

УДК 612.216.2

Модель для демонстрации механизмов дыхательных движений легких и пневмоторакса

Ф. Т. Агарков, В. А. Смотров

Для демонстрации механизмов вдоха и выдоха в курсе физиологии человека обычно используется модель Дондерса, предложенная еще в 1853 г. [6]. За истекший 130-летний период она, не претерпев существенных изменений, описывается в современной литературе в прежнем классическом варианте, лишь с незначительными техническими модификациями [1—3] и широко используется в учебном процессе по курсу физиологии. Основополагающий принцип модели Дондерса — зависимость дыхательных движений легких от внутриплеврального давления — используется и в других моделях, например трахеобронхиального дерева [4, 5]. Однако это не обеспечивает демонстрацию последствий изменения эластичности и растяжимости легочной ткани.

Программой по курсу физиологии для медвузов предусмотрено также и усвоение студентами сущности и механизмов пневмоторакса, в том числе и лечебного. Модель Дондерса не позволяет демонстрировать этого.

И наконец, нельзя не отметить и то, что в модели Дондерса неправильно отражена архитектура грудной клетки, которая представлена в ней в виде единой полости, где размещается легочный препарат. На самом же деле грудная клетка разделена на две половины с размещенными в них левым и правым легким, причем у человека эти полости еще и герметично изолированы друг от друга, что и обеспечивает возможность создания, в случае необходимости, одностороннего пневмоторакса.

Все это послужило предпосылкой для разработки модели¹, которая (в отличие и в дополнение к демонстрационным возможностям модели Дондерса) позволяла бы имитировать еще и ограничение подвижности легких с фиксацией особенностей изменения при этом внутриплеврального давления в разные фазы дыхательного цикла, а также сущность и последствия одно- и двустороннего пневмоторакса.

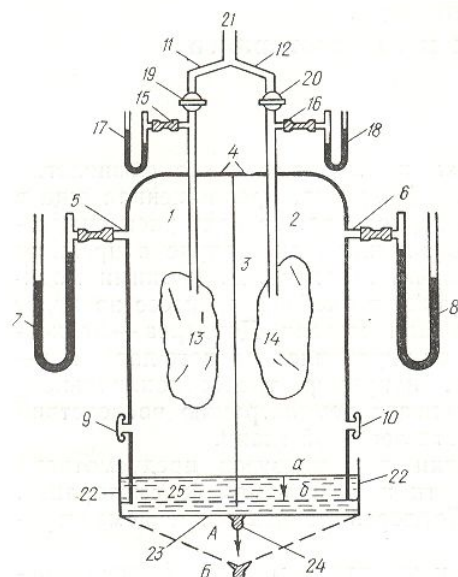
Модель представляет собой (рисунок) стеклянный колокол 4, разделенный перегородкой 3 на две половины 1, 2, соответствующие плевральным полостям. Дно представлено резиновой мембраной 23, закрепленной на обод 22, соединенный с колоколом с помощью резьбы. Для изоляции и герметизации полостей от атмосферы и друг от друга применен водяной затвор 25, представляющий собой слой (7—10 см) слабо подкрашенной воды, покрывающий резиновое днище модели.

Обе полости соединяются с атмосферой впаянными трубками 11, 12, имеющими краны 19, 20 и переходящими в общий воздухопроводящий канал, который имитирует трахею и главные бронхи. Внутренние концы трубок служат для крепления резиновых мешочков, имитирующих легкие 13, 14. Давление внутри каждой емкости измеряется U-образными манометрами 7, 8, соединенными посредством патрубков 5, 6 с каждой полостью, а давление внутри «легких» — с помощью манометров 17, 18, соединенных патрубками 15, 16, расположенными

¹ Модель Агаркова дыхательного аппарата. Заявка — 3741032. Приоритет от 16.05.1984 г.

ниже кранов 19, 20. В стенку каждой половины колокола, кроме того, впаяны штуцеры 9, 10, затянутые плотной резиной или другим легко разрушаемым материалом.

