

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

© Н.В. Корсакова, В.Е. Сергеева, 2011
УДК 611.844.1.018:599.323.4

Н.В. Корсакова и В.Е. Сергеева

УСОВЕРШЕНСТВОВАННЫЙ МЕТОД ВЫЯВЛЕНИЯ КЛЕТОЧНЫХ СТРУКТУР В ХРУСТАЛИКЕ ГЛАЗА

Кафедра медицинской биологии (зав. — проф. С.П. Сапожников), Чувашский государственный университет, г. Чебоксары, e-mail: korsnv@rambler.ru

Описан новый метод выявления эпителиальных клеток и волокон в хрусталике глаза у крыс. Метод не трудоемкий, прост в использовании, он основан на витальном введении животному раствора метиленового синего с последующим суправитальным докрашиванием хрусталика при температуре 37 °С. Далее материал заливали в парафин, а полученные срезы окрашивали гематоксилином–эозином. Срезы, полученные в результате применения данного метода, позволяют проводить детальное изучение морфологических особенностей клеток хрусталика.

Ключевые слова: методы окраски, хрусталик, эпителиальные клетки хрусталика, волокна хрусталика

Причина, инициирующая процесс развития катаракты (помутнение хрусталика), до настоящего времени не установлена, поэтому у современной практической медицины нет надежных способов профилактики этого заболевания [1]. В последние годы возник интерес к изучению обменных процессов хрусталика с точки зрения структурной и функциональной организации мембран его клеток [2–5]. Принимая во внимание крайнюю малодоступность получения материала интактного хрусталика человека, наиболее ценным источником научной информации, по-прежнему, остается изучение материала, полученного от лабораторных животных.

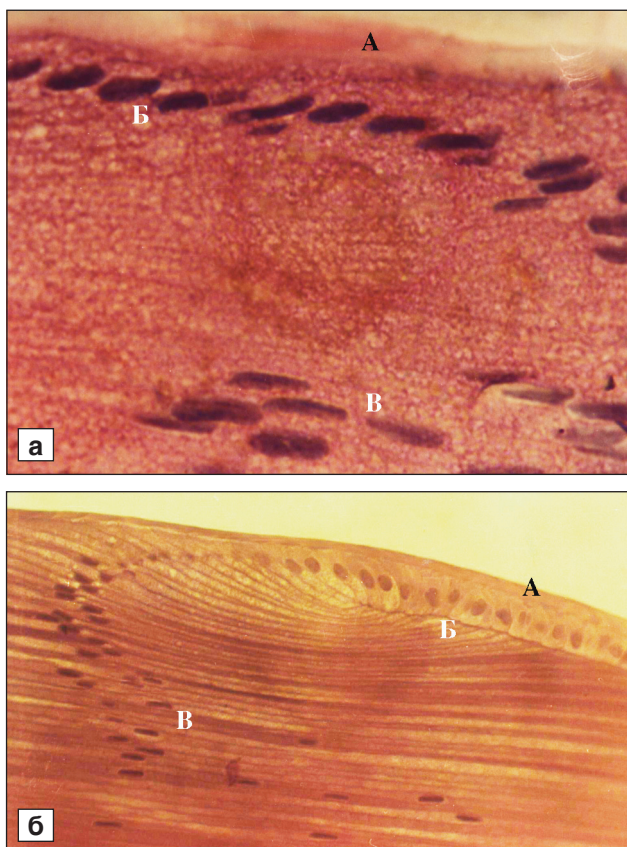
Предлагаемый метод выявления клеточных структур позволяет проводить более детальное изучение цитоархитектоники хрусталика в норме и при развитии различных патологических процессов.

