для відновлення необхідної температури на гумову трубку (*29*) закріплюється зігріваючий прилад (*32*).

Після досліду канюлі виймають з кровоносної судини і підключають до посудини Маріота з дистильованою водою і на протязі кількох хвилин промивають штучне судинне русло від залишків крові.

Необхідно пам'ятати, що пропускати будь-яку рідину через апарат можна лише після ввімкнення апарату.

При виготовленні системи штучного судинного русла слід брати до уваги його пропускну здатність. Вона завжди повинна бути вища, ніж пропускна здатність кровоносної судини, до якої підключають апарат. Тому внутрішній діаметр трубок штучного судинного русла має бути дещо більший, ніж діаметр кровоносної судини. Так, наприклад, максимальна пропускна здатність апарату при діаметрі трубок штучного судинного русла 4 *мм* при пропусканні фізіологічного розчину під тиском 100 *мм* рт. ст. становить 300 *мл/хв*. Для збільшення пропускної здатності апарату необхідні трубки більшого діаметра.

На рис. 2 показана принципова електрична схема апарату.

Конструкція апарату дозволяє легко знімати систему штучного судинного русла з вимірними циліндрами і при необхідності стерилізувати.

Невеликі габарити апарату (17×13×12 *см*) і його портативність дають можливість встановлювати його близько досліджуваної судини.

Випробування апарату проведено на кішках, собаках і морських свинках в умовах гострого досліду. Результати випробування показали, що апарат працює чітко, дані його об'єктивно відображають об'ємну швидкість кровообігу.

Література

1. Бошняк Л. Л., Бызов Л. Н.— Измерение малых расходов жидкостей. М.—Л., 1961.
2. Кисин И. Е., Цатуров В. Л.— Бюлл. экспер. биол. и мед., 1960, 8, 118.
3. Клосовский Б. Н.— Циркуляция крови в мозгу, М., 1951.
4. Корсунский Л. М.— Электромагнитные гидрометрические приборы, М., 1964, 144.
5. Кремлевский П. П.— Расходомеры, М.—Л., 1963.
6. Сучков В. В., Жуков Б. Н.— Бюлл. экспер. биол. и медицины, 1960, 11, 130.

Надійшла до редакції
1.XI 1965 р.

До застосування методики флюоресцентного виявлення нейросекрету

Є. Д. Геніс

Лабораторія морфології нервової системи
Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця АН УРСР, Київ

Серед методів виявлення нейросекрету гіпоталамічних ядер найпоширенішими є забарвлення хромовим гематоксиліном-флоксином за Гоморі і паральдегід-фуксином за Гоморі—Габу з дофарбуванням азаном за Гайденгайном. Ці методики і дальші їх різні модифікації [1, 2, 3] основані на виявленні білкової частини нейросекрету — носія його активних гормональних начал (октапептидів). За даними ряду авторів [4, 6], в октапептидах міститься велика кількість цистину, при окисленні якого відбувається розрив дисульфідного зв'язку з утворенням цистеїнової кислоти. Сульфогрупа цистеїнової кислоти (SO_3H) має різко виражені кислотні властивості, що й зумовлює її реакцію з барвниками.

Нами була застосована ще одна методика виявлення нейросекреторної субстанції, запропонована Шиблером і Адамом та модифікована Штерба [5].

Для виявлення нейросекрету використовується гістохімічна реакція з псевдоізоціанінхлоридом. Реакція основана на здатності молекул барвника асоціюватися у водних розчинах в особливу полімерну форму при розведеннях не нижче 1×10^{-3} моля. Полімеризація настає при наявності субстрату (один з компонентів нейросекрету), в якому негативно заряджені SO_3H-групи знаходяться на відстані 4—5 Å. Продукт реакції має вторинну флюоресценцію, і в ультрафіолетовому спектрі виявляє яскраво жовте світіння. Реакція високо чутлива і специфічна і, як вказує автор, дозволяє виявити в 100 раз менші кількості нейросекрету, ніж при застосуванні інших методик.

Рис. 1. Нейрос

Рис.

Завдяки цьому нейр
пофізарній системі, але й
них клітин, які здійснюю
переднім мозком.

