

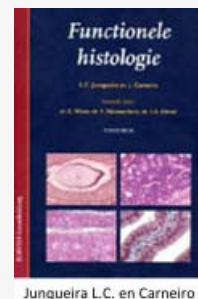
De wereld onder de microscoop

Home
Histologie
Materialen
Preparaten
Fotogaleri
Downloads
Links
Sitemap
Contact

Slijmbekercellen in de PAS kleuring

Bronvermelding:

- 1 Theorie: Junqueira L.C. en Carneiro J. (2004, tiende druk), *Functionele histologie*, Maarssen. Uitgeverij Elsevier. Hoofdstuk 2, pag. 31-32, 'Histochemie en cytochemie'.
- 2 Wikipedia, de vrije encyclopedie, <http://nl.wikipedia.org/wiki/Hoofdpagina>.
- 3 [Stainsfile](#), the internet resource for histotechnologists



Inleiding

Bij 'normale' histologische kleuringen worden kleurstofmoleculen meer of minder gebonden aan weefsel- en celcomponenten.

Bij histochemische kleuringen vindt er een chemische reactie plaats tussen weefsel- en celcomponenten met opgebrachte chemicaliën waardoor een specifieke kleurreactie plaatsvindt of waarna een specifieke kleurstof een specifiek component aan kan kleuren.

Zo kunnen bijvoorbeeld lipiden (vetten) aangetoond worden met de kleurstof Sudan, IJzer (II) met de Turnbull-blauw reactie, IJzer (III) met de Prussian-blue of Berliner-blauw reactie, Nucleinezuren (DNA) met de 'Feulgen' reactie en polysacchariden ([koolhydraten](#)²) worden met de PAS kleuring zichtbaar.

Met enzym-histochemie kunnen bepaalde [enzymen](#)² zichtbaar gemaakt worden. Zo kan zure- en alkalische [fosfatase](#)² aangetoond worden, oxidase en peroxidase, esterase en cholinesterase et cetera.

In de Immunohistochemie worden celcomponenten ([antigenen](#)²) aangetoond met antilichamen.

In-situ-hybridisatie is een techniek die het mogelijk maakt om specifieke nucleotidenvolgorde in microscopische preparaten te lokaliseren.

In de [Lectinen](#)²-histochemie kunnen bepaalde sequenties van suikergroepen, zoals onder andere voorkomend in celoppervlakteglycoproteïnen, gebonden worden door een specifiek lectine dat van tevoren voorzien is van een merkerstof.

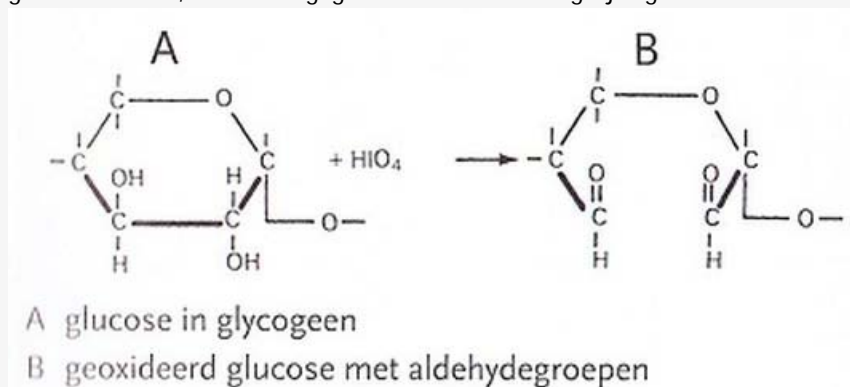
De meeste van de histochemische bewerkingen is voor de hobby-histologie bijna niet uitvoerbaar omdat er veel laboratoriumapparatuur en behoorlijke financiële middelen voor nodig zijn.

Histochemische reacties en kleuringen kunnen echter wel redelijk eenvoudig en zonder veel kostbare apparatuur en materialen uitgevoerd worden.