Эксперименты проведены на белых беспородных крысах массой 200–250 г. Все действия, предусматривавшие контакт с лабораторными животными, осуществляли с учетом требований «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных». Объектом исследования служил хрусталик глаза, энуклеацию которого производили под глубоким эфирным наркозом. Сагиттальные срезы энуклеированных глазных яблок контрольных животных были окрашены гематоксилином–эозином по обычной методике без каких-либо предварительных воздействий. Подопытным животным проводили предварительную витально-суправитальную окраску раствором метиленового синего. Для этого готовили 1% концентрированный раствор

метиленового синего с использованием жидкости Рингера—Локка. Для окраски разводили концентрированный раствор жидкостью Рингера—Локка в несколько раз (1,5 мл 1% раствора метиленового синего на 100 мл жидкости Рингера—Локка). Полученный разведенный раствор инъецировали в кровеносное русло в течение 40–50 мин (витальное окрашивание). Для суправитального докрашивания хрусталик энуклеированного глаза помещали в чашке Петри на 1 ч в термостат при температуре 37 °С. В течение указанного времени на поверхность хрусталика каплями наносили разведенный раствор метиленового синего. Далее фиксировали в 10% растворе формалина, готовили парафиновые срезы и проводили окрашивание гематоксилином–эозином по обычной методике.

Срезы хрусталика, окрашенные гематоксилином–эозином без предварительного применения данного метода, были недостаточно информативны, так как отчетливо выявляются лишь ядра клеток хрусталика, в то время как его капсула и границы клеток практически не видны (рисунок, а).

Предварительное использование описываемой методики приводит к более интенсивному окрашиванию капсулы, эпителиальных клеток и волокон хрусталика (см. рисунок, б), что сопровождается лучшим выявлением их структурных элементов. Отчетливое выделение на получаемых срезах капсулы хрусталика и границ клеток позволяет с большей достоверностью изучать особенности цитоархитектоники хрусталика, изменения морфологического и функционального состояния его клеток в процессе эмбрионального развития и в условиях катарактогенеза.



Сагиттальные срезы хрусталика глаза крысы.

А — капсула хрусталика; Б — ядра эпителиальных клеток хрусталика; В — ядра экваториальных волокон. а — окраска гематоксилином–эозином; б — окраска гематоксилином–эозином с предварительным использованием витально-суправитального окрашивания метиленовым синим. а — об. 90, ок. 15; б — об. 40, ок. 15.

Таким образом, главным преимуществом предлагаемой методики является значительное повышение качества изображения клеточных структур на срезах хрусталика глаза. Сочетание этого

преимущества с быстротой и простотой описанной выше методики позволит занять ей достойное место в повседневных исследовательских работах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Катаракта. Под ред. З.Ф. Веселовской. Киев, Книга плюс, 2002.
2. Churchill G.C. and Louis CF. Stimulation of P₂U purinergic or α_1 -adrenergic receptors mobilizes Ca²⁺ in lens cells. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 1997, v. 38, № 5, p. 855–865.
3. Collison D.J. and Duncan G. Regional differences in functional receptor distribution and calcium mobilization in the intact human lens. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 2001, v. 42, № 10, p. 2355–2363.
4. Duncan G. and Collison D.J. Role of the non-neuronal cholinergic system in the eye: a review. Life Sci., 2003, v. 72, № 18–19, p. 2013–2009.
5. Hernandez C.M. Cataracts: Causes, Symptoms, and Surgery. New York, Nova Publishers, 2010.

Поступила в редакцию 29.12.2010

Получена после доработки 20.05.2011

IMPROVED METHOD FOR THE DEMONSTRATION OF THE CRYSTALLINE LENS CELLULAR STRUCTURES

N.V. Korsakova and V.Ye. Sergeyeva

A new method for the demonstration of the lens epithelial cells and fibers in the eye of the experimental animals (rats) is described. The method proposed is not laborious and is simple in utilization. It is based on the intravital administration of methylene blue solution to the animal with the subsequent supravital crystalline lens staining at 37°C. The material was then embedded into paraffin, and the sections were stained with hematoxylin–eosin. The sections obtained using the proposed method, give an opportunity for the detailed demonstration of the morphological features of the lens cells.

Key words: *staining methods, lens, lens epithelial cells, lens cells-fibers*

Department of Medical Biology, I.N. Ulyanov Chuvash State University, Cheboksary