

Metoda: Zpracování renální biopsie - Imunofluorescenční vyšetření punkční biopsie ledvin

Studentka: Denisa Bošková, ZL2

Školitel: Petr Ferczadi, Dis

Šiklův ústav patologie FN Plzeň Lochotín

Princip metody

Imunofluorescence se využívá k rutinní diagnostice renálních biopsií, vyšetření se provádí u vzorku tělu vlastní ledviny a vzorku ledvinného štěpu, tj. transplantované ledviny. Celý proces má řadu limitů od velikosti vzorku, manipulaci s ním, velmi krátkou expirací vzorku.

Hlavním úkolem je zhotovení tkáňových kryostatových řezů, v nichž je následně provedena reakce s protilátkou proti specifickému antigenu obarvenou fluorescenčním barvivem. Výsledek reakce je následně pozorován fluorescenčním mikroskopem a je součástí diagnózy stanovené lékařem.

Úskalí metody

Do laboratoře musí být punkční vzorek přinesen ihned po uskutečněním odběru v nativním, tj. nefixovaném stavu. Nejčastěji je dodán v Petriho misce položené na ledu nebo gelové chladicí podložce (snaha o zabránění znehodnocení vzorku autolytickým procesem). V misce je gáza namočená ve fyziologickém roztoku, na které je umístěn vzorek. Je velmi důležité, aby byla punkce namočená fyziologickým roztokem, neboť na vzduchu hrozí její rychlé vyschnutí a tím destrukce tohoto materiálu. Následuje asi nejnáročnější část vlastního zpracování vzorku, kterou je dělení materiálu. Zasláný punkční vzorek vlastní ledviny by měl být ideálně vyšetřen třemi různými metodami – vzorek by tedy měl být před zpracováním rozdělen na tři části. Úskalím tohoto dělení je fakt, že zasláný vzorek je často drobný, neobsahuje dostatečné množství renální kůry a pro každé vyšetření je nutné vyčlenit fragment obsahující glomerulus.

Uplatnění metody (změny při patologických stavech)

Punkční biopsie se provádí, pokud ostatní vyšetřovací metody neumožňují bezpečně určit typ onemocnění a předpokládá se, že po určení diagnózy bude možné pacienta adekvátně léčit. Nejčastěji je biopsie prováděna při nejasném akutním selhávání ledvin, podezření na akutní či chronické poškození glomerulů (glomerulonefritida), při podezření na tubulointersticiální (tubulointersticiální nefritida) nebo k určení rozsahu chronických změn, event. aktivity již diagnostikovaného onemocnění apod. Dále je též punkční biopsie užívána k monitoraci pacientů po transplantaci ledviny (tzv. protokolární biopsie), či při zhoršení funkce renálního štěpu (k odhalení příčiny dysfunkce).

Potřebné přístrojové vybavení

Fluorescenční mikroskop - musí být opatřen vhodnými excitačními a bariérovými filtry pro FITC fluorochrom. Zmrazovací mikrotom - jedná se o rotační mikrotom, který je umístěn ve zmrazovacím zařízení.

Podmínky odběru a transportu materiálu

Renální biopsie se odebírá core technologií, transkutánní punkcí, používá se při nenádorovém vyšetření ledviny. Nejčastěji je biopsie prováděna při nejasném akutním selhávání ledvin, podezření na akutní či chronické poškození glomerulů (glomerulonefritida). Vlastní biopsie se provádí v lokální anestezii, pod ultrazvukovou kontrolou (sonografie), za pomoci punkční jehly. Získaný vzorek má tvar úzkého válečku a optimálně by měl obsahovat především renální kůru.