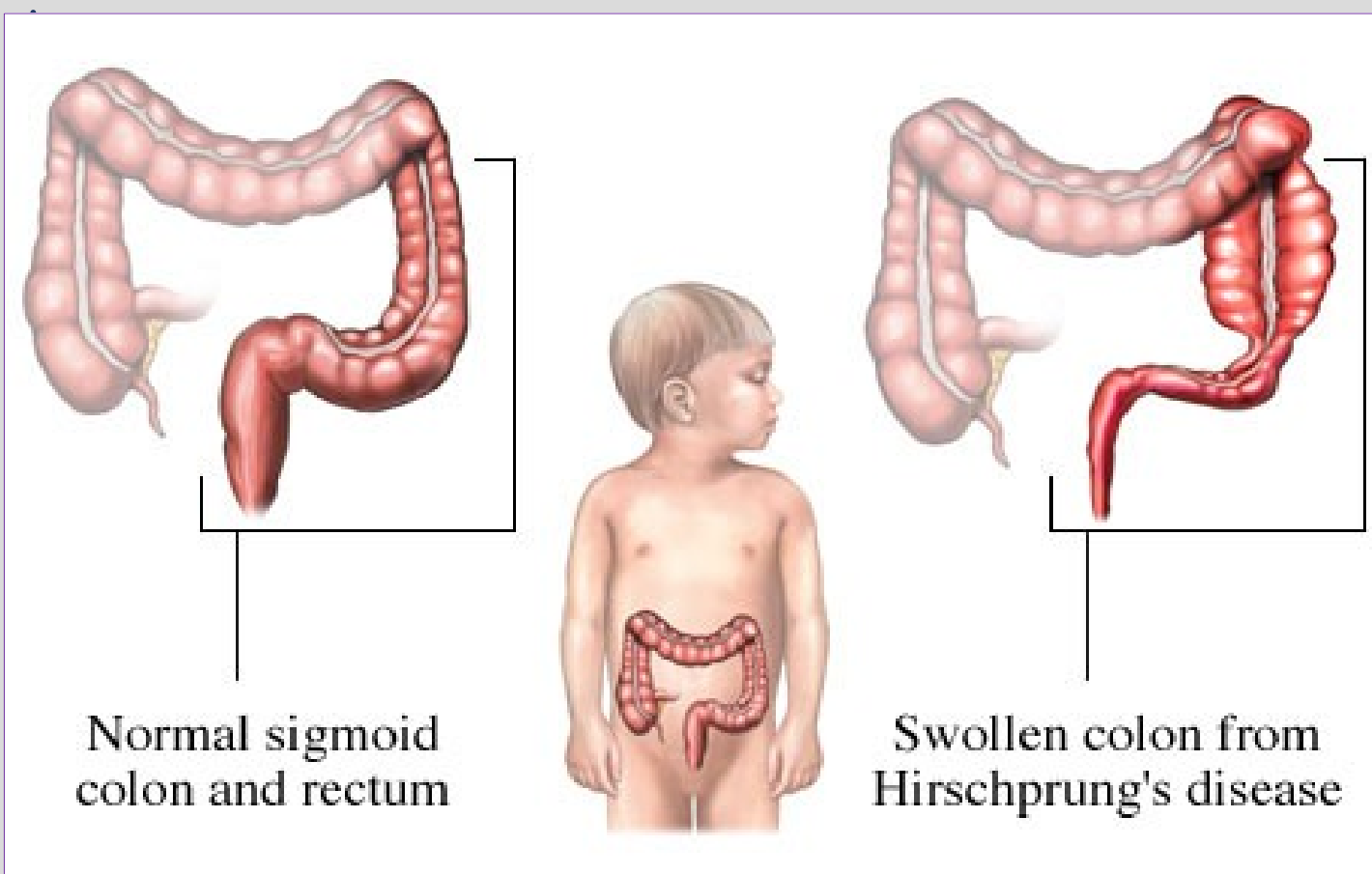


Tatjana Kovačević¹, Marija Dodig¹, Stanislava Didić Ilijaš¹, Lucija Leovac¹, Antonia Jakovčević¹

¹Klinički bolnički centar Zagreb, Klinički zavod za patologiju i citologiju

UVOD

Hirschprungova bolest je prirođena bolest gastrointestinalnog sustava koju karakterizira nedostatak ganglijskih stanica u stijenci crijeva. Incidencija iznosi 1/5000 živorođene djece, a češće pogađa mušku djecu. Najčešći simptomi su izmjena opstipacije i proljeva, te distenzija trbuha. Bolest je nazvana prema danskom liječniku Haraldu Hirschprungu.



