

УДК 611.13/.16.001.8

Ю. П. Костиленко, Е. В. Ковалев, Н. С. Скрипников, О. А. Устьянский

МЕТОД ПОЛУЧЕНИЯ ПЛЕНОЧНЫХ ПРЕПАРАТОВ И ПРИГОТОВЛЕНИЕ ИЗ НИХ ПОЛУТОНКИХ СРЕЗОВ

Существующие методы получения пленочных препаратов не являются совершенными. Обычно пленочные препараты после фиксации, отмывки, импрегнации азотнокислым серебром или предварительной инъекции красящими массами и обезвоживания заключаются в полистирол под покровные стекла либо распластаются между двумя предметными стеклами. Основным недостатком такой методики является потеря возможности проводить на том же объекте дополнительные исследования. Для дальнейшей гистологической обработки оказываются пригодными те пленочные препараты, которые распластаны между двумя предметными стеклами, однако они требуют хранения в специальных консервирующих жидкостях, что сопряжено с рядом неудобств. Кроме того, возможность их дальнейшего препарирования крайне ограничена, поскольку трудно ориентироваться в парафиновых блоках.

Нами разработан метод, который позволяет использовать полученные тотальные пленочные препараты для дальнейшего структурного анализа. Метод состоит в том, что приготовленный пленочный препарат заключается в эпоксидную смолу (аралдит или эпон-812) с одновременной шадящей компрессией в процессе полимеризации в термостате. Для получения хороших результатов мы рекомендуем придерживаться следующих приемов в их последовательном проведении:

1. Фиксированные в 12%-ном растворе нейтрального формалина пленочные препараты после отмывки подвергаются импрегнации азотнокислым серебром по В. В. Куприянову (1965). Инъецированные препараты, естественно, в этом не нуждаются. При необходимости выявления не только сосудов, но и мягкотных нервных элементов, пленочные препараты после серебрения целесообразно подвергнуть дополнительной фиксации в 1%-ном растворе четырехоксида осмия (Millonig, 1962). Этот этап требует дополнительной отмывки, а затем уже дегидратации в спиртах возрастающей крепости.

2. В процессе дегидратации происходит постепенная замена спирта ацетоном для пропитывания препаратов в эпоксидной смоле согласно общепринятым методам в электронной микроскопии (Гайер, 1974; Уикли, 1975).

3. Препараты, пропитанные эпоксидной смолой, раскладываются на полиэтиленовые пленки. Для этого следует заранее вырезать из полиэтиленовой пленки (толщиной 0,15—0,20 мм) пластинки, которые по форме и размерам будут удовлетворять удобному расположению пленочного препарата. Для каждого препарата необходимо заготовить пару полиэтиленовых пластинок и по одной прокладке между ними. В прокладке вырезается окно, соответствующее размерам препарата. Желательно, чтобы прокладка была немного тоньше данного препарата. Таким образом, пленочный препарат помещается на одну из полиэтиленовых пластинок в окно прокладки. На каждый препарат наносится одна или две капли свежей эпоксидной смолы, после чего она накрывается другой, покровной полиэтиленовой пластинкой. Несколько подобных форм закладывается в небольшой пресс и легко в нем сдавливаются до полного сближения между полиэтиленовыми пластинками. Пленочные препараты оказываются при этом распластанными в одной плоскости внутри своеобразных полостей.

Пресс изготавливают из двух толстых (толщиной 10 мм) пластинок оргстекла. В центре одной из них укрепляют винт, а в другой просверливают отверстие для этого винта. Сжатие осуществляют с помощью гайки. Между соприкасающимися поверхностями двух пластинок помещают фторопластовые прокладки, которые предотвращают склеивание при попадании эпоксидной смолы.

Спрессованные препараты помещают в термостат при температуре 50° на 2—3 суток. Полученные препараты очень удобны при хранении и занимают мало места. При необходимости их можно пересылать в конверте.

Из тотальных препаратов, выбрав интересующий участок и, вырезав его лезвием, можно получить полутонкие срезы. Для этого вырезанный сегмент пленочного препарата наклеивают на бывший в употреблении эпоксидный блок и при помощи стеклянных ножей получают серию полутонких срезов. Данную операцию обычно осуществляют на ультратомах, однако сконструированное нами приспособление (Костиленко и др., 1976) позволяет фиксировать стеклянные ножи на микротоме типа МПС-2 и получать серийные полутонкие срезы строго заданной толщины (1—3 мкм). Из пленочного препарата толщиной около 60 мкм мы легко получаем серию из 30 срезов. Наиболее оптимальными красителями для полутонких срезов тканей, заключенных в эпоксидные смолы, являются метиленовый и толуидиновый синий (Гайер, 1974). Полученные срезы незаменимы при получении четких изображений клеточных элементов сосудистых стенок, нервных окончаний, а также тонких межтканевых взаимоотношений.

ЛИТЕРАТУРА

- Гайер Г. Электронная гистохимия.— М.: Мир, 1974.— 474 с.
 Костиленко Ю. П., Ковалев Е. В., Волобуев Н. А. Приспособление для фиксации стеклянных ножей в микротоме МПС-2 с целью получения сверхтонких срезов с эпоксидных блоков для гистологических исследований.— В кн.: Рационализаторские предложения и изобретения в медицине. Киев: Здоровье, 1976, с. 125—126.
 Куприянов В. В. Безинъекционные методы изучения сосудов на пленочных препаратах.— В кн.: Морфологические основы микроциркуляции. М., 1965, с. 20—22.
 Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих.— М.: Мир, 1975.— 313 с.
 Millonig G. A. A modified procedure for lead staining of thin sections.— J. Bioph., Biochem., Cytol., 1962, 2, 3, p. 736—739.

Полтавский
 медицинский стоматологический институт

Поступила в редакцию
 28.IX 1977 г.

УДК 578.088.2:595.762.16

В. И. Климов

ОПЫТ МЕЧЕНИЯ ЖУКОВ-ПЛАВУНЦОВ РОДА *DYTISCUS* (COLEOPTERA, DYTISCIDAE)

Индивидуальное мечение является зачастую единственно надежным методом изучения условий существования и структуры популяций насекомых. Особенности биологии и экологии изучаемых объектов, малые их размеры требуют разработки и применения дифференцированных способов мечения. Бранкучи (Branucci, 1975) маркировал водных жуков путем точечного соскабливания верхнего окрашенного слоя кутикулы надкрылий. При этом использовался миниатюрный электромотор, вращающий со скоростью 12 000 об/мин тонкую зубообразную фрезу. Питание осуществлялось от 6-вольтовой батарейки.

Работы по мечению жуков-плавунцов рода *Dytiscus* с целью изучения экологии их зимовки проводились нами с ноября 1976 по апрель 1977 г. на зимовальных прудах рыбхоза «Лотошинский» Московской обл. Применялось устройство, состоящее из микроэлектродвигателя МЭД-40, выпускаемого отечественной промышленностью для детского моделирования, и батарейки для карманного фонаря 3336 Л. В качестве рабочего органа использовался вал электродвигателя, выступающий за пределы корпуса на 10—12 мм. Конец вала подвергался двусторонней плоской заточке. Скорость вращения вала