

Изъ анатомио-физиологической лабораторіи проф. В. М. Бехтерева.

ЗНАЧЕНІЕ FORMOL-MÜLLER'ОВСКОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ УПЛОТНЕНІИ И ОКРАСКѢ ПРЕПАРАТОВЪ МОЗГА.

Д-ра В. П. Осипова.

Въ мартѣ 1896 года въ „Berliner klinische Wochenschrift“ появилась статья проф. Орта, въ которой онъ предлагаетъ новую уплотняющую жидкость, состоящую изъ формалина и Мюллеровской жидкости и названную имъ Formol-Müller'овской. Составъ ея: 100 ч. Мюллеровской жидкости + 10 ч. формалина (по объему). Судя по статьѣ Орта, препараты, уплотненные въ его жидкости, должны сохраняться очень долго.

Изъ статьи Орта почти не видно, какъ окрашиваются срѣзы мозга, уплотненнаго въ его жидкости. Прежде чѣмъ изложить результаты своихъ наблюденій въ этомъ направленіи, считаю нелишнимъ сказать, почему я обратилъ вниманіе на Formol-Müller'овскую жидкость.

За послѣднее время въ окраскѣ центральной нервной системы приобрѣлъ большое и вполне заслуженное значеніе способъ окраски метиленовой синькой по Nissl'ю. Къ сожалѣнію, по Nissl'ю красятся нервныя клѣтки, но не красится бѣлое вещество мозга; между тѣмъ спиртовое уплотненіе препаратовъ, требуемое Nissl'евскою окраскою, сильно ограничиваетъ примѣненіе къ тѣмъ же кусочкамъ мозга другихъ способовъ окраски; разрѣзать же свѣжій мозгъ на отдѣльные кусочки, уплотняя часть ихъ въ Мюллеровской жидкости, часть въ

спиртъ, не всегда бываетъ удобно, особенно въ тѣхъ случаяхъ, гдѣ требуется непрерывный рядъ срѣзовъ изъ небольшого объекта. Въ виду этого вполнѣ понятно стремленіе получить Nissl'евскую окраску срѣзовъ мозга, уплотненнаго въ жидкости, позволяющей красить по Палю, Вейгерту и др. или совмѣстить ея, такъ или иначе, съ окраскою нервныхъ волоконъ.

Мнѣ удалось получить удовлетворительную Nissl'евскую ¹⁾ окраску срѣзовъ мозга, уплотненнаго въ насыщенномъ растворѣ сулемы + acid. acetic. glaciale; нѣкоторые товарищи по лабораторіи, какъ и я самъ, получали удовлетворительную окраску по Nissl'ю срѣзовъ мозга, уплотненнаго въ формалинѣ. Сулемовое уплотненіе не годится для окраски гематоксилиномъ по способу Пала и Вейгерта; что же касается формалина, то хотя онъ и даетъ возможность красить по Палю и Вейгерту, если кусочки мозга выдержатъ передъ этимъ нѣкоторое время въ растворѣ двухромокалиевой соли, но эта окраска по чистотѣ и отчетливости уступаетъ окраскѣ мозга, уплотненнаго въ Мюллеровской жидкости. Пробовали также красить по Nissl'ю срѣзы мозга, уплотненнаго въ Мюллеровской жидкости, но результаты получились отрицательные и, какъ мнѣ кажется, по слѣдующей причинѣ: окраска клѣтокъ по Nissl'ю основана на томъ, что, при дѣйствіи спиртоваго раствора анилина на окрашенный синькою срѣзь, краска удерживается въ клѣткахъ, извлекаясь въ тоже время изъ другихъ элементовъ мозга; а при дѣйствіи анилиноваго раствора на окрашенный синькою срѣзь мозга, уплотненнаго въ Мюллеровской жидкости, происходитъ равномерное извлеченіе краски какъ изъ нервныхъ волоконъ, такъ и изъ клѣтокъ (она удерживается дольше въ бѣлыхъ кровяныхъ шарикахъ); понятно, что голубая клѣтка не выдѣляется на голубомъ фонѣ мозгового вещества. Мои попытки окрасить синькою по Nissl'ю срѣзы, уже окрашенные по Палю, пока не увѣнчались успѣхомъ.

