

A patológiai vizsgálatok metodikája

1. Biopsziás technikák
2. Speciális vizsgálatok

Biopszia indikációk

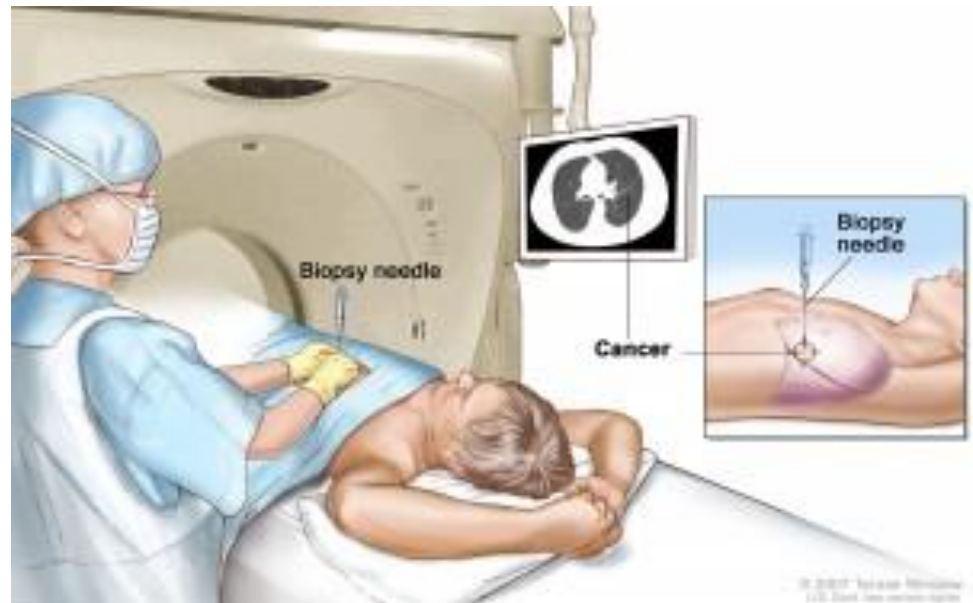
- Disszeminált/diffúz eltérések
 - Folyamat etiológiájának tisztázása
 - Szisztémás kezeléshez szükséges paraméterek meghatározása
- Szoliter eltérések
 - Etiológia, dignitás tisztázása
 - Műtéti kezeléshez szükséges paraméterek meghatározása

Biopszia típusok

- Citológia
 - Kefe
 - Folyadék
 - Vékonytű aspiráció
- Szöveti mintavétel („kis biopsziák”)
 - Excíziós (direkt, nyílt műtéti, video asszisztált)
 - Vastagtű (core)
 - Endoszkópos

Biopszia vezérlése

- Vizuális
 - Felszínes lokalizáció, testüreg, lumenes szervek
- Képképző (UH, CT, MR)
 - Mély lokalizáció



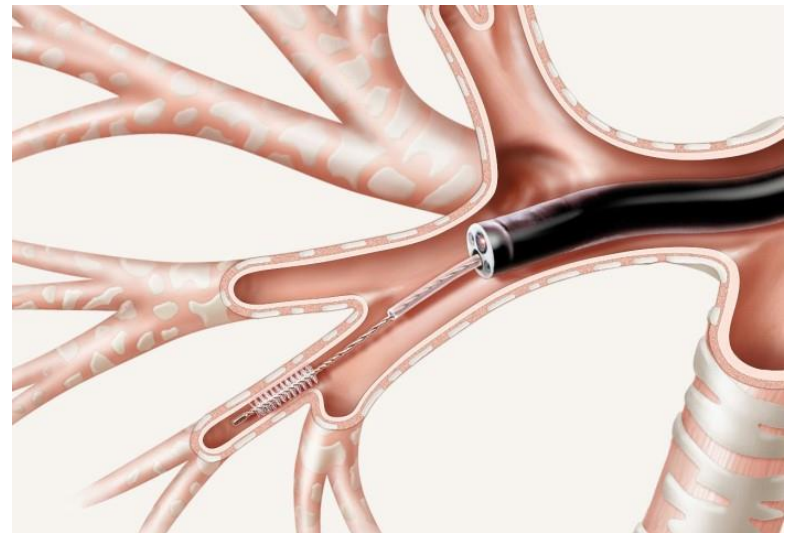
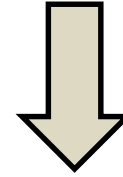
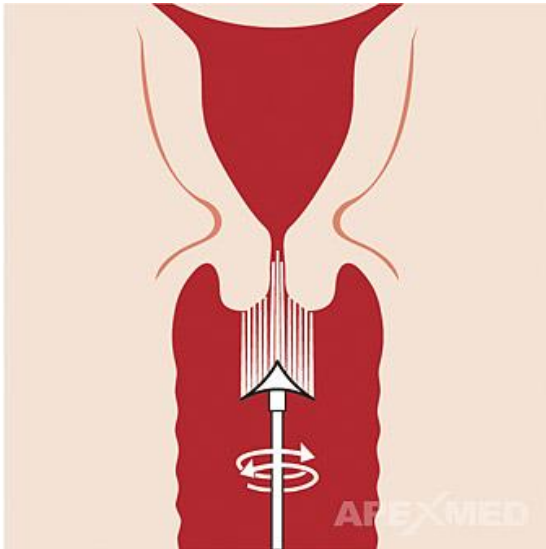
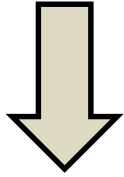
Citológiai mintavétel

- Eredménye: KENET= tárgylemezre szélesztett sejt minta
 - Sejtes elemek: az elváltozásból és az alapszövetből (arányuk függ a mintavétel technikától, lézió típusától)
 - „Háttér”: vér, gyulladás, extracellularis anyag (nyák, kolloid stb.)
- Gyors diagnózis (akár rögtön)
- Egyszerű kezelés:
 - Nedves fixálás (alkohol)+festés (HE, Papanicolaou): leginkább megőrzött morfológia
 - Szárítás+festés (Giemsa, Diff-Quik): még gyorsabb és egyszerűbb, de megváltozik a sejtek morfológiája

Citológiai mintavétel típusai 1.

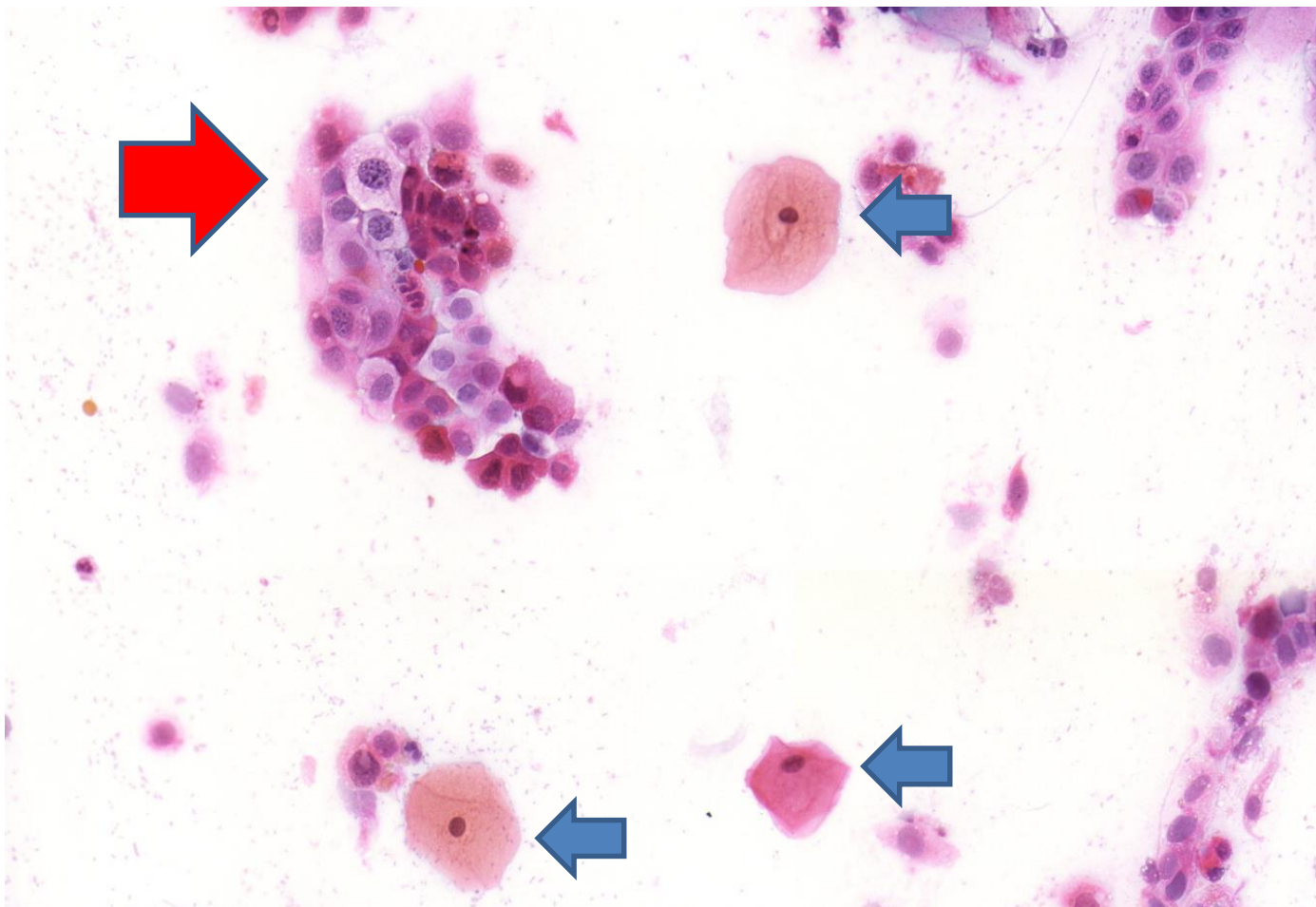
Kefecitológia

- Hámfelszín területek (cervix)
- Szűk üreges struktúrák (bronchus, epeút)
- Mit mutat ki? - intraepiteliális vagy invazív neoplasiák
- Kenet jellemzők: sok normál/reaktív hámsejt
- Hibalehetőség
 - Reaktív vs. malignus
 - Intraepithelialis vs. invasiv tumor



Pap kenet

Normál felszíni sejtek: kék
Atypusos sejtek (HSIL): piros



Citológiai mintavétel típusai 2.

Folyadékciológia

- Tumoros/gyulladásos eredetű testüregi folyadék, cystabennék vagy „természetes” folyadék– nem vér!! (peritoneum/pleura/pericardium, vizelet)
- Kenet jellemzők
 - sok normál/reaktív mesothel vagy hámsejt, amelyek a folyadékban „ázva” duzzadnak-roncsolódnak
 - sokszor nagyszámú gyulladásos sejt (neutrophil, histiocyta)
- Hibalehetőség
 - Reaktív vs. malignus

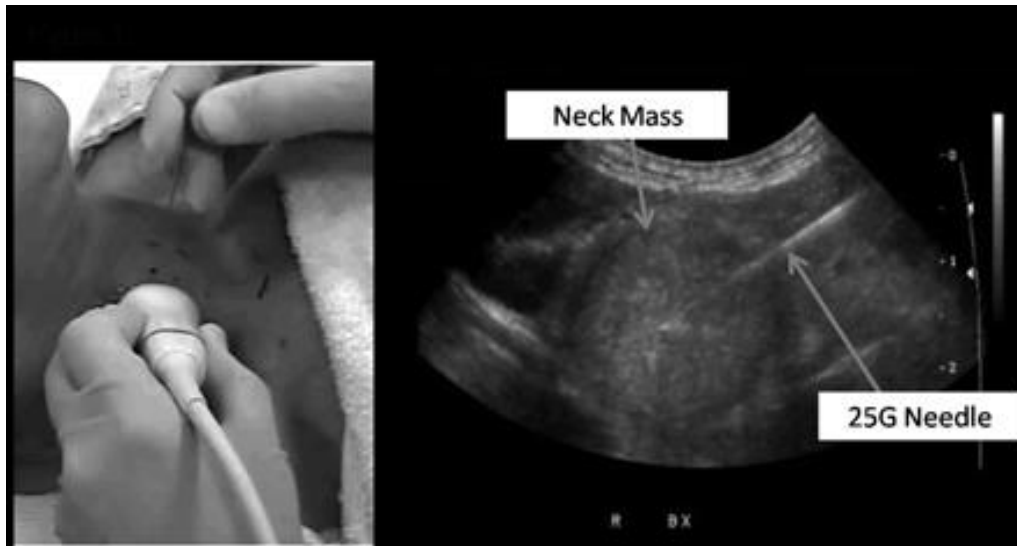
Citológiai mintavétel típusai 3.

