

Zastosowanie techniki mikromacierzy tkankowej w diagnostyce czerniaka ubogobarwnikowego u psów

Application of tissue microarray in diagnosis of amelanocytic melanoma in dogs

Natalia Kiryluk, Gabriela Dworak, Mikołaj Gorzkowski, Kamila Bulak

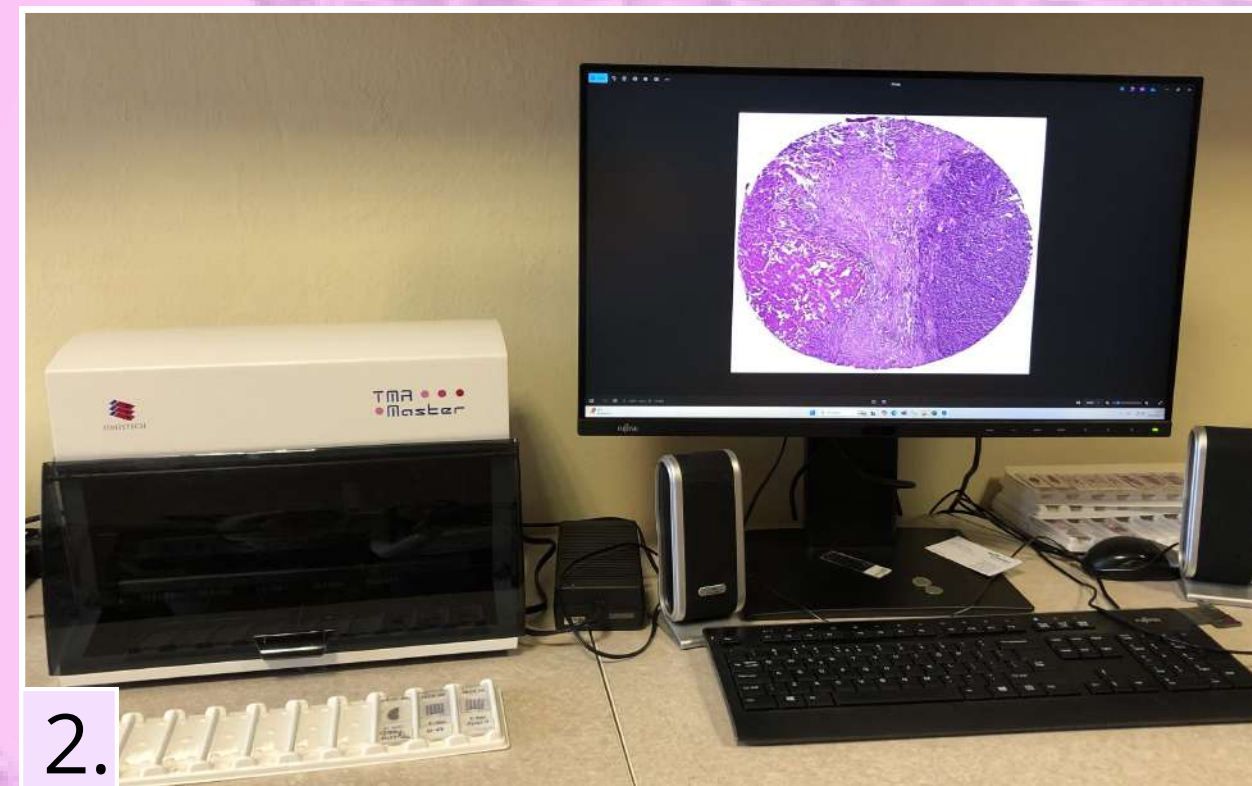
Studenckie Koło Naukowe Medyków Weterynaryjnych
Opiekun sekcji patomorfologii: dr Kamila Bulak

WSTĘP

Technika mikromacierzy tkankowej (ang. Tissue Microarray, TMA) służy do oceny mikroskopowej dużej liczby utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie wycinków tkankowych o średnicy do 2 mm, naniesionych równocześnie na jedno szkiełko podstawowe. Czerniak to nowotwór złośliwy wywodzący się z komórek barwnikotwórczych. Diagnostyka czerniaków ubogobarwnikowych jest utrudniona ze względu na znikomą ilość barwnika melaniny w cytoplazmie. W ocenie histogenezy nowotworów nisko zróżnicowanych niezbędne jest znakowanie białek cytoplazmatycznych metodą immunohistochemiczną (IHC).



Zdj. 1: Stanowisko ze skanerem preparatów mikroskopowych 3D Histech Panoramic Midi i programem do analizy obrazu.



