

## ČESKÁ SPOLEČNOST HISTO-

**Česká společnost histo- a cytochemická (ČSHC) je dobrovolná odborná organizace sdružující zájemce z pracovišť vysokých škol a Akademie věd České republiky, kteří ve své práci využívají a dále rozvíjejí histochemické, imunohistochemické a cytochemické techniky. Každoroční sjezdy**

**československých cyto- a histochemiků se konají již od roku 1963 s pravidelnou participací zahraničních účastníků.**



FOTO: ARCHIV AUTOFA

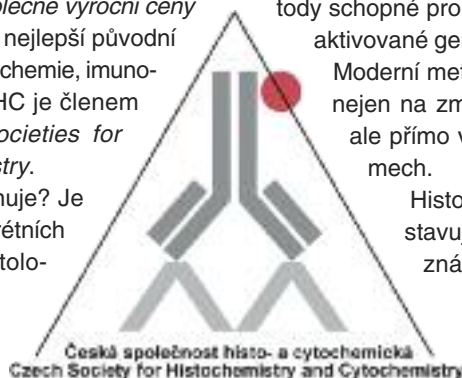
**Spoluzakladatel a dlouholetý předseda České společnosti histo- a cytochemické Zdeněk Lojda**

**N**a založení společnosti měli největší zásluhu J. Švejda, Z. Lodin a Z. Lojda. Tehdejší výbor společnosti byl volen s cílem pokrýt všestranné využití histochemie v různých biomedicínských disciplínách, a proto byly zavedeny např. sekce histologicko-embryologická, anatomická, hematologická, botanická, elektronově mikroskopická a biochemická. Vedle společných setkání, zahrnovaly aktivity společnosti pořádání pracovních workshopů i tisk metodických publikací. Významným propagátorem histochemie u nás byl její dlouholetý předseda prof. Zdeněk Lojda (obr. 1), jehož monografie *Enzyme histochemistry* vydaná nakladatelstvím Springer v Berlíně dodnes patří mezi nejdůležitější histochemické manuály. Po smrti prof. Z. Lojdy v r. 2004 byly na jeho počest výroční sjezdy České společnosti histo- a cytochemické i Slovenské společnosti histo- a cytochemické pojmenovány jako *Lojda Symposium on Histochemistry*. ČSHC usiluje o šíření nových poznatků v souvisejících oborech např. také podporou zahraničních cest mladých histochemiků a udělováním *Společné výroční ceny ČSHC* a firmy Nikon, s. r. o., za nejlepší původní vědeckou publikaci v oboru histochemie, imunohistochemie a cytochemie. ČSHC je členem *International Federation of Societies for Histochemistry and Cytochemistry*.

Co vlastně histochemie zahrnuje? Je to obor, který k průkazu konkrétních látek ve tkáni (tj. nejčastěji v histolo-

gických řezech) využívá chemické detekční metody; v širším slova smyslu zahrnuje i postupy pro doložení těchto látek v buňkách (tzv. cytochemie). K průkazu prvků a základních sloučenin lze využít postupy používané analytickou chemií, zejména pokud reakce končí tvorbou barevného a nerozpustného produktu, který se odečítá mikroskopicky (klasická histochemie). Metabolismus buněk se realizuje prostřednictvím enzymatických reakcí. Enzymatickou aktivitu ve tkáni lze histochemicky identifikovat, pokud buňky inkubujeme s příslušným substrátem, který je enzymem konvertován na barevný produkt; příslušné detekční postupy zahrnuje enzymová histochemie. K doložení cukernatých řetězců slouží lektinová histochemie. Makromolekuly jako např. proteiny lze detekovat specifickými protilátkami značenými markerem (imunohistochemie). Sekvence nukleových kyselin (DNA, RNA) v buňkách lze prokázat značenými sondami tvořenými komplementárními nukleotidy (in situ hybridizace). Vedle těchto postupů se využívají i další metody schopné prokázat receptory či jejich ligandy, aktivované geny a jejich produkty i celé buňky. Moderní metody umožňují provádět analýzu nejen na zmrazených a fixovaných řezech, ale přímo v živých buňkách nebo organelech.

Histochemie a cytochemie tak představují jedinečné nástroje pro poznání živé přírody a jejich využití



# A CYTOCHEMICKÁ

při vyšetřování biologických vzorků je všestranné (viz obrázky). Výše uvedené postupy umožňují specificky prokázat nejrůznější vlastní i cizí látky uvnitř buněk a tkání. Lze tak detekovat expresi jednotlivých genů, vlastní produkty metabolismu, ale stejně dobře i látky tělu cizí, které byly do tkání a buněk zaneseny traumatem nebo exogenními vektory. Histochemie umožňuje studium vitálních procesů uvnitř buněk včetně jejich normálního vývoje, regenerace i buněčné smrti a též odchylek vzniklých za patologických procesů. Jednoznačná identifikace exprese charakteristických znaků je důležitá pro rozlišení jednotlivých typů buněk, tj. jejich fenotypizaci. Význam těchto postupů, které se stále zpřesňují, je doceňován např. při hledání buněk zodpovědných za iniciaci nádorů, při charakteristice diferenačního potenciálu kmenových buněk nebo sledování migrace buněk při morfogenezi základů formujících se orgánů. Přesné odlišení změn v buňkách a tkáních s pomocí histochemie též umožňuje hodnocení vlivu různých činitelů na tkáň a zevrubnou dokumentaci reakce tkáně. Nezasupitelné místo si histochemické techniky získaly v histopatologické diagnostice. V experimentu je jejich využití ještě rozmanitější; umožňuje např. identifikaci transplantovaných buněk v tkáni příjemce a současně poskytuje informace o jejich vztahu k dalším tkáním a buňkám příjemce a současně prověřit jejich funkčnost a životaschopnost.

