

Milena Kvajo, Gordana Đorđević, Dubravka Rendulić, Iva Nakićen, Jasmina Zuzzi Janjetić, Renata Grabar

Klinički zavod za patologiju i citologiju, Klinički bolnički centar Rijeka

## UVOD

Elektronska mikroskopija (EM) je relativno mlada metoda, a njen razvoj doveo je do otkrića novih istraživačkih područja u raznim granama znanosti. U današnje vrijeme u dijagnostici postaje rutina.

Omogućuje uvid u promjene na substaničnoj razini koje su specifične za određenu bolest i uvedena je u medicinsku praksu 70-ih godina prošlog stoljeća prvenstveno u prepoznavanju tumora nepoznatog primarnog sijela. Danas se više koristi u rutinskoj dijagnozi neneoplastičnih poremećaja mikrobnih bolesti te u istraživanjima.

## vrste elektronskih mikroskopa

- FE-SEM (engl. Field Emission Scanning Electron Microscope)
- AFM (engl. Atomic-force Microscope)
- STM (engl. Scanning-tunneling Microscope)
- **Transmisijski elektronski mikroskop (TEM)**
- Skenirajući elektronski mikroskop (SEM)

## Primjena u dijagnostici

U dijagnostici bolesti se koristi TEM za promatranje uzoraka koji su propusni za elektrone, ima najjače moguće povećanje, pruža informacije o elementima i strukturi promatranog uzorka i jednostavan je za korištenje uz pravilnu obuku.

Nedostatak je što su mikroskopi veliki i skupi, zahtijevaju posebno održavanje i smještaj, pa se mnogi centri ne odlučuju za tu vrstu dijagnostike.

1952.g. nabavljen je prvi TEM u Hrvatskoj marke Trüb, Taüber & Co. AG Švicarska, od 1973. godine smješten u Tehničkom muzeju u Zagrebu

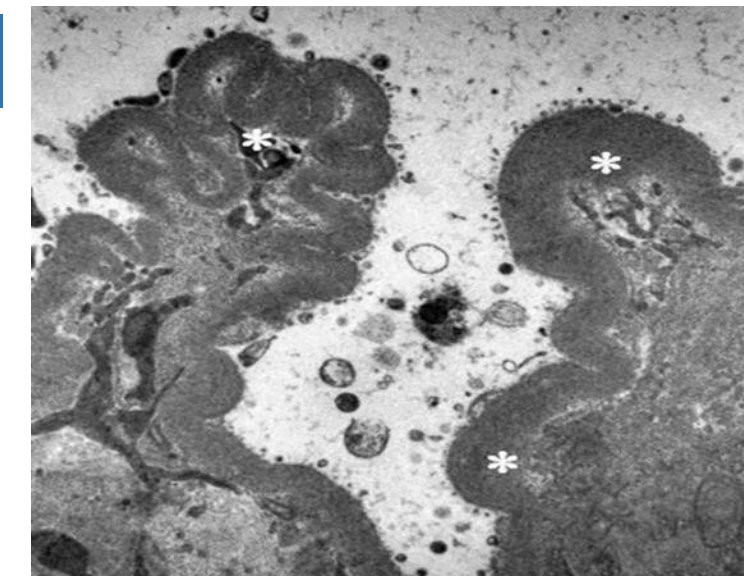
## Indikacije

### NENEOPLASTIČNE BOLESTI

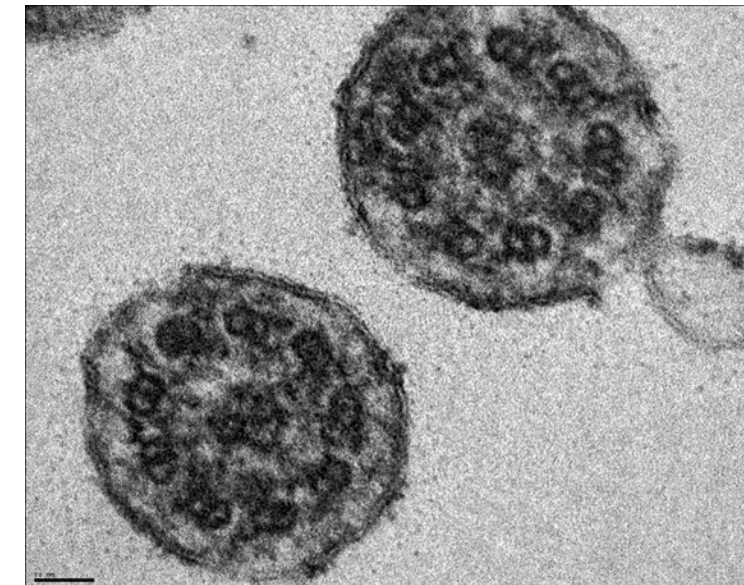
Glomerulopatije  
Mikrobne bolesti  
Abnormalnosti cilija  
Bolest mikrovilozne inkluzije (dd celijakija)  
Lizosomske bolesti nakupljanja  
Bulozni kožni poremećaji  
CADASIL (Cerebralna arteriopatija sa subkortikalnim infarktima i leukoencefalopatijom; familijarna, autosomno dominantna, Demencija)  
Periferne neuropatije  
Bolesti poprečno-prugastih mišića