Цей метод дав можл
бріологічних дослідженнях

Реакція з псевдоізоц
ганглії мозку прісноводно
таламуса щурів, кроликів і

Матеріал фіксували
суміші 2,5% $KMnO_4$ (10

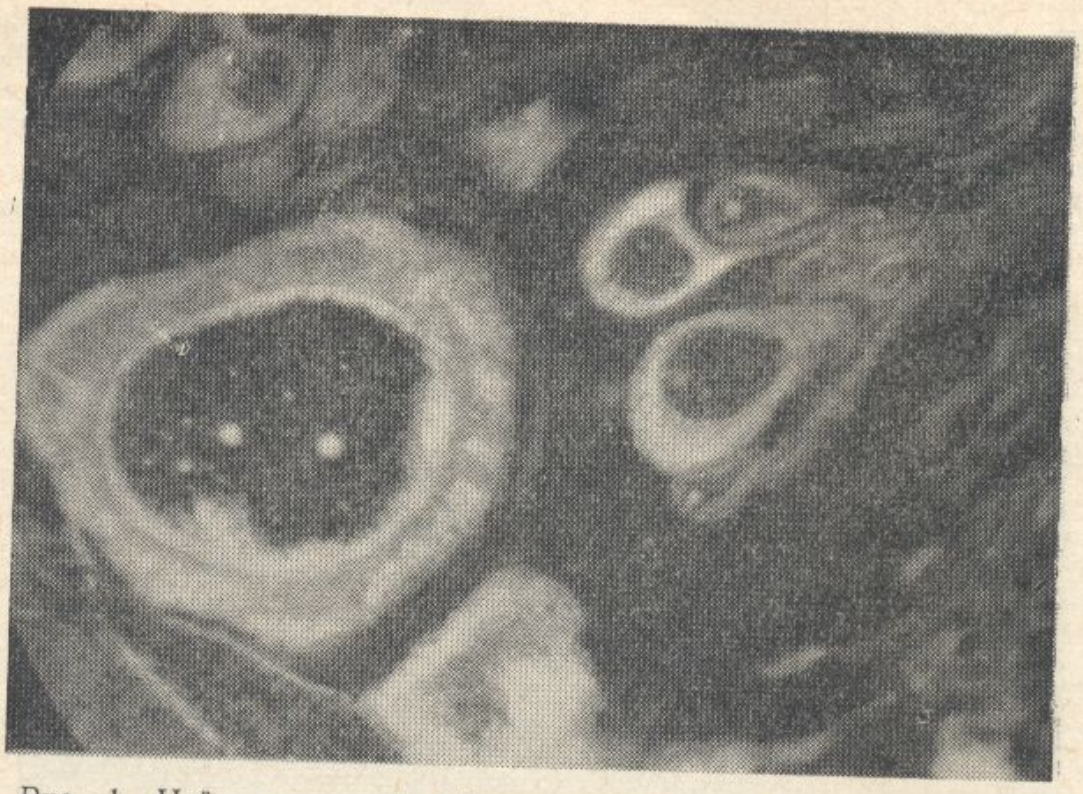


Рис. 1. Нейросекреторні клітини церебрального ганглія молюска *Coretus corneus*.
40×10, ЛМ-2, фільтр СС-15$_2$.

Рис. 2. Нейрони супраоптичного ядра собаки.
40×10, ЛМ-2, фільтр СС-15$_2$.

Завдяки цьому нейросекреторна речовина виявляється не тільки в гіпоталамо-гіпофізарній системі, але й екстрагіпофізарно у відростках (дендритах) нейросекреторних клітин, які здійснюють зв'язок гіпоталамуса з вище розташованими відділами і переднім мозком.

Цей метод дав можливість автору точно встановити початок нейросекреції в ембріологічних дослідженнях.

Реакція з псевдоізоціанінхлоридом була вивчена нами на таких об'єктах: нервові ганглії мозку прісноводного молюска Coretus corneus, нейросекреторні елементи гіпоталамуса щурів, кроликів і собак.