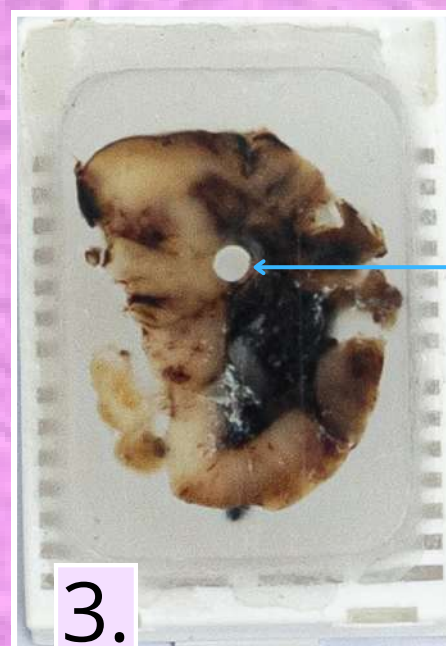
Zdj. 2: Stanowisko z urządzeniem TMA Master 3D Histech z zestawem głowic wierzących i wycinających z wykorzystaniem bloczków parafinowych.

CEL BADANIA

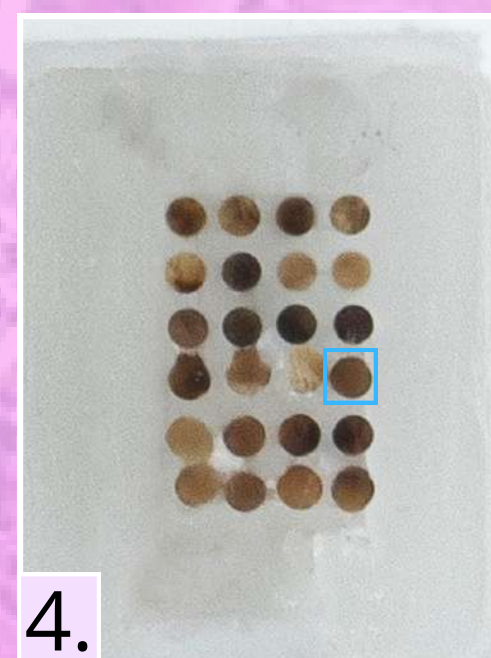
Celem pracy było ustalenie czy TMA pozwala na usprawnienie procesu diagnostycznego w weterynaryjnym laboratorium patomorfologicznym w przypadku czerniaków ubogobarwnikowych. Grupę badawczą stanowiły wycinki tkankowe stanowiące materiał archiwalny Katedry Patomorfologii i Weterynarii Sądowej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie.

MATERIAŁ I METODY

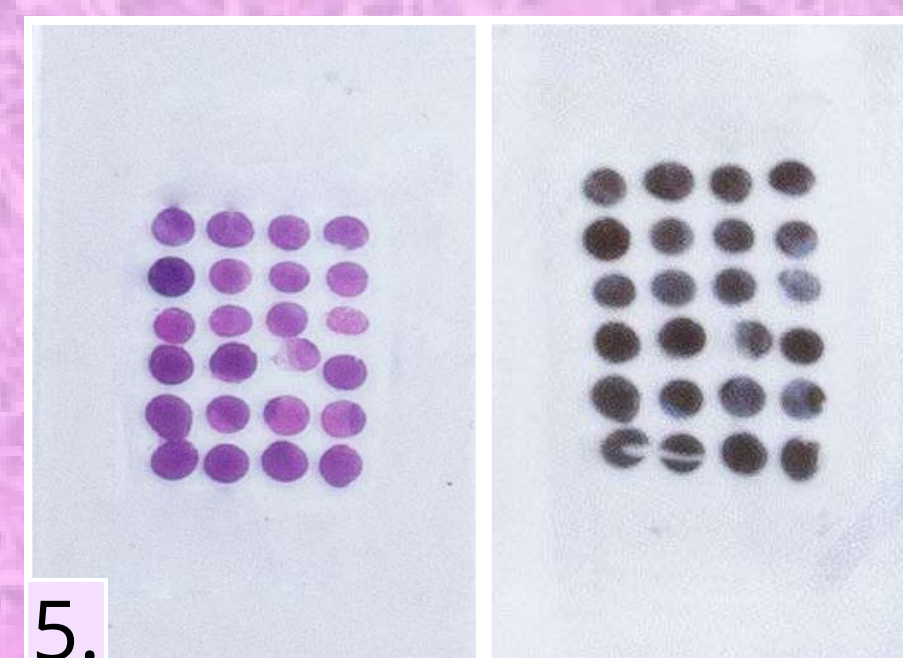
Wyselekcjonowano 24 przypadki czerniaków ubogobarwnikowych skóry i błon śluzowych u psów. Wycinki tkankowe zostały poddane rutynowej analizie oraz analizie z wykorzystaniem techniki TMA. Wykonano barwienie histochemiczne H+E oraz reakcję IHC metodą pośrednią z wykorzystaniem przeciwciał pierwotnych skierowanych przeciwko barwnikowi melaninie.



