

УНИВЕРСАЛЬНЫЙ МЕТОД ЭЛЕКТИВНОГО ВЫЯВЛЕНИЯ АРГИРОФИЛЬНЫХ СТРУКТУР

МАРКОВ И.И., ПЕТРОВ Е.С., МАРКОВА В.И.

A UNIVERSAL METHOD OF ELECTIVE DETECTION OF ARGYROPHILIC STRUCTURES

MARKOV I.I., PETROV E.S., MARKOVA V.I.

Научно-исследовательская лаборатория по проблемам морфологии (руководитель – профессор И.И.Марков) медицинского университета «Реа-виз» (ректор – профессор Н.А.Лысов) г.Самара.

Существует дефицит информации о структурной организации инициального лимфатического русла и его взаимодействиях с окружающими тканями. Он связан с отсутствием адекватных методов, позволяющих одновременно и селективно выявлять в тотальных препаратах все аргирофильные структуры.

Цель работы – разработать универсальный метод выявления аргирофильных структур, в том числе нервных и микрососудистых.

Результаты. Универсальный метод базируется на классических импрегнационных методах: интраваскулярном – Ранвье-Гойера и иммерсионном – Бильшовского-Грос. Разработанная рецептура и технология применения импрегнирующих, контрастирующих и восстанавливающих реактивов позволяет управлять процессом импрегнации и безошибочно выявлять нервную и сосудистую организацию с мельчайшими деталями их структурной организации.

Ключевые слова: импрегнация, метод, нервная, сосудистая организация.

Little is known about the structural organization of the initial lymphatic bed its interactions with the surrounding tissues. This is the result of the absence of the adequate method able of simultaneous and elective detection of all argyrophilic structures in whole mounts.

The aim of the research is to develop a universal method of detecting argyrophilic structures including the nervous and the microvascular ones.

Results. The universal method is on the classical impregnation methods: the intravascular Ranvier-Geyer and the immersion Bielschowsky-Gros method. The developed formula and application technology of impregnating, contrasting and reducing agents make

it possible to control the impregnation process and to perform and perform error-free detection of nerve and vascular lumps minute detail of their of structural organization.

Key words: impregnation, method, lumps, vascular lumps.

Введение. Современная гистологическая техника имеет под собой прочные теоретические основы из различных смежных наук. Традиционные же методы исследования, которыми в настоящее время продолжают пользоваться анатомы и гистологи, по-прежнему во многом остаются эмпирическими. В первую очередь, это касается импрегнации нервной ткани и микрососудистого русла серебром. Для импрегнации серебром сосудистой стенки на протяжении многих лет используется классический метод Ранвье-Гойера. Внутрисосудистое введение слабых растворов нитрата серебра устраняет проблему конкурентной аргирофилии тканей и позволяет исследовать микрососудистое русло на значительных по площади препаратах. Однако широкого применения метод не получил, поскольку он дает относительно хорошие результаты только в суправитальных тканях. Иммерсионные способы импрегнации сосудистой стенки реализуются в методах Е.И.Рассказовой и В.В.Куприянова, которые в свою очередь являются разными модификациями классического гистологического метода Бильшовского-Грос. Практическое применение методов иммерсионной импрегнации ограничено резко выраженным феноменом конкурентной аргирофилии различных тканей. В связи с этим импрегнация микрососудов по В.В.Куприянову [1] удается только в пленочных препаратах. Кроме того, тотальная импрегнация клеток и фиброосновы сосудистой стенки не позволяет дифференцировать детали структуры эндотелия, перicyтов и гладких миоцитов, поскольку импрегнируются только их ядра.

