

МОДИФІКАЦІЯ МЕТОДУ БІЛЬШОВСЬКОГО

В. В. Коротченко

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

Характерною відмінністю запропонованого методу імпрегнації нервових тканин азотнокислим сріблом є його універсальність. Якщо метод Більшовського і кожна з модифікацій цього методу добре виявляють окремі елементи нервової системи, наприклад: метод Грос — Більшовського — Лаврентьєва — периферичні нерви та їх закінчення, метод Більшовського — нейрофібрилярні структури центральної нервової системи і вегетативних вузлів [1], то запропонована нами модифікація дозволяє виявити нервові елементи у всіх відділах нервової системи.

З допомогою цього методу вдається виявити нервові структури у таких об'єктах, які важко піддаються імпрегнації, як центральна нервова система молюсків, нейро-секреторні ядра гіпоталамуса, культура нервової тканини.

У процесі імпрегнації чітко виявляються тіла і відростки нейронів, м'якушеві і безм'якушеві волокна усіх калібрів, аферентні і еферентні нервові закінчення, синаптичні терміналі. Синаптичні терміналі вдається виявити навіть на тих об'єктах і в тих відділах, де за допомогою відомих досі методів імпрегнації це важко здійснити.

Характерні риси запропонованого методу такі:

А. Час імпрегнації зрізів у 20%-ному розчині азотнокислого срібла скорочується до 30—90 сек (замість діб і годин) і не потребує темноти.

Б. Час відновлення зрізів у 20%-ному розчині кислого формаліну скорочується до 3—5 сек.

Завдяки цьому пригнічується імпрегнація сполучної тканини і елективно виявляються тільки нервові елементи.

В. Дальша імпрегнація здійснюється циклічно: після короткої (не більше хвилини) імпрегнації зрізу у 20%-ному розчині аміачного срібла зріз занурюють в аміачну воду (одна частина аміаку на дві частини дистильованої води), потім зрізи переносять у 1—3%-ний розчин кислого формаліну на водопровідній воді (до хвилини). Потім зріз знову вміщують у 20%-ний розчин аміачного срібла на 15—60 сек.

Якщо імпрегнація потрібних нам елементів не здійснилась, то під контролем мікроскопа повторюємо описаний цикл стільки раз (звичайно, не більше п'яти), скільки треба для досягнення необхідного ступеня імпрегнації.

Слід пам'ятати, що у цьому циклі аміачний розчин 20%-ного азотнокислого срібла та 1—3%-ний розчин кислого формаліну посилюють процес імпрегнації, а аміачна вода гальмує його. Короткі експозиції зрізів у згаданих розчинах створюють умови для елективного виявлення різних нервових структур. Оскільки при цьому імпрегнуються тільки нервові елементи, то усувається необхідність у застосуванні хлорного золота для виведення надлишкового срібла. Здійснюючи контроль під мікроскопом над розвитком імпрегнації, можна активно впливати на ступінь її, змінюючи час дії розчинів.

Запропонований метод простий в роботі.

Наводимо повний опис методу:

1. Шматочки тканин промивають від крові і фіксують у 10%-ному розчині нейтрального формаліну (6,5—7,0 рН) не менш п'яти—семи діб.

2. Після зрізування на заморожуючому мікромомі зрізи товщиною 15—30 мк переносять у дистильовану воду.

3. Імпрегнація в розчині 20%-ного азотнокислого срібла при звичайному освітленні триває від 30 до 90 сек.

4. Редукція в розчині 20%-ного кислого формаліну триває 3—5 сек.

5. Додаткова імпрегнація в аміачному розчині 20%-ного азотнокислого срібла здійснюється протягом 1 хв. Цей розчин готують за прописом Більшовського — Лаврентьєва.

6. Припиняємо реакцію в аміачній воді — одна частина аміаку та дві частини дистильованої води (1—2 сек).

7. Редукція в 1—3%-ному розчині кислого формаліну, не більш 1 хв.

8. Додаткова імпрегнація в аміачному розчині 20%-ного азотнокислого срібла (15—60 сек); описаний вище цикл повторюють до необхідного ступеня імпрегнації.

