

## ABSTRAKT

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biologických a lékařských věd

Kandidát: Adam Richter

Školitel: RNDr. Ivana Němečková, Ph.D.

Název bakalářské práce: Immunohistochemická detekce aktivace profibrotických prekurzorů v precizních jaterních řezech

Orgánová jaterní fibróza je tou nejtypičtější progresí onemocnění u chronických zánětlivých onemocnění a celkově výrazně přispívá k celosvětové mortalitě bez ohledu na ostatní příčiny. Za jaterní fibrotické procesy jsou nejčastěji zodpovědné aktivované hvězdicové buňky (HSC), které se nacházejí v Disseho prostoru jater, přičemž mohou podléhat diferenciaci do formy myofibroblastů, které se poté významně podílí na tvorbě fibrotické tkáně. Pro pozorování aktivace a vývoje fibrotických procesů a jejich hodnocení se běžně využívá řady markerových genů a proteinů specifických právě pro tyto buňky.

Tato bakalářská práce byla věnována studiu detekce aktivace profibrotických prekurzorů v precizních jaterních řezech (PCLS). Bylo využito znázornění exprese vybraných proteinů v myších ultratenkých jaterních řezech. Sledována byla exprese desminu, gliálního fibrilárního kyselého proteinu (GFAP) a  $\alpha$ -aktinu hladkého svalstva ( $\alpha$ SMA).

Řezy pro studium fibrózy byly inkubovány 48 hodin v základním Williamsově médiu obohaceném glukózou a s přídavkem gentamycinu na třepačce při 37 °C. Poté byly řezy fixovány 24-48 hodin ve 4% paraformaldehydu. Kontrolní řezy byly fixovány hned po odběru. Po fixaci byly tkáně zalité do parafínu a následně byly zhotovené parafínové řezy. Pro vyhodnocování bylo využito imunohistochemických barvicích technik (IHC) a standardního barvení hematoxylin-eosin.

Interpretace výsledků imunohistochemického barvení byla výrazně omezená přítomností nekrotického procesu po inkubaci PCLS 48 hodin. Exprese GFAP a desminu, která je charakteristická pro jaterní hvězdicové buňky, byla znázorněna v podobě reprezentativních fotografií výsledného barvení IHC. Při hodnocení řezů s inkubací 48 hodin bylo možné vidět nespecifické zbarvení pozadí z důvodu nekrózy. V zachovalé tkáni nebyly

pozorovány výraznější změny v expresi desminu ani GFAP. Exprese  $\alpha$ SMA byla pozorována zejména ve stěně cév a portálních myofibroblastech v PCLS bez inkubace. Po inkubaci řezů bylo možné vidět zvýšení exprese  $\alpha$ SMA, které může být znakem pro aktivaci HSC. Výsledky naší práce ukazují, že PCLS se po optimalizaci inkubace pro zachování viability tkáně, můžou stát užitečným a šetrným nástrojem pro studium poškození jater.

**Klíčová slova:** jaterní fibróza, hvězdicové buňky, desmin,  $\alpha$ -aktin hladkého svalstva, gliální fibrilární kyselý protein, imunohistochemie, precizní jaterní řezy, profibrotické prekurzory