Подготовка модели к работе заключается в навинчивании обода (днища) на нижний край колокола и заполнении обода водой для создания водяного затвора и выравнивания давления в полостях. Модель работает следующим образом: при оттягивании резинового днища 23



из положения «а» в положение «б» понижается уровень воды в емкости, что приводит к увеличению вместимости полостей и соответственно к снижению давления (фиксируется манометрами 7, 8), в силу чего «легкие» (резиновые мешочки) растягиваются. Возвращение днища в исходное положение «а» приводит к спадению «легких». Колебание давления при этом отражается в каждой из полостей соответственно манометрами 17 и 18. Так осуществляется демонстрация взаимосвязи между экскурсией диафрагмы (резинового днища), внутриплевральным давлением дыхательными движениями легких.

Модель дыхательного аппарата (объяснение см. в тексте).

Ограничение подвижности легких и его влияние на внутриплевральное давление моделируется следующим образом. Перекрывается один из кранов (19 и 20) воздухопровода к одному из легких. За счет этого при каждом очередном «входе», т. е. оттягивании резинового днища модели, соответствующее легкое (резиновый мешочек) атмосферным воздухом не заполняется, в силу чего остается в спавшем состоянии, а поэтому внутриплевральное давление в данной полости снижается больше, чем в другой полости.

Последствия разгерметизации полостей грудной клетки имитируются разрушением резиновой мембраны одного из штуцеров 9 или 10. При этом имитация акта входа сопровождается поступлением атмосферного воздуха через разгерметизированный штуцер в соответствующую полость, что приводит к спадению находящегося в ней легкого, прекращению его движения и колебания внутриплеврального давления во время дыхательного цикла. Двусторонний пневмоторакс моделируется разгерметизацией второго штуцера.

Таким образом, в отличие от модели Дондерса предложенная модель не только больше приближается к реальным условиям, существующим в грудной клетке человека, но и обеспечивает демонстрацию сущности и последствий ограничения подвижности легких, а также развития пневмоторакса (одностороннего и двустороннего), позволяет, что не менее важно, обходиться без легочных препаратов животных.

Изготовить такую модель под силу коллективу любого учебного заведения медицинского профиля. Опыт использования модели на практических занятиях и лекционных демонстрациях показал ее доступность и надежность в работе.

A MODEL FOR DEMONSTRATING MOVEMENTS OF LUNGS

F. T. Agarkov, V. A. Smotr

A device is described which rated compartments imitating demonstrating consequences of elasticity and tensility as with the animal pulmonary preparation methods and mastering physiology.

Medical Institute, Donetsk

1. Бабский Е. Б., Зубков А. М.: Медицина, 1972.—65
2. Березина М. П., Василевский В. И.: Физиология человека и животного, 1982.—478 с.
3. Георгиева С. А., Белкина А. С. 307419 СССР, 09
4. А. с. 181889 СССР, 09
5. А. с. 307419 СССР, 09
6. Физиология дыхания: Р

Донец. мед. ин-т М-ва зд

УДК 611.813:815

Микроскопия ретроретроградными флюорохромами и при заливке тканей

В. А. Майский, Н. З. Дор

В настоящее время ретроретроградными флюорохромами методами флюоресценции гистохимии [2], а так

Как известно, периферической нервной системы (голубым 2, Эванса 5 и др.) тредидов и изготовле [5, 6, 8]. Время, в т кроинъекций флюорования красителя с ми нейронов [3], ме спортируется краси возбуждающего све Хорошая идентифи

- 1 Primuline O., «Re
- 2 DC 253/60, «Univ
- 3 S 769121, «Hoechst
- 4 33258, Hoechst, «
- 5 Evans Blue, «Sig

F. T. Agarkov, V. A. Smotrov

A device is described which in contrast to the Donders model has two hermetically separated compartments imitating the left and right thoracic cavity. The device permits demonstrating consequences of the lungs mobility restriction in case of a decrease of their elasticity and tensility as well as of one- and two-sided pneumothorax. No application of the animal pulmonary preparation is demanded. This model is intended to improve visual methods and mastering of the material provided for by the course of respiration physiology.

