



Z. Lojda R. Gossrau T. H. Schiebler

Enzym- histochemische Methoden

Mit 20 Abbildungen

Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH

Professor Dr. Zdeněk Lojda
I. Pathologisches Institut der Universität Prag
Studničkova 2, Prag 2/ČSSR

Priv.-Doz. Dr. Reinhart Gossrau
Anatomisches Institut der Universität Würzburg
Koellikerstr. 6, 8700 Würzburg

Professor Dr. Theodor Heinrich Schiebler
Anatomisches Institut der Universität Würzburg
Koellikerstr. 6, 8700 Würzburg

ISBN 978-3-540-07810-4
DOI 10.1007/978-3-662-11693-7

ISBN 978-3-662-11693-7 (eBook)

Library of Congress Cataloging in Publication Data. Lojda, Zdeněk, 1927-. Enzymhистоchemische Methoden. Bibliography: p. Includes index. 1. Enzymes-Analysis. 2. Histochemistry. I. Gossrau, Reinhart, joint author. II. Schiebler, Theodor Heinrich, joint author. III. Title. RB48.L64 574.8'21 76-18681

Das Werk ist urheberrechtlich geschützt. Die dadurch begründeten Rechte, insbesondere die der Übersetzung, des Nachdruckes, der Entnahme von Abbildungen, der Funksendung, der Wiedergabe auf photomechanischem oder ähnlichem Wege und der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen bleiben auch bei nur auszugsweiser Verwertung, vorbehalten. Bei Vervielfältigungen für gewerbliche Zwecke ist gemäß § 54 UrhG eine Vergütung an den Verlag zu zahlen, deren Höhe mit dem Verlag zu vereinbaren ist.

© by Springer-Verlag Berlin-Heidelberg 1976

Ursprünglich erschienen bei Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York 1976

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Vorwort

Die moderne Enzymhistochemie geht auf die Entwicklung eines Nachweises für die alkalische Phosphatase am histologischen Schnitt von GOMORI (1939) und TAKAMATSU (1939) zurück. Seitdem sind eine Fülle histochemischer Enzymnachweise beschrieben und in die Laborpraxis eingeführt worden. Oft ist es schwierig, insbesondere für den mehr angewandt-histochemisch tätigen Wissenschaftler und für die technischen Mitarbeiter im Labor, den Wert einer enzymhistochemischen Reaktion zu beurteilen und eine richtige Auswahl unter vorhandenen Methoden zu treffen. Hierbei soll das vorliegende Buch helfen. Es enthält nur die *wichtigsten* histochemischen Enzymnachweise, die *alle* selbst erprobt, häufig modifiziert und vielfach mit gutem Erfolg bei den verschiedensten Forschungs- und Routineuntersuchungen an normalen und pathologisch veränderten Organen eingesetzt wurden. Verfahren, mit denen keine Erfahrungen bestehen, oder die unbefriedigende Resultate erbringen, werden erwähnt, aber nicht als Methode empfohlen. Bei der Sammlung handelt es sich daher um eine speziell für die *praktische* Laborarbeit gedachte, kritische Auswahl enzymhistochemischer Methoden. Theoretische Gesichtspunkte finden insoweit Berücksichtigung, als sie zum Verständnis praktisch-histochemischer Probleme und wichtiger funktionell-biochemischer Vorgänge und Zusammenhänge beitragen.

Hervorgegangen ist dieses Buch aus zwei unabhängig voneinander entstandenen Rezeptsammlungen, die vielfach verändert, weitergeführt und den Fortschritten der Forschung angepaßt wurden. Beide Methodensammlungen wurden in histochemischen Kursen erprobt, die wir an verschiedenen Orten und für sehr unterschiedliche Teilnehmerkreise durchgeführt haben. Aus den Fragen der Kursteilnehmer haben wir viel gelernt. Dankbar sind wir für jeden weiteren Hinweis und bitten die Leser und Benutzer dieses Buches, uns auf Schwächen und Mängel unserer Darstellung aufmerksam zu machen. Wir sind uns darüber klar, daß eine Methodensammlung nicht statisch, sondern dynamisch sein muß.

Unser Dank richtet sich an unsere vielen Mitarbeiter, die uns, seitdem wir selbst auf diesem Gebiet tätig sind, z. T. aufopfernd unterstützt haben. Sie namentlich zu nennen ist unmöglich. Dankbar sind wir ferner den Mitarbeitern des Springer-Verlages, Heidelberg, die uns bei den Manuskriptarbeiten stets freundlich und hilfsbereit beraten haben.