Slika 1. Crijevo kod zdravog i bolesnog djeteta

CILJ

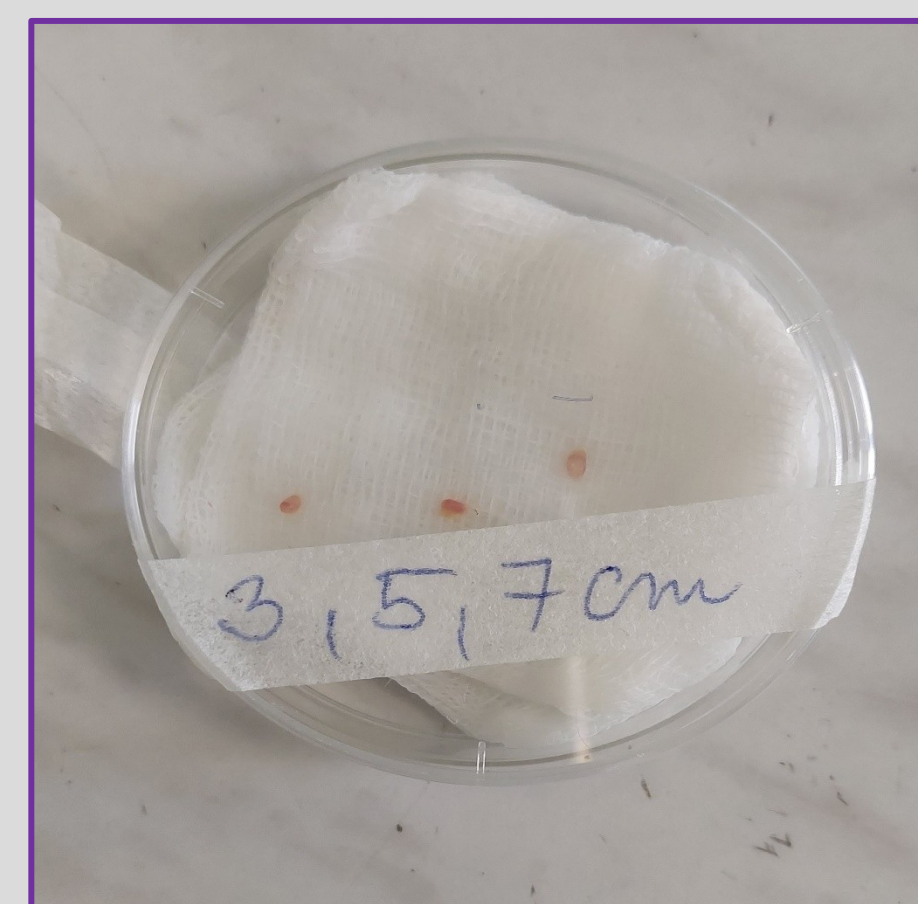
Prikazati obradu biopsijskog materijala od prijema do gotovog preparata za dijagnostiku Hirschprungove bolesti u Kliničkom zavodu za patologiju i citologiju Kliničkog bolničkog centra Zagreb.

