

Набагато кращі результати були досягнуті, коли коливання п'єзокристалу викликались подаванням прямокутних імпульсів напруги від генератора. Застосування генератора прямокутних імпульсів дає змогу регулювати амплітуду, частоту і тривалість коливань мікроелектрода, тобто знаходити оптимальні умови для найбільш ефективної роботи вібратора. У наших дослідах амплітуда прямокутного імпульсу змінювалась залежно від умов введення електрода, а тривалість і частота коливань — 1—4 мс та 200—400 гц, відповідно.

Застосування вібратора для введення мікроелектрода в нервові клітини крізь оболонку ганглію слимака дало гарні результати. Ми одержали можливість вводити мікроелектрод у нейрони всіх гангліїв, як на вентральній, так і на дорсальній поверхні. Крім того з допомогою вібратора стало можливо вводити електрод у досить маленькі нервові клітини (менше 50 мкм) без значного пошкодження. Компактність вібратора дала змогу використати два однакові пристрої для введення двох мікроелектродів у сусідні нейрони і у один і той же нейрон.

Значна перевага введення мікроелектрода, не знімаючи оболонки, полягає в тому, що електрод щільно входить у неї і оболонка не дає йому зміщуватись відносно клітини при випадкових коливаннях препарату. Це особливо важливо на початку експерименту, коли проявляється значна діяльність скоротливих елементів сполучнотканинної оболонки гангліїв і нервів. В таких умовах реєстрація імпульсної активності від нервових клітин могла застосовуватись на протязі кількох годин без помітних змін у їх ритмічній діяльності.

Література

1. Бобров Г. И., Хохлов А. М. Микроманипуляторы для микроэлектродных микрохирургических исследований клетки.— Описание научных принципов устройства новых приборов и методики пользования ими. Пушино, 1974, с. 84—89.
2. Гуцин И. С., Свердлов Ю. С. Электромагнитный толкатель для микроэлектродов.— Бюл. эксперим. биол. и мед., 1973, 75, с. 121—123.
3. Хохлов А. М. Микроманипуляторы.— В кн.: Приборы и методы микроэлектродного исследования клеток. Пушино, 1975, с. 98—102.
4. Pascol I. E. A technique for the introduction of intracellular electrodes.— J. Physiol., 1955, 128, N 2, p. 27—28.
5. Weevers R. G. A preparation of *Aplysia fasciata* for intrasomatic recording and stimulation of single neurones during locomotor movements.— J. Exp. Biol., 1971, 54, p. 659—679.

Відділ вищої нервової діяльності
Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця
АН УРСР, Київ

Надійшла до редакції
28.X 1976 р.

УДК 612.014:612.339

М. О. Клименко

ДО МЕТОДУ МОРФОЛОГІЧНОГО ВИВЧЕННЯ І ПІДРАХУВАННЯ ТУЧНИХ КЛІТИН ЗМИВІВ СЕРОЗНИХ ПОРОЖНИН

Тучні клітини містять ряд біологічно активних речовин (гістамін, серотонін, гепарин, ПРР-А тощо), які вивільнюються при різних патологічних процесах (запалення, шок, шоківий синдром), обумовлюючи підвищення проникності судин та інші мікроциркуляторні порушення. За вираженістю морфологічних змін тучних клітин можна до деякої міри судити про рівень вивільнення біологічно активних речовин [3, 12, 20 та ін.]. Морфологічні зміни тучних клітин можуть служити, наприклад, для виявлення специфічного алергену і бути показником ступеня сенсibiliзації організму в непрямому тесті дегрануляції тучних клітин *in vitro* [16] при ряді алергічних захворювань.

Для морфологічного вивчення тучних клітин змивів серозних порожнин, зокрема для вивчення анафілаксії тучних клітин застосовують забарвлення тучних клітин метнометом склі [1, 16 та ін.]. Цей метод дає можливість встановити наявність і ступінь дегрануляції тучних клітин підрахуванням кількості дегранульованих та неущокоджених тучних клітин з 50—100, що підлягають підрахуванню.

Однак часто виникає необхідність вивчення не тільки якісних а й кількісних змін тучних клітин, що здійснюються при найрізноманітніших фізіологічних та патологічних процесах [2, 5, 6, 13, 14, 15, 17]. Так, наприклад, якщо при анафілактичному шоку тучна клітина дегранулює лише частково, зберігаючи при цьому свою життєздатність

[10], то при запаленні відбувається повна дегрануляція клітини з її загибеллю. В останньому випадку вивчення тільки морфологічних змін тучних клітин недостатнє, необхідне також визначення кількісних змін.

Ми пропонуємо модифікацію методу вивчення тучних клітин змивів серозних порожнин при забарвленні нейтральним червоним для дослідження їх у підрахунковій камері з метою одночасного підрахування їх абсолютної та відносної кількості та визначення ступеня дегрануляції. Визначення абсолютної кількості тучних клітин можливе, перш за все, при використанні підрахункової камери, дає змогу судити про вміст біогенних амінів, оскільки в серозних змивах тучні клітини є єдиним джерелом визначених кількостей гістаміну і серотоніну [4, 7, 9, 18, 19], а між кількістю тучних клітин та рівнем амінів існує досить чітка кореляція [3, 12].

