

УДК 612.822.5

ЦИТОЛОГИЯ

М. О. САМОЙЛОВ

О ВЗАИМОДЕЙСТВИИ ВИТАЛЬНЫХ КРАСИТЕЛЕЙ С ЖИВЫМИ И ПЕРЕЖИВАЮЩИМИ НЕЙРОНАМИ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА МЛЕКОПИТАЮЩИХ

(Представлено академиком В. Н. Черниговским 13 XI 1972)

Прижизненная окраска тканей используется как один из методов исследования функционального состояния клеток и их реакции на внешние воздействия (¹, ²). Однако основная часть работ, посвященных этому вопросу, выполнена на переживающих препаратах, изолированных от организма. Лишь в некоторых исследованиях (²⁻⁴) изучались окрашенные нейроны периферической нервной системы позвоночных прижизненно и *in situ*. На центральной нервной системе такого рода исследования из-за трудностей методического порядка не предпринимались.

В данной работе сообщаются некоторые результаты, полученные при микроскопическом исследовании живых и переживающих нейронов коры головного мозга высших млекопитающих *in situ*. Исследование проведено на специально сконструированном устройстве (⁵), позволяющем вести наблюдения при увеличениях оптики до 700-х над одиночными живыми или переживающими нейронами мозга в течение длительного периода времени (несколько суток). Объектом исследования служили пирамидные нейроны и глиальные клетки-сателлиты III, V слоев различных отделов коры головного мозга кошки и обезьяны (*Macaca resus*). Для этой цели изготовлялся лоскут коры на ножке с сохранением мягкой мозговой оболочки. Опыты проводились на наркотизированных (2,5% раствор гексенала) животных. В качестве витальных красителей применялись преимущественно метиленовая синь, а также нейтральный красный в концентрациях от 0,1 до 0,5% как раздельно, так и в комбинации друг с другом. Красители наносили на поверхность лоскута способом аппликации.

При действии 0,25 и 0,5% растворами красителей сома нейронов, проксимальные части их отростков, глиальные клетки обнаруживаются практически мгновенно. При использовании слабых растворов красителей (0,01; 0,02%) время их действия приходится увеличивать до 20–30 мин. В нейронах наиболее отчетливо выявляются базофильные элементы — ядрышко и глыбки тигроидного вещества. Ядро, как правило (но не всегда), окрашивается менее интенсивно. Отмешивания красителя в цитоплазме нейронов в виде гранул не отмечается. В глиальных клетках узкая полоска цитоплазмы определяется с трудом. Определенное значение имеет pH растворов красителей, что ранее было отмечено на препаратах, окрашенных метиленовой синью в исследованиях Шабадаша (⁶). В наших опытах ядрышко, глыбки тигроида более четко определяются при действии метиленовой сини, имеющей pH раствора в пределах 4,5–7,0. Структурные элементы клеток величиной 1–3 μ , похожие на митохондрии, лучше выявляются при pH 3,7–4,2 (рис. 1).

При окрашивании живых клеток коры мозга витальными красителями обращают на себя внимание следующие моменты. Во-первых, наблюдается

неоднородность в интенсивности их окраски в одних и тех же условиях. Обычно в поле зрения наряду с интенсивно окрашенными (так называемые «темные» нейроны) определяются слабо окрашенные клетки («светлые» нейроны), причем между ними существуют промежуточные формы (рис. 2). Как правило, в отличие от мелких и средних пирамидных клеток, интенсивно прокрашиваются большие и гигантские пирамидные нейроны, которые содержат значительное число структурных элементов, похожих на митохондрии. Во-вторых, все окрашенные живые клетки через некоторый период времени после действия на них света обесцвечиваются. Существенную роль в процессе обесцвечивания окрашенных клеток играет интенсивность действующего на них светового потока (и.с.п.), который регулируется за счет изменения напряжения, подаваемого на лампу осветителя. При уменьшении и.с.п. увеличивается продолжительность периода обесцвечивания (п.о.) окрашенных клеток. Особого внимания заслуживает тот факт, что п.о. различных клеток неодинаков. Оказалось, что п.о. глиальных клеток в несколько раз короче, чем п.о. пирамидных нейронов. Кроме того, п.о. различных пирамидных нейронов варьируется при одинаковых условиях опыта. В первую очередь обесцвечиваются более «светлые» нейроны, причем наиболее быстро теряют окраску проксимальные части отростков, прежде всего дендритов. В последнюю очередь обычно исчезает окраска глыбок тигроида и ядрышек нейронов.