Vékonytű aspirációs citológia (FNA)

- Solitaer/multifocalis solid képletek
- Kenet jellemzők
 - Tumoros lézió esetében ideális esetben csak tumorsejtek
 - Változó mértékben az alapszövet sejtjei (pl. nyirokcsomó esetén sok lymphoid sejt)
 - Kontamináció a szűrési csatornából (pl. hasüregi lézió szűrése esetén esetén bélhámsejtek, mesothel stb.)
- Hibalehetőség
 - Nem reprezentatív kenet (téves célzás, necrosis stb.)

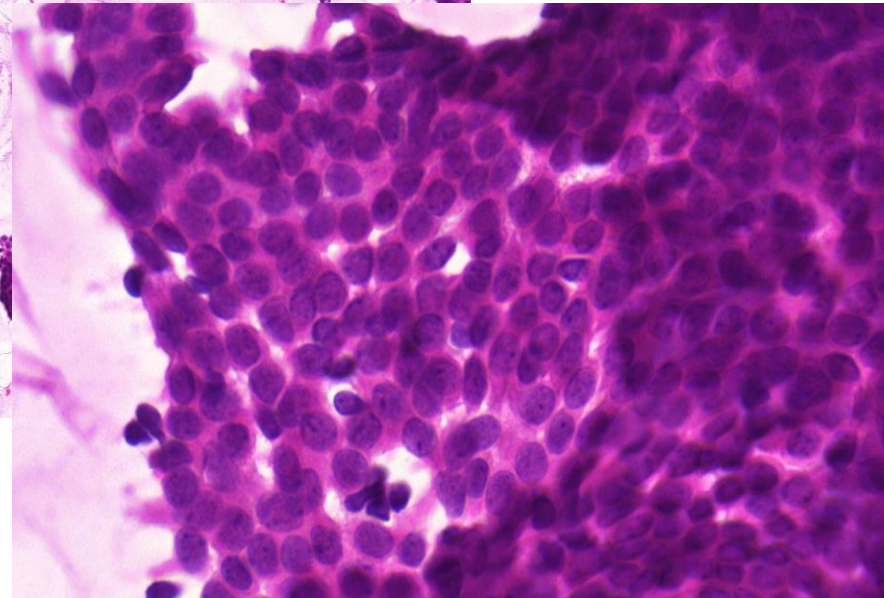
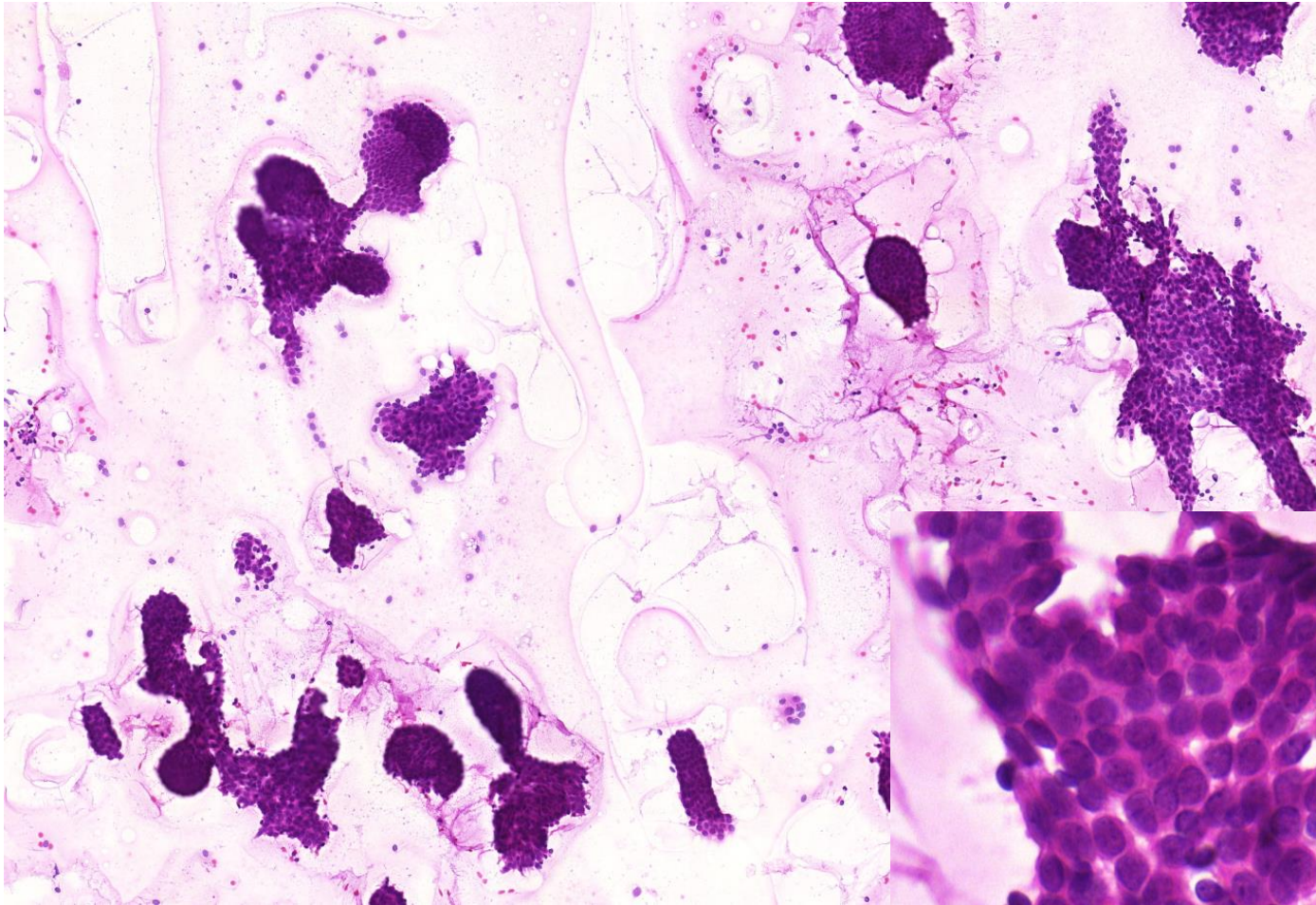
Vékonytű aspirációs citológia (FNA)

- Egyszerű eszközök (tű, fecskendő)
- Vezérlés
 - UH (elsőként választandó, egyszerű, gyors, „valós idejű” célzás)
 - EUH (lumenes szervhez közeli képlet, pl. pancreas, hilusi nyirokcsomó)
 - CT (UH-val nem lokalizálható lézió, mellkasi képletek; hosszabb procedúra, rögzített kép alapján történő célzás)



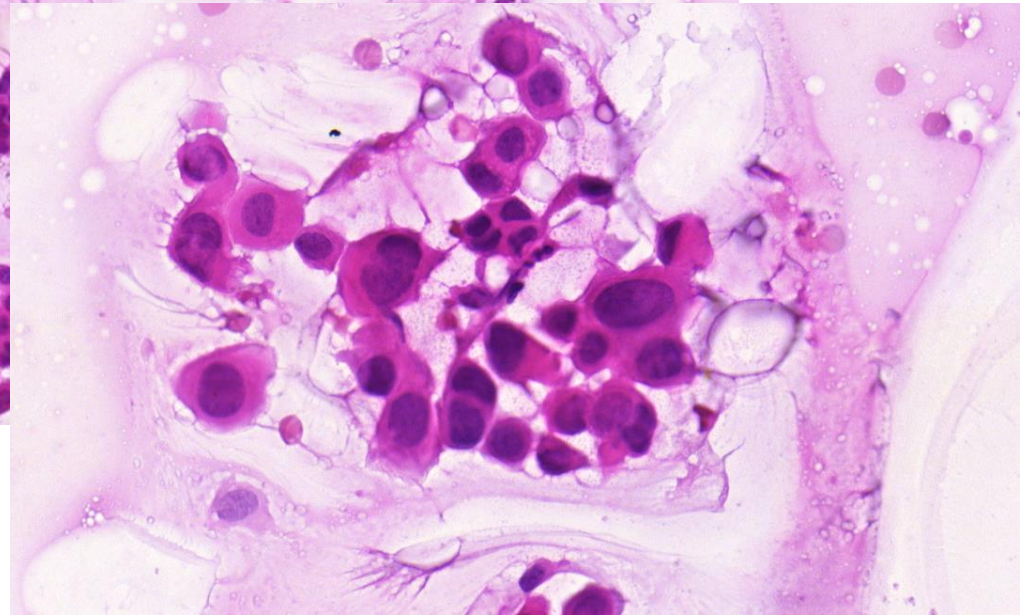
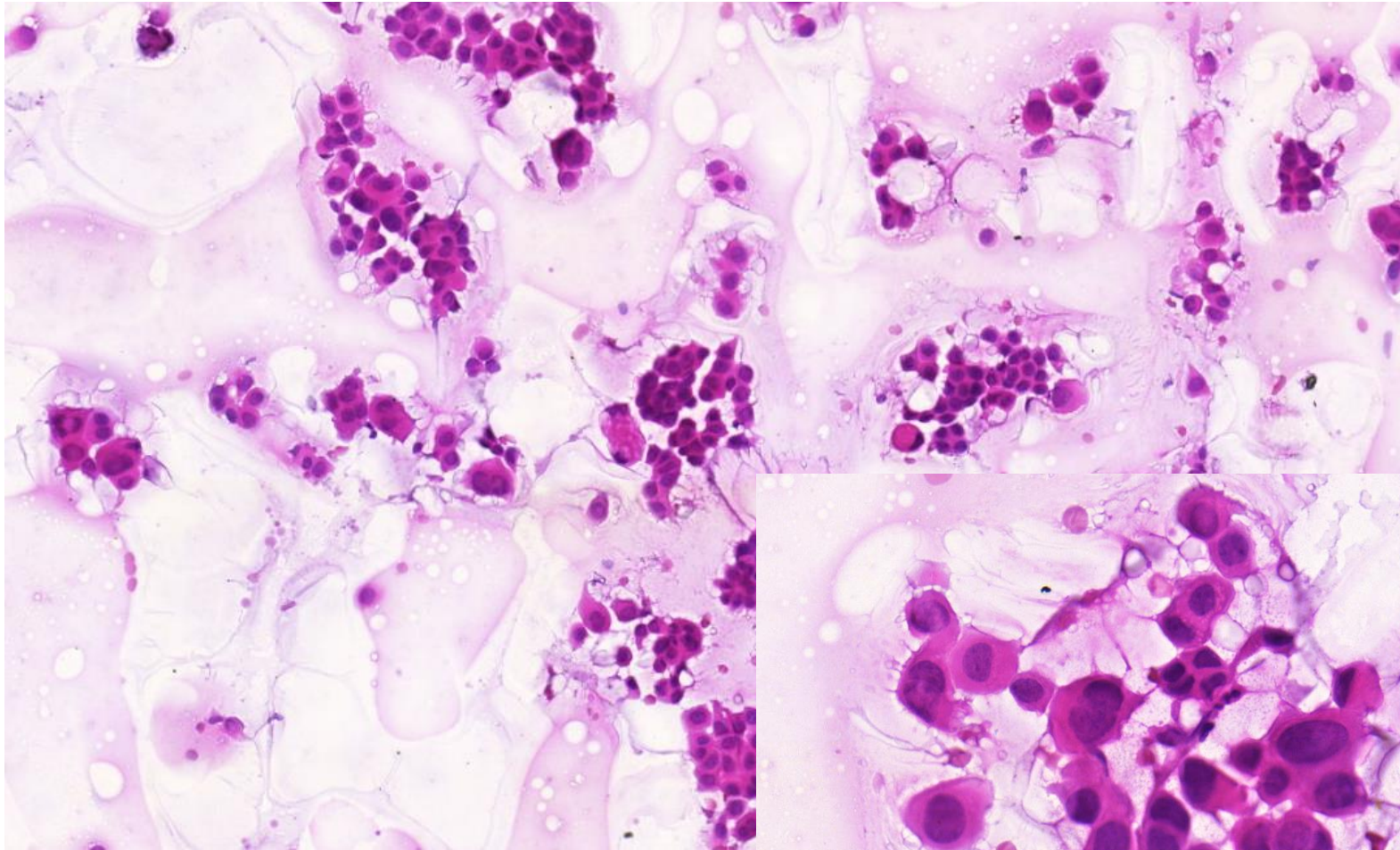
FNA: benignus tumor (emlő fibroadenoma)

- Jól formált, kohezív mirigyszerű sejtlemezek
- Nincs atypia
- Csak tumorsejtek – normál emlősejtek nem reprezentáltak



FNA: malignus tumor (invasiv emlő carcinoma)

- Discohesiv sejtpopuláció – egyes sejtek
- atypia
- Csak tumorsejtek – normál emlősejtek nem reprezentáltak



