

А. М. ЧИЛИНГАРЯН

НОВАЯ МЕТОДИКА ДЛЯ ИЗБИРАТЕЛЬНОГО ВЫЯВЛЕНИЯ И МИКРОСКОПИЧЕСКОГО ИЗУЧЕНИЯ КАПИЛЛЯРОВ И СОСУДОВ МОЗГА

В недавно предложенном нами методе была показана возможность избирательной реакции и выявления сосудистой стенки мозга и печени с помощью соединений свинца [5].

Этот прием имеет большое преимущество, поскольку реакция совершается в малоизмененной в физико-химическом отношении ткани. Однако при этом резко ограничивается возможность одновременного применения других методов исследования, затрудняется проведение контрольных экспериментов и, наконец, толстые срезы, необходимые для ангиоархитектонических исследований, не отличаются большой четкостью.

Дальнейшие наши исследования установили новую закономерность в образовании преципитатов свинца в клеточных структурах [7], на основании чего и удалось выделить ряд свинец-реактивных субстанций (СРС), отличающихся друг от друга своими физико-химическими свойствами.

Одной из СРС является субстанция капилляров мозга высших позвоночных животных, для выявления которой были подобраны оптимальные условия, обеспечивающие проведение реакции СРС капилляров на срезах фиксированной ткани.

Таким образом, была создана возможность проведения реакции как на тонких, так и на толстых срезах.

Исследования проводились на головном и спинном мозге взрослых кошек и собак.

Методика. 1. После декапитации животного быстро извлекается головной и спинной мозг, удаляются мозговые оболочки. Мозг разрезается на тонкие кусочки 3—5 мм и фиксируется от 2 до 5 дней в 5%-ном нейтральном формалине на холоде (-4°). Кусочки можно фиксировать и дольше (10—15 дней), однако после этого реакция сосудов замедляется и ухудшается. Можно также фиксировать и в 10%-ном нейтральном формалине 24—48 ч. на холоде, но наилучшие результаты получаются в 5%-ном формалине при коротких сроках фиксации (2—3 дня).

2. После фиксации в течение 20—30 мин. кусочки промываются в воде и готовятся замороженные срезы различной толщины для гистологических и гистохимических исследований в 15—60 μ , для ангиоархитектонических в 150—300 μ . Срезы промываются в воде 20—30 мин.

3. Срезы переносятся в смесь следующего состава: 0,38% (0,01 мол.) уксуснокислый свинец (приготовленный на охлажденной после кипяче-

ния дистиллированной воде) — 100 см, нормальный ацетатный буфер рН-6,2—5 см. В этой смеси срезы остаются при температуре 37° в течение 3—4 дней, можно и дольше, однако в этом случае требуется более тщательная промывка срезов для удаления адсорбированного свинца.

4. В течение 5—15 мин. срезы промываются в дистиллированной воде и переводятся в 2%-ный раствор уксусной кислоты на такой же промежуток времени. Длительное хранение срезов в уксусной кислоте не рекомендуется, т. к. последняя может растворить образованные преципитаты свинца на стенке капилляра. Далее срезы вновь промываются в нескольких сменах дистиллированной воды.

5. На 5—15 мин. срезы погружаются в 1%-ный раствор сернистого натрия или аммония.

6. Далее срезы заключаются в глицерин-желатину или обычным путем в бальзам.

ПРИМЕЧАНИЕ. В случае кратковременной фиксации кусочков в 5%-ном формалине срезы в сернистом натрии при длительном хранении могут разрушаться. Поэтому целесообразно после пункта 4-го срезы 10—15 мин. держать в 10%-ном формалине и после промывки перенести в сернистый натрий. При использовании сернистого аммония необходимость дополнительной фиксации отпадает. После сернистого натрия срезы лучше заключать в глицерин-желатину.

На препаратах, полученных вышеуказанным методом, отмечается четкое избирательное окрашивание капилляров и сосудов мозгового вещества. Сосудистая реакция в различных отделах головного и спинного мозга одинаковая.

