

INTENSIVIERUNG DER SILBERIMPRÄGNIERUNG VON NERVENGeweBE NACH GRATZL DURCH ULTRABESCHALLUNG

Von PROF. DR. CARMEN CORONINI
und DR. GUSTAV LASSMANN

(Prosektur des Kaiserin-Elisabeth-Spitals, Wien XV.
Leiter: Prof. Dr. Carmen Coronini)

Basierend auf der von GRATZL angegebenen Versilberungsmethode des Nervengewebes, hat eine von uns (CORONINI) eine Intensivierung des Verfahrens durch Ultraschallung angegeben. Die so entwickelte Methodik ist leicht durchführbar und beinhaltet, im Gegensatz zu den anderen Versilberungsverfahren des Nervengewebes, nur einen einzigen dehnbaren Zeitfaktor, während alle anderen Manipulationen an feste Zeiten und absolute Verdünnungswerte der verwendeten Chemikalien gebunden sind. Der erwähnte dehnbare Zeitfaktor betrifft die Wässerung nach Anwendung des Pyridins, ist aber auch insofern zeitlich begrenzt, da es in GRATZLs Vorschrift heißt, es wäre so lange zu wässern, bis weder Stöpsel noch Material nach Pyridin riechen. Auch sind die Ergebnisse der Methodik gleich gute, ob man zentrales, peripheres oder sympathisches Nervengewebe versilbert. Jedenfalls muß der Arbeitsgang nicht auf die einzelnen Anteile des Nervengewebes besonders abgestimmt werden, wie dies etwa auch bei dem von STÖHR jun. verwendeten Verfahren nach Bielschofsky-Groß der Fall ist. Ein weiterer Vorteil besteht darin, daß auch altes, in Formol eingelegtes Material sich ohne weiteres versilbern läßt. So erzielte LASSMANN bei einer Colitis ulcerosa aus dem Jahre 1943 und bei einer neurogenen Appendizitis einer vegetativen Neurose aus dem Jahre 1942 noch sehr brauchbare Ergebnisse der Versilberung. Auch ist die gleichzeitige Darstellung der Silberzellen der Mukosa äußerst vorteilhaft. Allerdings läßt sich nicht sagen, welche Zellen wirklich zur Ansicht gebracht werden. Sind es die argentaffinen oder die argyrophilen Elemente oder beide. Einstweilen sind wir der Meinung, daß nur die argentaffinen Zellen dargestellt werden. FARTHOFFER, der das GRATZLsche Verfahren vor Einfügung der Ultraschallung auf Grund von Nervenimprägnierungen in der Schilddrüse überprüfte und über seine Ergebnisse an Hand von Lichtbildern in der Wiener Pathologenvereinigung Jänner 1948 berichtete, konnte keine einwandfreie Sichtbarmachung des Terminalretikulums, wie LASSMANN, bei ultraschallter Versilberung erzielen.

Im folgenden wird der Arbeitsgang der ultraschallten GRATZLschen Versilberungsmethodik mitgeteilt, die eine Blockimprägnierung darstellt. Die Ultraschallung wurde und wird uns laufend durch das besondere Entgegenkommen von Dozent Dr. GABLER und Dr. MALIS ermöglicht. Im Laboratorium der Firma Malis & Co., Wien, wird der einschlägige Teil des Verfahrens durchgeführt, wofür auch an dieser Stelle herzlichst gedankt werden soll.

a) Behandlung der Gewebsblöcke

1. Das zu versilbernde Organmaterial wird in nicht allzu großen Stücken neutralem 10%igem Formalin fixiert (Neutralisierung durch Calcium carbonicum). Die Dauer der Fixation soll nicht unter 8 Tagen liegen. Überdies wird insbesondere bei kurzer Härtung im Brutschrank bei 37° fixiert.

2. Zerlegen des fixierten Materials in möglichst dünne Gewebsscheiben von etwa 2—3 mm Dicke, deren Durchmesser nicht mehr als 1 cm betragen soll.

