

# Die Movat-Pentachromfärbung

## eine farbenprächtige Darstellung verschiedener zellulärer und extrazellulärer Gewebekomponenten

### Schlüsselwörter

Histochemie – Movat-Pentachrom – Maus-embryo

### Key words

histochemistry – Movat's pentachrome – mouse embryo

### Die Movat-Pentachromfärbung – eine farbenprächtige Darstellung verschiedener zellulärer und extrazellulärer Gewebekomponenten

Im vorliegenden Artikel wird eine histochemische polychromatische Färbung, die sog. Movat-Pentachromfärbung beschrieben. Sie erlaubt eine farbenprächtige Unterscheidung der verschiedenen zellulären und extrazellulären Gewebekomponenten, sowohl von Hart- als auch von Weichgewebekomponenten. Nach Darstellung der Methode und Vorstellung der verwendeten Lösungen werden zur Veranschaulichung Beispiele aus der Histologie eines Mausembryos in einem späten Entwicklungsstadium vorgestellt.

### Movat's pentachrome – a gorgeous presentation of different cellular and extracellular tissue components

The present article describes a histochemical polychromatic staining, the so-called Movat's pentachrome. This staining provides a gorgeous differentiation of cellular and extracellular tissue components, both hard and soft tissue components. Following a detailed description of the method and the solutions used, the staining is illustrated by examples of the histology of a late stage mouse embryo.

### Einleitung

Mit der Einführung polyklonaler und monoklonaler Antikörper zur Detektion spezifischer molekularer Komponenten in Geweben (Immunhistochemie) wurde das Ende der Ära der Dominanz histochemischer Färbemethoden eingeläutet. Dennoch

haben histochemische Methoden nach wie vor eine Bedeutung in der Histologie, denn die üblichen bei der Immunhistochemie als Kernfärbungen verwendeten Gegenfärbungen bieten nur einen geringen Kontrast der verschiedenen nicht durch den jeweiligen Antikörper dargestellten Gewebekomponenten. Histochemische Färbungen hingegen erlauben bei Verwendung mehrerer Farbstoffe die gleichzeitige Darstellung vieler verschiedener zellulärer und extrazellulärer Gewebekomponenten. Eine dieser polychromatischen Färbungen ist die ursprünglich im Jahre 1955 von Movat (Henry Zoltan Movat, 1923 – 1995) beschriebene Pentachromfärbung [1], welche von mehreren Anwendern modifiziert [2, 3, 4, 5] und schließlich zu Elbadawi's Hexachromfärbung [6] weiterentwickelt wurde. Sie ermöglicht eine farbenprächtige Unterscheidung der verschiedenen Hart- und Weichgewebekomponenten. Dabei werden saure Glykoproteine (Glykosaminoglykane und Mucine) mit Alcianblau gefärbt, wobei alkalisches Ethanol zur Umwandlung von Alcianblau in ein wasserunlösliches blaugrünes Pigment, welches sich an Schwermetallionen sulfatierter Glykosaminoglykane ablagert, dient. Die Färbung der Zellkerne erfolgt mit Eisenhämatoxylin, diejenige des Zytoplasmas mit Brillant-Crocein-Säurefuchsin, und Safran du Gâtinais schließlich dient u.a. zur Färbung des kollagenen Bindegewebes.

## Methode und Arbeitsschritte im Detail

- Schnitte entparaffinieren
- Färben mit Alcianblau (20 min bei 56 °C, 10 Minuten bei Raumtemperatur)
- Spülen in Leitungswasser (5 Minuten)
- Stabilisieren in alkalischem Ethanol (10 ml Ammoniak auf 90 ml 96% iges Ethanol, 5 Minuten)
- Spülen in fließendem Leitungswasser (10 Minuten)
- Eintauchen in Aqua dest.
- Kernfärbung in Weigerts Eisenhämatoxylin (10 Minuten)
- Spülen in Aqua dest.
- Wässern in Leitungswasser (15 Minuten)
- Färben mit Brillant-Crocein-Säurefuchsin (10 Minuten)
- Kurz spülen in 0,5%iger Essigsäure
- Differenzieren in 5%iger Phosphorwolframsäure (20 Minuten)
- Sorgfältig spülen (unter Schwenken) in 0,5%iger Essigsäure (2 Minuten)
- Einbringen in 100% iges Ethanol (3 × 5 Minuten)
- Färben mit Safran du Gâtinais (60 Minuten)
- Spülen und Entwässern in 100%igem Ethanol (3 × 3 Minuten)
- Über Xylol in Eukitt o.ä. einschließen

