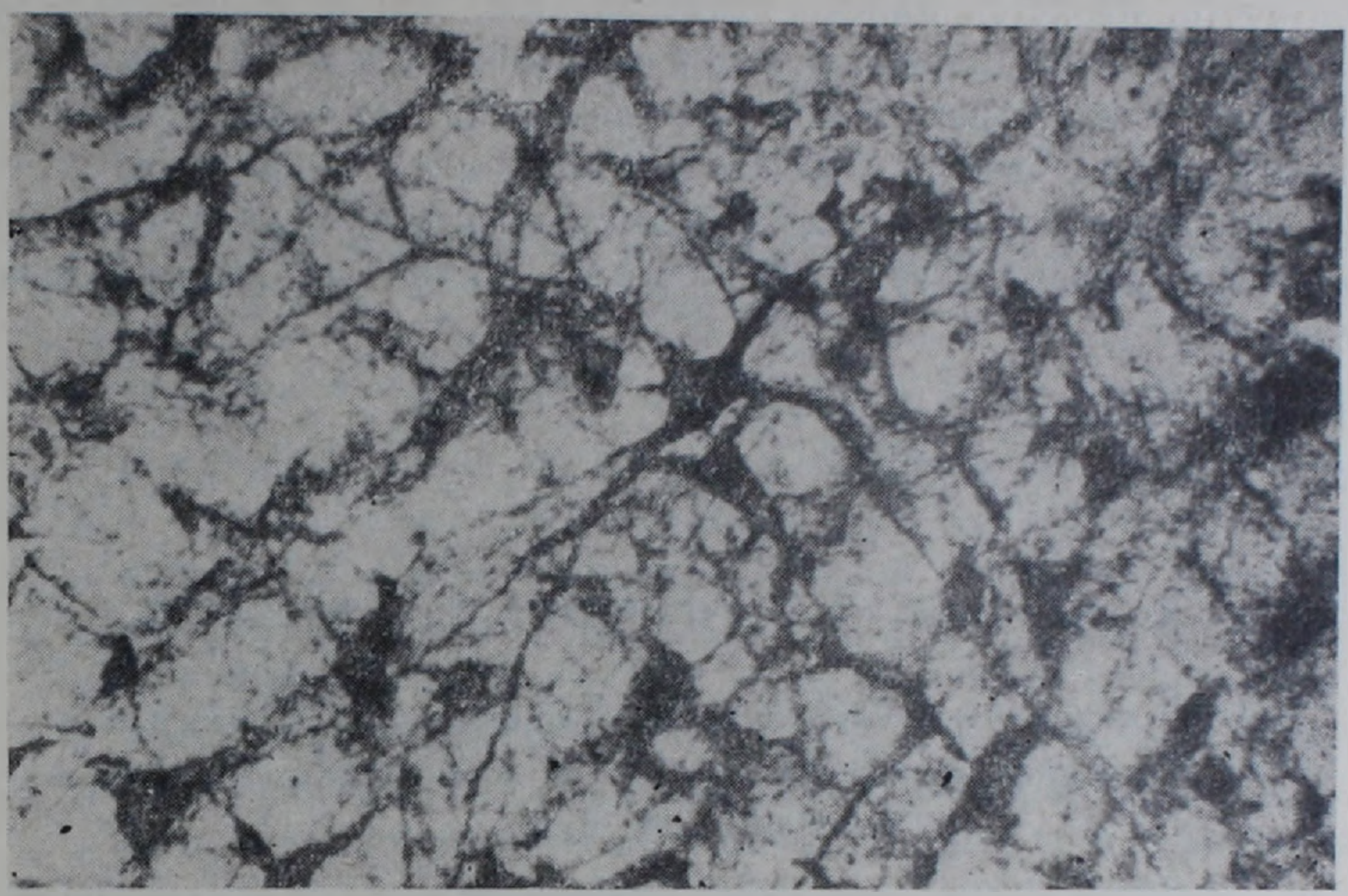

Рис. 1. Продолговатый мозг кошки Показана крупная клетка ретикулярной формации с окраской перикарионов и дендритов различного порядка; ок. 8х, об. 24х

методах, первые три дня являются латентным периодом, при котором реакция почти полностью отсутствует. С 4-го дня начинается отложение осадка, достигающее максимума на 10—15-й день инкубации. При этих сроках иногда наблюдается наличие осадка в ядрах нейро-

