

# De wereld onder de microscoop

- Home
- Histologie
- Materialen
- Preparaten
- Fotogaleri
- Downloads
- Links
- Sitemap
- Contact

## IJzer in macrofagen van de longen

Download deze pagina als .pdf , klik [hier](#)



Bronvermelding:

1 Theorie: C. Thomas. (2006, veertiende druk), *Histopathologie*, Stuttgart. Uitgeverij Schattauer GmbH. Hoofdstuk 1.4.8, pag. 14, 'Pigmentstörungen'.

2 Wikipedia, de vrije encyclopedie, <http://nl.wikipedia.org/wiki/Hoofdpagina>.



### Histochemie: De 'Berliner blauw' reactie.

**Doel van het preparaat:** Het aantonen van driewaardig ijzer in macrofagen (siderofagen).

#### Inleiding,<sup>1</sup>

Bij sommige ziektes zoals stofwisselingsverstoringen ontstaat een ophoping van ijzerpigment in cellen. Dit pigment is intracellulair, grofkorrelig en roestbruin van kleur; het is 'Berliner blauw' positief. Een verhoogde pigmentophoping wordt hemosiderose genoemd. Meestal waar te nemen in lever, milt, longen, nieren, hartspieren en andere organen. Oorzaken kunnen zijn: storingen waarbij erythrocyten uit elkaar vallen (hemosiderose), een verhoogde toevoer van bloed (bloedtransfusies) of een verhoogde opname van ijzer door de dunne darm (hemochromatose, de ziekte van Trousseau).

Het ijzer kan met de 'Berliner blauw' reactie aangetoond worden. De reactie heet in het Duits: 'Berliner blauw' reactie volgens Perls. In het Engels: 'Prussian blue' reaction. Geïntroduceerd door de Duitse patholoog 'Max Perls' tussen 1843 en 1881.

#### Algemeen,<sup>2</sup>

Macrofagen behoren tot de opruimcellen (fagocyten). Het zijn cellen van het immuunsysteem. Ze ontstaan uit [monocyten](#) die uit de bloedbaan treden en transformeren naar macrofagen. Meerdere macrofagen kunnen fuseren tot meerkernige reuscellen. Al naar gelang hun voorkomen worden ze verschillend genoemd zoals: microgliacellen in het centraal zenuwstelsel, kupfercellen in de lever, alveolemacrofaag in de longen (zie hiervoor het preparaat: [Longblaasjes van een rat](#)), meerkernige osteoclasten in botweefsel, chondroclasten in kraakbeenweefsel, histiocyten in bindweefsel, hofbauerzellen in de placenta.

**Hemoglobine** (uit het Grieks 'Haima', bloed), zijn ijzerhoudende, zuurstof transporterende eiwitten, die in rode bloedcellen ([erythrocyten](#)) van gewervelde dieren en hun varianten gevonden worden. Deze nemen de zuurstof in de longen of kieuwen op en verspreiden in het lichaam. Zuurstof wordt gebonden aan een ijzercomplex van [protoporfyrine](#)<sup>2</sup> IX (heemverbinding). Heem B (C34 H34 O4 N4 Fe) komt als ijzerhoudende kleurstof voor in de rode bloedcellen. Het samen met rode bloedcellen voorkomende eiwit globine vormt het hemoglobine.

#### Afbouw van hemoglobine,

Indien de rode bloedcellen aan het einde van hun levensduur zijn (ongeveer 120 dagen), worden ze in de mononucleaire fagocyten hoofdzakelijk in de milt (en bij groot aanbod af te breken hemoglobine ook in de lever en in het rode beenmerg) afgebroken. De afbraak begint in de milt, en zal in de lever worden voortgezet. Eerst wordt de globine gescheiden van het heem en afgebroken tot [aminozuren](#)<sup>2</sup>. De heem wordt gesplitst via een [cytochroom P450](#)<sup>2</sup>-afhankelijke oxygenase (heem oxygenase) tot [biliverdine](#)<sup>2</sup>, waarbij tweewaardig ijzer (Fe<sup>2+</sup>) en koolmonoxide vrijkomen. Het ijzer wordt door de macrofagen in het bloed aanwezige transporteiwit [transferrine](#) afgegeven.