## Ergebnis der Mehrfachfärbung

- Zellkerne: blauschwarz
- Zytoplasma: rötlich
- elastische Fasern: rot
- Kollagenes Bindegewebe: hellgelb
- Muskulatur: rot
- Mineralisiertes Knorpelgewebe: blaugrün
- Mineralisierter Knochen: dunkelgelb

## Ansetzen der erforderlichen Lösungen

### Alcianblau

1 g Alcianblau (z.B. Roth 3082.3) in 1 ml Eisessig und 100 ml Aqua dest. lösen

### Weigerts Eisenhämatoxylin

Lösung A: 1 g Hämatoxylin in 100 ml 96%igem Ethanol lösen.

Lösung B: 1,16 g Eisenchlorid ( $\text{FeCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$ ) und 1 ml 25%ige Salzsäure in 100 ml Aqua dest. lösen.

Gebrauchslösung: Lösungen A und B 1 : 1 mischen (nicht länger als 8 Tage haltbar), beide Lösungen sind auch gebrauchsfertig erhältlich (z.B. Chroma-Waldeck GmbH & Co.KG 2E-032 und 2E-052).

### Brillant Crocein-Säurefuchsin

Lösung A: 0,1 g Brillant Crocein R (z.B. Chroma-Waldeck GmbH & Co.KG 1B-109) in 0,5 ml Eisessig und 99,5 ml Aqua dest. lösen.

Lösung B: 0,1 g Säurefuchsin (z.B. Chroma-Waldeck GmbH & Co.KG 1B-525) in 0,5 ml Eisessig und 99,5 ml Aqua dest. lösen.

Gebrauchslösung: 8 Teile Lösung A und 2 Teile Lösung B mischen (mehrere Monate haltbar).