На тонких срезах (15—60 μ) на светлом фоне выделяется стенка отдельных капилляров; несколько слабее выступают и крупные сосуды. Капилляры и сосуды выделяются за счет черного мелкозернистого осадка, откладывающегося на их стенках. В основном осадок имеет мелкозернистый характер, но в ряде случаев удается установить и интенсивно выступающие поперечные перегородки на стенках сосудов. Клеточные элементы мозгового вещества обычно не реагируют, не реагируют также клеточные элементы сосудистой стенки. В отдельных случаях в спинном мозгу наряду с капиллярами могут окрашиваться перикарион и короткие отростки отдельных мотонейронов.

Толстые срезы в 150 μ и толще дают общее представление о густоте сосудистой сети в разных участках мозга. На рис. 1, 2 показана сосудистая сеть коры полушария головного мозга и коры мозжечка.

На препаратах наглядно выступает более густая сеть капилляров в сером веществе и в местах расположения нервных ядер, чем в белом веществе. На рис. 3 показана капиллярная сеть в оливе продолговатого мозга, которая, как известно, является одной из наиболее васкуляризированных участков головного мозга [3].

Нами также изучался мозг трех новорожденных котят. Исследования показали, что и в этом случае СРС капилляров хорошо реагирует и в принципе существенно не отличается от реакции взрослых животных, описанных выше. Следовательно, капиллярная СРС не имеет непосред-

