

Zpracování tvrdých tkání pro histologické účely

Tvrdé tkáně, jako je např. kost nebo zub, obsahují velké množství anorganických solí, které je nutné před zpracováním tkáně odstranit – odvápnit (dekalcifikovat). Pokud tkáň obsahuje příliš velké množství anorganických solí (sklovina), po odvápnění se rozpadne.

Kyseliny

- všechny kyseliny (i když dobře pufované) poškozují tkáň a narušují její barvitelnost (včetně antigenicity)
- problém narůstá s klesajícím pH roztoku a dobou dekalcifikace
- rychlá dekalcifikace poškozuje tkáň více než pomalá
- **Silné anorganické kyseliny**
 - využívají se vodné roztoky kyseliny chlorovodíkové a dusičné o koncentraci 5-10 %
 - dekalcifikace je rychlá, ale nešetrná
 - doba působení je 24-48 hod
 - využívají se v případě nutnosti rychlé diagnózy
- **Organické kyseliny**
 - používá se kyselina mravenčí v koncentraci 5-10 %
 - kyselina mravenčí je slabá kyselina - odvápnění je pomalejší a šetrnější než v případě použití anorganických kyselin
 - délka dekalcifikace je 1-10 dní a závisí na velikosti a typu vzorku

Chelační činidla - EDTA (etylendiamintetraoctová kyselina)

- EDTA váže kationty (hlavně kalcium a magnezium) k optimální vazbě kationtů dochází při pH 8
- EDTA váže ionty vápníku přítomné na vnější straně krystalu hydroxyapatitu - odstraňováním vnějších vrstev se krystal zmenšuje
- odvápnění je pomalé a nepoškozuje tkáň ani její barvitelnost
- kompletní dekalcifikace dentní kosti trvá 6-8 týdnů
- odvápnovací roztok se pravidelně vyměňuje

Dekalcifikační proces je nutné v jeho průběhu kontrolovat, aby nebyl vzorek dekalcifikačním činidlem vystaven déle, než je nezbytně nutné

- pomocí jehly či ohýbání tkáně není příliš vhodné - dochází ke vzniku artefaktů či poškození
- pomocí chemické reakce
 - pokud není v dekalcifikačním roztoku prokázána přítomnost vápníku, odvápnění je kompletní
 - využívá se reakce s hydroxidem amonným a šťavelanem amonným

Po dekalcifikaci je nutné odstranit dekalcifikační činidlo, např. oplachem ve vodě. Následně je tkáň dehydrována, projasněna a zalita do zalévacího média.

Odkazy

Použitá literatura

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