

---

## **Obsah**

I. Histologická laboratoř .....	7
II. Mikroskop .....	9
1. Mechanická část mikroskopu .....	9
2. Osvětlovací zařízení .....	10
3. Optická část mikroskopu .....	11
a. Vlastnosti objektivů .....	12
b. Okuláry .....	14
4. Mikroskop binokulární .....	15
5. Zvláštní druhy mikroskopů .....	15
6. Mikroskopování .....	17
7. Ošetřování mikroskopu .....	18
8. Elektronový mikroskop .....	18
III. Odběr materiálu pro histologická vyšetření .....	23
IV. Fixace .....	25
1. Pojem a účel fixace. Prostředky fixace .....	25
a. Fyzikální fixační prostředky .....	25
b. Chemické fixační prostředky .....	26
c. Metodika fixace .....	26
2. Hlavní druhy fixačních tekutin .....	27
a. Formol .....	27
b. Fixační tekutiny s kyselinou pikrovou .....	29
c. Fixační tekutiny se sublimátem .....	29
d. Ostatní fixační tekutiny .....	32
V. Zalévací metody v histologii .....	34
1. Zalévání do parafinu .....	34
a. Princip zalití do parafinu. Použití .....	34
b. Odvodňování .....	34
c. Prosycení tkáně látkou rozpouštějící parafin .....	37
d. Prosycení tkáně parafinem .....	38
e. Zkvalitňování parafinu .....	38
f. Vlastní zalití .....	39
2. Zalévání do celoidinu .....	43
a. Celoidin, jeho formy a vlastnosti, princip zalévání .....	43
b. Použití celoidinu .....	43
c. Příprava roztoků celoidinu .....	43
d. Postup zalévání .....	44
3. Zalévání do celoidin-parafinu .....	46
a. Princip zalévání do celoidin-parafinu a jeho použití .....	46
b. Zalévání do methylbenzoát (methylsalicylát) - celoidin-parafinu .....	46
c. Zalévání do celoidin-parafinu .....	47
4. Zalévání do médií rozpustných ve vodě .....	47
a. Zalévání do želatiny .....	48
b. Zalévání do celodalu .....	48
c. Zalévání do vosku rozpustných ve vodě .....	49
VI. Krájení tkáňových bloků .....	51
1. Mikrotom sáňkový .....	51
2. Mikrotom rotační .....	53
3. Mikrotom zmrazovací .....	54
4. Mikrotomové nože .....	58
5. Krájení na zmrazovacím mikrotomu .....	59
6. Lepení zmrazených řezů .....	60
7. Krájení parafinových bloků, lepení a napínání parafinových řezů .....	61
a. Krájení parafinových bloků .....	61
b. Nejčastější obtíže při krájení .....	61