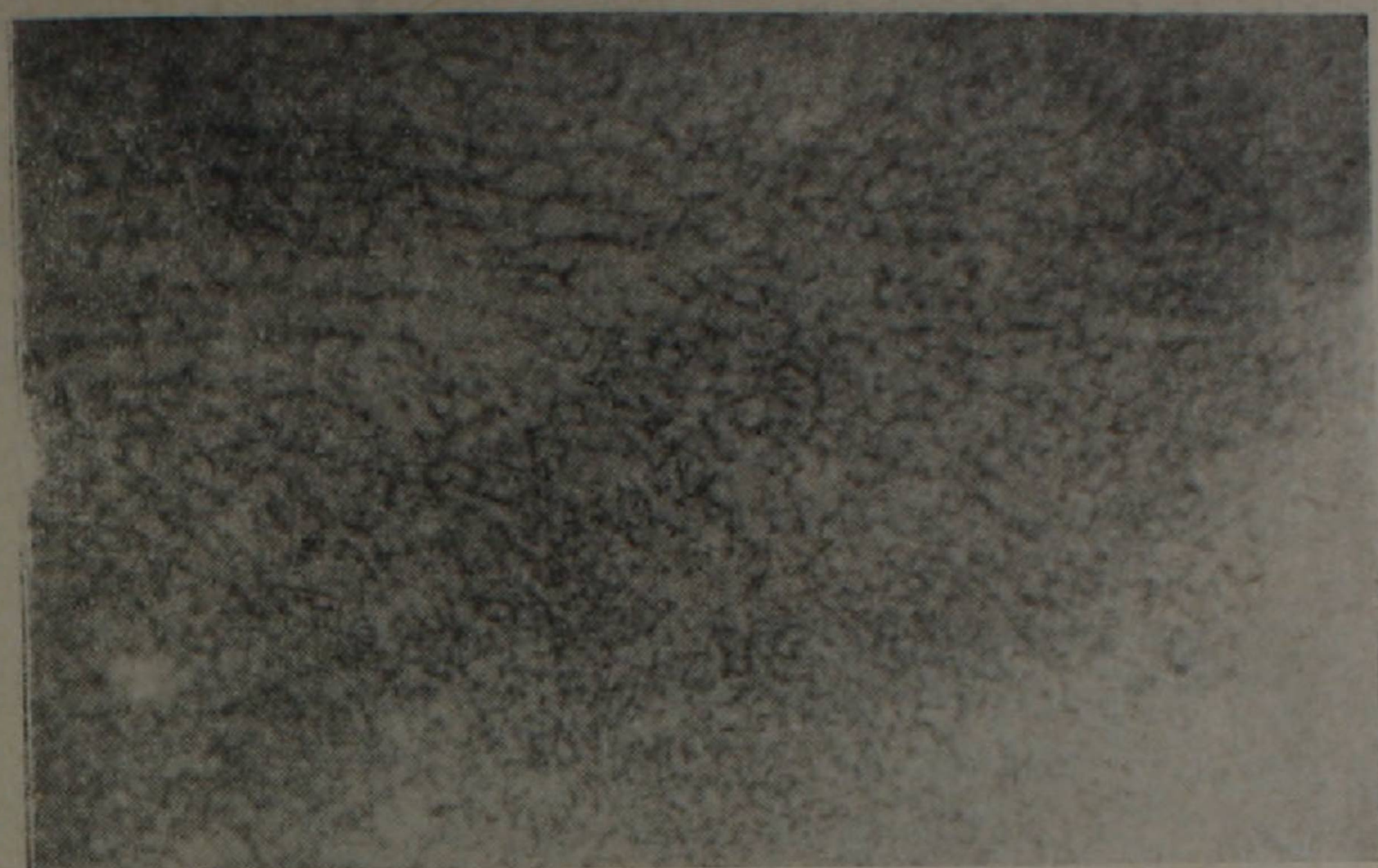


Рис. 1. Капиллярная сеть коры полушария головного мозга собаки (срез 200 μ об. 3, ок. 6.).



Рис. 2. Сосудистая сеть мозжечка собаки (срез 200 μ об. 3, ок. 6.).

