

(Aus dem gerichtlich-medizinischen Institut der Kaiserlichen Universität zu
Kyuzhiu [Vorstand: Prof. Dr. *Masao Takayama*].)

Über die Technik der Herstellung der Querschnitte von Haaren.

Von

Dr. med. **Kyoyetsuro Fujiwara** und Dr. med. **Otowa Kojima**.

Die Herstellung guter Querschnitte von Haaren ist wichtig für gerichtlich-medizinische und histologische Untersuchungen, sowie zum Studium der Haarkrankheiten. Trotzdem ist bis jetzt noch keine gute Methodik bekannt. Prof. *Takayama* meinte, daß das Haar durch Erweichen in Depilatoren gute Querschnitte liefern müßte und daß man dann seine zellige Struktur gut studieren könnte. Er vertraute uns dieses Thema zur weiteren Bearbeitung an. Wir haben unter seiner Leitung nach einer guten Methodik gesucht und, wie wir glauben, diese auch gefunden.

Unsere Methode ist auf folgenden 4 Prinzipien begründet: 1. Aufquellen und Erweichen des Haares im Depilator; 2. Depigmentieren des Haares in Wasserstoffsuperoxyd; 3. Einbetten in Paraffin und Herstellen der Schnitte; 4. Wiederaufquellen der in Xylol und Paraffin geschrumpften Schnitte.

Zur Durchführung dieser Methodik dienen die folgenden Reagenzien:

1. Calciumhydrosulfid als Mittel zum Erweichen des Haares. Man bringt 200 ccm einer 10 proz. Kalkmilch in eine lange Gaswaschflasche und leitet Schwefelwasserstoff hindurch, bis sich der Inhalt grünlich-grau färbt, d. h. bis sich das gebildete Calciumhydrosulfid niederschlägt. Den Niederschlag bringt man in eine Schale und dekantiert die erst getrübe, aber bald gelblich klar werdende Flüssigkeit. Man vermeide es, das Durchleiten des Gases zu lange fortzusetzen, da dadurch eine dunkelgrüne bis dunkelblaue Färbung des Niederschlages und ein Ausscheiden von gelblichen, nadelförmigen Krystallen bewirkt und die Wirkung des Reagens bedeutend herabgesetzt wird. Direkt nach der Herstellung wirkt das Reagens so stark, daß das Haar, besonders das häufig gekämmte Frauenkopfhaar, bandförmig abgeplattet wird. Einige Tage nach der Herstellung wirkt das Reagens am besten.

2. 1 proz. wässrige Safraninlösung.

3. 3 proz. Wasserstoffsuperoxyd.

4. Safraninhaltige Kalilauge, ein sirupartiges Gemisch. Man bereitet dieses Reagens nach folgendem Rezept:

1% Kalium causticum	20,0 g
Sirupus simplex	2,0 g
1% wässrige Safraninlösung	10 g

5. Alkohol in verschiedenen Konzentrationen, von verdünntem Spiritus bis zu absol. Alkohol.

6. Xylol.

7. Paraffin vom Schmelzpunkt 58° C.

8. Aqua destillata.

9. Maskenlack.

Die eigentliche Methodik gestaltet sich folgendermaßen:

1. Ein 3—4 cm langes Haar wird zuerst in Wasser, dann in absolutem Alkohol ausgewaschen, um Fett und Verunreinigungen zu entfernen. Das so gereinigte Haar bringt man in den Depilator. Das menschliche Haar erweicht und quillt in etwa 7—15 Minuten nudelartig auf. Als dann muß es gründlich in Wasser ausgewaschen werden, um es von dem Depilator zu reinigen.

2. Das stark pigmentierte Haar muß in Wasserstoffsuperoxyd depigmentiert werden; das im Depilator erweichte schwarze Haar — Japaner haben meist schwarze Haare — erhält eine bräunlich-weiße Farbe durch 2 bis mehrere Stunden langes Tauchen in 3proz. Wasserstoffsuperoxyd. Zum Studium der zelligen Struktur genügt dieser Zustand. Ist es notwendig, das Haar gänzlich zu entfärben, so müssen wir es in dem 3proz. Wasserstoffsuperoxyd über 24 Stunden oder in einem 30proz. für etwa 12 Stunden belassen.

