

УДК 611.822.1:535.37

К. Ф. Тринус, В. А. Майский

### МИКРОСКОПИЯ РЕТРОГРАДНО МЕЧЕННЫХ ФЛЮОРОХРОМАМИ МОТОНЕЙРОНОВ В ФИКСИРОВАННЫХ И ПЕРЕЖИВАЮЩИХ СРЕЗАХ СПИННОГО МОЗГА КРЫСЫ

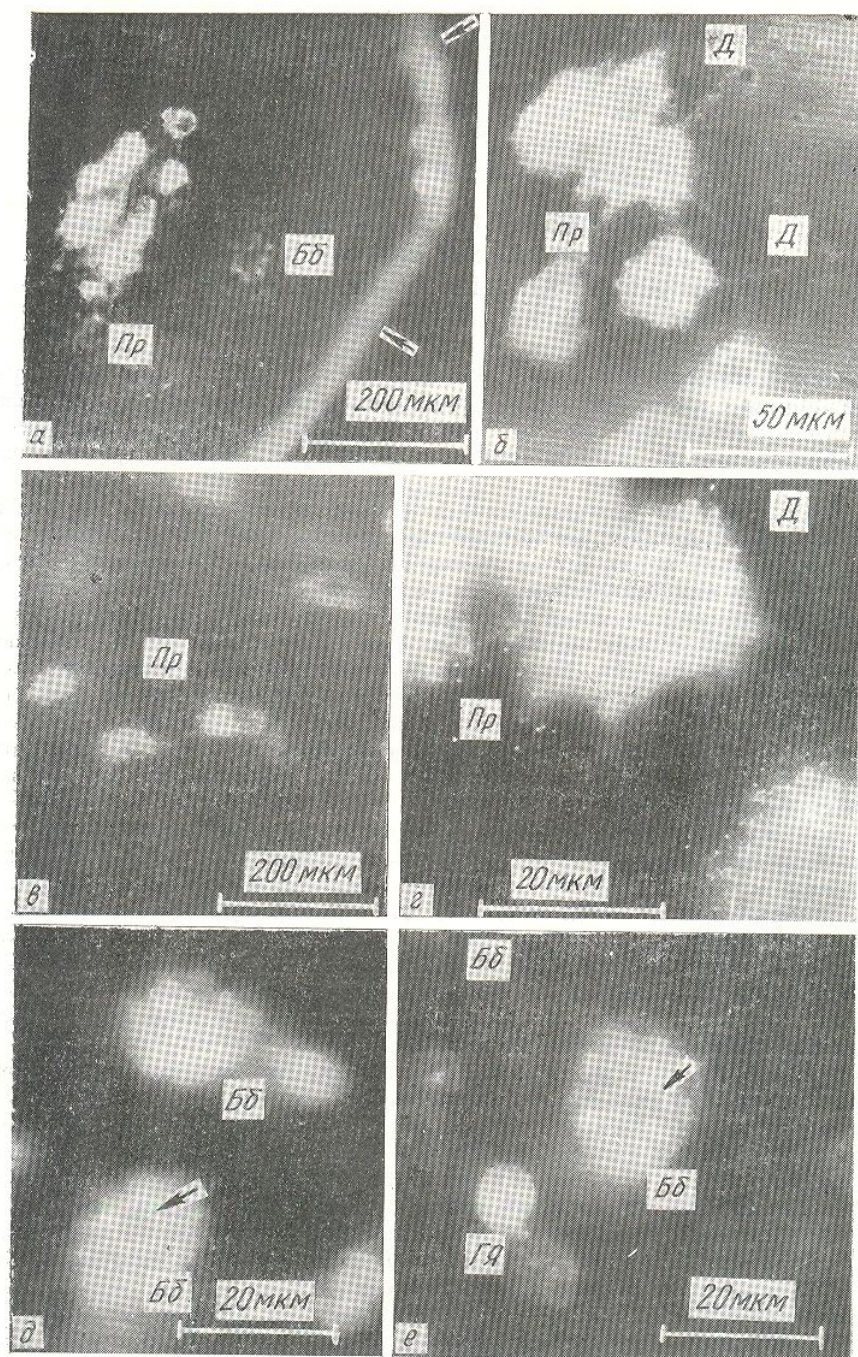
Задачей данного исследования была разработка метода прижизненного маркирования нейронов с помощью ретроградно транспортируемых по аксонам флюорохромов, что открывает возможности для наблюдения (или выделения) меченных люминесцентными красителями клеток непосредственно в живом организме или переживающих срезах нефиксированного мозга.