¹⁾ Я всегда пользуюсь способомъ Nissl'я, видоизмѣненнымъ Ф. К. Телятникомъ. См. Ф. К. Телятникъ. Видоизмѣненіе окраски нервныхъ клѣтокъ по Nissl'ю. — «Обозрѣніе психіатріи» 1896, № 9.

Послѣ всего вышесказаннаго оставалось испробовать комбинацію уплотняющихъ жидкостей. Тогда я обратился къ предложенной Ортомъ Formol-Müller'овской жидкости.

По словамъ Орта, препараты, помѣщенные въ его жидкость, уплотняются очень скоро: большіе препараты (органы) требуютъ до 4 дней, а маленькіе, около $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{2}$ сентм. толщиною, уплотняются въ термостатѣ въ теченіе 3-хъ часовъ, причемъ приобрѣтаютъ замѣчательно удобную консистенцію для производства срѣзовъ на микротомѣ. Если кусочки остаются въ жидкости долѣе, это не вредить. Далѣе, кусочки промываются въ водѣ (лучше въ проточной) до тѣхъ поръ, пока вода перестанетъ окрашиваться въ желтый цвѣтъ (извлеченіе хромовыхъ солей). Чѣмъ лучше промыты препараты, тѣмъ лучше потомъ они окрашиваются. Затѣмъ препараты переносятъ въ 93% спиртъ на время отъ 12—24 часовъ при комнатной температурѣ; если ихъ оставить въ спиртѣ на 3—4 дня, окрашиваемость срѣзовъ получается особенно хорошая. Далѣе слѣдуетъ обычное заключеніе препаратовъ въ параффинъ. Срѣзы окрашиваются очень хорошо карминными красками (квасцовый, литіевый, пикролитіевый карминъ), „но также и гематоксилинъ, и высокоцѣнная мною метиленовая синька“, говоритъ авторъ. „даютъ хорошую картину“. Хорошіе результаты получаются при окраскѣ по van-Gieson'у.

Я воспользовался жидкостью Орта для уплотненія свѣжаго мозга собаки, положивъ въ жидкость тонкіе кусочки спинного и продолговатаго мозга. Часть кусочковъ мозга, послѣ соответственной обработки ¹⁾, я заключилъ въ параффинъ, часть—въ целлоидинъ. Срѣзы дѣлались на микротомѣ Schanze. Здѣсь я долженъ подтвердить заявленіе Орта, что препараты, уплотненные въ его жидкости, приобрѣтаютъ замѣчательно удобную консистенцію для рѣзанія на микротомѣ: мозгъ приобрѣтаетъ эластичность и не рвется на бритвѣ; срѣзы довольно большой величины (поперечные срѣзы изъ мозга

¹⁾ Я поступилъ именно такъ, какъ рекомендуетъ Ортъ въ своей статьѣ.

взрослой собаки на уровнѣ перехода прологговатаго мозга въ Варольевъ мостъ) изъ мозга, заключеннаго въ целлоидинъ, дѣлаются легко толщиной въ 1 дѣленіе микротома.

Я испробовалъ слѣдующіе способы окраски: Nissl'я, Pal'я, Кульчицкаго, Вейгерта, Van-Gieson'a, нейтральный карминъ, Marchi.

Окраска по Nissl'ю улаётся хорошо. Кромѣ нервныхъ и неврогліиныхъ клѣтокъ, лейкоцитовъ и палочкообразныхъ ядеръ гладкихъ мышечныхъ волоконъ въ стѣнкахъ сосудовъ, окрашеннымъ представляется и содержимое сосудовъ, кровяные шарики, въ желтый цвѣтъ. Въ протоплазмѣ клѣтокъ замѣчается частью зернистость, частью исчерченность; ичерченность представляется, въ большинствѣ случаевъ, не столь рѣзкою, какъ при спиртовомъ уплотненіи мозга.