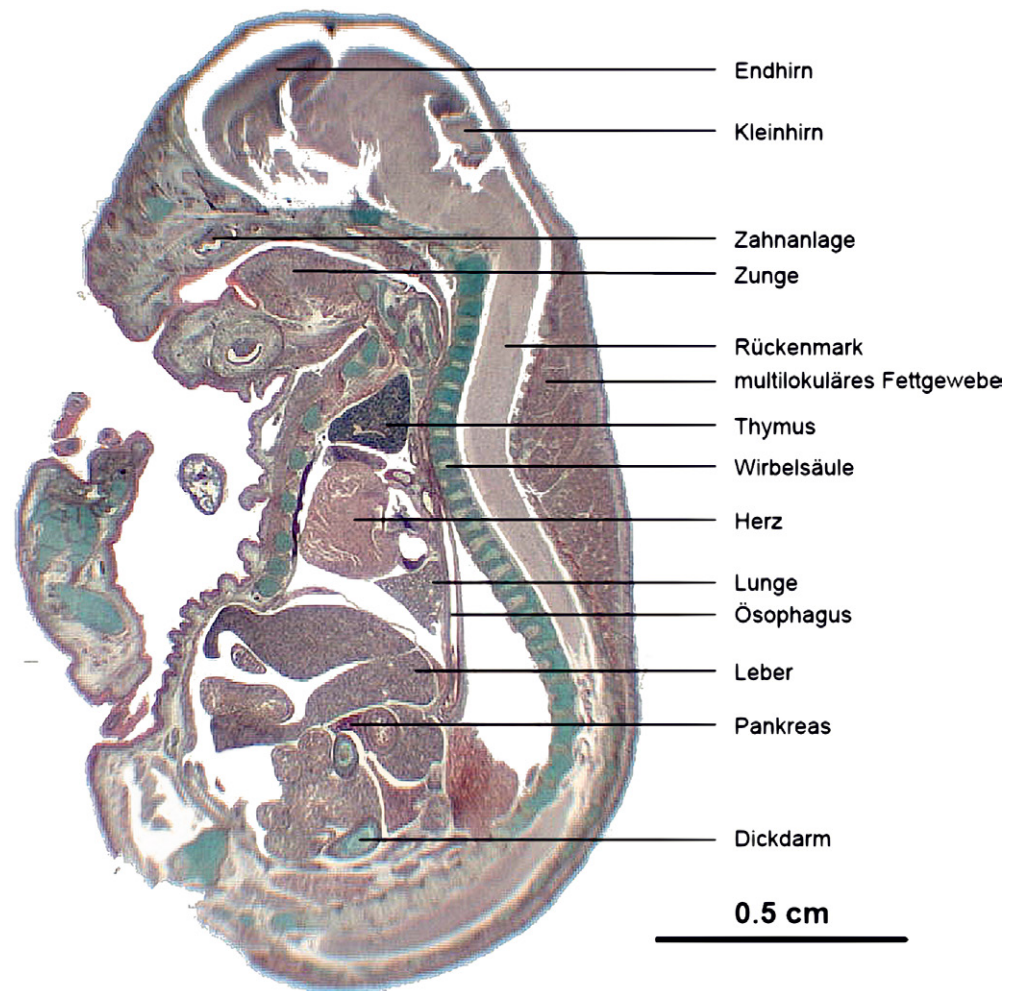
### Safran du Gâtinais

6 g Safran du Gâtinais (z. B. Chroma-Waldeck GmbH & Co.KG 5A-394) in 100 ml 100%igem Ethanol lösen und vor Gebrauch in luftdicht verschlossener Flasche für 48 Stunden bei 50 °C im Brutschrank extrahieren (unter Luftabschluss haltbar).

Sämtliche benötigte Reagenzien sind auch in allerdings relativ kostspieligen Färbekits erhältlich, z.B. bei MORPHISTO (Art.-Nr. 12057) oder Engelbrecht (Art.-Nr. 12061).

## Anwendungsbeispiel

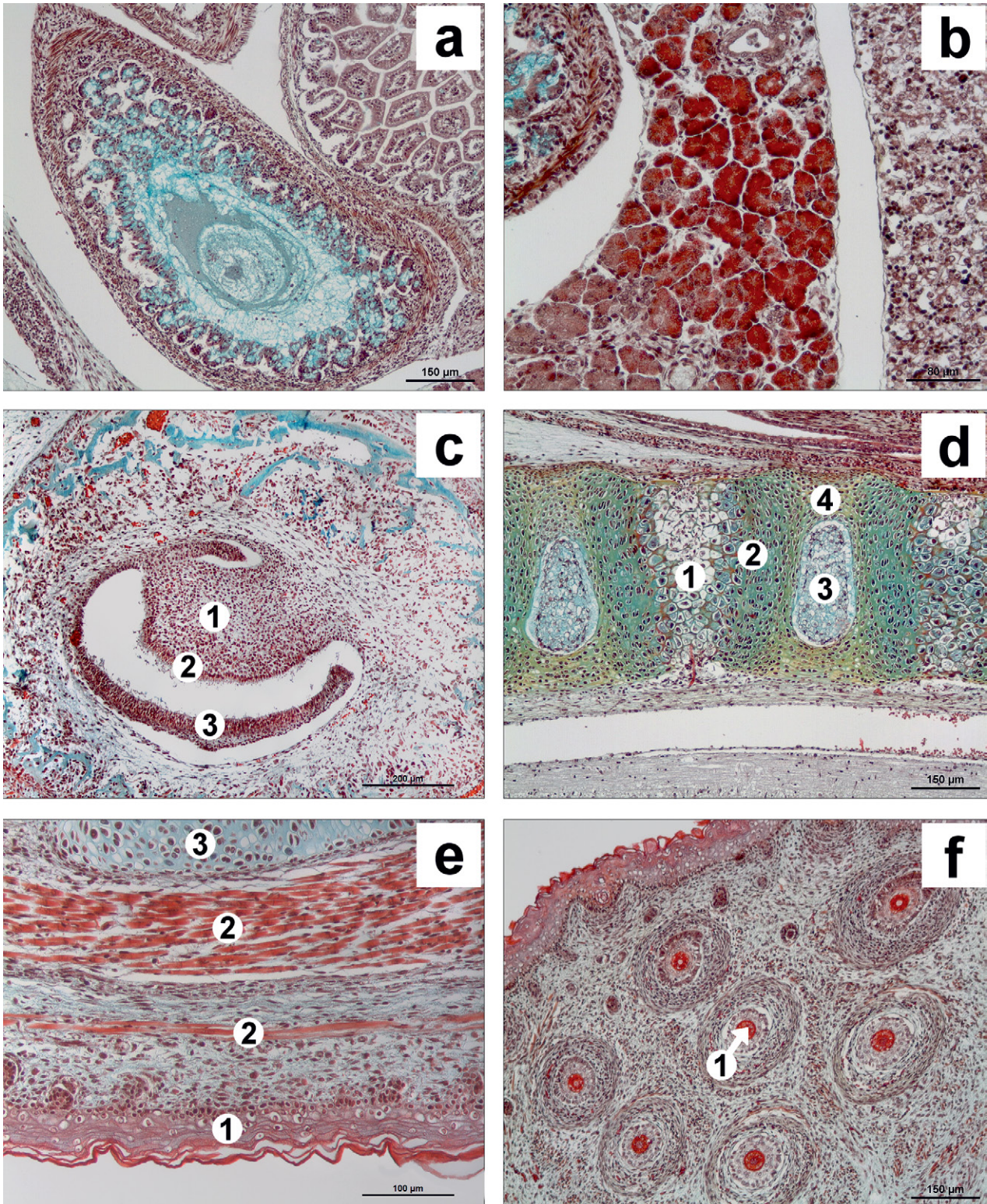
Zur Veranschaulichung der farbenprächtigen und fein differenzierenden Eigenschaften der Movat-Pentachrom-Färbung bietet sich ein Mausembryo in einem späten Entwicklungsstadium an. Im konkreten Fall handelt es sich um das Stadium 25 nach Theiler [7] des C57BL/6-Stammes (eines weit verbreiteten Inzuchtstammes) nach einer Trächtigkeitsdauer von 17 Tagen (Die Trächtigkeitsdauer bei Mäusen schwankt, abhängig vom Zuchtstamm, zwischen 18



