

## Metoda: Zpracování jaterních punkcí v histologii

**Studentka:** Michaela Kališová (2.ročník ZL)

Školitelé: Bc. Lenka Krausová

Šiklův ústav patologie FN Plzeň

**Princip:** Fixovaná biopsie se nejdříve odvodní vzestupnou řadou lázní ethanolů (70%, 80%, 96%, 96%). Zbytek ethanolu a vody se odstraní jednou lázní acetonu a dvěma lázněmi xylenu. Následuje prosycení tkáně parafínem při teplotě 56-58°C ve dvou až třech lázních. Kazetky musí být před vlastním zalitím nahřívány, aby se vyšetřovaná tkáň nepřilepila ke spodní části kazety a nezatuhla na povrchu. Do zalévací komůrky se nalije zahřátý parafín a rychle se do něj přesune pomocí nahřáté pinzety tkáňový vzorek. Na teplé části zalévacího zařízení se může tkáň v parafínu orientovat a následně se přesune na chlazenou podložku, kde dojde k rychlému přituhnutí tkáně ke spodní části komůrky. Zalité a zatuhlé bločky se uchovávají do nakrájení na mrazících podložkách nebo v mrazáku. Ke krájení bloků se používá mikrotom, nejčastěji sáňkový. Vhodné tkáňové řezy se poté natahují na sklo. Před barvením se musí řezy zbavit parafínu odparafinováním. Použije se několik lázní xylenu a sestupná řada ethanolů (96%, 96%, 80%, 70%). Mimo základního barvení hematoxylin-eosin se na jaterní punkce nejčastěji používá Weigert van Gieson, Malloryho modrý trichrom, barvení na trojmocné železo, PAS a Schmorlova reakce. Někdy se také užívá speciální barvení na žluč, tuky a některé další pigmenty. Nabarvené řezy se ještě přikryjí krycími sklíčky. Lékař je poté vyhodnocuje pod mikroskopem.

**Uplatnění metody:** Histologické vyšetření je jen částí z celkového vyšetření pacientů při jaterních poruchách. Laboratorní metody mohou prokázat jednak poruchu funkce jater a jednak nekrózy jaterních buněk průkazem uvolněných enzymů.

**Úskalí metody:** Zpracování jaterních biopsií s sebou nese hodně zodpovědnosti, protože do laboratoře přichází malé množství materiálu. Zvláštní opatrnost musí být kladena při krájení na mikrotomu, kdy může dojít k znehodnocení celého bloku. Takové znehodnocení by znamenalo nutnost zopakovat odběr.

**Přístrojové vybavení:** Bloček s tkání prochází odvodněním, prosycením acetonem, xylenem a parafínem v autotechnikonu. Zalévání parafínem se provádí na zalévadle. Následné krájení na mikrotomu. Barvení probíhá v barvicím automatu. V neposlední řadě se používá mikroskop.

**Odběr a transport:** Vzorek se odebírá speciální silnou jehlou. Odběr se provádí za kontroly ultrazvukem nebo rentgenem tak, aby byl vzorek skutečně odebrán z podezřelého ložiska. Odebraný váleček je pak 1-2 mm tlustý, většinou 1-2 cm dlouhý. Výhodou je, že takto získaná jaterní tkáň pochází z povrchových i hlubokých oblastí jater. Jaterní punkce jsou standardně fixována slabým (4%) formolem. U metabolických onemocnění jsou játra vyšetřována z nativní tkáně v kryostatových řezech nebo po fixaci alkoholem.