

Э. С. КАЦНЕЛЬСОН

О ТИНКТОРИАЛЬНЫХ ОСОБЕННОСТЯХ ЦИТОПЛАЗМЫ У ЭМБРИОНОВ АМФИБИЙ НА РАННИХ СТАДИЯХ РАЗВИТИЯ

(Представлено академиком Л. А. Орбели 4 VIII 1948)

Изучая гистологические структуры на ранних стадиях развития амфибий в норме и в условиях эксперимента ⁽¹⁾, автор убедился, что общепринятые методы окраски гистологических препаратов на этом материале часто не удаются или же дают неожиданный эффект. Причина этого выяснилась при сравнении материала, фиксированного различными методами и окрашенного на срезах различными способами. Оказалось, что дело идет об иных тинкториальных свойствах (иной окрашиваемости) тканей зародыша амфибий на ранних стадиях развития в сравнении с более поздними стадиями, а тем более сравнительно с дефинитивными тканями.

Данные об изменении тинкториальных свойств в процессе онтогенеза отмечались в литературе. В частности, Б. В. Кедровский ⁽²⁾ посвятил специальное исследование этому вопросу и показал изменение как витальной прокрашиваемости тканей на разных стадиях эмбрионального развития, так и изменение степени базофилии тканей, определяемой на срезах фиксированных эмбрионов. Однако основная особенность окрашиваемости протоплазмы эмбрионов амфибий на ранних стадиях развития остается в литературе не отмеченной.

Эта основная особенность заключается в своеобразной атинкториальности, т. е. полной неокрашиваемости фиксированной цитоплазмы на ранних стадиях развития как у хвостатых, так и у бесхвостых амфибий. Б. В. Кедровский различает три периода в развитии лягушки, характеризующиеся различной базофилией протоплазмы. Первый период, по Кедровскому, обнимает время от начала дробления до вылупления. В этот период «базофильные вещества полностью отсутствуют во всех клетках, переполненных на этой стадии желтком. Они впервые появляются незадолго до вылупления в некоторых органах и тканях на переднем конце тела» (стр. 1142). Это положение бесспорно правильно, но должно быть дополнено указанием на то, что по крайней мере большая часть этого периода характеризуется не только отсутствием кислых (базофильных) коллоидов протоплазмы, но и вообще отсутствием в цитоплазме коллоидов, способных абсорбировать краску после фиксации гистологическими методами. Б. В. Кедровский далее отмечает, что «при окраске азур-эозином в протоплазме почти всех клеток окрашиваются только желточные пластинки...» (стр. 1143), но это относится не только к азур-эозину, а к любой краске из числа принятых в микроскопической технике. В цитоплазме зародыша амфибий на ранних стадиях развития окрашиваются только ядра и желточ-

ные пластинки, которые кажутся на препарате расположенными в «пустоте», так как цитоплазматическая основа остается не окрашенной.

С этой особенностью связаны неожиданные эффекты окраски, которые можно получить на срезах эмбрионов амфибий в ранних стадиях развития. В другой работе я уже указывал на возможность применять у таких эмбрионов эозин в качестве ядерной краски, что для слуха каждого микроскописта звучит достаточно парадоксально. Метод этот заключается в предварительной окраске срезов гематоксилином с протравой железными квасцами по М. Гейденгану. Железный гематоксин очень крепко удерживается желточными пластинками и нетрудно подобрать такую стадию дифференцировки, когда желточные пластинки еще сохраняют черную окраску, но ядерный фон уже слабо обесцвечен (при сохранении черной окраски хроматиновых глыбок). Если такой препарат подкрасить водным эозином, то получается отличная окраска ядер в красный цвет, причем красные ядра с черными хроматиновыми глыбками хорошо выделяются на фоне темных желточных пластинок, окрашенных в различные оттенки серого и черного цветов.

Такая окраска удается, кроме эозина, с некоторыми другими кислыми красками (но не со всеми). Удастся, например, окрашивать ядра лихтергоном (кислой зеленой) и желтым ализарином. Чисто тоновой эффект в этих комбинациях получается, на мой взгляд, хуже, чем с эозином.