**Abb. 1.** Längsschnitt durch einen Maus-Embryo des C57BL/6-Stammes nach einer Trächtigkeitsdauer von 17 Tagen (Stadium 25 nach Theiler) mit Bezeichnung der in dieser Schnittebene getroffenen Organe (Movat-Pentachromfärbung).

und 21 Tagen). Abbildung 1 zeigt einen kompletten Längsschnitt mit Bezeichnung der in dieser Schnittebene getroffenen Organen. In Abbildung 2 sind ausgewählte Organe bzw. Gewebe dargestellt, bei welchen die kontrastierenden Eigenschaften der Färbung besonders deutlich zum Vorschein treten: In Abbildung 2A ist ein Tangentialschnitt durch den Dickdarm erkennbar. Die Krypten sind sowohl in Quer- als auch Längsschnitten getroffen und reich an den charakteristischen Becherzellen, welche den Gleitschleim bilden. Diese sowie im Lumen gelegener Darminhalt sind bedingt durch Alcianblau türkis gefärbt. Abbildung 2B zeigt einen Schnitt durch den exokrinen Pankreasanteil mit zahlreichen Drüsenzellen. Deren Kennzeichen ist eine basale Basophilie durch rauhes endoplasmatisches Retikulum (Ergastoplasma; griech. *ergastikós*: arbeitsam, verarbeitend, produktiv) sowie eine supranukleäre und apikale Azidophilie durch Zymo-

gengranula, welche hier intensiv durch den anionischen Farbstoff Säurefuchsin gefärbt werden. In Abbildung 2C erkennt man eine Zahnanlage des Unterkiefers mit Zahnpapille sowie innerem und äußerem Schmelzepithel [8, 9]. Hierbei steht aufgrund des Zellreichtums dieser Gewebe die Färbung der Zellkerne mit Eisenhämatoxylin im Vordergrund. Abbildung 2D zeigt einen Längsschnitt durch Teile der Brustwirbelsäule mit chondraler oder indirekter Ossifikation, bei der das Knochengewebe auf vorgebildetem Knorpel gebildet wird. Erkennbar sind Wachstums- und knorpelige Endplatte sowie Nucleus pulposus und Anulus fibrosus. Bei Kenntnis dieser Strukturen läßt sich aus Abbildung 1 entnehmen, dass die Verknöcherung im Bereich der unteren Brustwirbelsäule beginnt und in Richtung auf die Halswirbelsäule vorschreitet. Färberisch steht hier die blaugrüne Färbung des mineralisierten Knorpelgewebes im Vordergrund. Abbildung 2E zeigt



