

որը հնարավորութիւն է տալիս պարզելու ինչպէս ներհյուսվածքային միկրո-
բային օջախների տեղակայումը, այնպէս էլ հյուսվածքի կառուցվածքային
առանձնահատկութիւնները:

N. D. VARTAZARIAN

ON THE METHODS OF MICROBES IDENTIFICATION IN HISTOLOGIC CUTS ACCORDING TO GRAM

The modification of the Gram method for identification of microbes in histologic cuts is suggested. The method allows to reveal in the tissue gram-positive and gram-negative bacteria, as well as to judge about the tissue histostructure.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Меркулов Г. А. Курс патогистологической техники. Л., 1969.
2. Лули Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. М., 1969.
3. Adams E. Stain Techn., 1975, 50, 227.
4. Brown R. C., Hopps H. C. Amer. J. Clin. Path., 1973, 60, 234.
5. Brown R. C., Hopps H. C. Histo-Logic, 1978, 8, 1, 108.
6. Engebaek K., Johnsen K. S., Johnsen M. E. Ugeskr. Laeg., 1977, 139, 40, 2385.
7. Humberstone F. D. J. Med. Lab. Technol. 1963, 20, 153.
8. Taylor R. D. Amer. J. Clin. Path. 1966, 46, 472.

УДК 616.155.02+616+411—097

И. С. КАСПАРОВА, А. В. АЗНАУРЯН, Э. С. АКОПДЖАНЫН

ГИСТОФЕРМЕНТАТИВНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛИМФОУЗЛОВ И СЕЛЕЗЕНКИ ПРИ АНТИГЕННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

Изучены структурно-функциональные особенности Т- и В-зон лимфоузлов и селезенки у подопытных крыс в различные сроки иммунизации с помощью гистоэнзимологических маркеров.

Установлено, что по локализации активности различных ферментов можно определить Т- и В-зависимые зоны в этих органах.

Установлено, что лимфоузлы и селезенка являются периферическими органами иммуногенеза [6]. Именно в этих органах происходят структурные и функциональные изменения, являющиеся ответом на антигенное раздражение. Принято разделять функциональные зоны лимфоузлов и селезенки на Т- и В-зависимые. К В-зависимым зонам относят лимфоидные фолликулы лимфоузлов и селезенки, а к Т-зависимым — паракортикальную зону лимфоузла и область, расположенную вокруг центральной артерии селезенки. Тимус-зависимые зоны представлены Т-лимфоцитами [3].

Несмотря на значительные достижения в области иммуноморфологии периферических органов иммунитета, многие вопросы структуры и функции лимфоузлов и селезенки остаются невыясненными. Так, име-

ются лишь единичные работы, посвященные гистохимической характеристике различных зон указанных органов [1].

Целью настоящего исследования является изучение структурно-функциональных особенностей Т- и В-зависимых зон лимфоузлов и селезенки при антигенном воздействии с помощью гистоэнзимологических маркеров.

Материал и методы исследования

Опыты проводились на 60 половозрелых крысах весом 100—120 г. В качестве антигена использовали 8% взвесь отмытых эритроцитов барана, которую вводили в количестве 0,2 мл в хвостовую вену. Иммунизированных животных забивали на 5, 7, 9, 11, 13 и 16-й дни иммунизации. Контролем служили аналогичные органы 10 крыс, которым антиген не вводился. В свежемороженых криостатных срезах лимфоузлов и селезенки определялась активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), альфа-глицерофосфатдегидрогеназы (α -ГФДГ) и никотинамиддинуклеотид-диафразы (НАД-диафразы) по Нахласу. Выбор ферментов определялся их участием в клеточном обмене и метаболизме, а также в белково-синтетических процессах, происходящих в клетке.

Акцептором электронов служил нитросиний тетразолий. Срезы инкубировали в термостате при температуре 37° в течение 20 мин. Об уровне активности ферментов судили по интенсивности гистохимических реакций. В срезах, предварительно фиксированных в формол-кальциевой смеси Беккера, выявляли активность кислой фосфатазы (КФ) и щелочной фосфатазы (ЩФ) по Гомори. При выявлении активности ферментов ставили соответствующий гистохимический контроль.

Результаты исследования и их обсуждение

Проведенные исследования показали, что в лимфоузлах отмечается высокая активность ЩФ в эндотелии сосудов, расположенных вокруг фолликулов, преимущественно в области между корковым и мозговым веществом, которая соответствует паракортикальной области. В ней, как известно, проходят посткапиллярные венулы. Активность ЩФ выявляется также и в эндотелии сосудов мозгового слоя лимфоузла. Это соответствует функции ЩФ—участию в переносе метаболитов через гемато-гистиогенный барьер.

Активность КФ в лимфоузлах на 5-й день иммунизации выявляется в светлых центрах фолликулов в виде очаговых скоплений клеток с активностью фермента. Высокая активность фермента проявляется в клетках синусов лимфоузла. Доказано, что КФ участвует в процессах лизиса, пиноцитоза и выделения, а также связана с синтезом клеточных белков [2].