При наличии кровотока в непосредственной близости от исследуемых нейронов продолжительность их п.о. увеличивается в несколько раз в отличие от нейронов, вокруг которых кровоток отсутствует. Подобный феномен был обнаружен Майоровым ⁽²⁾ в интрамуральных ганглиях лягушки. Нам удавалось наблюдать окрашенные крупные пирамидные нейроны, вблизи которых имелся кровоток, в течение 40—60 мин. Однако и в этих случаях п.о. различных клеток, располагающихся идентично по отношению к действующим капиллярам, неодинаков.

В ходе переживания тканей характер взаимодействия красителей с первыми и глиальными клетками существенно меняется уже через несколько часов после смерти животного. В течение первых суток п.о. большинства клеток коры постепенно увеличивается, и к 24—36 час. переживания становится в 5—6 раз длительнее, чем у нейронов в прижизненном состоянии. Затем на 2—3 сутки переживания п.о. клеток остается приблизительно на одном уровне.

Приведенные данные свидетельствуют о том, что характер окрашивания и обесцвечивания различных пирамидных нейронов и глиальных клеток коры мозга высших млекопитающих неоднороден. Определенное значение в этих процессах имеет наличие кровотока вблизи исследуемых клеток. Неодинакова также реакция взаимодействия витального красителя с живыми и переживающими клетками. Известно, что при поглощении света молекулы витальных красителей (в частности, метиленовой сини) активируются и начинают энергично взаимодействовать с субстратом клетки (так называемая фотодинамическая реакция). Активированные молекулы метиленовой сини являются энергичными водородными акцепторами. Присоединяя атомы водорода при участии ферментов — дегидрогеназ, метиленовая синь окисляет субстрат и переходит в лейкоформу ⁽⁷⁾. Следовательно, активность этого процесса в клетках, которая зависит от характера их метаболизма, в значительной степени определяет п.о. клеток. Наряду с этим, при взаимодействии красителя с субстратом клетки следует учитывать роль кислорода, находящегося в тканях мозга. Поскольку кислород — активный акцептор водорода, в данном случае он выступает как конкурент витального красителя. Вероятно, этим обстоятельством можно объяснить увеличение продолжительности п.о. нейронов, находящихся вблизи действующих сосудов и капилляров.

Различная продолжительность п.о. глиальных клеток, пирамидных нейронов («светлых» и «темных»), обнаружения *in vivo in situ*, вероятно,

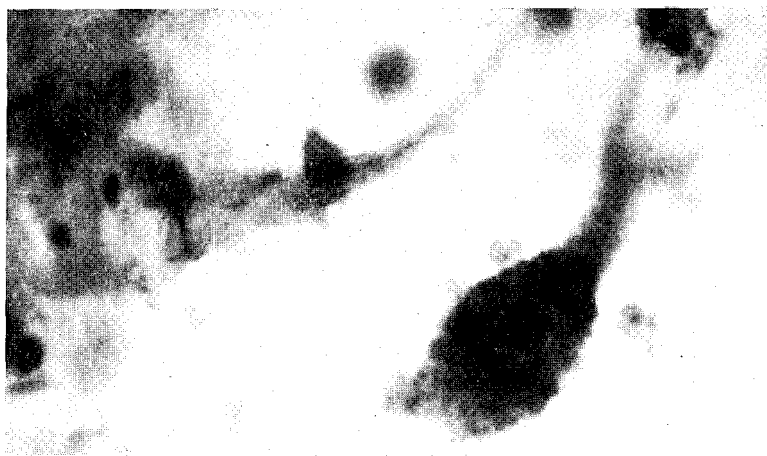


Рис. 1. Пирамидный нейрон в III слое коры мозга кошки. Метиленовая синь, рН 3,7. Об. 25 ×, фотоокуляр, 4,5 ×, ОЛК-2