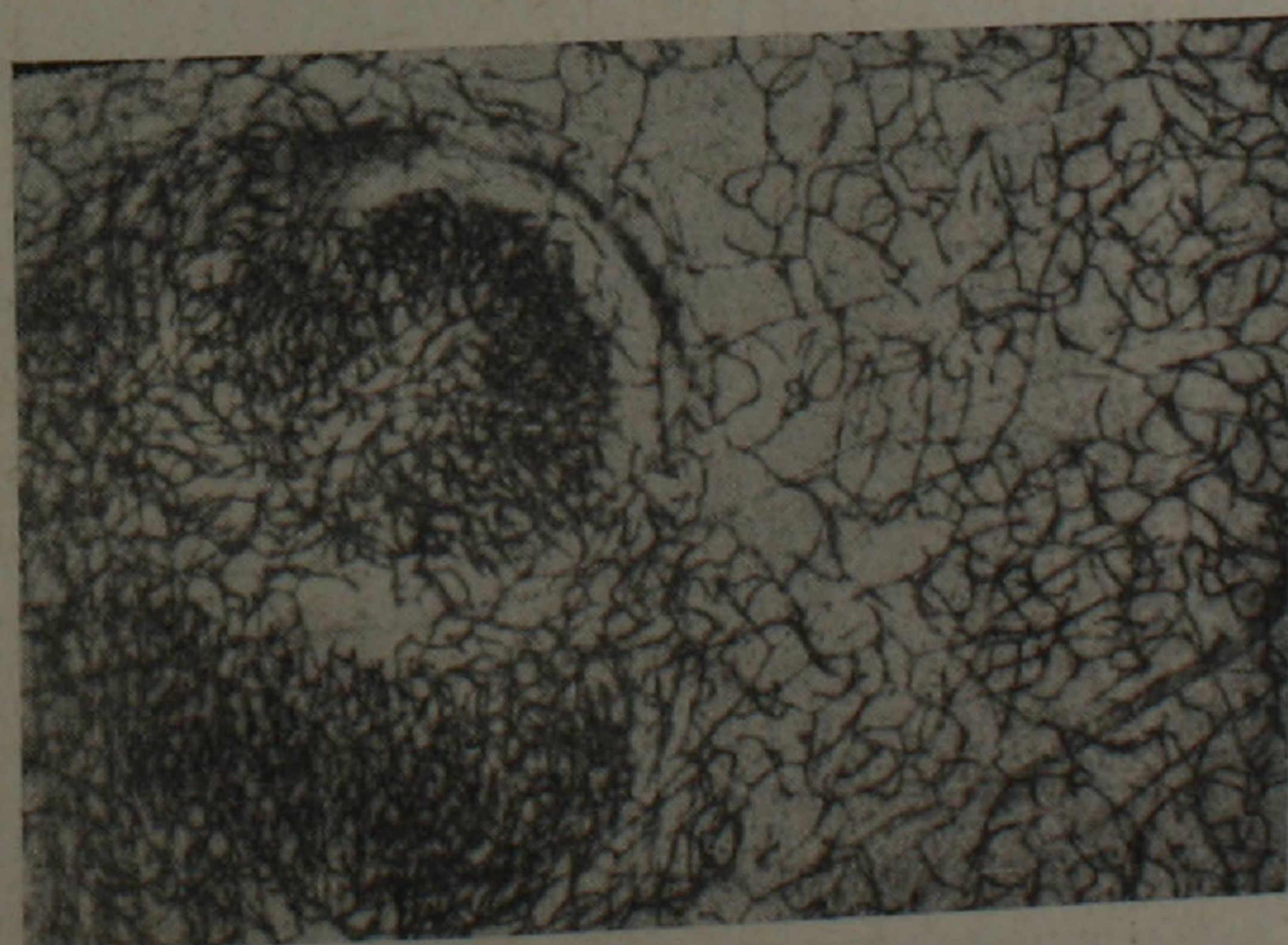


Рис. 3. Олива продолговатого мозга. Видна густая сеть капилляров данного участка по сравнению с соседними (срез 200 μ об. 3, ок. 8).

ственного отношения к барьерным свойствам мозговых сосудов, отсутствующих у новорожденных котят.

В мозгу новорожденных животных удалось найти многочисленные фигуры: почкование, капилляры с щупальцами (рис. 4), которые Кловский [1] относит к новообразованию капилляров в мозгу.

Этот вопрос, разумеется, требует более детального исследования. В настоящее время мы полагаем, что методика может быть полезной при изучении вопросов сосудистой пролиферации.