**Abb. 2.** Ausgewählte Organe bzw. Gewebe aus dem Längsschnitt in Abbildung 1. (Movat-Pentachromfärbung). **A:** Dickdarm (HFW: 1 mm). **B:** exokriner Pankreasanteil (HFW: 0,4 mm). **C:** Zahnanlage des Unterkiefers (HFW: 1 mm) mit Zahnpapille (1) sowie innerem (2) und äußerem Schmelzepithel (3). **D:** Teile der Brustwirbelsäule mit chondraler oder indirekter Ossifikation (HFW: 1 mm), 1, Wachstumsplatte, 2, Endplatte, 3, Nucleus pulposus, 4, Anulus fibrosus. **E:** Haut (1), quergestreifte Skelettmuskulatur (2) und mineralisiertes Knorpelgewebe (3) aus dem Rückenbereich (HFW: 0,5 mm). **F:** Querschnitte durch die Vibrissen (Sinushaare, Schnurrhaare) der Schnauzengegend (HFW: 1 mm) mit Haarschaft und innerer Wurzelscheibe (1). HFW = horizontale Feldweite.

Längsschnitte durch Haut, quergestreifte Skelettmuskulatur und mineralisiertes Knorpelgewebe aus dem Rückenbereich. Die Färbung des Zytoplasmas mit Brillant-Crocein-Säurefuchsin wird hier insbesondere bei der quergestreiften Skelettmuskulatur deutlich. In Abbildung 2F sind Querschnitte durch die Vibrissen (Sinushaare, Schnurrhaare) der Schnauzengegend getroffen. Es handelt sich dabei um Mechanorezeptoren v.a. nachtaktiver Säugetiere, deren Wurzelkolben von freien Nervenendigungen umspinnen sind und in einen sie umgebenden Blutsinus ragen. In den dargestellten Querschnitten imponieren Haarschaft und innere Wurzelscheibe durch ihre kräftige Anfärbung mit Brillant-Crocein-Säurefuchsin.

Wie bereits oben erwähnt und durch die gezeigten Beispiele illustriert, erlaubt die Movat-Pentachromfärbung die gleichzeitige kontrastierende Darstellung vieler verschiedener zellulärer und extrazellulärer Gewebekomponenten. In der Praxis findet sie vorwiegend dann Anwendung, wenn es um die Darstellung von Bindegewebe sowie Knochen geht (exemplarisch s. [10]), zunehmend wird die Movat-Pentachromfärbung aber auch als Referenzfärbung in der vaskulären Biologie eingesetzt.

- [9] Krause D, Jennemann G. Über die Entwicklung der Zähne. *Mikrokosmos*. 1995; 84: 349-355.
- [10] Rentsch C, Schneiders W, Manthey S, Rentsch B, Rammelt S. Comprehensive histological evaluation of bone implants. *Biomater*. 2014; 4: 6.

Prof. Dr. med. Michael Torzewski, MA  
Abteilung für Labormedizin  
Robert-Bosch-Krankenhaus GmbH  
Auerbachstraße 110  
D-70376 Stuttgart  
michael.torzewski@rbk.de

## Literatur

- [1] Movat HZ. Demonstration of all connective tissue elements in a single section; pentachrome stains. *AMA Arch Pathol*. 1955; 60: 289-295.
- [2] Clifford C, Taylor KB. A useful variant of the Movat pentachrome I stain. *Stain Technol*. 1973; 48: 151-152.
- [3] Garvey W, Fathi A, Bigelow F, Carpenter B, Jimenez C. Improved Movat pentachrome stain. *Stain Technol*. 1986; 61: 60-62.
- [4] Olah AJ, Simon A, Gaudy M, Herrmann W, Schenk RK. Differential staining of calcified tissues in plastic embedded microtome sections by a modification of Movat's pentachrome stain. *Stain Technol*. 1977; 52: 331-337.
- [5] Russell HK Jr. A modification of Movat's pentachrome stain. *Arch Pathol*. 1972; 94: 187-191.
- [6] Elbadawi A. Hexachrome modification of Movat's stain. *Stain Technol*. 1976; 51: 249-253.
- [7] Theiler K. The House Mouse. *Atlas of Embryonic Development*. Heidelberg: Springer; 1989.
- [8] Drews F. Die Histologie der Zähne am Beispiel des Unterkiefers einer Maus (*Mus musculus*). *Mikrokosmos*. 2008; 97: 23-28.