

COMUNICACIONES PREVIAS

UN NUEVO METODO DE IMPREGNACION AURICA PARA LAS TERMINACIONES NERVIOSAS EN LOS MUSCULOS ESTRIADOS

A. VALLE JIMÉNEZ y M. S. COCKBURN.

Instituto de Investigaciones Clínicas y Médicas. Madrid.
Director: Profesor C. JIMÉNEZ DÍAZ.

Los métodos del oro con los de la plata y las coloraciones supravitales del azul de metileno de EHRLICH y del verde Janus constituyen los procedimientos por excelencia de tinción de las terminaciones nerviosas en los músculos estriados.

Todos los procedimientos aúricos derivan del primitivo de COHNHEIM, en el cual el músculo sin fijar, tratado por un ácido y cloruro de oro, es reducido éste, con o sin la ayuda de la luz, de tal manera que se depositan granos metálicos sobre las estructuras biológicas.

Estos métodos tienen el inconveniente de utilizar músculos frescos, sin fijar, por lo que se cortan con dificultad, o es necesario disociarlos con agujas y montarlos en glicerina, resultando preparaciones demasiado gruesas y muchas veces no permanentes, y sobre todo son de una gran irregularidad en sus resultados, tan inciertos, que solamente se utilizan para el estudio del material experimental.

Sin embargo, con el proceder de RANVIER, y sobre todo con las modificaciones de CAREY en 1941, se consiguen visualizar algunas placas motrices cuya imagen es semejante a las del azul de metileno de EHRLICH, modificado por COERS, aunque más groseras.

Impresionados por el buen rendimiento técnico de los métodos de impregnación de la plata previa fijación en hipnóticos (CAJAL, DE CASTRO), empleamos varios de ellos en material fijado por el formol al 10 por 100, con el fin de utilizar "la exquisita apetencia para la plata a la trama histológica de los centros nerviosos, ganglios y terminaciones periféricas" (CAJAL y DE CASTRO).

Nuestro método se puede desarrollar de dos maneras: o bien utilizando material fijado en formol al 10 por 100, o bien fijándolo en formol al 10 por 100 al que se le ha añadido barbitol sódico, que es el hipnótico que mejor resultado nos ha dado.

Utilizamos ácido láctico en lugar de cítrico por comprobar produce una mayor electividad en la tinción de las terminaciones y dar lugar a menos precipitados.

Con las técnicas anteriores a nosotros se puede comprobar que en el momento de la reducción del oro se tiñen con la misma intensidad

el músculo y las terminaciones nerviosas, por lo que muchas veces es penoso el verlas al microscopio. Para evitar este inconveniente utilizamos cloruro de oro al 5 por 100 en un tiempo muy corto.

Es esencial el cambio de varios lavados en ácido fórmico y no pasar en este tiempo de la temperatura de 45° C.

Una vez que los cortes han tomado color violeta es necesario controlarlos al microscopio para evitar la formación de precipitados y precisar la tinción completa de las placas. Teniendo en cuenta que lo mismo que sucede con el procedimiento argéntico de BIELSCHOWSKY-GROSS, son las terminaciones de la placa lo último en teñirse aunque ya estén teñidos los nervios más finos.

PROCEDIMIENTO EMPLEADO.

1.º Fijación en formol neutro al 10 por 100, al que se le añade por cada 100 c. c. 5 gr. de barbitol sódico. Tiempo de fijación de cinco a diez días (máximo, noventa días). Si el material no ha sido fijado en esta mezcla, se pasa al tiempo cuarto.

2.º Cortes por congelación de 25-35 micras.

3.º Lavado en abundante agua destilada.

4.º Barbitol sódico al 10 por 100, en caliente (45° C.), veinte minutos. (Si el material ha sido fijado en la mezcla anteriormente descrita, no hace falta efectuar este tiempo.)

5.º Colocar los cortes sin lavar en ácido láctico al 30 por 100 a 45° C. durante diez minutos.

6.º Sin lavar, pase de los cortes al cloruro de oro al 5 por 100 de uno a cinco minutos.

7.º Colocar los cortes en ácido fórmico al 50 por 100 en caliente, a 45° C., hasta que los cortes tomen color violeta. (Si el ácido fórmico comenzara a ponerse turbio se cambiará de líquido a la misma temperatura.)

8.º Lavado muy abundante en agua para que desaparezca todo el ácido fórmico.

9.º Hiposulfito al 5 por 100.

10.º Lavado en agua y montaje en bálsamo.

RESULTADOS.

Los nervios se tiñen en negro intenso y las terminaciones nerviosas en negro menos intenso. El músculo en delicado color violeta.

VENTAJAS.

Se puede efectuar en material fijado. Se realiza en un tiempo mucho menor que con cualquiera de los demás procedimientos. Recuperación, durante un cierto tiempo, de los productos empleados, excepto el ácido fórmico. Las terminaciones salen limpias, claras y finas, tiñéndose

asimismo el aparato subneural de COUTEAUX (figuras 1, 2 y 3).

