

A mészlerakódások basophiliája

Krutsay Miklós dr.

Magyar Imre Kórház, Ajka, Patológiai Osztály

Összefoglalás: A timsós hematoxilin és a szintetikus bázikus színezékek mésztelenített anyagokban is jó indikátorai a kalciumfoszfát- és karbonát-lerakódásoknak, bár nem csupán a kalciumsókat, hanem az alapszövetet is megfestik. A mésztelenítés attól függően befolyásolja a festődést, hogy blokkban vagy metszetben történik. A vashematoxilin a mészlerakódásokat nem festi.

BASOPHILIC STAINING OF CALCIUM DEPOSITS

Alum hematoxylin and synthetic basic dyes are appropriate indicators for calcium phosphate and carbonate deposits also in decalcified materials; however, these also stain surrounding tissues, along with calcium salts. Decalcification influences staining depending on whether it is done on tissue blocks or sections. Iron hematoxylin does not stain calcium deposits.

Már több mint száz éve leírták a csontoknak és a kalciumsó-lerakódásoknak timsós hematoxilinnal való – decalcinált szövetekben is észlelhető – basophil festődését, megjegyezve, hogy a depozitumok nem egyenletesen, hanem főként széli részeiken színeződnek [1]. A hematoxilinnal festődő szövetelemek memorizálását segítő: „mag, mucin, mész, mikroba, mycelium” mnemotechnikai kifejezéssel a medikusok is találkozhatnak szövettani gyakorlataik során. A patológus számára előnyös, hogy a mészlerakódások a rutin hematoxilin-eozin-festéssel, speciális hisztokémiai eljárások nélkül, és az esetleg szükséges mésztelenítés után is könnyen felismerhetők.

Ismeretes, hogy a növényi eredetű, indirekt (pác-) festékként használatos hematoxilin indikátor-jellegű vegyület (átcsapási tartománya: pH 5,0-6,0). Oldata savas vegyhatásnál halványsárga, semleges közegben rózsaszínű, lúgosban lilászörös. Szövettani festés céljára készült oldataiban fémsókkal (Al, Fe) komplexet képezve van jelen. A színnek a pH-tól függő változása ezen festékoldatokban, sőt a velük megfestett metszetekben is megfigyelhető.

A rutin hematoxilin-eozin-festéshez használt ún. „timsós hematoxilin”-oldat, káliumaluminiumsulfát-tartalma miatt eleve savanyú vegyhatású (pH=3,1) és lilászörös színű. Ez a szín az oldatnak az elektivitás növelése érdekében történő megsavanyításakor narancsvörösre változik (pH=2,9). Az oldat által megfestett szövetalkotóré-

szek színe attól függ, hogy a preparátum alkoholos víz-telenítése előtti utolsó vizes közeg milyen pH-jú volt. Ez legegyszerűbben a sejtmagok festődésén vizsgálható. Ha a metszetet a savtartalmú hematoxilin-oldatból közvetlenül alkoholba visszük, a magfestés vörösesbarna lesz. Ha hematoxilin-festés után a metszetet desztillált vízben (pH=4) öblítjük ki, lila színű magfestést kapunk. A szokásos módon, áramló csapvízben (pH=7) vagy híg nátriumhidrogén-karbonát (szódabikarbóna)-oldatban (pH=8) való mosáskor a sejtmagok szűrékékre festődnek. Híg nátronlúgos (pH=9) öblítés a sejtmagokat sötétkékre színezi. A kékebb szín hematoxilin-eozin festésnél előnyös, azonban a hematoxilin kimosására (a festés ún. „kékítésére”) nem használhatunk a csapvíznél lúgosabb közeget, mert ez a hematoxilin után alkalmazott eozin-festést akadályozná (savanyú jellegű színezékek lúgos oldatban nem festenek)

A kalciumsó-lerakódások közül csak a kalcium-foszfátokat tartalmazók basophilok. Ezekben rendszerint kevés karbonát is kimutatható. (A szervezetben – a kőképződéstől eltekintve – tisztán kalcium-karbonátból álló depozitumokkal nem találkozunk.) A lerakódások festődnek hematoxilinnal, és egyúttal Kóssa-pozitívak is. A pozitívítás a szövetekben lévő bizonyos szerves anyagok jelenlétéhez kötött [2, 4]. In vitro a kémiailag tiszta, oldhatatlan kalciumsók – a kalcium-hidrogénfoszfát és a kalcium-citrát kivételével – Kóssa-negatívak, mert a belőlük képződött ezüstsók napfényen nem redukálódnak [4]. A

mészlerakódásokat festő timsós hematoxilin-oldatban az alumínium szerepére utal, hogy káliumtimsó helyett vas-timsót (ferriammónium-szulfátot) vagy ferri-kloridot használva – azaz a sejtmagokat kékesfeketére festő „vas-hematoxilin”-oldattal – a mészlerakódások festetlenek maradnak.