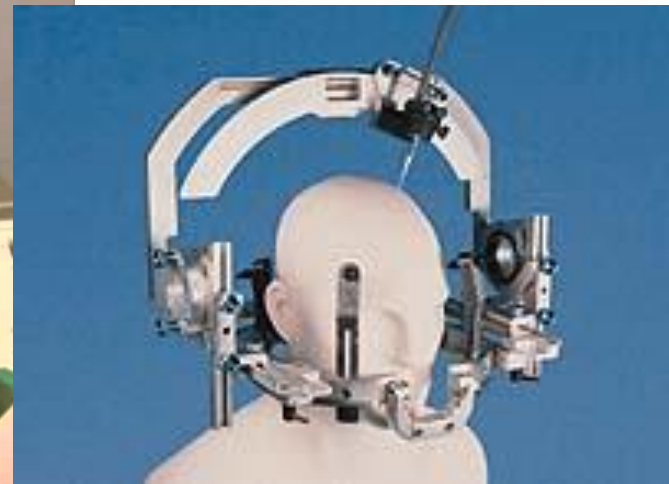
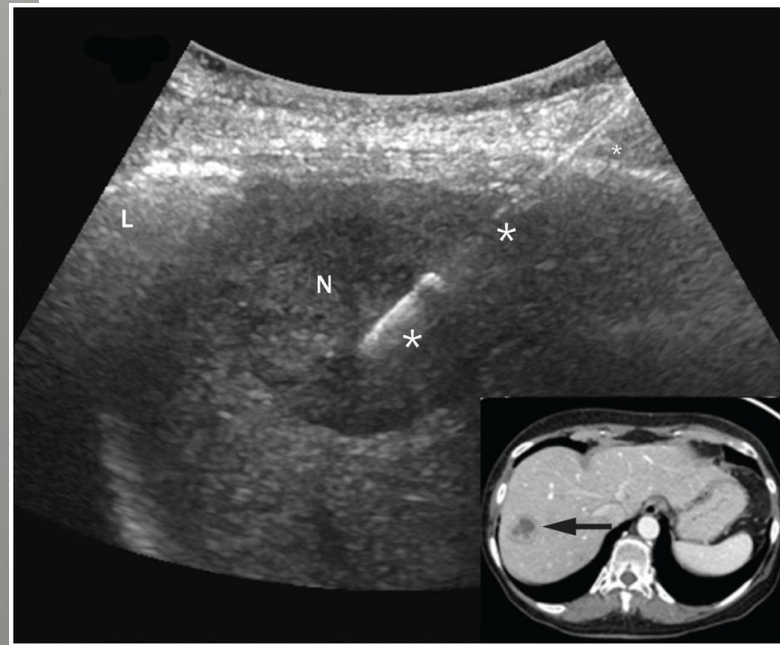
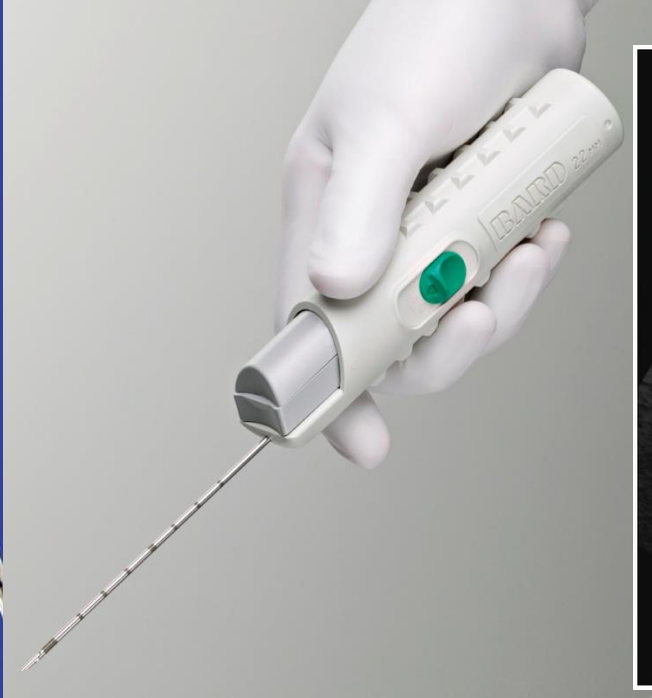
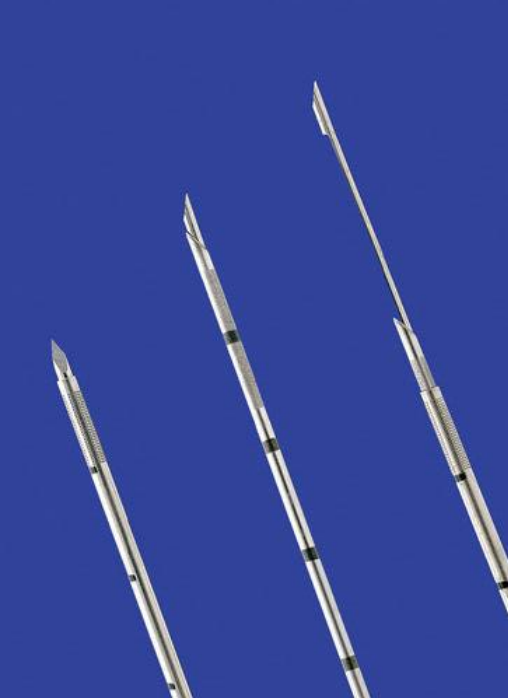
Szövetteni mintavétel

- Eredménye: METSZET
- Technika ua. mint rutin szövettan esetében, tehát nincs azonnal diagnózis (min. 24 óra, de inkább 2 nap)
- Azonnali fixálás (formalin)
 - KIVÉVE, friss minta, azonnal patológiára küldve!!: vese vagy bőr biopszia (immunfluoreszcens vizsgálat), lymphoma (molekuláris vizsgálatokhoz ideálisabb a fagyasztott minta..)

Szöveti mintavétel típusok 1.

Vastagtű (core) biopszia

- Focalis lézió (solitaer vagy multifocalis), szolid szövetekben – citológia kiegészítője lehet
- Diffus lézió szolid szövetekben, melyek strukturális szöveti eltérésekkel járnak (glomerularis betegségek, diffus májbetegségek) – csak a szövettan informatív!
- Célzás
 - UH, CT, MR
 - stereotaxiás



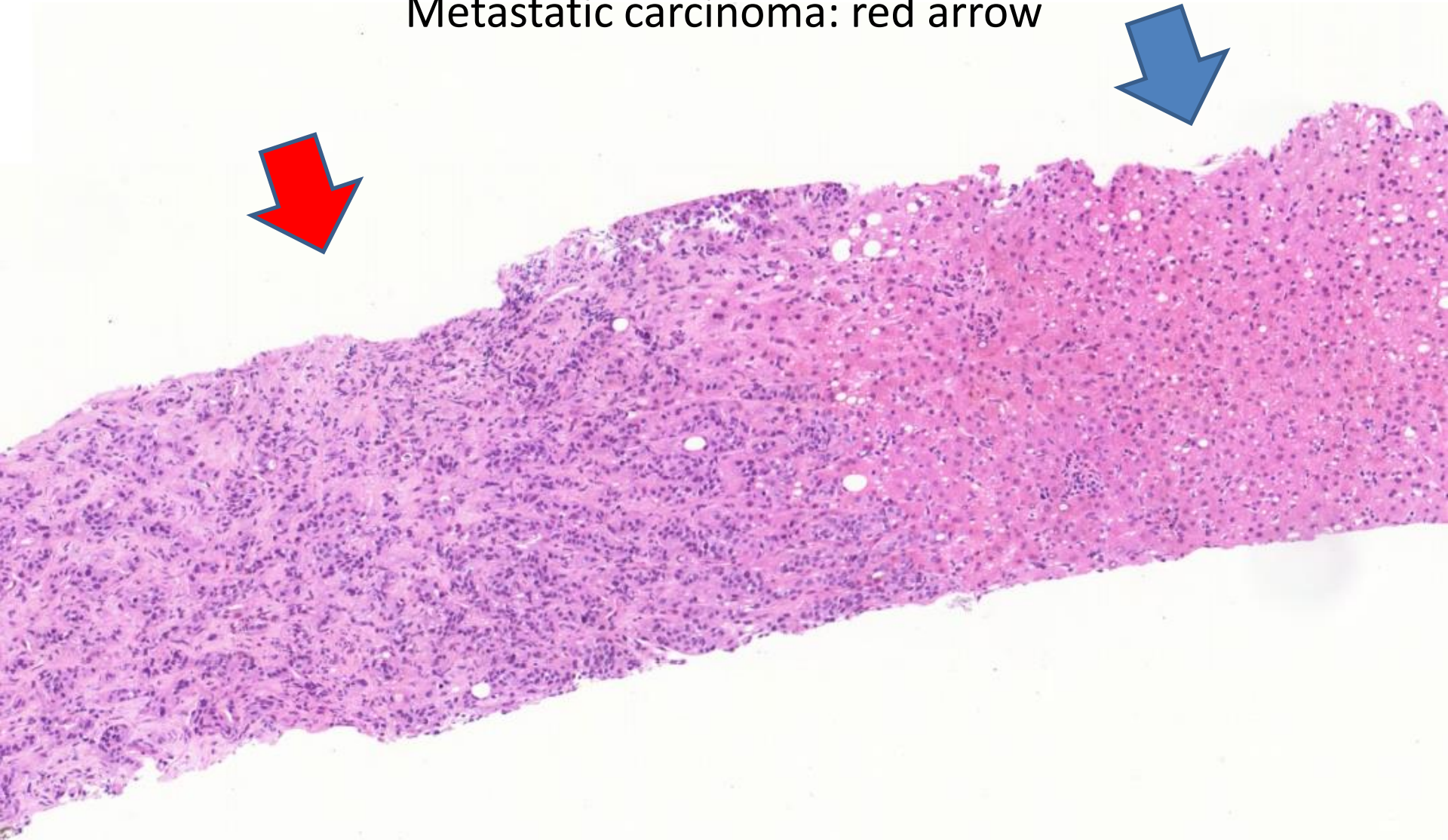


A core needle biopsy allows more tissue to be removed from the breast. This allows the pathologist to give a histological diagnosis as against a cytological diagnosis obtained by FNAC

CNB: liver metastasis

Normal liver: blue arrow

Metastatic carcinoma: red arrow

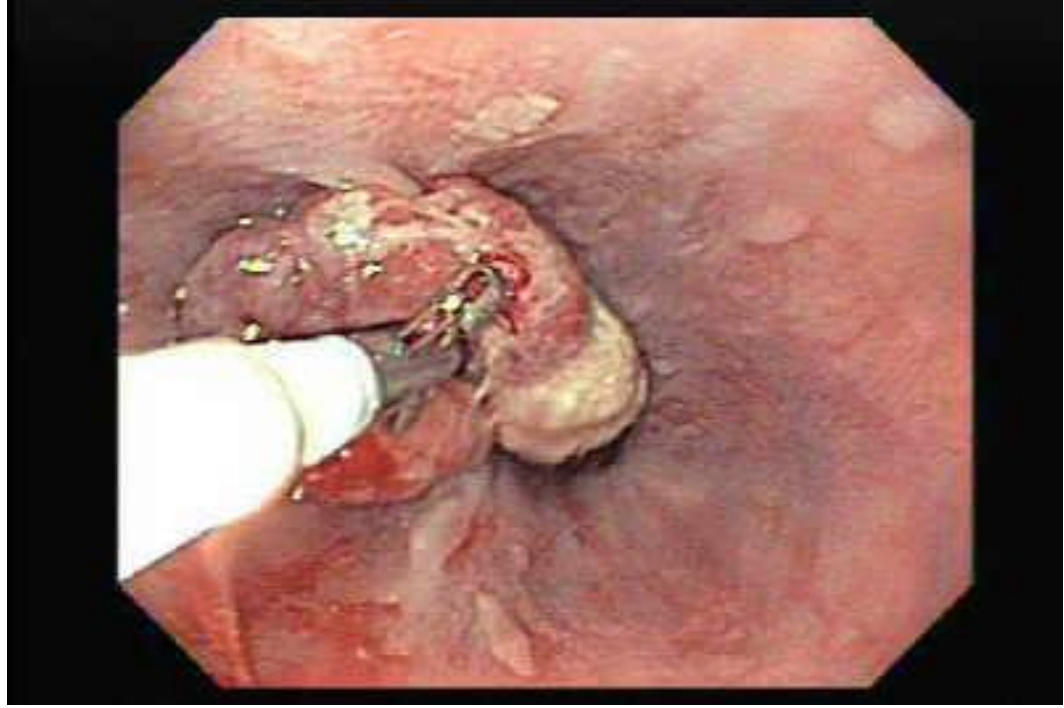


Szöveti mintavétel típusok 2.