Rozlišení histochemických reakcí se značně liší a závisí nejen na vzorku a množství stanovené látky v něm, ale také na dalších parametrech včetně volby detekčního postupu a způsobu odečítání výsledné reakce. Tam, kde je prokazované látky velké množství, je možno reakci odečíst makroskopicky v celém orgánu nebo organismu, čehož lze využít např. při barvení alciánovou modří a alizarinovou červení k doložení chrupavčité a kostěné části skeletu embrya. Rutinním postupem je odečítání reaktivity např. na histologickém řezu s pomocí světelného (optického) mikroskopu. Jemnější rozlišení poskytuje fluorescenční mikroskop, vhodný k pozorování pochodů uvnitř buněk. Ještě větší zvětšení umožňuje transmisní elektronová mikroskopie, při níž lze sledovat pochody uvnitř buněk na úrovni buněčných organel. Slabý specifický signál lze ve tkáni zesílit s využitím speciálních amplifikačních a intenzifikačních metod, díky čemuž získali morfologové do rukou nástroje s citlivostí takových moderních molekulárně biologických metod, jako je PCR.



FOTO: L. ČECH, LF MU

**Histo- a ultrahistochemický průkaz glykogenu ve 2-buněčném zárodku potkana. Beta-částice glykogenu v kortikální cytoplazmě jedné blastoméry se zbytkem bičíku spermie po barvení Thiéryho metodou (PA-TSC-SP); elektronový mikroskop, nekонтastováno. Vložený obrázek: PAS reakce na řezu blastoméry zárodku; světelný mikroskop.**

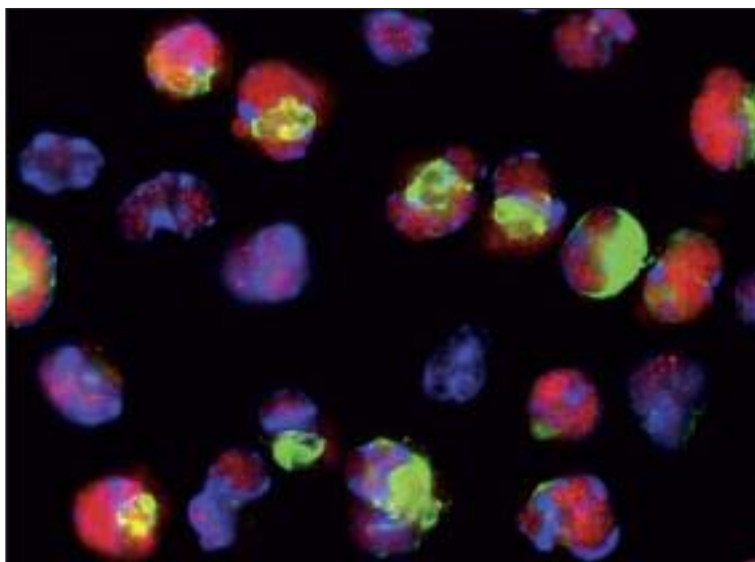


FOTO: M. ČERVINKA, E. RUDOLF A. J. CERMAN, LF HK

**Detekce programované buněčné smrti. Trojmocný chrom ve formě pikolinátu po 12hodinové expozici navodí apoptózu všech buněk linie Hep-2. Zeleně je znázorněna přítomnost fragmentu cytokeratinu-18 (antigen M30), který je markerem apoptózy v epitelových buňkách. Červeně je ve stejném vzorku detekována kaspáza-3 (fungující jako „exekutivní“ enzym apoptózy). Jádra buněk, resp. jejich fragmenty jsou dobarveny modře barvivem DAPI (4 ,6-diamidino-2-phenylindol).**

