

## ВЛИЯНИЕ СВЕРХДЛИТЕЛЬНОЙ ФИКСАЦИИ МАТЕРИАЛА НА КАЧЕСТВО ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ПРИ РУТИННЫХ ГИСТОЛОГИЧЕСКИХ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИХ ОКРАСКАХ

*Малашенко С.В., Полонников А.В.*

*УЗ «Витебское областное клиническое патологоанатомическое бюро»,  
г. Витебск, Беларусь*

*После фиксации материала папиллярного рака щитовидной железы в течении 24 лет в 10% кислом формалине удалось получить гистологические микропрепараты высокого качества при использовании стандартных гистологических окрасок и получить положительное окрашивание с некоторыми иммуногистохимическими маркерами.*

*Ключевые слова: фиксация, гистологические окраски, иммуногистохимия.*

## INFLUENCE OF ULTRA-LONG FIXATION OF THE MATERIAL ON THE QUALITY OF HISTOLOGICAL PREPARATIONS FOR ROUTINE HISTOLOGICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL STAINING

*Malashenko S.V., Polonnikov A.V.*

*Vitebsk Regional Clinical Pathological and Anatomical Bureau",  
Vitebsk, Belarus*

*After fixing the material of papillary thyroid cancer for 24 years in 10% acid formalin, it was possible to obtain histological micropreparations of excellent quality using standard histological stains and to obtain positive staining with some immunohistochemical markers.*

*Keywords: fixation, histological stains, immunohistochemistry.*

Для изготовления качественного гистологического микропрепарата фиксация материала имеет ключевое значение. Стандартная фиксация в практике патологоанатомического исследования предусматривает использование 10% нейтрального забуференного формалина pH 7,0-7,6 (10% NBF) с экспозицией в нем подлежащего исследованию материала в течении 24-48 ч. С целью сокращения времени получения патогистологического заключения мелкие объекты размером 1-2 мм (гастробиоптаты, пункционные биопсии) допустимо фиксировать 12 ч. и даже 9 ч. [1]. Считается, что при проведении иммуногистохимических исследований (ИГХ) фиксация длительнее чем 72 ч. может значительно ухудшить результаты из-за появления ложноотрицательного окрашивания и других артефактов. Общепринято, что использование кислого формалина, ацетона и других фиксаторов для целей ИГХ недопустимо [2].

Предпосылкой данного исследования явился запрос одного из учреждений здравоохранения с просьбой уточнить гистологический вариант

опухоли щитовидной железы для решения вопроса о возможности ее быть причиной прогрессирования заболевания и уточнения причины смерти больной, у которой 24 года тому назад был установлен диагноз папиллярного рака щитовидной железы.

При изучении архивного материала патологоанатомического отделения за 1999г., мы не обнаружили гистологические микропрепараты и парафиновые блоки. В биопсийном журнале имелась запись об их выдаче для пересмотра. Установить организацию, в которую был направлен материал на пересмотр, не удалось. Однако, в архиве был обнаружен «сырой» операционный материал от данной пациентки, который находился в течение 24 лет в 10% незабуференном (кислом) формалине. По установленным нормативам «сырой» материал хранится 1 год, после чего уничтожается, но в некоторых случаях для научных и учебных целей материал может храниться дольше без определения конечных сроков.

Нами была выполнена стандартная автоматизированная гистологическая проводка материала ткани щитовидной железы от данной пациентки с заливкой в парафин и последующим окрашиванием рутинными гистологическими методиками: гематоксилином-эозином, ШИК-реакция, окраска по Ван-Гизону, окраска по Мэллори, серебрение. Кроме того, было выполнено ИГХ-исследование к TTF1, CK7, CK20, panCK и Ki-67. Выбор иммуногистохимических маркеров был обусловлен следующим: TTF1 – фактор транскрипции щитовидной железы 1, член семейства генов NKX2, окрашивает нормальные фолликулярные и парафолликулярные клетки щитовидной железы, в 100% экспрессируется в высокодифференциальных карциномах щитовидной железы (включая папиллярную карциному щитовидной железы) и в фолликулярных аденомах, и в 90% в низкодифференцированных карциномах щитовидной железы, медулярных карциномах щитовидной железы; CK20 – строго «-» для папиллярного рака щитовидной железы («+» в раке яичников, билиарных папиллярных раках, раке толстой кишки, раке поджелудочной железы). CK7 – «+» для папиллярного рака щитовидной железы. panCK – «+» для папиллярного рака щитовидной железы и для большинства карцином других локализаций. Индекс экспрессии маркера пролиферации Ki-67 в папиллярном раке щитовидной железы как правило низкий (1-5%) [3].

При оценке результатов установлено, что удалось получить высокое качество микропрепаратов, изготовленных с использованием всех вышеперечисленных рутинных гистологических окрасок, позволивших выставить заключение о наличии роста папиллярной карциномы, классический вариант, МКБ-0: 8260/3 (по классификации ВОЗ, 4-е издание, 2017г.). Однако при выполнении ИГХ-исследований полученные результаты были не столь хорошими. Так, мы получили вполне удовлетворительного качества мембранную и цитоплазматическую реакцию клеток папиллярной карциномы к CK7 и к PanCK, но при этом отсутствовала ядерная экспрессия к

TTF1, которая по идее должна была быть строго положительной. Результат окраски к CK20 был отрицательным, но провести сопоставление – это истинно отрицательная или ложноотрицательная реакция не представилось возможным. Аналогично не удалось дать оценку истинности отсутствия ядерной экспрессии Ki67.

#### **Выводы:**

1. При сверхдлительном времени фиксации (около четверти века) материала в 10% незабуференном формалине возможно получить микропрепараты высокого качества при использовании стандартных гистологических окрасок.

2. Удлинение сроков фиксации наиболее критично для экспрессии ядерных маркеров и менее значимо для мембранных и цитоплазматических.

3. Несмотря на возможность получения положительного ИГХ-окрашивания с некоторыми антителами при нетипичных условиях сверхдлительной фиксации в незабуференном формалине, для получения надежных результатов ИГХ-исследований и их адекватной интерпретации в клинических условиях необходима стандартная фиксация материала в 10% NBF с 24-48-часовой экспозицией.

#### **Литература**

1. Стандартные технологические процедуры при проведении патолого-анатомических исследований; клинические рекомендации RPS1.1 (2016) / П. Г. Мальков, Г. А. Франк, М. А. Пальцев. Российское общество патологоанатомов. – М. : Практическая медицина, 2017. – 136 с.

2. Завалишина, Л. Э. Методические рекомендации по проведению HER2-тестирования рака молочной железы / Л. Э. Завалишина, Ю. Ю. Андреева, А. А. Рязанцева, Г. А. Франк // Прил. к журналу Арх. пат. – М. : Медицина, 2011. – 24 с.

3. Интерпретация биопсий щитовидной железы / С. Бронер, С. Эйса; пер. с англ. под ред. Ю.А. Абросимова. – М. : Практическая медицина, 2020. – 360 с