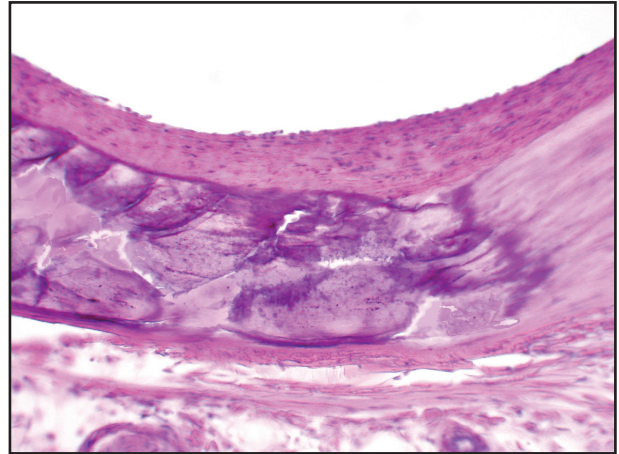
Kérdéses, hogy a hematoxilin-festés a kalciumsókat vagy az alapszövetet tünteti-e fel, továbbá, hogy az előbbi esetben a színezék a kalciumhoz vagy az anionokhoz (savgyökökhöz) kötődik-e. Cameron [1] a festődést a kalciumsókkal szemben valamely specifikus alapszövet jelenlétével illetve annak vas-sókkal történt arteficiális beivódásával magyarázta. Gyakran sikerült ugyanis a basophil területeken a berlinikék-reakcióval vasat kimutatnia.

Mésztelenítés nélkül a kisebb mészlerakódások, agyhomokszemcsék, amelyekben a szerves állomány elegyedtett a kalciumsókkal, hematoxilin-eozinnal diffúzan lilára színeződnek. A festődés nem változik, ha a metszetet festés előtt savval mésztelenítjük. A nagyobb meszes göcökben – amelyek a metszés során töredeznek – a kalciumsó-pikkelyek széle sötétlila lesz, másutt csak ritkás, porszerű, lila festécsapadék mutatkozik rajtuk (1. kép). A festés előtt mésztelenített metszetben a nagyobb lerakódások közepén a kioldódott sók helye, szélükön pedig a lilára festődött szerves alapállomány látható (2. kép). A festésre krezilibolyát (szintetikus, direkt színezék) használva a mészlerakódások sötétkékre festődnek.

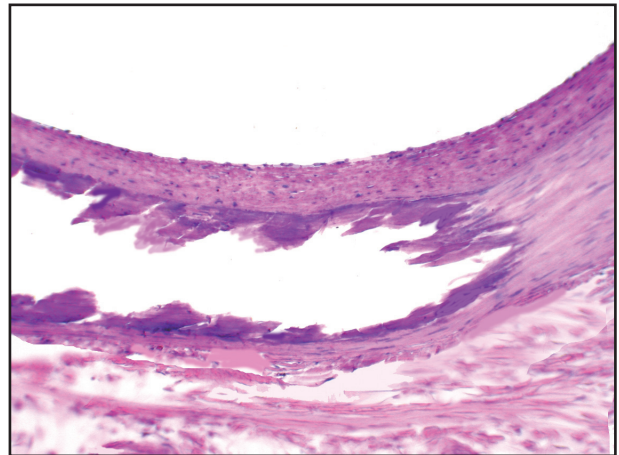
Mésztelenítetlen anyagokban is magyarázhatnánk a basophilit kizárólag az alapszövet festécaffinitásával, ugyanis a savakban oldódó kalcium-foszfátokat és -karbonátokat – a behatás idejétől függően – a hematoxilin-oldatban (pH=2,9) lévő sav, sőt önmagában a timsó-oldat (pH=3,1) is kivonja, tehát a metszet festés közben mésztelenítődik. A dekalcinált anyagok erősebb festődése azonban arra utal, hogy a hematoxilinnal a kalciumsókon azonnal festécsapadék keletkezik, amely akkor is megmarad, amikor mellőle a sók már kioldódtak. Ha Kóssa-reakciót tartalmazó metszet másodpéldányán előbb hematoxilin-festést, majd Kóssa-reakciót végzünk, a basophil területeken a Kóssa-reakció gyengül majd negatívvá válik. Mésztelenítés után, oldható kalciumsókkal történő pácolásra a Kóssa-reaktivitás nem tér vissza [4].

A basophil kalcium-foszfátok nagyrészt amorfak, izotropok [5]. A főként kalcium-foszfátokból álló agyhomokszemcsék közül a szabályos gömbalakúak azonban mésztelenített anyagban is anizotropok, mégpedig sugárirányra vonatkoztatva negatív kettőtörésűek [6], ami a szerves alapállományra rendezettségére (koncentrikus rétegzettségére) utal. A szokványos, savas mésztelenítés esetén az eredetileg meszes területek hematoxilin-eozinnal egyenesen szürkéskékre, krezilibolyával halványlilára festődnek (3. kép). Ez esetekben a pozitívítás kizárólag a szerves állománynak tudható be.

