

Aus der psychiatrischen Provinzialanstalt von Hyogo-Ken, Kôfûryô/Japan

Eine Verbesserung der Methode der Gliafaserfärbung

Von

KENZI YANO

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 7. September 1965)

W. HOLZER veröffentlichte im Jahre 1921 seine wertvolle Methode der Gliafaserfärbung. Recht erheblich ist der Vorteil, den die histopathologische Forschung des Zentralnervensystems damit erfahren hat. Leider versagen diese Methode selbst wie auch ihre späteren Modifikationen, faserige Glia stets und überall sicher darzustellen. Die Gliafaserfärbung bleibt auch heute immer noch eine heikle Aufgabe in der histologischen Praxis des ZNS. Damit dürfte die Beschreibung einer neuen Methode gerechtfertigt sein.

Unsere Methode besteht im letzten Ende in einer Verbindung des Weigertschen Prinzips mit dem Holzerschen. Prinzipiell Ähnliches ist schon früher von FUJIMORI u. NARITA in ihrer „Methylviolett-Methode“ und teilweise auch von KANZLER versucht worden, und zwar je mit anerkennenswertem Erfolg. Vergleicht man aber die fünf verschiedenen Methoden der Autoren (siehe die Literatur) und unsere Methode in ihren Leistungen miteinander, so scheint es wenigstens nach unseren Erfahrungen, daß unsere Methode meist feineres zu leisten und beständiger zu arbeiten vermöchte als alle die genannten. Mit dieser Eigentümlichkeit ist die Methode trotz der scheinbar geringen Unterschiede gegenüber der Fujimori-Naritaschen¹ oder der Kanzlerschen² als eine besondere Methode zu betrachten.

Die Methode

1. Oxydation: Gefrierschnitte von beliebiger Dicke aus formolfixiertem Material kommen in eine 0,5% Lösung von Kalium permanganicum für etwa 5 min bei etwa 35°C.

2. Reduktion: Nach kurzem Auswaschen in Wasser kommen die Schnitte in die Reduktionsflüssigkeit von: Natrium sulfurosum 1,0, Oxalsäure 1,0, Aqua dest. 100,0. Darin bleiben sie bis zur völligen Bleichung.

¹ Eigentlich für Paraffinschnitt ausgearbeitet, gebraucht sie organische Lösungsmittel und ist etwas komplizierter in der Ausführungsweise.

² Hier fällt die Vorbehandlung mit Oxydation und Reduktion weg.

3. Kurzes Auswaschen in Wasser und Überführung in eine 0,5% wäßrige Lösung von Phosphormolybdänsäure für etwa 1 min.

4. Kurzes Waschen in Wasser und Übertragung in eine 0,5% wäßrige Lösung von Krystallviolett für etwa 5 min bei etwa 45° C.

5. Die Schnitte werden dann einzeln in Wasser gebracht und sofort auf den Objektträger aufgezogen. Sanftes Abdrücken mit Filterpapier.

6. Übergießen mit einer Jodjodkaliumlösung von: 5% Jodkaliumlösung 100,0, Jod 1,0. Sofortiges Abgießen und sanftes Abdrücken mit Filterpapier.

7. Den noch feuchten(!) Schnitt übergießt man mit Anilin-Xylol (zu gleichen Teilen). Das Übergießen wird wiederholt, bis kein Farbstoff mehr abgeht und der Schnitt gleichmäßig durchsichtig geworden ist.

8. Sorgfältiges Entfernen des Anilinöls durch mehrfaches Übergießen mit Xylol.

9. Balsam.

Zu 1. Durch die Vorbehandlung von 1. und 2. wird die elektive Färbung der Gliafasern wesentlich begünstigt; zu intensive Oxydation verdirbt die Schnitte. Die angegebenen Zahlen sollen als Maßstab dienen, mit dem man ungefähr eine wirksame Oxydation erzielen kann, ohne jedoch den Schnitten zu schaden.

Zu 3. und 4. Bei den Methoden der genannten Autoren kamen Alkohol, Aceton oder andere organische Substanzen immer wieder als Lösungsmittel von Phosphormolybdänsäure und Krystallviolett in Anwendung. Derartige organischen Substanzen üben einen großen Einfluß auf das Gelingen der Färbung aus. Bei unserer Methode nun haben sich die einfach wäßrigen Lösungen als am zweckmäßigsten erwiesen.

Zu starkes oder zu langes Beizen mit Phosphormolybdänsäure beeinträchtigt die Resultate (stärkere Mitfärbung des Gewebsgrundes, Schwinden der Gliafasern).

Zu 6. Die Behandlung mit Jod trägt sehr dazu bei, im Verfahren 7. den Gewebsgrund zu entfärben unter verhältnismäßiger Schonung der Gliafasern; bei zu hoher Konzentration von Jod entfärben sich auch die Gliafasern. Die angegebene Konzentration ist für die meisten Fälle geeignet.

