

MODIFICAREA METODEI DE COLORARE PENTRU PUNEREA IN EVIDENȚA A GRANULAȚIILOR NISSL

Kelemen József

Granulațiile Nissl, sau substanța tigroidă — cum le-a denumit *Lenhossék*, sînt formații proprii ale citoplasmei nervoase, anumite complexe citologice, precipitate de fixatori. Ele se află în strînsă legătură cu procesele metabolice ale neuronului. Aceste granulații sînt părțile diferențiate ale neuroplasmului, fiind formate din compoziții chimice, asemănătoare acizilor nucleici (*Herwerden*), care sub influența fixatorilor se precipită și se colorează electiv cu coloranți bazici de anilină.

Pentru punerea lor în evidență, *Nissl* a elaborat o metoda devenită azi clasică, care în decursul timpurilor a suferit numeroase modificări, fapt care se explică prin aceea că pentru aplicarea metodei originale sînt necesare chimicale greu accesibile (ca: ulei de origan, ulei de cajeput, săpun venetian etc.).

Colorația Nissl face parte din clasa celor mai importante metode de neurohistologie, atît în histologia normală cit și în cea patologică. Deși cercetările ultra-microscopice, în ultimul timp au început să se raspîndească pe o scară mai largă, metoda lui Nissl și modificările sale constituie și azi un mijloc prețios, deoarece cu această metodă se pot studia granulațiile cromatofile ale neuronului, nucleii neurogliei, membrana nucleică, vasele, hematiile și prin aceasta înlesnește deosebit de mult evaluarea tabloului microscopic, ceea ce nu se poate realiza atît de ușor cu alte metode.

Cu toate acestea, colorarea deseori nu reușește sau după un timp oarecare preparatele bine colorate își pierd intensitatea. În alte cazuri, se ivește problema că la prelucrarea materialului, păstrat mai vechi în formalină, nu reușim să obținem un tablou corespunzător întrucît prezența tecilor de mielină, care de asemenea se colorează, dăunează electivității. Este inutil să accentuăm că metodele descrise se aplică numai pe material inclus în parafină sau celoidină, pe cînd secțiunile la gheață

nu pot fi colorate corespunzător cu acestea. Acest fapt însă ar însemna o economisire de timp și material.

În munca laboratorului nostru de mai mulți ani ne-am lovit în repede rînduri și noi de aceste greutăți, fapt care ne-a îndemnat să elaborăm o metodă simplificată, cu ajutorul căreia lipsurile de mai sus pot fi înlăturate. Totodată metoda să fie și rapidă și să poată fi aplicată în laboratoarele de histologie cu utilaj rudimentar.

Metoda constă în următoarele: Fixarea materialului în formol, alcool sau sol. Carnoy. Incluziunea în parafină sau celoidină, sau secțiuni la gheață 10—15 microni. Deparafinare și hidratare (fără carbol și benzol) în următoarele băi: xilol sau toluol (repetat de 2 ori), alcool abs., alcool 70%, alcool 45% (cîte 2 minute în fiecare, după care preparatele se pun în apa distilată 1—2 minute). În caz că lucrăm pe material fixat în formol, tecile de mielină trebuie dizolvate în prealabil cu următoarea „soluție de preparare”: cloroform 2/3 părți, alcool abs. 1/3 părți, acid acetic glacial 5—10 picături. Secțiunile deparafinate se pun aici după prima baie de xilol timp de 5 minute, în care procesul de dizolvare se încheie. Dacă avem secțiuni la gheață, ele se pun în soluția de preparare timp de 1—2 ore, apoi în alcool abs. 1—2 minute și se păstrează în apa distilată, pînă la colorare. Colorarea se face în sol. tionină carbonizată timp de 15—20 minute, încălzind de trei ori cu lampa Bunsen.

Prepararea soluției de colorare: 1 g tionină pulbere se dizolvă în alcool 96% (100 g) fierț. Din această soluție de bază se ia 1 parte, care se amestecă cu 6 părți din apa carbonizată (3 cc acid carbonic lichid la 100 cc apă de robinet). Sol. de colorare se filtrează și este atît de permanentă încît se poate folosi și peste un an. Diferențierea (clarificarea) în apă de robinet acidulată 1/2 -1 minut (la 100 cc apă de robinet se adaugă 3—5 pic. de acid

acetic glacial). Dacă colorația este prea intensă, preparatele se pot clarifica în câteva minute în alcool 70%. Inchiderea în balsam după o baie de alcool abs., xilol. (Prezența benzolului chiar în balsam duce la o decolorare rapidă).

Rezultate: Pe un fond necolorat, granulațiile lui Nissl apar colorate în albastru-violaceu, nucleolul în albastru deschis, iar nucleii celulelor nevroglii. În albastru închis. Aplicăm această metodă de 2 ani în laboratorul nostru, cu rezultate multumitoare.

Într-o comunicare recent apărută la noi în țară, *Carp și Trifu* (Morf. norm. și pat. 4,1857) pentru recondiționarea materialului fixat în formol recomandă o baie de acid picric și alcool (12—24 ore), iar apoi tratarea secțiunilor cu sol. de alcool amoniacal. Această preparare însă pretinde un timp îndelungat.

Metoda noastră are drept scop, de a înlesni munca curentă a laboratoarelor de neurohistologie și histopatologie.

Sosit la redacție: la 31 martie 1958.