**Hemosiderine** bestaat uit fragmenten van [ferritine](#)<sup>2</sup>, de belangrijkste opslageiwit voor ijzer. Chemisch is het een in water onoplosbaar complex van ijzer en verschillende eiwitten (proteïnen); het ijzergehalte bedraagt ongeveer 37%. Hemosiderine is, in tegenstelling tot ferritine, geen fysiologisch opslagvorm en is daarom alleen intracellulair te vinden, vooral in de macrofagen. Het heeft een goudgele kleur die in histologische coupes als zodanig al zichtbaar is maar specifiek is aan te kleuren met de Berliner blauw reactie.

Hemosiderine (driewaardig ijzer, Fe 3 +) ontstaat vooral in gebieden met grotere bloedingen.

Het duurt enige tijd (weken) voordat het driewaardig ijzer gevormd is. Macrofagen die beladen zijn met hemosiderine (zogenaamde siderofagen) in b.v. het [sputum](#)<sup>2</sup> of longen kunnen aanwijzing geven voor hartfalen. Ziekten met een verhoogd ijzer gehalte in het lichaam worden hemosiderosen genoemd.

**Siderofagen** zijn dus macrofagen die hemosiderine gefagociteerd hebben.

### **Uitvoering van de Berliner blauw reactie,**

Voor dit onderzoek is gebruik gemaakt van een [hemorragische long](#)<sup>2</sup> (rat) en een gezonde milt (rat).

Het longweefsel werd in formaldehyde gefixeerd en in paraffine gegoten. De milt werd in het [GMA](#)<sup>2</sup>-kunststof ([Technovit 7100](#)) gegoten.

In bloedrijk weefsel dat met formaldehyde is gefixeerd ontstaat met enige regelmaat een hinderlijk pigment dat formaldehydepigment genoemd wordt. Dit pigment is echter op een vrij eenvoudige manier te verwijderen.

De gesneden coupes, waarvan de paraffine is verwijderd en tot op 100% ethanol zijn gebracht, worden voor enkele uren in een verzadigde ethanolische (100%) oplossing van picrinezuur gezet. Gebleken is dat een behandelingsduur, op kamertemperatuur, van twee uur meestal afdoende is. Nadat de behandelde objectglasjes kort in schone ethanol 100% zijn uitgespoeld kunnen ze verder gehydrateerd worden.

Deze behandeling is beschreven in: Romeis, Mikroskopische Technik (17de druk) pagina 398.



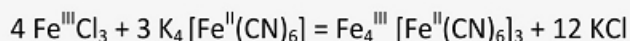
*klik op de afbeelding*

### **Bereiding van de reactieoplossing:**

Afkomstig uit: Romeis, Mikroskopische Technik 18e druk, pagina 239

- 2% oplossing van Kaliumhexacyanoferraat(II) (geel bloedloogzout) in aqua dest. in een verhouding van 1:1 vermengen met een 1% HCL (zoutzuur) oplossing.

De reactie vergelijking ziet er als volgt uit:



De werkoplossing pas bereiden vlak voordat de reactie uitgevoerd gaat worden. De oplossing is slechts éénmaal te gebruiken.

Alle instrumenten zoals: bekers, roerstaafjes, spatels en dergelijke dienen van glas alsmede goed gereinigd te zijn.

**Veiligheid:** De stof is stabiel en het zeer giftige cyanide is onder normale condities sterk gebonden. **Echter na vermenging met sterke zuren komt het zeer giftige blauwzuurgas vrij.**

Om het preparaat goed te kunnen beoordelen is het raadzaam om een tweede preparaat in de klassieke HE (Haematoxyline/eosine) mee te laten lopen.

### Anleitung A3.59

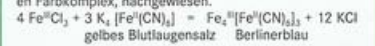
#### Berlinerblau-Reaktion nach Perls

##### Allgemeines:

1. Die von Perls bereits 1867 eingeführte Reaktion ist ein histochemischer Nachweis für dreiwertiges Eisen und kann im Gewebeschnitt noch 2 ng Eisen anzeigen.
2. Hämosiderin, ein zellulär gebundenes Abbauprodukt des Hämoglobins, wird mit dieser Reaktion nachgewiesen.
3. Am besten eignen sich formalinfixierte Präparate.
4. Für Paraffin- und Gefrierschnitte geeignet.
5. Es ist günstig die Reaktion bei 37 °C auszuführen, da die Farbstoffniederschläge dann schärfer definiert sind.
6. Die Reaktionslösung erst kurz vor Gebrauch mischen und nur ein Mal verwenden.

##### Prinzip:

Fe III-Ionen werden mit Hexacyanoferrat-II (gelbes Blutlaugensalz) im sauren Milieu als Berlinerblau, einem blauen Farbkomplex, nachgewiesen.