Möge dieses Buch dem Fortschritt der Histochemie dienen.

Juni 1976

Z. LOJDA, Prag
R. GOSSRAU, Würzburg
T. H. SCHIEBLER, Würzburg

Inhaltsverzeichnis

<i>A. Einleitung</i>	1
<i>B. Allgemeines</i>	2
I. Bedingungen für enzymhistochemische Nachweise	2
II. Terminologie und Klassifizierung der Enzyme	3
III. Reaktionsprinzipien histochemischer Methoden zum Enzymnachweis	3
1. Fällungsreaktionen	3
a) Präzipitationsreaktionen mit Metallkationen	3
b) Simultane Azokupplung	7
c) Indigogen-Methoden	11
d) Tetrazolium-Methoden	12
2. Sukzedane Azokupplung	15
3. Synthesereaktionen	16
4. Substratfilmverfahren	17
IV. Artefakte und Kontrollen	17
V. Korrelation histochemischer und biochemischer Befunde	17
<i>C. Vorbereitung des Gewebes</i>	22
I. Gewebsentnahme	22
II. Weiterverarbeitung	23
1. Frisches Gewebe	24
a) Einfrieren	24
b) Schnittherstellung	29
c) Gefriertrocknung von Kryostatschnitten	34
d) Gefriersubstitution	37
2. Fixation	38
3. Weiterverarbeitung von fixiertem Gewebe	41
a) Auswaschen	41
b) Einfrieren und Schnittherstellung	42
c) Einbettungen	43
4. Tabellarische Zusammenstellung der Gewebevorbereitung	44
III. Inkubation	47
<i>D. Nachweismethoden</i>	53
I. Hinweise	53
II. Hydrolasen	55
1. Phosphatasen	55
a) Alkalische Phosphatase	56
b) Saure Phosphatase	64

- c) 5'-Nucleotidase 78
- d) Glucose-6-phosphatase 81
- e) Adenosintri-phosphatase 83
- f) Thiaminpyrophosphatase 90
- g) Nucleosiddiphosphatase 93
- 2. Carboxylesterhydrolasen 96
 - a) Unspezifische Esterasen 97
 - b) Lipase 111
 - c) Cholinesterasen 112
- 3. Glykosidasen 121
 - a) Saure α -Glucosidase 123
 - b) α -Galaktosidase 125
 - c) Saure β -Galaktosidase 128
 - d) α -Mannosidase 136
 - e) β -N-Acetylglucosaminidase 139
 - f) β -Glucuronidase 146
 - g) Disaccharidasen 154
 - α) Lactase 156
 - β) Maltase 161
 - γ) Saccharase 164
 - δ) Trehalase 168
- 4. Peptidasen 169
 - a) Aminopeptidase 171
 - b) Enteropeptidase 180
 - c) γ -Glutamyltransferase 182
- 5. Sulfatasen 186
- III. Transferasen 189
 - 1. Glykogenphosphorylase 190
 - 2. Glykogen(Stärke)synthase 197
- IV. Lyasen 200
 - 1. Fructose-diphosphat-Aldolase 200
 - 2. Carbonat-Dehydratase 204
- V. Oxidoreductasen 207
 - 1. Oxidasen 208
 - a) Cytochrom c-Oxidase 208
 - b) Monophenolmonooxygenase 214
 - c) Aminoxidase 217
 - d) D-Aminosäureoxidase und Lactat-2-Monooxygenase 220
 - e) Peroxidase 224
 - 2. Dehydrogenasen 231
 - a) Succinat-Dehydrogenase 231
 - b) Glycero-3-phosphat-Dehydrogenase 233
 - c) Glycero-3-phosphat-Dehydrogenase (NAD⁺) 234
 - d) UDPG-Dehydrogenase 236
 - e) Lactat-Dehydrogenase 236
 - f) 3-Hydroxybutyrat-Dehydrogenase 237
 - g) Malat-Dehydrogenase 238
 - h) Malat-Dehydrogenase (NADP⁺) 238
 - i) Isocitrat-Dehydrogenase 239
 - j) Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase 239
 - k) Phosphogluconat-Dehydrogenase 240
 - l) Hydroxysteroid-Dehydrogenasen 241

m) Glyceraldehydphosphat-Dehydrogenase	242
n) Glutamat-Dehydrogenase	242
o) Tetrazoliumreductasen	243
<i>E. Lösungen und Puffer</i>	260
<i>F. Firmenverzeichnis</i>	275
<i>G. Literatur</i>	278
<i>H. Sachverzeichnis</i>	290