Доклады Академии наук СССР
1955. Том 103, № 1

ГИСТОЛОГИЯ

Л. Б. БЕРЛИН и В. Н. ШАЛУМОВИЧ

ИССЛЕДОВАНИЕ КОЖИ ЛЯГУШКИ И СПЕЦИАЛЬНО ЕЕ ЖЕЛЕЗ ПРИ ПОМОЩИ ЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ И УЛЬТРАФИОЛЕТОВОЙ МИКРОСКОПИИ И НЕКОТОРЫМИ ГИСТОХИМИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

(Представлено академиком Е. Н. Павловским 5 III 1955)

Железы кожи амфибий издавна привлекали внимание исследователей разнообразием их картин на окрашенных препаратах. Эта пестрота строения желез давала основание некоторым авторам считать, что имеется четыре их типа ([1]). Большинство исследователей сводит все их многообразие к слизистым и зернистым ([2]), не давая, однако, сколько-нибудь точной гистохимической характеристики их секретов. Наконец, существует точка зрения, согласно которой все железы кожи лягушки сходны и относятся к одному и тому же типу ([3]).

Настоящая работа предпринята с целью выяснить некоторые особенности строения кожи и в первую очередь ее желез у лягушки. Для этой цели применены люминесцентная микроскопия и ультрафиолетовая микроскопия, которые все шире входят в гистологический обиход ([5–7]), и ряд гистохимических методов. Материалом служила кожа спинной и брюшной сторон осенних лягушек (Rana temporaria L.).

Кусочки кожи были фиксированы 15% нейтральным формалином или смесью Карнуа. Заливка в парафин. Срезы толщиной 3 μ, предназначенные для исследования методом люминсценции, наклеивались на стекла без белка, депарафинировались ксилолом, проводились через спирты до воды, а затем обрабатывались раствором трипафлавина в концентрации 1 : 1000 в течение 20 сек. Затем наклеенные срезы споласкивались проточной дестиллированной водой и заключались в каплю воды, а край покровного стекла обмазывался парафином. Люминесценция вызывалась в проходящих ультрафиолетовых лучах в зоне спектра с длиной волны 365 мμ. Источником излучения служила лампа СВДШ-250. Между конденсором микроскопа и лампой устанавливался фильтр Вуда толщиной 4 мм (УФС-4).

Срезы, предназначенные для изучения и съемки при помощи прибора МУФ-1 в ультрафиолетовом свете с длиной волны 280—256 мμ, наклеивались без белка на кварцевые пластинки, депарафинировались ксилолом, проводились через спирты до воды и заключались в каплю глицерина под кварцевое стекло.

Для сравнения результатов, полученных этими двумя способами, с картинами на обычных гистологических препаратах и на препаратах, обработанных гистохимическими методами, срезы после указанных выше способов фиксации, а также после фиксации смесью Ценкера с формалином и смесью сулемы, формалина и пикриновой и уксусной кислот окрашивались гематоксилин-эозином, азур II-эозином, ализариновым синим по Петерсену и железным гематоксилином по Гейденгайну с докраской муцикармином. Кроме того, срезы окрашивались толуидиновым синим, тионином на слизь, производились иодная проба на гликоген и реакция Бауера на полисахариды, миллонова, ксантопротеиновая и нингидринная реакция на белки.

На препаратах, фиксированных формалином, по характеру люминесценции отчетливо различимы все компоненты кожи. Ядра клеток эпидермиса приобретают коричневую окраску. Ядрышки, особенно хорошо различимые в элементах базального слоя, оказываются светлооранжевыми. Цитоплазма клеток базального, супрабазальных и поверхностных слоев представляется окрашенной в неодинаковые тона: у призматических элементов базального слоя серо-коричневый, у постепенно уплощающихся клеток супрабазальных слоев темножелтый, а у поверхностных лимонно-желтый. Межклеточные промежутки в эпителии заполнены содержимым, имеющим при указанной выше обработке люминесценцию желтым цветом.