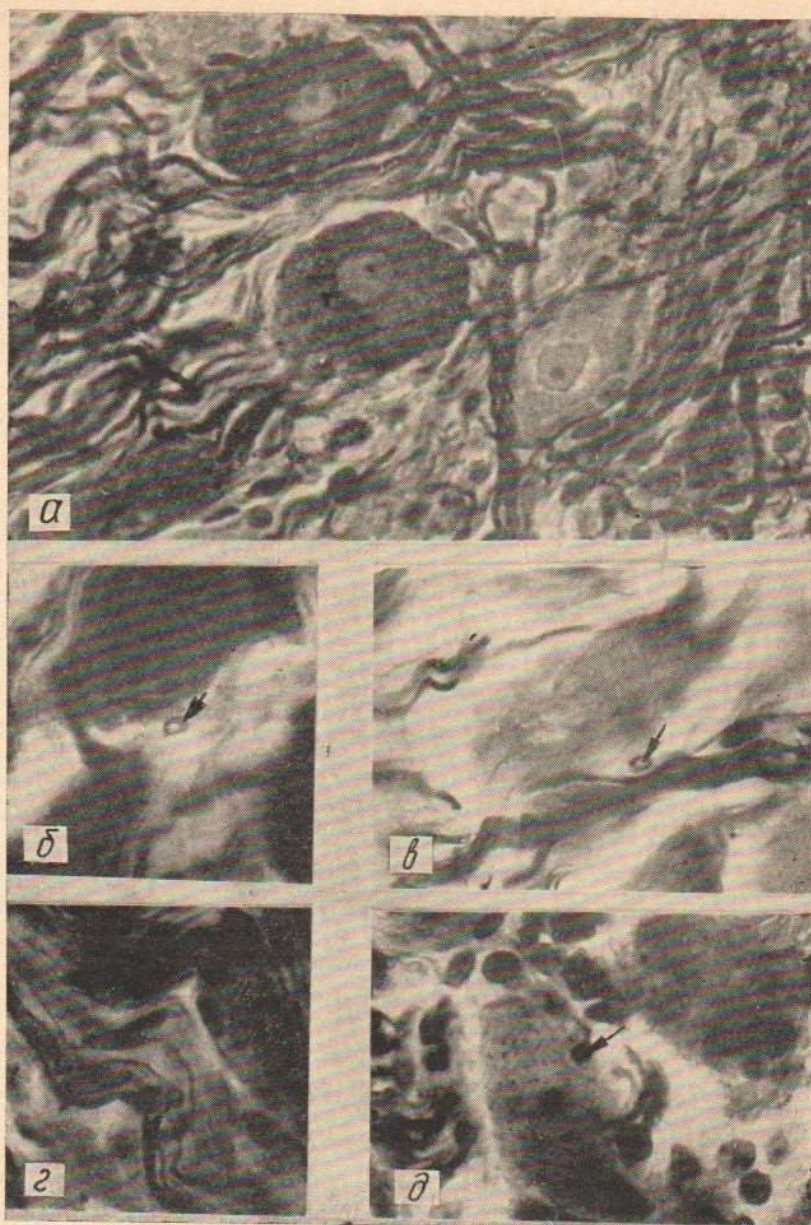
9. Після досягнення потрібної картини імпрегнації чи то в аміачному розчині 20%-ного азотнокислого срібла, чи в 1—3%-ному розчині кислого формаліну, імпрегнацію припиняють, вміщуючи зрізи в аміачну воду на 1 хв.

10. Зрізи промивають в дистильованій воді протягом 1—3 хв.

11. Зрізи вміщують в 5%-ний розчин гіпосульфиту на 1—3 хв.

12. Здійснюють промивання зрізів в дистильованій воді, обезводнювання в спиртах підвищеної міцності, просвітлення і заключення в бальзам. Можна одразу після дистильованої води заключати зрізи в гліцерин-желатину.

Наводимо мікрофотографії препаратів, імпрегнованих запропонованим методом.



Мікрофотографія сонячного сплетення кішки. Імпрегнація запропонованим методом:

a — група нейронів на різному ступені імпрегнації їх тіл, об. 20, ок. 15, розтягнуто при друкуванні; *б, в* — незмінна кільцевидна синаптична терміналь оксо-соматичного контакту, об. 40, ок. 15, розтягнуто при друкуванні; *г* — незмінна кільцевидна синаптична терміналь серед нервових волокон, об. 40, ок. 15, розтягнуто при друкуванні; *д* — набрякла синаптична терміналь з претермінальною контактує з тілом нейрона, об. 40, ок. 15, розтягнуто при друкуванні.

Література

І. Меркулов Г. А.— Курс патогистологической техники, Медгиз, 1961.

Надійшла до редакції
3.1 1969 р.

проф

сільс
керів
ду п

фізис
Інсті
моск
двед
ніста

уков
ка п

ленн
стан

впли
підт
дію
це т
фло

печі
важ
зала
сире
ного
неві

якіс
окис
різк
дати
вия
мірі
є ва

іноз
кол
про

кад
дал
цій,
мог

Тру
Вел
рон

чле
зас

тог