### NEOPLAZME

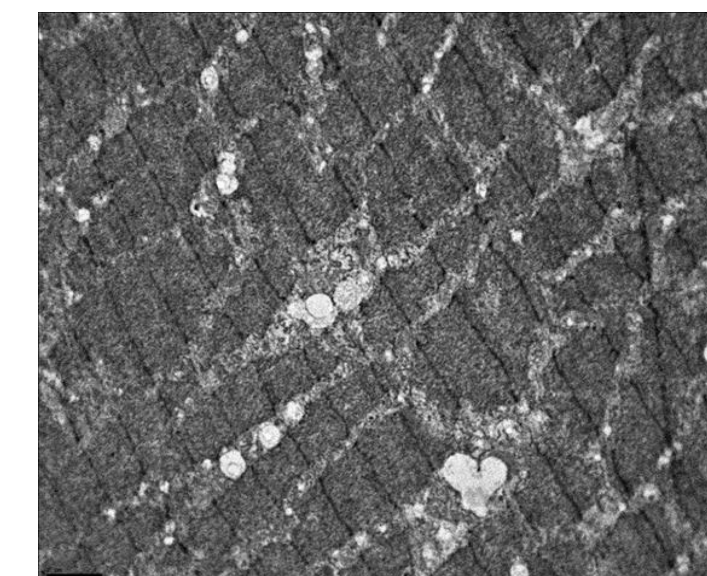
Mezoteliom ili adenokarcinom  
Tumori mekih tkiva  
Gastrointestinalni stromalni tumori  
Svijetlo stanični ependimom  
Sarkom dendritičkih retikulumskih stanica  
Pravi onkocitomi i „onkocitni“ epitelni tumori bubrega  
Nepoznati primarni tumor



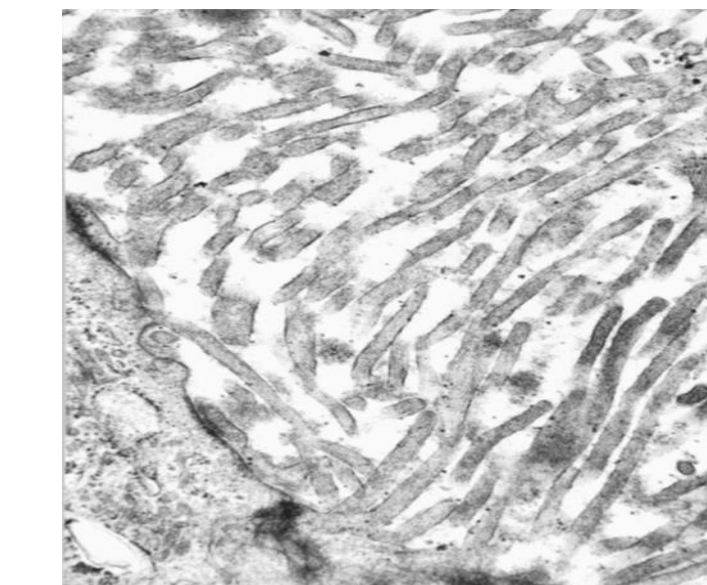
Bolest gustih depozita s vrpčastim zadebljanjem (\*) glomerularne bazalne membrane



Nalaz ultrastrukturalne analize respiratornih cilija govori u prilog kroničnih inflamatornih promjena sluznice u fazi cijeljenja.