Цель исследования – разработка универсального метода выявления аргирофильных

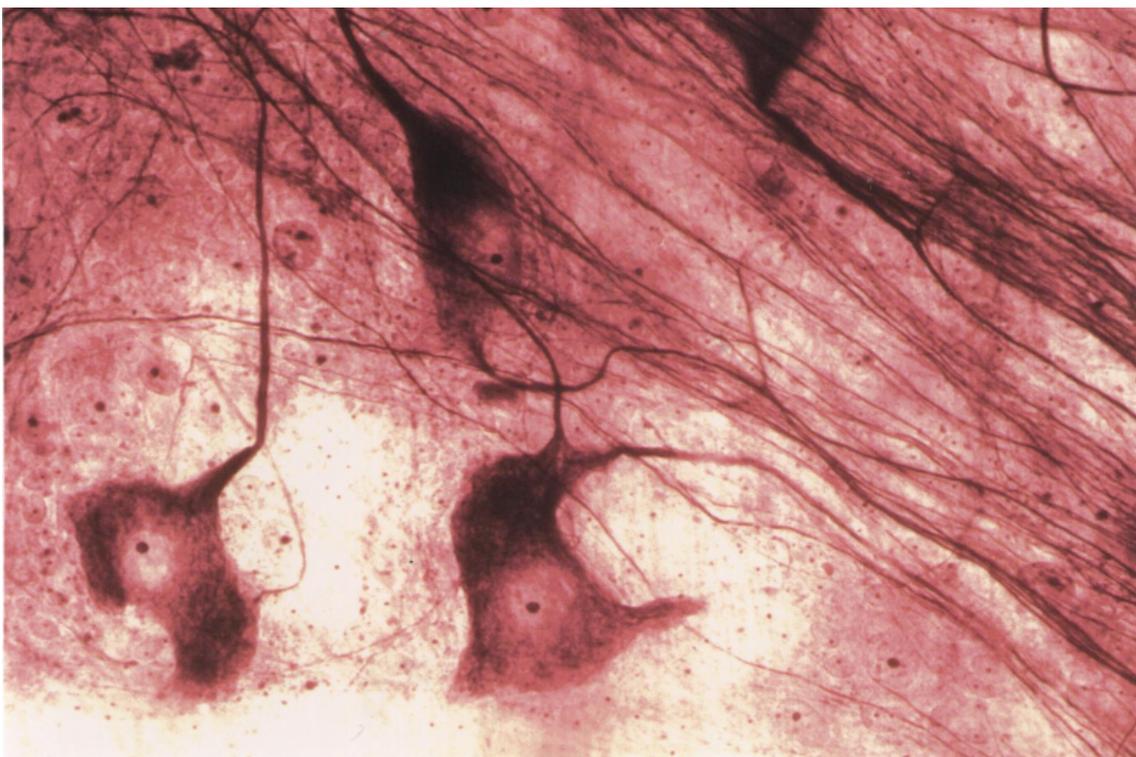


Рис. 1. Нейроциты миентерального нервного сплетения тонкой кишки кошки. Универсальный метод импрегнации серебром. Ув.400.