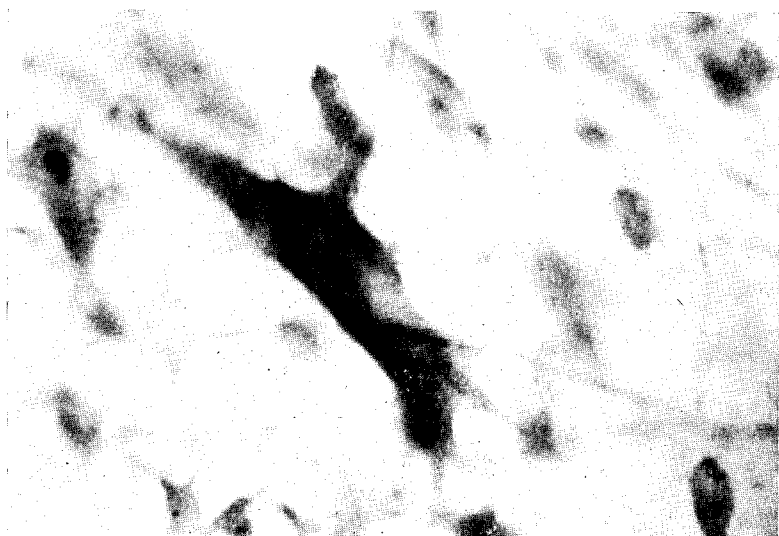


Рис. 2. Различные типы пирамидных нейронов в V слое коры мозга кошки. Метиленовая синь, рН 6,4. Об. 25 ×, фотоокуляр 4,5 ×, ОЛК-2

