УДК 577.152.313.08

Дж. А. МАРТИРОСЯН

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ КИСЛОЙ ФОСФАТАЗЫ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ НЕКОТОРЫХ ПОЗВОНОЧНЫХ

Установлено, что при определении активности кислой фосфатазы преципитация фосфата свинца в скелетных мышцах также подчиняется закономерности концентрационного взаимоотношения. Исходя из указанной закономерности, у многих млекопитающих можно добиться избирательного и четкого выявления двигательных бляшек.

По данным А. М. Чилингаряна [1], при выявлении активности кислой фосфатазы мозга согласно закономерности концентрационного взаимоотношения конечный продукт реакции—фосфат свинца—может осаждаться в зависимости от концентрационного фактора среды как на ферментативных структурах, так и на структурах, не обладающих ферментной активностью. Данные эти, помимо сугубо гистохимического, имеют важное значение и в морфологическом аспекте, так как с помощью указанного подхода можно выявить структуры, которые с трудом поддаются исследованию существующими морфологическими методами. Учитывая то обстоятельство, что кислая фосфатаза в скелетных мышцах не исследовалась с точки зрения закономерности концентрационного взаимоотношения, нами предпринята попытка изучения данного вопроса у представителей разных классов позвоночных.

Материал и методы

Исследования проводились при высоких значениях pH (5,9), где довольно точно можно проследить изменения характера преципитации фосфата свинца под влиянием концентрационного фактора среды. Объектом исследования служили скелетные мышцы представителей разных классов позвоночных: рыбы, лягушки, ящерицы, куры; из млекопитающих—крысы, кролики, кошки и собаки. У млекопитающих и земноводных исследовалась икроножная мышца, у рыб—мышцы плавников, а у ящериц—мышцы хвоста и задних конечностей. Материал брался непосредственно после декапитации. Кусочки толщиной 2—3 *мм* фиксировались в ацетоне на холоду в течение 24 часов, после чего промывались в дистиллированной воде от 1 до 24 часов, готовились замороженные срезы толщиной в 40 и 150 *мк*.

Выявление активности кислой фосфатазы проводилось с помощью метода Гомори (пропись Wolf, Kobat, Newman [2]) и согласно закономерности концентрационного взаимоотношения, установленной А. М. Чилингаряном, при котором количество азотнокислого свинца оставалось неизмененным, а количество буфера варьировало от 5 до 25 *мл* с интервалом в 5 *мл*. Срезы инкубировались от 5 до 24 часов (наилучшие результаты были получены после 8—9-часовой инкубации).

Инкубационные смеси имели следующий состав: ацетатный буфер (IH) pH 5,9—от 5 до 25 *мл*, азотнокислый свинец 1/10 M (0,33%)—

10 *мл*, глицерофосфат натрия 2%—3 *мл*, дистиллированная вода—до 100 *мл*.

Дальнейшая обработка проводилась так же, как и по методу Гомори.

Результаты и обсуждение

Результаты исследований показали, что у рыб, лягушек, ящериц и птиц методом Гомори на светло-коричневом фоне препарата обнаруживаются в малом количестве светлоокрашенные ядра мышечных и шванновских клеток, в кариоплазме которых можно отличить темные ядрышки. Реагируют как пучки, так и отдельные нервные волокна, аксоны которых окрашены интенсивно. Местами выявляются отдельные сосуды и капилляры за счет окраски ядер стенки. Двигательные бляшки при этом не выявляются.

В отличие от метода Гомори в срезах, инкубированных при pH 5,9 с 5 *мл* буфера (в инкубационной смеси) у лягушек выявляются нервные пучки, разбросанные по всему препарату, в которых интенсивно окрашены аксоны и их окончания. Они имеют Т-образную форму, а у рыб, ящериц и птиц окрашиваются немногочисленные нервные волокна и ядра мышечных и шванновских клеток. Нервные окончания не выявляются. Довольно четко окрашивается стенка сосудов и капилляров, не образующих, однако, непрерывной сосудисто-капиллярной сети на всех участках препарата. С 10 *мл* буфера в смеси происходит значительное ослабление интенсивности окраски и уменьшение количества выявляемых сосудов и капилляров. Дальнейшее увеличение количества буфера в смеси полностью снимает реакцию стенки сосудов, и в основном окрашиваются мышечные и эндотелиальные ядра, а с 20—25 *мл* буфера они напоминают картину, полученную методом Гомори.