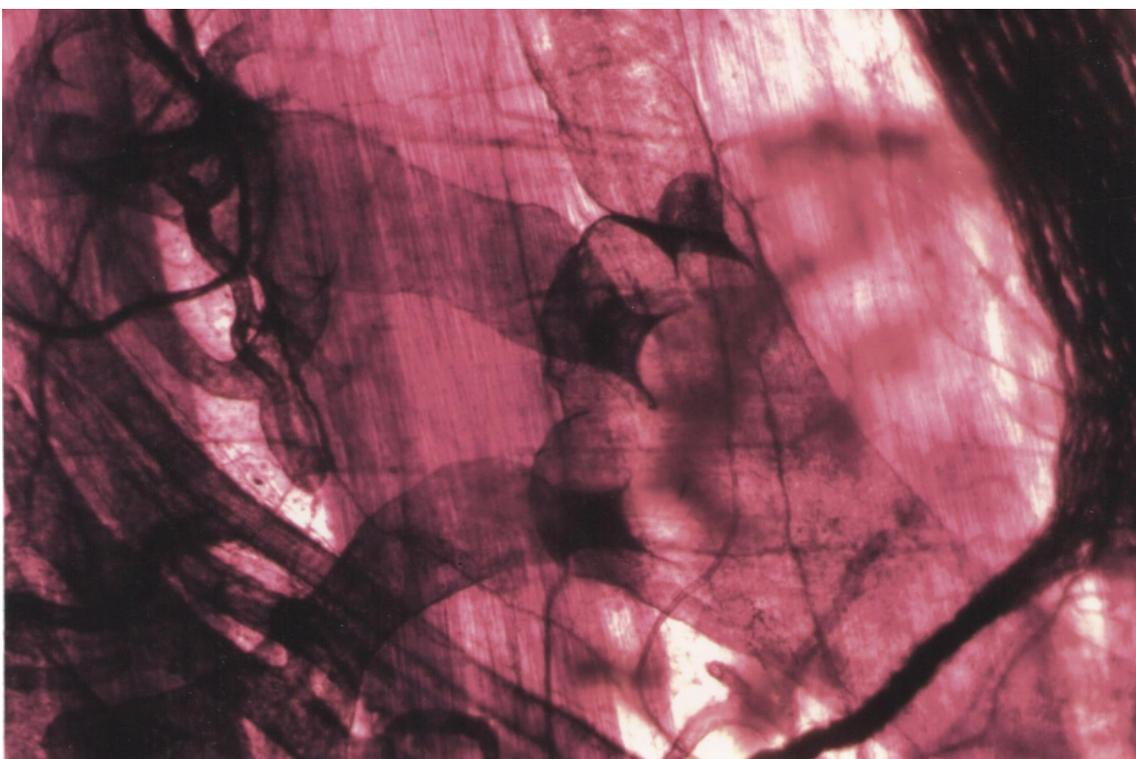


Рис. 2. Лимфатические микрососуды продольного слоя мышечной оболочки тонкой кишки кошки. Универсальный метод импрегнации серебром. Ув. 200.