3. Das depigmentierte Haar wird in Wasser ausgewaschen und dann in 1proz. wässriger Safraninlösung gefärbt. Durch diese Färbung können wir selbst kleine Stückchen bei weiterer Behandlung, z. B. beim Schmelzen des Paraffins im Xylol, leicht auffinden. Zur Färbung genügen einige Sekunden, aber je länger das Präparat gefärbt wird, desto besser ist es.

4. Nach der Färbung wird das Haar wieder in Wasser ausgewaschen, in Alkohol von steigender Konzentration entwässert und dann in Xylol gebracht. Das aus dem Xylol herausgenommene Haar wird durch 2 Furchen gezogen, die man in die gegenüberliegenden Wände eines kleinen Papierkästchens, am besten eines Deckglaskästchens, etwa bis zur halben Höhe einschneidet. In das Kästchen gießt man, nachdem das Haar straff eingespannt ist, das geschmolzene Paraffin und kühlt in Wasser ab. Wird das Paraffin fest, so bringt man es aus dem Kästchen heraus und hobelt das überschüssige Paraffin ab, um eine möglichst kleine Säule zu bekommen. Von dieser Paraffinsäule kann man leicht sehr dünne, und zwar bis zu 2 oder 3 μ dicke Serien, mit Hilfe des Mikrotoms erhalten.

5. Zum Schließen bringen wir ein langes Band auf einen Objektträger und träufeln Xylol darauf, um das Paraffin zu lösen, und wischen das überschüssige Xylol mit Fließpapier vorsichtig ab. Nach Verdunsten allen Xylols bedecken wir den Objektträger mit einem Deckglas, auf dessen Mitte safraninhaltige Kalilauge geträufelt wird. Quellen dabei die Schnitte ungenügend auf, so erwärmt man sie leicht.

Wird ein Dauerpräparat gewünscht, so setze man der Kalilauge *Sirupus simplex* zu und dichte das Deckglas mit Maskenlack ab. Zum gleichen Zweck brauchen wir auch das safraninhaltige Kalilauge-Sirup-Gemisch. Ein Einschließen von Luftblasen und den Verlust des Schnittes kann man vermeiden, wenn man die Gruppe der Schnitte mit einem in der Mitte mit demselben Gemisch befeuchteten Deckgläschen zudeckt.

Um zahlreiche Querschnitte der Haare auf einmal zu erzielen, kann man das *Marxsche* Verfahren¹⁾ anwenden. Danach löst man in einem Spitzglas mit Xylol mehrere Paraffinschnitte und läßt die Haarscheibchen sich absetzen oder aber beschleunigt das Absetzen durch kurzes Zentrifugieren.

Vergleichsweise haben wir an Stelle des Calciumsulfohydrates Natriumsulfohydrat, Bariumsulfohydrat und Strontiumsulfat als Depilatoren geprüft. Die ersten beiden wurden dargestellt durch Durchleiten von Schwefelwasserstoff durch Natrium causticum bzw. Barytwasser. Strontiumsulfat wurde dargestellt, indem wir *Mercks* Präparat mit lauwarmem Wasser unter Umrühren bis zu teigiger Konsistenz mischten. Diese Reagenzien waren alle brauchbar, jedoch scheint uns Calciumsulfohydrat das Brauchbarste unter ihnen zu sein.

Wir haben weiterhin als Mittel zum Färben der Haare zahlreiche Farbstoffe geprüft und folgende 6 Farbstoffe als brauchbar erkannt: Orange G, Congorot, Methylenblau, Erythrosin, Nigrosin und Safranin. Einige darunter färbten die Schnitte gut, aber die Färbung war nicht haltbar; die anderen färbten sie haltbar, aber schmutzig. Es scheint uns Safranin am besten zu sein.