Zu 7. Ausgetrocknete Schnitte lassen sich viel leichter entfärben, haben aber den Nachteil, daß die Gliafasern stärker als sonst mit entfärbt werden. Am noch feuchten Schnitt erzielt man ohne Zweifel bessere Resultate. Verbleibende trübe Wasserflecke, die man zeitweise über einem dunklen Hintergrund kontrolliert, werden durch wiederholtes Übergießen mit Anilin-Xylol beseitigt, bis der Schnitt überall durchsichtig geworden ist.

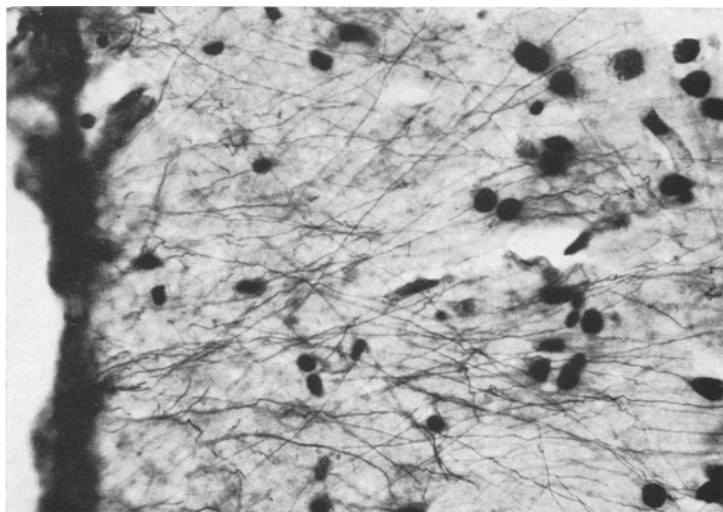


Abb.1. Das Gliafaserwerk in der I-Schicht der normalen Hirnrinde. Aus dem Hinterhauptlappen eines an Unfall verstorbenen 20jährigen Mannes. $\times 430$

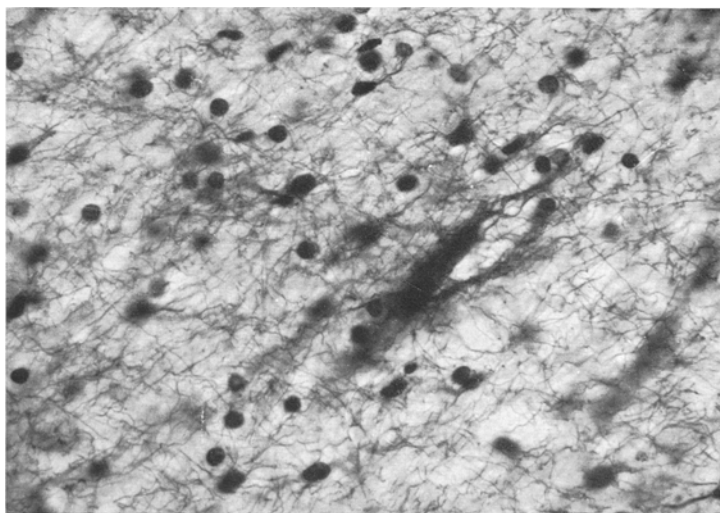


Abb.2. Das Gliafasergewebe im subcorticalen Markkegel vom selben Präparat wie in Abb.1. $\times 430$

Die Ergebnisse

An der normalen Großhirnrinde begegnet man auch mit unserer Methode den bekannten Schwierigkeiten. Das gliöse Faserwerk in der ersten Rindenschicht kann stets ziemlich gut dargestellt werden. Der subcorticale Markkegel verhält sich wechselnd; neben Mißerfolgen stehen Fälle, bei denen sich die Faserghia dort gut färben läßt. Bestimmende

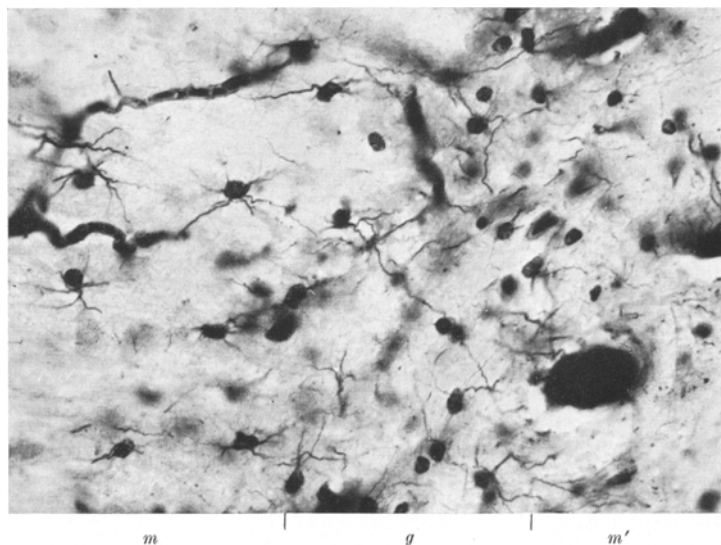


Abb. 3. Kaninchen. Faserbildner im Ammonshorn. *m*, *m'* Molekularschicht des Ammonshorns und der Fascia dentata. *g* deren Berührungzone. $\times 430$

