

CONSIDERAÇÕES TÉCNICAS SOBRE O MÉTODO DE NISSL *

PAOLO CONTU **

RENATO ROCHA OHLWEILER ***

JOSÉ MAESTRI CHAVES ****

NILTON BRANDÃO DA SILVA *****

O método de Nissl, utilizado para coloração da célula nervosa em estudos topográficos ou citológicos, é um método de fácil execução e por nós usado rotineiramente em pesquisas de ordem topográfica de núcleos e gânglios.

Aplicamos o método como segue:

- 1) Fixação em álcool 70° durante 24 horas, em termostato a 37°C.
- 2) Inclusão em parafina.
- 3) Cortes seriados de 15-20 micra, desparafinização e hidratação em série descendente de alcoóis até água destilada.
- 4) Coloração. A solução corante (solução aquosa de 0,1% de toluidina ou tionina) é posta sobre a lâmina e esta é aquecida em uma chama até que haja despreendimento de vapores. O aquecimento é repetido por duas vezes.
- 5) Rápida lavagem em água destilada e controle da coloração ao microscópio.
- 6) Série ascendente dos alcoóis: 70° — 80° — 90° — 95° — absoluto e xilol.
- 7) Montagem em bálsamo do Canadá.

Algumas variações podem ser introduzidas no método, sobretudo em relação à fixação, inclusão e uso do corante (1 e 2).

A inclusão em parafina é indicada para estudo topográfico e em celoidina, para estudo citológico.

Outros corantes, além do Bleu de Toluidina e da Tionina, são usados, sendo que Einarson (3) aconselha os corantes sintéticos de Becker (galiocianina e azul de gailamina).

Quanto à fixação, usamos a formol em estudos de topografia celular, lavando, porém, as peças em água corrente durante mais de uma semana e refixando, durante alguns meses, em álcool 70° em termostato a 37°C, mudando várias vezes o fixador.

A finalidade principal do método é evidenciar a substância cromófila ou tigróide, chamada também de substância de Nissl, denominação que é imprópria, uma vez que outros autores (Key e Retzius, Fleming, Magini) muito antes, já teriam feito referência a esta substância (4).

A substância tigróide está sempre presente nos corpos celulares e no trecho inicial dos dendrites nos neurônios de médio e grande volume dos vertebrados, sendo de difícil demonstração nas células de pequeno tamanho. Este fato foi constatado, recentemente, pela escola de Brodal (5), que, executando cortes em vários níveis da substância reticulada, evidenciaram os núcleos magno celulares, pela trigólise, mas tiveram dúvidas quanto aos elementos parvo celulares, nos quais a tigrólise é dificilmente demonstrável.

Estamos utilizando o método em pesquisas que estão em andamento no laboratório de neuroanatomia, relacionadas com a topografia das células do núcleo mesencefálico do 5.º par e delimitação topográfica das células do gânglio de Gasser no cão, pela tigrólise.

Devido aos diferentes resultados, obtidos pelos pesquisadores, em localizar no gânglio de Gasser os grupos celulares, correspondentes aos vários ramos do nervo trigêmio, assim como estabelecer se

* Trabalho executado no Departamento de Neuro-Anatomia com auxílio da F.A.P.E.R.G.S. e do Conselho de Pesquisas da U.F.R.G.S.

** Professor da FMUFRGS e Pesquisador Conferencista do Conselho Nacional de Pesquisa.

*** Professor Titular da FOUFRGS.

**** Professor Assistente da FOUFRGS.

***** Bolsista de Conselho de Pesquisa da UFRGS.

tais células estão reunidas em áreas delimitadas, propusemo-nos estudar o assunto.

Foram utilizados, nesta experiência, 15 animais, nos quais após a secção dos ramos do 5.º par na base do crânio e, num tempo pós-operatório variável, foram sacrificados por meio de fixação "in vivo" com álcool 80°, sendo os gânglios de Gasser, tratados pelo método de Nissl.

A medida que concluímos as preparações histológicas, estas eram observadas ao microscópio e arquivadas para posterior estudo com as demais peças dos restantes animais usados na experiência.

a realização do trabalho, obrigando-nos. Entretanto, verificamos a descoloração das preparações depois de um determinado tempo, o que nos impossibilitou a realização do trabalho obrigando-nos a repetir a experiência.

Salientamos que para estudos desta natureza, o emprêgo do método de Nissl é bastante satisfatório; entretanto, devemos tomar um cuidado especial em utilizar na montagem bálsamo do Canadá perfeitamente neutro, porque a não observância dêste detalhe traz como consequência a descoloração das peças, após um breve período de tempo.

Em caso de dúvida, quanto a neutralidade do bálsamo, resta-nos a possibilidade do estudo das peças através de observação microscópica imediatamente à coloração, recomendando-se o uso da fotografia ou de desenhos com a câmara clara.

Lembramos que Beccari (2), referindo-se a êste inconveniente, aconselha a montagem em Dammar.

RESUMO

Os autores, trabalhando em estudos relacionados com a topografia das células do núcleo mesencéfalo do 5.º par e delimitação topográfica das células do gânglio de Gasser no cão, pela tigrólise, utilizaram, com bom resultado, o método de Nissl.

Êste método, entretanto, apresenta o inconveniente de descolorir as preparações, após um curto período de tempo, quando montadas com bálsamo do Canadá não perfeitamente neutro. Por isso, em caso de dúvida sobre a perfeita neutralidade do bálsamo, aconselham a observação microscópica imediatamente à coloração, como também o registro fotográfico ou desenho com a câmara clara.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Da Costa, C. e Chaves, R. — Manual de Técnica Histológica. Portugália Editôra Lisboa.
- 2) Beccari, N. — Elementi di Tecnica Microscopica. Società Editrice Libreria, Milano, 1946.
- 3) Einarson — Citado por Da Costa e Chaves.
- 4) Levi, G. — Trattato di Istologia. Vol. II, 746, U.T.E.T. Torino, 1954.
- 5) Brodal, A. — The Reticular formation of the brain stem anatomical aspects and functional correlations. Oliver and Boyd. Edinburg, 1957.