Doel van dit preparaat is het aantonen van polysacchariden in de goblet cells (slijmbeker-cellen) die zich in het jejunum (middelste deel van de dunne darm bevinden).

De histochemische kleuring voor dit doel heet de: PAS kleuring (Periodic Acid Schiff).

De reactie is gebaseerd op de oxidatieve werking van perjoodzuur (HIO₄) op de 1,2-glycolgroepen in de glucoseresiduen, zoals weergegeven in de reactievergelijking¹.



De ontstane [aldehyde](#)²groepen reageren vervolgens met het reagens van Schiff, tot een onoplosbaar complex met paarsrode kleur¹. Het reagens kan kant en klaar gekocht worden maar heeft een vrij korte levensduur (\approx 1jaar afhankelijk van temperatuur en hoeveelheid licht). Beter is het om steeds een kleine hoeveelheid zelf aan te maken. Dit kan vrij eenvoudig en is [hier](#) beschreven.

Voor dit preparaat is een stukje Jejunum geprepareerd in paraffine. Tevens is een stukje colon (dikke darm) geprepareerd in Technovit om te kijken of de daar aanwezige slijmbekercellen ook PAS positief reageren. Ter orientatie is rechts een overzicht van een stukje jejunum in een HE kleuring geplaatst. Klik op de afbeelding voor een vergroting.



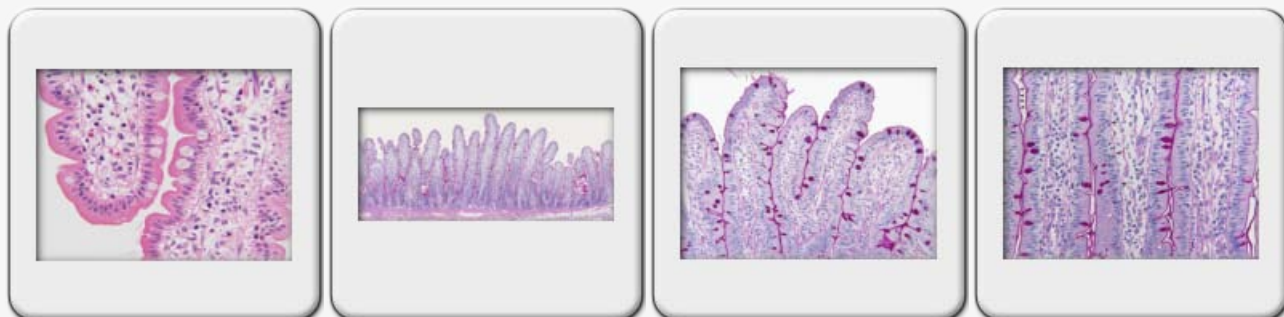
- 1 = darmlumen;
- 2 = kerckring plooiën (plicae circulares);
- 3 = darmvlokken (villi) met crypten (pijlen) en darmvlokken (pijlpunten);
- 4 = submucosa;
- 5 = muscularis mucosae met glad spierweefsel;
- 6 = bloedvaten.