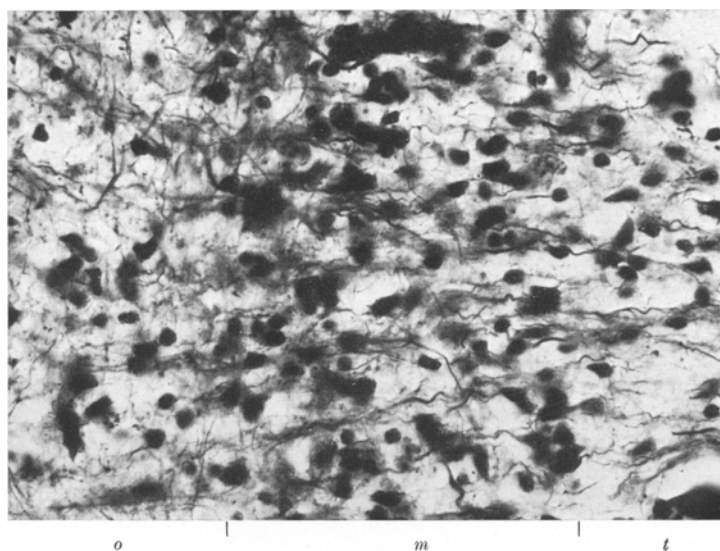


Abb. 4. Schlange. Eine gliöse faserige Struktur im Tectum mesencephali. *o*, *m*, *t* oberflächliche, mittlere und tiefere Schicht. $\times 430$

Momente hierfür haben sich bisher nicht klar ermitteln lassen. Nur soviel kann man sagen: An Fällen von akutem Tode, wie etwa durch Unfall, bekommt man auch im Markkegel bessere Resultate. Übrigens sollen

nach WEIGERT und SPIELMEYER die Arten der letalen Krankheiten die Resultate der Weigertschen Methode sehr beeinflussen.

Am Hirnstamm, Kleinhirn und Rückenmark bekommt man viel leichter gute Bilder ohne Unterschied zwischen Grau und Weiß.

Progressive Veränderungen der faserigen Glia begünstigen die Färbung sehr. Bei unserer Methode fällt die Färbung der Gliafasern etwas weniger intensiv aus als bei gut gelungenen Holzer-Präparaten. Dafür arbeitet sie sicherer und ergibt fast stets brauchbare Bilder.

Auch an Gehirnen von Affen, Hunden und Kaninchen ließen sich leidliche Resultate erzielen. An dem Mittelhirn der Schlangen konnte im Tectum mit der Methode eine problematische faserige Struktur dargestellt werden. Aus dem Vergleich mit dem Markscheiden- und Nervenfaserbild wird es wahrscheinlich, daß es sich hier ebenfalls um eine gliöse Struktur handelt. Demnach kann die Methode auch bei niederen Tierarten versucht werden.

Für Paraffinschnitte ist die Methode weniger geeignet, für Celloidinschnitte ist sie nicht brauchbar.

Zusammenfassung

Eine Verbesserung der Gliafaserfärbung, die im Grunde in einer Verbindung vom Weigertschen Färbeprinzip mit dem Holzerschen besteht, wird beschrieben. Die Methode arbeitet zuverlässig mit guten Ergebnissen und sollte versucht werden, besonders wenn andere Methoden versagen.

Literatur

- ARENDT, A.: Gliafaserfärbung nach Kanzler. Dtsch. Z. Nervenheilk. **175**, 50—53 (1956).
- FUJIMORI, M., and M. NARITA: Staining procedure for paraffin of formalin fixed central nervous tissue. Brain and Nerve **4**, 208—214 (1952); **5**, 183—187 (1953).
- HOLZER, W.: Über eine neue Methode der Gliafaserfärbung. Z. ges. Neurol. Psychiat. **69**, 354—363 (1921).
- RAUCH, H. J., u. M. KEILBACH: Eine Verbesserung der Holzerschen Gliafaserfärbung. Dtsch. Z. Nervenheilk. **171**, 525—527 (1954).
- SPIELMEYER, W.: Technik der mikroskopischen Untersuchung des Nervensystems, 4. Aufl., S. 105. Berlin: Springer 1930.
- WARKANY, J.: Zur Methodik der Gliafärbung. Z. wiss. Mikr. **41**, 508—509 (1924).
- WEIGERT, C.: Neurogliafärbung. In: Enzyklopädie der mikroskopischen Technik, Bd. II, 2. Aufl., S. 298—311. Berlin: Urban & Schwarzenberg 1910.

Dr. med. K. YANO,

Kenritsu-Byoin Kôfûryô, Hyogo-Ku, Yamada-Cho, Kobe/Japan