

ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biologických a lékařských věd

Název diplomové práce: Vliv délky fixace a typu fixačního roztoku na imunohistochemickou analýzu při detekci kmenových buněk ve tkáni endometria

Autor: Bc. Dominika Macháčová

Vedoucí diplomové práce: prof. PharmDr. Petr Nachtigal, Ph.D.

Cíle: Cílem této práce je zjistit, jak typ fixačního roztoku a délka fixace ovlivňuje imunohistochemii.

Materiály a metody: Do této studie bylo zahrnuto celkem pět prasečích a pět kravských endometrií pocházejících z resekátů hysterektomie. Zjišťována byla imunohistochemická exprese progesteronových receptorů a SOX2 ve tkáních endometria fixovaných v pěti fixačních roztocích (Formol, Antigenfix, Greenfix, Bouin, Methacarn) po 1,5; 8,5; 15,5; 29,5; 64,5 a 189,5 dnech fixace. Imunohistochemické barvení bylo provedeno na barvicím automatu Ventana Benchmark ULTRA.

Výsledky: Imunohistochemická exprese progesteronových receptorů byla po 1,5 – 64,5 dnech fixace formolem prokázána u 92-87 % žlázových buněk a u 59 % buněk po 189,5 dnech fixace. Intenzita reakce byla hodnocena jako silná, po 189,5 dnech klesla na slabou. U tkání fixovaných Antigenfixem byla pozorována silná exprese progesteronových receptorů u 96,4 % žlázových buněk po 1,5 dni fixace, u 77 % buněk po 29,5 dnech fixace a u 72,6 % buněk byla po 64,5 dnech fixace exprese středně silná. Po 189,5 dnech byla zaznamenána negativita obou sledovaných parametrů. V případě Bouinova fixačního roztoku byla po 1,5 dni fixace zaznamenána slabá exprese progesteronových receptorů u 7,2 % žlázových buněk. V dalších časových obdobích exprese zcela vymizela. Ve tkáních fixovaných Greenfixem byla slabá exprese progesteronových receptorů zaznamenána u 39 % buněk pouze po 1,5 dni fixace.

U tkání fixovaných methacarnem nebyla zaznamenána exprese progesteronových receptorů v žádném ze sledovaných období.

Intenzita imunohistochemické exprese SOX2 po fixaci tkáně formolem byla hodnocena po 1,5 dni jako extra silná, v období 8,5; 15,5; 29,5 a 64,5 silná a po 189,5 dnech jako slabá. Ve sledovaném období 1,5-189,5 dnech bylo nabarveno průměrně 98,4-94,8 % žlázových buněk. Exprese SOX2 ve tkáních fixovaných Antigenfixem byla v celém období podobná (pozitivita u více než 94 % žlázových buněk). Intenzita reakce byla v období 1,5 a 8,5 extra silná, po 15,5; 29,5; 64,5 a 189,5 dnech silná. Po fixaci Bouinem byla zaznamenána exprese SOX2 u 96 % žlázových buněk, intenzita reakce byla středně silná. U tkání fixovaných Greenfixem a methacarnem nebyla zaznamenána imunohistochemická exprese SOX2 v žádném ze sledovaných období.

Závěr: Bylo zjištěno, že nejlepším fixačním roztokem pro imunohistochemické barvení je formol, a to jak pro krátkodobou, tak dlouhodobou fixaci. Dalším velmi vhodným fixačním roztokem je Antigenfix, u kterého bylo dosaženo srovnatelných výsledků. Pro krátkodobou fixaci lze doporučit také Bouinův fixační roztok, pro účely dlouhodobé fixace je však nevhodný. Greenfix nelze příliš doporučit ani pro krátkodobou fixaci, pro dlouhodobou fixaci je nevhodný. Zcela nevhodný je pro účely imunohistochemie methacarn, u kterého byla prokázána negativita obou parametrů ve všech časových obdobích.

Klíčová slova: Imunohistochemie, endometrium, fixační roztok, progesteronové receptory, SOX2