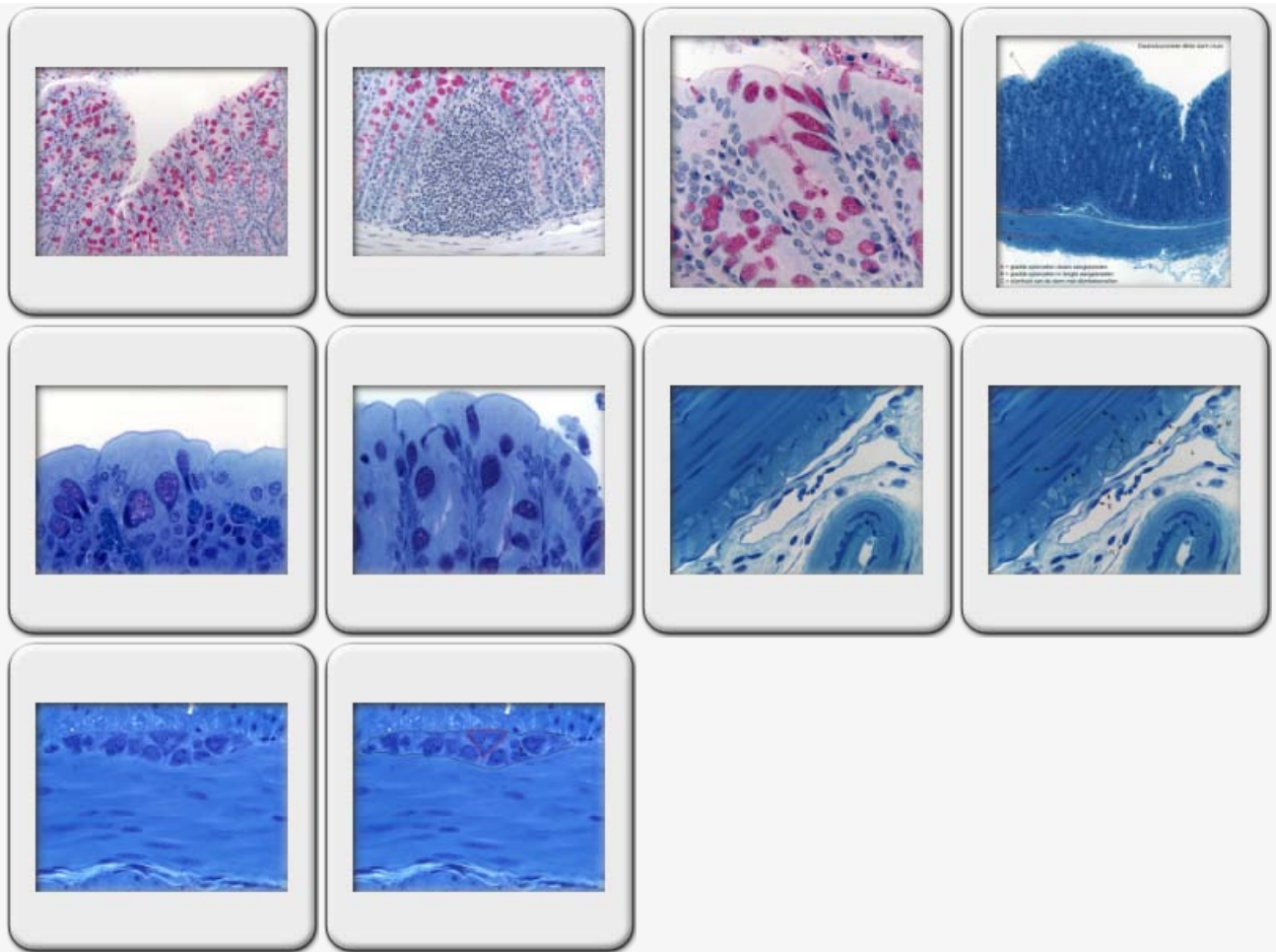
Het gevolgde PAS kleurprotocol stamt uit (Stainsfile , *the internet resource for histotechnologists* ³):

- Paraffinecoupes door hydratatie in waterige omgeving brengen;
- Oxideren in perijoodzuur (1%), 25min;
- Spoelen in leidingwater;
- Spoelen in Aqua dest (AD);
- Schiff's reagens aanbrengen en 25 laten inwerken;
- Spoelen AD;
- Spoelen in leidingwater (deze stap vesterkt de paar/purpere kleuring);
- Tegenkleuren met haematoxyline (met haematoxyline wordt normaal \approx 5min gekleurd maar hier niet langer dan 2-3min omdat anders de kernkleuring teveel gaat overheersen. Het dient hier slechts ter orientatie);
- Spoelen AD;
- Blauwen in leidingwater;
- Spoelen AD;
- Dehydrateren en indekken met b.v. Depex.

Uit de opnamen zal blijken dat: **Slijmbekercellen in het jejunum en colon van een muis zijn PAS positief.**

Klik op de afbeeldingen voor een vergroting.





[Top](#)