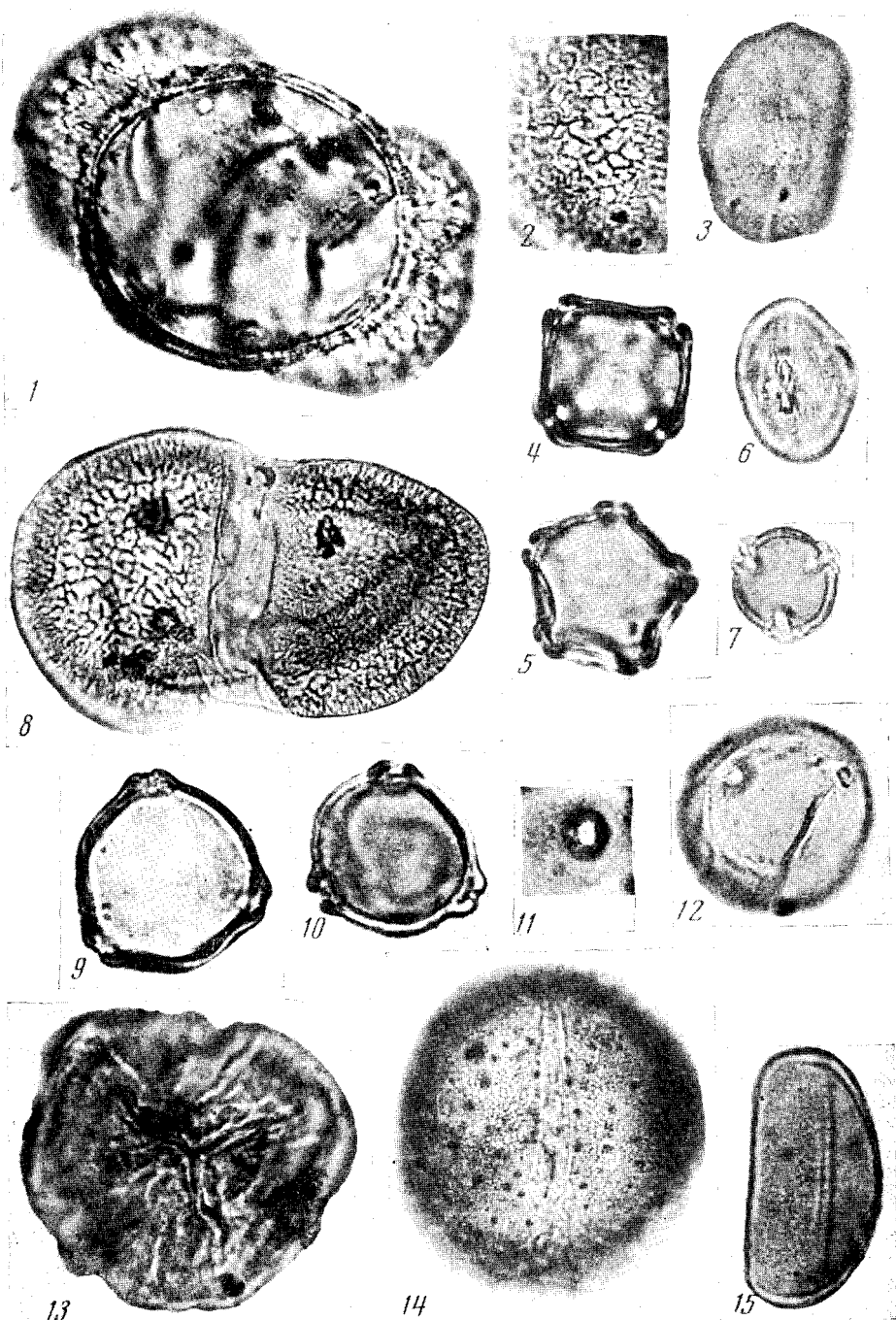


Рис. 1. Микрофотографии пыльцы и спор из содержимого желудка селериканской ископаемой лошади. 1 — *Pinus pumila* (Pall.) Rgl., общий вид пыльцевого зерна; 2 — то же, деталь скульптуры мешка; 3 — *Lathyrus pilosus* Cham; 4 — *Alnus hirsuta* (Spach) Rupr.; 5 — *Albaster fruticosa* (Rupr.) Ldb.; 6 и 7 — *Potentialla emarginata* Pursh; 8 — *Picea obovata* Ldb.; 9 — *Betula exilis* Sukacz.; 11 — то же, спора. 10 — *Betula platyphylla* Sukacz.; 12 — *Poa arctica* R. Br.; 13 — *Selaginella sibirica* (Milde) Hieron.; 14 — *Valeriana capitata* Pa'l.; 15 — *Allium strictum* Schrad. 1—7, 9—15 — 1000 ×, 8 — 600 ×

отражает особенности характера метаболизма и связанное с ним функциональное состояние этих клеток. Полученные данные об изменении продолжительности п.о. клеток при переживании подтверждают это предположение.

Институт физиологии им. И. П. Павлова
Академии наук СССР
Ленинград

Поступило
26 X 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Д. Н. Насонов, В. Я. Александров, Реакция живого вещества на внешние воздействия. Денатурационная теория повреждения и раздражения, М.—Л., 1940.
² В. Н. Майоров, Морфология реактивных состояний вегетативного межнейронного синапса, Л., 1969. ³ А. В. Вишневский, Б. И. Лаврентьев, Бюлл. эксп. биол., 8, 4, 506 (1939). ⁴ Т. С. Иванова, Способ препаровки кишки для прижизненной микроскопии, Авт. свид., 1969. ⁵ Ю. И. Левкович, М. О. Самойлов, Заявка на авт. свид. № 1742840/18-10, 1972. ⁶ А. Л. Шабадаш, В кн.: Вопросы биохимии нервной системы, Киев, 1957, стр. 231. ⁷ А. Л. Шабадаш, Теория и практика прижизненной окраски нервной системы метиленовой синью, Горький, 1939.