Medical Institute, Donetsk

1. Бабский Е. Б., Зубков А. А., Косицкий Г. И., Ходоров Б. И. Физиология человека.— М.: Медицина, 1972.—656 с.
2. Березина М. П., Василевская Н. Е., Авербах М. С. и др. Большой практикум по физиологии человека и животных.— М.: Высш. шк., 1961.—675 с.
3. Георгиева С. А., Белкина Н. В., Прокофьева Л. И. и др. Физиология.— М.: Медицина, 1982.—478 с.
4. А. с. 181889 СССР, 09 В 23/50. Модель трахеобронхиального дерева / С. А. Глухов, В. И. Юревич, В. П. Зотин.— Оpubл. 1966, Бюл. № 10.
5. А. с. 307419 СССР, 09 В 23/30. Модель трахеобронхиального дерева / А. А. Черкасова, Ю. Ш. Гальперин.— Оpubл. 1971, Бюл. № 20.
6. Физиология дыхания: Руководство по физиологии.— Л.: Наука, 1973.—351 с.

Донец. мед. ин-т М-ва здравоохранения УССР

Поступила 16.11.84

УДК 611.813:815

Микроскопия ретроградно меченных флюорохромами нейронов в полутонких срезах при заливке ткани мозга в мягкий парафин

В. А. Майский, Н. З. Дорошенко, В. Н. Клецников

В настоящее время продолжается дальнейшее совершенствование техники ретроградного мечения нейронов мозга транспортно-специфическими флюорохромами: сочетания ретроградного мечения нейронов с методами флюоресценции катехоламинов [4] и ацетилхолинэстеразной гистохимии [2], а также иммунофлюоресценции [8].

Как известно, при ретроградном мечении нейронов центральной и периферической нервной системы флюорохромами (примулином¹, прочным голубым², ядерным желтым³, бисбензимином⁴, голубым Эванса⁵ и др.) требуется фиксация животного растворами формальдегидов и изготовление толстых срезов из замороженных тканей мозга [5, 6, 8]. Время, в течение которого животных выдерживают после микроинъекций флюорохромов (1—21 день), зависит от степени связывания красителя с цитоплазматическими или ядерными компонентами нейронов [3], места микроинъекции и расстояния, на которое транспортируется краситель [7]. Каждый флюорохром имеет длину волны возбуждающего света и спектр эмиссии, характерные только для него. Хорошая идентификация меченных одновременно несколькими флюо-

¹ Primuline O., «Reichert» (Австрия)

² DC 253/60, «University in Erlangen» (Dr. Illing), ФРГ

³ S 769121, «Hoechst, Frankfurt a. M. (Dr. Loewe), ФРГ

⁴ 33258, Hoechst, «Serva», Heidelberg, ФРГ

⁵ Evans Blue, «Sigma», США

рохромами нейронов при сравнительно низкой автофлюоресценции фона может быть достигнута правильным подбором возбуждающих и запирающих (эмиссионных) фильтров.

Нами ранее уже предложен способ увеличения разрешения ретроградно меченных различными флюорохромами структур при быстрой заливке кусочков мозга в парафин и изготовлении полутонких (1—10 мкм) срезов [1]. Это достигается тем, что при заключении кусочков мозга в парафин исключается замораживание ткани и опускается проводка срезов через водную среду. Различные сорта парафина плавятся при температуре 40—60 °С, плавящиеся ниже 50 °С известны как мягкие. В предложенном нами способе микроскопии ретроградно меченных флюорохромами нейронов в тонких срезах мозга используются твердые сорта парафина, температура плавления которых составляет 57 °С. Хотя время пропитки кусочков в таком расплавленном парафине не превышало 2 ч, отмечалось небольшое снижение флюоресценции меченных красителями структур из-за прогревания ткани при высокой температуре. Для снижения отрицательного эффекта прогревания кусочков мозга при их пропитке мы использовали мягкий сорт парафина, температура плавления которого составляла 49 °С (Paraffin Wax, BDH Chem. Poole, Англия). Ниже приводится описание такой техники пропитки кусочков мозга и микроскопии ретроградно меченных флюорохромами нейронов в полутонких срезах. Большинство рекомендаций выработано нами во время исследования локализации меченных флюорохромами нейронов при трансплантации эмбриональной мозговой ткани в мозг взрослых крыс. В данном исследовании животным инъецировали отдельно в неостриатум и средний мозг 0,5—3 мкл 10 %-ного водного раствора примулина и 3 %-ного водного раствора прочного голубого. Для увеличения захвата красителей синаптическими окончаниями в зоне микроинъекции в водные растворы флюорохромов добавляли 2 % диметилсульфоксида. Время переживания животных после микроинъекции флюорохромов составляло 3—4 сут. Перфузия животных проводилась под глубоким нембуталовым наркозом вначале физиологическим раствором с добавлением сосудорасширяющих средств и гепарина, затем холодным (4 °С) фиксатором (6 %-ный раствор параформальдегида в фосфатном буфере концентрацией 0,07 моль/л рН 7,2), в который добавляли 5 % сахарозы. Объем фиксатора для крыс составлял 1 л, а время перфузии — 1—1,5 ч. После перфузии мозг немедленно извлекали и резали на блоки толщиной 3—4 мм, которые переносили на 2 ч в 10 %-ный раствор сахарозы.

