

Coloranți utilizați în histologie

Pentru a putea observa la microscop preparatele vegetale și animale este necesară colorarea preparatelor în vederea punerii în evidență a structurilor care sunt, de regulă, transparente. **Coloranții** sunt compuși chimici care se atașează de diferite structuri celulare, în mod reversibil sau ireversibil, cu o mai mică sau mai mare specificitate pentru anumite organite sau molecule biologice.

Un colorant are două domenii: partea **cromogenă** este cea care conferă culoarea specifică, iar **auxocromul** facilitează cuplarea la țesut. **Cromoforul** este acea structură chimică din cromogen ce absoarbe anumite lungimi de undă ale luminii incidente, reflectând culoarea.

În funcție de natura auxocromului, coloranții pot fi de mai multe tipuri:

- bazici: se mai numesc coloranți cationici, întrucât culoarea este oferită de o grupare bazică. Au afinitate față de structurile acide precum ADN-ul, ARN-ul (nuclei) sau glicozaminoglicanii (matricea extracelulară);
- acizi: sunt săruri formate dintr-un anion colorat și o bază incoloră. Au afinitate față de structurile bazice: proteine citoplasmice, colagen;
- neutri: permit colorarea duală, atât a structurilor acide cât și a celor bazice
- hidrofobe: nu se atașează electrostatic la structuri, ci sunt dizolvate în compușii tisulari (lipidele din adipocite).

În funcție de structură, coloranții pot fi

- simpli – un singur colorant
- compuși – o combinație de doi sau mai mulți coloranți.

Hematoxilin-eozina

Este probabil cea mai frecvent folosită colorație compusă pentru secțiunile parafinate. Hematoxilina (hemateina) colorează substanțele acide, iar eozina colorează compușii bazici. Citoplasma apare roz-roșie sau palid albastră, în timp ce nucleii se vor colora albastru-violet. Nucleii pot fi hipocromatici (culoare pală), normocromatici (intensitate normală a culorii, intermediară) sau hipercromatici (culoare foarte intensă). Ambele substanțe sunt hidrosolubile; preparatul trebuie deparafinat înainte de colorare.

Albastru de toluidină

Denumit și **TBO**, este un colorant metacromatic, favorizând apariția unor culori diferite de cea inițială a colorantului. Este un colorant bazic. Permite identificarea ligninei (cu care formează un compus roz), heparinei (mastocite), proteoglicanii și glicozaminoglicanii din țesutul conjunctiv (culoare roșie).

van Gieson

Este un colorant compus din acid picric și fucsină acidă. Colorează fibrele de colagen în roșu, fibrele musculare în galben, iar nucleii devin negri. Este utilizată de obicei pentru a diferenția țesutul conjunctiv de cel muscular. Se poate întâlni în combinație cu hematoxilina (HvG) sau în colorantul lui Verhoeff (conține șapte compuși chimici).

Safranina

Colorant bazic, permite colorarea ligninei din pereții celulari (xilem, sclerenchim) și a cutinei (epiderma la plante) în roșu. Se utilizează în colorații duble cu **Fast Green** (colorant acid ce colorează celuloza în verde). Safranina se utilizează în ultima etapă a colorației Gram (sau poate fi înlocuită cu fucsina bazică).

Masson și Mallory

Sunt exemple de colorații tricrome. Colorațiile tricrome se aplică printr-o tehnică specială și conțin diferiți compuși precum Ponceau 2R (roșu R), hematoxină, acid fosfomolibdic, Light Green SF, Fast Green, albastru de metilen etc.

Referințe

Plant Anatomy Laboratory James D. Mauseth

http://www.sbs.utexas.edu/mauseth/weblab/table_of_contents.htm

Universitat Vigo – Atlas of Plant and Animal Histology <https://mmegias.webs.uvigo.es/02-english/6-tecnicas/1-introduccion.php>