

## **Průkaz amyloidu – reakce s Kongo červení**

Taťána Bryndaková, Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví, 3. ročník  
Školitel: Petr Ferczadi, Dis.

### **Princip metody:**

Amyloid je patologický produkt, který je složený z proteinu a polysacharidu v těsné vazbě. Tento produkt se ukládá v orgánech při některých dlouhotrvajících chorobách, které jsou provázeny rozsáhlým rozpadem tkáně. Proteiny, z nichž amyloid vzniká se většinou fyziologicky vyskytují v těle. Může se jednat např. o sérový amyloid A, nebo lehké řetězce imunoglobulinů.

Princip metody spočívá v tom, že barvivo KČ (Kongo Červeň) se na amyloidové fibrily váže díky jejich strukturálnímu uspořádání. Lineární molekula barviva se interkalačně včlení mezi jednotlivé vrstvy proteinových jednotek  $\beta$ -skládaného listu.

### **Uplatnění metody:**

Metoda se uplatňuje zejména při procesu diagnostiky systémové amyloidózy, kdy se využívá jak světelné, tak i polarizační mikroskopie. Ve světelném mikroskopu mají depozita amyloidu, obarvená KČ, červenou případně červenorůžovou barvu.

Za využití polarizačního mikroskopu můžeme u obarvených depozit pozorovat typické dichroické difrakce. Dále pak se využívá fluorescenčních vlastností KČ, které jsou důležité zejména pro detekci malých depozit amyloidu.

Barvení KČ nadále zůstává zlatým standardem pro průkaz přítomnosti amyloidu ve tkáni.

### **Úskalí metody:**

Metoda je velice citlivá na působení vnějších vlivů, stejně tak i na kvalitu a čistotu použitých chemikálií a laboratorního vybavení. Mezi hlavní úskalí metody patří odběr materiálu, ve kterém se amyloid pak prokazuje.

Pro maximální výtěžnost diagnostiky amyloidóz je potřeba biopsie postiženého orgánu, avšak biopsie orgánů jako jsou játra a ledviny je velice invazivní a rizikový zákrok, který je spojen s řadou možných komplikací. Proto se při podezření na amyloidózu používají méně invazivní výkony jako je například biopsie abdominálního podkožního tuku nebo endoskopické biopsie gastrointestinálního traktu. Výsledky vyšetření těchto biopsií ale nebývají 100% senzitivní a ve většině případů se musí provádět punkční biopsie jater nebo ledvin.

### **Přístrojové vybavení:**

Pro zhotovení histologického preparátu vhodného pro prohlížení pod světelným mikroskopem je zapotřebí odvodnění a následné prosycení vyšetřované tkáně parafínem. Tyto procesy probíhají v lineárním tkáňovém automatu – autotechnikonu. Pro zalití již prosycené tkáně do parafínu je zapotřebí tzv. parafínové linky.

Ke zhotovení histologického řezu (tlustý několik mikrometrů) se nejčastěji využívá sáňkový nebo rotační mikrotom. Zhotovené řezy se natáhnou na podložní sklo a putují do barvicího přístroje, kde se tkáň obarví, odvodní a projasní. Nakonec obarvený preparát putuje do automatu, ve kterém probíhá montování histologického preparátu pomocí montovacího média.

### **Odběr a transport:**

Histopatologická diagnostika na základě vyšetření tkáňových biopsií je u amyloidóz považována za zlatý standard. Vzorky sliznice gastrointestinálního traktu jsou pro histopatologickou analýzu získávány ve většině případů během endoskopického vyšetření.

Odebrané vzorky se musí vložit do speciální transportní nádoby, ve které je fixační tekutina – nejčastěji formaldehyd. Vzorky se musí zpracovat tentýž den.