Перитонеальний або плевральний змив одержують за загальновідомими методами [4, 8, 11]. У віддальській пробірці змішують рівні об'єми (по 0,05 мл) 0,06% розчину нейтрального червоного (вихідний 0,3% спиртовий розчин барвника перед вживанням розбавляють у п'ять разів розчином Тироде чи іншим збалансованим сольовим розчином) та одержаного перитонеального чи плеврального змиву. Суміш заносять до камери Фукс—Розенталя і залишають на 5 хв. Мікроскопують при збільшенні $\times 400$ —600. Підраховують як процентний вміст тучних клітин по відношенню до всіх ядерних клітинних форм у змиві, так і абсолютну кількість тучних клітин в одиниці об'єму досліджуваного змиву. Беручи до уваги, що камера Фукс—Розенталя має об'єм 3,2 мм³ (площа сітки 16 мм², глибина камери 0,2 мм), кількість тучних клітин в 1 мм³ змиву підраховують за формулою:
$$X = \frac{A \times 11 \times 2}{3,2 \times 10},$$
 де 11/10 — ступінь розведення в камері, 2 — ступінь розведення вихідного змиву при забарвленні тучних клітин у пробірці, А — кількість тучних клітин у сітці.

Для підрахування абсолютної кількості тучних клітин в усьому змиві слід визначити їх вміст в 1 мл ($X \times 1000$) та помножити на число, що відповідає кількості мілілітрів сольового розчину, введенного внутріочеревинно чи внутріплеврально для одержання змиву.

Використовуване при дослідженні в камері збільшення мікроскопа дозволяє легко встановити наявність та ступінь морфологічних змін тучних клітин та чітко відрізнити дегранульовані та незмінні клітини.

Описана модифікація методу використовувалась нами для підрахування і вивчення дегрануляції тучних клітин перитонеального та плеврального змивів білих шурів. Вміст тучних клітин у перитонеальному змиві інтактних шурів становить $992 \cdot 10^3 \pm \pm 225 \cdot 10^3$ на шура або $2,73 \pm 0,49\%$, в плевральному — $291 \cdot 10^3 \pm 58 \cdot 10^3$ на шура або $2,55 \pm 0,74\%$. Дегрануляція становить відповідно $1,20 \pm 0,33$ та $3,25 \pm 1,12\%$.

Запропонована модифікація методу вивчення тучних клітин змивів серозних порожнин може бути використана для одночасного визначення кількості тучних клітин та ступеня їх дегрануляції при різних фізіологічних та патологічних процесах як в експериментальних, так і в клініко-лабораторних дослідженнях.

Література

1. Ишимова Л. В. Тучные клетки соединительной ткани и базофилы крови в диагностике аллергии немедленного типа.— Проблемы иммунологической реактивности и аллергии, М., «Медицина», 1971, с. 146—159.
2. Asboe-Hansen G. The mast cells in health and disease.— Acta Dermatovenereol. (Stockholm), Suppl. 73, 1973, p. 139—148.
3. Benditt E. P., Wong R. L., Arase M., Roeper E. 5-Hydroxytryptamine in mast cells.— Proc. Soc. exp. Biol., 1955, 90, p. 303—304.
4. Bray R. E., Van Arsdel P. P. In vitro histamine release from rat mast cells by chemical and physical agents.— Proc. Soc. exp. Biol., 1961, 106, p. 255—259.
5. Fernex M. The Mast Cell System. Its Relationship to Atherosclerosis, Fibrosis and Eosinophilis. Basel, S. Karger, 1968. 210 p.
6. Keller R. Tissue Mast Cells in Immune Reactions. Basel, S. Karger, New York, American Elsevier, 1966. 180 p.
7. Lagunoff D., Benditt E. P. Mast cell degranulation and histamine release observed in a new in vitro system.— J. exp. Med., 1960, 112, p. 571—580.
8. De Montis G., Renoux M. Méthode d'isolement des mastocytes péritonéaux du rat. Appréciation cytotologique semi-quantitative de leur réactivité «in vitro».— Pathol.— Biol., 1972, 20, p. 523—529.
9. Moran N. C., Uvnäs B., Westerholm B. Release of 5-hydroxytryptamine and histamine from rat mast cells.— Acta physiol. scand., 1962, 56, p. 26—41.
10. Mota I., Ishii T. Inhibition of mast cells disruption and histamine release in rat anaphylaxis in vitro. Comparison with compound 48/80.— Brit. J. Pharmacol., 1960, 15, p. 82—87.
11. Padawer J., Gordon A. S. Isolation of mast cells from other cellular elements of rat peritoneal fluid.— Proc. Soc. exp. Biol., 1955, 88, p. 29—31.

12. Riley J. I.
13. Riley J.
14. Sagher
15. Schauer
16. Schwartz
17. Selye H.
18. Shayer R.
19. Smith D.
20. Uvnäs B.

Кафедра п
Харківського

УДК 612.04

УСТАВ

Чутлив
ним ефектом
повповнення
приладів для

Рис. 1. Блок
лу установк
чення вазоп
ві біологічн
1 — інфузія
диною для гі
зних тварин;
нітний клапан
на крапельни
в яремну вен
сечового міху
льно-контактн
одновібратор,
9 — самописн
метр КСП-4,
часу, 11 — лі
пель виділено
IP-6, Б

Запроп
відомих мето
ністю до 0,0
формування
рини кількост
Установ
вих тварин,
в крові.