Матеріал фіксували в рідині Буена, депарафіновані зрізи зазнавали окислення в суміші 2,5% $KMnO_4$ (10 *мл*), 5%-ного розчину H_2SO_4 (10 *мл*) і дистильованої води

(80 *мл*). Після знебарвлення в 3%-ній щавлевій кислоті зрізи поміщали на три хвилини у водний розчин псевдоізоціанінхлориду з концентрацією барвника 1×10^{-3} моля. Потім здійснювали мікроскопічне дослідження препаратів без видалення рідини з-під покривного скла в люмінесцентному мікроскопі із застосуванням відповідних фільтрів.

Результати забарвлення представлені на рис. 1, 2, 3.

В окремих нейросекреторних клітинах церебрального ганглію молюска Coretus corneus (рис. 1) на фоні дифузного слабко-жовтого або зеленуватого свічення видні

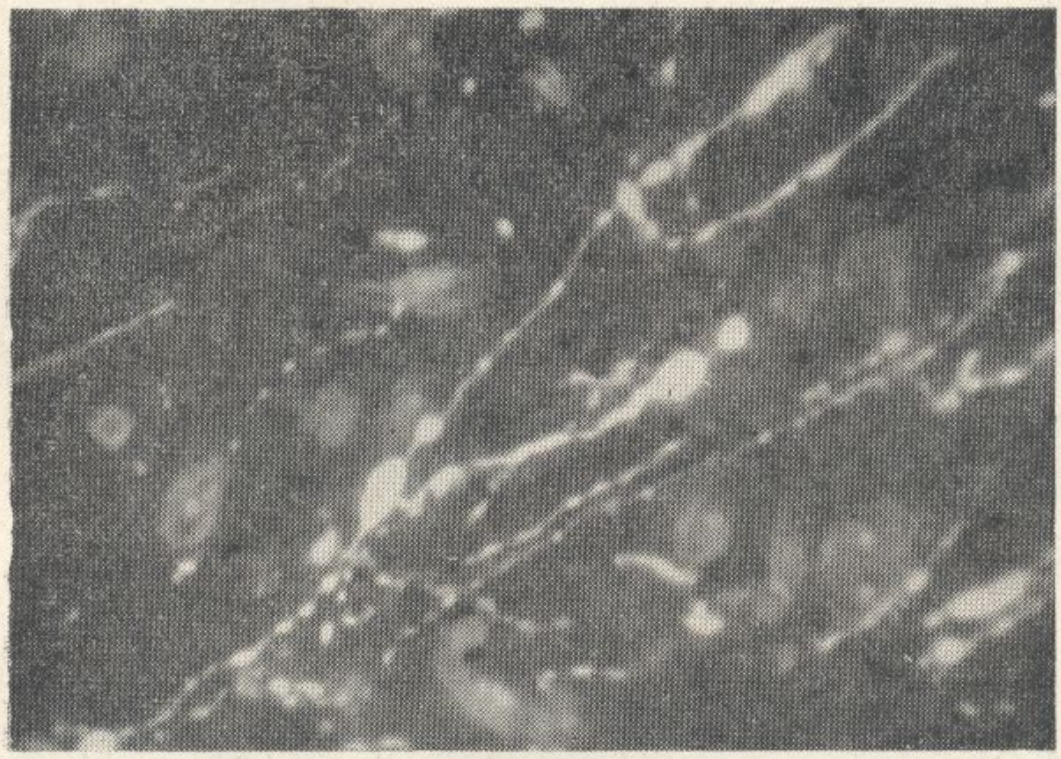


Рис. 3. Відростки нейросекреторних клітин в гіпоталамо-гіпофізарному тракті собаки.
40×10, ЛМ-2, фільтр СС-15$_2$.

яскраво-жовті гранули і брилки нейросекрету, розташовані як по периферії цитоплазми, так і в зоні перикаріона. Свічення спостерігається як у дрібних, так і в крупних секретуючих нейронах, у їх відростках та в нейропілі. Окремі яскраві брилки нейросекрету можна було виявити в нервових волокнах, розташованих позагангліонарно та в сполучній тканині, що оточує ганглії. У деяких секретуючих нейронах світні брилки локалізувались в ядрі та в ядерцях, що, видимо, вказує на участь ядра в синтезі секрету та дозволяє виявити початкові фази секреторного циклу.