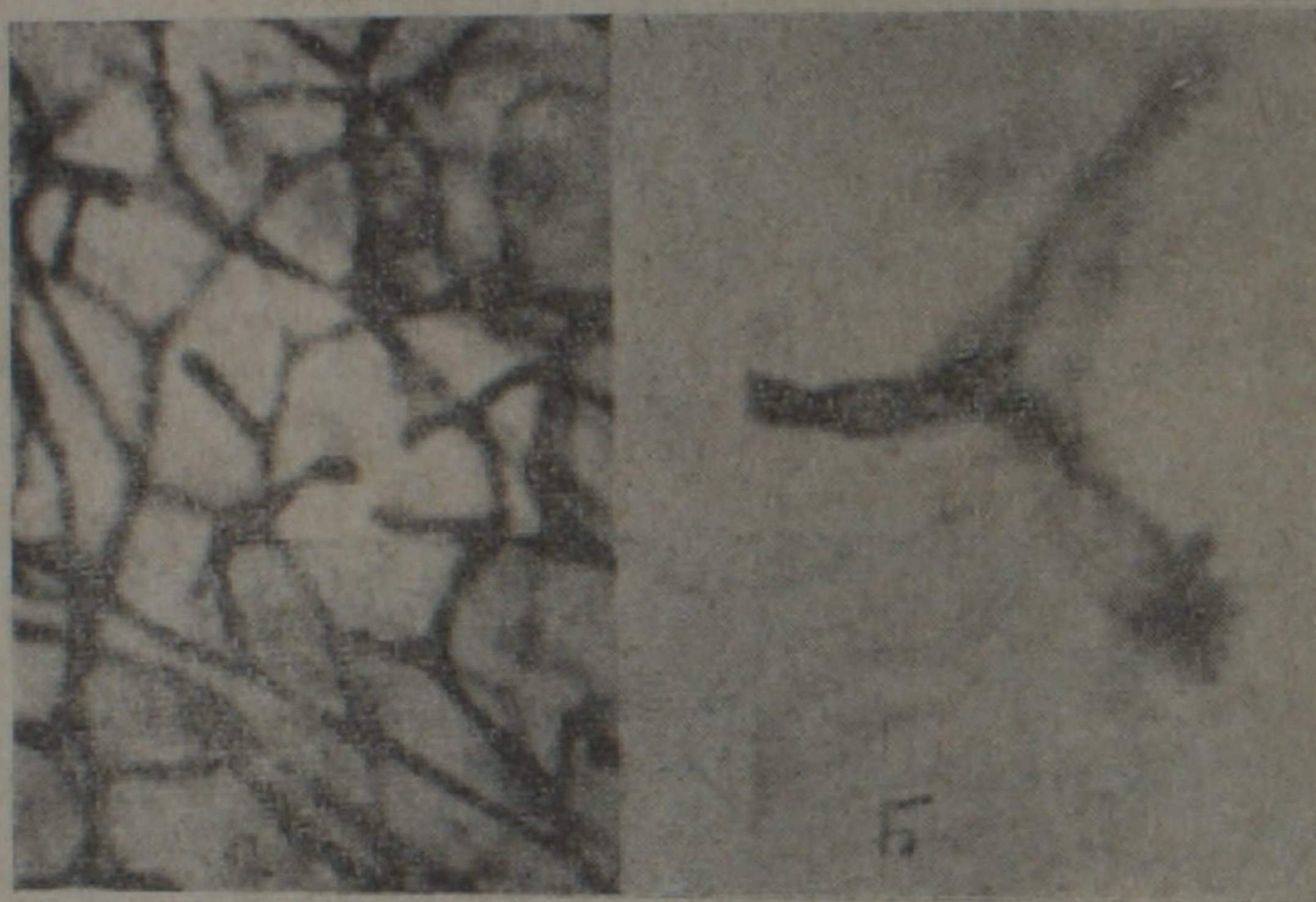


Рис. 4. а) Продолговатый мозг 2-дневного котенка. В центре рисунка видны несколько капилляров с булавовидными утолщениями на конце (об. 10, ок. 12). б). Тот же препарат. Булавовидное утолщение капилляра с отходящими от него короткими отростками (об. 40, ок. 12).

Как показали прежние исследования, на свежей ткани капилляры мозга и печени обладают весьма сходной реакцией. В отличие от мозговой, капиллярная СРС печени не реагирует на срезах фиксированной или свежемороженой ткани. При изучении печеночной капиллярной СРС с точки зрения закономерности концентрационных взаимоотношений [7] реакция также оказывается отрицательной. Безусловно, это обстоятельство обуславливается физико-химическим отличием мозговой и печеночной капиллярной СРС.

Как показывают проведенные в нашей лаборатории исследования, мозговая капиллярная СРС у разных видов животных по своим физико-химическим свойствам различна [2]. Весьма интересно, что капиллярная СРС надпочечников в известной мере повторяет реакцию капилляров мозга данного вида животного [6].

Мозговая капиллярная СРС (то же наблюдается и в отношении других СРС) реагирует при широких значениях рН от 3,8 до 6,4, если соблюдаются концентрационные взаимоотношения ионов свинца и буферной для данного рН. Это особенно видно на срезах свежемороженой ткани или на срезах кратковременно (до 16 ч.) фиксированного мате-

риала. Выбранное в настоящем сообщении рН среды весьма условно и имеет некоторое преимущество лишь с методической точки зрения.

Отсутствие изоэлектрической точки СРС говорит о том, что она мало связана с функциональными группами белковой молекулы.

Реакция мозговой капиллярной СРС предотвращается, если срезы до реакции предварительно на 15—20 мин. погружаются в растворы соляной, азотной, уксусной, трихлоруксусной, сульфосалициловой и пикриновой кислот.