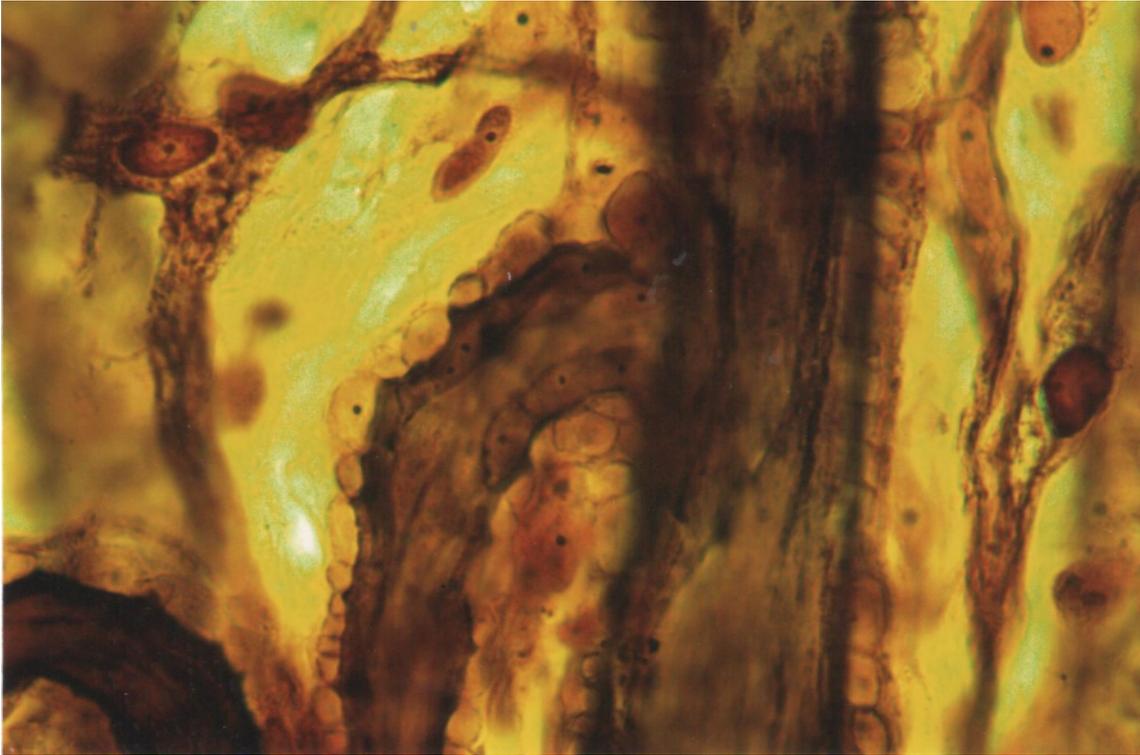


Рис. 3. Артериола и интерстициальные клетки продольного слоя мышечной оболочки тонкой кишки кошки. Универсальный метод импрегнации серебром. Ув. 900.

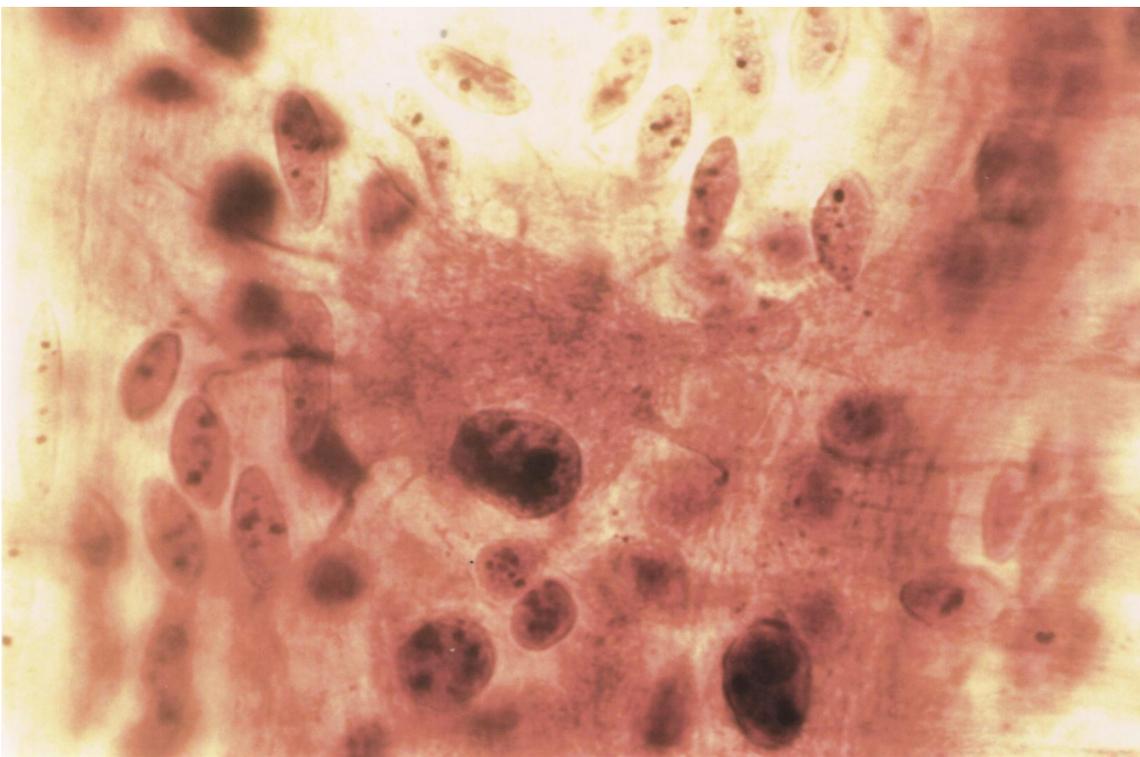


Рис. 4 Нейроцит и клетки-сателлиты ганглия миементарального нервного сплетения тонкой кишки кошки. Универсальный метод импрегнации серебром. Ув.900.

структур, в том числе нервных и сосудистых.

