**Парафиновые блоки**

Для проведения иммуногистохимического исследования используют зафиксированный и заключённый в парафиновый блок образец ткани. Парафиновый блок с биологическим материалом может храниться длительное время, что позволяет провести иммуногистохимический анализ в любое время. При использовании парафиновых блоков следует учитывать необходимость применения реактивов для восстановления антигенов, (рекомедуемые реактивы Trilogy и Declere), поскольку такие этапы обработки материала как формалиновая фиксация и процедура заливки в парафин вызывают уменьшение доступности искомых антигенов.

При анализе архивного материала необходимо учитывать сроки и условия хранения биообразцов. Так, M. Economou c соавт. (2014) отмечает значительно ухудшение результатов ИГХ окрашивания после хранения парафиновых блоков при комнатной температуре, что ведет к ложноотрицательным результатам. Повреждающее действие на антигены оказывают такие факторы как длительность хранения, реакции окисления, гидролиза, полное время проводки, экспозиция солнечного света, время фиксации, тип фиксации.

Парафиновый блок служит источником для получения гистологических срезов толщиной от 0.5 до 10-15 мкм (в зависимости от необходимости). Срезы изготавливают с помощью микротомов. Микротомные лезвия низкого или высокого профиля служат расходным материалов в этом случае.

Полученные срезы для ИГХ размещают на специальных отрицательно заряженных стёклах. Такие маркированные микропрепараты с гистологическими срезами подвергают обработке в ходе многоступенчатого окрашивания. Важным подготовительным этапом к иммуногистохимическому окрашиванию является процедура депарафинизации – удаления парафина с гистологических срезов. Недостаточное удаление парафина во время пробоподготовки может препятствовать проникновению реактивов к антигенам и, таким образом, приводить к слабому окрашиванию образцов.

Для лучшей сохранности антигенов при необходимости длительного хранения M. Economou c соавт. (2014) предлагают держать срезы в парафиновой «пленке» в холодильнике при температуре +4оС. По их данным это препятствует потере антигенности.

Компания “Микротесты в биологии, медицине и ветеринарии” предлагает различные реагенты для проведения иммуногистохимического окрашивания ведущих мировых производителей.

**Список литературы:**

M. Economou, L. Schöni, et al. Proper paraffin slide storage is crucial for translational research projects involving immunohistochemistry stains. Clin Transl Med. 2014; 3: 4.

Bertheau P, Cazals-Hatem D, Meignin V, de Roquancourt A, Verola O, Lesourd A, Sene C, Brocheriou C, Janin A. Variability of immunohistochemical reactivity on stored paraffin slides. J Clin Pathol. 1998;3:370–374. doi: 10.1136/jcp.51.5.370. [PMC free article] [PubMed] [Cross Ref]

DiVito KA, Charette LA, Rimm DL, Camp RL. Long-term preservation of antigenicity on tissue microarrays. Lab Invest. 2004;3:1071–1078. doi: 10.1038/labinvest.3700131. [PubMed] [Cross Ref]

Wester K, Wahlund E, Sundstrom C, Ranefall P, Bengtsson E, Russell PJ, Ow KT, Malmstrom PU, Busch C. Paraffin section storage and immunohistochemistry. Effects of time, temperature, fixation, and retrieval protocol with emphasis on p53 protein and MIB1 antigen. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2000;3:61–70. doi: 10.1097/00022744-200003000-00010. [PubMed] [Cross Ref]