

Helga Frketić^{1,2}, Ankica Brajanić^{1,2}, Mirna Staver¹, Željka Kušen¹, Zvezdana Risteska¹, Jelena Đorđijevski Mavrincac¹, Christophe Štemberger^{1,2}, Kovička Matušić Ilijaš^{1,2}

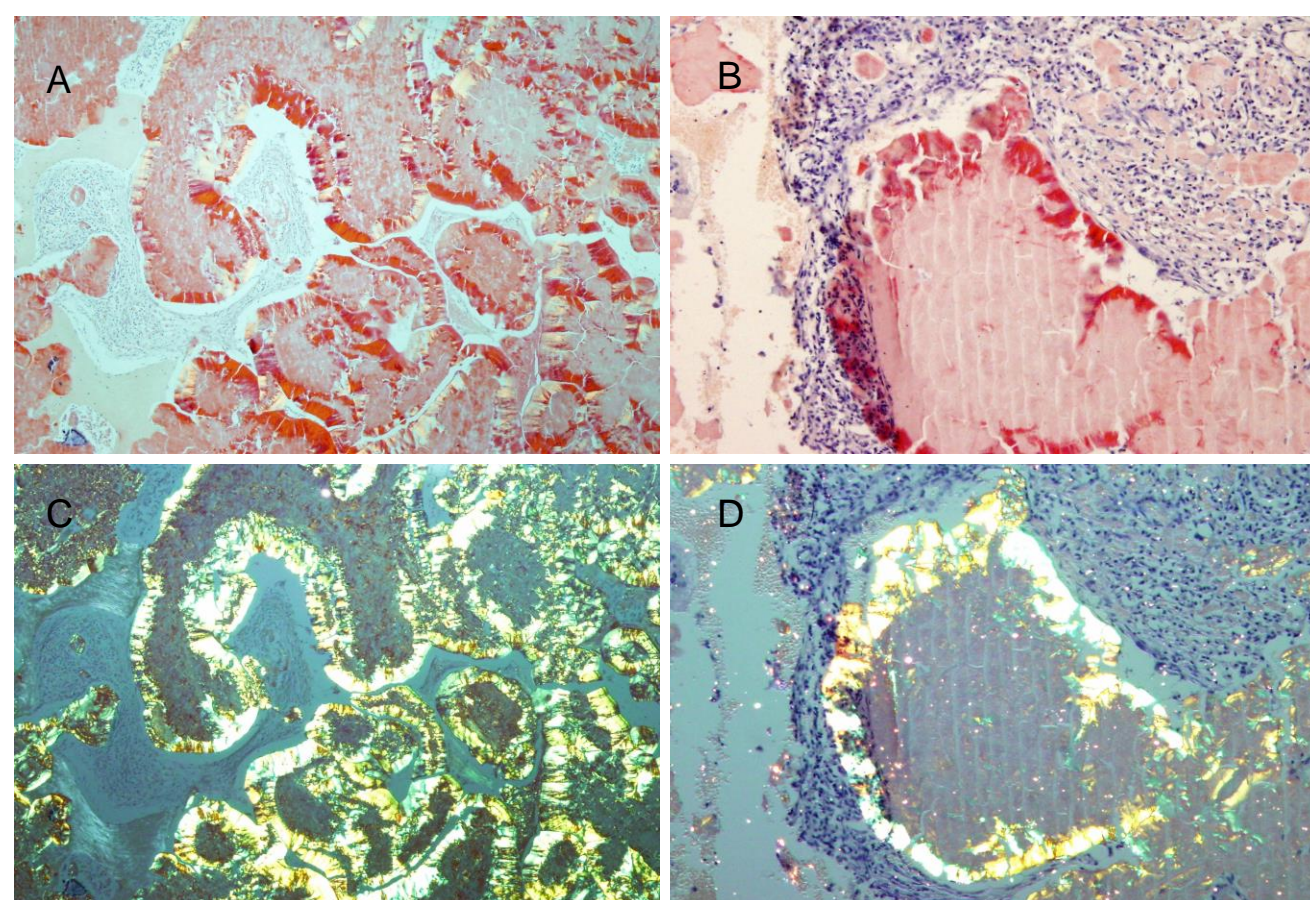
¹Klinički zavod za patologiju i citologiju, Klinički bolnički centar Rijeka, Rijeka, Hrvatska
²Zavod za opću patologiju i patološku anatomiju, Medicinski fakultet Rijeka, Rijeka, Hrvatska