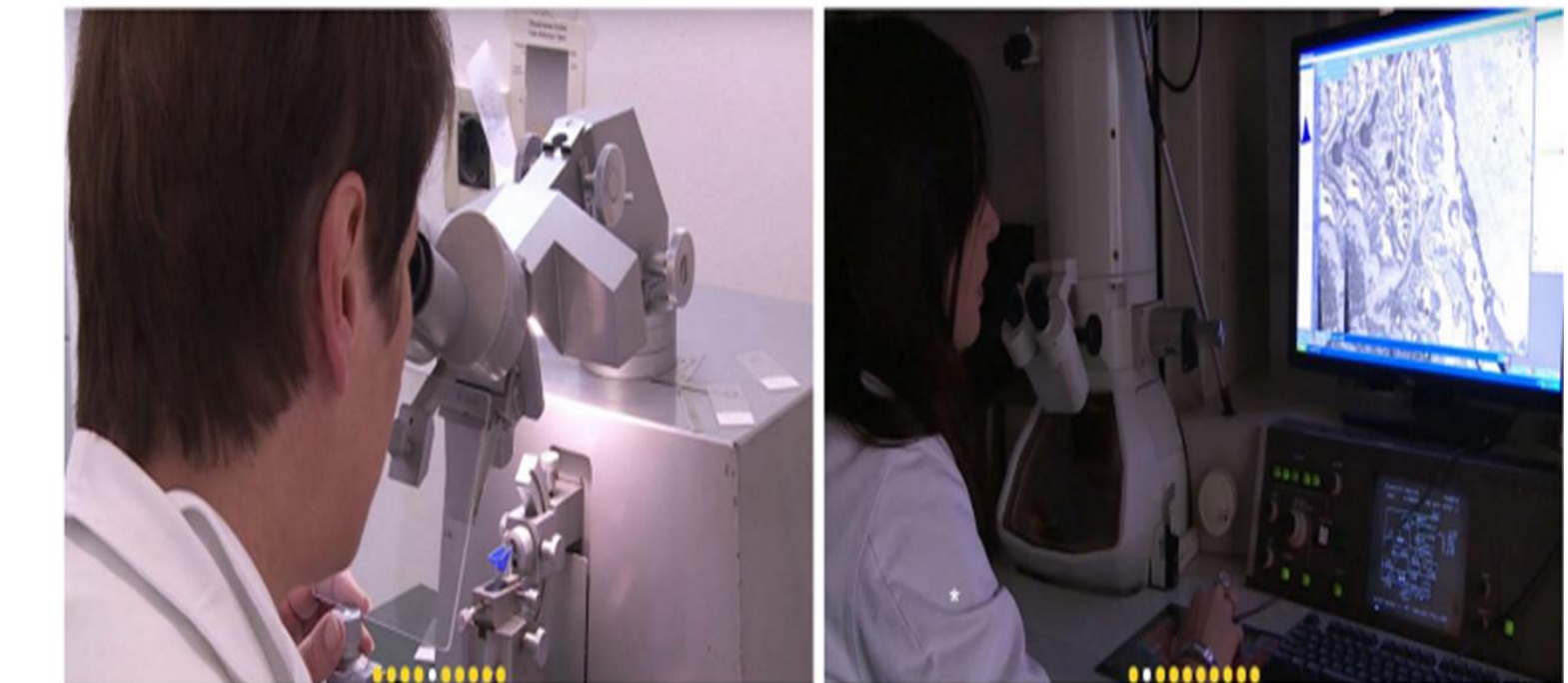


u uzorku skeletnog mišića miopatske promjene su posljedica dugogodišnje hormonske supstitucijske terapije.



Epitelni mezoteliom pleure. mikrovilli bez površinskog glikokaliksa na površini neoplastične mezotelne stanice DD Adenokarcinom pluća

Na Zavodu za opću patologiju i patološku anatomiju Medicinskog fakulteta u Rijeci Laboratorij za elektronsku mikroskopiju djeluje od 2002. godine kada je nabavljen sadašnji TEM koji ove godine obnovljen i ponovno pušten u rad