Материал и методы исследования. От метода и степени владения им зависит качество гистологических препаратов, а так же ценность и научная достоверность выявленных исследований и полученных результатов. Для достижения поставленной цели был разработан универсальный метод, базирующийся на классических импрегнационных методах: интрасосудистом – Ранье-Гойера и иммерсионном – Бильшовского-Грос. Метод апробирован на лабораторных животных: кошках (n=11), собаках (n=15), белых крысах (n=17). Содержание животных и их эвтаназия осуществляются в соответствии с Директивой ЕС «О защите животных, используемых в экспериментальных и научных целях» (86/609 CE) и согласно соответствующему законодательству РФ. Животным, находящимся под эфирным наркозом, каюлировали брюшную аорту и пересекали воротную вену. Через брюшную аорту вначале перфузировали 5% раствор глюкозы до появления в воротной вене чистого перфузата [2, 3]. Затем перфузировали раствор гидроокиси бария $[Ba(OH)_2]$, который является физиологическим трассером, переходящим из кровеносного русла через интерстициальное пространство в лимфатические микрососуды. Аргифилия тканевых структур определяется уровнем рН осаждения гидроокиси серебра из раствора его азотнокислой соли. Полное осаждение происходит при рН 11-13 [4]. Попадая в просвет лимфатических микрососудов, где рН резко возрастает до 9, раствор гидроокиси бария дает осадок на сосудистой стенке, повышая тем самым ее аргифилию.

Раствор гидроокиси бария готовится заранее на основе 5% раствора глюкозы, который насыщается плохо растворимым гидроокисями кальция и магния. Затем в 1 литр раствор добавляется 1,5 г гидроокиси бария. Через 3-5 мин после перфузии раствора через брюшную аорту – воротную вену, производится забор исследуемого материала и фиксация его в 15% аметанольном формалине, нейтрализованном тетраборнокислым натрием (0,5 г на 1 л раствора). Эмпирически определяется оптимальный срок фиксации материала путем пробной его импрегнации через каждые 2-е суток. Дальнейшие манипуляции проводятся по классической методике Бильшовского-Грос. Тотальные препараты толщиной до 300 мкм ополаскиваются дистиллированной водой, сушатся на фильтре, а

затем помещаются в раствор нитрата серебра (от 1 до 10%).

Концентрация первого серебра и экспозиция его на препарате определяется опытным путем в каждом конкретном случае. Благодаря гидроокисям Mg^{++} и Ba^{++} кровеносные и лимфатические микрососуды приобретают такую же аргиофилию, как и вегетативные нервные волокна и нейроны. После первого серебра, как требует классический метод Бильшовского-Грос, материал переносится в аммиачное серебро, концентрация и экспозиция которого на препарате определяется так же опытным путем. Универсальный метод импрегнации оказался результативным, поскольку в его основу положен нанотехнологический принцип искусственного целенаправленного изменения прижизненных свойств нервных и микрососудистых структур. Представленный иллюстративный материал получен универсальным методом импрегнации продольного слоя мышечной оболочки и миентерального нервного сплетения тонкой кишки кошки. Микрофотографии (рис. 1-4) выполнены с одного препарата толщиной – 300 мкм и площадью 24 см² на микроскопе «Leica-DM 1000» с видеосистемой.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Куприянов В.В. К морфологии органного кровеносного русла / В.В. Куприянов // *Арх. анат.*, 1961, № 4, с. 87-98.
2. Марков И.И. Импрегнация внутриорганного лимфатического русла по Ранье / И.И. Марков // *Арх. анат.*, 1985, № 6, с. 77-79.
3. Марков И.И. Способ исследования микрососудистого русла большого сальника / авт. свид. № 1919100 от 08.09.1990г.
4. Кошев В.И. Эндолимфососудистая контрактальная трабекулярная система / В.И. Кошев, Е.С. Петров, И.И. Марков // М. 2010, 193 с.

Авторская справка:

1. Марков Игорь Иванович – д.м.н., профессор; E-mail: nii.morphology@reaviz.ru
2. Петров Евгений Сергеевич – к.м.н., доцент ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет». Т. 8(846) 333-58-76
3. Маркова Валерия Игоревна – ассистент кафедры морфологии и патологии медицинского университета «Реавиз», г. Самара; E-mail: markov ii@hotmail.com