

# TMA – TEHNIKA UŠTEDE

Helga Frketić<sup>1,2</sup>, Ankica Brajenić<sup>1,2</sup>, Ozren Štanfel<sup>1,2</sup>, Sanjin Čop<sup>1,2</sup>, Gordana Đorđević<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Klinički zavod za patologiju i citologiju, Klinički bolnički centar Rijeka, Rijeka, Hrvatska

<sup>2</sup>Zavod za opću patologiju i patološku anatomiju, Medicinski fakultet Rijeka, Rijeka, Hrvatska

## Uvod

Tkivne mikroareje (TMA) koriste se za molekularne i imunohistokemijske studije. Kroz istraživanja dokazano je da ova tehnika šteti tkivo i vrijeme omogućujući financijski isplativiju visokoučinkovitu analizu stotina uzoraka tkiva ili stanica u jednom eksperimentu iz definiranih regija tumora. TMA je dovela do značajnog ubrzanja prijelaza bazičnih istraživanja u kliničku primjenu posebice u prognostičkoj onkologiji i otkrivanju novih lijekova.

Cilj nam je bio prikazati ovu metodu koja se koristi na našem zavodu od 2006. godine u kreiranju tumorskih modela uglavnom za znanstvena istraživanja.

## Metoda

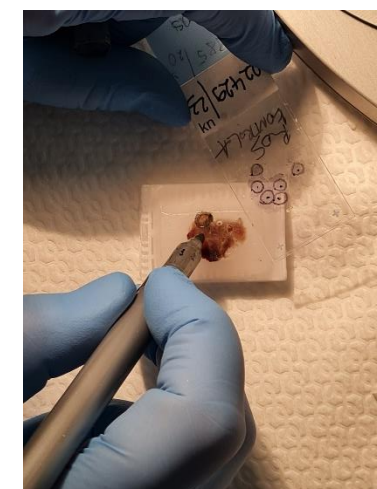
Tehnika TMA je mehanička tehnika koja uključuje uzimanje tkivnih cilindara iz parafinskih kocki tzv. donora te precizno umetanje tako dobivenih tumorskih uzoraka u prazan „recipient“ parafinski blok. Na našem Kliničkom zavodu za patologiju i citologiju KBC-a Rijeka i Zavodu za patologiju i patološku anatomiju Medicinskog fakulteta u Rijeci za izradu tkivnih mikroareja koristimo uređaj „Alphelys, Plaisir, France“



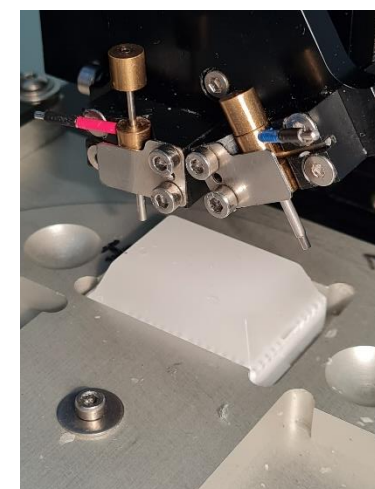
**Slika 1.** Uređaj za izradu tkivnih mikroareja „Alphelys, Plaisir, France“

## Metoda (nastavak)

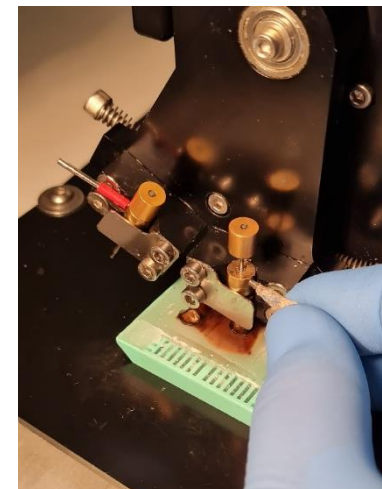
Prije same izrade TMA-a potrebno je pregledavanje standardnih tkivnih rezova obojenih Hematoksilin–eosinom. Na staklu se označi reprezentativno područje izabrane regije prema zadanim kriterijima potrebnim za istraživanje. Potom se isto područje označi na pripadajućoj parafinskoj kocki (donorska kocka) kako bi se ista regija iz donorske mogla prenijeti u „recipient“ parafinsku kocku. Novi parafinski blokovi sadrže u prosjeku po tri cilindra odabranog tumora ili neke druge promjene od interesa za istraživanje. Cilindri mogu biti promjera 0,6-2 mm. Standardni rezovi debljine do 3 mikrona omogućuju brojne imunohistokemijske i molekularne studije.



