

Streszczenie

Stosowana od 1994 roku w Klinice i Katedrze Dermatologii, Alergologii i Wenerologii metoda chirurgii mikrograficznej Mohsa polega na etapowym wycięciu guza nowotworowego z dokładnym badaniem śródoperacyjnym całości marginesów wycięcia, umożliwiającym kontrolowane histologicznie usunięcie tkanek nowotworu. Ponieważ badanie histopatologiczne odbywa się w trybie śródoperacyjnym i często jest wykonywane wielokrotnie, wymaga się, aby było ono przeprowadzone szybko. W tym celu wykorzystywana jest najczęściej technika skrawków mrożonych. Jednakże stosowane tradycyjne techniki obróbki tkanek, takie jak: zamrażanie w kriostacie oraz rutynowe barwienie H&E, wydają się zbyt długotrwałe i nie zawsze zapewniają najwyższą jakość preparatów. Celem przedstawionej pracy było opracowanie przyspieszonego szeregu barwienia H&E preparatów histopatologicznych, pozwalającego na otrzymanie optymalnego zabarwienia skrawków, przy jednoczesnym uzyskaniu ich wysokiej jakości. Aby zbadać jakość otrzymanych preparatów barwionych sposobem własnym (trwającym 4 min.54 sek.), porównano je z preparatami mrożonymi barwionymi rutynowo długo (15 min.35 sek.), a także bardzo szybką metodą wg Petersa (około 2 min.). Dodatkowo porównano preparaty wykonane metodą własną z uznawanymi za lepsze, ale wymagające długiej obróbki, preparatami wykonanymi techniką parafinową. Oprócz tego porównano jakość preparatów uzyskanych z tkanek zamrażanych w ciekłym azocie i w kriostacie z wykorzystaniem ewakuatora ciepła. Do badań pobrano wycinki tkankowe pochodzące od pacjentów klinicznych ze skóry zdrowej bądź z guzów nowotworowych skóry - raków podstawnocomórkowych, przeznaczone do utylizacji. Część z pobranych tkanek została wykonana techniką skrawków mrożonych, część parafinowych. Tkanki zamrażane były w ciekłym azocie, bądź w komorze kriostatu z wykorzystaniem ewakuatora ciepła. Uzyskane preparaty barwiono hematoksyliną i eozyną wg metody własnej, metody rutynowej długiej i metody bardzo szybkiej wg Petersa. Jakość wykonanych preparatów oceniana była przez dwóch lekarzy podczas badania w mikroskopie świetlnym, przy czym preparaty były zaślepione - o zaszyfrowanej przynależności do danej grupy. Oceniane były następujące elementy: integralność tkanek, jakość zabarwienia, uwidocznienie struktury tkankowej oraz uwidocznienie struktury komórkowej, z zastosowaniem trzystopniowej skali, której przypisywano wartość punktową: jakość dobra (2 punkty), średnia (1 punkt), niewystarczająca (0 punktów). Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono statystycznie przewagę preparatów parafinowych nad wykonanymi techniką mrożoną. Nie stwierdzono natomiast różnic pomiędzy preparatami mrożonymi barwionymi metodą rutynową (trwającą 15 min.35 sek.), a szybką metodą własną (trwającą 4 min.54 sek.). Wykazano także, że jakość preparatów barwionych szybką metodą własną (4 min. 54 sek.) jest wyższa niż barwionych bardzo szybką metodą wg Petersona (około 2 min). Ponadto wykazano, iż jakość preparatów, w których tkanka mrożona była w ciekłym azocie jest wyższa od preparatów, w których tkanka mrożona była w kriostacie, co udowadnia, iż ta forma mrożenia powoduje powstanie mniejszej ilości artefaktów w tkance.

Wyniki przeprowadzonych badań pozwalają na wysunięcie wniosków, że zaproponowana w pracy szybka metoda własna barwienia H&E oraz mrożenie tkanek w azocie są optymalne do zastosowania w technice chirurgii mikrograficznej Mohsa.