

Metoda: Jonesova impregnace

Barbora Neckářová, ZL2

Školitelé: Bc. Vladimíra Balínová, Oddělení patologie – Nemocnice Hořovice

Princip: Metoda impregnace dle Jonese je založena na prosycení tkáně solí stříbra. Využívá se zde přítomnosti poměrně hojného množství glukózy a mnoha hexóz v bazální membráně. Tyto látky se oxidují na aldehydy, které jsou schopné reagovat s kyselinou jodistou. Kyselinou oxidované aldehydy následně vyredukuje elementární stříbro z použitého impregnačního roztoku, v tomto případě dusičnanu stříbrného. Takto impregnované membrány jsou nakonec zafixovány thiosíranem sodným a tónovány chloridem zlatitým. Bazální membrány tak ve výsledném barvení získávají charakteristické černé zbarvení, jádra vidíme modře, sacharidy fialově a retikulin, kolagen, často i chromatin v různých odstínech šedé.

Uplatnění metody: Metoda se využívá k zobrazení bazálních membrán v parafinových řezech. To je nejčastěji uplatňováno u vzorků ledvinných glomerulů. Patologické změny bazálních membrán glomerulárních kapilár jsou totiž často ukazatelem onemocnění ledvin jako může být například nefropatie nebo glomerulonefritida. Tato metoda nám tedy může dopomoci k zobrazení ztlustělých glomerulárních kapilár nebo porušené elastické laminy arterií v ledvinách.

Úskalí metody: Impregnační metody obecně jsou velmi citlivé. Je při nich potřeba velmi důsledně dbát na čistotu ať už použitých chemikálií, tak i laboratorního skla. Musíme také přesně dohlížet na správný postup zpracování. I nastavení časových úseků jednotlivých kroků může být úskalím metody. Doba působení jednotlivých reagensů totiž závisí i na teplotě a koncentraci použitých látek. Metodu by tak měl provádět zkušený laborant, aby výsledné barvení bylo optimální a preparát dobře odečitatelný. I proto se v průběhu impregnace doporučuje provést kontrolu skla se vzorkem pod mikroskopem, aby nedošlo např. k přílišnému „zčernání“ preparátu, nebo naopak, aby impregnace byla dostatečná.

Přístrojové vybavení: Pro přípravu preparátu obarveného impregnační metodou dle Jonese je tkáň prosycena zkvalitněným parafínem v autotechnikonu (tkáňovém automatu), následně zalita do parafinového bločku na speciálním přístroji, tzv. zalévadle. Takto připravený tkáňový bloček je pak nakrájen nejčastěji na sáňkovém nebo rotačním mikrotomu a natažen na podložní sklo. Skla se vzorky jsou poté v autotechnikonu znovu odparafinována, nabarvena (může být použit barvicí přístroj) a smontována v montovacím přístroji. Následně je již hotový preparát prohlížen pod světelným mikroskopem.

Odběr a transport: Odběr biopsie ledviny, která bude barvena metodou dle Jonese je proveden probatorní punkcí pomocí speciální bioptické jehly. Do této duté jehly je po vpichu odebrán malý vzorek ledvinné tkáně (váleček). Důležité je, aby ve vzorku byla odebrána i dostatečná část kůry ledvin, kde jsou uloženy právě nejčastěji sledované glomeruly. K výkonu bývá také použit ultrazvuk pro kontrolu přesnosti vpichu. Transport do laboratoře by měl být, pokud možno rychlý, důležité je chránit materiál před mrazem nebo velkým teplem. Je třeba dbát také na to, aby byly všechny vzorky správně označeny a nemohlo tak dojít k jejich záměně.