MATERIJALI I METODE

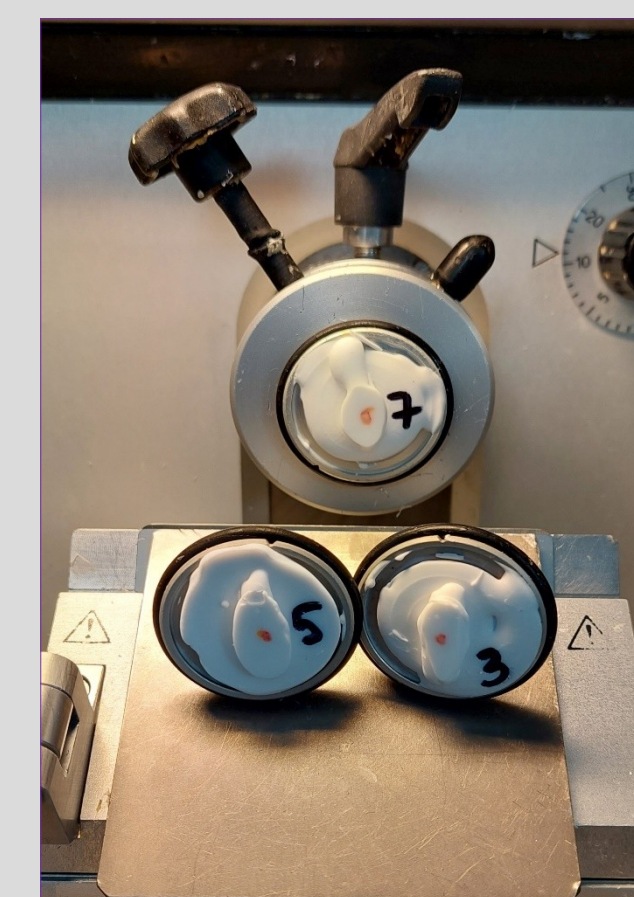
Za patohistološku analizu Hirschprungove bolesti koriste se histokemijske i imunohistokemijske metode. Histokemijske metode su hemalaun eozin i acetilkolinesteraza (ACH i ACH+he), a od imunohistokemijskih metoda koristimo kalretinin.

REZULTATI

Rektalnom biopsijom uzimaju se najčešće 3 uzorka tkiva na dubini 3, 5 i 7 cm od anorektalne linije (uzorci sluznice i podsluznice crijeva) i smrzavaju se u kriostatu na -20°C. Od svakog uzorka režu se rezovi debljine 14 µm na 3 stakla: za hemalaun eozin, ACH (acetilkolinesteraza) i ACH+he. Rezovi na predmetnim stakalcima se preko noći ostavljaju u otopini za inkubaciju koja se sastoji od acetylthiocholine iodide, fosfatnog pufera, natrijevog citrata, bakrenog sulfata, kalij heksacijanoferata i redestilirane vode. Bojanje ACH ima nedostatke jer se mora raditi na smrznutim rezovima i ima dosta lažno pozitivnih i lažno negativnih rezultata zbog artefakata nastalih prilikom uzimanja i obrade uzoraka. Slijedeći dan nakon procesuiranja tkiva u histokinetu i uklapanja u parafin, režu se rezovi za hemalaun eozin i kalretinin. Bojanjem sa hemalaun eozinom na trajnim i smrznutim preparatima vrši se procjena adekvatnosti uzorka. Za pravilnu analizu potrebno je da se prikaže površinski epitel sluznice sa submukozom u kojoj se normalno nalaze ganglijske stanice. Imunohistokemijsko bojanje na kalretinin izvodi se automatizirano (od pretretmana do kromogena) u sustavu za automatsko bojanje Ventana BenchMark Ultra. Reakcija specifičnog protutijela (anti-Calretinin SP65) sa tkivnim antigenom tvori kompleks koji kromogen boji smeđe. Kontrastira se sa hemalaunom. Pozitivna reakcija upućuje na urednu inervaciju a nalaz je patološki u slučaju izostanka bojenja. Normalno, kalretinin je prisutan u unutarnjim žvcima muscularis mucosae i lamina propria, dok se kod oboljelih od Hirschprungove bolesti ovaj uzorak bojenja gubi.