Endoszkópos biopszia

- Gastroszkópia (nyelőcső-duodenum)
- Colonoszkópia (terminalis ileum-anus)
- Laryngoszkópia (garat-gége)
- Bronchoszkópia (trachea-nagyobb bronchus)
- Cystoszkópia

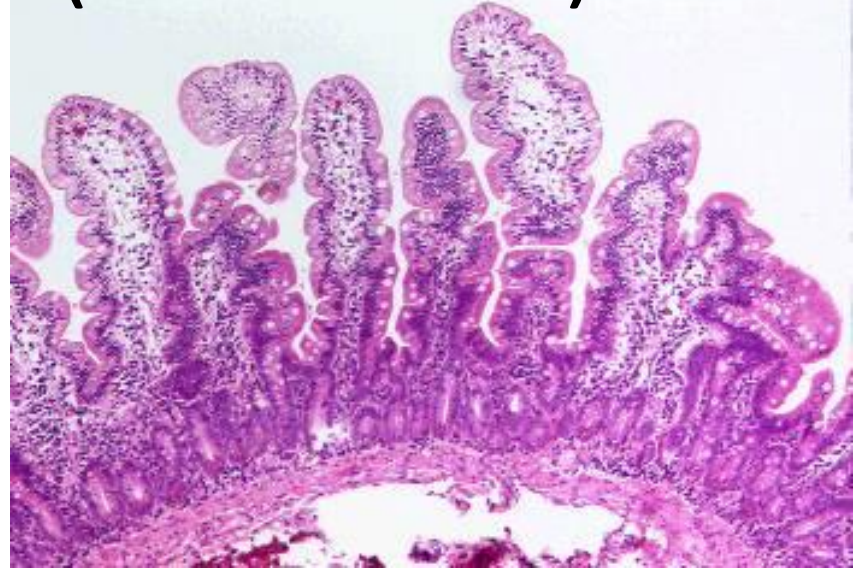
- Focalis lézió (tumor): 2-3 minta, lehetőleg széli, vagy tumor felszíni terület, legyen elég mély, de ne a necrosisból
- Diffus lézió (gastritis, IBD): térképbiopszia
 - Ideális biopszia: reprezentatív=muscularis mucosae is, papírlapon fixálás=jobb orientálás...



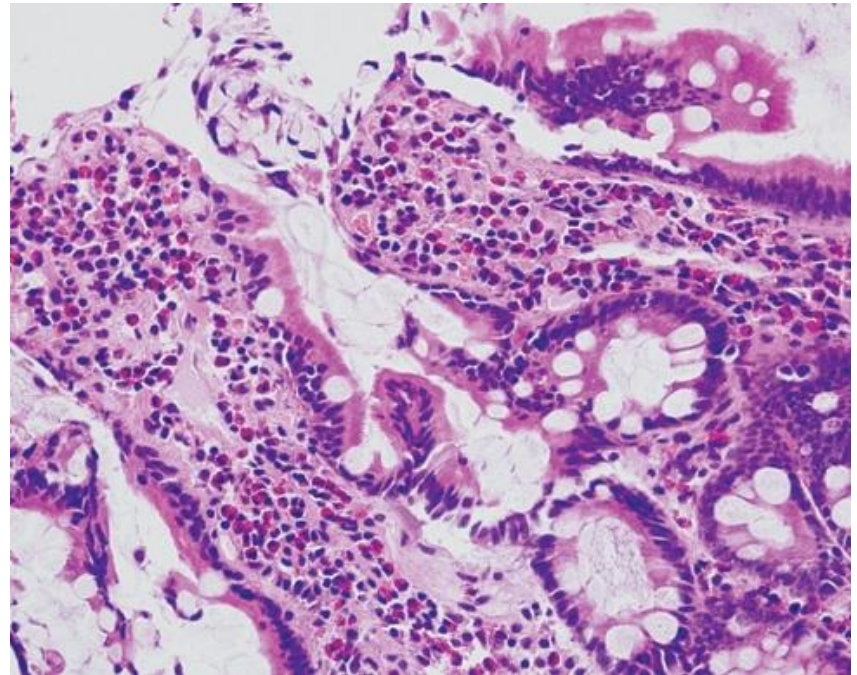
Endoscopias biopszia (duodenum)

Boholystruktúra megítélésére

Ideális minta



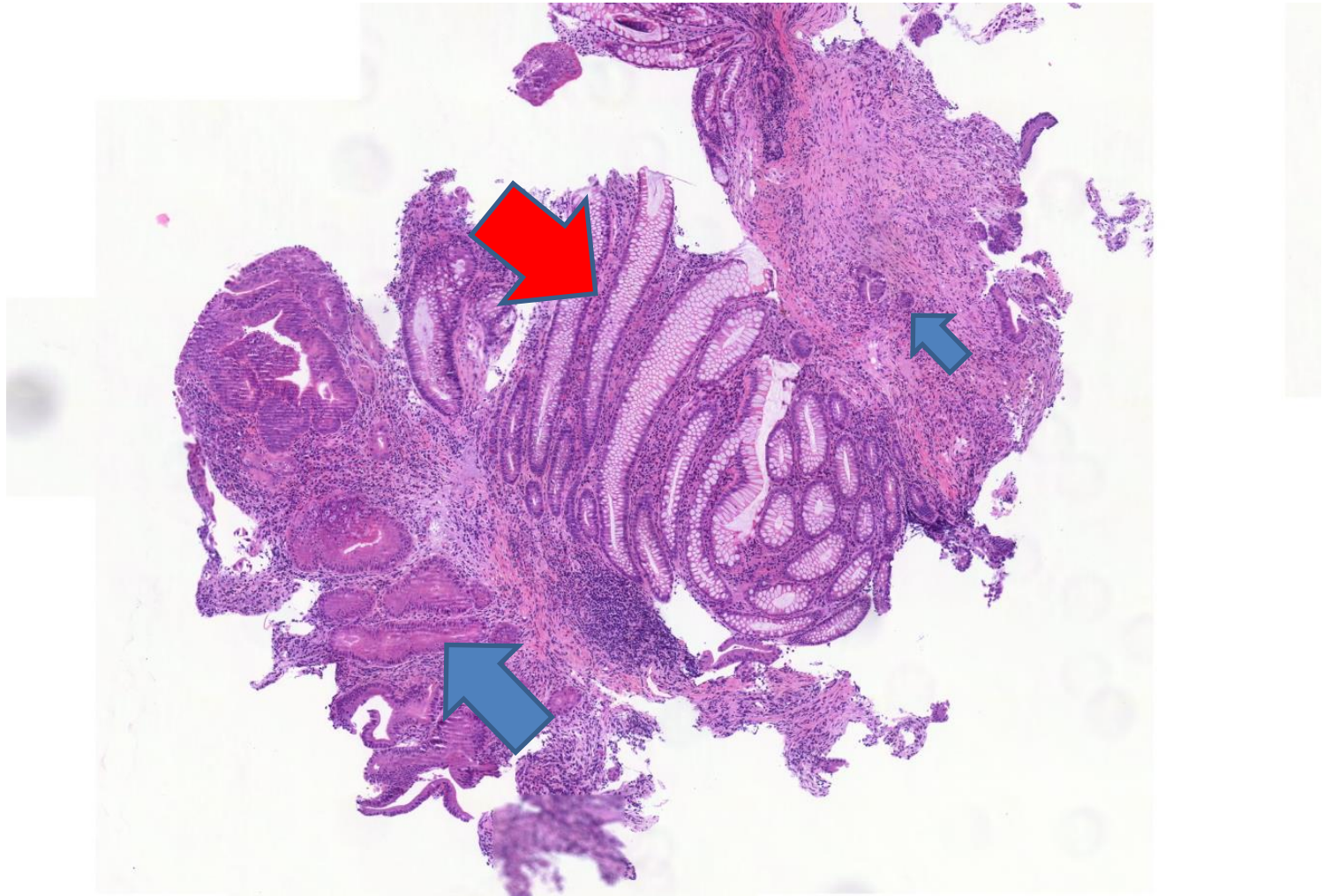
Nem diagnosztikus
minta



Endoscopy biopsia (colon adenocarcinoma)

Normál mucosa: kék

Tumor: kék



Citológia vs szövettan

Előnyök	<ul style="list-style-type: none">•Gyors•Kis eszközigény•Kevésbé invazív, alacsony szövődmenyrata	<ul style="list-style-type: none">•Nagyszámú minta készíthető (metszet)•Ideálisabb, ha nagyszámú IHC szükséges
Hátrányok	<ul style="list-style-type: none">•Korlátozott számú minta (kenet nem sokszorozható)•Kis számú egyéb vizsgálatra használható	<ul style="list-style-type: none">•Lassabb dg•Eszközigény, drágább•Invazívabb, magasabb szövődmenyrata
Diagnosztikus információ (tumorok esetén)	<ul style="list-style-type: none">•Dignitás•Tumor típus meghatározás: nem mindig pontos•Low grade/high grade•Invázió – korlátozottan	<ul style="list-style-type: none">•Dignitás•Pontosabb tumor tipizálás•Invázió megítélése•Grade és egyes prognosztikus paraméterek pontosabban meghatározhatók (pl. proliferáció)
Alkalmazás	<ul style="list-style-type: none">•Műtéti indikáció felállítása•Tumor szöveti eredetének meghatározása (pl. áttétből)•Molekuláris vizsgálatok•Speciális lokalizációk, ahol vastagtű biopszia nem használható (fej-nyak)	<ul style="list-style-type: none">•Műtéti indikáció felállítása•Tumor szöveti eredetének meghatározása (pl. áttétből)•Molekuláris vizsgálatok, kemoterápia pontos tervezése•Speciális tumorok (pl. limfóma)

Mindkét technikánál igen fontos szempont a mintavevő gyakorlottsága! Rossz mintának nincs diagnosztikus értéke = felesleges invazív beavatkozás!!

Intraoperatív vizsgálat

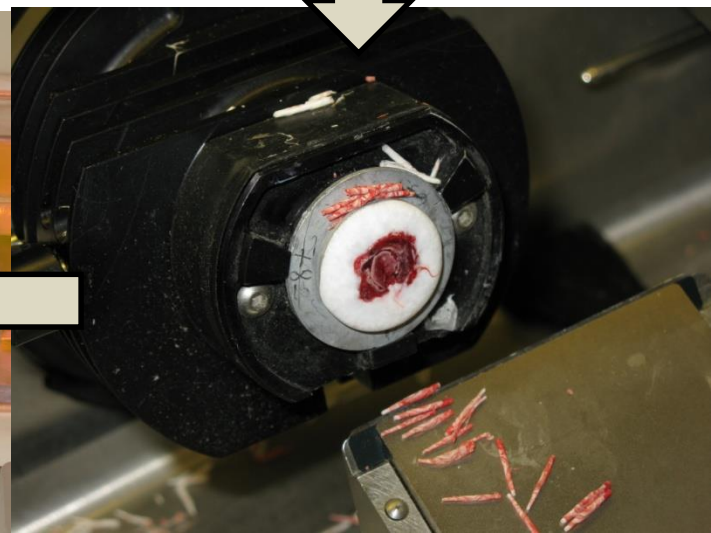
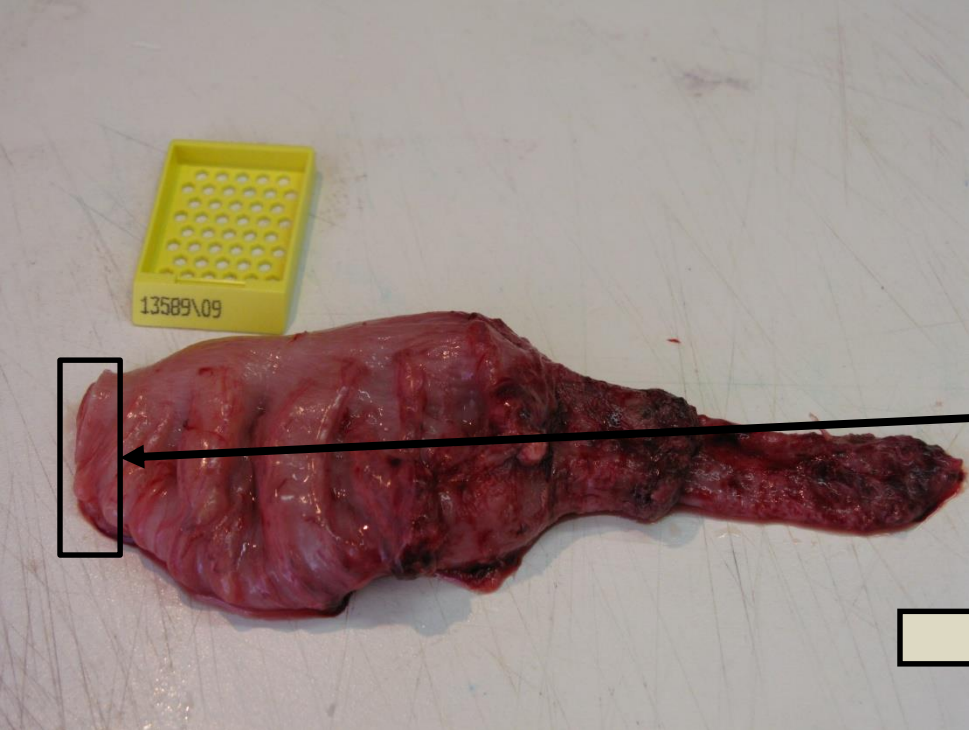
Indikáció

