

Metoda: Znázornění bazálních membrán - Jonesova impregnace

Studentka: Tetyana Bryndak (2. ročník ZL)

Školitel: Petr Ferczadi, Dis.

Šiklův ústav patologie FN Plzeň Lochotín

Princip metody: Bazální membrána glomerulu a tubulů ledvin, je dobře barvitelná PAS reakcí na průkaz polysacharidů. V bazální membráně jsou celkem vysoké koncentrace glukózy a hexózy, jejichž hydroxylové skupiny mohou být oxidovány na aldehydy. Vzniklé aldehydy jsou následně využity v reakcích, sloužících k průkazu bazálních membrán. Jedou z těchto reakcí je Jonesova impregnace.

Jonesova impregnace je založena na přeměně funkčních skupin sacharidových jednotek na aldehydy, které mají redukční vlastnosti. Tyto aldehydy jsou následně oxidovány kyselinou jodistou a jsou schopné redukovat elementární stříbro z pracovního roztoku methenamin-stříbro. Výsledná impregnace je fixována roztokem thiosíranu sodného a tónována chloridem zlatitým.

Uplatnění metody: Změnou struktury a vlastností bazální membrány se projevuje celá řada onemocnění ledvin jako jsou především glomerulonefritidy a nefropatie. Tyto změny jsou, v porovnání s ostatními histologickými barvenými, lépe pozorovatelné s využitím impregnačních metod.

S využitím Jonesovy impregnační metody je snadné sledovat změny v bazální membráně. Například její ztlustění u glomerulárních kapilár vlivem přítomnosti imunologických komplexů u membranózní glomerulonefritidy, změny způsobené depozity amyloidu u amyloidózy, či zdvojení membrána basalis u membranoproliferativní glomerulonefritidy.

Dobře provedený průkaz stříbrných metod umožní patologovi nejen identifikovat bazální membránu glomerulu, ale současně i rozpoznat základní diagnostické změny její utváření.

Úskalí metody: Metoda je velmi citlivá na působení vnějších vlivů, stejně jako na kvalitu a čistotu použitých chemikálií a laboratorního vybavení. Z toho důvodu je velmi obtížné stanovit přesné časové úseky, které mají být použity pro dosažení optimální impregnace hledaných struktur. Je na zkušenostech a schopnostech laboranta/ky, aby případně upravil/a jednotlivé kroky za účelem optimálního výsledku. Doba inkubace s pracovním roztokem je variabilní a závisí na teplotě, koncentraci jednotlivých složek roztoku a použitém materiálu.

Přístrojové vybavení: Při zhotovení histologického preparátu je zapotřebí odvodnění a následné prosycení tkáně parafínem. Tyto procesy probíhají v autotechnikonu. Dále je zapotřebí tzv. parafínové linky, kde probíhá zhotovení parafínového bloku. Pro zhotovení histologického řezu se využívá nejčastěji sáňkový mikrotom. Odparafínované řezy se barví v barvicím přístroji a následně montují v montovacím přístroji. Zhotovený histologický preparát se prohlíží pod světelným mikroskopem.

Odběr a transport: Biopsie pro metodu dle Jonese se získávají probatorní punkcí ledvinové tkáně. Biopsie se provádí speciální dvojistou bioptickou jehlou, která se přes záďové svalstvo zavede do ledviny. Do její vnitřní duté části se odebere váleček ledvinové tkáně, dlouhý asi jeden až dva centimetry a silný asi jeden a půl milimetru.

Biopsie se ihned odešle do laboratoře ústavu patologie v nefixované nativní podobě.