

Metoda: Znázornění retikulárních vláken - Gomoriho impregnace

Studentka: Denisa Mentlová (2.ročník ZL)

Školitel: Mgr. Lenka KRAUSOVÁ, Šiklův ústav patologie FN Plzeň Bory

Princip metody: Retikulární vlákna lze znázornit i PAS reakcí díky vysokému obsahu cukerných řetězců vázaných na α řetězce kolagenu III.

Retikulární vlákna mají přirozenou afinitu k solím stříbra. Tato jejich vlastnost je vhodným způsobem chemicky podpořena a retikulární vlákna jsou tak senzibilizována pro impregnaci ionty stříbra. Po impregnaci jsou navázané stříbrné ionty redukovány na elementární stříbro, což se projeví černým zbarvením v místech, kde se retikulární vlákna ve tkáni nacházejí. Poté dochází k tónování pomocí iontů zlata a následnému zafixování vzniklých komplexů. Po dobarvení preparátů vhodným barvivem, zvýrazňujícím buněčné jádro (případně i cytoplazmu), jsou v preparátech retikulární vlákna viditelná jako černé linie procházející tkání.

Uplatnění metody: Retikulární vlákna jsou jemná větvená vlákna uspořádaná do sítí tvořících retikulární vazivo jakožto pojivový základ řady tkání a orgánů, zejm. lymfatické tkáně, kostní dřene, jaterní tkáně. Znázornění retikulárních vláken v preparátu barveným hematoxylinem eozinem není viditelný. S využitím Gomoriho impregnační metody je snadné sledovat výskyt retikulárních vláken v preparátu. Dobře provedený průkaz stříbrných metod umožní patologovi snadno identifikovat retikulární vlákna.

Úskalí metody: Výsledek barvení může být ovlivněn prací laboranta nebo používanými roztoky chemikálií a barviv. Po oxidaci manganistanem draselným musí být preparát dokonale vybělen pyrosiřičitanem draselným (nesmí mít nahnědlou barvu). Impregnační metoda vyžaduje velmi čisté laboratorní sklo při přípravě stříbrného roztoku. Stříbrný roztok se připravuje pro každé barvení čerstvý. Po redukci stříbra v preparátu ve formaldehydu musí laborant zkontrolovat správnost reakce pod mikroskopem a případně znovu preparát impregnovat.

Přístrojové vybavení: Při zhotovení histologického preparátu je zapotřebí odvodnění a následné prosycení tkáně parafínem. Tyto procesy probíhají v autotechnikonu, který by měl být součástí snad každého většího ústavu patologie. Fixované vzorky je nutno nakrájet na tenké řezy. Aby bylo možno tkáň na mikrotomu nakrájet, musí být zakomponována do zalévacího média. Nejběžnějším médiem je parafín. Parafínový bloček krájíme na tenké řezy nejčastěji na sáňkovém mikrotomu nebo rotačním. Odparafinované řezy se barví v barvicím přístroji nebo ručně. Následně montují v montovacím přístroji. Zhotovený histologický preparát se prohlíží pod světelným mikroskopem.

Odběr a transport: Technika odběru se podřizuje tomu, aby byl vzorek odebrán co nejrychleji, nejšetrněji a aby nedocházelo ke zhmoždění tkání. K použití impregnace dle Gomoriho se nejčastěji odebírá např.: jaterní tkáň, slezina. Tkáň můžeme odebrat např.: pomocí resekce (během operace) nebo punkce. Po oddělení tkání od organismu, enzymy v lyzosomech obrátí svou funkci proti buňce. Tím dochází k autolýze. Odebranému vzorku hrozí rychlé znehodnocení. Proto je nutné zajistit zachování struktury vzorku a fixovat ho pomocí 4% pufrovaného formolu. Transport materiálu by měl být co nejrychlejší. Důležité je vzorek chránit před velkým teplem nebo mrazem.