

# REACCIÓN DE ALCIAN BLUE\*

## Fundamento

La técnica de Alcian Blue se basa en la interacción de un colorante catiónico con mucopolisacáridos ácidos – carboxilados o sulfatados- y sialomucinas de los tejidos, siendo Alcian blue 8GX el reactivo recomendado.

Los grupos sulfatos y carboxilatos del condroitín sulfato, dermatán sulfato, heparán sulfato y ácido hialurónico están ionizados a pH 2,5, por lo cual se tiñen los compuestos de proteoglucanos y ácido hialurónico de tejido conectivo y cartílago. Lo mismo ocurre con las mucinas epiteliales, como sialomucinas y sulfomucinas del intestino, que son reactivas a pH 2,5. Por el contrario, las mucinas de la mucosa gástrica y de las glándulas submucosas de Brünner no son reactivas a AB.

Variar el pH de la solución es útil para clasificar los subtipos de mucinas presentes en los tejidos. Las mucinas carboxiladas se tiñen a pH 2,5, pero no a pH 1. Sí se tiñen aquellas sulfatadas, que se ionizan a bajo pH. Así, dependiendo del pH a la que se prepare la solución, variarán las moléculas teñidas y, por tanto, la interpretación.

Reacción	Interpretación
Alcian blue pH 2,5	Mucinas ácidas débiles (sulfomucinas y sialomucinas) de color turquesa
Alcian blue pH 1	Sulfomucinas ácidas y proteoglicanos de azul turquesa oscuro
Alcian blue pH 0,5	Mucinas sulfatadas fuertemente ácidas de azul turquesa

**Reactivos** Alcian blue 8GX (polvo)

Según pH seleccionado, la fórmula de preparación será:

Reactivos	Ácido acético	Ácido clorhídrico	Agua destilada	pH
1 gr	3ml	-	csp 100 ml	2,5
1 gr	-	10 ml 0,1N	90 ml	1

Luego, filtrar la solución colorante obtenida.

## Procedimiento

1. Desparafinar:
  - a. 2 baños de xileno de 10-15 min c/u,

- b. 4 baños de alcoholes (2 x 96°, 1 x 80°, 1 x 70°) de 2 min c/u,
  - c. 2 baños de agua destilada, 2 min c/u.
2. Colorear con solución de Alcian blue durante 5 a 30 minutos.<sup>1</sup>
  3. Lavar con agua corriente durante 2 minutos.
  4. Enjuagar con agua destilada.
  5. Colorear con Hematoxilina para tinción nuclear de contraste, 2 min<sup>1</sup>.
  6. Enjuagar y virar con agua corriente. Enjuagar con agua destilada.
  7. Secar en estufa a 35°C durante 24 hs.<sup>2</sup>
  8. Montar con cubreobjetos.

<sup>1</sup> Se recomienda hacer pruebas a diferentes tiempos para ajustar la técnica.

<sup>2</sup> Puede hacerse una deshidratación con pasos inversos al desparafinado (alcohol 70°, al. 80°, al. 96° o 100° x 2, 1-2 min c/u; xileno x 2, 5-10 min.).

## Resultado

Mucinas ácidas	Azul
Proteoglicanos, ácido hialurónico	Azul

## Alternativa

Se puede realizar una coloración de contraste con rojo rápido nuclear (Nuclear fast red) en lugar de HE en el paso 5. El tiempo de esta tinción es de 10 minutos, y como resultado se tiñen los núcleos de color rojo.

\* Protocolo utilizado en el Laboratorio de Histología, FCV, UNICEN

## Bibliografía

- 1- Martoja, R.; Martoja-Pierson, M. *Técnicas de histología animal*. Edit. Toray-Massón 1970.
- 2- Suvarna, K.; Layton, C.; Bancroft, J. D. *Bancroft's Theory and practice of histological techniques*. 8va Ed. ELSEVIER, 2019.
- 3- Biblioteca de Ciencias de Salud de la Universidad de UTAH. Disponible en: [library.med.utah.edu/WebPath/HISTHTML/MANUALS/ALCIAN.PDF](http://library.med.utah.edu/WebPath/HISTHTML/MANUALS/ALCIAN.PDF)
- 4- Alcian Blue Staining Protocol. IHCWorld. [ihcworld.com/\\_protocols/special\\_stains/alcian\\_blue\\_ellis.htm](http://ihcworld.com/_protocols/special_stains/alcian_blue_ellis.htm)
- 5- Myers, R. Special Stain Techniques for the Evaluation of Mucins. Leica Biosystems [leicabiosystems.com/pathologyleaders/special-stain-techniques-for-the-evaluation-of-mucins/](http://leicabiosystems.com/pathologyleaders/special-stain-techniques-for-the-evaluation-of-mucins/)