Описанный эффект «ядерной» окраски посредством кислых красок имеет следующее объяснение. Кислые краски красят не только цитоплазму; они в обычных условиях абсорбируются всеми структурами фиксированного препарата, в том числе и ядром. Применяя комбинацию основной и кислой краски, мы получаем окраску в тон кислой краски только цитоплазмы, потому, что ядра содержат базофильные вещества, окрашивающиеся основной краской; кислой краске при этом закрыт доступ к ядру, окрашенному основной краской. Поэтому при обычных условиях кислая краска красит ту часть клейки, которая не закрашена основной краской, т. е. цитоплазму. В нашем случае — у эмбрионов амфибий — в клетке имеется три компонента: цитоплазма, ядро и желточные пластинки, расположенные в цитоплазме. Желточные пластинки удерживают гематоксилиновый лак, поэтому эозин (или другая кислая краска) ими не абсорбируются. Цитоплазма атинкториальна, т. е. вообще не абсорбирует никакой краски (ни гематоксилина, ни эозина), таким образом эозин закрашивает ту единственную часть клетки, которая после дифференцировки, в основном, освобождена от краски, — т. е. ядра. Получается избирательно окрашенный препарат с красными ядрами на фоне темных желточных пластинок, заполняющих неокрашенную цитоплазму*.

Таким образом, особенностью ранних стадий развития амфибий является отсутствие в цитоплазме веществ, способных абсорбировать краску на фиксированных препаратах, при наличии таких веществ в ядре и желточных пластинках. Химический характер этих веществ в ядрах и желточных пластинках различен, так как разными методами (например окраской по Маллори) удастся получить совершенно различный цвет окраски этих двух клеточных компонентов.

Атинкториальность является особенностью цитоплазмы у амфибий только на ранних стадиях развития. Вскоре появляется окрашиваемость не только ядер, но и цитоплазмы. В общей форме эта способность возрастает по мере растворения желточных пластинок, что отмечает и Кедровский в отношении базофилии протоплазмы. Но появление окрашиваемости цитоплазмы не совпадает с полным исчезновением желточных

* Слабо прокрашиваются как кислыми, так и основными красками пограничные структуры: клеточные границы, пограничные мембраны эмбриональных зачатков и т. п.

пластинок, которые сохраняются в тканях, приобретших уже способность абсорбировать краску.

На эмбрионах четырехпалого тритона *Hynobius keyserlingi* Dyb., развивавшихся в лабораторных условиях, я проследил срок появления окрашиваемости цитоплазмы. На срезах, фиксированных смесью М. Гейденгайна (SUSA), начало окрашиваемости цитоплазмы можно было констатировать на 8-й день развития, причем в разных тканях с неодинаковой интенсивностью. Ранее всего окрашиваемость цитоплазмы проявляется в эпидермисе и несколько слабее в других производных эктодермы (нервной трубке, глазном пузыре, хрусталике, обонятельных ямках). На 9-й день развития во всех перечисленных закладках цитоплазма проявляет явственную оксифилию и отчетливо прокрашивается как эозином, так и другими кислыми красками. Дольше атинкториальность цитоплазмы сохраняется в мезенхимных клетках, а особенно долго эта особенность проявляется в производных энтодермы, где, параллельно с этим, дольше, чем в других зачатках, сохраняется большое количество желтка. Даже на 10—12-й день, когда цитоплазма в эпидермисе уже хорошо прокрашивается кислыми красками, в кишечнике по-прежнему окрашиваются только ядра и желточные пластинки*.

Морфолог может, конечно, только констатировать факт атинкториальности цитоплазмы на ранних стадиях развития амфибий. Объяснение его нужно ждать от данных физико-химической биологии. Но, помимо теоретического интереса этого факта, он имеет для микроскописта и чисто практическое значение. Исследователь, имеющий дело с этими стадиями развития амфибий, должен иметь в виду тинкториальные особенности цитоплазмы, которые неизбежно отразятся на препарате, какие бы методы окраски не применялись при этом. Особенность эта, несомненно, стоит в связи с наличием в цитоплазме эмбриональных клеток амфибий большого количества желтка, но не обусловлена только этим обстоятельством. У птиц, некоторые клетки которых на ранних стадиях также содержат желточные включения, этой особенности заметить не удастся.

Военно-морская
медицинская академия

Поступило
4 VIII 1948

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ З. С. Кацнельсон, Тр. Военно-морск. мед. акад., 5, 1 (1945). ² Б. В. Кел-
ровский, Биол. журн., 6, 5—6 (1937).

* Стоит отметить, что желточные пластинки в эктодерме сильнее, чем в других зачатках, чернятся гематоксилином по Гейденгайну, а также при некоторых методах окраски (например по Маллори) приобретают весьма различный тон (от ярко оранжевого до фиолетового), что вероятно указывает на различную фазу их резорбции.