- Nem történt preoperatív biopszia (pl. pancreas, ovarium): az elváltozás természetének meghatározása (benignus vagy malignus)
- Ismert malignitás esetén:
 - Rezekciós szélek (pozitív vagy negatív)
 - Sentinel nyirokcsomó státusz (pozitív vagy negatív)
 - Preoperatív képalkotással fel nem ismert kísérő lézió (pl. kis májmetasztázis, vagy carcinosis)

Intraoperatív vizsgálat

Technika

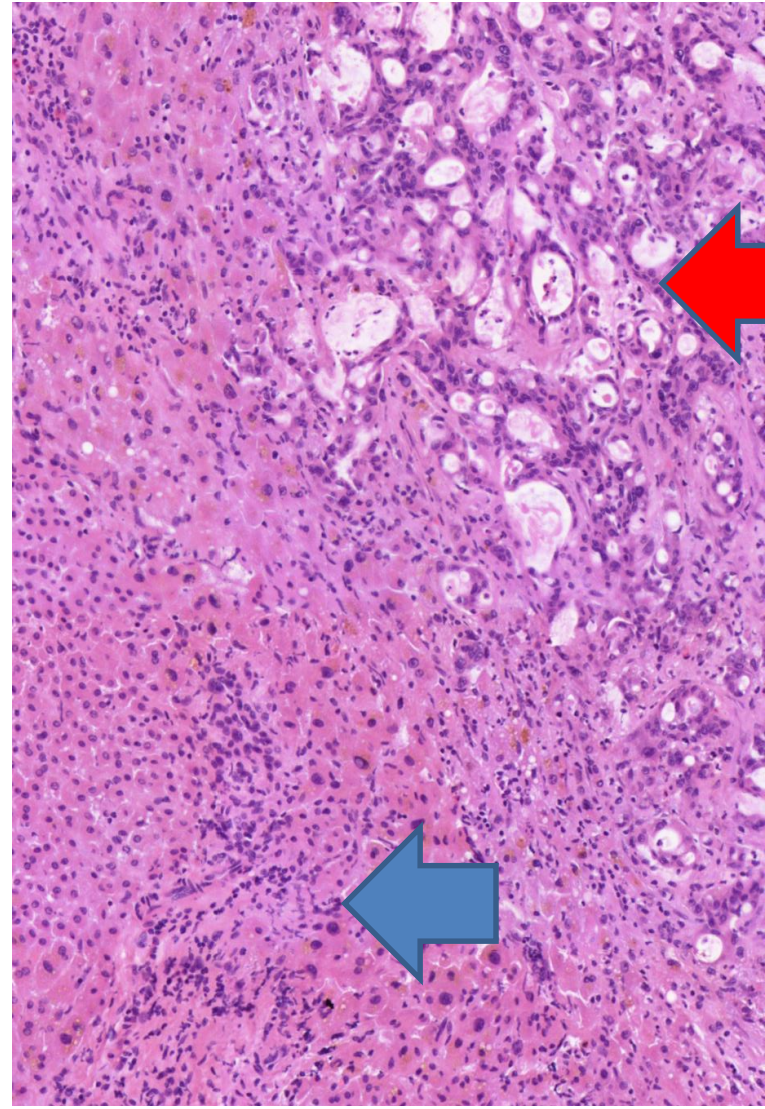
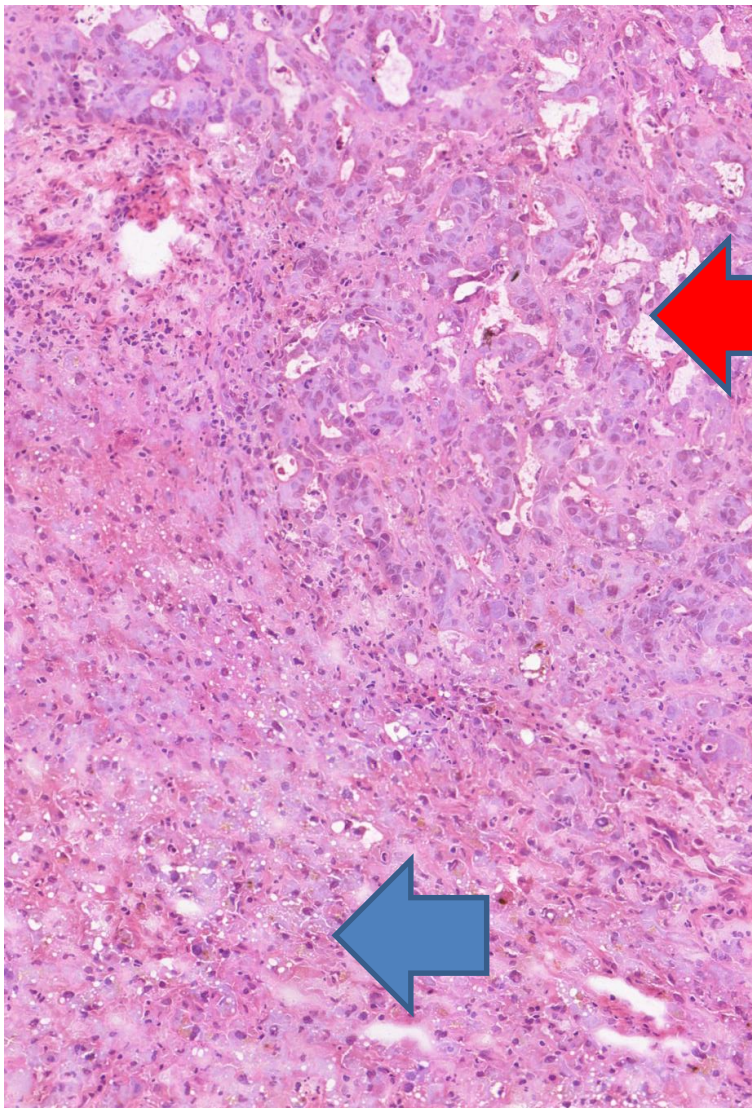
- Intraoperatív citológia (FNA): sebész veszi tapintással, vagy UH célzással
- Intraoperatív szövettani minta: gyorsfagyasztás, metszés (cryostat), H&E festés (kb. 10-20 perc) – fagyás miatt károsodott morfológia, de a struktúra nagyrészt megítélhető (invázió van-e?, rezekciós szélben van-e tumorsejt?)
- Lenyomati kenet: jól kiegészíti a fagyasztásos szövettant, mivel a citomorfológia megőrzött (pl. tumorsejtek magi eltérései jobban vizsgálhatók)



Fagyasztott vs beágyazott metszetek

Normál májszövet: kék

Metastaticus adenocarcinoma: piros



Speciális vizsgálatok

- Protein alapú vizsgálatok: Immunhisztokémia, immuncitokémia
- Molekuláris patológia: DNS/RNS alapú vizsgálatok
 - FISH (leginkább morfológiai alapú..)
 - Bázissorend meghatározás, stb (lásd előadás..)

Immunhisztokémiai reakció

Definíció

Immunológiai reakción (antigén-antitest kötődés) alapuló fehérjekimutatás.

- Leggyakrabban a tumorpatológiában használjuk
- Normál proteinek kimutatására, melyek a tumor eredetére utalnak
- Kóros proteinek kimutatására, melyek egyes tumorokra specifikusak

Diagnosztikus markerek

Tumor típus	Marker
Epithelialis tumorok (carcinoma)	<ul style="list-style-type: none">• Cytokeratin (CK) típusok• Szövet-specifikus markerek (PSA, TTF-1, stb.)
Mesenchymalis tumorok	<ul style="list-style-type: none">• Szövet specifikus markerek (actin, s-100, factor VIII, stb.)
Hematologiai tumorok	<ul style="list-style-type: none">• CD fehérjék (T/B sejt markerek, stb.)
Ismeretlen eredetű malignus tumorok (fő tumorcsoport meghatározása)	Carcinoma = CK + Melanoma = S-100, melan-A + Lymphoma = CD45 (LCA) + Csak vimentin + = sarcoma

Prognosztikus/prediktív markerek

Prognosis	<ul style="list-style-type: none">• Proliferatio: Ki-67• Oncoprotein mutatio, accumulatio: p-53
Predictív markerek (célzott tumorellenes terápia)	<ul style="list-style-type: none">• Hormon receptorok: ER• Növekedési faktor receptorok: EGFR, HER2, c-KIT

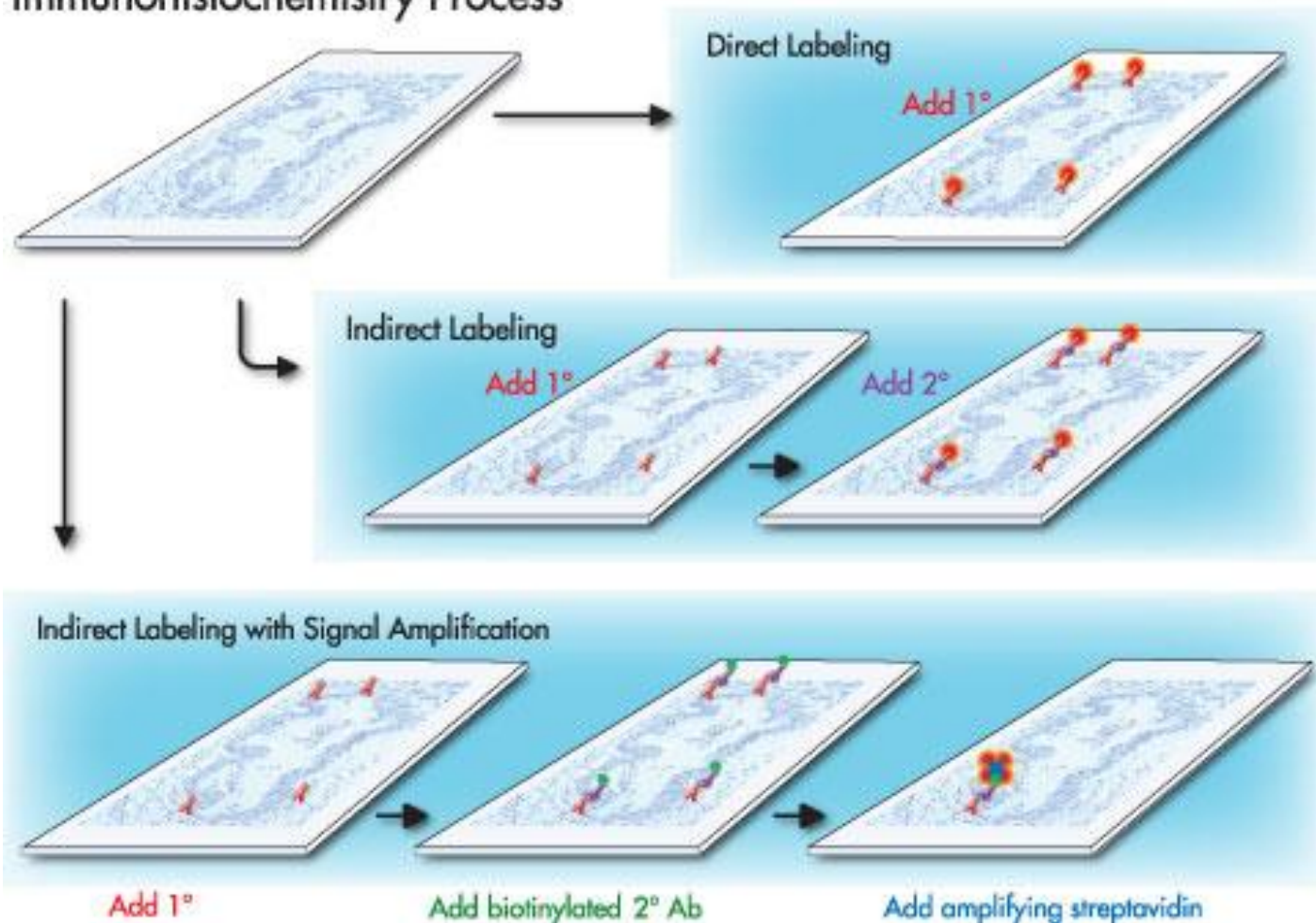
Gyakran használt IH reakciók

- Normál fehérjék fajtái
 - Cytoskeleton (*cytoplasma reactio*): cytokeratin (**epithelium**), vimentin (**mesenchymalis sejt**), S-100 (**neuron**), actin (**izom**) stb..
 - Receptor (*membran vagy sejtmag reactio*): oestrogen receptor, progesteron receptor (emlő), CD proteinek (hemato-lymphogen sejtek)
 - Sejtciklus regulatorok (*sejtmag reaction*): MIB-1/Ki-67
 - Egyéb (sejtadhéziós fehérjék, enzimek stb..)
- Fehérjék, kóros formában vagy mennyiségben
 - Oncoproteinek (p-53, növekedési factor receptorok: EGFR, HER2)
 - Kórokozók (virus compartment)
 - Egyéb (tau fehérjék neurodegeneratív betegségekben)