Дегидрогеназы участвуют в реакциях биологического окисления—восстановления, в ходе которых происходит перенос атомов водорода или электронов с одной молекулы на другую [2, 5]. Активность НАД-

диафоразы в лимфоузлах выявляется в стенке капилляров, в стенках синусов, а также в клетках, расположенных в просвете синусов. В селезенке активность НАД-диафоразы проявляется в стенке сосудов всех калибров. Кроме того, выявляется невысокая активность в клетках белой пульпы селезенки, чаще по периферии фолликулов. Активность ЛДГ слабая в стенках сосудов и в крупных клетках красной пульпы селезенки (по-видимому, в макрофагах). Аналогичная картина проявляется и при выявлении активности СДГ. При исследовании активности α -ГФДГ выявляется слабая активность в ретикулярных клетках красной пульпы селезенки.

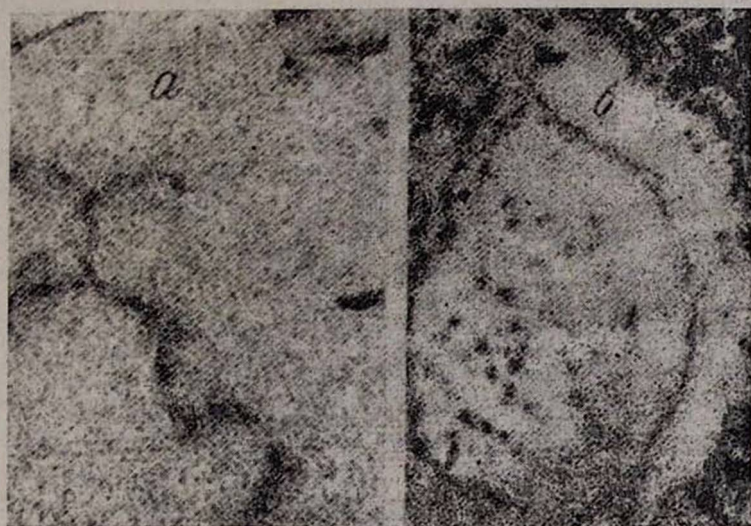


Рис. 1 а. ЩФ в стенке сосудов лимфоузла. б. Активность КФ в фолликулах селезенки. Окраска по Гомори. Ок. 10, об. 20.

На 7-й день иммунизации в лимфоузлах увеличивается количество сосудов с активностью ЩФ (рис. 1 а). В препаратах, обработанных для выявления КФ, отмечается увеличение числа лимфоидных фолликулов и усиление активности фермента. В селезенке активность ЩФ отмечается в эндотелии сосудов, а также в красной пульпе и единичных крупных клетках, расположенных в основном вокруг фолликулов. Зона вокруг центральной артерии неактивна. Активность КФ выявляется в клеточных структурах красной пульпы. В фолликулах видны очаговые скопления клеток с активностью фермента (рис. 1 б). Активность НАД-диафоразы в стенке сосудов лимфоузлов, а также в стенках синусов высокая. В селезенке отмечается повышение активности НАД-диафоразы в стенке сосудов, особенно в центральной артерии.

Активность ЛДГ в лимфоузлах в эти сроки иммунизации невысокая. Гранулы формазана выявляются в цитоплазме крупных клеток фолликулов. Слабой активностью выделяются клетки синусов. В селезенке изменений активности ЛДГ по сравнению с 5-ым днем иммунизации не наблюдается.

В клетках фолликулов лимфоузлов отмечается высокая активность СДГ в виде диффузного окрашивания цитоплазмы. В селезенке активность СДГ слабая.

Активность α -ГФДГ невысокая в цитоплазме крупных отростчатых клеток фолликулов лимфоузлов. В селезенке активность этого фермента проявляется в клетках фолликулов в виде пылевидных гранул формазана. В ретикулярных клетках красной пульпы также видны зерна.

На 9-й день иммунизации отмечается ослабление активности КФ в клетках фолликулов лимфоузлов, а также паракортикальной зоны (Т-лимфоциты). В селезенке в эти сроки иммунизации существенных изменений в активности фермента не наблюдается. Активность ЩФ, а также ферментов гликолиза (СДГ, ЛДГ и НАД-диафразы) в лимфоузлах и селезенке оставалась такой же, как и на 7-й день иммунизации.

На 11-й день иммунизации активность НАД-диафразы и окислительно-восстановительных ферментов (СДГ, ЛДГ и α -ГФДГ) не менялась. На 13-й день иммунизации в лимфоузлах отмечается высокая активность КФ в вышеуказанных зонах. Активность НАД-диафразы, СДГ, ЛДГ также высокая в клетках синусов и в крупных клетках фолликулов. Активность α -ГФДГ умеренная в лимфоузлах и селезенке.

На 16-й день иммунизации активность всех ферментов ослабевает как в лимфоузлах, так и в селезенке.