Чітка позитивна реакція відзначена також у нейронах супраоптичного і паравентрикулярного ядер гіпоталамуса щурів, кроликів і собак.

На рис. 2 видно нейрони супраоптичного ядра собаки, заповнені яскраво-світним нейросекретом. Помітні розширені ділянки аксонів та дрібні відростки (їх поперечний переріз), розташовані в межах ядра.

Всюди за ходом нейросекреторного тракту, починаючи від супраоптичного і паравентрикулярного ядер, визначались чітко контуровані світні волокна з характерними чоткоподібними розширеннями, заповнені позитивно реагуючою субстанцією (рис. 3).

В усіх досліджених нами об'єктах звичайні нервові та гліальні клітини, а також їх відростки не містили світних жовтих гранул і відрізнялись від секретуючих нейронів слабко зеленуватою флюоресценцією.

Наші дані підтверджують висновки Штерба про досить високу специфічність і чутливість реакції з псевдоізоціанінхлоридом, що дозволяє виявити мінімальні кількості нейросекреторної речовини.

Цінність цього методу полягає також і в простоті його застосування та надійності результатів.

У комплексі з відомими нейросекреторними методиками використання реакції з псевдоізоціанінхлоридом за Штерба дозволяє повніше розкривати процес нейросекреції у різних тварин.

Література

1. Майорова В. Ф.— Архив анат., гистол. и эмбриол., 1960, 39, 8.
2. Миленков С. М.— Архив анат., гистол. и эмбриол., 1965, XI, IX, 11.

3. Поленов А. Л.— Архив
4. Barrnett R.— Endocrino
5. Sterba G.— Zehre Forsch
6. Wells G.— Anat. Rec., 19

До мет

М

Л
Інституту фізі

В умовах цілісного орг
залежності, як від функціона
куляції крові в даній судинні

Перебуваючи під контр
капілярного ложа зазнає пос
та об'ємна швидкість крово
слід мати на увазі, що вивче
підставі дослідження характе
ла будь-якого індикатора, а
ну систему з міжтканинної
ганізму дуже відносно відби
мембран.

В 1948 р. була запроп
можливість досліджувати ст
льованій від організму твар
методика відзначається вели
і в лабораторних умовах ши
на. Нами розроблена інша м
суванням більш сучасної і д

Досліди проводили на
під нембуталовим наркозом
У вену тварин вводили 0,5 м
чину синьки Еванса. Тварину
заповнення системи (рисуно
до крові додавали гепарин
стегнову артерію і вену. За
нюлі вену з'єднували з вс
каналів перфузійного насоса
Із системи резистографа кр
рівномірно розтікалася по с
(кисень надходить в резерву
наний за допомогою редукто
оксигенації і підігрівання (д
вхід другого каналу резисто
периферичний відрізок стег
обох каналів резистографа во
крові з вени відповідав пр
нагніталась в останню об'єк
ний тиск в 120 *мм* рт. ст. Зді
тулуба. Відділену від тулуб
резах.

З інтервалом в 10 *хв* з
центрації Т-1824. Для цього
станню між оптичними пове
плазми визначали у фотоелек
Величину оптичної щільності

Перфузію кінцівки, як
тому що після вичерпання ц
такій постановці експеримент

В порядку застосування
швидкості зниження концент
кінцівки постійним об'ємом кр

3. Поленов А. Л.— Архив анат., гистол. и эмбриол., 1958, 35, 4.
4. Barrnett R.— Endocrinology, 1954, 55, 4, 484.
5. Sterba G.— Zehre Forschung Praxis, Leipzig, 1963.
6. Wells G.— Anat. Rec., 1961, 139, 2, 286.