Zdj. 3: Pojedynczy bloczek parafinowy donorowy z wycinkiem zmiany nowotworowej po ekstrakcji rdzenia tkankowego za pomocą "punchera" oraz pełny skrawek tkankowy zmiany guzowatej okolicy jamy ustnej u psa (barwienie H+E).



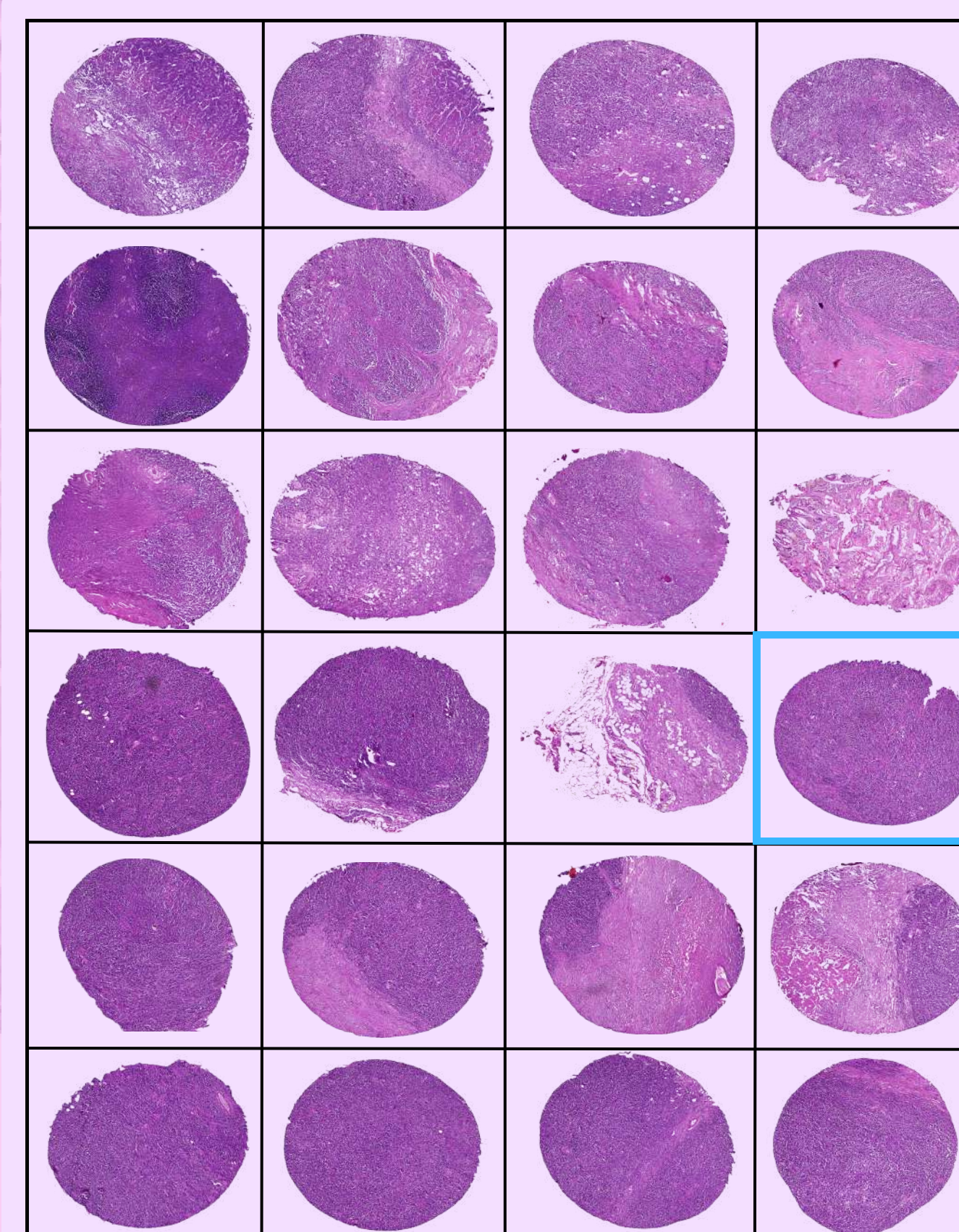
Zdj. 4: Pojedynczy bloczek akceptorowy (gotowa mikromacierz tkankowa) składający się z 24 rdzeni tkankowych o średnicy 2mm (barwienie H+E) i reakcja IHC metodą pośrednią z naniesionych do otworów wykonanych za wykorzystaniem przeciwciała pierwotnego anty-Melan A w rozcieńczeniu 1:200.



Zdj. 5: Skrawki tkankowe o grubości 5 µm bloczka akceptorowego naniesione na szkiełko podstawowe.