Uvod

Sedamdesetpetogodišnja bolesnica podvrgnuta je operaciji zbog radiološki verificirane tumorske tvorbe gornjeg reznja lijevog pluća. Na Kliničkom zavodu za patologiju i citologiju KBC Rijeka nakon intraoperativne citološke analize tkivo je proslijeđeno na izradu trajnih patohistoloških preparata. Na uzorcima tkiva pluća, koji su obojeni standardnim HE bojenjem te Congo red bojenjem, postavljena je dijagnoza nodularne amiloidoze (amiloidoma).

Cilj

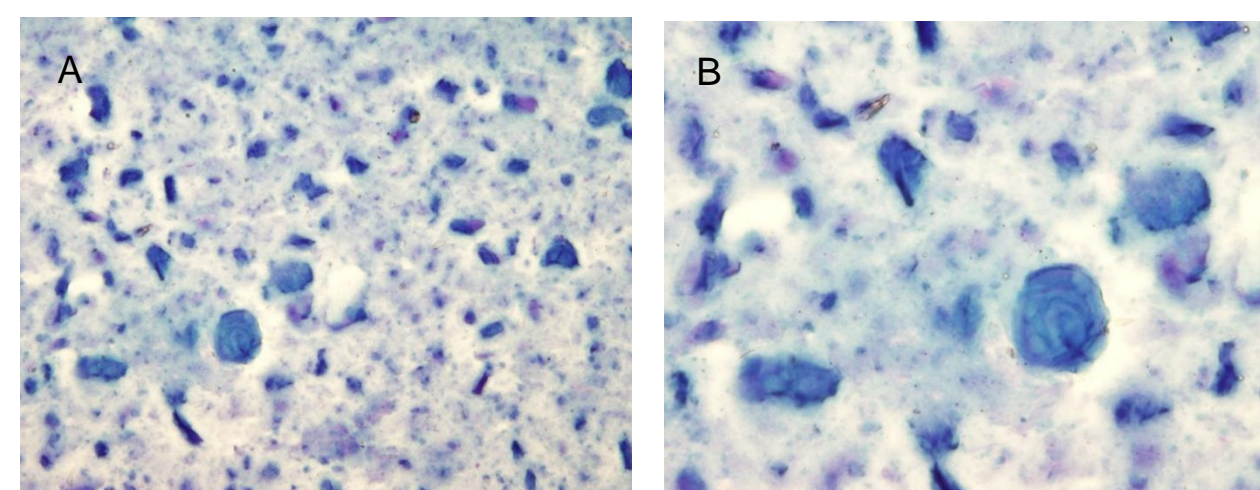
Obzirom na dokazanu prisutnost amiloida u histološkim rezovima (Slika 1), željeli smo potvrditi prisutnost amiloida i na citološkim intraoperativnim otiscima tkiva Congo red bojenjem.



Slika 1. Prikaz amiloida Congo red bojenjem u histološkim rezovima bez polarizacije (A, B) i s polarizacijom (C, D), povećanje 4X (A, C), povećanje 10X (B, D).

Materijal i metode

Na raspolaganju smo imali tri citološka stakla obojena brzom metodom koristeći Bio-Diff komplet, a koja odgovara bojenju May Grünwald-Giemsa (MGG). Ovom metodom nakupine amiloida su se prikazale kao magličasti tamnoplavi amorfni materijal (Slika 2). U prvom koraku smo preparate odbojili koristeći metodu za dekolorizaciju May Grünwald-Giemsa bojenja pomoću otopine metanola i 5% ledene octene kiseline u omjeru 3:1. U drugom koraku, nakon potpunog uklanjanja boje, citološki su otisci obojeni Congo red bojenjem metodom po Puchtler-u.