Окраска срѣзовъ по способу Пала и Вейгерта не удалось: послѣ обработки срѣзовъ растворомъ марганце-каліевой соли и щавелевой кислоты получились совершенно бѣлые срѣзы. Имѣя въ виду, что подобные случаи бывають съ препаратами, свѣжеуплотненными въ растворѣ двуххромокалиевой соли, если хромовыя соли извлекаются ихъ нихъ продолжительнымъ промываніемъ въ водѣ и затѣмъ въ слабомъ спиртѣ, я нѣсколько отступилъ отъ начертанной Ортомъ программы и кусочки мозга, уплотненные въ его жидкости, перенесъ прямо въ рѣпкій спиртъ (95%), лишь сполоснувъ ихъ въ водѣ. Послѣ 2 хъ дневнаго пребыванія въ спиртѣ кусочки заключены въ целлоидинъ.

При такой обработкѣ окраска срѣзовъ по Палу получилась, хотя не такая отчетливая, какъ окраска срѣзовъ мозга, уплотненнаго въ Мюллеровской жидкости. Особенно неотчетливо ¹⁾ красятся отдѣльныя мякотныя волокна въ сѣромъ веществѣ спинного мозга. Нѣсколько лучше получается окраска

¹⁾ На неотчетливость окраски по способу Пала указываетъ также Neudorffer, приписывая это слишкомъ сильной рѣпкости раствора формалина въ жидкости Орта. См. R. Neudorffer. Dementia paralytica etc.—Arch. f. patholog. Anatom. u. Physiol. etc. Berlin, 1896. Bd. 146, S 377.

квасцовымъ гематоксилиномъ съ послѣдующей обработкой срѣзовъ по Вейгерту. Совершенно тоже, что о способѣ Пала, я могу сказать о способѣ окраски уксуснокислымъ гематоксилиномъ по Кульчицкому. При всѣхъ этихъ способахъ обращаетъ на себя вниманіе окраска сосудовъ мозга, получающаяся постоянно: красится содержимое сосудовъ, начиная съ крупныхъ, до мельчайшихъ капилляровъ включительно, въ темно-бурый, почти черный цвѣтъ; отдѣльные кровяные шарики—желто-бураго цвѣта. Стѣнки сосудовъ не окрашиваются.

Окраска по способу Van-Gieson'a получается удовлетворительно. Содержимое сосудовъ окрашивается въ желтый цвѣтъ иногда съ розовымъ оттѣнкомъ, стѣнки—въ красный, палочкообразныя ядра гладкихъ мышечныхъ волоконъ, содержащихся въ стѣнкахъ сосудовъ,—въ насыщенно-красный цвѣтъ.

Нейтральнымъ корминомъ срѣзы не окрашиваются; въ сосудахъ красные кровяные шарики, тѣмъ не менѣе, представляются окрашенными въ желтый цвѣтъ.

Окрашивая срѣзы по способу Nissl'я, я получилъ окраску, не получающуюся ни при спиртовомъ уплотненіи препаратовъ, ни при уплотненіи въ жидкости Орта съ послѣдующимъ промываніемъ кусочковъ мозга въ водѣ; а именно: кромѣ вышеупомянутыхъ элементовъ, т. е. клѣтокъ, лейкоцитовъ и сосудовъ, окрасилось бѣлое мозговое вещество и нервные корешки въ фіолетовый цвѣтъ.

Съ цѣлью получить объекты для окраски по способу Marchi была произведена слѣдующая операція: маленькой собачкѣ я сдѣлалъ продольный разрѣзъ спинного мозга, около 2 смт. длиною, на уровнѣ 10—11 грудныхъ позвонковъ. Собака прожила послѣ операціи два дня. Для изслѣдованія были взяты кусочки мозга вблизи области операціи и положены въ жидкость Орта. Длина кусочковъ не превышала 1 смт. Изъ Formol-Müller'овской жидкости кусочки перенесены въ жидкость Marchi, гдѣ оставались 8 дней. Послѣ обычнаго промыванія въ водѣ и заключенія въ целлоидинъ были сдѣланы срѣзы. Локализациа обнаруженнаго перерожденія не соста-