---

---

c. Napínání a lepení parafinových řezů.....	62
d. Krájení parafinových bloků v sérii .....	64
VII. Barvení histologických řezů.....	68
1. Důvody barvení .....	68
2. Druhy histologických barviv .....	68
3. Druhy barvení .....	69
4. Barvení parafinových řezů hematoxylinem a eozinem .....	69
a. Příprava roztoků hematoxylinu a eozinu.....	69
b. Odparafinování parafinových řezů .....	71
c. Vlastní barvení .....	71
d. Uzavírání (montování) obarvených řezů.....	72
5. Barvení celoidinových a zmrazených řezů .....	74
6. Uzavírání (montování) řezů do látek mísících se s vodou.....	75
a. Uzavírání do glycerinové želatiny .....	75
b. Uzavírání do sirupu z arabské gumy (Apáthyho sirupu).....	75
c. Uzavírání do levulózového sirupu.....	75
d. Uzavírání do glycerinu .....	76
VIII. Barvení parafinových řezů metodami přehledného barvení.....	77
1. Barvení Weigert van Giesonem .....	77
2. Barvení azanem .....	77
3. Barvení oranží-eozinem a toluidinovou modří (Dominici) .....	78
4. Barvení trichromy.....	79
a. Žlutý trichrom .....	79
b. Modrý trichrom .....	80
c. Zelený trichrom .....	81
IX. Cytologická barvení .....	85
1. Barvení podle Heidenhaina.....	85
2. Znázornění mitochondrií .....	86
3. Jádrová barvení .....	86
a. Barvení jader jádrovou červení.....	86
b. Barvení jader galocyaninem.....	87
c. Feulgenova nukleární reakce .....	87
X. Znázornění vazivových vláken.....	90
1. Barvení na kolagen.....	90
2. Barvení na elastiku .....	90
a. Barvení elastických vláken orceinem .....	90
b. Barvení elastických vláken aldehydovým fuchsinem.....	90
c. Barvení elastických struktur resorcinolovým fuchsinem .....	91
3. Znázornění retikula .....	92
a. Impregnace retikula .....	92
b. Impregnace retikulárních vláken podle Gomoriho .....	92
c. Impregnace retikulárních vláken podle Foota .....	93
XI. Speciální metody histopatologické.....	95
1. Znázornění amyloidu .....	95
a. Reakce jodová a jodosírová.....	95
b. Barvení amyloidu metylovou violetí (reakce metachromatická) .....	95
c. Barvení amyloidu kongo červení.....	96
2. Barvení bakterií v tkáňových řezech.....	96
a. Barvení bakterií methylénovou modří podle Löfflera .....	96
b. Barvení bakterií a fibrinu v řezech podle Grama.....	97
c. Barvení tuberkulózních bacilů (mykobakterií) v řezech podle Ziehl-Neelsena.....	97
XII. Cytologické vyšetření buněk v nátěrech .....	99
1. Barvení nátěrů podle Papanicolaoua.....	99
XIII. Rychlé zhotovování histologických preparátů z biopsií a nekropsií .....	101
XIV. Metody neurohistologické .....	104
1. Barvení tigroidní (Nisslovy) substance .....	104

---

2. Barvení myelinových pochev .....	105
a. Barvení myelinových pochev podle Kulčického .....	105
b. Barvení myelinových pochev podle Spielmayera.....	106
c. Barvení degenerujících nervových vláken s myelinovou pochvou .....	106
d. Barvení myelinových pochev luxolovou modří MBS .....	107
3. Impregnace nervových vláken .....	107
a. Impregnace nervových fibril podle Bielschowského .....	108
b. Impregnace nervových fibril podle Schultze-Stöhra.....	109
c. Impregnace degenerujících nervových vláken podle Nauty .....	110
d. Impregnace periferních nervových vláken a nervových zakončení (Grossové-Bielschowského-Lavrentěvova metoda, modifikace) .....	114
e. Impregnace in toto .....	115
f. Impregnace nervových vláken v parafinových řezech.....	116
Metoda Palmgenova .....	116
Metoda Richardsonova-Spaetheho.....	117
4. Znázornění neuroglie .....	118
a. Hortegova metoda k impregnaci astrocytů v modifikaci Penfieldově .....	119
b. Impregnace astrocytů chloridem zlatitým se sublimátem v Cajalově modifikaci.....	120
c. Globusova modifikace pro tkáň fixovanou formolem .....	121
d. Penfieldova modifikace Hortegovy metody s karbonátem stříbra pro mikroglii a oligodendroglii (Penfield II).....	121
e. Barvení vláknité neuroglie podle Holzera.....	122
XV. Zhotovování preparátů z tvrdých tkání.....	124
1. Odvápňování (dekalcifikace-demineralizace).....	124
a. Odvápňování kyselinou mravenčí.....	124
b. Odvápňování Chelatonem .....	125
2. Zhotovování výbrusů .....	125
XVI. Průkaz polysacharidů .....	127
1. PAS reakce .....	127
2. Průkaz glykogenu .....	128
3. Reakce metachromatická .....	130
4. Extinkce methylénovou modří (MBE test) .....	131
5. Průkaz kyselých mukopolysacharidů .....	131
a. Barvení kyselých mukopolysacharidů alciánovou modří .....	131
b. Barvení kyselých mukopolysacharidů dialyzovaným železem (Hale) .....	131
6. Barvení hlenu .....	132
XVII. Průkaz lipidů.....	134
1. Průkaz lipidů barvivy rozpustnými v tucích .....	134
2. Průkaz fosfolipidů .....	135
3. Průkaz mastných kyselin .....	137
4. Průkaz lipidů oxidem osmičelým .....	138
5. Barvení lipidů sulfátem nilské modře .....	138
6. Průkaz cholesterolu .....	138
XVIII. Průkaz enzymů .....	140
1. Enzymy a jejich vlastnosti .....	140
2. Odběr materiálu a fixace .....	140
3. Průkaz fosfatáz .....	141
a. Metoda azokopulační .....	141
Průkaz alkalické fosfatázy pomocí substituovaných naftolů .....	141
Průkaz kyselé fosfatázy pomocí substituovaných naftolů .....	143
b. Průkaz alkalické fosfatázy metodou Gomoriho .....	145
4. Průkaz nespecifické esterázy .....	146
a. Průkaz esterázy pomocí acetátu ze substituovaných naftolů .....	146
b. Průkaz esteráz 5-bromoindoxylacetátem .....	146

