

Odlišení časného hydropického abortu od parciální moly pomocí histochemických a imunochemických metod

Monika Hřebcová, Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví, 3. ročník
Školitelé: MUDr. Ondrej Ondič, PhD., Gabriela Suchá, Petr Ferczadi, DiS.

Východisko: Diagnostika molární gravidity je velice důležitá pro odhad rizika trofoblastické nemoci. Histologické odlišení časného hydropického abortu a molární gravidity je obtížné a může vyžadovat použití metod imunohistochemie nebo molekulární genetiky.

Cíl: Zjistit, zda lze využít k odlišení molární a ne-molární gravidity některé histochemické metody a dosud za tímto účelem neanalyzované imunohistochemické protilátky na základě analýzy mukopolysacharidů v tkáňových řezech.

Metodika: Z archivovaných parafínových tkáňových bločků Šiklova ústavu patologie bylo vybráno 7 bločků placent časných hydropických abortů, 2 bločky placent s prokázanou parciální molou. Poslední bloček byl námi zhotoven též parafínovou technikou z fyziologické placenty (kontrolní vzorek). Z každého bločku vzniklo osm sklíček zpracovaných osmi různými metodami. Z histochemických metod bylo použito barvení hematoxylin-eosin (HE) pro vizualizaci tkáně, dále barvení toluidinová modř (TM), alcianová modř (AM) a alcianová modř + PAS (AMP) na průkaz kyselých mukopolysacharidů. Z imunohistochemických metod byly použity protilátky MUC-1, MUC-2, MUC-4, MUC-6.

Výsledky:

Výsledky pozorování zaznamenávali tři hodnotící nezávisle na sobě. U histochemických metod se v mikroskopu hodnotila intenzita zabarvení mukopolysacharidů uvnitř choriových klků placenty v tkáňovém řezu (+ až +++) a tzv. pozitivní část, což je procento pozitivních klků z celkového pozorovaného počtu. U imunohistochemických metod se hodnotila míra exprese antigenu uvnitř choriových klků placenty (+ až +++) a též pozitivní část. V Tabulce č.1 jsou zanesené průměrné hodnoty ze všech tří hodnocení pro jednotlivé vzorky.

Toluidinová modř barví buněčná jádra a cytoplazmu tmavomodře (ortochromaticky), kyselé mukopolysacharidy metachromaticky (rozdílný odstín modré oproti odstínu použitého barviva). Alcianová modř barví kyselé mukopolysacharidy tyrkysově modře, jádra červeně. Alcianová modř + PAS barví kyselé mukopolysacharidy též tyrkysově modře, ostatní polysacharidy růžovočerveně. Imunohistochemické metody se vyznačují hnědou sraženinou (3,3-diaminobenzidin tetrachlorid) v místě vazby antigenu s protilátkou.

Tabulka 1: Průměrné hodnocení jednotlivých vzorků

| Matriál | Vzorek | Histochemie | | | Imunohistochemie | | |
|---------------------------------------|----------|-------------|-----------|--------------------|------------------|--------|--------------------|
| | | Metoda | Intenzita | Pozitivní část [%] | Metoda | Expres | Pozitivní část [%] |
| Fyziologická pacienta | 16706/R8 | HE | Neg. | 0 | MUC-1 | Neg. | 0 |
| | | TM | | | MUC-2 | | |
| | | AM | | | MUC-4 | | |
| | | AMP | | | MUC-6 | | |
| Placenta časného hypotického abortu | 9149 | HE | Neg. | 0 | MUC-1 | Neg. | 0 |
| | | TM | + | 80 | MUC-2 | | |
| | | AM | +++ | 100 | MUC-4 | | |
| | | AMP | ++ | 90 | MUC-6 | | |
| | 9485 | HE | Neg. | 0 | MUC-1 | Neg. | 0 |
| | | TM | + | 10 | MUC-2 | | |
| | | AM | + | 90 | MUC-4 | | |
| | | AMP | + | 90 | MUC-6 | | |
| | 9488/A | HE | Neg. | 0 | MUC-1 | Neg. | 0 |
| | | TM | + | 5 | MUC-2 | | |
| | | AM | + | 70 | MUC-4 | | |
| | | AMP | + | 70 | MUC-6 | | |
| | 9488/B | HE | Neg. | 0 | MUC-1 | Neg. | 0 |
| | | TM | + | 1 | MUC-2 | | |
| | | AM | + | 70 | MUC-4 | | |
| | | AMP | + | 70 | MUC-6 | | |
| | 9488/C | HE | Neg. | 0 | MUC-1 | Neg. | 0 |
| | | TM | Neg. | 0 | MUC-2 | | |
| | | AM | + | 50 | MUC-4 | | |
| | | AMP | + | 30 | MUC-6 | | |
| | 5585/R2 | HE | Neg. | 0 | MUC-1 | Neg. | 0 |
| | | TM | + | 10 | MUC-2 | | |
| | | AM | + | 30 | MUC-4 | | |
| | | AMP | + | 40 | MUC-6 | | |
| | 5585/R7 | HE | Neg. | 0 | MUC-1 | Neg. | 0 |
| | | TM | + | 30 | MUC-2 | | |
| | | AM | ++ | 70 | MUC-4 | | |
| | | AMP | + | 40 | MUC-6 | | |
| Placenta s prokázanou parciální molou | 189/R2 | HE | Neg. | 0 | MUC-1 | Neg. | 0 |
| | | TM | + | 50 | MUC-2 | | |
| | | AM | + | 80 | MUC-4 | + | 3 |
| | | AMP | + | 80 | MUC-6 | Neg. | 0 |
| | 189/R12 | HE | Neg. | 0 | MUC-1 | Neg. | 0 |

| | | | | | | | |
|--|--|------------|---|----|--------------|--|--|
| | | TM | + | 15 | MUC-2 | | |
| | | AM | + | 30 | MUC-4 | | |
| | | AMP | + | 30 | MUC-6 | | |

Závěr: Nepodařilo se nám prokázat, že by použité metody dokázaly odhalit rozdíly v intenzitě/expresi positivity, množství zastoupení nebo v odlišném složení kyselých mukopolysacharidů uvnitř choriových klků placenty parciální moly a placenty časného hydropického abortu. Po důkladnějším zkoumání vzorků parciální moly jsme ve tkáni pozorovali občasnou/málo výraznou pozitivitu antigenu MUC-4 a též zvláštní typ positivity v oblasti syncytiotrofoblastu. Pro diagnostiku tento nálezn není dostatečně významný, tudíž použité metody nijak diagnostiku parciální moly neusnadňují a v praxi se tedy nedají použít.