До методики вивчення проникності капілярних мембран

М. М. Повжитков, М. Ф. Сиротіна

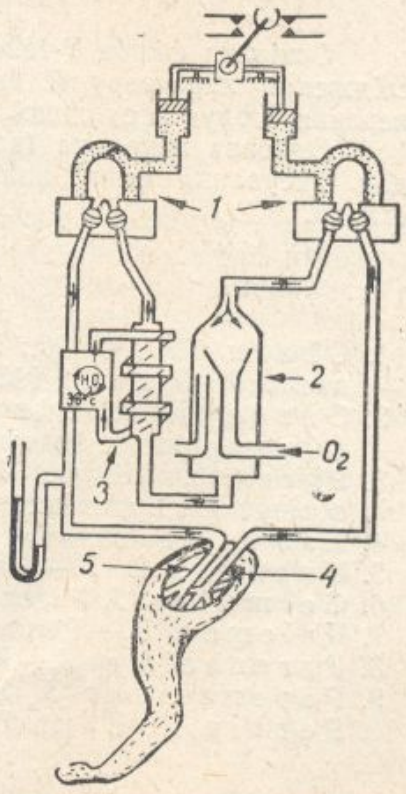
Лабораторія фізіології кровообігу
Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця АН УРСР, Київ

В умовах цілісного організму обмін між кров'ю і тканинами перебуває в тісній залежності, як від функціонального стану капілярних мембран, так і від характеру циркуляції крові в даній судинній ділянці [1, 3, 5, 6, 7, 8, 10].

Перебуваючи під контролем нервово-гуморальних регуляторних механізмів, об'єм капілярного ложа зазнає постійних змін; коливаються також рівень перфузійного тиску та об'ємна швидкість кровоструменя. Ураховуючи все це, слід мати на увазі, що вивчення капілярної проникності, на підставі дослідження характеру виведення із судинного русла будь-якого індикатора, або його надходження в судинну систему з міжтканинної рідини, в умовах цілісного організму дуже відносно відбиває справжній стан капілярних мембран.

В 1948 р. була запропонована [9] методика, яка дає можливість досліджувати стан капілярних мембран в ізольованій від організму тварини задній кінцівці. Вказана методика відзначається великою складністю, громіздкістю і в лабораторних умовах широко не може бути використана. Нами розроблена інша модифікація методики із застосуванням більш сучасної і доступної апаратури.

Досліди проводили на собаках, кішках і кроликах під нембуталовим наркозом (30 *мг* на 1 *кг* ваги тварини). У вену тварин вводили 0,5 *мл* на 1 *кг* ваги 0,2%-ного розчину синьки Еванса. Тварину частково обезкровлювали для заповнення системи (рисунок). Для підвернення зсідання до крові додавали гепарин (5000 од.). Відпрепаровували стегнову артерію і вену. За допомогою поліетиленової канюлі вену з'єднували з всмоктуючою трубкою одного з каналів перфузійного насоса із сталою продуктивністю [4]. Із системи резистографа кров надходила в резервуар, де рівномірно розтікалася по стінках, зазнавала оксигенації (кисень надходить в резервуар через скляний розтруб, з'єднаний за допомогою редуктора з кисневим балоном). Після оксигенації і підігрівання (див. схему) кров надходила на вхід другого каналу резистографа, а потім нагніталась у периферичний відрізок стегнової артерії. Режим роботи обох каналів резистографа встановлювали так, щоб відплив крові з вени відповідав припливу в артерію і щоб кров нагніталась в останню об'ємом, який здійснює перфузійний тиск в 120 *мм* рт. ст. Здійснюючи ретельний гемостаз лапу поступово відділяли від тулуба. Відділену від тулуба кінцівку поміщали у вологу камеру, встановлену на терезах.



Апаратура для вивчення проникності капілярних мембран.

1 — резистограф, *2* — оксигенератор, *3* — теплообмінник, *4* — стегнова вена, *5* — стегнова артерія.

З інтервалом в 10 *хв* з резервуара брали порції крові для визначення в них концентрації Т-1824. Для цього кров центрифугували, плазму наливали в кювети з відстанню між оптичними поверхнями в 5,03 *мм*. Оптичну щільність міченої барвником плазми визначали у фотоелектрокалориметрі типу ФЕК-М при червоному світлофільтрі. Величину оптичної щільності (*Д*) збільшували в 1000 разів.

Перфузію кінцівки, як правило, проводили не більш як протягом півтора годин, тому що після вичерпання цього часу в деяких дослідах спостерігався гемоліз, що в такій постановці експерименту небажано.

В порядку застосування методики були проведені дослідження з метою вивчення швидкості зниження концентрації барвника Т-1824 при перфузії ізольованої задньої кінцівки постійним об'ємом крові.