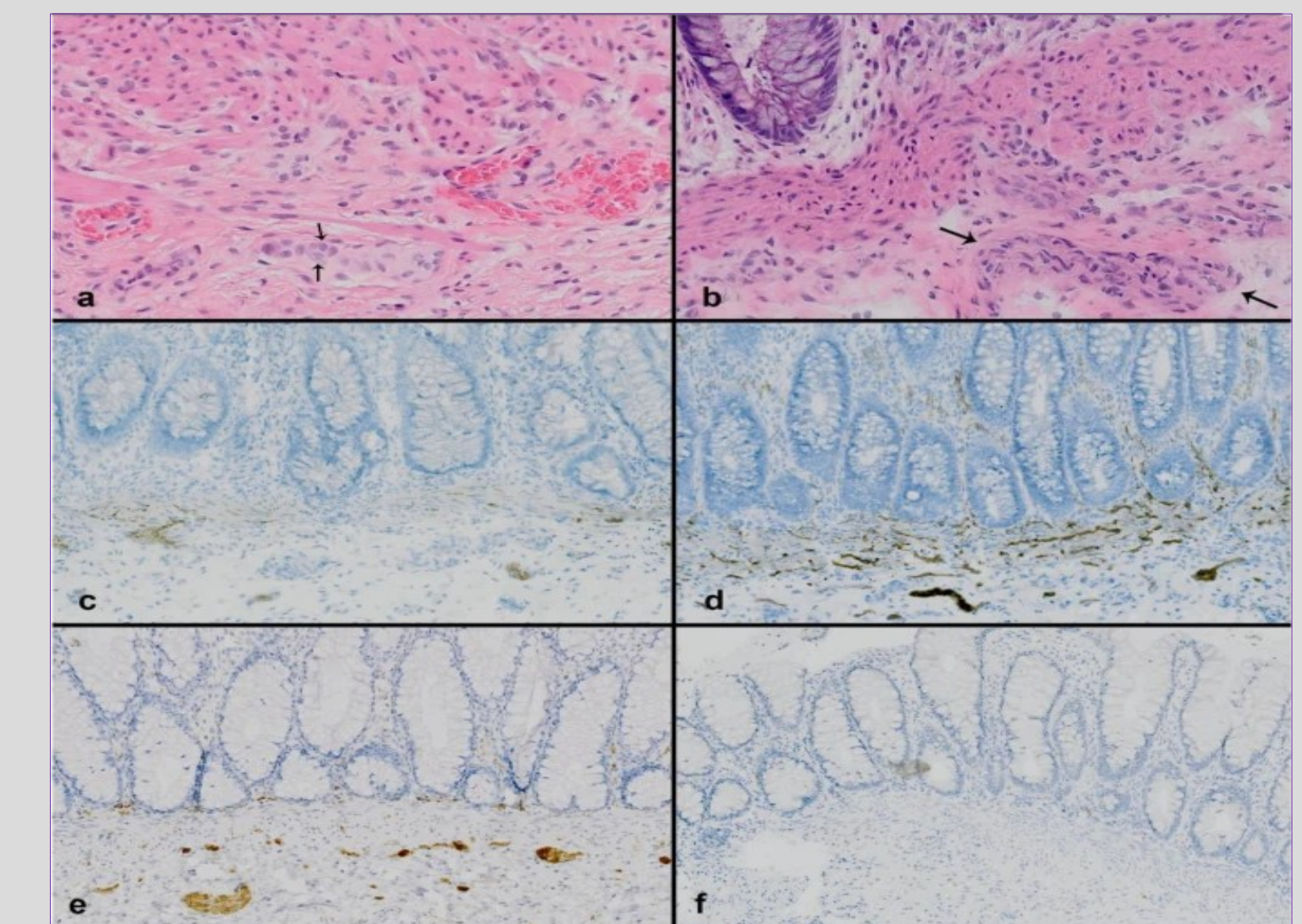
Slika 2. Uzorci biopsije crijeva



Slika 3. Smrznuti uzorci biopsije crijeva

ZAKLJUČAK

Iako zlatni standard za dijagnozu Hirschprungove bolesti u biopsijama rektuma ostaje procjena ganglijskih stanica u bojenju hemalaun-eozinom s dovoljnom količinom submukoze, imunohistokemijsko bojanje kalretinina ubrzalo je put do postavljanja dijagnoze Hirschprungove bolesti.



Slika 4. Usporedno bojanje sluznice crijeva hemalaun eozinom, ACH i kalretininom kod pozitivne i negativne dijagnoze Hirschprungove bolesti

LITERATURA

A. Čivljak, Kalretinin u dijagnostici Hirschprungove bolesti

KLJUČNE RIJEČI

Hirschprungova bolest, hemalaun eozin, kalretinin, acetilkolinesteraza