

*Из кафедры патологической анатомии,
И. о. зав. каф. доцент А. И. ГАВРИЛОВ*

МЕТОДЫ ВЫЯВЛЕНИЯ НЕВРОГЛИИ У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Доцент А. И. ГАВРИЛОВ

Вопросу изучения невроглии при различных патологических состояниях в настоящее время уделяется большое внимание.

Будучи сложной и неоднородной по своему клеточному составу, различной по функциям—невроглия почти постоянно вовлекается в процесс при различных заболеваниях центральной нервной системы.

По определению проф. П. Е. Снесарева „невроглия—ткань очень сложного строения, которая отличается богатством протоплазменных структур и крайним своеобразием межклеточной бесструктурной субстанции, её парапластические субстанции—глиофибриллы тоже не обычные, они тесно связаны с глиозными клетками и долгое время оставались неизвестными.“

Морфологические реакции невроглии у человека при различных патологических процессах, блестяще разработали наши отечественные исследователи: П. Е. Снесарев, М. М. Александровская, Смирнов, Белецкий, Авцын, Могильницкий, Робинзон, Сергеева, Левкович, Попова и др.

У сельскохозяйственных животных и в частности у крупного рогатого скота невроглия остается совершенно не изученной; Мешковым изучено состояние невроглии у лошадей при инфекционной анемии, Зуйковой—при энцефаломиелите.

Изучение состояния при патологических процессах невроглии во многом зависит от того, насколько технически правильно изготовлены препараты. И здесь, особенно при выявлении микроглии, возникает ряд трудностей, которые обычно преодолеваются путем освоения различных методов и их сопоставления между собой в смысле практической ценности.

Методов по выявлению макро и микроглии, с различными вариациями, существует не мало.

В процессе разработки и изучения изменений в центральной нервной системе у крупного рогатого скота при злокачественной катаральной горячейке, мы встретились с некоторой особенностью выявления астроцитарной глии и значительной трудностью выявления микроглии.

Сравнивая различные методы по выявлению глии, мы убедились в

том, что метод П. Е. Снесарева является наиболее ценным, весьма красочным и, сравнительно, легко доступным.

Если метод Кахалы, будучи несколько сложным и капризным с технической стороны, позволяет выявить силуэты астроцитарной глии, то метод П. Е. Снесарева позволяет судить о всей сложности реактивных изменений со стороны хроматина, ядер, протоплазменной субстанции, легко выявляя состояние макроглии у всех сельскохозяйственных животных и, в частности, у рогатого скота.

Неоднократно работая в лаборатории, руководимой проф. П. Е. Снесаревым и повседневно пользуясь этим методом в своей лаборатории, мы убеждены в большой практической важности этого метода для выявления глии у сельскохозяйственных животных.

МЕТОД ОКРАСКИ НА ГЛИЮ ПО СНЕСАРЕВУ

1. Фиксаж—10% раствор формалина (иногда мы пользовались и фиксажем, приготовленным на физрастворе, однако каких-либо преимуществ установить не удалось).

2. Срезы замороженные, тонкие не более 8 микрон.

3. Сполоснуть срезы в дистиллированной воде.

4. Погрузить срезы в 1% водный раствор эритрозина на 20—30 сек.

5. Промыть срезы в двух порциях дистиллированной воды, пока не будет отходить краска.

6. Погрузить срезы в 0,5% раствор фосфорно-молибденовой кислоты (куда перед окраской прибавляется 4—5 капель на 15 мл 1% ледяной уксусной кислоты).

7. Непродолжительное споласкивание в дистиллированной воде, после чего срез переносится в чашку Петри с дистиллированной водой, откуда хорошо расправленным вылавливается на предметное стекло, смазанное белок-глицерином. После этого дают воде стечь и фильтровальной бумагой, для укрепления среза, отсасывают остатки воды и тщательно протирают стекло вокруг среза.

8. Осторожно просушить и обезводить срез фильтровальной бумагой, смоченной метил-хлороформом (соотношение 1 : 2).

9. На еще влажный от метил-хлороформа срез наливают 2—3 капли краски Май—Грюнвальд на 3—6 сек.

10. Смыть краску дистиллированной водой, протереть стекло вокруг среза и хорошо просушить фильтровальной бумагой.

11. Ацетон.

12. Ксилол.

13. Бальзам и покровное стекло. Результат окраски: на бледно-голубоватом, иногда слегка розоватом фоне в белом веществе, хорошо видны протоплазменные и волокнистые астроциты. Серое вещество коры при этом окрашивается более интенсивно.

Эритроциты—ярко-красного цвета. Ганглиозные клетки голубовато-синеватые.

Если метод выявления астроцитарной глии у рогатого скота, да и у всех сельскохозяйственных животных, не представил для нас особых трудностей, то выявление микроглии у крупного рогатого скота оказалось более тяжелым.