вляеть задачи моего изслѣдованія, поэтому я ограничусь оцѣнкою качества окраски. Окраска перерожденных мѣлиновыхъ волоконъ получилась очень рѣзкая, чистая, вичуть не уступающая окраскѣ послѣ уплотненія мозга въ Мюллеровской жидкости. Содержимое сосудовъ окрасилось въ желто-бурый цвѣтъ. Очень красиво и отчетливо выступила при описываемой окраскѣ жировая дегенерация клѣтокъ переднихъ роговъ: однѣ клѣтки, повидимому, совершенно здоровы, въ протоплазмѣ другихъ видимъ скопленіе бурыхъ зернышекъ въ одномъ или нѣсколькихъ мѣстахъ, особенно у мѣста отхожденія отростковъ; въ третьихъ—поражены и ядра, и протоплазма, въ четвертыхъ—вся клѣтка состоитъ изъ зернышекъ, частью сливающихся между собою, и уже начинаетъ утрачивать свои очертанія и т. д.

Изъ настоящаго изложенія можно было замѣтить, что для жидкости Орта является характерною окраска сосудовъ, получающаяся съ постоянствомъ при различныхъ способахъ окраски срѣзовъ, въ ней уплотненныхъ. Эта окраска зависитъ отъ двухромокалиевой соли, удерживающейся въ красныхъ кровяныхъ шарикахъ, благодаря формалину. Справедливость этого доказывается, во-первыхъ, тѣмъ, что кровяные шарики вездѣ окрашиваются въ желтый цвѣтъ (разница въ оттѣнкахъ); во-вторыхъ, тѣмъ, что при окраскѣ карминомъ, гдѣ срѣзь остается почти совершенно бѣлымъ, сосуды все-таки окрашены въ желтый цвѣтъ.

Резюмируя все вышесказанное, я прихожу къ слѣдующимъ выводамъ:

1. Жидкость, предложенная Ортомъ и названная имъ Formol-Müller'овской, пригодна для быстрого уплотненія мозга.

2. Особенно рекомендуется примѣнять ее, если имѣется въ виду изслѣдованіе сосудовъ мозга.

3. Такъ какъ въ составъ Formol-Müller'овской жидкости входитъ формалинъ, то препараты, въ ней уплотненные, представляются эластичными и удобными для производства самыхъ тонкихъ срѣзовъ.

4. Срѣзы мозга, уплотненнаго въ жидкости Орта, красятся по приведеннымъ способамъ, при чемъ, если желательно при окраскѣ по Nissl'ю получить окраску волоконъ, нужно поступать слѣдующимъ образомъ:

- а) уплотненіе кусочковъ мозга въ жидкости Орта;
- б) промываніе въ водѣ въ теченіе 1—2 минутъ;
- в) перенесеніе кусочковъ въ крѣпкій спиртъ (95%—97%) на 1—2 дня, причемъ лучше держать сосудъ въ темнотѣ ¹⁾;
- г) заключеніе въ целлоидинъ обычнымъ способомъ;
- д) когда сдѣланы срѣзы, они окрашиваются растворомъ Nissl'евской синьки, хорошо промываются въ водѣ, переносятся въ 10% растворъ анилина въ спиртѣ, гдѣ черезъ нѣкоторое время приобрѣтаютъ блѣдно-синій, почти голубой, цвѣтъ; тогда срѣзы переносятся въ ol. *Origanum vulgare*, не извлекающее синьки, но растворяющее целлоидинъ. Заключеніе срѣзовъ въ канадскій бальзамъ.

Окраска моихъ препаратовъ въ теченіи 3-хъ мѣсяцевъ нисколько не измѣнилась.

Если имѣется въ виду сохранить препараты, уплотненные въ жидкости Орта, въ теченіи продолжительнаго времени (послѣднее особенно относится къ микроскопическимъ препаратамъ), то черезъ 3—4 дня Ортъ совѣтуетъ переносить ихъ въ жидкость слѣдующаго состава:

100 ч.	60%	спирта	+ 1 ч.	формалина	или:
125 ч.	(по объему)	93%	спирта		
90 ч.	—	—	—	глицерина	
200 ч.	—	—	—	воды	
10 ч.	—	—	—	формалина.	

Это дѣлается потому, что въ Formol-Müller'овской жидкости черезъ 3—4 дня выпадаетъ кристаллическій осадокъ, вслѣдствіе чего жидкость становится негодною для употребленія.

¹⁾ Это дѣлается во избѣжаніе образованія осадковъ хромовыхъ солей.