

Tècnica de coloració amb l' eosina en els objectes fixats en formol

per

F. X. FARRERONS

El formol és dels principals fixadors que s'usen en tècnica microgràfica. Es pot dir que és l'únic quan les peces fixades s'han de tallar per congelació. No en và el seu us és tan extès, presenta moltes ventatges i molt pocs inconvenients. Entre les primeres s'ha de fer notar el seu poder de precipitació, és a dir, el molt poder de coagulació que presenta envers els albuminoids que constitueixen el protoplasma. FISCHER ha sigut el qui ha estudiat aquest poder de precipitació dels fixadors, col·locant al formol entre el grup de fixadors més complerts o sigui aquells que precipiten l'àcid nucleic, l'albumosa i les seroalbumines, siguent aquestos precipitats insolubles en excés de fixadors i en l'aigua. Es de notar també el seu gros poder de penetració i una qualitat essencialíssima que és de deixar el protoplasme químicament invariable.

Al costat de totes aquestes aventatges hi ha tan sols un inconvenient; el seu poder reductor, més veurem més endavant que aquest pot ésser fàcilment solventat.

La majoria dels fixadors usuals són fixadors oxidants, havent-ni un nombre molt reduït (alcohol etilic, alcohol metilic, acetona i formol,) que són fixadors reductors. Es dir que els fixadors, els podem dividir en oxidants i reductors. Els primers són aquells que en contacte dels teixits els oxiden, combaten les seves propietats reductores que aquestos presentan «per se» i fan que siguin fàcilment coloretjats. L'altra grup de fixadors son aquells que agafen oxígen dels teixits i favoreixen la seva acció reductora.



Per altra banda tenim que els teixits animals els podem dividir també en teixits oxidants i teixits reductors. Entre els primers, tenim el nucli (millor dit el conjunt de nuclis de un teixit determinat) que presenta propietats oxidants, és a dir, que despren oxígen i agafa hidrogen, siguent aquest oxígen captat per els teixits del voltant i que el presentin en menys quantitat. Els teixits reductors son aquells que agafen oxígen adès dels teixits pròxims adès de les substàncies químiques que el volten, i desprenen hidrogen que pot ésser captat per les substàncies o teixits pròxims (cas del protoplasma).

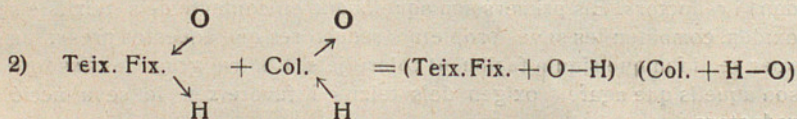
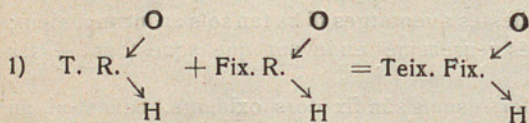
Tenim ademés un grup de substàncies colorants, principalment en el grup dels trigenilmetàns (al qual pertany l'eosina) que son molt sensibles a perdre oxígen i a agafar hidrogen formant-se lo que s'en diu un leuco-compost, és a dir un compost que no presenta propietats tintòreas.

Si nosaltres fem actuar un fixador reductor sobre un teixit reductor com és el protoplasma, que passarà? Sencillament, que el teixit quedarà fixat, però les seves propietats reductores seran accentuades per l'us del fixador reductor. El protoplasma en aquest cas no agafarà el colorant eosina ja que aquest serà transformat en un leuco-compost, que com sabem, no presenta propietats tintòreas. Es a dir, que un teixit fixat en formol, els seus talls no agafaven l'eosina.