У млекопитающих методом Гомори выявляются слабоокрашенные пучки нервных волокон. Изредка можно заметить контуры миелиновых оболочек. Эти пучки дают начало претерминальным волокнам, аксоны которых окрашиваются значительно интенсивнее, они заканчиваются темноокрашенными терминалями среди ядер подошвы. В препарате обнаруживаются также ядра мышечных и шванновских клеток, в кариоплазме которых видна мелкая зернистость. Очень слабо окрашивается эндотелий капилляров и сосудов, а некоторые из них определяются по реакции ядер.

При pH 5,9 с 5 *мл* буфера у крыс посередине мышечного волокна выявляются поперечно идущие пучки нервных волокон. От них отходят отдельные нервные волокна, которые заканчиваются тонкими ветвистыми терминалями (рис. 1 а). В отдельных участках препарата окрашивается также сосудисто-капиллярная сеть.

У кроликов, кошек и собак в этих же условиях (в отличие от метода Гомори) окрашиваются двигательные бляшки с хорошо выраженными складками сарколеммы и четкой зернистостью саркоплазмы. Это особенно четко обнаруживается у кошек и собак (рис. 1 б). Претерминальные и терминальные волокна едва заметны. Наряду с бляшками выявляются также слабоокрашенные за счет мелкозернистого осадка

сосуды и капилляры. При увеличении количества буфера до 20—25 *мл* морфологическая картина становится идентичной таковой при использовании метода Гомори.

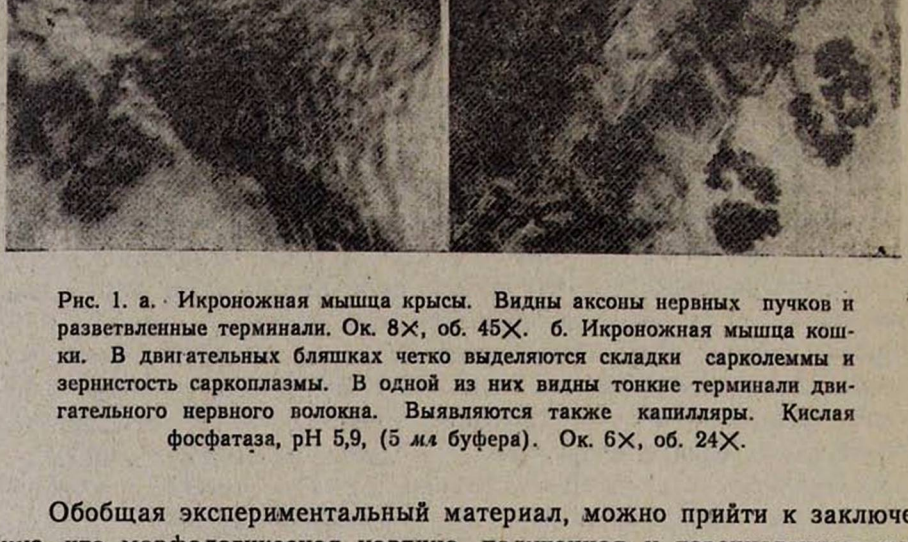


Рис. 1. а. Икроножная мышца крысы. Видны аксоны нервных пучков и разветвленные терминали. Ок. 8×, об. 45×. б. Икроножная мышца кошки. В двигательных бляшках четко выделяются складки сарколеммы и зернистость саркоплазмы. В одной из них видны тонкие терминали двигательного нервного волокна. Выявляются также капилляры. Кислая фосфатаза, pH 5,9, (5 *мл* буфера). Ок. 6×, об. 24×.

