

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 611—018—086—3

МЕТОД ПЛОСКО-ПАРАЛЛЕЛЬНОЙ ЗАЛИВКИ СРЕЗОВ ТКАНЕЙ
ДЛЯ КОРРЕЛИРОВАННОГО СВЕТО-ЭЛЕКТРОННО-
МИКРОСКОПИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Т. С. АГЛИНЦЯН, Дж. А. МАРТИРОСЯН

Заливка гистологических срезов тканей в эпоксидные смолы в виде светомикроскопического препарата, позволяющего производить общий обзор ткани, поиск и выбор интересующих структур для последующего прицельного ультратомирования и электронномикроскопического изучения, проводилась единичными исследователями различными способами [4, 9].

Сущность предлагаемого нами метода заключается в том, что заливка срезов в эпоксидные смолы производится между параллельными пластинками из полиэтилена и листового эпон-аралдита или аралдита. Этот метод апробирован нами при электронногистохимическом выявлении активности кислой фосфатазы на срезах мозга крысы с использованием инкубационной смеси Чилшгаряна [3], а также при выявлении миоглобина в биопсированном миокарде человека методом Джеймса [5]. 30–50-микронные замороженные срезы из альдегидфиксированного материала после указанных гистохимических реакций тщательно промывали в растворе сахарозы и монтировали на гладких обезжиренных полиэтиленовых пластинках размером 26×19–25 мм, (вырезанных из полиэтиленовых крышек или тары), затем высушивали при комнатной температуре и постфиксировали в чашках Петри при 4° накопыванием 1%-ного раствора четырехоксида осмия с 7,5% сахарозы в течение 1 часа, промывали в растворе сахарозы, вновь высушивали и обезвоживали 90%-ным и абсолютным ацетоном при комнатной температуре (две смены по 10 мин). Пропитывали по 1 часу в смеси смолы с ацетоном (в соотношении 1:2 и 2:1) и оставляли в заливочной смеси на ночь при комнатной температуре. Финальную заливку проводили следующим образом: на срез наносили несколько капель свежей заливочной смеси и пластинки срезами вниз укладывали на матовую поверхность подложки из листовой эпоксидной смолы. Подложки размером 76×25 мм и толщиной 0,7–0,8 мм заготавливали заранее из соответствующих смесей для заливок в эпон-аралдит [6] и аралдит [7] с помощью ограничивающих рамок из листовой пластмассы соответствующей

щей толщины, приклеиваемых к пластине из полиэтилена или продажного оргстекла. Полимеризацию проводили на абсолютно горизонтальной полке термостата, после чего эпоксидную подложку отделяли от основы и рамки, а перед употреблением матовую поверхность ее очищали ацетоном. На одну подложку можно уложить 3—4 пластинки со срезами. Этот «сэндвич» помещали между двумя пластинами из толстого стекла, предварительно покрытыми полиэтиленовой пленкой, чтобы в случае вытекания смола не приставала к стеклу, и ставили на полимеризацию при 60° на 24—48 час., после чего полиэтиленовые пластинки отщепляли, срезы при этом оставались на подложке. Препарат изучали под световым микроскопом, интересующую структуру маркировали загнутой на конце препаровальной иглой (можно использовать отметчики любой конструкции), иссекали пробойником микроблск, приклеивали его к свободному блоку смолы и после повторной полимеризации ультратомировали. Желательно, чтобы конечный продукт гистохимических реакций был бы окрашен светооптически и одновременно обладал необходимой электронной плотностью, как было в нашем случае. Это создает оптимальные условия для коррелированного светоэлектронномикроскопического исследования, хотя при отсутствии указанных условий, вероятно, можно прибегнуть и к фазовоконтрастной микроскопии.

Описанный вариант плоскопараллельной заливки может быть пригоден и для криостатных срезов, которые фиксируются альдегидами и осмиевой кислотой после соответствующих гистохимических реакций. Процедура замораживания—оттаивания, несомненно, отражается на сохранности ультраструктур, что, вероятно, можно устранить обработкой кусочков тканей 20%-ным диметилсульфоксидом [3]. В этом аспекте предлагаемый вариант может оказаться наиболее подходящим для заливки пленчатых препаратов.

В заключение необходимо отметить, что использование полиэтиленовых пластин взамен стекла при заливке [1], а также листового полиметакрилата как при заливке, так и при изготовлении эпоксидных подложек [2], целесообразнее, так как их легко отщеплять (отпадает необходимость длительного отмачивания и воздействия контрастом температур с помощью сухого льда и т. д.). Малая толщина подложки позволяет иссекать микроблок обычным пробойником вручную и не прибегать к выпиливанию электродрелью. Светооптические качества препарата хорошие, а при необходимости их можно значительно улучшить, покрывая его поверхность тонким слоем разбавленной ацетоном заливочной смеси и повторной полимеризацией. С целью экономии реактивов можно манипулировать со свободными, не прикрепленными к полиэтиленовой пластинке срезами и заливать их описанным способом после пропитки. Однако при этом срезы могут деформироваться и разрушаться.

Таким образом, предлагаемый метод по сравнению с существующими методами плоско-параллельной заливки проще и доступнее. Он

сокращает сроки обработки материала и не требует дополнительных затрат и приспособлений.

Филиал ВНИИК и ЭХ МЗ СССР, Ереван,
Институт физиологии им. акад. Л. А. Орбели АН АрмССР Поступило 28.VIII 1978 г.

**ՀՅՈՒՍՎԱԾՔԱՅԻՆ ԿՏՐՎԱԾՔՆԵՐԻ ՀԱՐԹ-ՉՈՒԳԱՀԵՌԱԿԱՆ
ԼՅՄԱՆ ՄԵԹՈԴԸ ԼՈՒՍԱՅԻՆ ԵՎ ԷԼԵԿՏՐՈՆԱՄԱՆՐԱԴԻՏԱԿԱՅԻՆ
ՀԱՄԱՀԱՐԱԲԵՐԱԿՑԱԿԱՆ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՄԱՆ ՀԱՄԱՐ**

Թ. Ս. ԱԳՒՆՑՅԱՆ, Ջ. Հ. ՄԱՐՏԻՐՈՍՅԱՆ

Նկարագրվում է հյուսվածքային կտրվածքների հարթ-դուրահեռական
լցման նոր մեթոդ՝ էպոքսիդային խեժով, որը ներ է մուծվում պոլիէթիլենա-
յին և էպոն-արալդիտից կամ արալդիտից պատրաստված թիթեղների միջև:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Рейнгольд В. Н., Акопян С. М., Лисак В. М., Шестопалова Н. М. Тез. докл. VII Всесоюзной конференции по электронной микроскопии, М., 1969.
2. Рейнгольд В. Н., Лисак В. М. Цитировано по Рейнгольду с соавт. Тез. докл. VII Всесоюзной конференции по электронной микроскопии. М., 1969.
3. Чилингарян А. М. Докт. дисс., Ереван, 1968.
4. Holländer H. Brain Research, 20, 1, 39—47, 1970.
5. James N. T. J. Histochem., 26, 4, 327—332, 1971.
6. Mollenhauer H. H. Stain Technology, 39, 111—114, 1964.
7. Weakly B. Электронная микроскопия для начинающих. М., 1975.
8. Zagury D., Model P. G., Pappas G. D. J. Histochem. Cytochem., 16, 40, 1968.
9. Zeitoun, Lehy T. Lab. Invest., 23, 2, 1970.