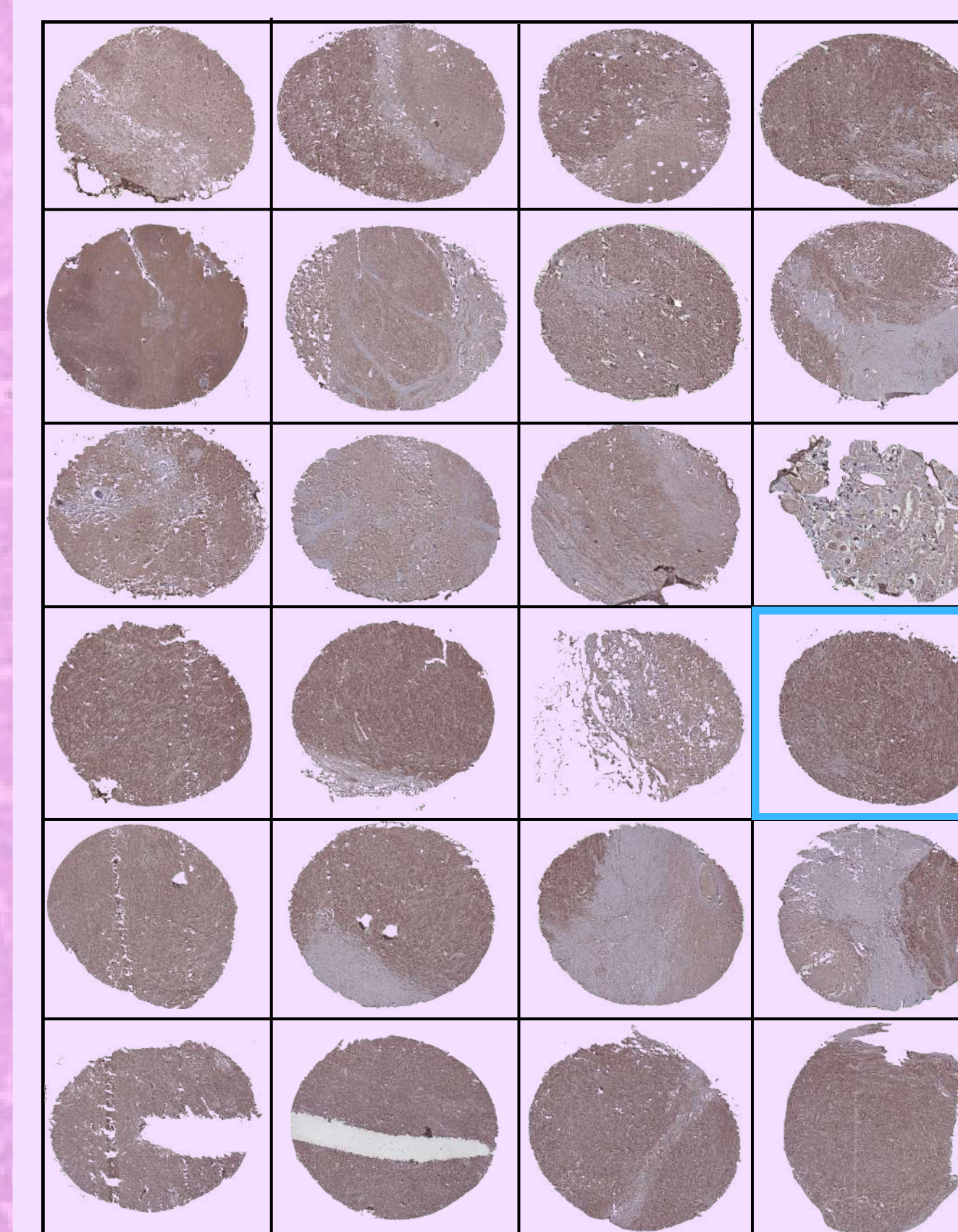
WYNIKI

W barwieniu H+E obraz mikroskopowy był typowy dla nisko zróżnicowanego nowotworu o nieustalonej histogenezie. Dodatnia reakcja IHC we wszystkich badanych wycinkach pozwoliła potwierdzić, że rozrost wywodzi się z komórek barwnikotwórczych. Dzięki technice TMA uzyskano te same wyniki w krótszym czasie i z mniejszym nakładem odczynników.



6.

Zdj. 6: Skany poszczególnych skrawków tkankowych w różnych powiększeniach (barwienie H+E).



7.

Zdj. 7: Skany poszczególnych skrawków tkankowych w różnych powiększeniach (reakcja IHC/anty-Melan A).

WNIOSKI

TMA w patologii weterynaryjnej jest wydajnym i ekonomicznym rozwiązaniem w diagnostyce czerniaków ubogobarwnikowych, ponieważ zmniejsza koszty oraz czas wykonywania przy zachowaniu rzetelności wyników.