Железы кожи лягушки по особенности их люминесценции, а также, как мы увидим ниже, по картине в ультрафиолетовом свете и гистохимическим свойствам их секретов можно подразделить на два типа:

1. Слизистые железы — довольно крупные округлые многоклеточные образования с выводным протоком, прободающим эпидермис. Их высокопризматические элементы, расположенные в один слой, содержат ядра, дающие разнообразную гамму коричневых тонов. Они лежат в базальной части клеток. Яркооранжевая цитоплазма заметна в околоядерной части и в виде прожилок между скоплениями слизи. Обращает на себя внимание тот факт, что в соседних клетках одной и той же железы интенсивность люминесценции зеленым цветом бывает неодинакова. На зеленом фоне секрета видны мелкие нелюминесцирующие черные точки. Секрет такого характера содержится и в просвете выводного протока, и на поверхности эпителия вблизи устья железы. Наряду с клетками, переполненными зеленым секретом, можно обнаружить элементы, почти вся цитоплазма которых светится оранжевым светом. По мере накопления секрета в цитоплазме таких клеток появляются небольшие, а затем и крупные капли слизи, сливающиеся друг с другом, сначала светлозеленые, а потом делающиеся темнозелеными.

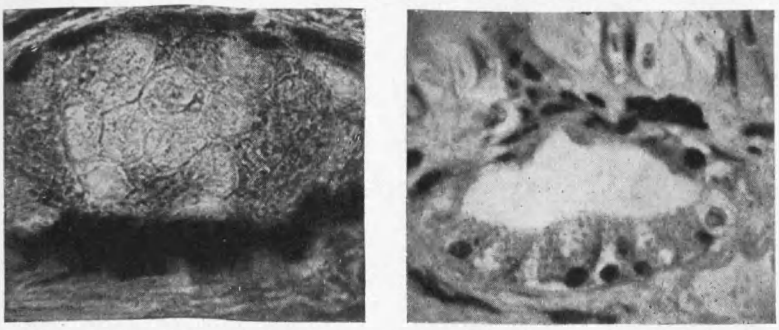
Секрет желез этого типа окрашивается элективно муцикармином, метахроматически тионином и азуром, дает красное окрашивание при обработке фуксинсернистой кислотой на полисахариды (реакция Бауэра); иодная реакция на гликоген отрицательная.

Кнаружи от секреторных элементов при люминесценции заметны темные полулуния миоэпидермальных клеток.

2. Зернистые железы имеют вид очень крупных мешетчатых образований, содержащих зернистый секрет, с выводным протоком, открывающимся, как и у желез первого типа, на поверхности эпидермиса. Железистые клетки, расположенные тоже в один слой, в зависимости от фазы секреции и степени заполнения секретом, представляют собой изопризматические, низкопризматические или совершенно уплощенные элементы. Их цитоплазма светится желтым, а уплощенные ядра — коричневым цветом. В цитоплазме этих клеток, а также в просвете желез имеется огромное количество зернышек размером от 4 до 15 μ в диаметре. Эти гранулы при фиксации формалином и в свете люминесценции представляются зеленовато-желтыми, иногда красно-коричневыми, яркозелеными, лимонно-желтыми. Некоторые зерна имеют темные ободок и центральный участок. Возможно, что эти различия зависят от неодинаковой степени готовности гранул секрета. Секрет зернистых желез, называемых иногда белковыми, дает отрицательные ксантопротеиновую, нингидринную и миллонову реакции. При окраске азур II-эозином некоторые зерна принимают синий, другие розовый, а третьи фиолетовый тон. Реакции на слизь, гликоген и полисахариды также отрицательны.

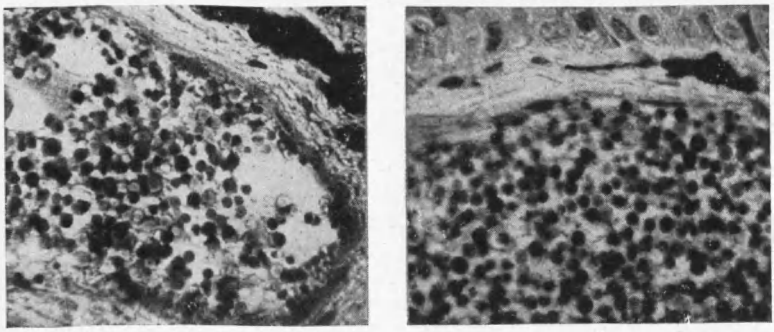
Базальная мембрана под эпидермисом и вокруг желез имеет вид яркой гомогенной зеленовато-голубой полоски, сходной по характеру люминесценции с коллагеновыми пучками соединительной ткани.

