

Základní principy histologických barvení

přímé barvení

- používají se vodné nebo alkoholové roztoky barviva

mořidlové barvení

- některá barviva se nejsou schopná vázat přímo na složky tkáně
- mořidla jsou polyvalentní ionty kovů – tvoří s molekulami barviva cheláty a vytváří mezičlánek mezi molekulou barviva a tkání – zvyšuje se intenzita a specifičnost
- podvojně sírany (kamence) – síran hlinitoamonný nebo železitodraselný
- např. hematoxylin

progresivní barvení

- dobarvení do požadované intenzity

regresivní barvení

- barvivo se váže na všechny tkáňové elementy
- následně se provádí selektivní odbarvení – diferenciací (je nutná kontrola v mikroskopu)

impregnace

- využívají se nestabilní roztoky solí těžkých kovů (např. Ag, Au, Os)
- kovové ionty vytváří depozita na nebo kolem určitých tkáňových struktur
- na těchto strukturách (oligosacharidové řetězce, nenasycené mastné kyseliny) dojde k redukci kovů nebo následuje oxidačně-redukční reakce, při které dojde k jejich zviditelnění

vitální barvení

- aplikují se do živého organismu v netoxických koncentracích
- zásaditá – methylenová modř, neutrální červeň, brilantkresylová modř
- kyselá – trypanová modř, lithiový karmín

supravitální barvení

- barví se čerstvé tkáňové řezy
- Janusova zeleň – barvení mitochondrií

INTERAKCE MEZI TKÁNÍ A BARVIVEM

1. FYZIKÁLNÍ INTERAKCE

- barvivo se rozpouští ve složce, kterou barví, absorbuje se na povrch tkáňové struktury, nebo dochází k precipitaci
- většina barviv pro průkaz tuku jsou látky rozpustné v tucích a nerozpustné v alkoholu nebo vodě

2. CHEMICKÁ INTERAKCE

elektrostatické interakce (iontové vazby)

- nastávají mezi opačnými náboji barviva a složkami tkání
- barvivo obsahující kladně nabitý ionty reaguje se složkami tkáně, které mají náboj záporný a naopak
- **kationtová barviva (bazická)** nesou kladný náboj a vážou se na záporně nabitě struktury tkání – tzv. bazofilní struktury (např. nukleové kyseliny (DNA, RNA) a sulfátové glykosaminoglykany)
- **aniontová barviva (kyselá)** nesou záporný náboj a vážou se na kladně nabitě složky tkání – tzv. **acidofilní (eozinofilní) struktury** (např. cytoplazmatické proteiny, hemoglobin, mitochondrie, některé granula, svalovina a kolagen)
- ionizace jednotlivých tkáňových komponent závisí na pH a obsahu solí

kovalentní vazby

- velmi pevná vazba mezi složkou tkáně a barvivem

- vazba Schiffova reagens na aldehydy při PAS reakci (průkaz polysacharidů) nebo Feulgenova reakce (průkaz DNA)

vodíkové vazby

- vznikají mezi atomem vodíku a malým elektronegativním atomem, většinou kyslíkem nebo dusíkem
- barvení glykogenu karmínem

van der Waalsovy síly

- působí mezi dipóly, které vznikají nerovnoměrným rozložením elektronů v molekule
- působí na krátkou vzdálenost a pro svůj vznik vyžadují vhodný tvar molekul
- důležité pro selektivitu barvení
- barvení elastických vláken orceinem

METACHROMÁZIE

- určité složky tkáně se barví jinou barvou, než je barva použitého roztoku
- molekuly barviva mohou reagovat mezi sebou a vytvářet agregáty
- pokud mají agregáty barviva jiné spektrální vlastnosti než jeho monomery, dochází k metachromatickému barvení
- barvení methylenovou nebo toluidinovou modří - jaderný chromatin se barví modře (ortochromaticky), ale matrix chrupavky, granula žírných buněk a muciny se barví červenofialově (metachromaticky), protože barvivo vytváří v těchto polyaniontových místech agregáty

Odkazy

Použitá literatura

- ČÍŽKOVÁ, Kateřina. *Základy histochemických metod*. - vydání. Univerzita Palackého v Olomouci, 2018. 50 s. ISBN 9788024453163.