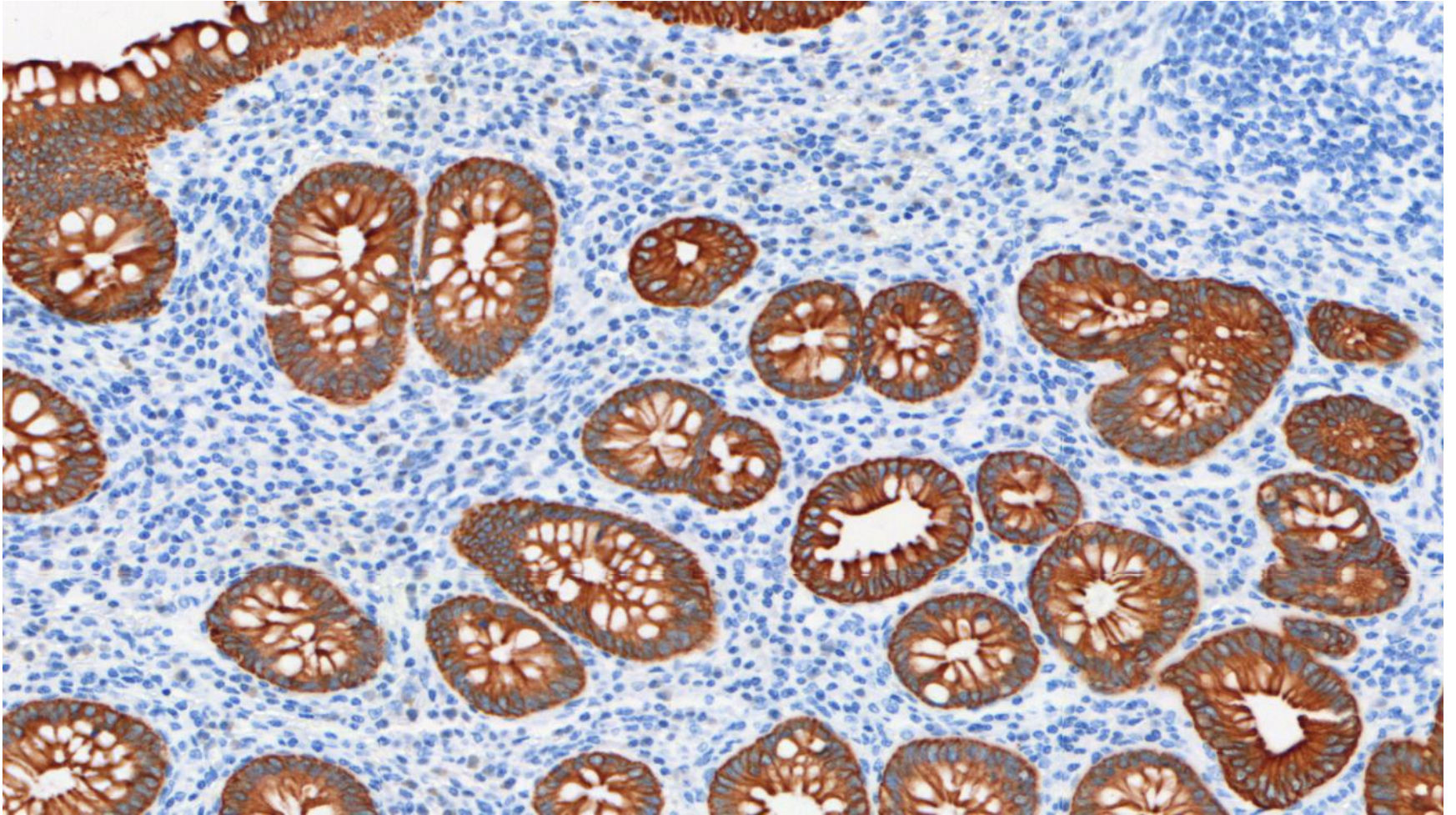
IH reakció metodika

- Primer antitest (antigén specifikus)
- Szekunder antitest+chromogen (vizuális detektálás)

Immunohistochemistry Process

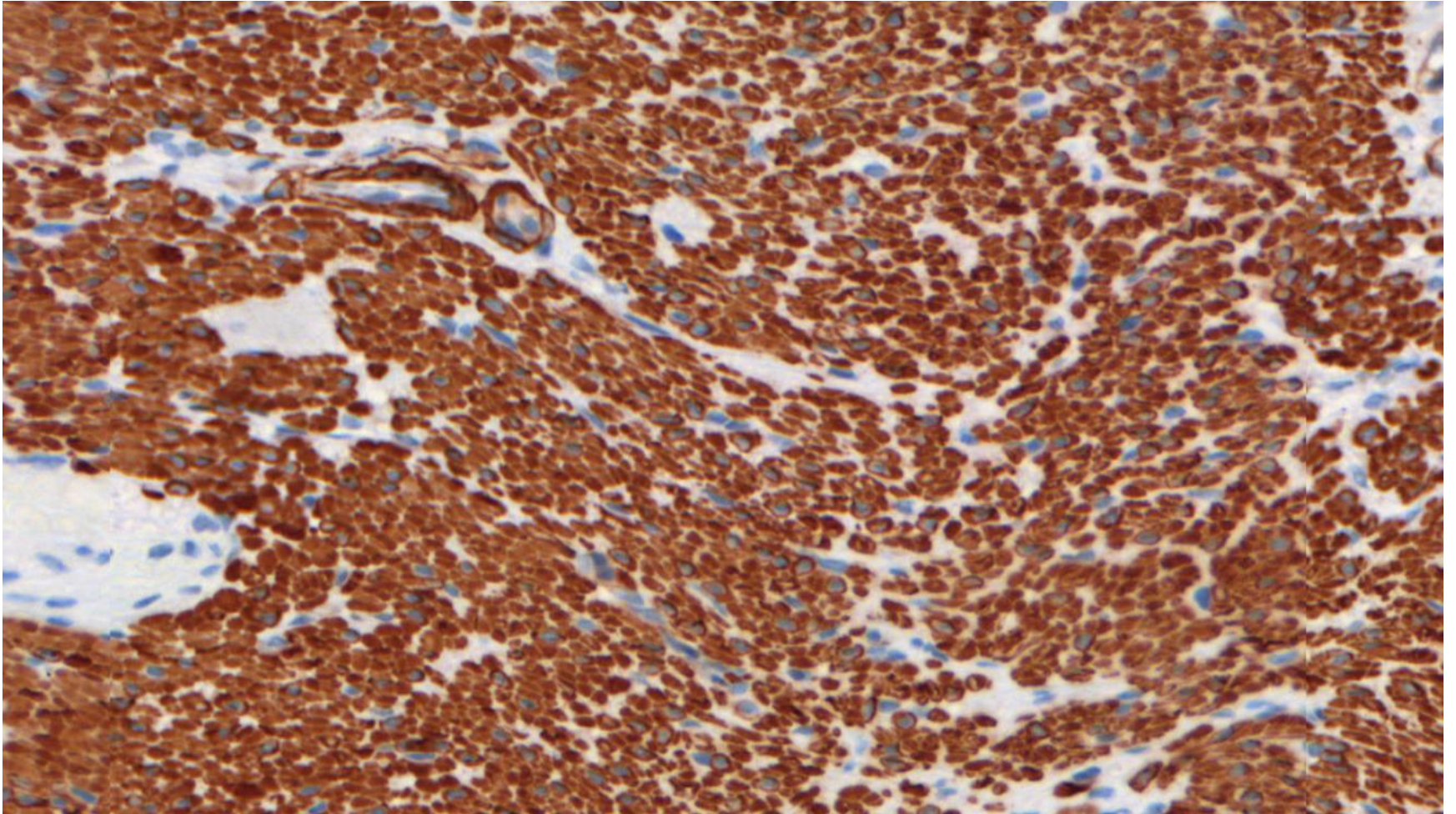


IHC vizsgálat demonstráció normál szöveten (appendix)



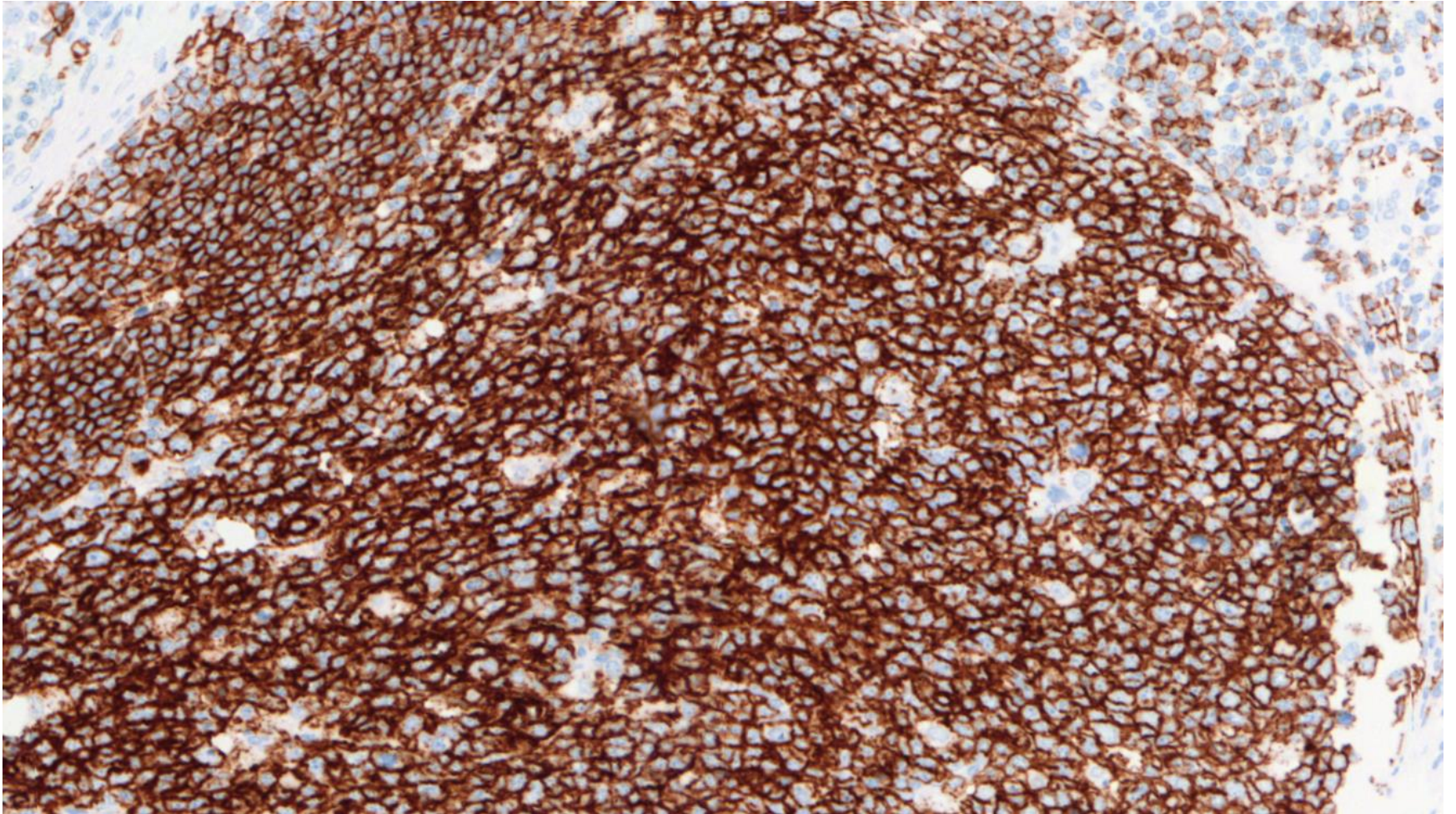
Hám= cytokeratin

IHC vizsgálat demonstráció normál szöveten (appendix)