3. Einbringen dieser Scheiben für 4 Tage in eine Pyridinbeize von Pyridinum purissimum bei 37°. Die Menge des Pyridins soll so bemessen sein, daß der Flüssigkeitsspiegel etwa 1 Querfinger über den Gewebsstücken liegt.

4. Wässerung des Materials in fließendem Wasser bis zur vollständigen Entfernung des Pyridingeruchs aus Wasser und Stücken, was nach etwa 24 Stunden der Fall ist.

5. Einbringung der Gewebsblöcke in eine 2%ige Silbernitratlösung in einer 10%igen Gelatinelösung. Hierbei ist zu beachten, daß das Silbernitrat in der Gelatinelösung, die überdies stets flüssig zu erhalten ist, nicht ausfalle. In 15 ccm der jedesmal frisch herzustellenden Silbernitratgelatinelösung können 15—20 Materialstücke der vorerwähnten Größe ohne Schaden gleichzeitig am Boden eines entsprechend großen Becherglases eingelegt werden.

6. Sofortige Ultraschallbehandlung durch 4—5 Stunden der in der Silbernitratgelatine befindlichen Gewebsblöcke bei 40° mit einem im Ölbad schwingenden Quarz (Schwingungszahl 1200 kHz, Energiedichte 3—4 Watt je 1 qcm) auf folgende Weise: Versenkung des entsprechend beschickten Becherglases über dem Quarz in das Ölbad mittels verstellbarer Stativklemme bis auf 1/2 cm Abstand von der Quarzscheibe. Das Ölbad wird durch eine Ölpumpe unter beständigem Zu- und Ablauf bei konstanter Temperatur erhalten, die im Becherglas laufend kontrolliert werden muß. Zwischen dem Boden des Becherglases und der Quarzscheibe sollen sich keine Luftblasen ansammeln, welche hier, insbesondere bei unebener Bodenbeschaffenheit des Becherglases, leicht entstehen.

7. Wässerung der derart ultraschallbehandelten Gewebsstücke in Aqua destillata 1—2 Minuten.

8. Eintragen der Gewebsblöcke in ammoniakalische Silberoxydlösung im Brutschrank bei 37° (= 2 ccm 20%iger Silbernitratlösung + 2 Tropfen 40%igem NaOH. Auflösen des entstandenen Niederschlages durch tropfenweise Zugabe von Ammoniak in etwas Überschuß, Verdünnung der Lösung mit 40 ccm Aqua bidestillata).

9. Verweilen der Gewebsblöcke in dieser Silbernitratlösung 60 Stunden, bei 37° im Brutschrank.

10. Reduktion in 20% Formol durch 2 Stunden.

11. Entwässern in Alkoholstufen www.biologiezentrum.at
12. Einbringen in Xylol oder Benzol.
13. Paraffineinbettung.

b) Behandlung der Schnitte

- a) Aufkleben der möglichst dünnen Schnitte mit Eiweißglyzerin.
- b) Entparaffinieren mit Xylol und Alkohol.
- c) Übergießen der Schnitte mit Cedekol oder Zelloidin in Methylalkohol.
- d) Nach Eintrocknung des Übergusses Härtung in 70% Alkohol.
- e) Einbringen der so vorbehandelten Schnitte auf 5 Minuten Aqua destillata, wobei der Überguß deutlich quellen soll.
- f) Abtrocknung der Schnitte mittels Filtrierpapiers.
- g) Vergoldung mit einer 1%igen Goldchloridlösung (= 10 ccm destilliertes Wasser + $\frac{1}{3}$ 1% Goldchloridlösung + 1—2 Tropfen Eisessig).
- h) Abgießen der Goldchloridlösung, sobald die Schnitte schiefergraue Farbe angenommen haben.
- i) Abspülen mit destilliertem Wasser.
- j) Fixation der Vergoldung durch 2 Minuten in einer 5%igen Natriumthiosulfatlösung.
- k) Abspülen mit Wasser und Wässerung durch eine Stunde in öfters zu wechselndem destilliertem Wasser.
- l) Alkohol, Xylol, Einschluß in Kanadabalsam oder Caedax.