Метод быстрой заливки в мягкий парафин состоит в следующем: 1. Обезвоживание кусочков в 50° спирте, разведенном фосфатным буфером, в который добавлено 10 % сахарозы (4 °С), — 1 ч. 2. Обезвоживание кусочков в 70° спирте, разведенном фосфатным буфером (10 % сахарозы, 4 °С) — 1 ч. 3. Обезвоживание кусочков в 80° спирте, разведенном фосфатным буфером (10 % сахарозы, комнатная температура) — 30 мин. 4. Обезвоживание кусочков в 96° спирте — 20 мин. 5. Обезвоживание кусочков в абсолютном спирте — 20 мин. 6. Пропитка кусочков в толуоле (до просветления) — 20 мин. 7. Пропитка кусочков в смеси толуола с парафином в соотношении 2:1; 1:1; 1:2 (по 30 мин в каждой смеси) при температуре 37 °С — 1,5 ч. 8. Пропитка кусочков в расплавленном парафине (49 °С).

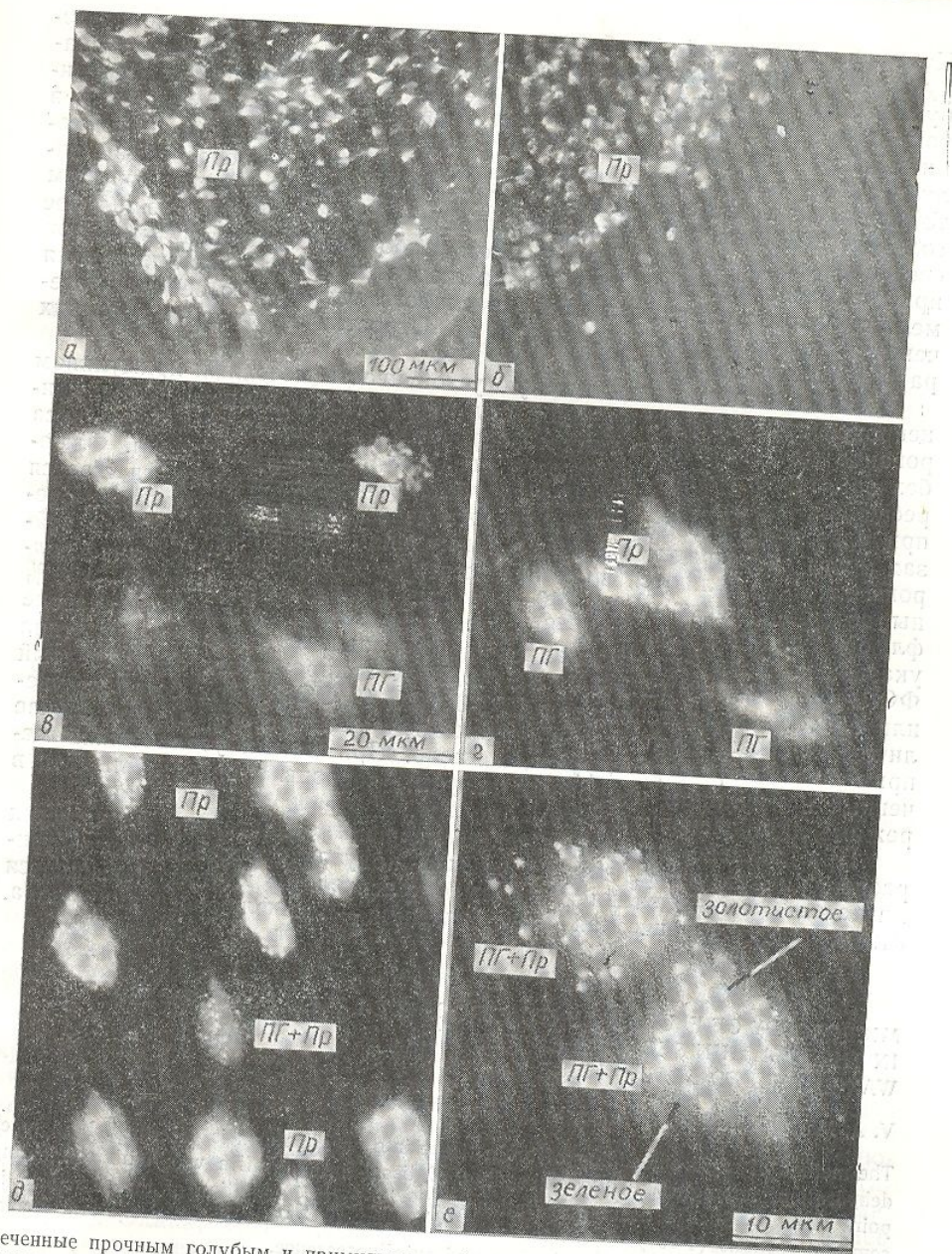
После быстрого охлаждения блоки хранятся до резки в морозильной камере холодильника. Не отмечается заметного снижения флюоресценции меченных примулином и прочным голубым нейронов в тех случаях, когда блоки хранятся до резки на микротоме в холодильнике в течение года. Резку блоков можно производить с помощью как стальных микротомных ножей, так и стеклянных ножей. В последнем случае необходимо использовать ультрамикротом. Срезы после резки собирают на теплый (40 °С) фосфатный буфер с добавлением 10 % сахарозы и 0,1 % желатины. Высушенные в холодильнике в течение 12 ч срезы переносят на 2 мин для отмывки сахарозы в 96° спирт, а