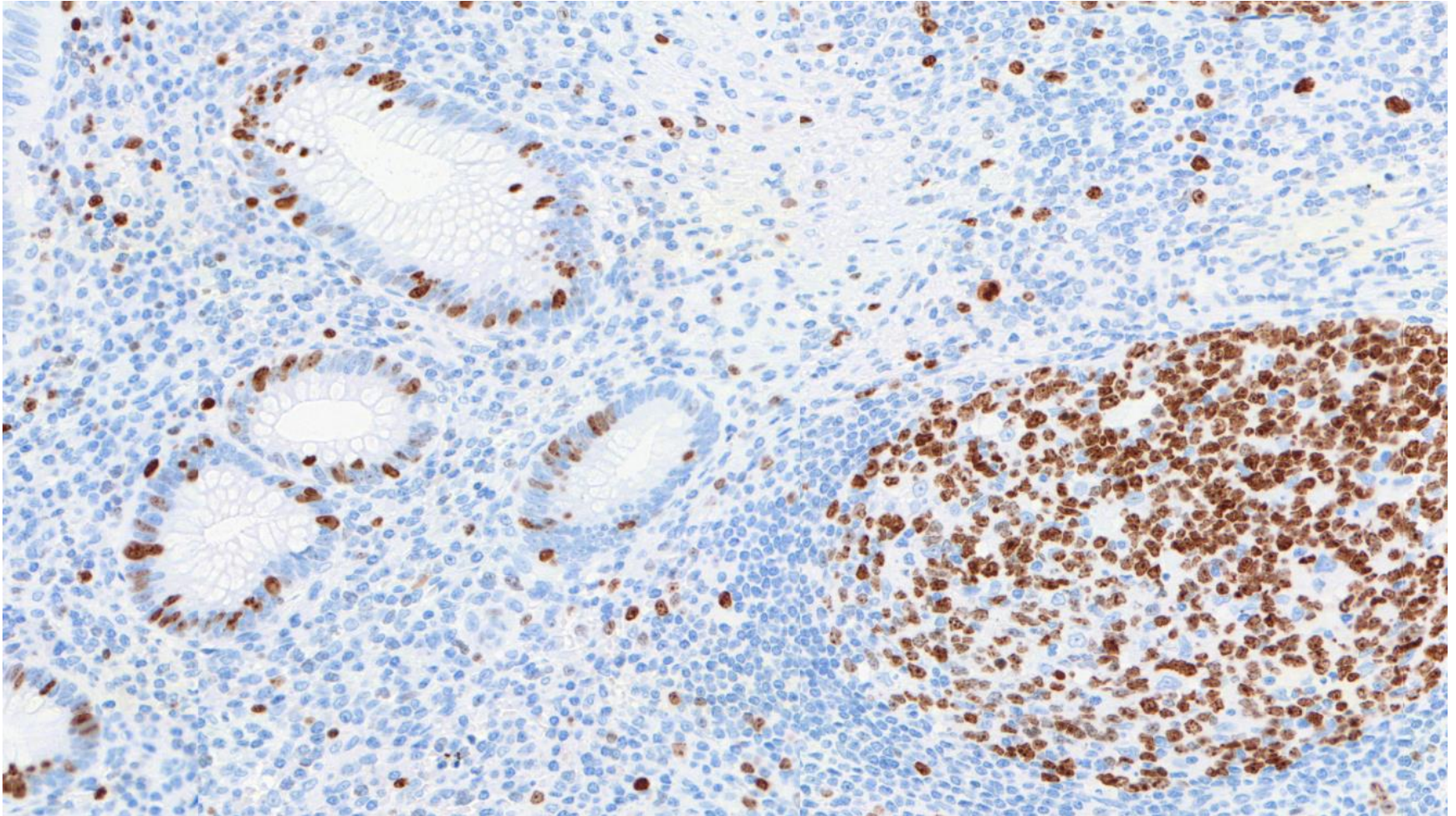
Simaizom aktin

IHC vizsgálat demonstráció normál szöveten (appendix)



B-sejt marker (CD20)

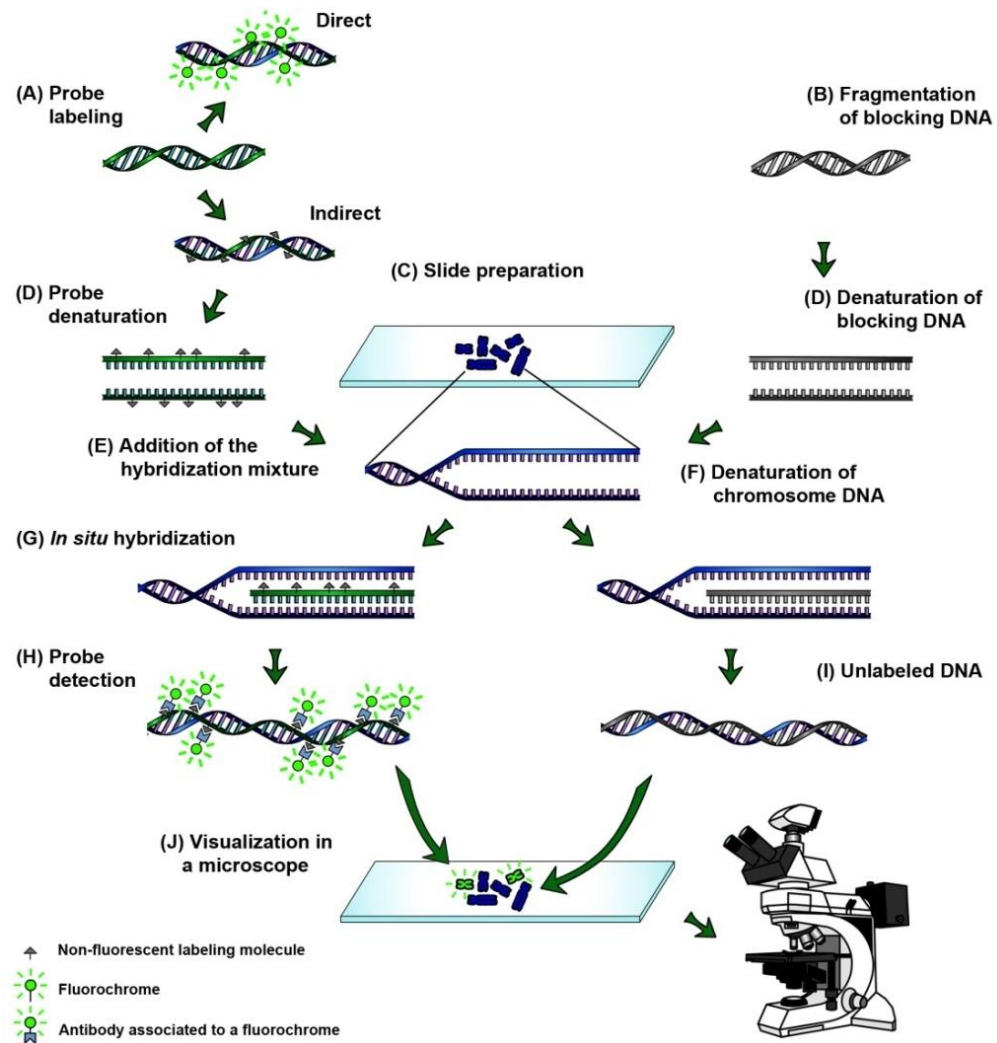
IHC vizsgálat demonstráció normál szöveten (appendix)

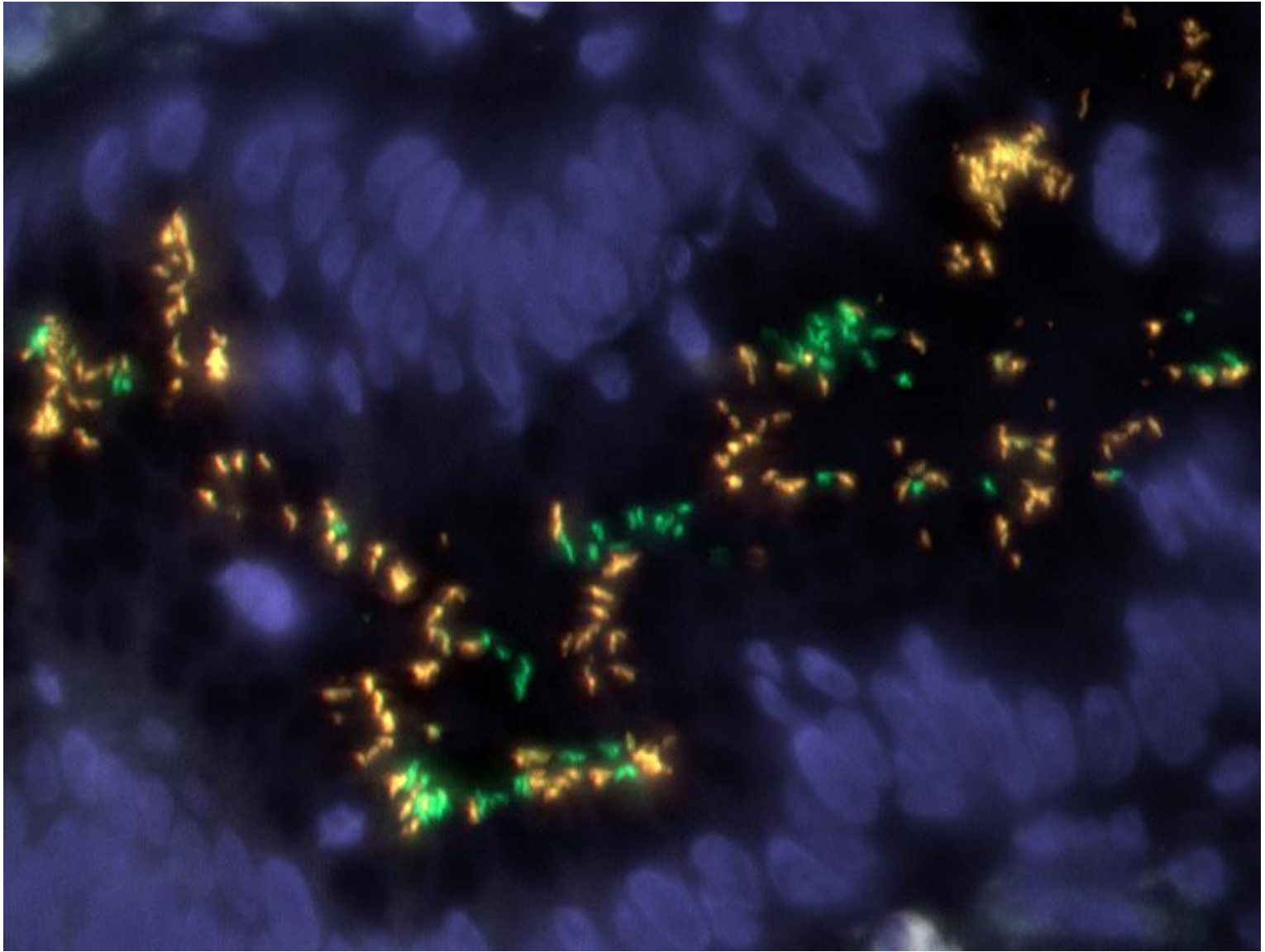


Proliferatio: Ki-67

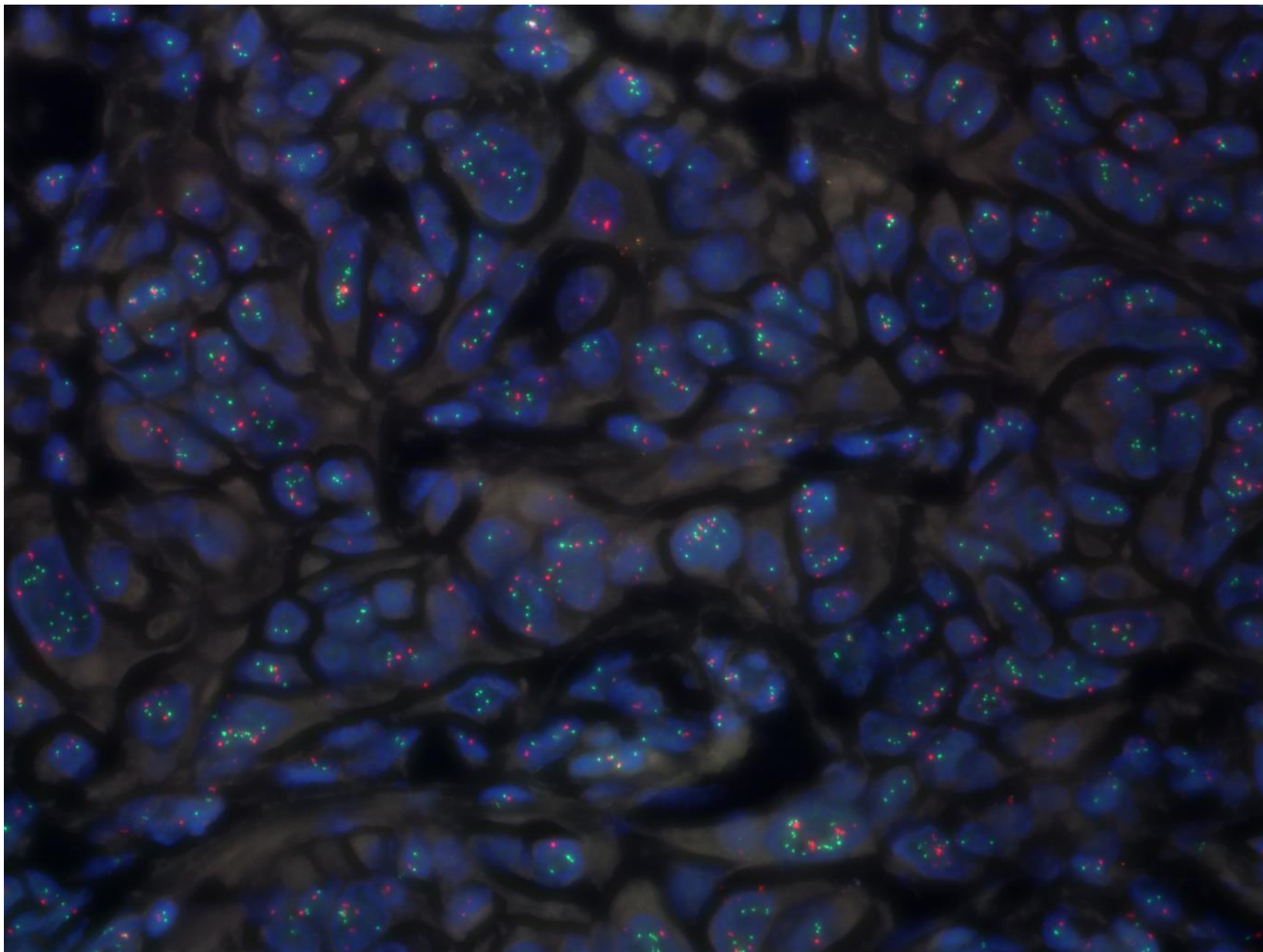
FISH (fluorescens in situ hybridisatio)