**Slika 2.** Obilježavanje područja od interesa na tkivnom uzorku (kocka „donor“)



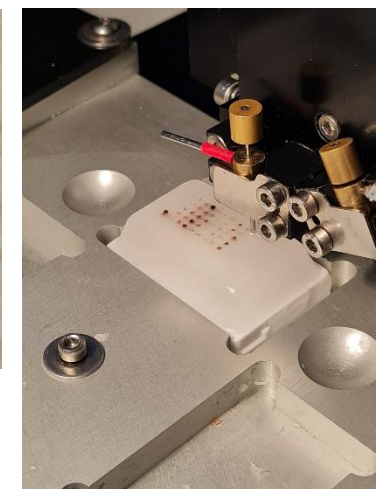
**Slika 3.** Prazna parafinska kocka „recipient“; izvlačenje parafinskog cilindra iz kocke, početak rada na uređaju „Alphelys, Plaisir, France“



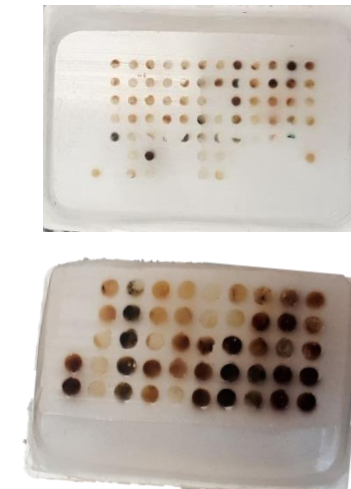
**Slika 4.** Izvlačenje tkivnog cilindra iz parafinske kocke donora



**Slika 4.A**  
Parafinski cilindri tkiva promjera 1,5 mm i 1,0 mm. Na slici se vidi različita dubina tkiva u pojedinom cilindru.