Обобщая экспериментальный материал, можно прийти к заключению, что морфологическая картина, полученная у перечисленных животных при изучении активности кислой фосфатазы при pH 5,9 с 20—25 *мл* буфера, соответствует таковой, полученной стандартным методом Гомори. Следовательно, одни и те же структуры могут быть выявлены при разных значениях pH, если соответственно подобрать соотношение ионов свинца и буфера.

На основании полученных данных становится очевидным, что выявление активности кислой фосфатазы в скелетных мышцах также подчиняется закономерности концентрационного взаимоотношения, без учета которой трудно получить достоверные сведения.

Таким образом, нами показано, что наиболее богатая морфологическая картина у млекопитающих получается при pH 5,9 с 5 *мл* буфера. В отличие от стандартного метода Гомори в этих случаях удается одновременно окрасить сосуды, капилляры и двигательный нервный аппарат, что представляет несомненный интерес в морфологических исследованиях нервно-сосудистых взаимоотношений. Кроме того, у кошек и собак четко выявляются складки сарколеммы и зернистость саркоплазмы, что невозможно обнаружить методом Гомори.

Полученная картина является весьма демонстративной, и этот вариант, по всей вероятности, можно применять при морфологическом изучении моторных бляшек у указанных видов животных.

Небезынтересно было выявить природу образованных преципитатов. С этой целью производилась инактивация фермента 0,01 М раствором фтористого натрия. Просмотр срезов после инкубации пока-

зал полное отсутствие осадков в нервных структурах, в то время как стенки сосудов и капилляров окрашивались по-прежнему.

Таким образом, контрольные опыты позволяют заключить, что происходит одновременно энзиматическое и неэнзиматическое образование преципитатов Нервные структуры выявляются за счет ферментативной активности, а образование осадка на сосудистых стенках носит неэнзиматический характер.

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

Поступила 24/IV 1981 г.

Ջ. Հ. ՄԱՐՏԻՐՈՍՅԱՆ

ԹԹՈՒ ՖՈՍՖԱՏԱԶԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՈՐՈՇՈՒՄԸ ՈՐՈՇ ՈՂՆԱՇԱՐԱՎՈՐՆԵՐԻ ԿՄԱԽՔԱՅԻՆ ՄԿԱՆՆԵՐՈՒՄ

Փորձի արդյունքները հիմք են տալիս ենթադրելու, որ թթու ֆոսֆատազի ակտիվության հայտնաբերման դեպքում տարբեր դասի պատկանող ողնաշարավորների կմախքային մկաններում կապարի ֆոսֆատի նստվածքը նույնպես ենթարկվում է կոնցենտրացիոն փոխհարաբերության օրինաչափությանը։ Ելնելով այս օրինաչափությունից որոշ կաթնասունների մոտ կարելի է ստանալ ցայտուն կերպով արտահայտված նյարդային շարժիչ թիթեղներ, ինչպես նաև անոթա-մազանոթային ցանց։

J. H. MARTIROSSIAN

DETERMINATION OF ACID PHOSPHATASE OF THE SCELETAL MUSCLES OF SOME VERTEBRATES

It is established, that by the determination of the activity of acid phosphatase the precipitation of lead phosphate in the sceletal muscles submit to the regularity of the concentration interrelation too. Proceeding from the mentioned regularity, we may achieve highly electoral and lear exposure of the motor patchers of many mammals.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Чилингарян А. Н.* Докт. дисс. Ереван, 1968.
2. *Wolf A., Kabat E. A., Newman W.* Amer. J. Pathol., 1943, 19, 423.

УДК 616.351—007.253—002

Л. У. НАЗАРОВ, Э. Б. АКОПЯН, А. К. ЭНФЕНДЖЯН

ЭТИОЛОГИЯ И ПАТОГЕНЕЗ ОСТРЫХ И ХРОНИЧЕСКИХ ПАРАПРОКТИТОВ

(обзор литературы)

Приведен обзор отечественной и иностранной литературы по этиологии и патогенезу острых парапроктитов и свищей прямой кишки. Данные обзора свидетельствуют о том, что несмотря на наличие многочисленных публикаций по этиопатогенезу пара-