- Specifikus DNS szakaszok detektálása = kóros kópiaszám vagy lokalizáció vizuális megjelenítése
- Tumor patológia
 - Gén amplifikáció, deléció, transzlokáció
 - Prediktív és diagnosztikus vizsgálatok
- Mikrobiológia
 - Fajra specifikus DNS (H. pylori)

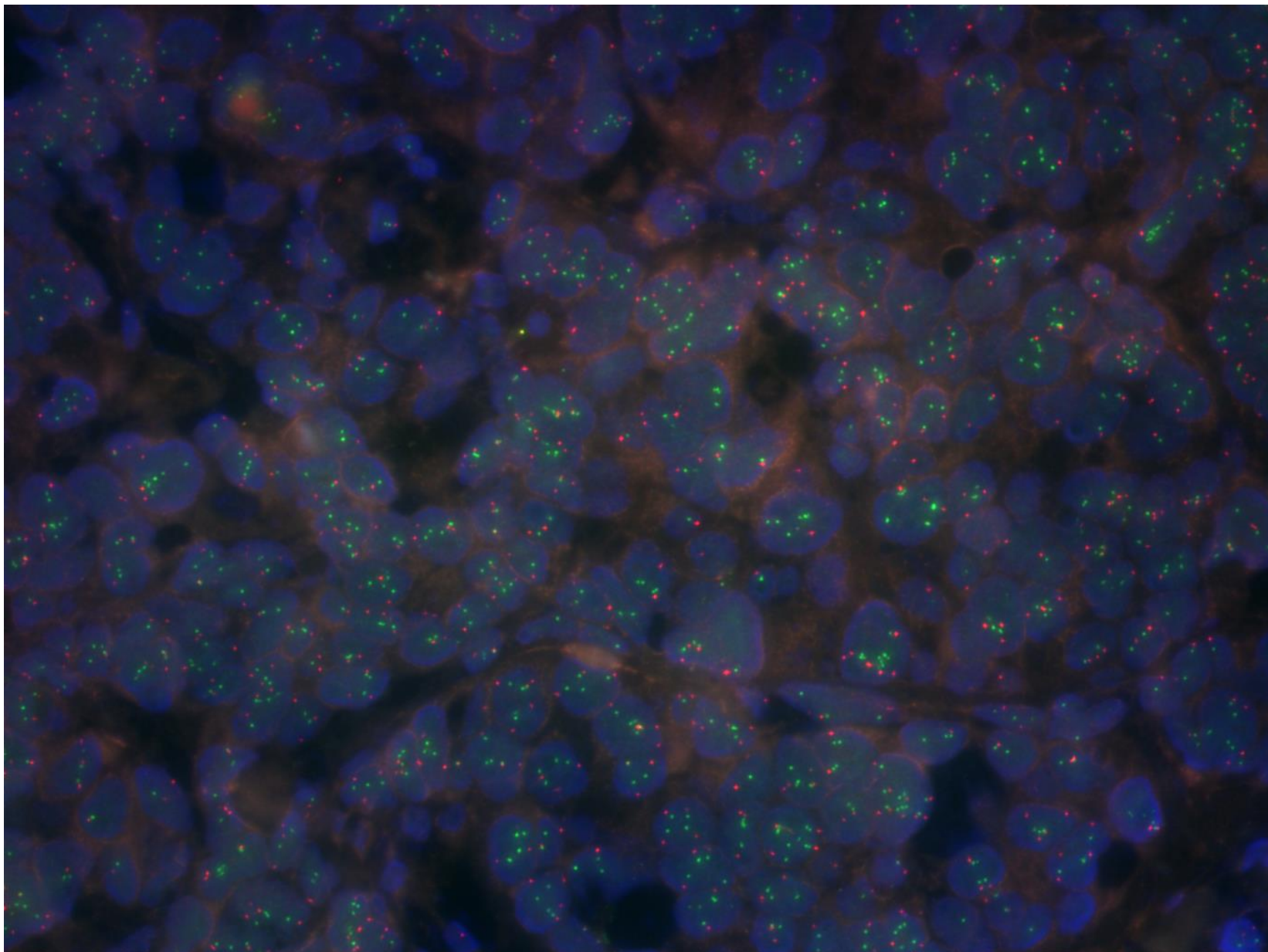




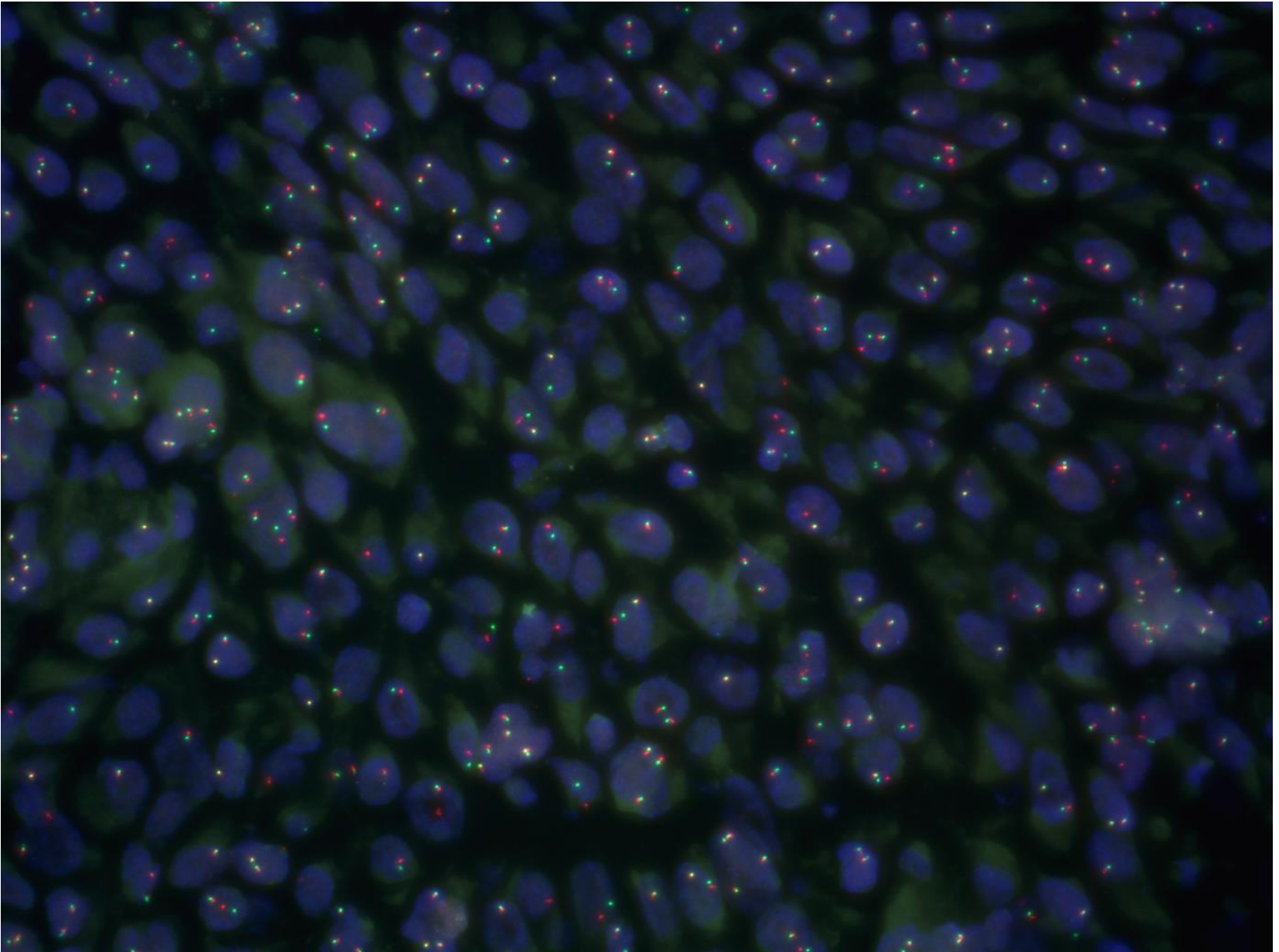
H. pylori kimutatás



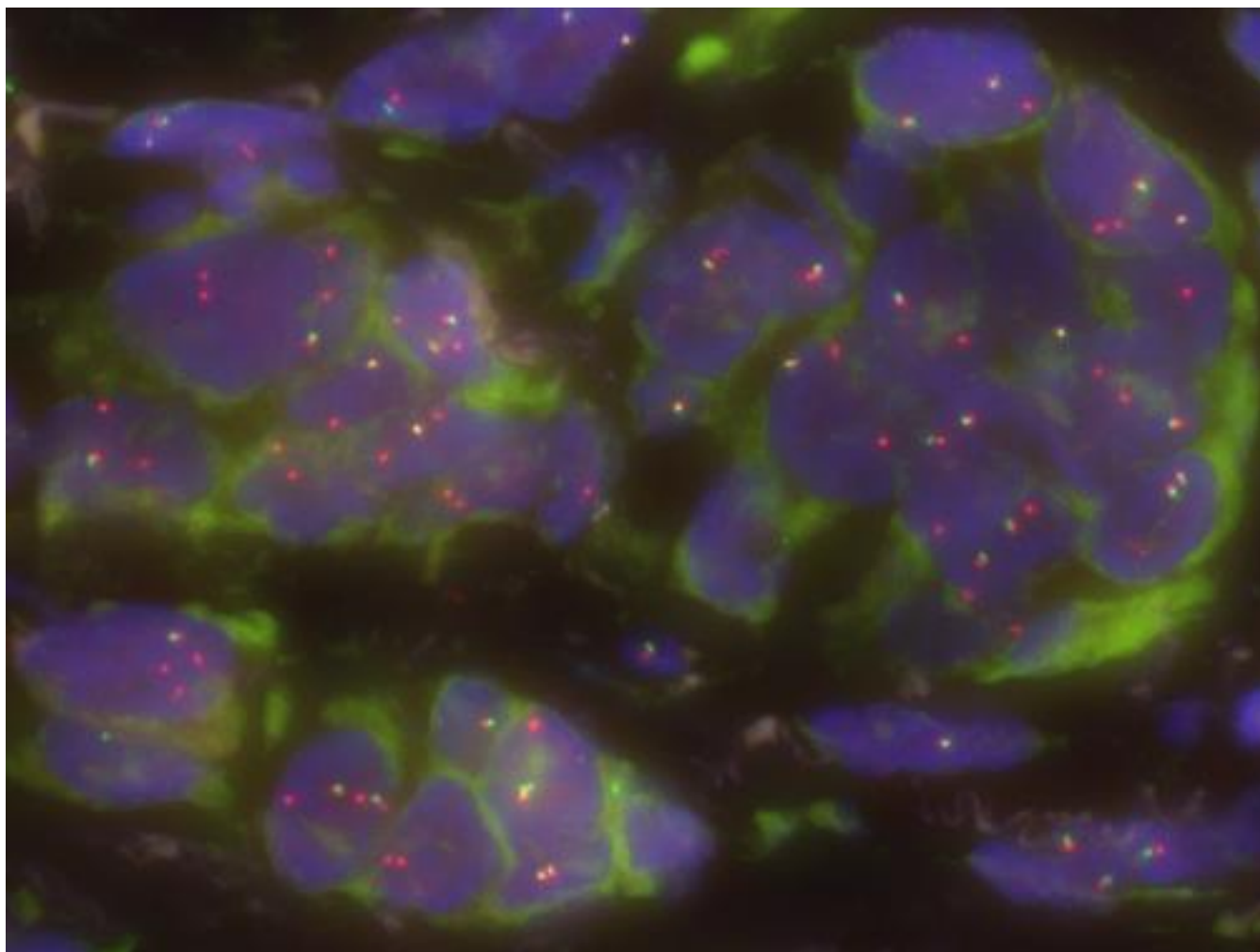
HER2 kópiaszám meghatározás emlőrákban



HER2 kópiaszám meghatározás emlőrákban



ALK break apart próba tüdő adenocarcinomában



ALK break apart próba tüdő adenocarcinómában