Меченные прочным голубым далевидного комплекса (б), ций флюорохромов в верхне В нейронах с двойной меткой — яркая люминесценция золотист (д, е). Трансплантированный бокового желудочка взрослой

затем на 6 мин для ос чают под покровными эпоксидную смолу (эп (до 1 г) хранятся в ного уменьшения свеч ции фона.

На рисунке, а—е хромами нейронов в ч



Меченные прочным голубым и примулином нейроны черной субстанции (а, в, е), миндалевидного комплекса (б), коры (д) и трансплантата (е) у крысы после микроинъекций флюорохромов в верхнее двухолмие и неостриатум. В нейронах с двойной меткой — меченных прочным голубым и примулином (ПГ+Пр) — наблюдается яркая люминесценция золотистых гранул на фоне диффузного зеленого свечения цитоплазмы (д, е). Трансплантированный кусочек темной коры эмбрионов, локализован в области бокового желудочка взрослой крысы. Масштаб 100 мкм (а, б), 20 мкм (в—д) и 10 мкм (е).

затем на 6 мин для освобождения от парафина в толуол; срезы заключают под покровными стеклами в слабо флюоресцирующее масло или эпоксидную смолу (эпон 812). Срезы также могут длительное время (до 1 г) храниться в холодильнике при температуре 4 °С без заметного уменьшения свечения флюорохромов или усиления автофлюоресценции фона.

На рисунке, а—е приведены микрофотографии меченных флюорохромами нейронов в черной субстанции, миндалине и коре мозга крыс.