Laborantica Dubravka Rendulić izrađuje ultratanke rezove

Prof. dr.sc. Sanja Štifter u radu na mikroskopu

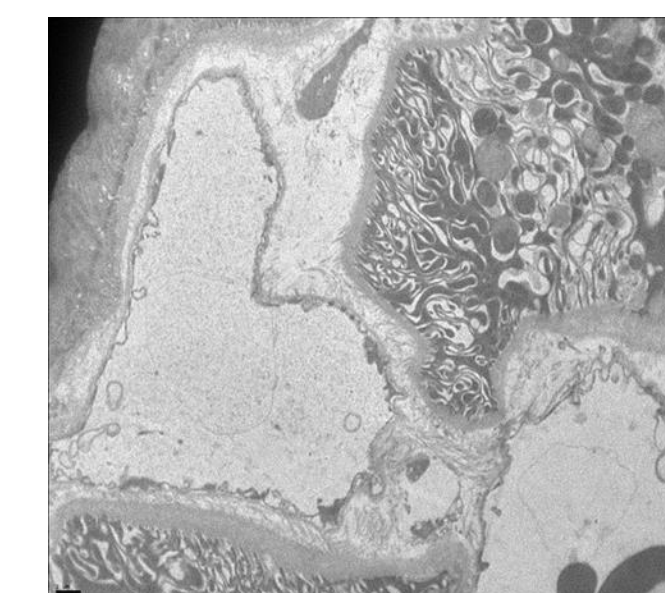
## ZAKLJUČAK

**TEM predstavlja neizostavan dio svih većih bolničkih ustanova i medicinskih centara, kako u svijetu, tako i u nas.**

**EM je zahtjevna i u postupcima i financijski, pa treba odabrati prave indikacije i ispravan način uzimanja materijala što se postiže dijalogom kliničara i patologa ali prije svega dobrom suradnjom patologa i laboranta.**

## literatura

- Štifter, S., Đorđević, G., Dekanić, A., Vranešić, Đ. i Jonjić, N. (2011). Primjena elektronske mikroskopije u dijagnostičkoj praksi. *Medicina Fluminensis*, 47 (3), 260-268.
- Bauman D, Gajović S. Elektronska mikroskopija u Hrvatskoj. Zagreb: Hrvatsko mikroskopijsko društvo; 2012. p. 122



Zahvaljujemo svim djelatnicima Kliničkog Zavoda za Patologiju i citologiju KBC Rijeka te Zavoda za Patologiju i Zavoda za Mikrobiologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Rijeci

## METODE

**Za postavljanje konačne dijagnoze važna je preanalitička faza EM tj pravilno uzorčenje, adekvatna obrada uzoraka i izrada ultratankih rezova za kvalitetne preparate koji se dobivaju primjenom standardiziranih postupaka prikazanih u ovom pregledu. Priprema preparata zahtjevnija je za laboranta zbog mogućnosti pojave artefakata uslijed pripreme uzoraka koji su limitirani na one transparentne za elektrone, koji mogu tolerirati vakum i dovoljno su mali da stanu u vakumsku komoru.**

## protokol izrade preparata

- Tkivo za elektronsku mikroskopiju fiksira se u 2,5 % glutaraldehydu, nakon čega slijedi postfiksacija u osmium tetraoksidu.
- Zatim tkivo dehidriramo kroz gradijent acetona 30%, 50%, 70%, 90% i 100%.
- Slijedi uklapanje tkiva u smolu u različitim omjerima smole i acetona (1:2, 1:1) iza čega slijedi čista smola i smola s akceleratorom.. Nakon što se tkivo stavi u smolu s akceleratorom, istovremeno se u kalup stavi mali papirić na koji se napiše broj biopsije bolesnika. Kod uklapanja, tkivo se prenese u kalup i pravilno orijentira. Kalup se nadopuni smolom i stavi u termostad 48h do 72h na 61°C.
- Za rezanje preparata za elektronsku mikroskopiju koristi se ultramikrotom.. Ultratanki rezovi su debljine od 60 nm do 240 nm, a polutanki 500 nm. Rezove pomoću posebne pincete hvatamo na bakrenu mrežicu.
- Krajnji postupak je kontrastiranje tj bojenje mrežica uranil-acetatom i olovnom citratom (Reynolds-ova otopina) nakon čega su spremne za mikroskopiranje.
- u suradnji sa Zavodom za mikrobiologiju MF Rijeka u tijeku je savladavanje IMUNOGOLD TEHNIKE za vizualizaciju molekula na ultrastrukturnoj razini označavanjem specifičnim antitijelima pomoću elektron neprozirnih markera ( čestice koloidnog zlata).