

Principy konvenční histochemie ve světelné mikroskopii

Histochemie

Histochemická reakce se využívá k detekci anorganických a organických sloučenin ve tkáních.

Detekce anorganických sloučenin

Fe

Čerstvou tkáň můžeme fixovat neutrálním formolem o koncentraci 10% nebo bezvodým etanolem. K fixaci nepoužíváme tekutin obsahujících kyseliny nebo dvojchroman draselný. Tkáň zaléváme do parafínu, nebo ji krájíme na zmrazovacím mikrotomu.

Ve tkáni prokazujeme přítomnost Fe^{3+} , Fe^{2+} iontů. Pro průkaz Fe^{3+} používáme Berlínskou (Pruskou) modř, tzv. Perlsova reakce, kterou dokazujeme železo např. v hemosiderinu. Fe^{2+} používáme reakce s Turnbullblue (modré zbarvení)

Ca

Patologické usazeniny vápníku se mohou vyskytovat v jakékoli oblasti těla. Vápník se v těle může vyskytovat v rozpustné či nerozpustné formě, na to je třeba brát ohled například při fixaci.

Metod k průkazu kalcia se nejčastěji používá k průkazu nerozpustných fosforečnanů a uhličitanů. K rutinnímu průkazu solí vápníku se nejlépe hodí substituční metody s dusičnanem stříbrným. Tyto metody jsou založené na redukci stříbra, jedná se především o metody:

Průkaz kalcia podle Kossy

Gohsova reakce průkazu kalcia

Průkaz organických sloučenin

Lipidů

Tkáň, ve které je potřeba prokázat lipidy, nesmí přijít do styku s organickými rozpouštědly (např. vysokoprocenní etanol, xylén, éter, aceton). Z toho plyne, že nelze tkáň zalévat do parafínu ani do celoidinu. Obstojně lze ale využít zalití do želatiny nebo metodu zmrazených řezů.

Lipidy se barví barvivy rozpustnými v tucích. Jsou to například sudanová červeň, olejová červeň, oxid osmičelý.

Sacharidů

Cukry rozpustné ve vodě, jako například jednoduché cukry (glukosa,...) histochemicky prokázat nelze. Prokazujeme málo rozpustné sloučeniny, polysacharidy nebo cukerné složky bílkovin či tuků.

Cukry prokazujeme pomocí aldehydových skupin, které vznikají rozštěpením pyranového nebo furanového kruhu. Aldehydové skupiny pak reagují s Schiffovým činidlem a dávají červeno-fialové zbarvení (PAS reakce).

K látkám, které takto můžeme pozorovat, patří

- **Polysacharidy** - kyselina hyaluronová, chondroitin sulfát, heparin, keratan sulfát, dermatan sulfát
- **Proteoglykany** - perlecan, versican, syndecan
- **Glykoproteiny** - thyroglobulin, fibronectin, laminin, kolagen, muciny
- **Glykolipidy** - cerebrosidy, sfingomyelin, lipofuscin

Pigmentů

Gmelinova reakce

DNA

Nukleové kyseliny jsou basofilní. Pro exaktní určení DNA je nejvhodnější Feulgenova reakce, která využívá Schiffovo činidlo. Feulgenova reakce se používá v patologii k diagnostice nádorů k určení polyploidie buněk.

Odkazy

Související články

- Histochemie
- Barvení hematoxylin-eosin
- Barvení ve světelné mikroskopii

Literatura

- VACEK, Zdeněk. *Histologie a histologická technika. Díl 2, Histologická technika*. 1. vydání. Brno : Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví, 1996. ISBN 80-7013-202-7.
- MAŇÁKOVÁ, Eva a Alexandra SEICHERTOVÁ. *Metody v histologii*. 1. vydání. Praha : Karolinum, 2002. 54 s. ISBN 80-246-0230-X.