Slika 2. Prikaz nakupina amiloida obojenih koristeći Bio-Diff komplet u citološkom otisku, povećanje 20X (A), povećanje 40X (B).

CONGO RED

Metoda prema Puchtler-u

Postupak:

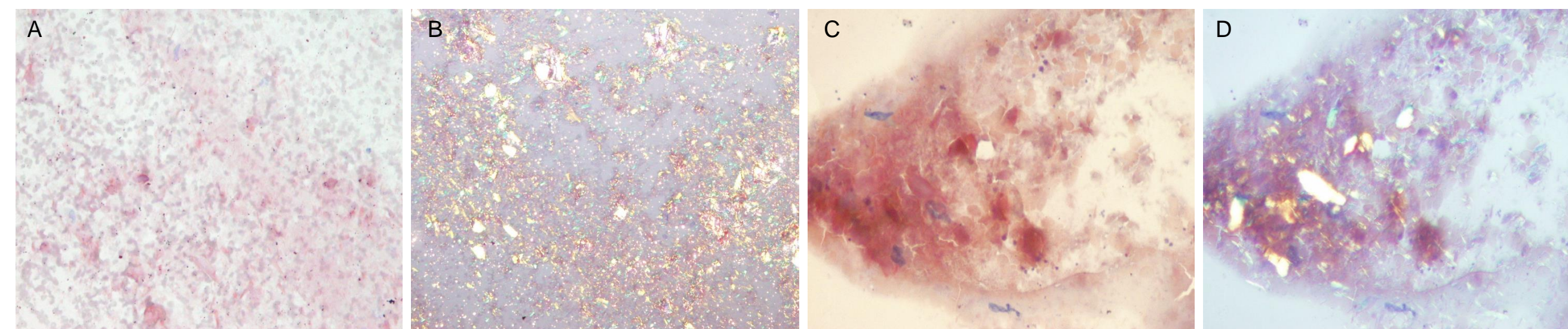
1. deparafinacija, rehidracija
2. bojiti jezgre **hematoksilinom**
3. ispirati u tekućoj vodi nekoliko minuta
4. staviti preparate u **alkalnu slanu otopinu** / 20 minuta
5. bojiti u **alkalnoj otopini Congo red** / 20 minuta
6. dehidrirati brzo kroz 3 promjene apsolutnog alkohola
7. bistriti u ksilolu i montirati

Rezultati:

Amiloid: roza do crveno obojenje, uz „apple green“ dvolumnost
 Elastična vlakna : blijedo roza
 Jezgre: plave

Rezultati

U uzorcima je prisustvo amiloida potvrđeno pozitivnom Congo reakcijom, odnosno, prikazom dvolumnosti amornog materijala pod polarizacijom (Slika 3).



Slika 3. Tkvni otisak nakon odbojavanja MGG bojenja i naknadnim bojenjem Congo red metodom po Puchtler-u: Bez polarizacije se vide crvenkasto obojene amorfne nakupine (A, C) koje polarizacijom pokazuju zelenu „apple green“ dvolumnost (B, D), povećanje 10X (A, B), povećanje 40X (C, D).

Zaključak

Prikazani slučaj pokazuje da prethodno bojenje brzom metodom MGG nije smanjilo afinitet nakupina amiloida za Congo red boju te je moguće korištenje istog citološkog uzorka nakon odbojavanja za Congo red metodu. Dobiveni rezultati ukazuju na mogućnost korištenja i drugih histokemijskih i citokemijskih bojenja na istovjetnim citološkim uzorcima koji su prethodno obojeni MGG metodom, ali uz prethodno odbojavanje i testiranje histokemijske ili citokemijske metode.

Reference

1. WebPath: Internet Pathology Laboratory <http://www.medlib.med.utah.edu/WebPath/webpath.ht>
2. Bancroft's. Theory and Practice of Histological Techniques. 7th .Ed-ublog.tk.pdf (Amyloid Janet A. Gilbertson • Toby Hunt)
3. Amyloid in bone marrow smears of patients affected by multiple myeloma, F. Petruzzello, P. Zeppa, L. Catalano ; Ann Hematol (2010) 89:469-474