Характерно, что часовое погружение срезов в 10%-ный раствор уксуснокислого аммония после инкубации не растворяет образованные на стенках капилляров преципитаты. По утверждению Тандлера [4], этот тест является специфичным и указывает на ортофосфатную природу образованных преципитатов. На основании этих и других накопленных нами фактов можно думать об ортофосфатной природе мозговой капиллярной СРС. Однако в настоящее время более целесообразным мы считаем употребление понятия СРС, пока не будут разработаны более точные контрольные и достоверные тесты, не только указывающие на фосфорную природу данной реакции, но и на источники, отщепляющие ортофосфаты.

Достоинство настоящего метода, помимо его простоты, заключается в возможности непосредственного выявления капиллярно-сосудистой стенки мозга как на тонких, так и на толстых срезах. Вероятно, методика в таком же виде может быть приемлема и для электронномикроскопического исследования капилляров мозга.

Институт физиологии им. акад.

Л. А. Орбели АН АрмССР

Поступило 16/VIII 1964 г.

2. Մ. ԶԻՐՆԳԱՐՅԱՆ

ՌԻՂԵՂԻ ԱՆՈԹՆԵՐԻ ԸՆՏՐՈՂԱԿԱՆ ՀԱՅՏՆԱԲԵՐՄԱՆ ԵՎ ՄԻԿՐՈՍԿՈՊԻԱԿԱՆ ՀԵՏԱԶՈՏՄԱՆ ՆՈՐ ՄԵԹՈԴ

Ա. մ փ ո փ ո լ մ

Ներկա աշխատանքում մշակված է նոր մեթոդ, որը հնարավորություն է տալիս ընտրողաբար հայտնաբերելու և ուսումնասիրելու գանգուղեղի արյունատար անոթները: Մեթոդի հիմքում ընկած է մազանոթի պատի մեջ գտնվող որոշակի միացությունների ռեակցիան (ֆոսֆորային) կապարի իոնների հետ: Անոթի պատում առաջանում է նստվածք, որը հետագայում վեր է ածվում կապարի սև սուլֆիդի: Մշակված մեթոդի պայմաններում ռեակցիայի մեջ են մտնում միայն անոթի պատի մեջ գտնվող միացությունները, որով եվ... պայմանավորվում է ռեակցիայի ընտրողականությունը: Որոշակի հետաքրքրություն է ներկայացնում այն հանգամանքը, որ հնարավոր է ուսումնասիրել հաստ կտրվածքները, որը շափազանց կարևոր է ուղեղի անոթային արխիտեկտոնիկայի ուսումնասիրման ժամանակ: Յուշ է տրված, որ ուղեղի և լյարդի

մազանոթների ռեակցիան խիստ տարբերվում է երբ հետազոտությունը կատարվում է ֆիքսված հյուսվածքների վրա: Առաջարկված մեթոդի պարզությունը, արագությունը և անոթի պատի անմիջական ռեակցիան հիմք է տալիս ենթադրելու, որ նա կարող է օգտակար լինել ուղեղի անոթավորման հարցերի ուսումնասիրման ասպարեզում նորմալ և ախտաբանական հետազոտությունների ժամանակ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Клосовский Б. Н. Развитие капилляров мозга. М., 1949.
2. Паравян Е. Н. Материалы научно-методической конференции с.-х. вузов. М., 1963, в. 2.
3. Снесарев П. Е. Теоретические основы патологической анатомии психических болезней. М., 1950.
4. Тандлер Е. J. Histochem. and Cytochem. 5, стр. 489, 1957.
5. Чилингарян А. М., Паравян Е. Н. Известия АН Арм. ССР (мед. н.), 1961, 6, стр. 17.
6. Чилингарян А. М., Паравян Е. Н. Известия АН Арм. ССР (биол. н.), 11, стр. 85, 1964.
7. Чилингарян А. М. ДАН АрмССР. 40, 5, № 2, 1965.