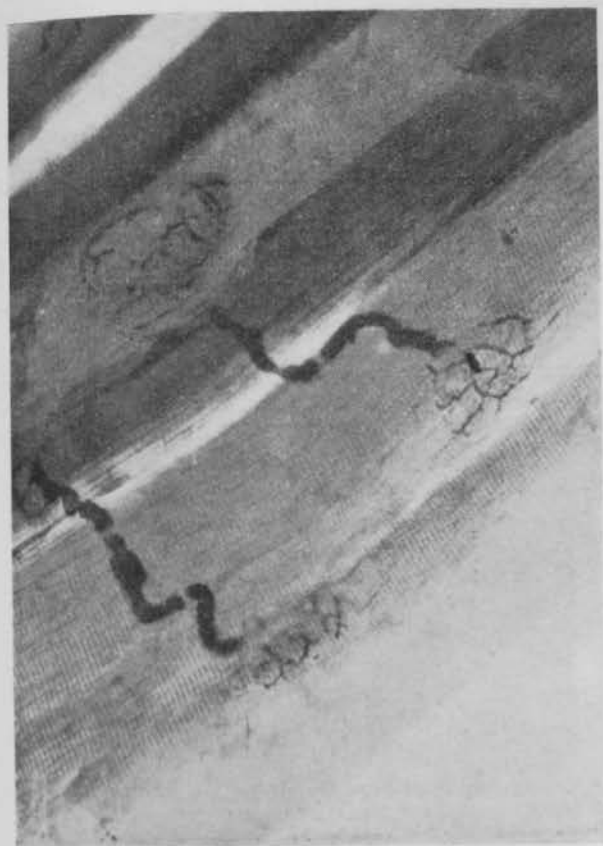


Fig. 1.—Tres placas motrices en músculo de ratón. Se divisa perfectamente el aparato subneural de Couteaux, los nervios en negro y la estriación del músculo.

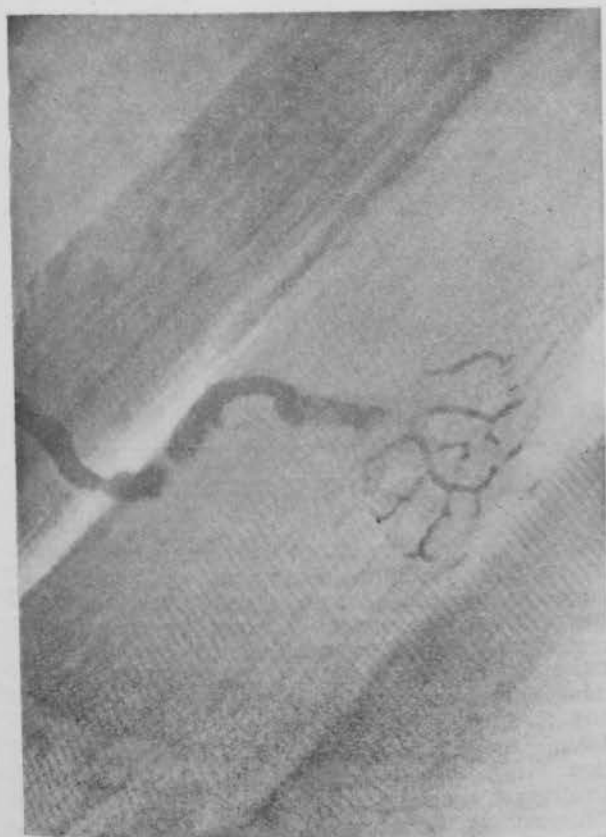


Fig. 2.—Ratón. Una de las placas de la figura 1 a mayor aumento.



Fig. 3.—Ratón. Placas motrices.

RESUMEN.

Se describe un método de impregnación auríca original para la tinción de las terminaciones nerviosas.

Nota.—Agradecemos al doctor TOLEDANO sus consejos químicos sobre el empleo del ácido láctico.

BIBLIOGRAFIA

- CAJAL y DE CASTRO.—Técnica micrográfica del sistema nervioso. Madrid, 1933.
CAREY.—Anat. Rec., 393, 419, 1941.
COERS.—Act. Neurol. Psc. Beige, 25, 1955.
COHNHEIM.—Cit. CAJAL y DE CASTRO.
COUTEAUX.—C. R. Soc. Cie., 1945-1947.
EWALD.—Plüger's Arch., 12, 13, 1876.
GERCHAL.—Cit. RANVIER.
HARRIS.—Am. J. Pathol., 1954.
LOEWIT.—Acad. Sc. V., 71, 1875.
POLICARD, BESSIS y LOCQUIN.—Traité de microscopie. Masson, 1957.
RANVIER.—Leçons sur l'histopatologie du système nerveux, página 290. Paris, 1878.
RANVIER.—Leçons d'anatomie generale. Paris, 1881.

SUMMARY

An original method of gold impregnation for staining nerve endings is reported.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wird eine eigene Methode mit Goldimpregnation zur Färbung der Nervenendigungen beschrieben.

RÉSUMÉ

On décrit une méthode originale d'impregnation aurique pour la teinture des terminaisons nerveuses.