После не всегда удачных попыток обработки срезов на микроглию модифицированным методом Александровской, мы, по совету проф. П. Е. Снесарева и М. М. Александровской, занялись подысканием наиболее подходящей среды для срезов при выявлении микроглии.

В результате различных манипуляций, по нашим данным, микроглия у крупного рогатого скота значительно легче выявляется при применении следующего варианта обработки срезов. Выявление микроглии мы также добивались и методом Александровского.

ОПИСАНИЕ МЕТОДА

1. Фиксация в 10% растворе формалина. Если материал старый, то кусочки необходимо дофиксировать в 20% растворе формалина (кислом или нейтральном; мы чаще пользовались кислым, приготовленным на дистиллированной воде). Выявление микроглии значительно облегчается при употреблении фиксажа Дубранского (100 мл дистиллированной воды доводится до кипения и прибавляется 6 грамм очищенной соды, прокипятить и дать остыть. Остывший раствор профильтровать, добавить 6 мл нейтрального формалина и 6—8 капель 25% аммиака). Фиксация в этом растворе 7—8 дней при трех, четырех кратной смене раствора.

2. Длительное отмывание формалина в текущей водопроводной воде в течение суток.

3. Заключение кусочков в 12% карболовую желатину на сутки, (в термостате при T° 37—38°), после чего кусочки переносятся в 24% желатину на 6—8 часов.

4. Вырезывание кусочков из желатины и дополнительная фиксация в 10% формалине в течение 12—16 час.

5. Промывание кусочков в текущей воде в течение 1 часа и резка срезов толщиной 25—30 микрон на замораживающем микротоме и погружение срезов в формалин на 10—15 мин.

6. Промыть срезы в дистиллированной воде в трех чашечках.

7. Погрузить срезы в аммиачную воду на 16—24 часа (на 30 мл дистиллированной воды взять 10—12 капель крепкого аммиака).

8. Промыть срезы в двух чашечках дистиллированной воды.

9. Погрузить срезы в подкисленную воду (на 20 мл дистиллированной воды добавить 1% уксусной кислоты 6—8 капель). Эта манипуляция требуется не всегда.

10. Прополоснуть срезы в дистиллированной воде.

11. Погрузить срезы в аммиачное серебро. (на 2 мл 10% азотно-кислого серебра, добавить две капли аммиака с прибавлением до 30 мл дистиллированной воды). Смесь фильтруется через двойной фильтр. Срезы держать до 40 секунд.

12. Погружение срезов в горячий 10% формалин кислый (лучше на дистиллированной воде до побурения среза) и перенести в холодный 10% формалин на 20—30 мин. (при погружении срезов в горячий формалин можно пользоваться и более слабыми растворами его).

13. Промывка срезов в воде в четырех чашечках.

14. Вылавливание срезов из воды на предметное стекло, смазанное белым глицерином.

15. Протереть воду вокруг среза и дать подсохнуть на воздухе в течение 8—10 мин.

16. Ацетон.

17. Ксилол. Бальзам, покровное стекло. Результат окраски на коричнево-желтоватом фоне видны клетки Гортга, хорошо также при этом выявляются различные формы олигодендроглии.

Применение методики по выявлению невроглии при различных заболеваниях центральной нервной системы у сельскохозяйственных животных позволяет более глубоко вскрыть патогенетические закономерности того или иного процесса.

ЛИТЕРАТУРА

- М. М. Александровская**—Метод окраски на микроглию. Арх. патол. анатомии, т. II, в. IV, 1936 г.
- М. М. Александровская**—Значение невроглии в патологических процессах при различных психозах. Диссерт. докт., 1947 г.
- А. П. Авцин**—О глиозных реакциях при инфекциях центральной нервной системы. Труды психиатр. клиники и института профилактики, т. III, 1936 г.
- В. К. Белецкий** — Методика микроскопического исследования нервной системы. Москва, 1939 г.
- В. А. Жухин**—Патолого-анатомические изменения у некоторых животных при общем воздействии на них ультракоротких волн. Труды Туркменского Госмед. института, т. II, в. 3—4, 1938 г.
- Е. А. Зуйкова**—Модификация метода Мийягавы. Труды Эреванского ветеринарного института, в. VIII.
- Н. В. Мешков**—Морфологические изменения нервной системы при инфанемии лошадей. Диссерт. докт., 1948 г.
- П. Е. Снесарев**—Общая гистопатология мозговой травмы. Медгиз, 1946 г.
- А. Е. Снесарев**—Техника микроскопического исследования нервной системы. Руководство проф. Вайля, 1935—1947 гг.
- П. Е. Снесарев**—Теоретические основы патологической анатомии психических болезней. Медгиз, 1950 г.