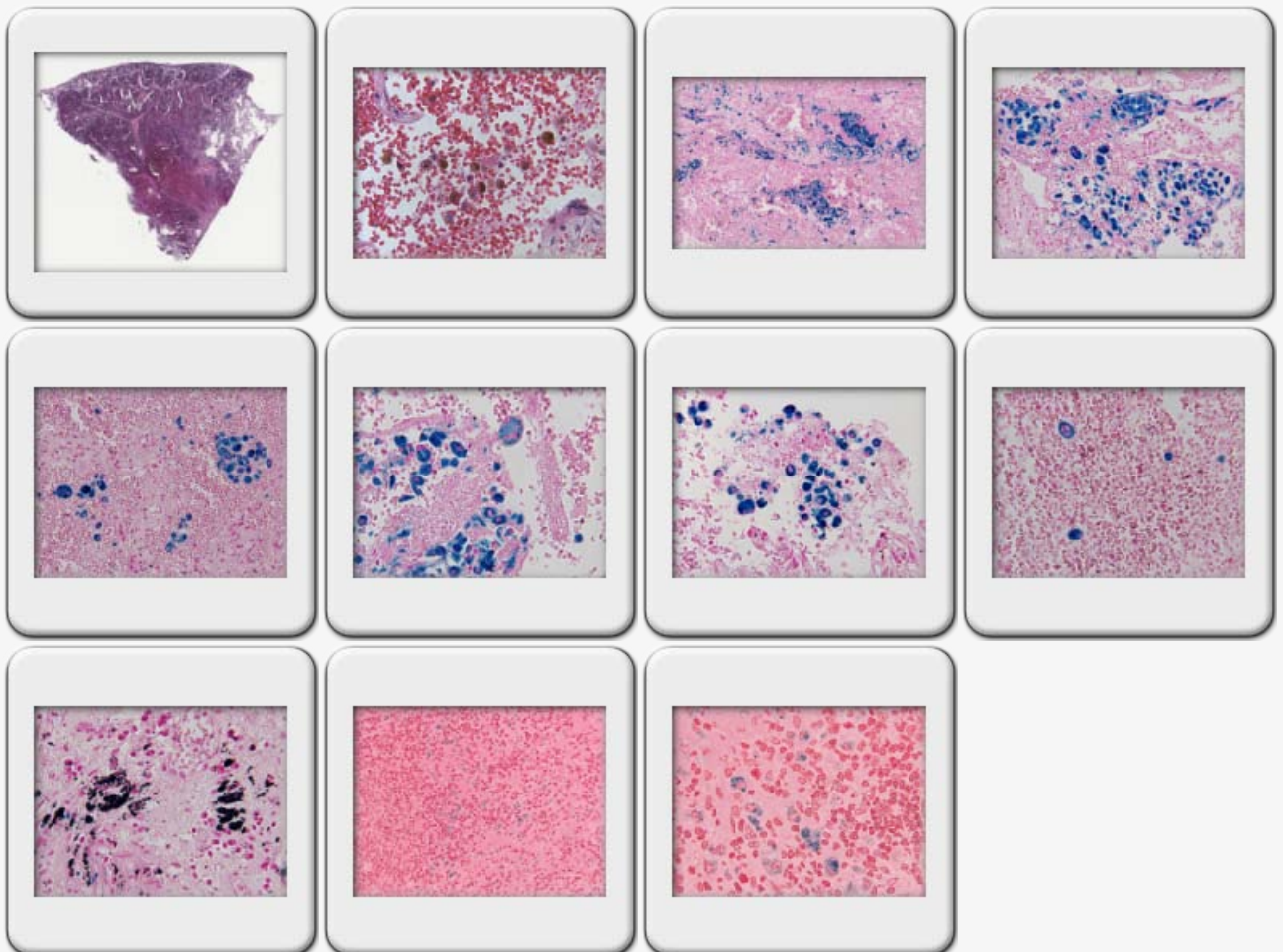
##### Methode:

1. Paraffinschnitte entparaffinieren, absteigende Ethanolreihe, Aqua d.
2. Reaktionslösung (immer frisch ansetzen), 15 bis maximal 60 min
3. sorgfältig in Aqua d. auswaschen
4. Gegenfärbung mit Kernechtrot-Aluminiumsulfat, 5-10 min
5. in Aqua d. abspülen
6. aufsteigende Ethanolreihe, Xylol und eindecken.

##### Ergebnis:

Dreiwertiges Eisen: blaue Körnchen  
Zellkerne: rot  
Cytoplasma: rosa

Fortsetzung



[Top](#)