Изучение препаратов после фиксации по Карнуа показывает несколько отличные оттенки люминесценции: менее резко различаются желтые



а *б*

Рис. 1. Слизистые железы кожи лягушки. Неокрашенные препараты. Фиксация формалином. Микрофото в ультрафиолетовых лучах, длина волны 280—256 мμ. Об. 65 ×, ок. 8 ×. *а* — тангенциальный срез железы спинной стороны, секреторные клетки в неодинаковой степени заполнены слизью; *б* — разрез через выводной проток и срединную часть железы, железистые клетки в стадии накопления секрета



а *б*

Рис. 2. Зернистые железы кожи спинной (*а*) и брюшной (*б*) сторон лягушки. Неокрашенные препараты. Фиксация формалином. Микрофото в ультрафиолетовых лучах, длина волны 280—256 мμ. Об. 65 ×, ок. 8 ×

ядра от желтой же цитоплазмы, ядрышки не заметны, гранулы секрета зернистых желез представляются однообразными коричневыми шариками, базальная мембрана светится ярче серо-голубых коллагеновых пучков.

Пигментные клетки, лежащие под эпидермисом, сохраняют при люминесценции свой естественный цвет; форменные элементы крови предстаавляются при обоих способах фиксации оранжевыми.

Люминесценция кожи и желез спинной и брюшной сторон не отличается друг от друга заметным образом.

При изучении кожи в ультрафиолетовых лучах обнаружено, что разные элементы желез неодинаково поглощают лучи с длиной волны 280—256 мμ. Это, по всей вероятности, зависит от неодинакового содержания нуклеиновых кислот ([4], [5]). Секреторные клетки слизистых желез, переполненные секретом, поглощают ультрафиолетовые лучи в незначительной степени, а секреторные элементы с малым количеством слизи в цитоплазме обладают более высокой абсорбционной способностью (рис. 1, *а*). Места, где слизь начинает скопляться (по преимуществу в апикальных частях клеток), поглощают лучи так же, как элементы, переполненные слизью (рис. 1, *б*). Обращает на себя внимание, что в цитоплазме клеток, находящихся в начальной стадии секреции, обнаруживается мелкоточечная зернистость, которая интенсивно поглощает лучи.

Секрет зернистых желез имеет вид шариков, неодинаково абсорбирующих ультрафиолетовые лучи. Среди интенсивно поглощающих зернышек секрета (на микрофотографиях представленных темными шариками) встречаются такие, которые либо вовсе не поглощают лучи и выглядят светлыми кружками, либо занимают в этом отношении промежуточное положении между первыми и вторыми (рис. 2, *а* и *б*). В некоторых светлых зернах секрета заметны более темные ободок и центральный участок (рис. 2, *а* и *б*). Ядра секреторных элементов желез сильнее поглощают лучи, чем ядра клеток эпидермиса (рис. 1 и 2).

Сопоставление данных, полученных при изучении желез кожи лягушки методами люминесценции и ультрафиолетовой микроскопии, позволяет считать, что темная мелкая зернистость, выделяющаяся на фоне слизи, люминесцирующей зеленым цветом, поглощает ультрафиолетовые лучи с длиной волны 280—256 мμ.

Различия между секреторными гранулами этих желез выявляются всеми примененными методами исследования. Некоторые зерна, именно темные в ультрафиолетовых лучах, содержат, повидимому, значительное количество нуклеиновых кислот. Весьма вероятно, что такие зерна секрета при люминесценции представляются наиболее темными — красно-коричневыми и на азур-эозиновых препаратах окрашены в синий или фиолетовый тон.

Таким образом, исследование желез кожи лягушки при помощи различных указанных выше методов позволяет считать правильной ту точку зрения, которая предполагает наличие двух типов желез. Их секрет имеет неодинаковый химический состав: в слизистых железах он состоит из полисахаридов, а в зернистых — из белков, не дающих ксантопротеиновой, нингидринной и миллоновой реакций и содержащих в своем составе в том или ином количестве нуклеиновые кислоты.

Военно-медицинская академия
им. С. М. Кирова

Поступило
2 III 1955

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

[1] Ascheron, Müller's Arch. Anat. Physiol. (1840). [2] H. v. Eggeling, Handb. d. vergl. Anat. d. Wirbeltiere, 1, 1931. [3] Th. W. Engelmann, Pflüg. Arch. Ges. Physiol., 5 u. 6 (1872). [4] T. Caspersson, Scand. Arch. Physiol., 73, suppl. 4 (1936). [5] М. Н. Майсель, Изв. АН СССР, сер. физ., 13, № 2 (1949). [6] Е. А. Моисеев, А. А. Ферклин, ДАН, 60, № 1 (1949). [7] И. М. Лимаренко, Усп. совр. биол., 38, в. 2 (5) (1954).