

41. Kisagy (GFAP immunhisztokémiai festése, patkány)

(Dr. Kálmán Mihály leírása)

(A *-gal jelölt részletek ismerete I. éves hallgatók számára nem szükséges.)

Ezt a metszetet több technikai újdonság is jellemzi. Beágyazás nélkül készült, ún. vibrációs mikrotóm segítségével, immunhisztokémiai reakciót végeztek rajta, mégpedig a tárgylemezre való felhúzás előtt, a szabadon úszó metszeten. Az immunhisztokémiai reakcióval a GFAP-t ('*glial fibrillary acidic protein*' – azt asztroglia jellegzetes intermedier filamentum-fehérjeje) mutatták ki. Az immunreakciót poliklonális antitestekkel végezték, a reakcióterméket az antitestekhez kapcsolt peroxidáz enzim segítségével, diaminobenzidinreakcióval tették láthatóvá. Ennek eredményeként az asztrociták fő nyúlványai, melyekben sok intermedier filamentum van, sötétbarnák. A háttér ideális esetben fehér kellene, hogy legyen, valójában világos sárgásbarna a szürkeállománynak megfelelően, ahol a sejtekben lévő egyéb peroxidáz hatású enzimek (pl. citokrómoxidáz) kismértékben szintén katalizálták a diaminobenzidin oxidációját. Ahol ez a nonspecifikus aktivitás nem érvényesült, a mielindús fehérállományban, a háttér fehér.

A metszet patkányagyból készült. Szabad szemmel láthatjuk a fóliumok* rendszerét. Kis, méginkább közepes nagyítással elkülöníthető a fehér-és a szürkeállomány, az utóbbiban pedig két jellegzetes mintázat: a molekuláris rétegben* a felszínre merőleges glianyúlványok (**Bergmann-glia*** – módosult asztrociták) a granuláris rétegben sűrű, rendezetlen, fonadékszerű glia. Nagy nagyítással a meningeális felszínen néhol láthatók a Bergmann-glia nyúlványainak szétterülő végtalpai, amelyek összeérve (ez igazán jól csak elektronmikroszkóppal látható) a glia limitanst* (másnéven *membrana limitans gliaet**) alkotják. Ugyancsak nagy nagyítással válik kivehetővé a szokványos asztrociták jellegzetes pók- vagy csillagszerű nyúlványrendszere is, melyről nevüket kapták. Ez a szerkezet jobban látható a fehérállományban, mivel ott az asztrociták ritkásabban helyezkednek el. Maga a perikaryon általában nem festődik az immunhisztokémiai reakcióval, ha mégis, látható, hogy a nyúlványok nem körös-körül, hanem egyetlen pontban indulnak ki belőle. Minél jobb az immunreakció, annál több és finomabb ágat láthatunk. Az ágrendszer ilyenkor a nagy neuronok helyét, pl. a kisagyban a Purkinje-sejtékét, negatívan kirajzolja.

Nem minden asztrocita mutatható ki a GFAP festésével, hanem csak azok, amelyek aránylag sok GFAP-t tartalmaznak, főleg az ún. '**rostos**' **asztrociták**. Erős fixálás károsíthatja az immunreakcióért felelős molekuláris részletek ('epitopok') szerkezetét.

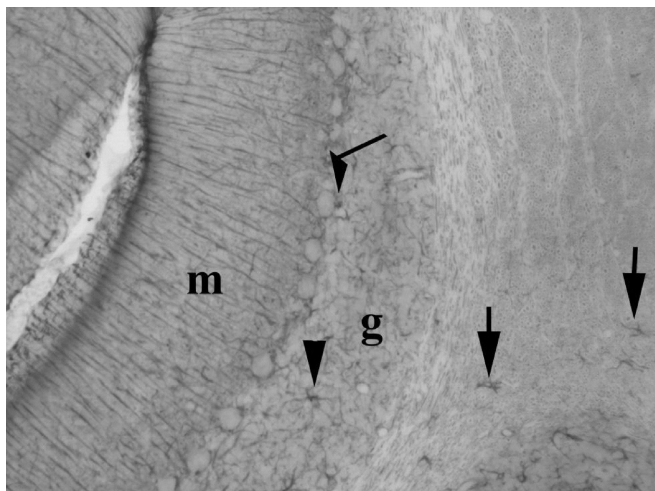
Egyéb kimutató eljárások: a klasszikus Cajal-féle glia-impregnáció, a glutamin-szintetáz enzim, a kalciumköti S100 β -protein, a glutaminsav-transzporter-fehérje (GLAST), valamint az asztrocitákat funkcionális szincíciummá kapcsoló konnexonok fehérjéjének (konnexin-43) festése.

A gliasejtek finom nyúlványai mindenütt kitöltik az idegsejtek hézagait, de csak elektronmikroszkóppal láthatók. A hematoxilin-eozin metszetekben az 'idegsejtek' (azaz tkp. a perikaryonok) körül látható eozinofil 'sejtközi állomány' voltaképp ideg- és glianyúlványok fonadéka, az elektronmikroszkópiában alkalmazott kifejezéssel: 'neuropil'.

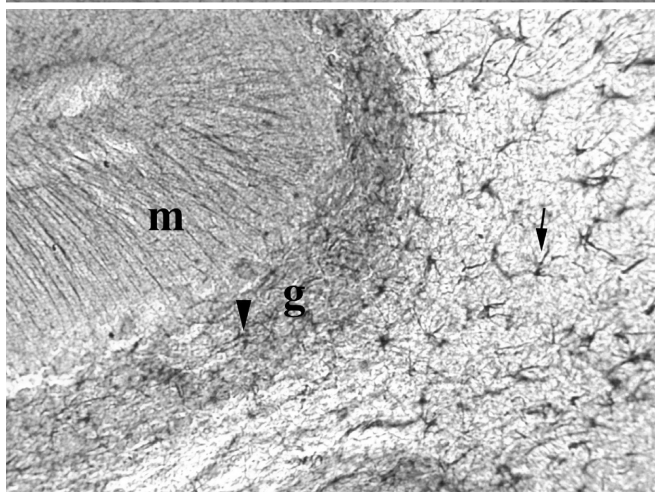
41. / Kisagy (GFAP immunhisztokémiai festése, patkány).....

Az immunhisztokémiai reakció végrehajtható paraffinos vagy fagyasztott metszeteken is. Adaptáltak elektronmikroszkóphoz is. Végrehajtható párhuzamosan két, vagy esetleg három-négy anyag kimutatása is, különböző színű végtermékkel (ún. kettős stb. jelölések). A reakció eredménye felülfesthető pl. Nissl- vagy egyéb eljárások szerint, vagy kombinálható klasszikus (enzim-, stb.) hisztokémiai reakcióval, esetleg az egyes anyagokra specifikus mRNS-ek kimutatására szolgáló in situ hibridizációval. Nem csak az alap- és alkalmazott szövettani kutatások egyik alapvető metodikája, hanem a patológiáé is. Pl. a sok GFAP-t tartalmazó agydaganatok gliasejtjei érettebb formát képviselnek, tehát kevésbé rosszindulatúak.

A



B



41/A-B. metszet. Kisagy (GFAP immunhisztokémiai festése, patkány)

m,g: molekuláris ill. szemcsés réteg, nyíl, nyílhegy: asztrociták, tört nyíl: Purkinje-sejt helye.