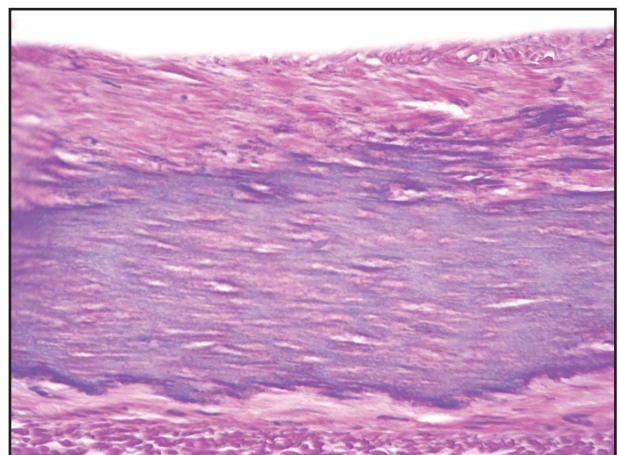
A mésztelenítés sorrendisége a savanyú színezékekkel szembeni viselkedést is befolyásolja. Trikróm-festéssel, a szövetblokk mésztelenítése után készült paraffin-metsze-



1. kép. Arteria femoralis. Mediasclerosis. Nem mésztelenített anyag. Hematoxilin-eozin-festés.



2. kép. Arteria femoralis. Mediasclerosis. A metszet mésztelenítése után hematoxilin-eozin-festés.



3. kép. Arteria femoralis. Mediasclerosis. Blokkban mésztelenített anyag. Hematoxilin-eozin-festés.

tekben a meszes területeken és a csontszövetben a szöveti denzitás fokozódására utaló narancsvörös szín észlelhető, míg a mésztelenítetlen vagy a metszetben mésztelenített – permeabilisabb – csontalapállomány kékre festődik.

In vitro-kísérletben azt találtuk, hogy savmentes timsós hematoxin-oldatban a nátrium-hidroxid nem okoz színváltozást, később liláskék csapadék keletkezik. Az oldathoz adott trikálcium-foszfát illetve a kalcium-karbonát szemcséin sötétlila csapadék válik ki, míg a kalcium-oxalát és a zsírsavas kalcium kristályai szintelenek maradnak. Oldható kalciumsókkal (pl. kalcium-acetáttal, kalcium-kloriddal) az oldat nem képez csapadékot. Alkáli-fém foszfátok és karbonátok oldatával liláskék, pelyhes csapadék jön létre. Krezilibolya-oldatban a nátrium-hidroxid sötétbarna, a dinátrium-hidrogénfoszfát és a nátrium-karbonát sötétlila csapadékot idéz elő, a felülúszó pedig elszintelenedik.

Mindez amellet szól, hogy a timsós hematoxin és a szintetikus bázikus színezékek a mészlerakódásokban a szerves alapállomány megfestése mellett a foszfát- és a

karbonát-anionokhoz is kötődnek, míg a kalcium-kationnal nem reagálnak. A Kóssa-reakció elektívebb, mert az alapszövetet nem festi, azonban mésztelenített anyagon nem használható, míg a hematoxin ekkor is jelzi a mészlerakódások helyét.

IRODALOM

1. Cameron, G. R.: The staining of calcium. J. Path. Bact. 1930. 33. 929-955.
2. Kóssa, J.: Ueber die im Organismus künstlich erzeugbaren Verkalkungen. Beitr. path. Anat. allg. Path. 1901. 29. 163-202.
3. Krutsay M.: Patológiai technika. Medicina Kiadó. Budapest 1999. pp. 245-249.
4. Krutsay M.: A Kóssa-reakcióról. Osteolog. Közl. 2004. 12. 215-217.
5. Krutsay M.: Adatok a kalciumlerakódások hisztokémiájához. Osteolog. Közl. 2008. 16. 82-86.
6. Krutsay M.: Kalciumsók a szövetekben. Osteolog. Közl. (2008). 16. 191-194.

TUDOMÁNYOS PÁLYÁZAT

A „Csont-izületi Betegségek
Korai Felismeréséért” Alapítvány
2009-ben is meghirdeti tudományos pályázatát

**MUSCULO-SKELETALIS
KÉPALKOTÓ DIAGNOSZTIKA**

címmel.

A pályamunkákat maximum 30 000 karakter terjedelemben az Osteologiai Közlemények cikkformátumában kérjük beküldeni az Alapítvány Kuratóriumának címére (Uzsoki utcai Kórház Röntgen Osztály 1145 Budapest, Uzsoki u. 29.)
Beküldési határidő: 2009. december 15.
A nyertes pályamunkákat az Alapítvány díjazza.

A nyertes pályamunkákat az *Osteologiai Közleményekben* publikáljuk