Результаты проведенных исследований показывают, что активность всех ферментов повышалась к 5—7-му дню иммунизации и в основном проявлялась в крупных клетках лимфоузлов и селезенки, подобных макрофагам. Именно в эти сроки в лимфоузлах и селезенке начинается формирование реактивных центров. Более того, в ответ на антигенное воздействие происходит активация и гиперплазия ретикуло-эндотелиальных элементов, что проявляется в изменении числа и структуры макрофагов. Наблюдаемая нами активность некоторых ферментов (СДГ, ЛДГ и α -ГФДГ) в крупных клетках селезенки и лимфоузлов является гистохимическим подтверждением вышеописанного процесса. На 9, 11 и 13-й дни иммунизации активность всех исследуемых ферментов оставалась высокой. Последнее свидетельствует о том, что в эти сроки идет интенсивный белково-синтетический процесс с образованием антител. На 16-й день иммунизации активность всех исследуемых ферментов заметно падала.

Таким образом, ферментативный анализ лимфоузлов и селезенки в различные сроки иммунизации показывает, что на 7—13-й дни иммунизации повышается активность всех ферментов. Характерная локализация активности КФ в светлых центрах фолликулов и в паракортикальной зоне лимфоузла, а в селезенке—в клеточных структурах красной пульпы и фолликулах в виде очаговых скоплений дает возможность отдифференцировать Т- и В-зависимые зоны.

Положительная активность ЩФ, проявляющаяся в клеточных структурах селезенки, расположенных вокруг фолликулов и в красной пульпе, а в лимфоузлах—вокруг отдельных фолликулов, свидетельствует о том, что в этих зонах, очевидно, локализуются В-лимфоциты, которые в фазе бласттрансформации дают положительную реакцию на ЩФ.

Активность окислительно-восстановительных ферментов проявляется в В-зонах исследуемых органов (внутри фолликулов в виде зерен, гранул, а также в синусах мозгового слоя узла и в крупных клетках красной пульпы).

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют о функциональных особенностях различных зон лимфоузла и селезенки, которые документируются с помощью гистохимических реакций.

Кафедра гистологии Ереванского мед. института

Поступила 10/XI 1980 г.

Ի. Ս. ԿԱՍՊԱՐՈՎԱ, Ա. Վ. ԱԶՆԱՐԻԱՆ, Է. Ս. ՀԱԿՈՐՋԱՆՅԱՆ

ԱՆՏԻԳԵՆԱՅԻՆ ԱԶԳԱԿԻ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ ՓԱՅՇԱՂԻ
ԵՎ ԱՎՇԱՅԻՆ ՀԱՆԳՈՒՅՑՆԵՐԻ ՀԻՍՏՈԷՆԶԻՄԱՏԻԿ ԲՆՈՒԹԱԳԻՐԸ

Իմուն առնետների մոտ ուսումնասիրված են փայծաղի և ավշային հանգույցների Т- և В- զոնաների կառուցվածքային և ֆունկցիոնալ առանձնահատկությունները իմունացման տարբեր ժամկետներում՝ հիստոէնզիմային մարկյորների օգնությամբ:

Փորձերը դրվել են 100—120 դր 60 սեռահասուն առնետների վրա, որոնք իմունացվել են 0,2 մլ ուլխարի էլեկտրոցիտների 8% կախուրով:

Ավշային հանգույցների և փայծաղի կրեոստատային թարմ սառեցված կտրվածքներում որոշվել է սուլֆիդինատ դեհիդրոգենազի (Ս. Դ. Հ.), լակտատ դեհիդրոգենազի (Լ. Դ. Գ.) գլիցերոֆոսֆատ դեհիդրոգենազի (α-Գ. Ֆ. Դ. Գ.) և նիկոտինամիդ դինուկլեոտիդ դիաֆորազի (Ն. Ա. Դ.—դիաֆորազ) ակտիվությունը ըստ նախաև, իսկ հիմնային ֆոսֆատազի (Հ. Ֆ.) և թթու ֆոսֆատազի (Թ. Ֆ.) ակտիվությունը ըստ Գոմորի: Հայտնաբերված է, որ կարելի է որոշել և զոնաների տեղակայումը՝ կախված այդ օրգաններում տարբեր ֆերմենտների ակտիվությունից:

I. S. KASPAROVA, A. V. AZNAURIAN, E. S. HAKOPIANIAN

HISTOFERMENTATIVE CHARACTERISTICS OF THE LYMPH
NODS AND SPLEEN DURING ANTIGENOUS INFLUENCE

The structural and functional peculiarities of T- and B-dependent zones of lymph nodes and spleen in experimental rats have been investigated in different terms of immunization by means of histoenzymologic markers. It is established that according to the localization of the activity of different ferments it is possible to determine T- and B-dependent zones of these organs.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Агеев А. К. Архив патол., 1976, 37, 12, стр. 3.
2. Берсток М. Гистохимия ферментов. М., 1965.
3. Жарикова Н. А. Периферические органы системы иммунитета. Минск, 1979.
4. Сапин М. Р., Юрина Н. А., Этинген Л. Е. Лимфатический узел. М., 1978.
5. Пирс Э. Гистохимия ферментов. М., 1962.
6. Фриденштейн А. Я., Чертков И. Л. Клеточные основы иммунитета. М., 1969.