In den durch diese Methodik hergestellten Präparaten können wir nicht nur die Grenze der 3 Schichten des Haares — Cuticula, Rinden- und Marksubstanz — deutlich erkennen, sondern auch die Formen und Anordnung der Zellen in allen Schichten. In der Cuticularschicht erscheinen die quergeschnittenen sog. dachziegelartig angeordneten, platten Zellen als rote scharfbegrenzte Ringschichten. Die Zellen der Rindensubstanz sind polygonal und haben einen kleinen Kern, der sich in der Mitte der Zellen oder auch leicht seitlich abgedrängt befindet. Die intercellulare Substanz ist rötlich gefärbt, mit deutlich erkennbarer Zellgrenze versehen. In der Marksubstanz sehen wir abgerundete polygonale Zellen mit einem blasigen Kerne.

¹⁾ *H. Marx*, Praktikum der gerichtlichen Medizin 1907, S. 66.

Bei forensischen Untersuchungen hellen wir öfters das Haar in 20proz. Salpetersäure auf, um die Breitenverhältnisse zwischen Mark- und Rindensubstanz klarzumachen. Wir prüften, ob unsere Methodik nach der Aufhellung in Salpetersäure ebenfalls gute Erfolge bringt; denn wir sind für forensisch-medizinische Zwecke bisweilen gezwungen, an einem einzigen Haar verschiedene Untersuchungen durchzuführen. Wir haben das Haar in eine 0,85proz. Kochsalzlösung eingetaucht, zuerst in Aqua dest., dann in Alkohol ausgewaschen und 16 Stunden lang in 25proz. Salpetersäure getaucht. Nach Auswaschen in Wasser prüften wir das Haar mit unserer Methodik und hatten immer guten Erfolg. Wenn aber 30proz. Wasserstoffsperoxyd zur Hand ist, empfehlen wir, das Haar zuerst in 30proz. Wasserstoffsperoxyd aufzuhellen und dann die Querschnitte mit unserer Methodik herzustellen. Salpetersäure hellt das Haar nicht so deutlich auf, daß man die Zellgrenzen genau erkennen könnte!

Diese Methodik ist sehr einfach und wenig zeitraubend und ermöglicht ein genaues Studium der zelligen Struktur des Haares. Wir können damit die vollständige Untersuchung eines weißen Haares innerhalb 30 Minuten, selbst die Untersuchung eines schwarzen Haares in einigen Stunden durchführen.

Zusammenfassung.

Kurz zusammengefaßt gestaltet sich unsere Methodik folgendermaßen:

Nachdem man das zu untersuchende Haar von allen Verunreinigungen befreit hat, bringt man es etwa 15 Minuten lang in den Depilator. Dann wäscht man es gründlich in Wasser aus, um es von dem Depilator zu reinigen. Wenn das Haar stark pigmentiert ist, entfärbt man es in 30proz. Wasserstoffsperoxyd und spült in Wasser ab. Alsdann färbt man das Haar in einer 1proz. wässrigen Safraninlösung für einige Minuten, wäscht wieder in Wasser aus, entwässert in Alkohol und taucht die Haare in Xylol ein. Das aus dem Xylol herausgenommene Haar wird in Paraffin eingebettet und geschnitten.

Möglichst viele Schnitte werden auf den Objektträger gebracht und das Paraffin mit Xylol total entfernt. Dann wird das Präparat mit einem Deckglas bedeckt, auf dessen Mitte ein Tropfen safraninhaltiger Natronlauge geträufelt ist, und mit Maskenlack abgedichtet.

Das so erhaltene Präparat bietet unter dem Mikroskop ein prachtvolles Bild, in dem man den feinen Bau des Haares sehr gut erkennen kann.

Da diese Methode sehr einfach und wenig zeitraubend ist und schöne Bilder ergibt, so glauben wir sie zum Studium des Haares empfehlen zu können.

Zum Schluß sprechen wir unserem hochverehrten Lehrer Herrn Prof. Dr. *Takayama* für seine Anregung und Leitung bei dieser Arbeit unseren herzlichsten Dank aus.