5. Průkaz dehydrogenázy kyseliny jantarové .....	147
XIX. Průkaz pigmentů .....	149
1. Průkaz hematogenních (hemoglobinogenních) pigmentů .....	149
a. Průkaz hemoglobinu benzidinem .....	149
b. Gmelinova reakce k průkazu bilirubinu a hematoidinu .....	149
c. Průkaz žlučových pigmentů Lugolovým roztokem (Stein) .....	150
2. Průkaz melaninu .....	150
a. Argentaffinní reakce .....	151
b. Bodianova reakce .....	151
c. Průkaz melaninu dvojmocným železem (Lillie) .....	151
d. Bělení melaninu peroxydem vodíku .....	152
3. Průkaz lipofuscinu .....	152
a. Průkaz lipofuscinu podle Schmorla .....	152
b. Průkaz lipofuscinu sulfátem nilské modře .....	153
c. Barvení lopofuscinu chromitým hematoxylinem podle Gomoriho .....	153
4. Průkaz enterochromaffinních granul.....	154
a. Diazoniová reakce .....	154
b. Gibsova reakce .....	155
5. Průkaz adrenalinu a noradrenalinu .....	155
a. Chromaffinní reakce .....	155
b. Průkaz noradrenalinu jodičnanem draselným .....	155
XX. Průkaz anorganických látek .....	157
1. Průkaz železa .....	157
a. Perlsova reakce na trojmocné železo .....	157
b. Reakce na železo turnbullovou modři.....	157
2. Průkaz kalcia .....	157
a. Průkaz kalcia podle Kossy .....	158
b. Metoda Gohsova.....	158
XXI. Imunocytochemie.....	159
XXII. Základy elektronové mikroskopie .....	160
1. Fixace.....	160
a. Fixační tekutiny s oxidem osmičelým .....	160
b. Fixační tekutiny s glutaraldehydem .....	161
2. Zalévání a krájení tkáně .....	162
3. Kontrastování řezů .....	166
XXIII. Základy mikrofotografie .....	168
1. Mikrofotografický přístroj .....	168
2. Postup při mikrofotografování .....	171
3. Volba negativního materiálu.....	171
4. Volba barevného filtru.....	171
5. Zaostření.....	171
6. Expozice.....	172
7. Negativní proces .....	172
8. Pozitivní proces .....	172
9. Barevná mikrofotografie.....	174
a. Volba materiálu a expozice .....	174
b. Vyvolávání barevného filmu .....	174
XXIV. Ústojné roztoky .....	176