Die Überlegung einer von uns (CORONINI), die Versilberungsmethode nach GRATZL durch Ultrabeschallung zu intensivieren, beruht auf der Erwägung, daß die Kolloiddispersion des Silbers, ebenso wie die des Goldes, wie etwa im Ultrachrysol von GABLER und MALIS weitaus feiner sein dürfte, als bei unbeschallter Versilberung. Im Hinblick auf diese Tatsache nimmt GABLER an, daß zwar das ionenführende AgNO_3 naturgemäß keine weitere Teilchenverkleinerung erfahren kann, daß aber während dieser Reduktion eine weitgehendere Mikrodispersion des Metalls durch die Ultrabeschallung in der Zeit des Niederschlagens der Silberkeime in Gang gehalten wird. Trotz dieser Intensivierung der Versilberung durch Ultrabeschallung entstehen nur selten störende Silberniederschläge, es sei denn, daß ein oder der andere Kunstfehler in der Durchführung des Verfahrens unterliefe. Derlei Kunstfehler beruhen aber stets auf Ungenauigkeiten in der Handhabung der Methodik oder auf anderen unvorhergesehenen, störenden Zwischenfällen. Daher ist immer auf peinlichste Sauberkeit bei allen einschlägigen Manipulationen zu achten und die Blockgröße genau nach Vorschrift zu wählen. Naturgemäß liefern die oberflächlichen Lagen der Gewebsblöcke die besten und einprägsamsten Schnitte. Der Methodik haftet keinesfalls jene „Launenhaftigkeit“ an, auf die immer wieder von den verschiedensten Autoren, insbesondere auch bezüglich der Bielschovsky-Großschen Methodik, hingewiesen wird.

Ob auch im fixierten Material noch ein Umbau der Eiweißkörper durch

Ultraschall stattfindet, wie dies sonst der Fall sein soll, ist einstweilen noch mehr als fraglich. Desgleichen, ob eine Auflockerung des Gewebes auch im fixierten Zustand erfolgt, wie sie der in vitro gezeigten Umwandlung von Gel in den Solzustand nach Ultraschallung entsprechen würde. Sollte eine derartige, vielleicht auch mechanische Auflockerung mit im Spiele sein, würde diese sicher zum besseren Eindringen der überdies feindispersen Silberkeime beitragen können.

Einer von uns (LASSMANN) wird an Hand einer Reihe von Photographen in seiner Arbeit über neurogene Appendizitis Gelegenheit haben, die Resultate der Methodik aufzuzeigen. Wir beschränken uns daher, hier lediglich den einschlägigen Arbeitsgang der ultraschallten GRATZLschen Versilberungsverfahren eingehendst mitzuteilen. Wir hoffen, daß dort, wo Ultraschallgeräte zur Verfügung stehen, das von uns angegebene Intensivierungsverfahren der GRATZLschen Methodik Eingang finden wird. Dies um so mehr, da die Versilberung, genaue Beachtung der einschlägigen Vorschriften vorausgesetzt, wirklich brauchbare und verlässliche Resultate erbringt.

Zusammenfassung

1. Zum Vergleich einschlägiger nervöser Strukturen, aber vor allem auch zur verlässlichen Darstellung des Nervengewebes überhaupt, wurde gemeinsam mit LASSMANN die Intensivierung der Versilberungsmethode nach GRATZL durch Ultraschallung angegeben.

Arbeitsgang und Vorteile dieser Methodik werden erörtert.

Literatur

Farthofer F., Mikroskopie **3** (1948), 5/6.
Gabler F., mündliche Mitteilungen.

Gratzl K., Umwelt **1** (1948): 3.
Stöhr Ph. jun., Z. Zellforsch. **34** (1948), 1.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Mikroskopie - Zentralblatt für Mikroskopische Forschung und Methodik](#)

Jahr/Year: 1948

Band/Volume: [3](#)

Autor(en)/Author(s): Coronini Carmen, Lassmann Gustav

Artikel/Article: [Intensivierung der Silberimprägnierung von Nervengewebe nach Gratzl durch Ultrabeschallung. 310-313](#)