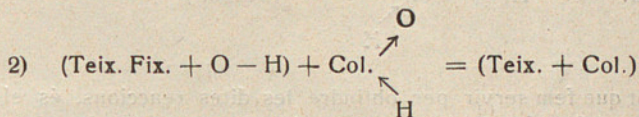
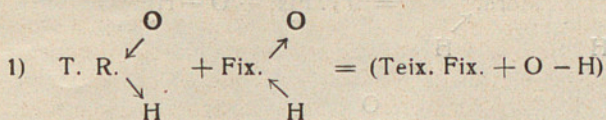
Si nosaltres fem actuar un teixit reductor amb un fixador oxidant, el teixit, a la vegada que fixat, quedarà oxidat, i l'eosina amb contacte d'aquest teixit no es transformarà en leuco-compost ja que el cromòfor del colorant no agafarà hidrogen, que en el cas anterior era cedit per el protoplasma. El teixit, en una paraula, quedarà coloretjat.

Totes aquestes combinacions les podem representar esquemàticament de la següent manera :

A)



B)

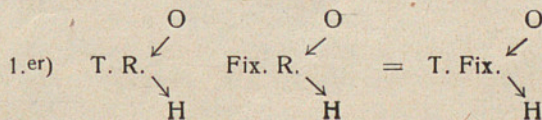


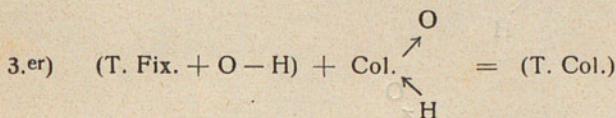
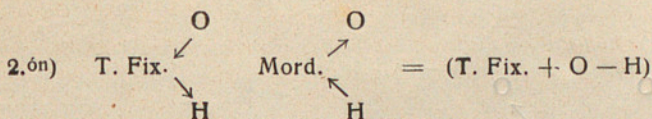
D'aquí ha nascut el concepte de oxipolaritat formulat per UNNA. No és altra cosa que l'afinitat dels cossos amb menys oxigen per els peroxidats. Veiem doncs que la dificultat de coloració amb l'eosina és deguda solsament a l'us d'un fixador reductor, que l'us d'aquest colorant es fa quasi bé impossible quan es fan talls per congelació, ja que el fixador que s'usa en aquest cas és el formol al 10 %, i tenim per altra banda que la coloració amb l'eosina és insubstituïble per el seu molt contrast amb la coloració nuclear, que generalment és l'hematoxilina, per la fàcil preparació del colorant i per les varietats de tons que presenta.

Com combatre l'acció reductora del formol? La resposta és evident quan la pregunta es formula d'aquesta manera. L'us d'un mordent oxidant. Els mordents son cossos que serveixen d'intermediaris entre el cos a coloretjar i el colorant. Segons la definició de MANN provoquen una combinació química entre dos cossos que no tenen cap afinitat l'un per l'altre. Es convenient no confondre el mordent del tintorer amb el mordent del tècnic microgràfic. El primer busca la producció de tincions homogènies, mentres que nosaltres, per exemple, busquem qu'el teixit tingui una sensibilitat especial envers el colorant que en el nostre cas és l'eosina.

Si nosaltres en el present cas fem us d'un mordent que combati les accions reductores que presenta el teixit (accentuades per l'us del formol) ens trobarem que el colorant no es transformarà en leuco-compost, ja que el seu cromòfor no captarà hidrogen, presentant doncs propietats tinctores.

L'acció del mordent oxidant en esquema és el següent :





El mordent que fem servir per obtenir les dites reaccions, és el clorur de zenc al 2%. La tècnica és la següent: un cop els talls estan ja coloretjats amb l'hematoxilina i aquesta és diferenciada, son sotmesos els talls a un lleuger rentat, a continuació es deixen de 30 a 35 segons en el mordent que com hem dit anteriorment és una solució de clorur de zenc al 2%, siguent passats després els talls en una solució alcohòlica de eosina en la qual si estan d'un a dos minuts. Els talls acte seguit després d'un lleuger rentat amb aigua, poden ésser deshidratats i montats. En els que no han sigut sotmesos a l'acció del mordent, en el moment de la deshidratació l'eosina marxa del tall juntament amb l'agent de deshidratació. En canvi els que han sofert l'acció oxidativa queden fortament coloretjats ja que en aquestes condicions el protoplasma forma amb el colorant una verdadera combinació química que és inatacable per l'acció de l'alcohol.

Treball de Laboratori Municipal. Director Dr. GONZÁLEZ.