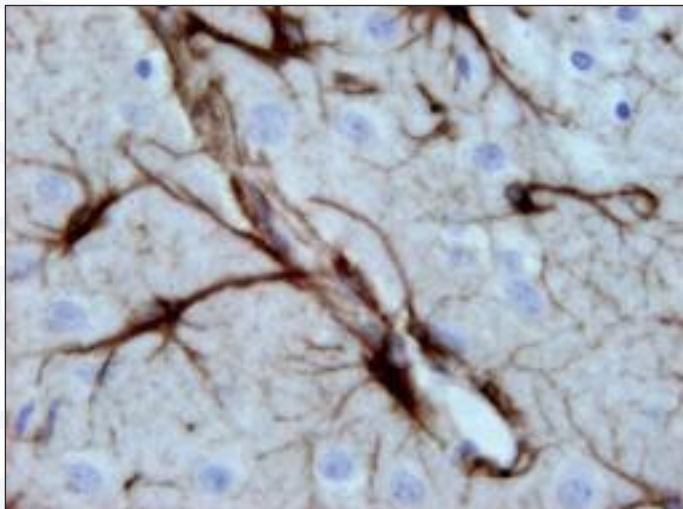


FOTO: J. MOKRÝ, LF HK

**Imunoperoxidázová detekce astrocytů. Specifická protilátka rozpoznávající gliální fibrilární kyselý protein (GFAP) byla použita k průkazu astrocytů v mozku potkana. Antigen byl prokázán trojstupňovou nepřímou metodou s využitím konjugátů s křenovou peroxidázou, jejíž přítomnost byla odhalena reakcí s diaminobenzidinem za vzniku hnědavé sraženiny. Reakce slouží nejen k identifikaci astroglie, ale též ke znázornění průběhu jejich výběžků formujících perivaskulární ohraničující membránu (komponentu hematoencefalické bariéry) mozkových kapilár.**

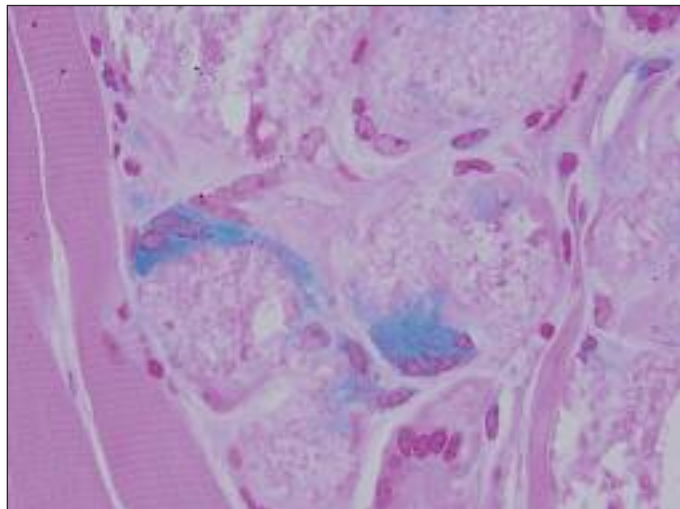


FOTO: D. ČÍŽKOVÁ, LF HK

**Identifikace transplantovaných buněk v experimentu. K jednoznačné identifikaci transplantovaných buněk ve tkáních příjemce lze využít endogenních vektorů, jimiž jsou buňky dárce značeny, např. gen lacZ, který kóduje bakteriální  $\beta$ -galaktosidázu. Průkaz této enzymatické aktivity X-Gal substrátem označí hledané buňky modře. Zde tuto reaktivitu vykazují vícejaderné buňky cizích těles obklopující nekrotická vlákna kosterní svaloviny. Glykolmetakrylátový polotenykový řez.**

Výhodou histochemických přístupů oproti chemickým a molekulárně biologickým metodám je, že dovolují nejen stanovit přítomnost hledané látky, ale též vyšetřit její distribuci ve tkáni či buňkách. Speciální postupy jako např. obrazová analýza umožňují i kvantitativní hodnocení obsahu látky v řezu. Kombinací přístupů lze dosáhnout simultánního průkazu více

látek v jednom vzorku. Pro své přednosti jsou histochemické metody nenahraditelné při získávání informací o stavbě a funkci organismů, jejich tkání a buněk. ■

JAROSLAV MOKRÝ,  
předseda České společnosti histo- a cytochemické

**Ředitel Geologického ústavu AV ČR, v. v. i., vyhláší výběrové řízení na obsazení míst vědeckých pracovníků v oborech:**



**Geologie;  
Petrologie, geochemie;  
Geologie a geochemie životního prostředí;  
Paleontologie;  
Geofyzika a geomechanika.**

**Požadavky:** ukončené VŠ vzdělání v příslušném oboru.

Příhlašky s životopisem, přehledem publikační, odborné, event. pedagogické činnosti a doklady o splnění kvalifikačních předpokladů zasílejte do **9. listopadu 2010** na adresu

Geologický ústav AV ČR, v. v. i., Rozvojová 269, 165 00 Praha 6-Lysolaje.

Ref.: Uldrychová, telefon 233 087 208, [www.gli.cas.cz](http://www.gli.cas.cz).

Výběrové řízení se bude konat dne **23. listopadu 2010 od 9:00 hod.** v hlavní budově Geologického ústavu AV ČR, v. v. i.



# bulletin 10

ab ŘÍJEN 2010

akademický



*Průkaz kadmia v plodu myši. K průkazu kovu byla použita histochemická technika podle Pearse, jejíž princip spočívá v konverzi příslušného kovu v sulfid. Pro vizualizaci sulfidů kovů bylo provedeno tzv. fyzikální vyvolávání. Reakce je patrna zejména v játrech. O České společnosti histo- a cytochemické čtěte na str. 20–22.*