Двадцати крысам предварительно делали микроинъекции водных растворов примулина, голубого Эванса или бисбензимида в различные группы мышц бедра. Количество инъецируемых флюорохромов не превышало 15 мкл в концентрации 1—10 %. Через 1—7 дней животных забивали и быстро извлекали спинной мозг. В одной серии опытов (10 животных) проводили 4 ч фиксацию спинного мозга в холодном растворе, приготовленном посредством смешивания одной части концентрированного формалина и шести частей полиглюкина. На замораживающем микротоме изготавливали срезы спинного мозга толщиной 30—60 мкм. Высушенные на предметных стеклах срезы без дополнительной обработки просматривали в люминесцентном микроскопе. Люминесценция возбуждалась светом, проходящим через светофильтры ФС-1 и СС-15-2, у которых максимум пропускания составляет 380 и 400 нм; использовали желтый запирающий светофильтр ЖС-3.

В случае прижизненной микроскопии ретроградно меченных флюорохромами нейронов у остальных животных на третий день после инъекции примулина и бисбензимида спинной мозг быстро извлекали и переносили в холодный раствор Рингера или среду для культивирования тканей (Игла, Хэнкса, 199 и др.). Вручную изготавливали срезы поясничного утолщения спинного мозга толщиной 200—300 мкм, которые и наблюдали в растворе под люминесцентным микроскопом в режиме падающего света. В некоторых случаях при изучении меченных флюорохромами нейронов, а также при их выделении из ткани мозга использовали ультрафиолетовый источник света с фокусируемым лучом и бинокулярный стереоскопический микроскоп типа МБС-9.

Микрогранулы примулина и голубого Эванса наблюдаются исключительно в цитоплазме нейронов. Поскольку эмиссионные пики этих двух красителей сильно разнесены, возможно двухцветное мечение одних и тех же нейронов и изучение дивергенции аксонных коллатералей в нервной системе [7]. В результате аксонного транспорта бисбензимида метятся ядра нейронов, что обусловлено специфичностью данного красителя по отношению к дезоксирибонуклеиновой кислоте [8].

На рисунке, а приведена микрофотография меченных примулином клеток двигательных ядер, иннервирующих переднюю группу мышц бедра в фиксированных срезах мозга. Здесь же видны меченные бисбензимидом мотонейроны, иннервирующие заднюю группу мышц бедра (см. также рисунок, б, в). При больших увеличениях можно наблюдать не только меченные примулином тела клеток, но и их отростки на большом протяжении (см. рисунок, б). Аналогичное свечение клеточных тел и их отростков наблюдалось и в переживающих (нефиксированных) срезах спинного мозга (см. рисунок, в, г). Было установлено, что во время ферментативной обработки тканей переживающего мозга 0,1 % раствором проназы при температуре 34—36 °C уже через 10—20 мин тела нейронов и их отростки становились четче видимыми. При продолжительном ферментативном воздействии (40—60 мин) светящиеся контуры нейронов размывались, дендриты распадались на отдельные фрагменты, свечение клеток и распавшихся отростков значительно уменьшалось.



Меченные флюорохромами клетки в мотонейронных пулах поясничных сегментов спинного мозга.

На а: Пр — меченные примулином группы мотонейронов, иннервирующие четырехглавую мышцу бедра; Бб — меченные бисбензимином мотонейроны, иннервирующие полусухожильную и двухглазую мышцы бедра. Стрелки указывают на край среза (фиксированный препарат). На б: Д — группа меченых мотонейронов с дендритами (фиксированный препарат). На в — меченые мотонейроны, иннервирующие заднюю группу мышц бедра (прижизненная микроскопия). На г — меченые мотонейроны в ткани мозга после его ферментативной обработки в течение 20 мин (прижизненная микроскопия). На д, е — меченые мотонейроны в фиксированном и нефиксированном препаратах соответственно. Стрелки указывают на окологранулярную зону. Гя — ядра глиальных клеток.

Хорошо известны  
ского эксперимента пост  
тального окрашивания  
таких методов являетс  
функциональном отноше

Предлагаемый нов  
определенных групп ней  
рядом преимуществ. Ре  
можно наблюдать при  
и при больших их разв  
производить до электро  
хромами нейроны наблю

Мы полагаем, что  
рохромами нервных клет  
ведении электрофизиоло  
варительная идентифика  
системы.

1. Бабминдра В. П., Лени  
дазы хрена для изуче  
нии. — Арх. анатомии,  
2. Майский В. А., Кебка  
тодом двойной флуор  
проецирующихся в не  
3. Самойлов М. О., Виши  
шивание элементов не  
микроскопия нейрона.  
4. Bentivoglio M., Kuypers  
cent retrograde neuron  
sci. Lett., 1980, 18, N 1.  
5. Jankowska E., Rastad  
xidase and its light and  
Brain Res., 1976, 105, N  
6. Kuypers H. G. J. M.,  
Retrograde transport of  
rent cell bodies. — Neure  
7. Kuypers H. G. J. M., Ca  
of fluorescent substances  
8. Latt S. A., Stetten G. S  
dyes useful for fluoresce  
Cytochem., 1976, 24, N 1

Институт физиологии им.  
АН УССР, Киев

УДК 612.13

МЕТОД  
СИНОК  
БАРС

Для количественного  
тием чувствительности или  
коэффициентом усиления б  
ставляющая собой отноше  
нию давления в гемодинам  
либо отношение изменени