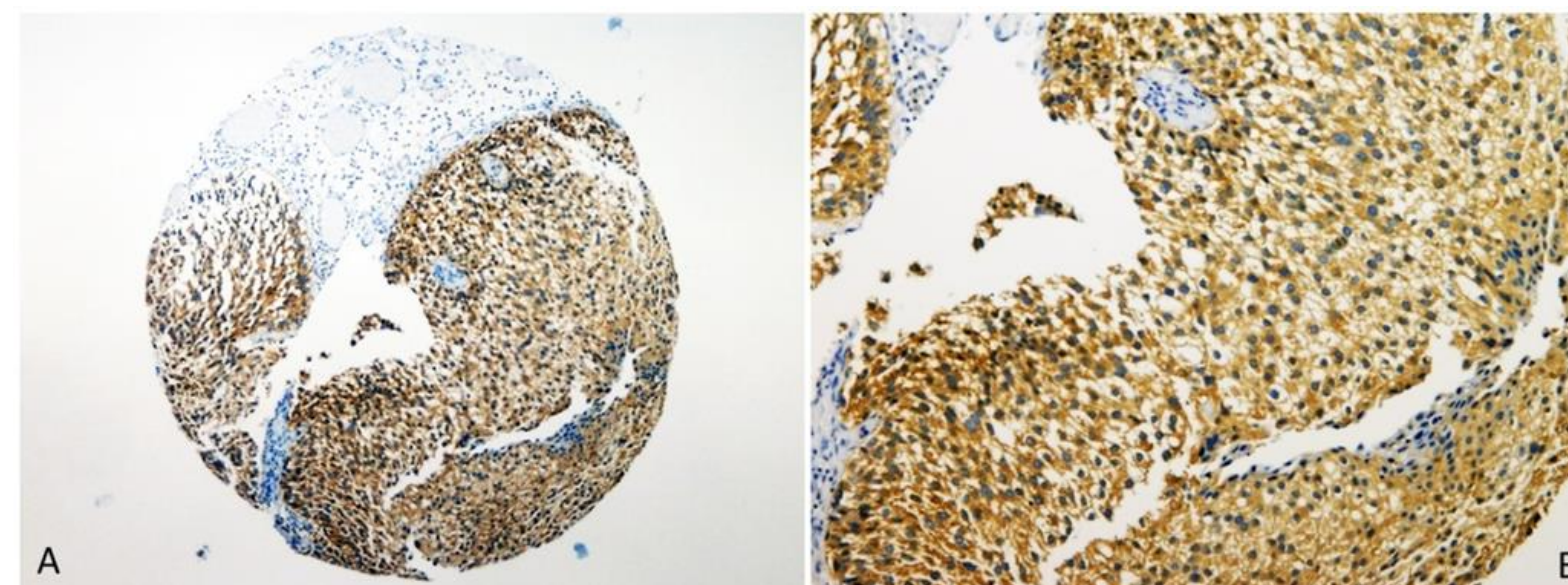


**Slika 5.** Parafinska kocka „recipient“ djelomično ispunjena tkivnim cilindrima



**Slika 6.** Kocke s tkivnim mikroarejama (Ø 1 mm i Ø 2 mm)

Imunohistokemijske analize na parafinskim rezovima iz TMA kocka odrađuju se koristeći jednake protokole za pojedina protutijela kao i za cijele rezove tkivnih uzoraka fiksiranih u formalinu i uklopljenih u parafin (standardni postupak).

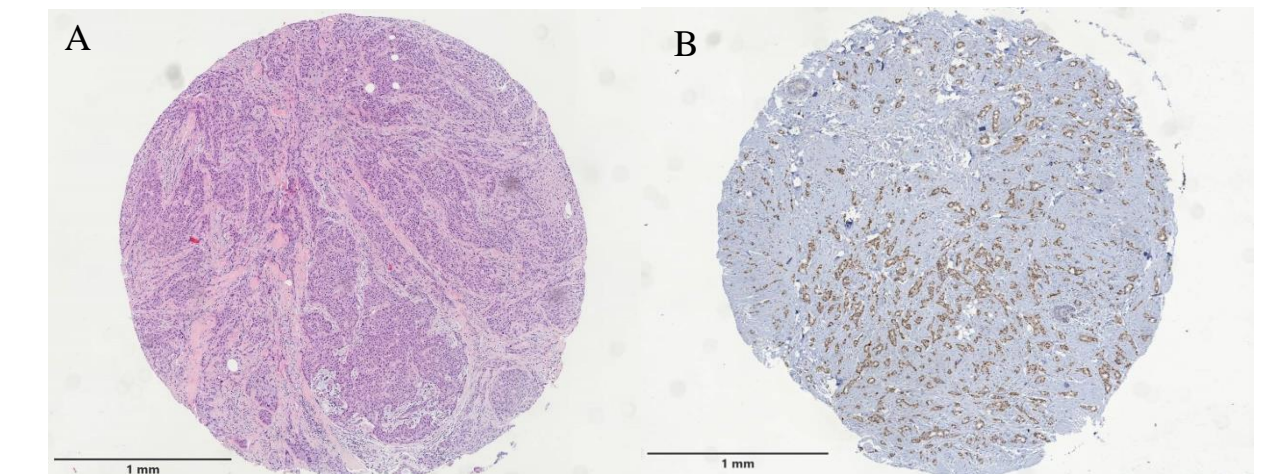


**Slika 7.** Analiza obojenja na TMA: Imunohistokemijsko obojenje COX-2 na tkivnim mikroarejama urotelnih tumora (A, povećanje x20). (B, povećanje x100).

## Zaključak

Metoda izrade tkivnih mikroareja pokazala se veoma učinkovitom u znanstvenoistraživačkom radu obzirom da pruža mogućnost istovremene histokemijske, imunohistokemijske ili molekularne analize velikog broja arhivskih uzoraka te se na taj način štede reagensi i vrijeme koje bi bilo potrebno da se iste analize učine na cijelim tkivnim rezovima. Na ovaj način uzorci se analiziraju u jednakim uvjetima što je još jedan važan čimbenik za njihovo korištenje.

Na našem Kliničkom zavodu za patologiju i citologiju KBC Rijeka i Zavodu za patologiju i patološku anatomiju Medicinskog fakulteta u Rijeci osim u istraživanjima TMA, su našle primjenu i u rutinskom, stručnom radu za svakodnevnu kontrolu imunohistokemijskog bojenja te u određivanju molekularnih markera karcinoma dojke unutar nacionalne ring studije.



**Slika 8.** TMA - invazivni karcinomi dojke (A) HE bojenje; (B) androgeni receptori-Anti- Human Androgen Receptor M3562 firme DakoCytomation

## Referenca

*Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques, 7th edition Churchill Livingstone Elsevier, 2013, Elsevier Limited*