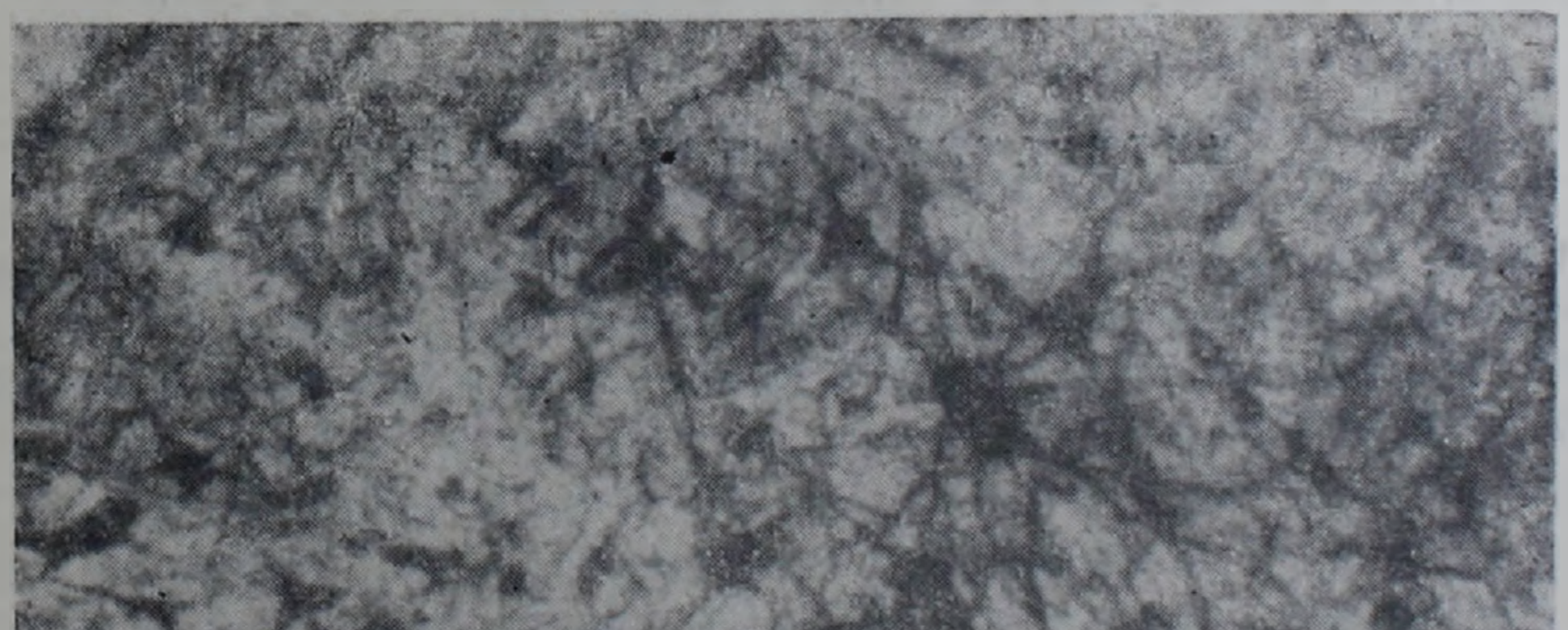

Рис. 2. Спинной мозг кошки. Показана реакция перикарионов и дендритов крупных мотонейронов; ок. 8х, об. 6х

нов, большей частью отсутствующего при 5—7-дневной инкубации.

Полученные в настоящем сообщении данные показывают, что преципитационные пики ортофосфатов в нейронах различных отделов мозга резко отличаются от преципитационных пиков других структур. Использование формалиновой фиксации (различные сроки), по всей вероятности, является далеко неадекватным, чем и, возможно, обусловливается неравномерная реакция нейронов во многих отделах мозга. Однако четкая и равномерная реакция нейронов большинства нервных ядер продолговатого мозга и мотонейронов спинного мозга говорит о принципиальной возможности гистохимического выявления ортофосфатов в нервных структурах мозга на срезах из фиксированного материала.

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

Հ. Մ. ՉԻԼԻՆԳԱՐՅԱՆ, Ջ. Հ. ՄԱՐՏԻՐՈՍՅԱՆ, Ի. Բ. ՄԵԼԻՔՍԵԹՅԱՆ

Բջջային օրթոֆոսֆատների հիստոքիմիական ուսումնասիրությունը կատվի ողեղի նյարդային բջիջներում ֆորմալինով ֆիքսված կտրվածքների վրա

Նեյրոնային օրթոֆոսֆատների հիստոքիմիական ուսումնասիրության արդյունքները ցույց են տալիս, որ օրթոֆոսֆատների նստեցման պիկերը ուղեղի զանազան հատվածներում զգալիորեն տարբերվում են։ Հիմնականում ցայտուն տվյալներ են ստացվել երկարավուն ուղեղի ցանցանման դոյացության բջիջներում և ողնուղեղի շարժիչ նեյրոններում։ Ստացված տվյալները ցույց են տալիս օրթոֆոսֆատների հիստոքիմիական ուսումնասիրության հեռանկարները նյարդային բջիջների մորֆոլոգիական և հիստոքիմիական ուսումնասիրության ասպարեզում։

ЛИТЕРАТУРА—ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

[1] *А. М. Чилингарян,* Микроскопическое изучение кровеносных сосудов и нервной ткани, основанное на применении соединений свинца, Докт. дисс. Л., 1968. [2] *А. М. Чилингарян,* ДАН Арм. ССР, т. 40, № 2 (1965). [3] *А. М. Чилингарян,* Журн. экспер. и клинич. медицины, т. 5, № 1 (1965).